

豌豆对 U 和 Cd 复合胁迫反应及其积累特征

张艳¹ 王丹^{1,2} 李黎¹

¹ (西南科技大学生命科学与工程学院 绵阳 621010)

² (核废物与环境安全国防重点学科实验室 绵阳 621010)

摘要 通过水培试验研究了不同浓度 U 和 Cd 复合胁迫下对豌豆根系活力、叶绿素和超氧化物歧化酶的影响, 及植株对两种元素的积累特征。结果表明: 经低浓度 (20 mg/kg) U 和 Cd 处理, 豌豆的根系活力高于对照, 相对其它浓度能促进根系生长。豌豆叶绿素含量随浓度增加均呈现先升后降的趋势, 而 SOD 活性呈现先降后升的趋势。水介质中, U 和 Cd 复合胁迫对豌豆生物量影响不大。随着处理浓度增加, 豌豆体内 U 和 Cd 含量增加, 并且根系中含量>地上部植物中含量。豌豆对 U、Cd 的富集系数和转运系数均<1, 豌豆对 U 的耐受性明显强于 Cd。

关键词 豌豆, 铀, 镉, 生长反应, 积累特征

中图分类号 X591

土壤是植物赖以生长的基础, 与空气、水一起构成地球上一切生物维持生命所必需的三大基本环境要素, 也是环境转移放射性核素与重金属污染物质的重要介质之一。因此, 研究土壤复合污染对保护环境和人体健康具有重要意义。最为常见的放射性污染物包括放射性核素 ^{238}U 、 ^{40}K 、 ^{226}Ra 、 ^{210}Po 、 ^{131}I 、 ^{90}Sr 、 ^{89}Sr 、 ^{137}Cs 等^[1]。核工业的迅速发展和核能的大规模开发应用, 导致了铀矿的大量使用, 铀矿的开采和冶炼是造成铀污染环境最主要的原因, 在此过程中会产生大量的尾矿和废料, 造成对水体和地表的污染^[2]。镉是一种有毒重金属, 微量存在于土壤、水体以及大气中, 地壳中镉的平均含量为 0.15–0.20 mg/kg, 空气中为 0.002–0.050 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ^[3]。随着工农业领域中对 Cd 的需求量加大, 受污染环境中的 Cd 含量也逐年上升。已经发现 400 余种能超积累有毒金属的植物, 分布于 45 个植物科属^[4], 大多属于十字花科植物。Dushenkov 等^[5]发现向日葵对铀污染土壤具有潜在的修复能力; Chang 等^[6]研究发现印度芥菜对铀污染土壤具有良好的修复效果。已有的报道中 Cd 的超富集植物有宝山堇菜、印度芥菜和龙葵等。豌豆为一年生或两年生草本植物, 在食用和药用方面均有一定的价值。目前, 国内外关于核素与重金属复合污染的吸收研究鲜见报道, 本试验以豌豆为供试植物, 通过水培试验模拟土壤污染, 研究豌豆对 U、Cd 的吸收和富集特征,

以及在此胁迫下的生理生化反应, 为植物修复提供一定的科学依据。

1 实验材料与方法

1.1 试验材料

供试植物为豌豆, 购于绵阳种子公司。

U 的施加形式为 $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (分析纯, 中国医药公司北京化学试剂采购供应站), Cd 的施加形式为 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (分析纯, 成都市科龙化工试剂厂)。

1.2 试验方法

1.2.1 植物培养 试验采用水培方式, 地点为四川绵阳西南科技大学生命科学实验楼。将豌豆种子分别播于装有珍珠岩的土壤中, 待幼苗长至 5–6 片叶子时, 移至装有 Hoagland 营养液的 2 L 塑料桶中, 桶面盖上有孔泡沫板, 每孔 1 株, 每桶 10 株, 3 d 更换 1 次营养液, 培养 1 个月。

1.2.2 试验设计 培养 1 个月, 用 $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 复合胁迫分别处理豌豆幼苗, 进行吸收试验, 具体方法为: Hoagland 营养液为基础, 分别加入 $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 复合处理液 (见表 1), 把培养豌豆幼苗的营养液更换为 $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和

