

镉·硒单一及联合作用对大蒜根尖细胞微核的影响

黄白飞, 辛俊亮*, 向琳霞, 宋杞, 魏帆, 朱诗雅, 刘安, 伏浩 (湖南工学院安全与环境工程系, 湖南衡阳 421002)

摘要 [目的]探讨 Cd、Se 单一处理及复合处理对大蒜根尖细胞微核的影响。[方法]测量不同 Cd、Se 处理后根的生长速度及微核率。[结果] Cd(1.0~200.0 mg/L)对大蒜根有毒害作用,抑制了根的生长,同时诱发细胞微核的形成,浓度越大毒害程度越大。Cd、Se 联合处理时,Se 在低浓度(<0.5 mg/L)下,联合处理的微核率小于单一 Cd 处理;但是 Se 浓度超过 0.5 mg/L 后,反而加剧了 Cd 对大蒜根尖的危害。[结论]低浓度 Se 能缓解 Cd 的毒性作用,高浓度 Se 加强 Cd 的毒性作用。

关键词 镉;硒;大蒜;细胞微核;根生长速度

中图分类号 S633.4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)26-0018-03

Individual and Combined Effects of Cadmium and Selenium on Micronuclei of *Allium sativum*

HUANG Bai-fei, XIN Jun-liang*, XIANG Lin-xia et al (Department of Safety and Environmental Engineering, Hunan Institute of Technology, Hengyang, Hunan 421002)

Abstract [Objective] The aim was to study the individual and combined effects of cadmium and selenium on the micronuclei of *Allium sativum*. [Method] We determined the root growth rate and the micronucleus rate. [Result] The Cd (1.0-200.0 mg/L) had toxic effect on garlic root. The root growth was inhibited and the cell micronucleus formed after Cd treatment. The degree of Cd poisoning on root increased as Cd concentration increased. Under the combined treatment of Se and Cd, the micronucleus rates of combined treatments with a low concentration (<0.5 mg/L) of Se were lower than the sole Cd treatment. However, the high levels of Se (>0.5 mg/L) could increase the damage of Cd on root tip of garlic. [Conclusion] Se can relieve the toxic effect of Cd on garlic root under low concentration and aggravate the toxic effect under high concentration.

Key words Cadmium (Cd); Selenium (Se); Garlic; Micronuclei; Growth rate of roots

近年来,我国重金属污染日益严重。镉(Cd)对植物而言是非必需元素,且具有较强的毒性^[1]。硒(Se)是必需元素,可拮抗环境中重金属(如Cd)对植物的毒害作用,增强植物对重金属的抗性^[2]。但Se浓度过高对植物也具有较强的毒害作用。植物微核技术是利用环境污染因子诱变细胞染色体畸变产生微核而建立起来的一种技术,其中大蒜微核试验是植物微核技术中常用的一种方法^[3]。为研究Cd、Se单一处理及复合处理对植物的影响,笔者利用大蒜根尖细胞进行微核试验,对其遗传毒性进行了比较观察。

1 材料与方

1.1 材料 选择大小均匀、无损伤的大蒜瓣,放入培养皿中,加一定量清水,使蒜瓣的根部浸入水中即可,置于25℃恒温箱中催化大蒜发根,每天换1次水。根尖长至1~2 cm时用不同浓度Cd、Se进行根尖染毒,培养24、48 h,测定根长。

1.2 方法

1.2.1 试验处理设置。根尖染毒时,将一部分大蒜分别放入盛有Cd溶液(浓度为1.0、5.0、10.0、100.0、200.0 mg/L)和Se溶液(浓度为0.1、0.5、1.0、10.0、20.0 mg/L)的培养皿中,另一部分大蒜放入盛有Cd、Se复合溶液的培养皿中,Cd+Se浓度分别为10.0 mg/L+0 mg/L、10.0 mg/L+0.1 mg/L、10.0 mg/L+0.5 mg/L、10.0 mg/L+1.0 mg/L、10.0 mg/L+

10.0 mg/L、10.0 mg/L+20.0 mg/L、100.0 mg/L+0 mg/L、100.0 mg/L+0.1 mg/L、100.0 mg/L+0.5 mg/L、100.0 mg/L+1.0 mg/L、100.0 mg/L+10.0 mg/L、100.0 mg/L+20.0 mg/L,使溶液浸泡大蒜根尖即可。同时设蒸馏水作为对照组。

