

镉胁迫对鸡冠花种子萌发及 幼苗生理生化特性的影响

查应琴, 潘 凤, 关 萍*

(贵州大学 生命科学院/农业生物工程研究院, 山地植物资源保护与种质创新教育部重点实验室, 山地生态与农业生物工程协同创新中心, 贵阳 550025)

摘 要: 采用水培法和盆栽法测定分析不同浓度 Cd(0、50、100、150、200 mg/L) 胁迫对鸡冠花种子萌发、幼苗生物量、叶片光合色素、渗透调节物质(可溶性蛋白、可溶性糖、脯氨酸)、丙二醛(MDA)、低分子巯基化合物(GSH、GSSG、Cys、NPT)含量以及抗氧化酶(SOD、POD、CAT、APX)活性的影响, 探讨鸡冠花耐受 Cd 胁迫的能力及其生理机制, 为植物解毒机制提供基础资料。结果显示: (1) 鸡冠花种子的发芽势、发芽率和发芽指数在低浓度 Cd 处理下提高, 而活力指数、根长及苗长在各浓度 Cd 胁迫下均不同程度降低, 以上指标均在低浓度(50、100 mg/L) Cd 胁迫下受到显著抑制, 且根长受抑制程度显著高于苗长; 幼苗生物量(整株鲜重、地上部分鲜重及地下部分鲜重)在 200 mg/L Cd 胁迫时受到显著抑制, 较对照分别下降了 61.9%、58.4% 和 72.7%; 根冠比及主根长虽未受到显著影响, 但总体呈现降低趋势。 (2) 鸡冠花幼苗叶片叶绿素和类胡萝卜素含量在 100~200 mg/L Cd 胁迫下均显著降低, 叶片可溶性蛋白、可溶性糖和脯氨酸含量在 Cd 胁迫下总体呈升高趋势, 并分别在 50、150、200 mg/L 时显著升高。 (3) 鸡冠花幼苗叶片各抗氧化酶活性在 Cd 胁迫下呈不同变化趋势, POD 和 APX 活性在各浓度 Cd 胁迫分别增加 23.1%~304.2% 和 160.0%~280.0%; SOD 活性在各浓度 Cd 胁迫均受到抑制, 但仅在 150 mg/L 时显著降低 43.2%; CAT 活性在 50~150 mg/L Cd 胁迫下显著增强了 46.6%~66.5%, 但在 200 mg/L Cd 胁迫却显著降低 59.5%。 (4) 高浓度(200 mg/L) Cd 胁迫下鸡冠花幼苗叶片巯基化合物 GSH、GSSG、Cys、NPT 含量分别比对照上升了 53.2%、164.2%、53.9% 和 0.79%, 而 GSH/GSSG 比值显著降低。研究发现, 鸡冠花种子萌发期和幼苗期对 Cd 胁迫均具有一定的耐受力, 但高浓度 Cd 胁迫仍致使幼苗部分抗氧化酶活性降低, ROS 过量积累, 引起膜脂过氧化程度加深, 其产物 MDA 含量逐渐升高; Cd 胁迫促进低分子巯基化合物含量呈不同幅度的增加, 但 GSH/GSSG 比值下降, 细胞内氧化还原反应(Redox)受到抑制, 导致幼苗正常生长代谢受阻, 生物量持续降低。

关键词: 镉胁迫; 鸡冠花; 种子萌发; 渗透调节物质; 抗氧化酶系统; 巯基化合物

中图分类号: Q945.78

文献标志码: A

Seed Germination and Seedling Physiological and Biochemical Characteristics of *Celosia cristata* L. under Cadmium Stress

ZHA Yingqin, PAN Feng, GUAN Ping*

(College of Life Sciences/Institute of Agro-bioengineering, Guizhou University; Key laboratory of Plant Resource Conservation and Germplasm Innovation in Mountainous Region (Ministry of Education); Collaborative Innovation Center for Mountain Ecology & Agro-Bioengineering(CICMEAB), Guiyang 550025, China)

Abstract: Using by hydroponic and potted methods, we explored different concentrations of Cd stress for

收稿日期: 2020-09-02; 修改稿收到日期: 2020-11-01

基金项目: 贵州省科学技术基金(黔科合 J 字[2014]2064 号); 贵州省生物学一流学科建设项目(GNYL[2017]009)

作者简介: 查应琴(1995—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事植物分子及生理代谢研究。E-mail: 592716748@qq.com

* 通信作者: 关 萍, 教授, 主要从事植物重金属污染修复技术研究。E-mail: guanp508@163.com

Celosia cristata L. seed germination, biomass of seedlings, photosynthetic pigment, soluble protein, soluble sugar, proline and MDA contents, antioxidant enzyme activities (SOD, POD, CAT, APX) and low molecular sulfhydryl compounds (GSH, GSSG, Cys, NPT) contents to explore the ability of *C. cristata* L. to withstand Cd stress and its physiological mechanism, and to provide basic information for plant detoxification mechanism. The results showed that: (1) the germination potential, germination rate and germination index of *C. cristata* L. seeds were increased under the treatment of low concentration Cd, while the vigor index, root length and seedling length were reduced to varying degrees under Cd stress at various concentrations, and the above indicators were significantly inhibited under high concentration (50, 100 mg/L) Cd stress, and the degree of root growth inhibition was significantly higher than that of seedlings. The biomass of seedlings (whole plant fresh weight, fresh weight above ground and fresh weight underground) showed significant differences in 200 mg/L Cd stress, which decreased by 61.9%, 58.4% and 72.7% respectively compared to control, and although there was no significant difference between the root-shoot ratio and the taproot length, the overall trend decreased, greatly affecting the growth of the roots. (2) The chlorophyll and carotenoids contents of *C. cristata* L. seedlings were significantly reduced under the stress of 100 to 200 mg/L Cd concentration, and the contents of leaf soluble protein, soluble sugar and proline increased significantly under Cd stress, and increased significantly at 50, 150, 200 mg/L, respectively. (3) The POD and APX activities increased by 23.1%—304.2% and 160.0%—280.0% in all Cd treatments, respectively; The SOD activity decreased in all Cd stress treatments, and decreased significantly by 43.2% under 150 mg/L Cd stress; The CAT activity increased significantly by 46.6%—66.5% under 50—150 mg/L Cd stress, while decreased significantly by 59.5% under 200 mg/L Cd stress. (4) The low molecular sulfhydryl compounds GSH, GSSG, Cys and NPT increased by 53.2%, 164.2%, 53.9% and 0.79%, respectively, under high Cd concentration (200 mg/L), while the GSH/GSSG ratio decreased significantly. The study found that *C. cristata* L. seed germination period and seedling stage have a certain tolerance to Cd stress, but the high concentration Cd stress still leads to the reduction of antioxidant enzyme activities in the seedling part, the excessive accumulation of ROS, resulting in a deeper degree of membrane lipid peroxidation, the product MDA content gradually increased; Cd stress promotes a different increase in low molecular sulfhydryl compounds, but the GSH/GSSG ratio decreases and the in-cell Redox is inhibited, which causes the normal growth metabolism of seedlings was blocked and the biomass decreased continuously.