第一作者: 张艳, 女, 1987 年 2 月出生, 2010 年 7 月毕业于湖北工业大学, 现为西南科技大学 2010 级硕士研究生, 研究方向为资源植物学

通讯作者: 王丹

收稿日期: 初稿 2012-09-03, 修回 2012-09-25

$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 处理液, 每处理 10 株, 3 次重复。处理 7d 后, 把处理材料一部分用于测定豌豆 U、Cd 的积累含量; 另一部分分别取植物的第二片叶进

行根系活力、叶绿素含量和超氧化物歧化酶活性的测定。

Table 1 Concentration of U and Cd

Treatment element	Concentration of U and Cd			
	CK	1	2	3
U/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	0	5	20	100
Cd/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	0	5	20	100

Note: CK is the control. Each treatment consisted of three replications. mg/kg represents the weight of elements per kilogram nutrient solution.

1.3 测定方法

1.3.1 U、Cd 含量的测定 取出的豌豆幼苗用去离子水洗净后, 将根和地上部分开, 105°C 杀青 30 min 后, 在 75°C 下于烘箱中烘至恒重, 分别称其干重, 研磨, 再用微波消解仪进行硝化, 最后对植物地上部和根部的 U (Thermo scientific icap 6500 SERIES ICP Spectrometer)、Cd (Agilent Technologies 7700x ICP-MS) 含量分别进行测定, 每个样品 3 次重复。

1.3.2 生理生化指标的测定 采用 TTC 法测定根系活力^[7] ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ FW); 采用 95%乙醇比色法在 652 nm 处测定吸光度计算叶绿素总含量^[7] ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ FW); 采用氮蓝四唑 (NBT) 法测定超氧化物歧化酶^[8] ($\text{u} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ FW)。

1.4 数据分析

实验数据分析采用 Microsoft Excel2003 (美国,

Microsoft)、DPS3.1 软件 (中国) 进行, 所有检测数据重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 U、Cd 在豌豆体内的吸收特性

由表 2 可见, 随着处理浓度的增加, 豌豆地上部和根部对 U、Cd 的吸收量呈现上升的趋势, 且根部对两种元素的吸收量大于地上部。相同浓度下, 豌豆地上部对 Cd 的吸收能力强于 U, 当浓度为 100 mg/kg 时, 最大 Cd 吸收量是 U 的 2.58 倍。相反, 在同一浓度下, 豌豆根部对 U 的吸收明显高于对 Cd 的吸收。当浓度为 20 mg/kg 时, Cd 的吸收量仅为 U 的 28.19%。说明豌豆吸 U 之后转运至地上部的能力比 Cd 强。

Table 2 The element content of pea treated with different concentration U and Cd

Index	Concentration / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Pea	
		U	Cd
Above content / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	5	2.98cC	4.66cC
	20	9.79bB	14.04bB
	100	27.65aA	71.45aA
Root content / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	5	166.45cC	48.49cC
	20	294.40bB	82.98bB
	100	478.53aA	285.80aA

Note: Different letters in same column represents significant difference among concentrations of different part of plant at 0.05 level, while the different letters in same row mean significant difference among the same concentrations at 0.05 level under the different elements treatment.

2.2 不同复合胁迫下豌豆对 U、Cd 积累的富集系数比较

由图 1 可见, 豌豆对 U、Cd 的富集系数随着浓

度的增加均呈现逐渐下降的趋势, 且富集系数均小于 1。豌豆对 Cd 的富集系数在低浓度 5 mg/kg 时较高, 为 0.932。当浓度为 100 mg/kg 时, 豌豆对 U 的富集系数最低, 是浓度为 5 mg/kg 时 U 富集系数

