园 艺 学 报 2010，37（5）：721－730
Acta Horticulturae Sinica

镉对草莓幼苗根尖氧化系统和基因组DNA损伤的影响

李 慧[1,2]，丛 郁[3]，王宏伟[1]，常有宏[1,2,*]，盛宝龙[1]，蔺 经[1]，王中华[1]
（[1]江苏省农业科学院园艺研究所，南京 210014；[2]江苏省食品质量安全重点实验室，南京 210014；[3]中国科学院南京土壤研究所，南京 210009）

摘 要：采用随机扩增多态性DNA（RAPD）技术和生理生化方法检测镉胁迫对草莓幼苗根尖氧化系统和DNA多态性的影响。结果表明，用 5、10 和 15 mg · L^{-1}镉（$CdCl_2 \cdot 2.5H_2O$）处理 6 d后，草莓幼苗根伸长及根系中可溶性蛋白质含量均受到抑制，根尖活性氧爆发（超氧阴离子产生速率升高和过氧化氢含量增加），超氧化物歧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶活性下降，DNA增色效应减少。选用 8 条寡核苷酸引物（10 bp）对草莓幼苗根尖细胞中基因组DNA进行RAPD扩增，对照组图谱中可分辨出 88 条RAPD谱带，其分子量为 150～3 500 bp，处理组与对照组RAPD图谱之间存在明显差异，且与镉浓度之间存在剂量效应关系。镉影响草莓幼苗根尖细胞中基因组模板的稳定性，活性氧爆发和DNA交联是根尖DNA损伤的主要原因，利用RAPD技术获得的DNA多态性变化可作为检测草莓根尖DNA损伤的指标。

关键词：草莓；镉胁迫；活性氧；抗氧化酶系统；DNA 多态性

中图分类号：S 668.4 **文献标识码：**A **文章编号：**0513-353X（2010）05-0721-10

Effects of Cadmium Stress on Oxygen Enzyme System and Genome DNA Polymorphism in the Root Tips of Strawberry Plants

LI Hui[1,2]，CONG Yu[3]，WANG Hong-wei[1]，CHANG You-hong[1,2,*]，SHENG Bao-long[1]，LIN Jing[1]，and WANG Zhong-hua[1]
（[1]*Institute of Horticulture*，*Jiangsu Academy of Agricultural Sciences*，*Nanjing* 210014，*China*；[2]*The Key Laboratory of Jiangsu Province Food Safety*，*Nanjing* 210014，*China*；[3]*Institute of Soil Science*，*the Chinese Academy of Sciences*，*Nanjing* 210009，*China*）

Abstract: *Fragan* × *ananassa* Duch.‘Toyonoka’plants were exposed to 5，10 and 15 mg · L^{-1} cadmium（$CdCl_2 \cdot 2.5H_2O$）for 6 d to investigate the influence of heavy-metal Cd on root tips，which included DNA polymorphism change and oxidation systems damage. In addition，above indexes were analyzed by physiology biochemistry methods and random amplified polymorphic DNA（RAPD）technology. Cd induced an inhibited effect on root growth and soluble protein content，which also accumulated reactive oxygen species outbreak including superoxide anion production rate increased and hydrogen peroxide content enhanced. At the same time，antioxidant enzymes（SOD，POD and CAT）

收稿日期：2010－01－10；**修回日期：**2010－03－29
基金项目：江苏省农业科学院科研基金项目（6110816）；国家农业科技成果转化资金项目（2008GB2C100100）；江苏省科技基础设施建设计划（BM2008008）
* 通信作者 Author for correspondence（E-mail：cyh@jass.ac.cn）

activities also decreased. Moreover，DNA hyperchromic effect reduced after 6 d on 5，10 or 15 mg · L^{-1} Cd treatment. Finally，RAPD results showed that 8 primers gave a total of 88 RAPD bands ranging from 150 to 3 500 bp in molecular size in the normal plantlets. The changes occurring in RAPD profiles of the root tips after Cd treatment， which included loss of normal bands，appearance of new bands and variation in band intensity in comparison to which of the plantlets without treatment. It is need to point out that the RAPD band change effect was dose-dependent of Cd concentration. These results indicated that genomic template stability（a qualitative measure reflecting changes in RAPD profiles）was significantly affected by the above Cd concentrations. Reactive oxygen species outbreak and DNA cross-linking were the main reasons which causing the root tips damage. Thus，DNA polymorphisms detected by RAPD analysis could be used as an effective method for the assessment of the root tips damage by Cd in strawberry plantlets.

