

菊苣幼苗对铯、镉的生理响应

詹金熹¹, 陶宗娅^{1*}, 罗学刚², 李群¹, 汪汪一澜¹, 贾林波¹

(1.四川师范大学生命科学学院, 成都 610101; 2.生物质材料教育部工程研究中心 西南科技大学, 四川 绵阳 621010)

摘要:采用单因素铯(Cs)处理 [$\rho(\text{CsCl})20\sim140\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$]及镉(Cd)/铯复合处理 [$\rho(\text{CdCl}_2+\text{CsCl})20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+20\sim140\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$], 测定菊苣(*Cichorium intybus* L.)种子发芽特性、幼苗蛋白质和脯氨酸(Pro)含量及活性氧代谢变化, 研究镉/铯共存体系中铯的生物学效应。结果显示: (1)单因素 Cs^+ 处理对菊苣发芽势(GP)、发芽率(GR)和发芽指数(GI)的影响不显著, 随着 Cs^+ 浓度增加, 幼苗可溶性蛋白质含量呈递减趋势, 脯氨酸(Pro)含量、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性、超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)产生速率及过氧化氢(H_2O_2)和丙二醛(MDA)含量则总体上递增, 过氧化物酶(POD)活性有所增加; (2) $\text{Cd}^{2+}/\text{Cs}^+$ 复合处理下, 随着其中的 Cs^+ 浓度提高, SOD活性和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率先升后降, Pro含量、CAT活性等与单因素 Cs^+ 处理的变化趋势一致; (3)与单因素 Cs^+ 处理比较, 复合处理的蛋白质含量、SOD活性均有所降低, 其他代谢指标的值总体上高于单因素处理。研究表明, 低浓度 Cs^+ [$\rho(\text{CsCl})20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$]单因素处理对菊苣幼苗生长和活性氧代谢无显著影响, 高浓度 Cs^+ [$\rho(\text{CsCl})60\sim140\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$]单因素处理及 $\text{Cd}^{2+}/\text{Cs}^+$ 复合处理则表现严重的过氧化胁迫效应, 低浓度 Cs^+ 复合处理 [$\rho(\text{CdCl}_2)20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+\rho(\text{CsCl})20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$]具有对 Cd^{2+} 毒害的缓解作用, 但高浓度 Cs^+ 复合处理 [$\rho(\text{CdCl}_2+\text{CsCl})20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+60\sim140\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$]则产生显著的伤害性协同效应。

关键词: 铯; 镉; 脯氨酸含量; 活性氧代谢; 菊苣

中图分类号: X503.233 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2013)05-0902-08 doi:10.11654/jaes.2013.05.004

The Physiological Response of *Cichorium intybus* L. Seedlings to Treatments with Cesium and Cadmium

ZHAN Jin-xi¹, TAO Zong-ya^{1*}, LUO Xue-gang², LI Qun¹, WANG Wang-yi-lan¹, JIA Lin-bo¹

(1.College of Life Science, Sichuan Normal University, Chengdu 610101, China; 2.Engineering Research Center of Biomass Materials (SWUST), Ministry of Education, Mianyang 621010, China)

Abstract: The biological effects of cesium(Cs^+) in coexisting system of cesium and cadmium($\text{Cd}^{2+}/\text{Cs}^+$) were studied by analysing characteristics of seed germination in chicory(*Cichorium intybus* L.), contents of protein and proline, and metabolic changes of reactive oxygen species(ROS) with Cs^+ single factor treatments [$\rho(\text{CsCl})20\sim140\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$] and $\text{Cd}^{2+}/\text{Cs}^+$ combined treatments [$\rho(\text{CdCl}_2+\text{CsCl})20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+20\sim140\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$] in seedlings. The results showed that: (1) As the increase of different Cs^+ single factor processing concentration, there were no significant difference in germination potential(GP), germination rate(GR) and germination index(GI); there were the trends in which the soluble protein contents were generally declined, the contents of proline, H_2O_2 and MDA, $\text{O}_2^{\cdot-}$ productive rate, the activities of SOD and CAT were increased in general, and POD activities were improved. (2) In coexisting system of cesium and cadmium($\text{Cd}^{2+}/\text{Cs}^+$), SOD activities and $\text{O}_2^{\cdot-}$ productive rate were raised at first and then decreased as the Cs^+ concentration improved, but there were the same trend as Cs^+ single factor treatments about proline contents, CAT activities and others. (3) In comparison with the Cs^+ single factor treatments, the soluble protein contents and SOD activities were lower, others were higher generally. It was concluded that there were no significant effects on the growth and ROS metabolism in chicory seedling under lower Cs^+ single factor concentration [$\rho(\text{CsCl})20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$], but the severe peroxide injury were produced by treatments with higher Cs^+ single factor concentration [$\rho(\text{CsCl})60\sim140\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$] and $\text{Cd}^{2+}/\text{Cs}^+$ combined. There were possible alleviation of Cd toxicity under lower Cs^+ concentration of $\text{Cd}^{2+}/\text{Cs}^+$ combined [$\rho(\text{CdCl}_2)20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+\rho(\text{CsCl})20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$], but there were obvious harmful synergistic effects under higher Cs^+ concentration of that [$\rho(\text{CdCl}_2+\text{CsCl})20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+60\sim140\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$].

Keywords: cesium; cadmium; the contents of proline; active oxygen metabolism; chicory

收稿日期: 2012-10-22

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划项目子课题(2007BAB18B08-1); 生物质材料教育部工程研究中心(西南科技大学)高技术重点课题(09zxhk03); 四川省教育厅重点课题(11ZA096)