的 46.45%。豌豆对 U、Cd 的吸收表现为高浓度抑制, 低浓度促进。

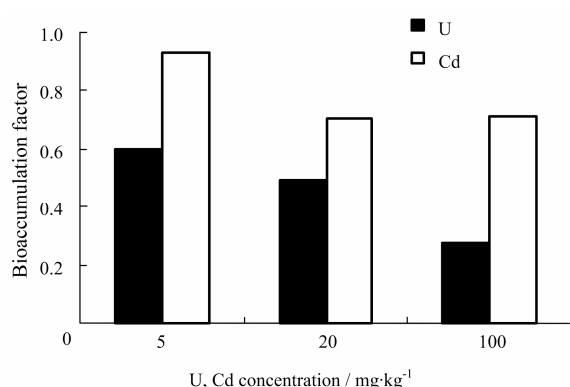


Fig.1 The bioaccumulation factor of pea with U and Cd of combined stress. Note: each treatment consisted of three replications. Results were represented as " $\bar{x} \pm s$ "

2.3 不同复合胁迫下豌豆对 U、Cd 的转运系数比较

由图 2 可知, 豌豆对 U、Cd 的转运系数随着各元素浓度的增加而呈现逐渐升高的趋势。豌豆对 U、Cd 的转运系数均小于 1, 其值在 0.018–0.250 之间。当浓度为 5 mg/kg 时, 豌豆对 U 的转运系数是 Cd 的 18.63%, 当达到高浓度 100 mg/kg 时, 豌豆 U 的转运系数为 Cd 的 23.12%, 是 5 mg/kg 时的 1.24 倍。说明豌豆对 U 的耐受性强于 Cd, 豌豆对 Cd 的转运能力高于 U。

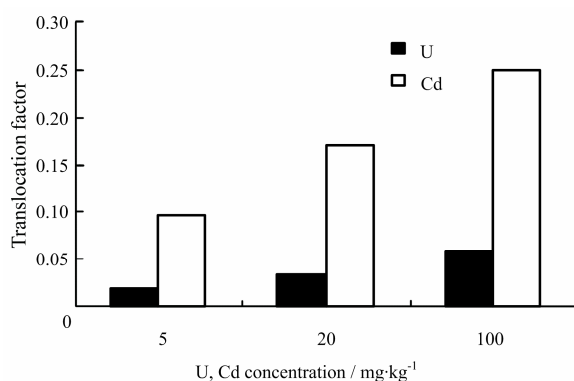


Fig.2 The translocation factors of pea with the U and Cd combined stress. Note: each treatment consisted of three replications. Results were represented as " $\bar{x} \pm s$ "

2.4 U、Cd 复合胁迫对豌豆根系活力的影响

由图 3 可见, 随着 U、Cd 复合处理浓度增加, 豌豆根系活力呈现先升后降的趋势, 最高值出现在 20 mg/kg。豌豆处理浓度 5 mg/kg 与对照无显著性差异, 其它处理与对照均存在极显著性差异, 各处理之间也有极显著性差异。当胁迫浓度为 20 mg/kg 时, 豌豆根系活力高于对照 122.17%, 当胁迫浓度

为 100 mg/kg 时, 根系活力为对照的 74.3%。以上说明一定浓度的复合胁迫有利于豌豆根系的生长, 在较低浓度的胁迫下, 其根系能够保持较高的根系活力, 保持较好的吸收和运输等功能。

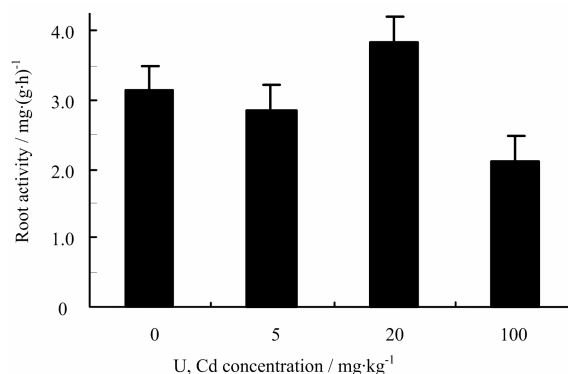


Fig.3 The effects of combined U and Cd stress on the root activity of pea. Note: each treatment consisted of three replications. Results were represented as " $\bar{x} \pm s$ "