Key words： *Fragan* × *ananassa* Duch.；Cd stress；reactive oxygen species；antioxidant enzyme system；DNA polymorphism

镉（Cd）是剧毒的重金属元素，对绝大多数植物、动物、微生物均有毒害作用。然而，工业“三废”和城市生活垃圾的超标排放以及农业生产中农药、化肥的不当使用致使我国可耕地污染日益严重，其中尤以城市化和工业化发展最为迅速的城郊地区最为严重（张庆利 等，2005；郎春燕 等，2006；王世斌 等，2006；Cao et al.，2009）。草莓是重要的鲜食水果，果实皮薄多汁，难以长期保存，为了能减少贮运环节及时供应市场，我国草莓多在大、中城市郊区种植。因此城郊土壤环境的异常变化，是草莓生产的安全隐患（孙立荣和刘贤金，2006）。目前关于 Cd 对草莓伤害胁迫研究已经得到广泛开展（Cieslinski et al.，1996；Treder & Cieslinski，2005；周碧青 等，2007），草莓在低浓度的 Cd 存在情况下，植株无明显毒害症状，但是果实中镉含量已经超过国际食品法典委员会 Cd 最高限值（张金彪 等，2003），这一特性可能导致因不易察觉的土壤 Cd 污染状况而增加草莓产品受 Cd 污染风险。草莓受到 Cd 污染后，不仅会影响其产量和质量，更为严重的是 Cd 与其他重金属元素相比更易在农产品中积累，并通过食物链危害人体健康。然而草莓种植过程中食用安全性的动态生物检测缺乏理论基础，尚无快速评价草莓 Cd 污染的方法。

随机扩增DNA多态性分析（Random amplified polymorphic DNA，RAPD）已在品种分类、进化、遗传图谱等领域得到广泛应用，目前应用该技术来研究污染胁迫对高等植物细胞基因组DNA多态性的影响亦初见成效（Liu et al.，2005，2009；解莉婧 等，2007）。DNA增色效应指标作为判断DNA损伤的依据在植物生态毒理领域得到广泛应用，通过计算DNA 增色效应的变化，能够评价重金属 Cd^{2+}、Hg^{2+}、Al^{3+}、Cr^{6+}（葛才林 等，2002；马引利和佘小平，2006；张义贤和李向科，2008）、UV-B 辐射和NaCl胁迫（贺军民和罗芬兰，2006）所引起的植物DNA交联效应。作者运用常规生理生化方法和RAPD技术，研究盆栽条件下重金属Cd对草莓根生长、抗氧化系统和基因组DNA受损伤情况，以探讨草莓响应Cd污染的生理生化机制，为草莓生产过程中Cd污染的早期评价以及动态生物检测提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料培养

试验于 2009 年 2—7 月在江苏省农业科学院园艺研究所进行，供试草莓（*Fragan* × *ananassa* Duch.）品种为‘丰香’。取露地栽培营养繁殖的植株为试材，待幼苗长至三叶一心时，选取长势良

好、大小一致的幼苗移至内含石英砂，直径 21 cm，高 15 cm的盆钵里，缓苗 1 周后浇以 400 mL蒸馏水配制的 1/2 Hoagland营养液，污染物以$CdCl_2 \cdot 2.5H_2O$（分析纯）形式添加到营养液中，共设 4 个浓度：0、5、10 和 15 $mg \cdot L^{-1}$。处理期间保持光照培养箱的温度（26 ± 0.5）℃，光照周期 14 h/10 h（光照/黑暗），光强为 500 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$。

1.2　根长、活性氧和抗氧化酶活性测定

Cd处理 6 d后测量草莓幼苗的最大根长（每处理 30 株），并计算Cd对根生长的抑制率：抑制率（%）=（1 − 处理组平均值/对照组平均值）× 100。依次用自来水和去离子水冲洗根系，并用吸水纸将表面水分吸干，收获根尖（1 cm）用于不同指标的测定。以牛血清蛋白为标准，测定可溶性蛋白质含量（Bradford，1976）。超氧阴离子（$O_2^{\cdot-}$）产生速率的测定按照王爱国和罗广华（1990）的羟胺氧化法，过氧化氢（H_2O_2）含量的测定按照Ferguson等（1983）的方法，用丙酮浸提，钛试剂比色。超氧化物歧化酶（SOD）活性根据其抑制氮蓝四唑（NBT）在光下的还原作用来确定酶活性大小（Giannopolitis & Ries，1977），以抑制NBT还原的 50%为一个酶活性单位。过氧化物酶（POD）活性测定采用愈创木酚法（Lin et al.，2007），在有H_2O_2存在的情况下，POD使愈创木酚氧化，生成茶褐色物质，于 470 nm处测定其生成量（连续测定 3 min）来检测酶活性。过氧化氢酶（CAT）活性按照辛翠花等（2008）的方法，以 15 s为起始时间，间隔 30 s在 240 nm连续测定 6 个数据。

1.3　DNA提取和增色效应测定

草莓根尖DNA提取采用改良CTAB法（Saghai-Maroof et al.，1984），取各处理DNA样品 2 份，每份 10 μL，溶于 1 mL（0.08 $mol \cdot L^{-1}$）NaC1 溶液中，一份在 70 ℃水浴中加热，另一份置于室温（24.5 ℃）下，30 min后分别在核酸检测仪（Eppendorf biophotometer）上测定A_{260}，以［（$A_{260,70℃}$ − $A_{260,24.5℃}$）/$A_{260,24.5℃}$］× 100 作为DNA增色效应指标（马引利和佘小平，2006）。