作者简介: 詹金熹(1989—), 男, 甘肃卓尼人, 本科, 主要从事植物环境生理生化研究。E-mail: zhanjinxixi052@163.com

* 通信作者: 陶宗娅 E-mail: t89807596@yahoo.com.cn

随着核工业和核技术的发展,放射性核素广泛应用于人们的生产和生活中。含有放射性核素的废弃物进入环境中,造成大气、水体及土壤污染,土壤中放射性核素的本底值表现出不断增加的趋势,对人类健康造成危害。放射性核素污染的植物修复技术已成为近年来的研究热点^[1]。铯(¹³⁷Cs)是一种常见的放射性污染物,也是生物学上最危险的放射性核素之一^[2],其毒理机制主要在于铯(Cs⁺)进入细胞后取代钾(K⁺),导致细胞内代谢过程中需要K⁺起作用的关键组分失去活性^[3]。大量实验已证实,微量的铯能够维持生物体内电解质平衡,但过量的铯则具有一定的毒害性,这种双重作用使得铯在生物学功能和效应中表现出复杂性^[2]。目前关于对¹³⁷Cs污染进行植物修复的研究较多,主要集中在植物对¹³⁷Cs富集能力的探索^[4-5],但¹³⁷Cs对植物生长代谢的影响及毒理学的相关研究相对较少。Zaka R等^[6]认为,长期暴露在¹³⁷Cs辐照环境中的针茅叶片过氧化物酶活性发生变化。张晓雪等研究发现,随着铯处理浓度增加,蚕豆苗总生物量呈现递减趋势,叶片丙二醛含量、可溶性糖含量逐渐升高,根系活力先增强后减弱^[1];鸡冠花幼苗株高、根长、根、茎、叶的干重、总生物量随着铯处理浓度的增加而递减,叶绿素、丙二醛含量则先增后减^[7]。

镉(Cd)是环境中生物毒性最强的重金属之一,通过食物链进入人体后会引发多种疾病,危害重大^[8]。目前,关于Cd对植物的生长发育及代谢的影响已积累了较丰富的研究成果。Cd对植物的毒害作用主要表现在引起植物根损伤、抑制细胞乃至整个植株生长、抑制植物光合作用和呼吸作用、引发氧化胁迫等^[8-9]。但关于Cd与Cs共存体系中Cs的生物学效应的研究则少有报道。

菊苣为菊科菊苣属一年生或多年生草本植物。菊苣用途十分广泛,可作为高档蔬菜、新型优质牧草、香料、少数民族习用药材^[10],其有机溶剂提取物还可用于开发绿色驱虫剂和除草剂^[11-12]。菊苣植株茂盛,叶片呈深绿色,蓝紫色花蕾,花期长,生长速度快,适应性强,可作为广泛栽种的草坪草或盆景花卉,用于绿化和观赏^[10]。因其对土壤要求不严,抗逆性强,宜用作厂区、矿区绿化植物。

目前关于放射性核素铯以及铯与重金属镉复合胁迫对菊苣生理生化影响的研究鲜有报道。本文以化学性质与¹³⁷Cs十分相似的稳定性核素¹³³Cs代替¹³⁷Cs,研究菊苣发芽特性及活性氧代谢对氯化铯(CsCl)单因素处理及氯化镉(CdCl₂)与CsCl复合处理

的响应,为拟采用菊苣作为铯污染地域植物修复的应用研究及筛选铯富集植物提供依据,并基于铯具备双重生物学效应,探讨铯的介入对镉胁迫下的菊苣生理生化的影响和作用。

1 材料与方法

1.1 试材及处理

菊苣(*Cichorium intybus* L.)购自成都市花卉市场。选取饱满程度一致的种子摆放于垫有一层滤纸的培养皿(9 cm)中,每皿100粒,分成两组进行如下处理:一组为单因素CsCl处理,加入CsCl浓度[ρ(CsCl)]分别为20(t₁)、60(t₂)、100(t₃)、140(t₄)mg·L⁻¹的溶液5 mL;另一组为镉/铯复合处理,加入氯化镉(CdCl₂)浓度20 mg·L⁻¹,ρ(CsCl)分别为20(T₁)、60(T₂)、100(T₃)、140(T₄)mg·L⁻¹的复合溶液5 mL,以蒸馏水处理为对照1(CK₁),以ρ(CdCl₂)20 mg·L⁻¹处理为阳性对照,记为CK₂。以上各处理液浓度均为终浓度,各处理均重复3次。

将培养皿置25℃恒温培养室,光/暗(14 h/10 h)交替光照培养,每隔3 d添加一定量的蒸馏水,保持滤纸湿润,连续培养10 d,培养期间每日观察和记录种子发芽情况。分别于处理后第3 d统计发芽势,第7 d统计发芽率,第10 d统计发芽指数;于第5 d选取长势一致的幼苗整株分别测定可溶性蛋白质、脯氨酸(Pro)、过氧化氢(H₂O₂)和丙二醛(MDA)含量,测定超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性及超氧阴离子自由基(O₂^{·-})产生速率。

1.2 测试方法

$$\text{发芽势(GP)} = G_t / T \times 100\%$$

$$\text{发芽率(GR)} = G_t / T \times 100\%$$

$$\text{发芽指数(GI)} = \sum (G_t / D_t)^{1/3}$$

其中: G_t 为在 t 日的发芽数(发芽势为3 d,发芽率为7 d); D_t 为相应的发芽天数; T 为种子总数。

用考马斯亮蓝G-250法^[14]测定蛋白质含量,以mg·g⁻¹ FW表示。用水合茚三酮法^[14]测定Pro含量,以μg·g⁻¹ FW表示。用氯化硝基四氮唑蓝(NBT)法^[14]测定SOD活性,以U·min⁻¹·mg⁻¹蛋白表示,酶活力单位(U)定义为将NBT还原抑制为对照一半(50%)时所需的酶量。用愈创木酚法^[14]测定POD活性,以U·min⁻¹·g⁻¹ FW表示,U定义为470 nm处吸光度值变化0.01。用分光光度法^[15]测定CAT活性,以U·min⁻¹·g⁻¹ FW表示,U定义为240 nm处吸光度变化0.01。参照李忠光等^[16]的方法测定O₂^{·-}产生速率,以μmol·min⁻¹·g⁻¹ FW表示。用硫酸钛法^[17]测定H₂O₂含量,以μmol·g⁻¹ FW

表示。用硫代巴比妥酸(TBA)法^[14]测定 MDA 含量,以 $\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 表示。测试分析均重复 3 次。

1.3 数据统计

采用 SPSS 15.0 进行单因素方差分析、简单相关分析及偏相关分析,选择最小显著性差异法(LSD 法)进行均值多重比较,用 Excel 2010 作图。

2 结果与分析

2.1 菊苣种子发芽特性

单因素 Cs^+ 及 $\text{Cd}^{2+}/\text{Cs}^+$ 复合处理下,菊苣种子发芽特性与 CK_1 、 CK_2 比较的差异及处理之间的差异均未达显著水平($P>0.05$),发芽势为 74%~75.3%,发芽率为 91.7%~93.3%,发芽指数为 145.6~149.3(资料未列出),表明菊苣种子萌发对 $\rho(\text{CsCl}) 20 \sim 140 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 及 $\rho(\text{CdCl}_2 + \text{CsCl}) 20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + 20 \sim 140 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的处理不敏感,这在很大程度上是由于较坚硬的种皮对外源物质渗入的限制。