2.5 U、Cd 复合胁迫对豌豆叶绿素含量的影响

由图 4 可见, 随着 U、Cd 复合处理浓度增加, 豌豆叶绿素含量呈现先升后降的趋势, 各处理与对照间有极显著性差异, 各处理之间也有极显著性差异。浓度 0 mg/kg, 豌豆叶绿素含量最低, 为 1650.58 mg/g。浓度 20 mg/kg, 豌豆叶绿素含量最高, 为 2336.93 mg/g, 是对照的 1.42 倍。说明 U、Cd 复合处理对豌豆叶绿素含量具有一定的促进性, 并且低浓度表现最为明显。

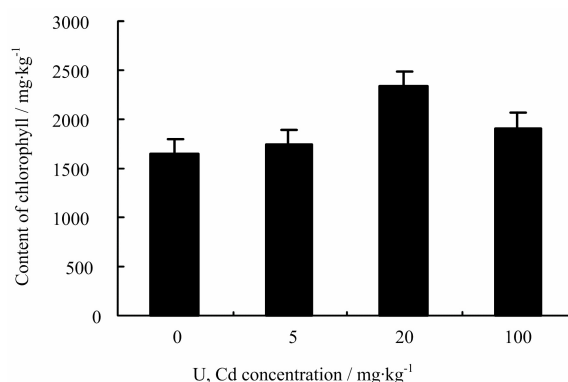


Fig.4 The effects of combined U and Cd stress on the chlorophyll content of pea. Note: each treatment consisted of three replications. Results were represented as " $\bar{x} \pm s$ "

2.6 U、Cd 复合胁迫对豌豆超氧化物歧化酶活性的影响

由图 5 可见, 随着 U、Cd 复合处理浓度增加, 豌豆 SOD 活性呈现先降后升的趋势。处理浓度 20mg/kg 与对照有显著性差异, 其它处理与对照均

无显著性差异,当浓度为 20 mg/kg 时,豌豆 SOD 活性最小,是对照的 53.39%,与处理浓度 5 mg/kg 有显著性差异,与处理浓度 100 mg/kg 存在极显著性差异。说明,核素与重金属复合胁迫下低浓度对豌豆超氧化物歧化酶活性的破坏性较大。但当处理浓度 100 mg/kg 时,豌豆 SOD 活性急剧上升,是对照的 1.36 倍,说明高浓度的复合胁迫能够促进豌豆超氧化物歧化酶的活性。

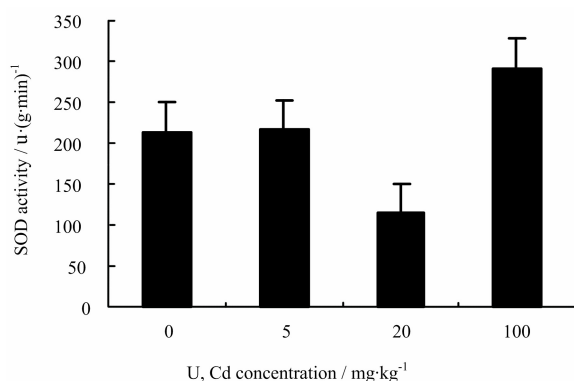


Fig.5 The effects of combined U and Cd stress on the SOD activity of pea. Note: each treatment consisted of three replications. Results were represented as " $\bar{x} \pm s$ "

3 讨论

短期 U、Cd 吸收试验表明,浓度越高,豌豆吸收的越多。U、Cd 在植物体内含量分布表现为:根部>地上部。可见元素是先从土壤介质进入植物根部细胞,通过供质体的运输穿越根内皮层中的凯氏带,进入中柱送达木质部,再与木质部中大量存在的有机酸和氨基酸结合运往地上部分^[9]。根部的积累有一小部分转移到了地上部,说明根部是豌豆积累 U、Cd 的主要器官。随着处理浓度的增加,豌豆对 U、Cd 的富集系数呈下降趋势,其转运系数呈上升趋势,但均小于 1,这说明在 U、Cd 的复合胁迫下,豌豆具有一定的耐受性。李凝玉等^[10]的研究表明,籽粒苋 K112 与 R104 体内含量随土壤中 Cd 浓度增加而快速上升,两种籽粒苋对 Cd 的绝对提取量相似,并随土壤 Cd 浓度的上升而快速增加。土壤 Cd 较高浓度时,籽粒苋富集系数有较明显下降,Cd 在籽粒苋体内的转运系数一般在 0.8 以上,只是在最低 Cd 浓度时转运系数约 0.5。