Key words: cadmium stress; *Celosia cristata* L.; seed germination; osmotic adjustment substance; antioxidant enzyme system; sulfhydryl compound

镉(cadmium, Cd)污染一直是全球迫切需要解决的问题。随着工业技术的不断发展,大量 Cd 及其化合物被广泛应用于冶金、电镀、采矿、镉镍电池等^[1]方面,生活中排放的含 Cd 工业废弃物经水循环最终流入土壤里,造成大面积的土壤污染。目前,国内 Cd 污染类型不断增多,程度更深,且呈一定的规律性,自东北至西南、西北到东南^[2],南方地区多于北方地区^[3]。Cd 作为一种非必需的重金属元素,毒性高、水溶性高、迁移性大,易被植物及其他生物吸收,继而通过食物链在人体、畜体内累积,对环境及人体生命健康都构成了严重的威胁^[4]。现今,植物修复技术作为一种经济成本低、修复周期短、容易实施等特点的绿色环保原位修复技术^[5],一直是众多学者研究的热点。

植株受到 Cd 胁迫时,诱导细胞内活性氧(ROS)

大量形成,改变了氧化还原电位,打破了氧化还原反应(Redox)的稳态,致使细胞结构受到氧化损伤,使其表现出生长受限、植株矮小、叶片变黄等一系列不良症状,最终导致植株死亡^[6]。然而,为维持植物细胞内 Redox 平衡,各类抗氧化系统^[7]、可溶性蛋白、可溶性糖、脯氨酸(Pro)等渗透调节物质及抗逆性物质相继产生以抵抗 Cd 胁迫;同时,硫醇化合物是一类含巯基(-SH)的低分子化合物,它在植物细胞内具有重要解毒功能,能通过硫转运蛋白、硫还原相关酶类、巯基化合物等协同作用提高对 Cd 的螯合能力,增强植物的耐受性^[8]。因此,研究植物耐受 Cd 的生理机制对植物修复技术有着至关重要的意义。

鸡冠花(*Celosia cristata* L.), 苋科青葙属一年生草本植物,叶片卵形、卵状披针形,花冠呈鸡冠状或羽毛状的穗状花序,与青葙属的青葙极为相似,花

和种子皆可供药用^[9],常种植于城市道路、公园等以美化环境。已有研究表明^[10-12],苋科植株均具有较强富集镉的能力,如尾穗苋、苋菜、青苋等,而同属的青苋可作为镉污染修复的备选植物,但同属的鸡冠花对 Cd 污染土壤修复能力及其在重金属 Cd 胁迫下的生理生化特性尚未有研究。因此,本研究通过水培法萌发鸡冠花种子以及盆栽法培养其幼苗植株,测定鸡冠花种子萌发的相关指标数值(发芽势、发芽率、活力指数等)以及其幼苗叶片内渗透调节物质(可溶性蛋白、可溶性糖、Pro 等)含量、抗氧化酶(SOD、POD、CAT、APX)活性和巯基化合物(GSH、GSSG、Cys、NPT)含量,探讨了 Cd 胁迫下鸡冠花幼苗的生长及生理特性,继而为鸡冠花耐受 Cd 胁迫机制及对土壤 Cd 污染修复研究提供参考资料。

1 材料和方法

1.1 种子萌发

鸡冠花种子购自花之茵种业有限公司。采用水培法进行种子萌发试验,种子用 70% 酒精消毒 5 min,蒸馏水反复冲洗后,均匀播种于培养皿中,并放置 2 张滤纸作为发芽床,用适量蒸馏水浸湿,每皿 50 粒。用分析纯 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 配置不同浓度[0 (CK)、5、15、30、50、100 mg/L]的 Cd 溶液,每皿加入 5 mL Cd 溶液,通过称重法来补充蒸馏水以保持培养皿中的体积不变。培养皿放置于恒温培养箱中培养,温度为 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$,光/暗周期为 16 h/8 h。

1.2 植株培养

采用盆栽法进行鸡冠花植株培养。将鸡冠花种子均匀播种于含营养土(购自于嘉丰营养土店)的花盆(直径 21 cm,高 12 cm),土壤主要理化性质为全氮 1.37 mg/kg、 P_2O_5 0.79 mg/kg、 K_2O 0.84 mg/kg、有机质 $\geq 40\%$,有效态镉含量接近于 0,微量元素含量 ≥ 0.2 mg/kg,pH 6.5~8.5。每盆 20 粒,待种子出苗后,进行间苗,每盆保留 10~15 株苗,1 周后加入等量的不同浓度 Cd 溶液[0 (CK)、50、100、150、200 mg/L],放置室外培养。以上处理均为 3 次重复。

1.3 种子萌发指标测定

种子萌发 1 d 后,持续观察并记录其发芽数,第 3 天统计发芽势,直至种子不再萌发后统计发芽率,第 12 天后测定根长和苗长,重复测量 15 株,并计算发芽指数及活力指数。公式如下^[13]:

发芽势(germination potential, $GP/\%$) = 3 d 内供试种子的发芽数/供试种子数 $\times 100\%$

发芽率(germination rate, $GR/\%$) = 7 d 内供

试种子的发芽数/供试种子数 $\times 100\%$

发芽指数(germination index, GI) = $\sum Gt/Dt$,式中 Gt 为在 t 日的发芽数, Dt 为发芽天数

活力指数(vigor index, VI) = $GI \times S$,式中 GI 为发芽指数, S 为芽的长度+根的长度

1.4 植株生长及生理指标测定

Cd 胁迫处理 10 d 后,随机抽取每个处理组的 10 株幼苗,用自来水清洗并用吸水纸吸干表面残余水分,电子天平称取鲜重,游标卡尺测量株高及主根长。同时,采取叶片鲜样分别测定幼苗的各项生理指标。叶绿素含量采用 95% 乙醇提取法^[14]测定;可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 法^[15]测定;可溶性糖含量采用蒽酮比色法^[16]测定,丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸(TBA)法^[15]测定;脯氨酸(Pro)含量采用酸性茚三酮显色法^[17]测定;过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法^[15],超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用氮蓝四唑(NBT)法^[15],过氧化氢酶(CAT)活性测定采用高锰酸钾滴定法^[15],抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性测定参照 Nakano 法^[18];谷胱甘肽(GSH)含量测定参照 Monostori 法^[19],氧化型谷胱甘肽(GSSG)含量测定参照 Mitchell 法^[20],半胱氨酸(Cys)含量测定参照 Gaitonde 法^[21],非蛋白巯基(NPT)含量测定参照 Ellman 法^[22]。

1.5 数据处理及分析

采用 Excel 2016 进行数据统计及图表绘制,并用 SPSS 19.0 软件进行单因素方差分析(ANOVA),Duncan 法进行显著性检验($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 镉胁迫对鸡冠花种子萌发及幼苗生长的影响

由表 1 可知,鸡冠花种子的发芽势、发芽率和发芽指数随着 Cd 胁迫浓度的增加均呈现先升后降的变化趋势,并在 5 或者 15 mg/L 浓度下达到最大值,均在 100 mg/L 浓度下达到最低值。其中,鸡冠花种子的发芽率在 5、15 mg/L Cd 胁迫下显著高于对照($P < 0.05$),在 100 mg/L 浓度下显著低于对照,在其余浓度 Cd 胁迫下与对照无显著差异;鸡冠花种子发芽势和发芽指数虽在 15~30 mg/L 浓度时均不同程度高于对照,在 50、100 mg/L 时均低于对照组,但各镉胁迫处理与对照差异均未达到显著水平($P > 0.05$)。

同时,鸡冠花种子萌发期的活力指数、根长及苗长随着 Cd 胁迫浓度的增加也呈现出先升后降的变

化趋势,并在 15 或者 30 mg/L 浓度下达到最大值,均在 100 mg/L 浓度下达到最低值;活力指数、根长及苗长在各浓度 Cd 胁迫下均不同程度地低于对照,但 5~30 mg/L 时苗长、15~30 mg/L 时活力指数均与对照无显著差异,而各浓度胁迫的根长均与对照存在显著差异($P<0.05$);在同一 Cd 浓度下,鸡冠花种子萌发期的苗长总是大于相应的根长(表 1)。以上结果说明鸡冠花种子萌发在低浓度 Cd 胁迫(5~15 mg/L)下受到显著促进,在高浓度(100 mg/L)下受到显著抑制;各浓度 Cd 胁迫均一定程度上抑制了鸡冠花种子萌发期的根长和苗长,并随着 Cd 浓度的升高抑制程度加重,且根生长受抑制程度更高。

另外,表 2 显示,在 50~200 mg/L Cd 胁迫下,鸡冠花幼苗植株的生物量(整株鲜重、地上部分鲜重)均存在显著差异($P<0.05$),但仅 200 mg/L 浓度处理显著低于对照,其余浓度处理均与对照无显著差异;鸡冠花幼苗的主根长在各浓度 Cd 胁迫处理之间无显著差异,且仅 200 mg/L 浓度处理显著低于对照;鸡冠花幼苗的根冠比在各浓度 Cd 胁迫处理及对照之间均无显著差异($P>0.05$),但随着 Cd 浓度的升高呈下降趋势。可见,鸡冠花幼苗具有

一定的镉耐受能力,但高浓度(200 mg/L)Cd 胁迫仍显著抑制了其植株的正常生长,尤其极大地影响了根的生长,致使根系活性较弱,养分吸收受阻,最终致使植株死亡。

2.2 镉胁迫对鸡冠花幼苗叶片光合色素含量的影响

随着 Cd 浓度的增加,鸡冠花幼苗叶片叶绿素和类胡萝卜素含量均逐渐降低,但各组分的降低幅度不同(表 3)。其中,叶绿素 a 和类胡萝卜素含量在 50 mg/L Cd 胁迫下就比对照显著降低($P<0.05$),且各浓度处理间也大多差异显著;叶绿素 a+b 含量在 50 mg/L Cd 胁迫下无显著变化,在 100 mg/L Cd 胁迫下开始比对照显著降低;叶绿素 b 含量则在 50~150 mg/L Cd 胁迫下均无显著变化,仅在 200 mg/L Cd 胁迫下比对照显著降低,且镉胁迫处理间大多无显著差异;在 200 mg/L Cd 胁迫时,鸡冠花幼苗叶片叶绿素 a、叶绿素 b 含量、叶绿素 a+b 和类胡萝卜素含量均为最低,分别比相应对照显著下降了 40.8%、59.8%、45.8%、63.7%。叶绿素决定了植物对光的吸收强度,而类胡萝卜素作为一类保护色素,防止叶绿素受到较高光强时分解失活,以上结果表明镉胁迫对鸡冠花幼苗叶片光合色素含量的影响随 Cd 浓度增加逐渐加大,植株对光吸收能

表 1 不同浓度 Cd 胁迫下鸡冠花种子萌发期的各项指标

Table 1 The indexes of *Celosia cristata* L. with different Cd concentrations during seed germination stage

Cd 浓度 Cd concentration (mg/L)	发芽势 Germination potential/%	发芽率 Germination rate/%	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index	根长 Root length /cm	苗长 Seedling length/cm
0(CK)	64.667±8.110ab	72.000±4.163bc	27.137±1.948ab	193.218±11.863a	3.793±0.199a	3.030±0.143a
5	78.670±2.404a	84.667±1.764a	29.653±0.219a	147.376±1.088bc	2.209±0.104c	2.866±0.141ab
15	72.670±6.960ab	85.333±3.528a	31.276±1.736a	162.011±12.689ab	2.227±0.063c	2.872±0.028ab
30	72.667±1.333ab	78.667±1.764ab	28.201±1.135ab	161.873±6.515ab	3.003±0.187b	3.018±0.038a
50	62.670±2.404b	69.333±1.333cd	25.245±0.751ab	116.633±3.468cd	2.032±0.166c	2.636±0.051b
100	58.000±1.155b	60.667±2.404d	21.948±0.746b	80.328±2.730d	1.550±0.088d	2.297±0.035c