1.4　RAPD分析和基因组模板稳定性计算

为了避免RAPD技术重复性差、不稳定等缺点，通过 3 次独立的预备试验从 30 条 10 bp随机引物中选出 8 条能够很好的重现试验结果的RAPD引物（购自上海英骏生物技术有限公司，序列见表 1）。对每个引物制备反应混合物，并以去离子水代替模板作为负对照，50 μL PCR混合液中各成分组成：2.5 μL 20 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 随机引物，4 μL 2.5 $mmol \cdot L^{-1}$ dNTPs（4 种成分等摩尔混合）（TaKaRa），5 μL 10 × 反应缓冲液，5 U *Taq* DNA polymerase（TaKaRa）和 200 ng 基因组总DNA。扩增程序：94 ℃预变性 5 min；94 ℃变性 1 min，38 ℃退火 1 min，72℃延伸 3 min，35 个循环，最后在 72 ℃保温 10 min。每条引物均扩增 3 次。RAPD扩增片段用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳分离后，经凝胶成像系统（Tonon 2500）进行拍照保存。基因组模板稳定性（GTS）用下式计算：GTS（%）=（1−P/n）× 100（Liu et a1.，2005，2009），式中P为处理组RAPD多态性谱带数，即与对照组相比处理组新出现的和消失的PCR谱带之和，n为对照组的总谱带数。

表 1　RAPD试验所用随机引物序列

Table 1　Sequences of 8 primers used in this RAPD experiment

引物编号 Primer No.	引物序列（5′→3′） Primer sequences	引物编号 Primer No.	引物序列（5′→3′） Primer sequences
Primer1	GGACTGGAGT	Primer5	AGGGGTCTTG
Primer2	GTCCACACGG	Primer6	GGTCCCTGAC
Primer3	TGGGGGACTC	Primer7	GTGATCGCAG
Primer4	CTGCTGGGAC	Primer8	TTGGCGGCCT

1.5 数据分析

试验中每个处理设 3 次重复，取平均值用作分析，数据处理采用 SPSS11.5 中的 ANOVA，用 LSD 检验并进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 镉处理对草莓幼苗根生长和可溶性蛋白含量的影响

Cd 处理抑制草莓幼苗根伸长生长，并阻碍新根的发生，随着处理浓度的增大，抑制作用明显增强（表 2）。Cd 处理同时对草莓幼苗根尖可溶性蛋白合成产生负面影响，随着处理浓度的增加，根尖中可溶性蛋白含量下降（表 2），并且 Cd 浓度和可溶性蛋白含量之间存在显著负相关，表明 Cd 浓度与草莓幼苗根尖可溶性蛋白质含量之间存在明显的剂量效应关系。

表 2 镉处理对草莓幼苗根长和根尖可溶性蛋白含量的影响

Table 2 Effects of Cd on root length and total soluble protein content of root tips in strawberry plantlets after treatment 6 days

Cd /（mg · L^{-1}）	根 Root		根尖 Root tips	
	长/cm Length	抑制率/% Inhibitory rate	可溶性蛋白/（mg · g^{-1} FW） Soluble protein	抑制率/% Inhibitory rate
0	13.48±1.83 a		3.27±0.19 a	
5	12.05±1.70 b	10.61	2.85±0.15 b	12.80
10	10.86±0.81 c	19.44	2.50±0.05 c	23.58
15	9.25±1.38 d	31.38	2.22±0.10 d	31.92

注：数值后的不同小写字母表示差异显著（$P < 0.05$）。下同。

Note：Different small letter in the same column indicate significant difference（$P < 0.05$）. The same below.

2.2 镉处理引起活性氧爆发和抗氧化酶活性升高

为了评价Cd对草莓幼苗造成的氧化胁迫，测定了植株根尖的$O_2^{\cdot-}$产生速率和H_2O_2含量。浇灌加镉营养液 6 d后，根尖中的$O_2^{\cdot-}$产生速率均较对照显著增加，并且随着处理浓度的增加而提高。根尖H_2O_2含量也受到Cd处理的影响，不同浓度处理后H_2O_2含量分别较对照增加了 53.27%、120.10%和200%（表 3）。SOD可以清除细胞内产生的$O_2^{\cdot-}$，浇灌加Cd营养液 6 d后，草莓根尖中SOD活性均有所下降，不同浓度处理后SOD活性分别为对照的 95.10%、83.31%和 74.97%（表 4）。POD和CAT为分解H_2O_2的主要抗氧化物酶，外加Cd处理后，POD和CAT的活性均被抑制，但不同处理间POD活性差异并不显著，而CAT的活性分别下降了 32.10%、45.93%和 58.27%，下降幅度与其浓度成正相关（表 4）。

表 3 镉处理对草莓幼苗根尖活性氧的影响

Table 3 Effects of Cd on reactive oxygen species of root tips in strawberry plantlets after treatment 6 days

Cd /（mg · L^{-1}）	$O_2^{\cdot-}$/（μmol · min^{-1} · mg^{-1}protein）	H_2O_2 /（μmol · mg^{-1}protein）
0	1.59±0.07 d	1.99±0.22 d
5	2.13±0.10 c	3.05±0.25 c
10	3.48±0.20 b	4.38±0.33 b
15	4.34±0.14 a	5.97±0.54 a

表 4 镉处理对草莓幼苗根尖抗氧化酶活性的影响

Table 4　Effects of Cd on antioxidant enzyme activity of root tips in strawberry plantlets after treatment 6 days