1.2.2 切片制备及染色观察。将处理后的大蒜用清水浸洗3次,每次2~3 min。再放入盛有蒸馏水的培养皿中,25℃修复24 h。取1 cm根尖,用卡诺氏固定液4℃固定24 h,或1 mol HCl解离后75%乙醇保存。水洗后将幼根浸泡在1 mol/L HCl中,于40℃解离10 min。水洗后用schiff试剂染色在黑暗中染色4~6 h。水洗后用压片法制片。每个处理随机观察3个玻片,每个根尖观察1 000个细胞,统计微核个数。

1.2.3 数据处理。将微核观察所得数据按以下公式进行统计学处理:

$$MNC = \frac{\text{某测试样品观察到的MCN数}}{\text{某测试样品观察的细胞数}} \times 1000\%$$

数据用独立样本t检验进行统计,统计软件为SPSS和Excel 2007。

2 结果与分析

2.1 Cd、Se单一处理及复合处理对大蒜根生长的影响 由图1可知,Cd处理下,1.0和5.0 mg/L的Cd处理2 d对大蒜根生长没有明显的抑制作用。而10.0、100.0、200.0 mg/L Cd处理2 d后,大蒜根的生长速度显著低于对照,说明这些浓度的Cd已对大蒜根产生毒害作用。0.1 mg/L Se处理下,大蒜根每天生长的长度显著增加,说明低浓度Se对Cd的生长具有明显的促进作用。而1.0、10.0、20.0 mg/L Se处理2 d后,大蒜根生长的长度显著下降,说明高浓度Se对大蒜根具有毒性作用。Cd、Se相比,Se能在更低的浓度下(1.0 mg/L)对大蒜根表现出毒害作用。

基金项目 湖南省教育厅优秀青年项目(17B067);湖南工学院公派出国留学人员专项(HY15037, HY15039);湖南省大学生研究性学习和创新性实验计划项目;湖南工学院大学生研究性学习和创新性实验计划项目。

作者简介 黄白飞(1983—),女,湖南郴州人,副教授,博士,从事土壤重金属污染防治研究。*通讯作者,副教授,博士,从事土壤重金属污染防治研究。

收稿日期 2017-05-24

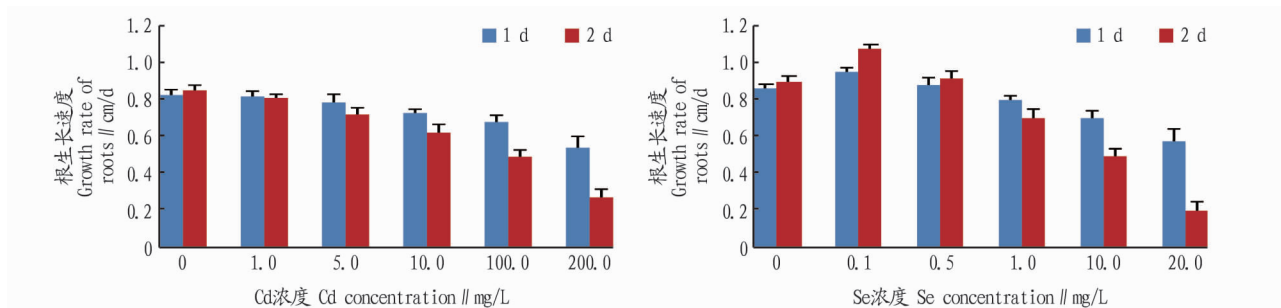


图1 Cd、Se 单独处理对根生长速度的影响

Fig. 1 Effect of Cd or Se exposure on growth rate of roots

对大蒜进行 Cd、Se 复合处理试验结果表明:与单一的 Cd 处理相比较,同一处理时间下,随 Se 浓度的增加,根的生长速度表现出先增长再减小的变化趋势(图 2);随着处理时间延长,所有浓度组的毒害作用都在持续增加。Se 浓度在 0.5 mg/L 以下时,复合处理根平均生长速度大于单一 Cd 处理的长度,说明低浓度的 Se 对 Cd 的毒性有所缓解。Se 浓度大于 0.5 mg/L 时,与单一 Cd 处理相比,复合处理根生长速度明显降低,说明中高浓度的 Se 与 Cd 复合后,两者毒性会叠加,造成大蒜根尖生长缓慢。