注:同列不同小写字母表示处理间的数值在 0.05 水平存在统计学上的显著差异($P<0.05$, $n=3$);下同
Note: Different normal letters within same column indicate significant differences in values between treatments at 0.05 level ($P<0.05$, $n=3$); The same as below

表 2 不同浓度 Cd 胁迫下鸡冠花幼苗的生长指标变化

Table 2 Biomass and growth of *C. cristata* L. seedlings with different Cd concentrations

Cd 浓度 Cadmium concentration (mg/L)	整株鲜重 Whole plant fresh weight/g	地上部分鲜重 Fresh weight above ground/g	地下部分鲜重 Fresh weight underground/g	根冠比 Root-shoot ratio	主根长 Tap root length/cm
0(CK)	0.134±0.009ab	0.101±0.003ab	0.033±0.008a	0.354±0.064a	4.073±0.219a
50	0.141±0.011a	0.111±0.018a	0.031±0.007a	0.262±0.059a	3.765±0.407ab
100	0.151±0.039a	0.121±0.030a	0.029±0.009ab	0.244±0.014a	3.842±0.221ab
150	0.069±0.008bc	0.057±0.007bc	0.012±0.001ab	0.226±0.012a	3.472±0.390ab
200	0.051±0.004c	0.042±0.004c	0.009±0.001b	0.208±0.018a	2.998±0.123b

力逐渐减弱,光合作用能力下降,继而影响植株生长和镉耐受性,且叶绿素 a 对镉胁迫更敏感,类胡萝卜素受影响最大。

2.3 镉胁迫对鸡冠花叶片渗透调节物及丙二醛含量的影响

逆境胁迫会诱导植株增加重要渗透调节物质的积累,从而缓解生物胁迫或非生物胁迫的压力,而膜脂过氧化产物 MDA 能间接反映膜系统损伤程度。在施加不同浓度 Cd 胁迫时,鸡冠花叶片可溶性蛋白含量表现出先升后降的变化趋势,且各处理均不同程度地高于对照,但只在 100 和 150 mg/L 浓度时与对照有显著差异($P<0.05$),此时较对照组分别显著上升了 12.5%和 20.6%(图 1,A);同时,鸡冠花叶片可溶性糖含量在 100 mg/L 浓度时略低于对照组,在其余浓度处理下均高于对照,但仅在 150 mg/L 浓度时与对照差异显著,此时比对照组显著上升了 54.4%

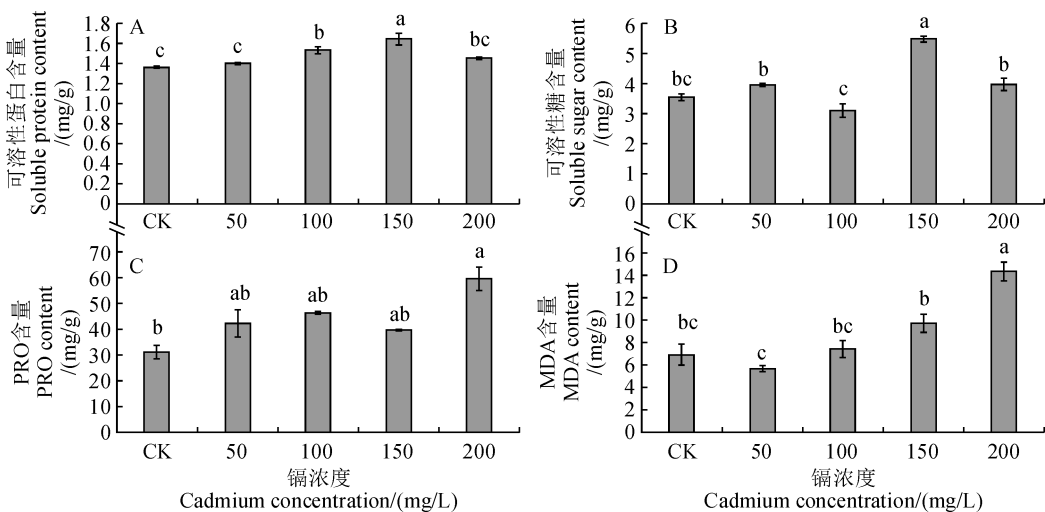
(图 1,B);与对照相比较,各 Cd 胁迫处理鸡冠花叶片脯氨酸(Pro)含量均不同程度增加,在 50~200 mg/L 浓度下分别上升了 35.7%、48.6%、27.5%、91.8%,但仅在 200 mg/L 浓度下达到显著水平(图 1,C)。另外,鸡冠花叶片 MDA 含量随着 Cd 胁迫浓度的升高总体呈上升的趋势,但仅在 200 mg/L 浓度下与对照差异达到显著水平,增幅达到 106.7%(图 1,D)。可见,鸡冠花叶片可溶性蛋白、可溶性糖和脯氨酸含量在 Cd 胁迫下明显增加,提高了植株的渗透调节能力,减缓幼苗生长过程中受到的 Cd 胁迫伤害,但其细胞膜系统仅在高浓度镉胁迫下才受显著损伤,从而对镉胁迫表现出一定的耐受性。

2.4 镉胁迫对鸡冠花叶片抗氧化酶活性的影响

超氧阴离子自由基是活性氧(ROS)之一,具有较强的氧化能力,是导致生物氧毒害的主要因素。SOD 可以催化大量的超氧阴离子自由基发生歧化反应转

表 3 不同浓度 Cd 胁迫下鸡冠花幼苗叶片光合色素含量的变化

Cd 浓度 Cadmium concentration /(mg/L)	叶绿素 a 含量 Chlorophyll a content /(mg/g)	叶绿素 b 含量 Chlorophyll b content /(mg/g)	叶绿素 a+b 含量 Chlorophyll a+b content /(mg/g)	类胡萝卜素含量 Carotenoids content /(mg/g)
0(CK)	1.305±0.008a	0.465±0.073a	1.770±0.072a	0.157±0.009a
50	1.176±0.032b	0.452±0.092a	1.628±0.122ab	0.134±0.007b
100	1.086±0.066b	0.350±0.074ab	1.436±0.102bc	0.117±0.007b
150	0.896±0.021c	0.323±0.064ab	1.219±0.065cd	0.078±0.011c
200	0.773±0.039d	0.187±0.022b	0.960±0.028d	0.057±0.015c