2.2 菊苣幼苗主要内含物及活性氧代谢变化

2.2.1 蛋白质含量

由图 1 可见,与 CK_1 比较,单因素 Cs^+ 处理的蛋白质含量均略有降低,分别减少 2.8%~11.4%,且 t_2 、 t_4 处理极显著降低($P<0.01$),表明随着 Cs^+ 浓度增加,菊苣幼苗蛋白质代谢受到一定影响; $\text{Cd}^{2+}/\text{Cs}^+$ 复合处理的蛋白质含量均极显著降低($P<0.01$), $T_1 \sim T_3$ 处理分别下降 12.8%~15.4%,且均低于相应的单因素 Cs^+ 处理。但与 CK_2 比较,除 T_3 外各复合处理的蛋白质含量均极显著增加($P<0.01$),表明氯化铯对氯化镉胁迫下菊苣幼苗的蛋白质降解具有一定的缓解作用。

2.2.2 脯氨酸含量

由图 2 可见,与 CK_1 比较,单因素 Cs^+ 处理 $t_2 \sim t_4$

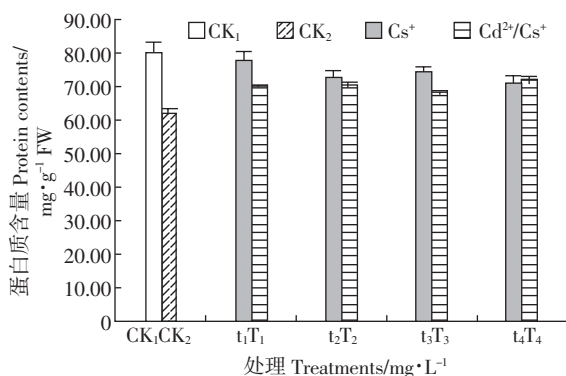


图 1 单因素 Cs^+ 和 $\text{Cd}^{2+}/\text{Cs}^+$ 复合处理对菊苣幼苗蛋白质含量的影响

Figure 1 Effects of different treatments with Cs^+ single factor and $\text{Cd}^{2+}/\text{Cs}^+$ complex factors on protein contents in chicory seedlings

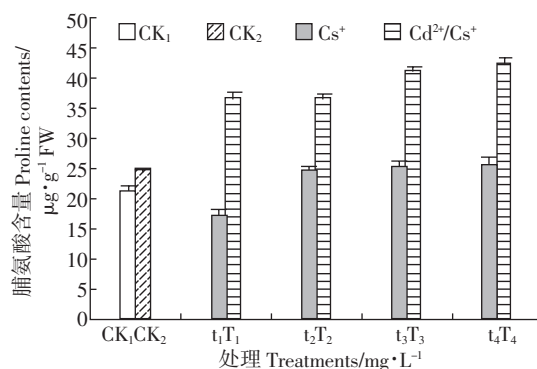


图 2 单因素 Cs^+ 和 $\text{Cd}^{2+}/\text{Cs}^+$ 复合处理对菊苣幼苗脯氨酸含量的影响

Figure 2 Effects of different treatments with Cs^+ single factor and $\text{Cd}^{2+}/\text{Cs}^+$ complex factors on proline contents in chicory seedlings

范围内菊苣幼苗 Pro 含量随 Cs^+ 浓度增加而递增,分别为 16.3%、20.3%和 21.9%,其中 t_3 、 t_4 处理比 CK_1 极显著增加, $t_2 \sim t_4$ 处理比 t_1 极显著增加($P<0.01$)。复合处理的 Pro 含量均极显著高于 CK_1 、 CK_2 及相应的单因素 Cs^+ 处理($P<0.01$),且随着 Cs^+ 浓度增加呈现递增趋势。相关性分析结果显示,单因素及复合处理的蛋白质含量与 Pro 含量之间的 Person 相关系数为 $r_{0.01} = -0.747$ 和 $r_{0.05} = -0.253$,即分别为极显著负相关关系($P<0.01$)和不显著的负相关关系($P>0.05$)。

将蛋白质含量与脯氨酸含量进行相关性分析,用以判断脯氨酸含量增量的大致来源。相关分析结果显示,单因素处理下二者之间呈现极显著的负相关性,表明脯氨酸增量可能主要来自于蛋白质的降解;复合处理下二者的负相关性不显著,表明脯氨酸增量应主要来自于脯氨酸的合成,说明复合处理对菊苣幼苗脯氨酸合成体系有一定的激活作用。

2.2.3 抗氧化酶活性

由测试结果可见,3 种抗氧化酶中 SOD 活性变化突出。随着单因素 Cs^+ 浓度增加,SOD 活性逐渐提高(图 3),且均极显著高于 CK_1 和 CK_2 ($P<0.01$);复合处理的 SOD 活性呈现“先升后降”趋势,虽均极显著高于 CK_1 和 CK_2 ($P<0.01$),但均低于单因素 Cs^+ 处理,其中以 T_2 处理的活性相对较高,表明单独存在的铯及其与镉共存时对诱导提高 SOD 活性的作用十分明显。

POD 活性变化的差异均未达显著水平(图 4),单因素处理的峰值分别出现在 t_2 和 t_4 ,比 CK_1 均增加约 2.1%,复合处理 T_2 的活性较高,比 CK_1 、 CK_2 均增加约 4.4%,表明 POD 仍保持着较高的将 H_2O_2 转化为 H_2O 和 O_2 的催化活性。

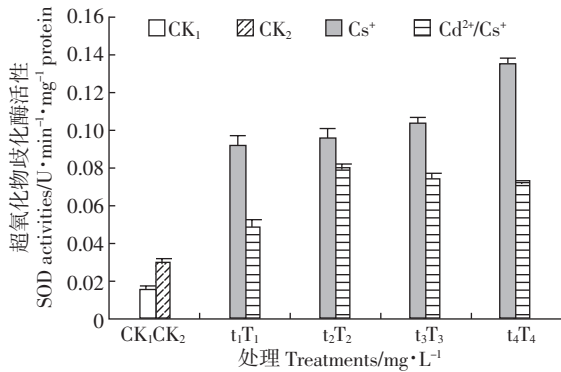
图3 单因素Cs⁺和Cd²⁺/Cs⁺复合处理对菊苣幼苗SOD活性的影响

Figure 3 Effects of different treatments with Cs⁺ single factor and Cd²⁺/Cs⁺ complex factors on SOD activities in chicory seedlings