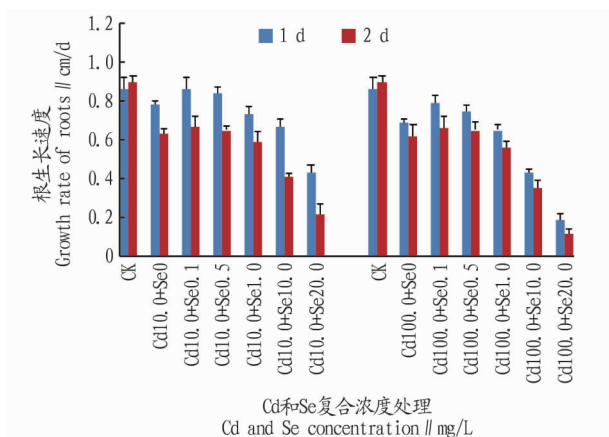


图2 Cd 和 Se 复合处理对根生长速度的影响

Fig. 2 Effect of Cd and Se combined treatment on growth rate of roots

2.2 Cd、Se 单一处理及复合处理对大蒜根尖微核率的影响 由图 3 可知,同一 Cd 处理时间下,大蒜根尖细胞的微核率随 Cd 浓度的增加而上升,说明 Cd 在大蒜根中会引起间期细胞中的染色体结构,导致微核形成。1.0 mg/L Cd 溶液处

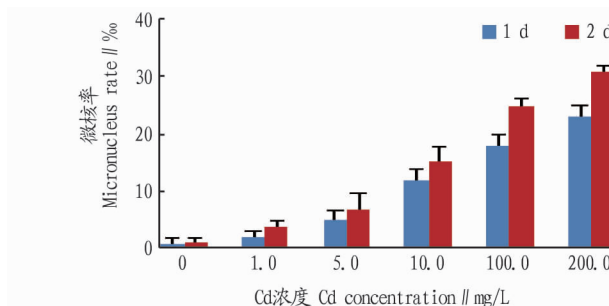


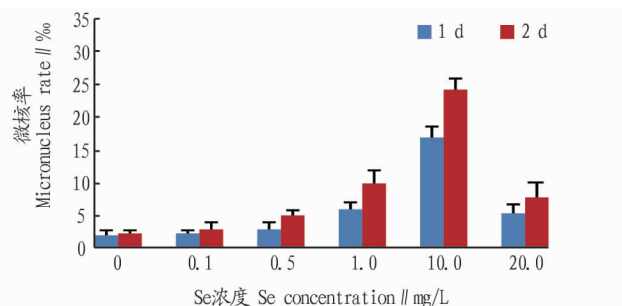
图3 Cd 和 Se 单一处理对微核率的影响

Fig. 3 Effect of Cd or Se treatment on micronucleus rate

理 24 h 后微核率为 2.00%, 200.0 mg/L Cd 溶液处理 24 h 后微核率增长至 23.00%。而在同等浓度 Cd 处理下,随着培养时间的延长,细胞的微核率也在增长。如在 100.0 mg/L Cd 溶液中,经过 24 h 培养,微核率为 18.00%, 48 h 后达 24.67%。这说明细胞微核率随 Cd 浓度的增加和时间的延长而增加。

同一浓度 Se 处理下,根尖细胞的微核率在低浓度 (0.1~0.5 mg/L) Se 处理下,与对照组的微核率类似,说明低浓度 Se 对根尖细胞无明显遗传毒性。而在 0.5 mg/L 浓度以上时,微核现象随浓度增加而上升,微核率都明显高于对照组,并与 Se 浓度呈正相关,说明高浓度 Se 造成大蒜根细胞染色体结构异常,发生畸变,有遗传毒性。然而,在 Se 浓度高达 20.0 mg/L 时,微核率陡然降低,说明在该浓度下,Se 对细胞产生了严重的毒害作用,可能在一定程度抑制了细胞的有丝分裂,微核现象不明显。

Cd、Se 复合处理对微核率的影响见图 4。随着 Se 浓度的增加,与单一的 Cd 处理相比较,复合处理下细胞微核率表现出先下降再上升然后再下降的趋势。而随着时间的延长,微核率均呈上升趋势。Cd 浓度为 10.0 mg/L 时,用 0.1 和 0.5 mg/L Se 浓度处理大蒜根尖 24、48 h 时,细胞的微核率与单一 Cd 处理相比分别下降了 5.33%、4.00% 和 3.00%、5.00%,但与对照组的微核率相比仍然增加,说明低浓度的 Se 在一定程度上能缓解但不能完全消除 Cd 的遗传毒害作用。Se 浓度大于 1.0 mg/L 时,复合处理细胞微核率明显高于单一 Cd 处理,并随浓度增加而升高。但当 Se 浓度达 20.0 mg/L 时,微核率突然下降,这可能是因为高浓度 Cd 和 Se 引起根尖的细胞反应从而降低或抑制了细胞的分裂甚至