不同小写字母表示处理间在 0.05 统计学水平的显著性差异($P<0.05,n=3$);下同

图 1 不同浓度 Cd 胁迫下鸡冠花叶片内可溶性蛋白、可溶性糖、脯氨酸及 MDA 含量的变化

Different normal letters indicate significant differences between treatments at 0.05 level

($P<0.05,n=3$); The same as below

Fig.1 The contents of soluble protein, soluble sugar, proline and MDA in leaves of *C. cristata* L. seedling with different cadmium concentrations

化为过氧化氢(H_2O_2), H_2O_2 进而被 POD 和 CAT 分解为 H_2O ,达到彻底清除超氧阴离子的目的。APX 也是清除 ROS 的抗氧化酶之一,催化 H_2O_2 氧化成抗坏血酸(ASA),而 ASA 是细胞内重要的抗氧化剂,参与植物重金属解毒过程,可增强植株的抗逆性。在不同浓度 Cd 胁迫下,鸡冠花叶片 SOD 活性表现出先降低后升高的变化趋势,且均不同程度地低于对照组,但仅在 150 mg/L Cd 胁迫时降幅达到显著水平($P<0.05$),此时比对照显著降低 43.2%(图 2,A);同时,各 Cd 胁迫处理叶片 POD 活性比对照升高 23.1%~304.2%,且除 50 mg/L 处理外均达到显著水平(图 2,B);叶片 CAT 活性随着镉胁迫浓度增加表现出先升高后降低的趋势,并在 50、100、150 mg/L 时分别显著高于对照 66.5%、46.6%、48.7%,但在 200 mg/L 时较对照组显著降低了 59.5%(图 2,C);另外,叶片 APX 活性随着镉胁迫浓度增加总体呈现先升高后降低的趋势,且 50~200 mg/L 镉胁迫处理均高于对照组,增幅分别为 160.0%、280.0%、250.0%、190.0%(图 2,D)。以上结果说明各浓度 Cd 胁迫均抑制了鸡冠花叶片 SOD 活性,增强了其 POD 和 APX 活性,而中低浓度 Cd 胁迫显著增强了 CAT 活性,但高浓度 Cd 胁迫却显著抑制了 CAT 活性,CAT、POD 和 APX 协同作用,显著增强了镉胁迫下鸡冠花幼苗清除体内超氧阴离子自由基的能力,有效缓解细胞受到的过氧化伤害,间接提高了幼苗的耐 Cd 性。同时,APX 催化产生的 ASA 可进一步螯合重金属离子从而达到植物重金属解毒的目的,进一步降低了金属离子

对细胞的毒害。

2.5 镉胁迫对鸡冠花叶片内低分子巯基化合物含量的影响

2.5.1 GSH、GSSG 含量及 GSH/GSSG GSH/GSSG 是细胞内重要的氧化还原对之一,可以反映细胞所处的氧化还原状态,而 GSH 是细胞内最主要的抗氧化巯基化合物。GSSG 经谷胱甘肽还原酶(GR)还原为 GSH,进入 GSH-ASA 循环,维持细胞内氧化还原反应(Redox)的稳态。鸡冠花叶片 GSH 含量在 50 mg/L Cd 处理时略低于对照组,后在 100~200 mg/L Cd 处理时分别比对照上升了 40.8%、11.8%、53.2%,但仅在 200 mg/L 时与对照差异显著(图 3,A);同时,随着叶片 GSH 含量的上升,叶片 GSSG 含量随着 Cd 胁迫浓度升高呈现先升后降的趋势,且均显著高于对照,升幅在 109.5%~164.2%之间,但各 Cd 胁迫处理间无显著差异(图 3,B);另外,叶片 GSH/GSSG 值随着 Cd 胁迫浓度升高呈下降趋势,各处理分别大幅下降了 55.8%、47.2%、50.5%、33.1%,且在 50~150 mg/L Cd 处理时均达到显著水平(图 3,E)。可见,Cd 胁迫处理促进了鸡冠花体内 GSH 含量的升高,为抗坏血酸循环(GSH-ASA 循环)提供了丰富的底物来源,进一步促进了重金属解毒物质植物络合素(PCs)的合成;Cd 胁迫处理也极大地影响了细胞内氧化还原反应的平衡,致使幼苗生长受到的重金属毒害程度逐渐加深,造成植株矮小,耐受性变差。

2.5.2 Cys 及 NPT 含量 Cys 是唯一一种含巯基的含硫氨基酸,参与蛋白质二硫键的形成,是蛋白质

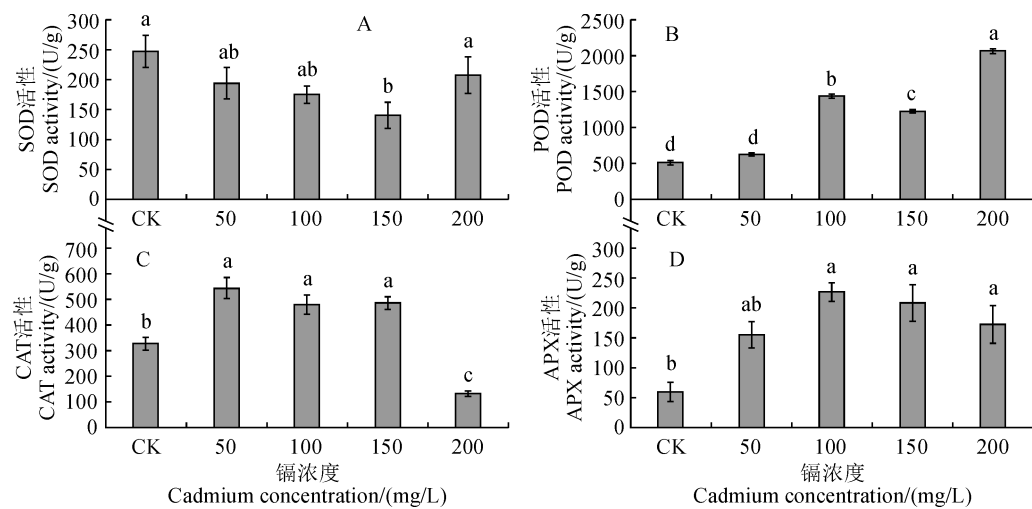


图2 不同浓度Cd胁迫下鸡冠花叶片内SOD、POD、CAT及APX的变化

Fig.2 The SOD, POD, CAT and APX activities in the leaves of *C. cristata* L. seedling with different cadmium concentrations