Cd /（mg · L^{-1}）	SOD /（U · mg^{-1} protein）	POD /（ΔOD_{470} · min^{-1} · mg^{-1} protein）	CAT /（ΔOD_{240} · min^{-1} · mg^{-1} protein）
0	62.37±5.72 a	1.84±0.18 a	4.05±0.38 a
5	59.31±6.68 a	1.83±0.24 a	2.75±0.18 b
10	51.96±3.85 b	1.49±0.19 a	2.19±0.22 c
15	46.76±3.60 c	1.48±0.45 a	1.69±0.30 d

2.3　DNA增色效应

利用CTAB法提取的草莓根尖DNA纯度在 1.77 ～ 1.81（$OD_{260\ nm}/OD_{280\ nm}$）之间，浓度约为 10 μg · g^{-1} FW，琼脂糖凝胶电泳结果显示DNA条带完整（图 1），表明提取DNA质量较好，可用于后继的增色效应和RAPD分析。

增色效应可反映DNA的解链程度，而DNA解链程度与其链长及链间交联程度等有关，DNA断裂会使链长变短因而增色效应提高，DNA链间交联则使增色效应下降，因此依据增色效应结果可以判断DNA是否断裂或发生链间交联等损伤效应（Koch & Giandomenico，1994）。但是断裂和交联的作用是相反的，如果两者的效应相当，增色效应值也不发生改变。Cd处理后草莓幼苗DNA增色效应下降，并且存在剂量效应，当处理浓度增加到 15 mg · L^{-1}时，DNA增色效应由未处理前的 12.25%下降至 1.29%（图 2），说明Cd处理导致草莓幼苗根尖DNA发生了链间交联，从而使DNA解链温度提高，导致在加热至 70 ℃时DNA仍未完全解链，因而DNA增色效应变小。但是Cd^{2+}有可能也同时导致DNA断裂的发生，而其促进DNA增色效应增加的效果被DNA链间交联的影响所掩盖，综合表现为DNA增色效应下降，即DNA链间交联为Cd胁迫下草莓幼苗根尖DNA损伤的主要效应之一。

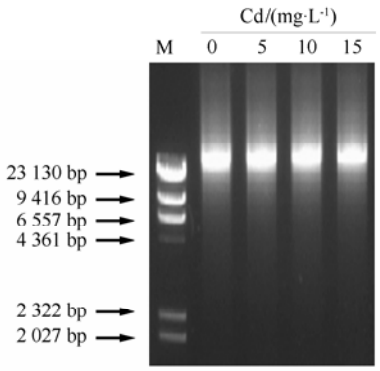

图 1　CTAB 法提取的草莓幼苗根尖 DNA

Fig. 1　The root tips genomic DNA of strawberry plantlets extracted by CTAB method

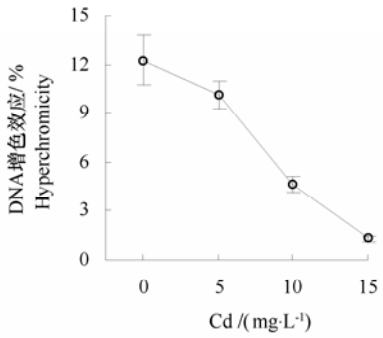

图 2　Cd 对草莓幼苗根尖 DNA 增色效应的影响

Fig. 2　Hyperchromicity of the DNA in the plantlets root tips of strawberry against Cd

2.4　镉处理对基因组DNA多态性的影响

RAPD试验所用的 8 条 10 bp寡核苷酸序列引物均可以扩增出特异稳定的PCR产物。对照草莓根尖基因组DNA的RAPD图谱中可分辨出 88 条谱带。其分子量大小在 150 ~ 3 500 bp之间，并且条带清晰（表 5），表明在此PCR条件下的扩增较为理想。5 ~ 15 mg · L^{-1} Cd处理草莓幼苗 6 d后，其根尖基因组DNA的RAPD图谱发生明显变化（图 3），表现为单条或多条RAPD谱带的缺失、增加，或荧

光强度的改变（包括减弱或增加）。DNA多态性是由于RAPD谱带的增加或减少产生的，它在 5、10 和 15 mg · L^{-1} Cd处理的幼苗根系中均有所增加，Cd 污染 6 d后的幼苗根系基因组DNA多态性值（多态性谱带数P占对照组总谱带数n的百分率）分别为 22.73%、59.09% 和 61.36%，与Cd剂量相关。此外，草莓幼苗根尖基因组模板稳定性（GTS）受到Cd处理的影响，它随着外加Cd剂量的增加而下降，5、10 或 15 mg · L^{-1} Cd处理草莓幼苗 6 d后，GST分别为 77.27%、40.91%和 38.64%。

表 5 不同镉浓度处理对草莓根尖基因组DNA多态性的影响

Table 5 Effects of different Cd concentration on genomic DNA polymorphism of root tips in strawberry plantlets