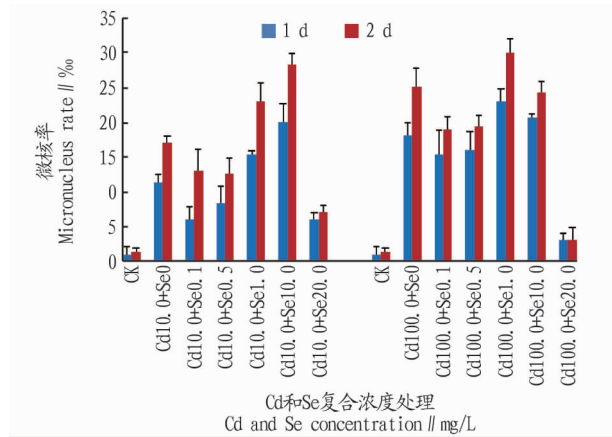


图4 Cd和Se复合处理对微核率的影响

Fig. 4 Effect of Cd and Se combined treatment on micronucleus rate

造成细胞死亡导致。当Cd浓度为100.0 mg/L时,细胞微核率的趋势与Cd浓度为10.0 mg/L时基本一致。综上所述,低浓度的Se能降低Cd污染中细胞微核的形成,有一定的拮抗作用,但是高浓度的Se则会和Cd形成协同作用,毒害细胞并增加细胞微核的产生。

3 结论与讨论

Cd作为一种有毒重金属,对植物有较强的毒性。该研究中,在Cd浓度为1.0~200.0 mg/L时,Cd的浓度越高,大蒜根尖生长受到的抑制作用越大,诱变大蒜根尖细胞形成微核的可能性越大。就Cd对大蒜根的细胞学毒害作用而言,该试验结果与小黑麦^[4]、番茄^[5]、水稻^[6]研究结果类似。植物根系最先与Cd进行接触,也能积累较高的Cd,也最先产生毒害作用^[7]。Cd能维持细胞内自由基产生和清除间的平

衡。过量自由基能损伤酶和DNA,导致细胞分裂受到抑制,进而造成细胞功能紊乱^[8],染色体畸变,微核数量显著增加。

Se是生物的营养元素,其作用效果具有二重性^[9]。该研究发现,低浓度的Se(<0.5 mg/L)对大蒜根生长起促进作用。一定浓度Se能缓解Cd对大蒜的抑制作用,原因可能是Se有抗氧化的作用,有助于降低或消除脂氢过氧化物产生的自由基对膜的攻击能力。Se与其他的重金属也有低浓度拮抗作用高浓度协同作用的特点^[10]。而高浓度的Se(>0.5 mg/L)则对大蒜的根尖产生明显的毒害作用,微核率也随浓度增加而上升。因此,在重金属污染的土壤里施用适量Se,有助于缓解重金属对农作物的毒害,对农业发展有重大意义。

参考文献

- [1] 宋建,金凤媚,薛俊,等.不同番茄品系吸收和积累镉能力的差异[J].安徽农业科学,2016,44(5):33-35.
- [2] 王丽霞.硒元素的植物生理作用及生理机制研究进展[J].安徽农业科学,2010,38(1):31-32.
- [3] 吴笛,张国栋,封少龙,等.两种新型杀虫剂对大蒜及蚕豆根尖细胞微核率影响的研究[J].农业环境保护,2002,21(1):72-73.
- [4] 时雨冉,白丽荣,高汝勇,等.镉胁迫对小黑麦根尖细胞的遗传毒害效应[J].麦类作物学报,2015,35(11):1592-1596.
- [5] 汪亚雯,陈德碧.镉对番茄根尖细胞的遗传毒害效应[J].贵州农业科学,2013,41(1):185-186.
- [6] 何俊瑜,任艳芳,严玉萍,等.镉胁迫对水稻幼苗生长和根尖细胞分裂的影响[J].土壤学报,2010,47(1):138-144.
- [7] 熊愈辉,杨肖娥.镉对植物毒害与植物耐镉机理研究进展[J].安徽农业科学,2006,34(13):2969-2971.
- [8] 殷欣.镉胁迫下大豆生理生化特性及DNA甲基化变异的研究[D].哈尔滨师范大学,2016.
- [9] 高扬,韩德复,于海芹.硒对大蒜根尖细胞有丝分裂影响的初探[J].长春师范大学学报,2007,26(8):54-57.
- [10] 陈松灿,孙国新,陈正,等.植物硒生理及与重金属交互的研究进展[J].植物生理学报,2014,1(5):612-624.