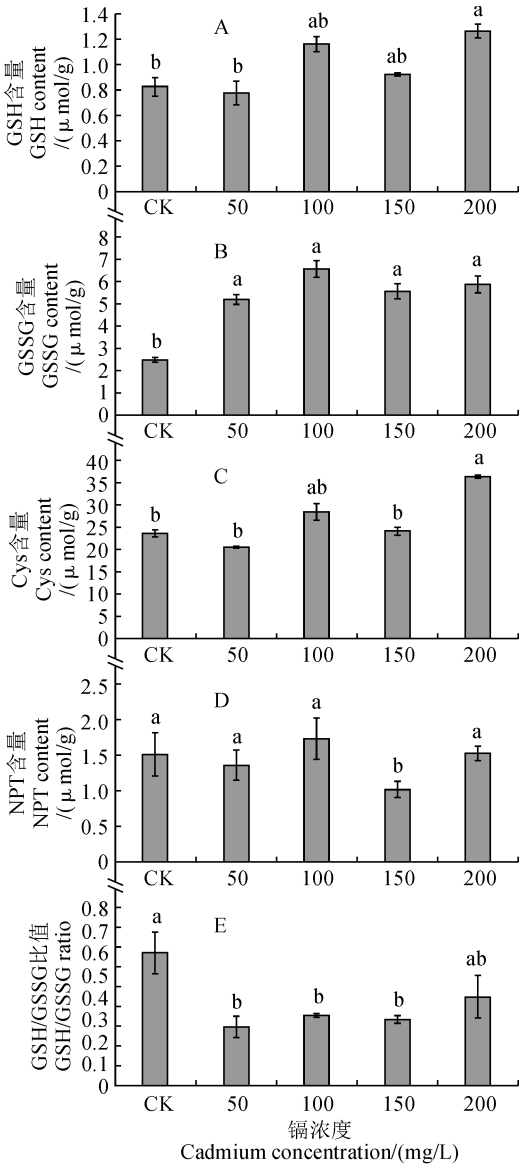


图3 不同浓度Cd胁迫下鸡冠花叶片内GSH、GSSG、Cys、NPT含量及GSH/GSSG的变化

Fig.3 The contents of GSH, GSSG, Cys, NPT and GSH/GSSG in the leaves of *Celosia cristata* L. seedling with different cadmium concentrations

活性中心的重要组成部分,也是植物PCs合成时的巯基供体,Cys含量可以间接反映植物解毒的能力。生物体内巯基化合物包括非蛋白质巯基(NPT)和蛋白巯基(PT),NPT可直接参与重金属解毒。由图3,C可知,鸡冠花叶片Cys含量在50 mg/L Cd胁迫时较对照组下降了13.3%,而在200 mg/L Cd胁迫时比对照显著上升了53.9%($P<0.05$),并达最高值(36.303 μmol/g),但除200 mg/L Cd处理外均与对照无显著差异;图3,D显示,在各浓度Cd胁迫条件下,鸡冠花叶片NPT含量在100和200 mg/L时高于对照组,而在50和150 mg/L时低于

对照,但仅在150 mg/L处理时与对照差异达到显著水平($P<0.05$)。以上结果说明高浓度Cd处理促使鸡冠花叶片中Cys含量增加,从而使PCs大量合成,提高了幼苗对Cd的解毒能力;Cd胁迫同时可促使细胞内NPT的合成用以参与游离Cd²⁺的解毒,这可能是鸡冠花幼苗可耐受一定浓度Cd胁迫的原因之一。

3 讨论

逆境胁迫环境最先对种子萌发及幼苗生长造成直接的影响,本研究通过施加不同浓度Cd胁迫鸡冠花种子,发现低浓度Cd处理会促进种子的发芽势、发芽率、发芽指数的提高,并表现出“低促高抑”现象。赵雅曼等^[23]研究发现高浓度Cd胁迫下金丝草会产生“无根苗”,本研究发现Cd胁迫下鸡冠花幼苗主根的生长受到明显的抑制,影响了根系的生长,养分吸收受阻。光合作用与植株的生长发育密切相关,肖泽华等^[24]研究表明黄花草幼苗叶片叶绿素含量在Mn处理下增加,但当胁迫时间延长后又逐渐降低。本试验发现Cd胁迫致使鸡冠花幼苗叶片光合色素含量持续降低,尤其在150和200 mg/L Cd胁迫时,叶片叶绿素和类胡萝卜素含量均明显较低,说明高浓度Cd胁迫可能破坏了光合色素相关酶的活性,导致幼苗光合作用降低,幼苗植株表现较为矮小、叶片偏黄。

高等植物在逆境胁迫下,细胞内的渗透调节能力下降,可溶性蛋白、可溶性糖、游离脯氨酸等小分子渗透调节物质会迅速参与渗透调节^[25],维持细胞内的膨压,以保证生理代谢活动正常进行。本试验结果显示,鸡冠花幼苗受到不同浓度Cd胁迫后,叶片细胞内可溶性蛋白、可溶性糖和脯氨酸含量均较对照组显著上升,它们分别在100、150和200 mg/L Cd胁迫时达到最高值,说明渗透调节物质含量的增加对维持细胞内渗透压及细胞质膜的完整性起重要作用。MDA的积累反映了细胞内自由基的含量,其含量越高说明细胞处于高氧化应激状态,细胞脂过氧化程度就越高^[26]。本试验中,鸡冠花幼苗叶片MDA含量随着Cd浓度的上升总体呈上升趋势,但仅在高浓度Cd胁迫下比对照显著增加,即鸡冠花幼苗对Cd胁迫具有较高的耐受性,只有高浓度Cd胁迫致使鸡冠花幼苗体内活性氧显著大量累积,同时也激发了体内抗氧化酶系统,促使各类酶活性升高以清除细胞内过量的活性氧^[27]。