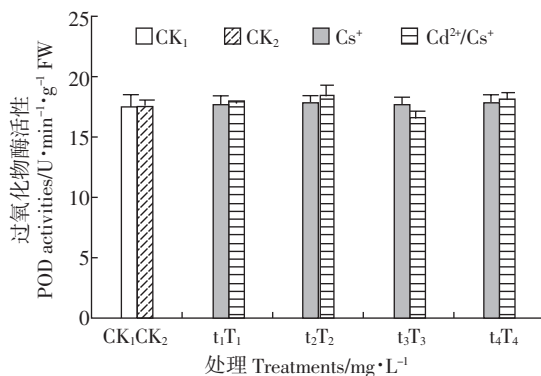
图4 单因素Cs⁺和Cd²⁺/Cs⁺复合处理对菊苣幼苗POD活性的影响

Figure 4 Effects of different treatments with Cs⁺ single factor and Cd²⁺/Cs⁺ complex factors on POD activities in chicory seedlings

CAT活性随单因素Cs⁺浓度增加而提高(图5),除t₁外均极显著高于CK₁($P<0.01$);复合处理的CAT活性均极显著高于CK₁($P<0.01$),明显高于单因素处理,但与CK₂比较的差异未达显著水平($P>0.05$),表明单因素Cs⁺及Cd²⁺/Cs⁺复合处理均呈现增强CAT催

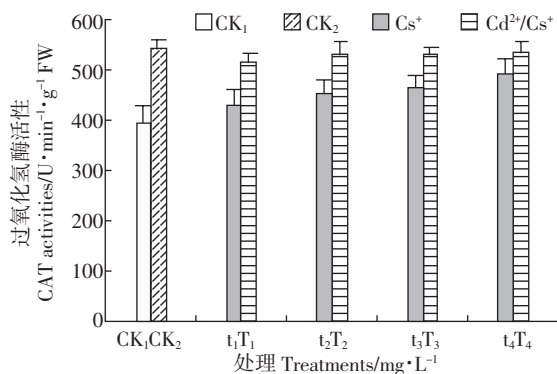
图5 单因素Cs⁺和Cd²⁺/Cs⁺复合处理对菊苣幼苗CAT活性的影响

Figure 5 Effects of different treatments with Cs⁺ single factor and Cd²⁺/Cs⁺ complex factors on CAT activities in chicory seedlings

化功能的生物学效应。

2.2.4 活性氧变化

与CK₁比较,菊苣幼苗O₂[·]产生速率(图6)随单因素Cs⁺浓度增加分别提高11.7%(t₁)、17.7%(t₂)、15.0%(t₃)和58.7%(t₄),其中t₄处理与CK₁比较的差异达极显著水平($P<0.01$);复合处理的O₂[·]产生速率均高于CK₁,T₂~T₄处理高于CK₂,T₂、T₃处理高于相应的单因素Cs⁺处理,也极显著高于CK₁和CK₂($P<0.01$),表明高浓度铈与一定量镉共存时对菊苣幼苗O₂[·]累积存在显著的诱导作用和叠加效应。简单相关分析结果显示,单因素Cs⁺及复合处理的SOD活性与O₂[·]产生速率之间均呈极显著的正相关关系($P<0.01$),Person相关系数分别为 $r_{0.01}=0.786$ 和 $r_{0.01}=0.795$,说明SOD在清除O₂[·]过程中发挥着很大的作用。

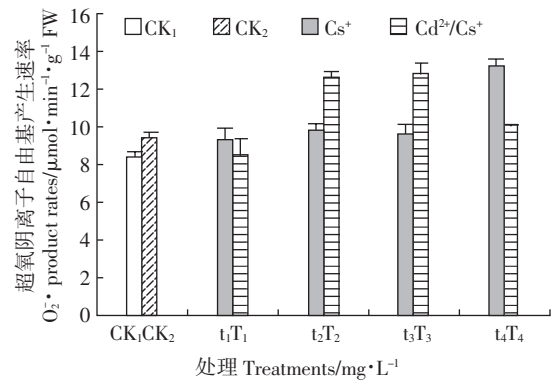
图6 单因素Cs⁺和Cd²⁺/Cs⁺复合处理对菊苣幼苗O₂[·]产生速率的影响

Figure 6 Effects of different treatments with Cs⁺ single factor and Cd²⁺/Cs⁺ complex factors on O₂[·] product rates in chicory seedlings

由图7可见,阳性对照CK₂的H₂O₂含量高于CK₁和其他处理,且与CK₁比较的差异极显著($P<0.01$),表明 $\rho(\text{CdCl}_2)$ 20 mg·L⁻¹处理明显诱导H₂O₂累

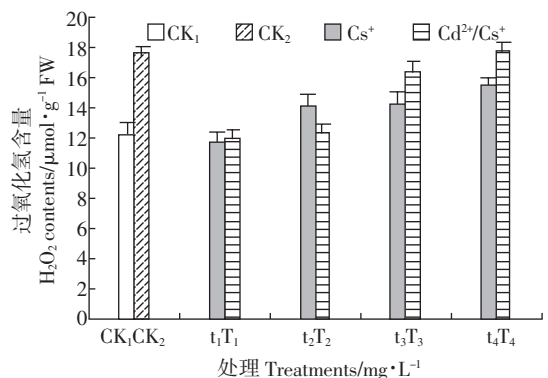
图7 单因素Cs⁺和Cd²⁺/Cs⁺复合处理对菊苣幼苗H₂O₂含量的影响

Figure 7 Effects of different treatments with Cs⁺ single factor and Cd²⁺/Cs⁺ complex factors on H₂O₂ contents in chicory seedlings

积。单因素 Cs^+ 处理的 H_2O_2 含量随 Cs^+ 浓度增加而递增, 其中 t_4 极显著高于 CK_1 ($P < 0.01$)。复合处理 $T_3 \sim T_4$ 极显著高于 CK_1 ($P < 0.01$), 但 T_1 时低于 CK_1 , 表明镉胁迫下较低浓度的 Cs^+ 具有缓解 H_2O_2 累积的作用, 较高浓度的 Cs^+ 则可能与镉的胁迫作用叠加而促进 H_2O_2 累积。