引物	Cd 0 mg · L^{-1}	Cd 5 mg · L^{-1}				Cd 10 mg · L^{-1}				Cd 15 mg · L^{-1}			
Primers		+	−	I	D	+	−	I	D	+	−	I	D
Primer1	18	0	2	3	3	3	12	3	2	2	11	2	3
Primer2	9	0	1	1	3	2	0	4	2	10	3	0	5
Primer3	8	0	2	2	5	8	4	1	2	1	5	0	3
Primer4	12	0	6	2	4	0	7	1	4	0	3	2	6
Primer5	12	0	0	4	6	1	5	2	5	0	1	0	10
Primer6	11	0	1	1	2	0	2	0	8	0	7	0	4
Primer7	11	1	1	3	4	1	4	0	7	0	5	0	7
Primer8	7	3	3	1	3	2	1	2	4	3	3	0	3
总计Total（n）	88	4	16	17	30	17	35	13	34	16	38	4	41
P		20				52				54			
C		67				99				99			

注： +. 新出现的条带数；−. 消失的条带数；I. 荧光强度增强的条带数；D. 荧光强度减少的条带数；P. 多态性条带；C. 变化的条带。

Note：+. indicates appearance of new bands；−. Disappearance of normal bands；I. Increase in band intensities；D. Decrease in band intensities；P. Denotes polymorphic bands；C. Varied bands.

8 条寡核苷酸序列引物对草莓根尖DNA的扩增效果各不相同（图 3，表 5）：在 10 和 15 mg · L^{-1} Cd处理组，RAPD谱带中新增加谱带数较多，如 10 mg · L^{-1} 处理组经引物 1 扩增后新增 3 条谱带，引物 3 扩增后新增 8 条谱带；15 mg · L^{-1} 处理组经引物 2 扩增后新增了 10 条谱带，引物 8 扩增后增加了 3 条谱带。

而 5、10 和 15 mg · L^{-1} Cd处理后均造成草莓根尖DNA所扩增RAPD谱带大量缺失，如 5 mg · L^{-1} 处理组经引物 4 扩增后缺失 6 条谱带，引物 8 扩增后缺失 3 条谱带；10 mg · L^{-1} 处理组经引物 1、引物 3、引物 4、引物 5 和引物 7 扩增后分别缺失了 12、4、7、5 和 4 条谱带，15 mg · L^{-1} 处理组经引物 1、引物 2、引物 3、引物 4、引物 6、引物 7 和引物 8 扩增后分别缺失了 11、3、5、3、7、5 和 3 条谱带。

RAPD谱带的强度变化方面表现在 5、10 和 15 mg · L^{-1} Cd处理组经引物 1 和引物 4 扩增后均有 1 ~ 3 条RAPD谱带亮度有所增加，而 3 个处理组在引物 1 ~ 8 扩增条件下，都表现出明显的RAPD谱带亮度下降现象，如 5、10 和 15 mg · L^{-1} Cd处理后的草莓根尖DNA经引物 5 扩增后，分别有 6、5 和 10 条RAPD谱带亮度低于对照。由此可知，不同的引物可以检验出DNA一级结构上不同位点的损伤。

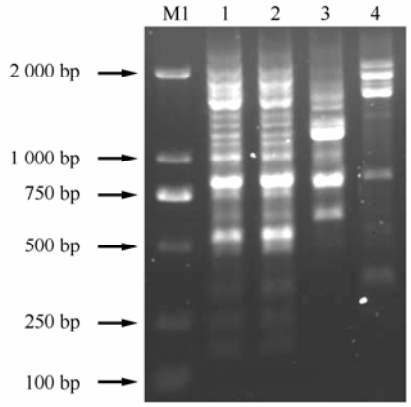

图 3　Cd 处理对草莓根尖基因组 DNA RAPD 图谱的影响（以 Primer1 扩增结果为例）

M1 为 DL 2000 DNA marker；1、2、3、4 分别表示 0、5、10、15 mg · L-1 Cd 处理后草莓根尖 DNA 扩增结果。

Fig. 3　RAPD profiles of genomic DNA from root-tip of strawberry plantlets exposed to varying Cd concentration (taking Primer1 amplified results as example)

M1: DL 2000 DNA marker；1，2，3 and 4 indicate 0，5，10 and 15 mg · L^{-1} Cd treatment root tips amplification results，respectively.

3　讨论

RAPD 技术已成功地检测出了苯并芘、重金属、核素、雌激素等多种污染物在低剂量暴露条件下对生物细胞 DNA 造成的损伤和突变，与传统的遗传毒性测定方法（微核试验、彗星分析等）相比，RAPD 能检测出生物细胞中 DNA 的临时变化；而在检测 DNA 模板的稳定性方面，它比致死率、净增殖率等经典生态学参数的敏感性更高（Atienzar & Jha，2006）。虽然该技术存在实验结果重复性差、不稳定等缺点，但是在筛选出合适的随机引物和反应条件前提下，能在短时间内分析大量样本，达到快速检测的目的。为了克服 RAPD 技术的缺点，本试验通过 3 次重复试验，从 30 条引物（数据未显示）中获得 8 条能够很好的重现结果的寡核苷酸引物，适用于快速评价草莓根尖早期镉污染所造成的 DNA 损伤。通过它们扩增出来的 PCR 条带计算基因组模板稳定性（GST）发现，随着 Cd 处理浓度的增加，GST 与根长、根尖蛋白质含量的变化趋势相同，均为稳定下降。