(上接第17页)

- [3] STEDANSKY M, CONTI E, BERTOCCHI C, et al. Fed-batch production and simple isolation of succinoglycan from *Agrobacterium tumefaciens* [J]. Biotechnology techniques, 1999, 13(1): 7-10.
- [4] HISAMATSU M, ABE J, AMEMURA A, et al. Formation of an oligosaccharide, the repeating unit of succinoglycan, by *Alcaligenes faecalis* var. *Myxogènes* [J]. Carbohydrate research, 1978, 66(1): 289-294.
- [5] MISAKI A, SAITO H, ITO T, et al. Structure of succinoglycan and exocellular acidic polysaccharide of *Alcaligenes faecalis* var. *myxogènes* [J]. Biochemistry, 1969, 8(11): 4645-4650.
- [6] BAKHTIYARI B, MOOSAVI-NASAB M, ASKARI H. Optimization of succinoglycan hydrocolloid production by *Agrobacterium radiobacter* grown in sugar beet molasses and investigation of its physicochemical characteristics [J]. Food hydrocolloids, 2015, 45: 18-29.
- [7] FLOCK T, MARCHITTO S. Adhesive Laminates for Rapid Wound Occlusion; US, 20120065672 [P]. 2012-03-15.
- [8] KAZUNOBU S, MISATO S, HIROKAZU I. O/W-TYPE SKIN CARE PREPARATION; JP, JP 2009286757 A [P]. 2009-12-10.
- [9] MIHARU N, MASAOKI I. Composition for external use containing succinoglycan, clay mineral and an alkyl acrylate/methacrylate copolymer; JP, EP 0988854 A3 [P]. 2002-06-19.
- [10] GOODNER B, HINKLE G, GATTUNG S, et al. Genome sequence of the plant pathogen and biotechnology agent *Agrobacterium tumefaciens* C58 [J]. Science, 2001, 294(5550): 2323-2328.
- [11] HAO Y A, CHARLES T, GLICK B R. ACC deaminase activity in avirulent *Agrobacterium tumefaciens* D3 [J]. Canadian journal of microbiology, 2011, 57(4): 278-286.
- [12] RUIZ S P, MATTINEZ C O, NOCE A S, et al. Biosynthesis of succinoglycan by *Agrobacterium radiobacter* NBRC 12665 immobilized on loofa sponge and cultivated in sugar cane molasses. Structural and rheological

characterization of biopolymer [J]. Journal of molecular catalysis B: Enzymatic, 2015, 122: 15-28.

- [13] ANDHARE P, DELATTRE C, PIERRE G, et al. Characterization and rheological behaviour analysis of the succinoglycan produced by *Rhizobium radiobacter* strain CAS from curd sample [J]. Food hydrocolloids, 2017, 64: 1-8.
- [14] YOON S, KIM M K, LEE I Y, et al. Production and structural features of a water-soluble polysaccharide from a mutant strain of *Agrobacterium* sp. [J]. Journal of industrial and engineering chemistry, 2008, 14(6): 759-764.
- [15] TOMLINSON A D, RAMEY-HARTUNG B, DAY T W, et al. *Agrobacterium tumefaciens* ExoR represses succinoglycan biosynthesis and is required for biofilm formation and motility [J]. Microbiology, 2010, 156(9): 2670-2681.
- [16] COMISH A, GREENWOOD J A, JONES C W. The relationship between glucose transport and the production of succinoglycan exopolysaccharide by *Agrobacterium radiobacter* [J]. Journal of general microbiology, 1988, 134(12): 3111-3122.
- [17] STREDANSKY M, CONTI E, BERTOCCHI C, et al. Succinoglycan production by *Agrobacterium tumefaciens* [J]. Journal of fermentation and bioengineering, 1998, 85(4): 398-403.
- [18] SAUDAGAR P S, SINGHAL R S. Fermentative production of curdlan [J]. Applied biochemistry and biotechnology, 2004, 118(1/2/3): 21-31.
- [19] 杨让, 张学欢, 汪喜蛛, 等. 黄原胶发酵及提取工艺的优化研究 [J]. 食品工业, 2008(6): 20-23.
- [20] 陈超, 王君高, 周喜燕, 等. 黄原胶发酵条件优化研究 [J]. 中国酿造, 2009(4): 121-123.
- [21] 赵燕, 陈芳, 李建科, 等. 微生物多糖韦兰胶生产工艺优化 [J]. 食品科学, 2010, 31(23): 219-223.