偏相关分析结果显示, 单因素 Cs^+ 处理下, SOD、POD、CAT 3 种抗氧化酶活性与 H_2O_2 含量的偏相关系数分别为 0.044、0.052 和 0.589, 即该 3 种酶活性与 H_2O_2 含量均呈正相关。但这一结果与 POD、CAT 催化分解 H_2O_2 的主要生物学功能不符, 即偏相关系数较大的 CAT 与 H_2O_2 含量的关系异常。为避免造成干扰, 将该组数据剔除, 重新求得 SOD 和 POD 活性与 H_2O_2 含量的偏相关系数分别为 0.705 和 -0.174, 该结果符合两种酶的主要催化功能, 且 SOD 活性与 H_2O_2 含量的偏相关系数大于临界值 ($r_{0.05} = 0.630$), 即二者之间的正相关性达到显著水平 ($P < 0.05$)。同样, 求得复合处理下 3 种抗氧化酶活性与 H_2O_2 含量的偏相关系数分别为 -0.221、-0.287 和 0.520, 即 SOD、POD 活性与 H_2O_2 含量呈负相关, 该结果虽符合 POD 的催化功能, 但与 SOD 的作用不尽一致, CAT 活性与 H_2O_2 含量的偏相关系数为正值, 也与其功能不符, 故淘汰该组数据, 重新求得 SOD、POD 活性与 H_2O_2 含量的偏相关系数分别为 0.174 和 -0.347, 即 SOD、POD 活性与 H_2O_2 含量分别具有正相关性和负相关性, 表明 SOD 对分解 $\text{O}_2 \cdot$ 形成 H_2O_2 及 POD 分解过量 H_2O_2 具有实质性贡献。

2.2.5 丙二醛含量

由图 8 可见, 单因素 Cs^+ 及复合处理下, 菊苣幼苗

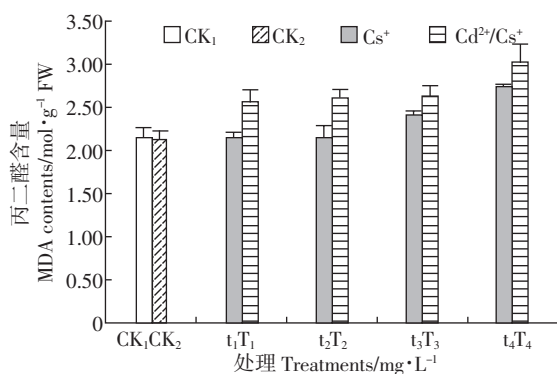


图 8 单因素 Cs^+ 和 $\text{Cd}^{2+}/\text{Cs}^+$ 复合处理对菊苣幼苗 MDA 含量的影响

Figure 8 Effects of different treatments with Cs^+ single factor and $\text{Cd}^{2+}/\text{Cs}^+$ complex factors on MDA contents in chicory seedlings

MDA 含量均高于 CK_1 和 CK_2 。单因素 t_4 处理与 CK_1 比较的差异达极显著水平 ($P < 0.01$), 表明高浓度 Cs^+ 处理具有促进膜脂过氧化的负效应。复合处理的 MDA 含量均高于相应的单因素处理, $T_1 \sim T_3$ 处理比 CK_1 增加 19.9%~22.6%, 比 CK_2 增加 20.3%~23.0%, T_4 处理与 CK_1 、 CK_2 比较的差异均达到极显著水平 ($P < 0.01$), 说明高浓度镉/铯共存条件进一步加剧了菊苣幼苗体内过氧化伤害。

偏相关分析结果显示, $\text{O}_2 \cdot$ 产生速率与 MDA 含量之间、 H_2O_2 含量与 MDA 含量之间的偏相关系数分别为 0.369/0.126 (单因素处理) 和 0.701/0.238 (复合处理), 说明 $\text{O}_2 \cdot$ 产生速率与 MDA 含量之间、 H_2O_2 含量与 MDA 含量之间均具有正相关性, 且复合处理下 $\text{O}_2 \cdot$ 产生速率与 MDA 含量偏相关系数大于临界值 ($r_{0.01} = 0.677$), 即二者呈极显著正相关性。

3 讨论

Cs 和 Cd 是植物生长非必需营养元素, 一定剂量的 Cs 、 Cd 均对植物生长发育产生毒害作用。 Cs 是一种放射性核素, 与钾 (K) 为同族元素, 化学性质与 K 相似, 但不具有 K 在生物体内特殊的生物学作用^[18]。研究表明^[19-20], 随着外源 K^+ 浓度增加, 小麦和刀豆对土壤中 ^{137}Cs 的吸收减少; 当植物根部 $\rho(\text{Cs}^+) > 200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时会造成植物因缺钾而生长受阻, 当补充更多钾元素后则植物恢复生长。张晓雪等^[7]研究发现, 高浓度 Cs 对鸡冠花幼苗生长产生抑制作用, 幼苗生物量下降, 叶绿素含量降低, MDA 含量升高。进一步研究表明, Cs^+ 跨膜运输与细胞膜上的 K^+ 通道有关, 即对 K^+ 跨膜运输存在竞争性抑制作用, 这可能是 Cs 对植物产生毒害的机制之一^[3]。 Cd 是一种对生物具有很大毒性的重金属, 其植物毒性机制主要体现在 Cd 对许多生物大分子如核酸、蛋白质的巯基 ($-\text{SH}$) 及磷酸盐基团表现出一定的亲和力, 且容易移动, 常在生长旺盛部位集中表现出较强的毒害效应^[9]。大量研究表明, 较低浓度 Cd 即对植物幼苗生长、生物量、抗氧化酶系统、生物大分子及细胞膜等产生明显的毒害作用。

种子萌发期间主要依靠胚乳或子叶贮存的营养物质自养。本实验表明, 单因素 Cs^+ 处理及 $\text{Cd}^{2+}/\text{Cs}^+$ 复合处理下, 菊苣发芽势、发芽率及发芽指数未受到显著影响, 说明菊苣种子对浓度低于 $140 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Cs^+ 处理及 $\text{Cd}^{2+}/\text{Cs}^+$ 共存形成的复合胁迫有一定的耐受力, 其原因是由于种皮具有物理阻隔作用, 对幼胚萌动和幼苗生长起到了一定的保护。这与丁园等^[21]的研