根系活力泛指根系的吸收、合成、氧化和还原能力等,是一种客观地反映根系生命活动的生理指标,其强度的高低可在一定程度上反映植株的生长能力^[11]。从实验结果可以看出,豌豆的根系活力随处理浓度增加,表现为先升后降的趋势,并且在浓度为 20 mg/kg 时的根系活力大幅上升,高于对照。

产生这个现象的原因可能是根系对低浓度 U、Cd 的复合胁迫有一定的应激能力,通过提高代谢作用来缓解复合胁迫的伤害,但是随着处理浓度的继续增加,强的呼吸代谢造成能量的过多消耗,抑制了植物的生长,导致根系活力下降。

植物在逆境胁迫下,细胞活性氧代谢的平衡遭受破坏而产生大量的自由基,他们可能穿越质体膜进入叶绿体,加速叶绿体质膜过氧化而损伤细胞膜结构^[12]。U、Cd 复合胁迫下豌豆叶绿素含量呈现先升后降的趋势,但变化不明显。叶绿素含量在较低浓度上升的原因可能是豌豆对低浓度的复合胁迫有一定的抗性,随着 U、Cd 复合处理浓度的增加,叶绿素含量表现下降的趋势,其原因可能是核素与重金属的毒害引起细胞内膜结构的破坏。张利红^[13]等研究认为,当 Cd²⁺浓度小于 0.25 mmol·L⁻¹ 时,小麦叶绿素含量随着 Cd²⁺浓度的增加而升高,Cd²⁺浓度为 0.25 mmol·L⁻¹ 时叶绿素含量达到峰值,此后随着 Cd²⁺浓度的增加叶绿素含量下降。SOD 是一种重要的活性氧防御酶,在消除超氧自由基、减轻脂质过氧化作用和膜伤害方面起重要作用^[14]。SOD 能够降低植物体内活性氧,从而保护植物细胞不受伤害。豌豆的 SOD 活性随处理浓度增加呈现先降后升的趋势,实验反映,100 mg/kg 复合胁迫下豌豆的 SOD 显著上升,其原因可能是 U、Cd 复合污染在较高浓度下对豌豆表现为协同作用。

从实验结果看,随 U 和 Cd 复合处理浓度的增加,豌豆的根系活力、叶绿素含量均呈先升后降趋势,SOD 活性呈先降后升趋势。在本试验所设浓度范围内,豌豆幼苗各部 U 和 Cd 的分布规律一致,均表现为根部>地上部。各部位 U 和 Cd 的含量均随浓度升高而增加。随着复合处理浓度的增加,豌豆对 U、Cd 的富集系数呈下降趋势,转运系数呈上升趋势,但两者均<1,说明豌豆对 U、Cd 具有较好的耐受性。各相同处理浓度下,豌豆吸收 Cd 的能力强于 U。

参考文献

- 1 Hern ndez-Apaolaza L, Gasc A M, Gasc Jos M, *et al.* Reuse of waste materials as growing media for ornamental plants[J]. *Bioresource Technology*, 2005, **96**: 125-131
- 2 万芹方, 任亚敏, 王亮, 等. 铀污染土壤的植物修复研究[J]. *化学学报*, 2011, **69**(15): 1780-1788
WAN Qinfang, REN Yamin, WANG Liang, *et al.* Phytoremediation for soil contaminated by uranium [J]. *Acta Chimica Sinica*, 2011, **69**(15): 1780-1788
- 3 刘俐, 高新华, 宋存义, 等. 土壤中镉的赋存行为及迁