Cd胁迫会破坏植物体内的自由基代谢平衡,产

生 H_2O_2 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $\text{HO}^{\cdot}$ 、 $\text{RO}_2^{\cdot}$ 、 ROOH 等大量活性氧^[28],对细胞内生物分子具有极大氧化作用,致使细胞膜脂过氧化继而破坏细胞膜结构及功能。植物体内本身存在有天然的抗氧化酶系统,分为酶促系统(SOD、POD、CAT、APX)和非酶促系统(GSH、ASA)^[29],两者相互协同能及时有效地清除细胞内活性氧。本研究结果显示,随着 Cd 浓度的升高,鸡冠花幼苗叶片中 SOD 活性呈现出先降低后升高的现象,但均不同程度低于对照组;而同期叶片 POD 活性则显著升高,CAT、APX 活性也表现出先升高后降低的趋势,说明 Cd 胁迫抑制了叶片中 SOD 活性,增强了 POD 活性,但高浓度 Cd 胁迫抑制了 CAT 和 APX 活性,这与刘霄霏等^[30]结果相似。Cd 胁迫处理影响了植物体内各类抗氧化酶活性,而不同物种对清除 ROS 能力有所差异,这可能是不同植物对 Cd 耐受性有所不同的原因之一。

植物重金属解毒参与螯合的化合物有硫醇类化合物和非硫醇类化合物,植物细胞内主要的硫醇类化合物有植物络合素(PCs)、金属硫蛋白(MTs)及 GSH^[8],皆含有巯基基团,可结合各种金属形成金属螯合复合物,通过 ABC 转运体到液泡中沉积,从而降低对细胞的毒性^[31]。其中,GSH 是一种广泛分布在植物细胞的室间(细胞质、内质网、液泡和线粒体)含巯基的三肽($\gamma\text{-Glu-Cys-Gly}$)化合物,同时参与了抗氧化防御和游离金属的螯合和解毒^[32]。NPT 是巯基供体的重要来源,而 GSH 和 Cys 皆是 PCs 合成的前体物质,它们的含量决定了植物对金

属解毒的效力。本研究结果表明,鸡冠花叶片 GSSG、GSH 含量分别在 100、200 mg/L 镉胁迫时达最高值,同时叶片 Cys 含量在 200 mg/L 时比对照显著增加 53.9%,NPT 含量在 200 mg/L 时稍高于对照,说明高浓度 Cd 处理促进了叶片中 GSH、GSSG、Cys、NPT 含量的增加,增强了对 Cd^{2+} 的螯合能力,这可能是鸡冠花幼苗具有一定耐 Cd 性的原因。另外,GSH/GSSG 比值是氧化应激的重要标志^[33],本研究中鸡冠花叶片中 GSH/GSSG 比值在镉胁迫下显著降低,表明 Cd 胁迫后鸡冠花体内的氧化还原平衡受到破坏,细胞受到氧化损伤逐渐增大,细胞代谢受阻,最终导致生物量降低。

综上所述,在遭受到 Cd 胁迫时,鸡冠花种子萌发呈现“低促高抑”现象;其幼苗叶片的光合色素含量显著降低,可溶性蛋白、可溶性糖、脯氨酸等渗透调节物质含量显著升高,维持了细胞内代谢反应环境的稳态,降低了重金属离子对细胞内生物大分子(蛋白质、核酸、多糖等)的伤害;细胞内抗氧化酶活性对 Cd 胁迫表现出不同的敏感性,SOD 活性受到明显的抑制,POD 和 APX 活性得到促进,而 CAT 活性在高浓度 Cd 胁迫时受到显著抑制,而 POD 在清除细胞内活性氧时占主导作用,协同其他抗氧化酶提高了清除活性氧的能力;Cd 胁迫促进了巯基化合物(GSH、Cys 及 NPT)含量的升高,为解毒物质合成提供了丰富的底物来源,有效缓解对幼苗的迫害,表明细胞内巯基化合物含量影响着植物对重金属离子的解毒能力。

参考文献:

- [1] 王娜,魏样.土壤重金属镉污染来源及其修复技术探究[J].环境与发展,2019,31(8): 55-56, 58.
WANG N, WEI Y. Study on sources of heavy metal cadmium pollution in soil and its remediation technology[J]. *Environmental and Development*, 2019, 31(8): 55-56, 58.
- [2] 高宇,程潜,张梦君,等.镉污染土壤修复技术研究[J].生物技术通报,2017,33(10): 103-110.
GAO Y, CHENG Q, ZHANG M J, et al. Research advance on remediation technology of cadmium contaminated soil[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2017, 33(10): 103-110.
- [3] 环境保护部,国土资源部.全国土壤污染状况调查公报[J].中国环保产业,2014,(5): 10-11.
- [4] 綦峥,齐越,杨红,等.土壤重金属镉污染现状、危害及治理措施[J].食品安全质量检测学报,2020,11(7): 2 286-2 294.
QI Z, QI Y, YANG H, et al. Status, harm and treatment measures of heavy metal cadmium pollution in soil[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2020, 11(7): 2 286-2 294.

- [5] 陈亚奎,葛登文,卢滇楠.镉污染土壤的植物修复技术[J].环境生态学,2020,2(9): 92-98.
CHEN Y K, GE D W, LU D N. Phytoremediation for soil contaminated cadmium[J]. *Environmental Ecology*, 2020, 2(9): 92-98.
- [6] BALA MURUGAN S, ASHWINI M, SATHISHKUMAR R. Cadmium Toxicity and Tolerance in Plants[M]. Netherlands: Elsevier, 2019: 1-17.
- [7] 杨舒怡,陈晓阳,惠文凯,等.逆境胁迫下植物抗氧化酶系统响应研究进展[J].福建农林大学学报(自然科学版),2016,45(5): 481-489.
YANG S Y, CHEN X Y, HUI W K, et al. Progress in responses of antioxidant enzyme systems in plant to environmental stresses[J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2016, 45(5): 481-489.
- [8] ANJUM N A, HASANUZZAMAN M, HOSSAIN M A, et al. Jacks of metal/metalloid chelation trade in plants-an overview[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 192.
- [9] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志:第 25(2)卷

[M]. 北京:科学出版社,1979: 201.

[10] 彭昌琴. 尾穗苋对镉胁迫的生理生化响应及镉富集规律的探究[D]. 贵阳:贵州大学, 2019.

[11] 孟德佳,刘 杰,俞 果,等. 锰对超富集植物青葙镉积累的影响[J]. 农业环境科学学报,2019,**38**(5): 1 017-1 025.