究结果一致。

蛋白质是生物体内重要的生物大分子,种子萌动期间幼胚细胞内蛋白质代谢以合成为主。本实验结果表明,单因素 Cs^+ 处理对蛋白质合成代谢产生一定的影响,即随 Cs^+ 浓度 [$\rho(\text{CsCl})20\sim140\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$] 增加蛋白质含量降低(图1),复合处理的蛋白质含量进一步显著降低,说明蛋白质合成系统可能被严重破坏。但与 $\rho(\text{CdCl}_2)20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 阳性对照(CK_2)比较,复合处理的蛋白质含量均不同程度回升,说明镉/铈共存形成的胁迫可能诱导某些特异性逆境蛋白的合成,也表明铈具有对镉胁迫的缓解作用。

脯氨酸是重要的渗透调节物质,脯氨酸累积在植物逆境胁迫中发挥着重要作用。植物体内合成和累积脯氨酸与植物清除过量活性氧及防御膜脂过氧化伤害有密切关系^[22]。孙瑞莲研究指出^[9],脯氨酸可与 Cd^{2+} 结合形成无毒的 Cd -脯氨酸螯合物,认为这种方式是植物抵御镉毒害的重要机理。盐胁迫下,菊苣幼苗脯氨酸合成的关键酶 Δ^1 -吡咯啉-5-羧酸合成酶(P5CS)、 δ -氨基转移酶(δ -OAT)活性均不同程度提高,而其分解代谢的关键酶脯氨酸脱氢酶(ProDH)活性则有所降低^[23];多年生黑麦草 P5CS 基因的表达量也有所增加,且该基因在生物进化过程中具有高度的保守性^[24]。这说明脯氨酸含量的增加和累积是植物抵御逆境胁迫的机制之一,可能参与了相关抗性基因表达的调控。本实验结果表明,单因素及复合处理下,菊苣幼苗脯氨酸含量均随 Cs^+ 浓度增加而升高,且复合处理比 CK_1 、 CK_2 及相应的单因素处理明显升高(图2),说明该两种处理对菊苣幼苗的正常代谢已构成胁迫,镉、铈共存形成的胁迫更为严重;同时,单因素处理下蛋白质含量与脯氨酸含量变化呈极显著的负相关性,复合处理下二者之间的负相关性则不显著。由此可初步判断,单因素处理下的脯氨酸增量主要来源于幼苗体内已有蛋白质的大量降解,复合处理下脯氨酸含量显著提高,可能主要是由于菊苣幼苗脯氨酸合成代谢加强的结果。

重金属、干旱等胁迫下,植物体内活性氧(ROS)的产生与清除失衡,过量 ROS 对细胞结构与功能将产生多方面的过氧化伤害。SOD 通过歧化反应清除 $\text{O}_2\cdot$,其产物 H_2O_2 则由 POD 和 CAT 清除^[25]。本实验结果表明,两种处理下菊苣幼苗 SOD、POD 和 CAT 活性均有所增加,表明这可能是菊苣抵御单因素 Cs^+ 及 $\text{Cd}^{2+}/\text{Cs}^+$ 复合胁迫的机制之一,也说明该两种处理形成了一定的过氧化伤害。其中,SOD 活性在 $\rho(\text{CsCl})20\sim140\text{ mg}\cdot$

L^{-1} 范围内逐渐递增,且与 $\text{O}_2\cdot$ 产生速率、 H_2O_2 含量之间表现出显著的正相关性,一方面说明 Cs^+ 处理诱导了菊苣幼苗 SOD 活性增强,促进 $\text{O}_2\cdot$ 转化为 H_2O_2 ,另一方面则表明单因素 Cs^+ 处理诱导 ROS 累积,导致 ROS “迸发”,可能成为介导抗性基因表达的信号之一。 $\text{Cd}^{2+}/\text{Cs}^+$ 复合处理的 SOD 活性均低于相应的单因素处理,说明菊苣幼苗抵御镉、铈双重胁迫的应激反应能力降低。当植物体内过氧化作用增强并达到一定伤害程度时,可能破坏 SOD 结构和功能的完整性,表现为 SOD 活性降低,与 H_2O_2 含量的相关性也随之降低,这与幼苗可溶性蛋白质含量随着处理浓度的提高而降低相吻合。POD 活性在两种处理下变化均不明显,且单因素与复合处理之间的差异较小,但偏相关分析结果显示其与 H_2O_2 含量为负相关关系,说明菊苣幼苗 POD 活性对清除过量 H_2O_2 发挥了较大作用,且其在增幅变化较小的情况下即表现明显的 H_2O_2 分解作用,这与刘福平等^[26]的研究结果一致。CAT 活性在单因素及复合处理浓度范围内均逐渐递增,但与 H_2O_2 含量的关系为正相关,这与该酶的主要催化功能相反,说明本实验体系中 CAT 对分解过量 H_2O_2 的贡献较小, H_2O_2 的清除主要由 POD 完成。复合处理下 CAT 活性增幅较小,且酶活性均高于 CK_1 和相应单因素处理水平而低于 CK_2 ,表明过氧化伤害可能造成 CAT 结构和功能受到损害。

$\text{O}_2\cdot$ 及其歧化产物 H_2O_2 均为强氧化剂,二者在植物体内的积累均会对植物产生严重的过氧化伤害。张芬琴等^[27]用不同浓度 Cd 处理绿豆和箭舌豌豆幼苗,发现其 $\text{O}_2\cdot$ 和 H_2O_2 含量均随处理浓度增加和处理时间延长而升高。本实验结果表明,两种处理下菊苣幼苗 $\text{O}_2\cdot$ 产生速率比 CK_1 均有所增加,对幼苗造成了不同程度的过氧化胁迫。单因素处理下增幅较小,这主要是由于 SOD 活性提高的缘故;复合处理下 $\text{O}_2\cdot$ 迅速积累, T_2 、 T_3 处理均高于单因素处理和 CK_2 ,说明镉/铈共存加剧了过氧化胁迫程度,其原因可能与 SOD 活性降低有关。近年来的研究表明^[28], H_2O_2 可作为细胞信号分子,在植物抗逆胁迫中以信号转导方式参与一系列胁迫应答调控。本实验中菊苣幼苗 H_2O_2 含量均随处理浓度的提高而逐渐上升,可能也与信号转导和放大有关,同时也对幼苗造成了一定的过氧化伤害。在 Cs^+ 浓度为 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,两种处理下的 H_2O_2 含量均低于 CK_1 和 CK_2 ,则可能与 POD 活性提高有关。