- 移转化规律研究进展[J]. 能源环境保护, 2006, **20**(2): 6-9
- LIU Li, GAO Xinhua, SONG Cunyi, *et al.* Progress in the study of cadmium occurrence and transportation in soils [J]. Energy Environment Protection, 2006, **20**(2): 6-9
- 4 单孝全. 土壤的植物修复与超积累植物研究[J]. 分析科学学报, 2004, **20**(4): 430-433
- SHAN Xiaoquan. Research to Phytoremediation and Hyperaccumulators J Anal Sci, 2004, **20**(4): 430-433
- 5 Dushenkov S, Vasudev D, Kapulnik Y, *et al.* Removal of uranium from water using terrestrial plants[J]. Environ Sci Technol, 1997, **31**(12): 3468-3474
- 6 Chang P C, Kim K W, Yoshida S. Uranium Accumulation of Crop Plants Enhanced by Citric Acid[J]. Environ Geochem Health, 2005, **27**(5-6): 529-538
- 7 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 134-136
- WANG Xuekui. The principle and technology of plant physiological biochemical experiment [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006: 134-136
- 8 李玲. 植物生理学模块试验指导[M]. 北京: 科学出版社, 2009: 98-100
- LI Ling. The guide of plant physiological module test [M]. Beijing: Science Press, 2009: 98-100
- 9 李法云, 曲向荣, 吴龙华. 污染土壤生物修复理论基础与技术[M]. 北京: 化学工业, 2006: 134-135
- LI Fayun, QU Xiangrong, WU Longhua. The theoretical basis and technology of pollution of the soil bioremediation [M]. Beijing: Chemical Industry, 2006: 134-135
- 10 李凝玉, 卢焕萍, 李志安, 等. 籽粒苋对土壤中镉的耐受性和积累特征[J]. 应用与环境生物学报, 2010, **16**(1): 028-032
- LI Ningyu, LU Huanping, LI Zhian, *et al.* Tolerance and accumulation of cadmium in soil by amaranthus hypochondriacus [J]. Chin J Appl Environ Biol, 2010, **16**(1): 028-032
- 11 Scandalios J G. Oxygen stress and superoxide dismutase [J]. Plant Physiol, 1993, **10**(1): 7-12
- 12 刘海龙, 郑桂珍, 关军锋, 等. 干旱胁迫下玉米根系活力和膜透性的变化[J]. 华北农学报, 2002, **17**(2): 20-22
- LIU Hailong, ZHENG Guizhen, GUAN Junfeng, *et al.* Changes of root activity and membrane permeability under drought stress in maize [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2002, **17**(2): 20-22
- 13 张利红, 李培军, 李雪梅, 等. 镉胁迫对小麦幼苗生长及生理特性的影响[J]. 生态学杂志, 2005, **24**(4): 458-460
- ZHANG Lihong, LI Peijun, LI Xuemei, *et al.* Effects of cadmium stress on the growth and physiological characteristics of wheat seedlings [J]. Chinese Journal of Ecology, 2005, **24**(4): 458-460
- 14 王美娥, 周启星. 重金属 Cd, Cu 对小麦幼苗生理生化过程的影响及其毒性机理研究[J]. 环境科学学报, 2006, **26**(12): 2033-2038
- WANG Meie, ZHOU Qixing. Effects of Cd and Cu on physiological and biochemical processes of wheat (*Triticum aestivum*) seedlings and their toxic mechanisms [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2006, **26**(12): 2033-2038

Response of peas to U and Cd combined stress and their accumulation characteristic

ZHANG Yan¹ WANG Dan^{1,2} LI Li¹

¹(College of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, 621010, China)

²(Defense Key Discipline Laboratory of the Nuclear Waste Environmental Security, Mianyang, 621010, China)

ABSTRACT Plant roots activities, chlorophyll, SOD and accumulating characteristics of peas were investigated after combined stress with different concentrations of U and Cd in the hydroponic condition. The results showed that the roots activities of pea were higher than that in the control group meanwhile relative to other concentrations could promote the root growth under low concentrations of U and Cd treatment (20 mg/kg). There are no significant effects on the biomass of pea. Along with the increment of concentrations, the contents of U and Cd increase in both parts of the plants and the contents showed roots>the part above-ground. The bioaccumulation factor (BF) and the translocation factor (TF) of pea to U was obviously weaker than Cd.

KEYWORDS Pea, U, Cd, Growth response, Accumulating characteristics

CLC X591