MENG D J, LIU J, YU G, *et al.* Effect of manganese on cadmium accumulation in *Celosia argentea* Linn., a hyper accumulator[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019,**38**(5): 1 017-1 025.

[12] 郭世鸿. 盐分胁迫对苋菜(*Amaranthus mangostanus* L.)活化和吸收土壤重金属 Cd 的影响机制[D]. 广州:暨南大学, 2017.

[13] 黄玉梅,张杨雪,刘庆林,等. 水杨酸对盐胁迫下百日草种子萌发及幼苗生理特性的影响[J]. 草业学报,2015,**24**(7): 97-105.

HUANG Y M, ZHANG Y X, LIU Q L, *et al.* Effects of salicylic acid on seed germination and seedling physiological characteristics of *Zinnia elegans* under salt stress[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2015,**24**(7): 97-105.

[14] 袁 方,李 鑫,余君萍,等. 分光光度法测定叶绿素含量及其比值问题的探讨[J]. 植物生理学通讯,2009,**45**(1): 63-66.

YUAN F, LI X, YU J P, *et al.* Methodological study on determination of chlorophyll contents and ratio of Chl a/Chl b by spectrophotometry[J]. *Plant Physiology Communications*, 2009,**45**(1): 63-66.

[15] 王学奎,黄见良. 植物生理生化实验原理与技术(第三版)[M]. 北京:高等教育出版社, 2015: 182-286.

[16] 赵轶鹏,赵新勇. 植物可溶性糖测定方法的优化[J]. 安徽农业科学,2018,**46**(4): 184-185.

ZHAO Y P, ZHAO X Y. Optimization of classical measuring method of soluble sugar in plant[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2018,**46**(4): 184-185.

[17] 职明星,李秀菊. 脯氨酸测定方法的改进[J]. 植物生理学通讯,2005,**41**(3): 355-357.

ZHI M X, LI X J. Improvement of the method for measuring proline content [J]. *Plant Physiology Communications*, 2005,**41**(3): 355-357.

[18] NAKANO Y, ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1981,**22**(5): 867-880.

[19] MONOSTORI P, WITTMANN G, KARG E, *et al.* Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples: an in-depth review[J]. *Journal of Chromatography B*, 2009, **877**(28): 3 331-3 346.

[20] MCGILL M R, JAESCHKE H. A direct comparison of methods used to measure oxidized glutathione in biological samples: 2-vinylpyridine and N-ethylmaleimide[J]. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 2015, **25**(8): 589-595.

[21] GAITONDE M K. A spectrophotometric method for the direct determination of cysteine in the presence of other naturally occurring amino acids[J]. *The Biochemical Journal*, 1967, **104**(2): 627-633.

[22] ELLMAN G L. Tissue sulfhydryl groups[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1959,**82**(1): 70-77.

[23] 赵雅曼,陈顺钰,李宗勋,等. 酸、镉胁迫对金丝草种子萌发、幼苗生长及亚显微结构的影响[J]. 草业学报,2019,**28**(12): 63-74.

ZHAO Y M, CHEN S Y, LI Z X, *et al.* Effects of acid and cadmium stresses on seed germination, seedling growth, and submicroscopic structure of *Pogonatherum crinitum*[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2019,**28**(12): 63-74.

[24] 肖泽华,李欣航,潘 高,等. 锰胁迫对黄花草种子萌发及幼苗生理生化特征的影响[J]. 草业学报,2019,**28**(12): 75-84.

XIAO Z H, LI X H, PAN G, *et al.* Effects of manganese stress on seed germination, and seedling physiological and biochemical characteristics of *Cleome viscosa*[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2019,**28**(12): 75-84.

[25] 张海燕,汪宝卿,冯向阳,等. 不同时期干旱胁迫对甘薯生长和渗透调节能力的影响[J]. 作物学报,2020,**46**(11): 1 760-1 770.

ZHANG H Y, WANG B Q, FENG X Y, *et al.* Effects of drought treatments at different growth stages on growth and the activity of osmotic adjustment in sweet potato [*Ipomoea batatas*(L.) Lam][J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2020, **46**(11): 1 760-1 770.

[26] 刘朝荣,张柳青,杨 艳,等. 珙桐幼苗生理生化指标对重金属铅、镉胁迫的响应[J/OL]. 广西植物: 1-13[2020-09-14]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1134.Q.20200803.1638.006.html>.

LIU C R, ZHANG L Q, YANG Y, *et al.* Effects of lead and cadmium on physiology indexes of *Davidia involucreata* [J/OL]. *Guihaia*: 1-13[2020-09-14]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1134.Q.20200803.1638.006.html>.

[27] 徐玲玲,李巧玉,张红莲,等. 3 种草本植物种子萌发及幼苗初期对镉胁迫的生理响应[J]. 种子,2016,**35**(3): 37-41.

XU L L, LI Q Y, ZHANG H L, *et al.* Seeds germination and physiological responses of three herbaceous plant seedlings to cadmium stress[J]. *Seed*, 2016,**35**(3): 37-41.

[28] GILL S S, TUTEJA N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2010,**48**(12): 909-930.

[29] ANJUM N A, UMAR S, IQBAL M, *et al.* Cadmium causes oxidative stress in mung bean by affecting the antioxidant enzyme system and ascorbate-glutathione cycle metabolism[J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2011,**58**(1): 92-99.

[30] 刘霄霏,李惠英,陈 良,等. 外源硒对镉胁迫下黑麦草生长和生理的影响[J]. 草地学报,2020,**28**(1): 72-79.

LIU X F, LI H Y, CHEN L, *et al.* Effects of exogenous selenium on growth and physiology of ryegrass under cadmium stress[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2020,**28**(1): 72-79.

[31] SONG W Y, YAMAKI T, YAMAJI N, *et al.* A rice ABC transporter, *OsABCC1*, reduces arsenic accumulation in the grain[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014,**111**(44): 15 699-15 704.

[32] HASANUZZAMAN M, NAHAR K, ANEE T I, *et al.* Glutathione in plants: biosynthesis and physiological role in environmental stress tolerance[J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2017,**23**(2): 249-268.

[33] FOTOPOULOS V, ZIOGAS V, TANOU G, *et al.* Ascorbate-glutathione Pathway and Stress Tolerance in Plants [M]. Berlin: Springer, 2010: 265-302.

(编辑:裴阿卫)