MDA 是细胞膜脂过氧化的主要产物之一,其含量可作为判断细胞膜脂过氧化程度的指标。张超兰等^[29]

在水牛美人蕉、红蛋、风车草、彩叶草4种湿地植物中发现,随着Cd浓度增加,4种植物叶片MDA含量逐渐上升,同时叶片膜透性也呈递增的趋势,说明Cd胁迫导致的膜脂过氧化损伤加重。本实验在单因素及复合处理浓度范围内,菊苣幼苗MDA含量均呈现与浓度之间的“量-效”关系,且复合处理下MDA含量更高,说明该两种处理均导致了幼苗膜脂过氧化,且复合处理的损伤程度加重。采用偏相关方法分析,表明造成这种膜脂过氧化伤害的主要因素及其作用强度,表明过量 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 累积均为膜脂过氧化伤害的主要原因,且 $O_2^{\cdot-}$ 的伤害效应大于 H_2O_2 ,这可能与SOD活性的降低导致 $O_2^{\cdot-}$ 大量累积有关。

4 结论

单因素铯[$p(CsCl)20\sim140\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$]处理、镉/铯复合处理[$p(CdCl_2+CsCl)20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+20\sim140\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$]对菊苣种子萌发无显著影响,但均对菊苣幼苗产生不同程度的过氧化伤害;单因素铯在较低浓度[$p(CsCl)20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$]时对菊苣幼苗生长代谢的影响较小,但高浓度[$p(CsCl)60\sim140\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$]时逐渐呈现明显的过氧化伤害;复合处理中当 Cs^+ 浓度较低[$p(CdCl_2)20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+p(CsCl)20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$]时具有缓解镉胁迫的作用,当 Cs^+ 浓度较高[$p(CdCl_2+CsCl)20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+60\sim140\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$]时则形成强度较大的伤害性叠加效应,表明环境中当多种重金属共存时极易形成协同作用而导致植物生长和代谢异常。本实验中Pro含量和SOD活性变化对单因素铯处理及镉、铯复合处理极其敏感,可作为判断重金属胁迫的指标。但高浓度铯的胁迫机制及Pro、 H_2O_2 作为信号分子参与铯过量形成的逆境胁迫应答的信号转导机制有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 张晓雪,王丹,李卫峰,等. ^{137}Cs 和 ^{90}Sr 在蚕豆苗中的蓄积及其辐射损伤效应[J].辐射研究与辐射工艺学报,2010,28(1):48-52.
ZHANG Xiao-xue, WANG Dan, LI Wei-feng, et al. Studies on accumulation of ^{137}Cs and ^{90}Sr in *Vicia faba* Linn and irradiation damage effect [J]. *Journal of Radiation Research and Radiation Processing*, 2010, 28(1):48-52.
- [2] 卢靖,王颖松,蒋育澄,等.金属铯的生物化学研究进展[J].稀有金属,2006,30(5):682-687.
LU Jing, WANG Ying-song, JIANG Yu-cheng, et al. Progress in biochemical studies on metal cesium[J]. *Chinese Journal of Rare Metals*, 2006, 30(5):682-687.
- [3] 冯云晓,蒋育澄,胡满成,等.有机铯化合物对人红细胞的跨膜行为研究[J].无机化学学报,2007,23(3):421-426.
FENG Yun-xiao, JIANG Yu-cheng, HU Man-cheng, et al. Trans-erythrocyte membrane behavior of organocesium compounds[J]. *Chinese Journal of Inorganic Chemistry*, 2007, 23(3):421-426.
- [4] 陈梅,安冰,唐运来.苋菜、小麦和玉米对铯的吸收和积累差异[J].作物研究,2012,26(5):512-517.
CHEN Mei, AN Bing, TANG Yun-lai. Difference in uptake and accumulation of Cesium between amaranth, wheat and maize [J]. *Crop Research*, 2012, 26(5):512-517.
- [5] 廖上强,郭军康,王芳丽,等.美洲商陆和籽粒苋对接种伯克氏菌的生理生化响应及其对富集铯的影响[J].环境科学学报,2012,32(1):213-223.
LIAO Shang-qiang, GUO Jun-kang, WANG Fang-li, et al. The physiological and biochemical responses of *P. americana* L. and *A. crententus* L. to inoculation with *Burkholderia* sp. and its effect to Cs accumulation [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2012, 32(1):213-223.
- [6] Zara R, Vandecasteele C M, Misset M T. Effects of low chronic doses of ionizing radiation on antioxidant enzymes and G6PDH activities in *Stipa capillata* (Poaceae)[J]. *Journal Experimental Botany*, 2002, 53(376):1979-1987.
- [7] 张晓雪,王丹,钟钊芝,等.鸡冠花(*Celosia cristata* Linn)对Cs和Sr的胁迫反应及其积累特征[J].核农学报,2010,24(3):628-633.
ZHANG Xiao-xue, WANG Dan, ZHONG Mu-zhi, et al. Response of *Celosia cristata* Linn to Cs and Sr stress and their accumulation characteristic[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2010, 24(3):628-633.
- [8] 张军,束文圣.植物对重金属镉的耐受机制[J].植物生理与分子生物学学报,2006,32(1):1-8.
ZHANG Jun, SHU Wen-sheng. Mechanisms of heavy metal cadmium tolerance in plants[J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2006, 32(1):1-8.
- [9] 孙瑞莲.镉超积累植物的生态特征及污染耐性机理分析[D].沈阳:中国科学院沈阳应用生态研究所,2006:1-159.
SUN Rui-lian. Ecological characteristics of cadmium-hyperaccumulators and their mechanism analysis of pollution endurance[D]. PhD Thesis. Shenyang: Chinese Academy of Sciences, 2006:1-159.
- [10] 张玉,白史旦,李达旭,等.菊苣开发与利用[J].中国野生植物资源,2009,28(4):10-19.
ZHANG Yu, BAI Shi-qie, LI Da-xu, et al. Exploitation and utilization of *Cichorium intybus* L.[J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 2009, 28(4):10-19.
- [11] 孙雯姿,呼天明,王隼珍,等.菊苣叶片不同溶剂提取物对粘虫的生物活性[J].植物资源与环境学报,2010,19(4):31-36.
SUN Luan-zi, HU Tian-ming, WANG Quan-zhen, et al. Bioactivity of different solvent extracts from *Cichorium intybus* leaf on *Mythimna separata*[J]. *Journal of Plant Resources and Environment*, 2010, 19(4):31-36.
- [12] 孙雯姿,呼天明,王隼珍.菊苣根提取物除草活性的研究[J].草地学报,2010,18(3):473-476.
SUN Luan-zi, Hu Tian-ming, WANG Quan-zhen, et al. Studies on herbicidal activities of four solvent extracts from the root of *Cichorium intybus* L.[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2010, 18(3):473-476.