镉毒害的机理可能源于与巯基的高度亲和性（Schutzendubel & Polle，2002）以及Cd^{2+}与处于酶和信号元件活性位置的其它功能活性阳离子的化学性质有相似之处（Roth et al.，2006）。Cd与含有巯基的蛋白或酶结合，导致蛋白错误折叠，降低根尖细胞核糖核酸酶活性，造成细胞核仁损伤，改变DNA和RNA的合成，抑制植物细胞的伸长或减少光合作用产物向根部转运来影响根的生长伸长（Behboodi & Samadi，2004；Gichner et al.，2004；Lima et al.，2006；Lin et al.，2007）。本研究发现不同浓度的Cd处理草莓幼苗 6 d后，草莓根伸长受抑制，根尖可溶性蛋白质含量下降，并且随着处理浓度的加大，抑制效应更加明显，这是镉对草莓幼苗毒害的直接表现，类似的研究结果在其他报道中亦得到证实（Liu et al.，2005，2009；刘宛 等，2006；解莉婧 等，2007）。

镉在取代蛋白质中二价阳离子的时候释放“自由”离子，改变植物抗氧化防御系统中超氧化物歧化酶（Shah et al.，2001）、过氧化物酶（Arao et al.，2003）和过氧化氢酶（Schutzendubel et al.，2001）的活性，从而引发根系的氧化损伤（Yannarelli et al.，2007；Smeets et al.，2008）。本研究也获得了类似的结果，不同浓度Cd处理后，草莓根尖SOD、POD和CAT活性下降，伴随着活性氧爆发，DNA产生交联反应，导致DNA增色效应下降，最终使根尖受到了氧化损伤。活性氧$O_2^{\cdot-}$和H_2O_2的积

累会损伤DNA、蛋白质和脂类等细胞组分（Lin et al.，2007），当细胞DNA发生损伤时，会造成引物结合位点的DNA片段的缺失、插入或碱基突变，使引物无法与结合位点匹配，就会造成扩增中断，使扩增产物大小和数量发生改变，呈现出多态性。本研究结果表明，Cd胁迫条件下，由系列引物扩增得到的草莓幼苗根尖细胞中RAPD谱带显示出明显的差异，具体表现为RAPD谱带的增加、减少、谱带荧光强度的增强或减弱，而且这些变化与Cd剂量有关（图 3，表 5）。这表明，Cd胁迫诱导幼苗基因模板的稳定性发生了较大的改变。而Cd胁迫导致的DNA-DNA交联（增色效应下降）使某些寡核苷酸引发位点容易接近引物，形成新的RAPD图谱，从而使草莓幼苗基因组DNA的RAPD谱带发生变化。

综上所述，镉胁迫促使草莓幼苗根尖活性氧爆发，导致抗氧化酶活性改变，产生 DNA 交联和 DNA 多态性下降的 DNA 损伤，从而减少根尖可溶性蛋白的合成，最终抑制草莓根生长。另外，利用 RAPD 分析获得的 DNA 多态性变化，并结合幼苗生长等指标，可作为草莓生产过程中镉污染的早期评价方法。

References

Arao T，Ae N，Sugiyama M，Takahashi M. 2003. Genotypic differences in cadmium uptake and distribution in soybeans. Plant and Soil，251：247－253.

Atienzar F A，Jha A N. 2006. The random amplified polymorphic DNA（RAPD）assay and related techniques applied to genotoxicity and carcinogenesis studies: A critical review. Mutation Research，613：76－102.

Behboodi B S，Samadi L. 2004. Detection of apoptotic bodies and oligonucleosomal DNA fragments in cadmium-treated root apical cells of *Allium cepa* Linnaeus. Plant Science，167：411－416.

Bradford A. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding. Analytical Biochemistry，72：248－254.

Cao H，Luan Z，Wang J，Zhang X. 2009. Potential ecological risk of cadmium，lead and arsenic in agricultural black soil in Jilin Province，China. Stochastic Environmental Research and Risk Assessment，23：57－64.

Cieslinski G，Neilsen G，Hougue E. 1996. Effect of soil cadmium application and pH on growth and cadmium accumulation in roots，leaves and fruit of strawberry plants. Plant and Soil，180：267－276.

Ferguson I B，Watkins C B，Harman J E. 1983. Inhibition by calcium of senescence of detached cucumber cotyledons effect on ethylene and hydroperoxide production. Plant Physiology，71：182－186.

Ge Cai-lin，Yang Xiao-yong，Sun Jin-he，Wang Ze-gang，Luo Shi-shi，Ma Fei，Gong Zheng. 2002. DNA damage caused by heavy metal stress in rice and wheat seed. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology，28（6）：419－424.（in Chinese）

葛才林，杨小勇，孙锦荷，王泽港，罗时石，马 飞，龚 峥. 2002. 重金属胁迫引起的水稻和小麦幼苗 DNA 损伤. 植物生理与分子生物学学报，28（6）：419－424.

Giannopolitis C N，Ries S K. 1977. Superoxide dismutases. I. Occurrence in high plants. Plant Physiology，59：309－314.