- [13] 郑昀晔, 马文广, 李永平, 等. 铅污染对烟草种子发芽性状的影响[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(4):1828-1831.
- ZHENG Yun-ye, MA Wen-guang, LI Yong-ping, et al. Influence of lead pollution on the germinative traits of tobacco seeds[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2010, 38(4):1828-1831.
- [14] 李合生. 植物生理生化实验原理与技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2000.
- LI He-sheng. Plant physiology and biochemistry experiment principle and technology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000.
- [15] 李仕飞, 刘世同, 周建平, 等. 分光光度法测定植物过氧化氢酶活性的研究[J]. 安徽农学通报, 2007, 13(2):72-73.
- LI Shi-fei, LIU Shi-tong, ZHOU Jian-ping, et al. Measurement of catalase vigor in plants with spectrophotometry[J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2007, 13(2):72-73.
- [16] 李忠光, 龚明. 植物中超氧阴离子自由基测定方法的改进[J]. 云南植物研究, 2005, 27(2):211-216.
- LI Zhong-guang, GONG Ming. Improvement of measurement method for superoxide anion radical in plant[J]. *Acta Botanica Yunnanica*, 2005, 27(2):211-216.
- [17] 刘小为, 陈忠林, 沈吉敏, 等. 硫酸钛光度法测定 O_3/H_2O_2 体系中低浓度 H_2O_2 [J]. 中国给水排水, 2010, 26(16):126-129.
- LIU Xiao-wei, CHEN Zhong-lin, SHEN Ji-min, et al. Spectrophotometric determination of low concentration of hydrogen peroxide in O_3/H_2O_2 system using titanium sulfate[J]. *China Water & Waste Water*, 2010, 26(16):126-129.
- [18] Hampton C R, Bowen H C, Broadley M R, et al. Cesium toxicity in *A. thaliana* [J]. *Plant Physiology*, 2004, 136(3):3824-3837.
- [19] 徐寅良, 陈凯旋, 陈传群. 生物对 ^{137}Cs 的吸收和富集[J]. 环境污染与防治, 2000, 22(3):14-16.
- XU Yan-liang, CHEN Kai-xuan, CHEN Chuan-qun. Absorption and concentration of ^{137}Cs by organisms[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2000, 22(3):14-16.
- [20] Broadley M R, Escobar-Gutierrez A J, Bowen H C. Influx and accumulation of Cs^+ by the *ak1* mutant of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. lacking a dominant K^+ transport system [J]. *Journal Experimental Botany*, 2001, 52(357):839.
- [21] 丁园, 刘继东, 史蓉蓉, 等. 镉对黑麦草和菊苣幼苗生长的影响[J]. 种子, 2008, 27(11):15-21.
- DING Yuan, LIU Ji-dong, SHI Rong-rong, et al. Effect of cadmium on seedling growth of ryegrass and chicory[J]. *Seed*, 2008, 27(11):15-21.
- [22] Floydra, Nagy I. Formation of long-lived hydroxyl free radical adducts of proline and hydroxyproline in a fenton reaction [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1984, 790(1):94-97.
- [23] 王康, 刘艳香, 董洁, 等. 盐胁迫对菊苣幼苗脯氨酸积累及其代谢途径的影响[J]. 草地学报, 2011, 19(1):102-106.
- WANG Kang, LIU Yan-xiang, DONG Jie, et al. Effects of NaCl stress on proline accumulation and metabolic pathways of chicory (*Cichorium intybus* L.) seedlings[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2011, 19(1):102-106.
- [24] 曹丽, 孙振元, 义鸣放, 等. 多年生黑麦草 P5CS 基因的 cDNA 克隆、表达及亚细胞定位[J]. 园艺学报, 2010, 37(9):1477-1484.
- CAO Li, SUN Zhen-yuan, YI Ming-fang, et al. Cloning, expression and subcellular localization of P5CS gene from Perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2010, 37(9):1477-1484.
- [25] 尹永强, 胡建斌, 邓明军. 植物叶片抗氧化系统及其对逆境胁迫的响应研究进展[J]. 中国农学通报, 2007, 23(1):105-110.
- YIN Yong-qiang, HU Jian-bin, DENG Ming-jun. Latest development of antioxidant system and responses to stress in plant leaves[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2007, 23(1):105-110.
- [26] 刘福平, 陈淳, 许传俊. 过氧化氢与蝴蝶兰胚性愈伤组织诱导[J]. 园艺学报, 2009, 36(9):1339-1344.
- LIU Fu-ping, CHEN Chun, XU Chuan-jun. H_2O_2 and embryogenic callus induction of *Phalaenopsis* spp. [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2009, 36(9):1339-1344.
- [27] 张芬琴, 孟红梅, 沈振国, 等. 镉胁迫下绿豆和箭舌豌豆幼苗的抗氧化反应[J]. 西北植物学报, 2006, 26(7):1384-1389.
- ZHANG Fen-qin, MENG Hong-mei, SHEN Zhen-guo, et al. Anti-oxidative response of *Phaseolus aureus* Roxb. and *Vicia sativa* L. to cadmium stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2006, 26(7):1384-1389.
- [28] 刘零怡, 赵丹莹, 郑杨, 等. 植物在低温胁迫下的过氧化氢代谢及信号转导[J]. 园艺学报, 2009, 36(11):1701-1708.
- LIU Ling-yi, ZHAO Dan-ying, ZHENG Yang, et al. Hydrogen peroxide metabolism and signal transduction under cold stress in plants[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2009, 36(11):1701-1708.
- [29] 张超兰, 陈文慧, 韦必帽, 等. 几种湿地植物对重金属镉胁迫的生理生化响应[J]. 生态环境, 2008, 17(4):1458-1461.
- ZHANG Chao-lan, CHEN Wen-hui, WEI Bi-mao, et al. Response of physiology and biochemistry of plants in wetland to heavy metal cadmium stress[J]. *Ecology and Environment*, 2008, 17(4):1458-1461.