Gichner T，Patkov Z，Száková J，Demnerova K. 2004. Cadmium induces DNA damage in tobacco roots，but no DNA damage，somatic mutations or homologous recombination in tobacco leaves. Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis，559：49－57.

He Jun-min，Luo Fen-lan. 2006. Interaction of UV-B and NaCl on DNA damage of mung bean. Acta Ecologica Sinica，26（5）：1375－1381.（in Chinese）

贺军民，罗芬兰. 2006. UV-B 辐射和 NaCl 胁迫对绿豆幼苗叶片 DNA 损伤的复合效应. 生态学报，26（5）：1375－1381.

Koch C J，Giandomenico A R. 1994. The alkaline elution technique for measuring DNA single strand breaks：Increased reliability and sensitivity. Analytical Biochemistry，220：58－65.

Lang Chun-yan，Wang An-jun，Fu Qiang. 2006. Vertical distribution of copper，lead，zinc and cadmium in soil of eastern suburb of Chengdu.

Guandong Trace Elements Science，13（8）： 55－57.（in Chinese）

郎春燕，王安俊，傅　强. 2006. 成都市东郊土壤中重金属元素垂直分布研究. 广东微量元素科学，13（8）：55－57.

Lima A I G，Pereira S I A，Figueira E M A P，Caldeira G C N，Caldeira H D Q M. 2006. Cadmium detoxification in roots of *Pisum sativum* seedlings：Relationship between toxicity levels，thiol pool alterations and growth. Environmental and Experimental Botany，55：149－162.

Lin A，Zhang X，Chen M，Cao Q. 2007. Oxidative stress and DNA damages induced by cadmium accumulation. Journal of Environmental Science，19：596－602.

Liu W，Li P J，Qi X M，Zhou Q X，Zheng L，Sun T H，Yang Y S. 2005. DNA changes in barley（*Hordeum vulgare*）seedlings induced by cadmium pollution using RAPD analysis. Chemosphere，61：158－167.

Liu W，Yang Y S，Li P J，Zhou Q X，Xie L J，Han Y P. 2009. Risk assessment of cadmium-contaminated soil on plant DNA damage using RAPD and physiological indices. Journal of Hazardous Materials，161：878－883.

Liu Wan，Zheng Le，Li Pei-jun，Qi Xue-mei，Zhou Qi-xing，Sun Tie-heng. 2006. Efects of cadmium stress on DNA polymorphism of genome in barley seedlings. Journal of Agro-Environment Science，25（1）：19－24.（in Chinese）

刘　宛，郑　乐，李培军，齐雪梅，周启星，孙铁珩. 2006. 镉胁迫对大麦幼苗基因组 DNA 多态性影响. 农业环境科学学报，25（1）：19－24.

Ma Yin-li，She Xiao-ping. 2006. Effects and DNA damages of Al^{3+} and Cd^{2+} in wheat seedlings. Botanica Boreali-occidentalia Sinica，26（4）：729－735.（in Chinese）

马引利，佘小平. 2006. 铝、镉对小麦幼苗生长的影响及其 DNA 损伤效应研究. 西北植物学报，26（4）：729－735.

Roth U，Von Roepenack-Lahaye E，Clemens S. 2006. Proteome changes in *Arabidopsis thaliana* roots upon exposure to Cd^{2+}. Journal of Experimental Botany，57：4003－4013.

Saghai-Maroof M A，Soliman K M，Jorgensen R A，Allard R W. 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley：Mendelian inheritance，chromosomal location，and population dynamics. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America，81：8014－8018.

Schutzendubel A，Polle A. 2002. Plant responses to abiotic stresses：Heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. Journal of Experimental Botany，53：1351－1365.

Schutzendubel A，Schwanz P，Teichmann T，Gross K，Langenfeld-Heyser R，Godbold D L，Polle A. 2001. Cadmium-induced changes in antioxidative systems，hydrogen peroxide content，and differentiation in scots pine roots. Plant Physiology，127：887－898.

Shah K，Kumar R，Verma S，Dubey R S. 2001. Effect of cadmium on lipid peroxidation，superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Science，161：1135－1144.

Smeets K，Ruytinx J，Semane B，Van B F，Remans T，Van S S，Vangronsveld J. 2008. Cadmium-induced transcriptional and enzymatic alterations related to oxidative stress. Environmental and Experimental Botany，63：1－8.

Sun Li-rong，Liu Xian-jin. 2006. Application and establishment of HACCP system of strawberry quality and safety. Jiangsu Agricultural Sciences，（6）：402－404.（in Chinese）

孙立荣，刘贤金. 2006. 草莓质量安全 HACCP 体系的建立与应用. 江苏农业科学，（6）：402－404.

Treder W，Cieslinski G. 2005. Effect of silicon application on cadmium uptake and distribution in strawberry plants grown on contaminated soils. Journal of Plant Nutrition，28：917－929.

Wang Ai-guo，Luo Guang-hua. 1990. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants. Plant Physiology Communications，19（6）：55－57.（in Chinese）

王爱国，罗广华. 1990. 植物的超氧物自由基与羟胺反应的定量关系. 植物生理学通讯，19（6）：55－57.

Wang Shi-bin，Jiang Yong，Liang Wen-ju. 2006. Characteristics of cadmium contamination in farmland soils irrigated with wastewater in western Shenyang suburb. Journal of Shenyang Jianzhu University：Natural Science，22（3）：450－453.（in Chinese）

王世斌，姜　勇，梁文举. 2006. 沈阳西郊污灌区农田土壤镉污染特征研究. 沈阳建筑大学学报：自然科学版，22（3）：450－453.

Xie Li-jing，Liu Wan，Li Pei-jun，Li Shu-qin，Wang Fei，Qi Xue-mei，Zang Shu-yan. 2007. Effects of cadmium stress on DNA polymorphism of genome in *Vicia faba* seedlings. Chinese Journal of Ecology，26（1）：35－39.（in Chinese）

解莉婧，刘 宛，李培军，李淑芹，王 菲，齐雪梅，臧淑艳. 2007. 镉胁迫对蚕豆幼苗基因组 DNA 多态性的影响. 生态学杂志，26（1）：35－39.

Xin Cui-hua，Li Ying，Liu Qing-chang，Qu Dong-yu，Huang San-wen. 2008.Transgenic potato lines conferring resistance to late blight and the relationship between resistance and active oxygen scavenging-enzymes. Scientia Agricultura Sinica，41（12）：4023－4029.（in Chinese）

辛翠花，李 颖，刘庆昌，屈冬玉，黄三文. 2008. 马铃薯抗晚疫病转基因材料的获得及活性氧清除酶系与抗病过程关系分析. 中国农业科学，41（12）：4023－4029.

Yannarelli G G，Fernández-Alvarez A J，Santa-Cruz D M，Tomaro M L. 2007. Glutathione reductase activity and isoforms in leaves and roots of wheat plants subjected to cadmium stress. Phytochemistry，68：505－512.

Zhang Jin-biao，Huang Wei-nan，Ke Yu-qin. 2003. Cadmium absorption characteristics of strawberry and regulative measures. Acta Horticulturae Sinica，30（5）：514－518.（in Chinese）

张金彪，黄维南，柯玉琴. 2003. 草莓对镉的吸收积累特性及调控研究. 园艺学报，30（5）：514－518.

Zhang Qing-li，Shi Xue-zheng，Huang Biao，Yu Dong-sheng，Wang Hong-jie，Karin Blombaeck，Ingrid Oboern. 2005. Characteristics of spatial variability of soil available lead，zinc，copper and cadmium in a vegetable base in the suburbs of Nanjing. Soils，37（1）：41－47.（in Chinese）

张庆利，史学正，黄 标，于东升，王洪杰，Karin Blombaeck，Ingrid Oboern. 2005. 南京城郊蔬菜基地土壤有效态铅、锌、铜和镉的空间分异及其驱动因子研究. 土壤，37（1）：41－47.

Zhang Yi-xian，Li Xiang-ke. 2008. Effects of Cr^{6+} stress on DNA damage of genome in *Hordeum vulgare* seedlings. Journal of Agro-Environment Science，27（2）：430－434.（in Chinese）

张义贤，李向科. 2008. Cr^{6+}污染致大麦幼苗基因组DNA 损伤效应的研究. 农业环境科学学报，27（2）：430－434.

Zhou Bi-qing，Zhang Jin-biao，Huang Wei-nan. 2007. Changes of mineral element accumulation and distribution in young age strawberry under cadmium stress. Subtropical Plant Science，36（3）：4－7.（in Chinese）

周碧青，张金彪，黄维南. 2007. 镉胁迫下草莓幼龄期叶、根矿质元素积累和分布的变化. 亚热带植物科学，36（3）：4－7.

征订

欢迎订阅《园艺学报》

《园艺学报》是中国园艺学会和中国农业科学院蔬菜花卉研究所主办的学术期刊，创刊于 1962 年，刊载有关果树、蔬菜、观赏植物、茶及药用植物等方面的学术论文、研究报告、专题文献综述、问题与讨论、新技术新品种以及园艺研究动态与信息等，适合园艺科研人员、大专院校师生及农业技术推广部门专业技术人员阅读参考。

《园艺学报》是中文核心期刊，被中国科学引文数据库 Chinese Science Citation Database 等多家重要数据库收录。《园艺学报》2005 年荣获第三届国家期刊奖，2008 年获中国科技信息所“中国精品科技期刊”称号及武汉大学中国科学评价研究中心“中国权威学术期刊”称号，2009 年获中国期刊协会和中国出版科学研究所“新中国 60 年有影响力的期刊”称号。2008 年《园艺学报》总被引频次 4 591 次，影响因子 1.075。

《园艺学报》为月刊，每月 25 日出版。2010 年每期定价 40.00 元，全年 480.00 元。国内外公开发行，全国各地邮局办理订阅，国内邮发代号 82－471，国外发行由中国国际图书贸易总公司承办，代号 M448。漏订者可直接寄款至本编辑部订购。

编辑部地址：北京市海淀区中关村南大街 12 号 中国农业科学院蔬菜花卉研究所《园艺学报》编辑部；

邮政编码：100081；电 话：（010）82109523。

E-mail:yuanyixuebao@126. com。网址：http://www.ahs.ac.cn。