

Hg²⁺、Cr³⁺ 共同胁迫对苦草抗氧化酶活性的影响

王小平, 华春, 李朝晖, 贲爱玲, 周泉澄 (南京晓庄学院生命科学系, 江苏南京211171)

摘要 研究了不同浓度Hg²⁺、Cr³⁺共同胁迫对苦草抗氧化酶系统的影响, 结果表明: Hg²⁺、Cr³⁺及共同胁迫作用, 都能导致苦草O₂^{·-}、MDA含量发生变化, 随离子浓度增加, O₂^{·-}、MDA含量先升后降, MDA峰值较O₂^{·-}滞后, Hg²⁺、Cr³⁺共同作用所产生的毒性效应大于单一Hg²⁺、Cr³⁺; 随着Hg²⁺、Cr³⁺复合离子浓度的增加, SOD、POD活性先升后降, 以及CAT在开始阶段略有升高, 之后下降, 这表明抗氧化酶系统在清除活性氧自由基过程中起重要作用, 但植物抗性能力是有一定范围的。

关键词 苦草; Hg²⁺; Cr³⁺; 共同胁迫

中图分类号 Q945.78 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)33-10605-02

Study on Activity Changes of Antioxidant Enzyme Systems of *Vallisneria spiralis* L. in Combinative Stress of Hg²⁺ and Cr³⁺

WANG Xiaoping et al (Department of Life Science, Nanjing Xiaozhuang College, Nanjing, Jiangsu 211171)

Abstract The effects of Hg²⁺ and Cr³⁺ interaction on O₂^{·-} and MDA and antioxidant enzyme systems of *Vallisneria spiralis* L. were discussed. The results showed that the function of Hg²⁺ and Cr³⁺ and combined pollution made change of O₂^{·-} and MDA content in *Vallisneria spiralis* L. The toxicity of combined pollution was heavier than those of single pollution. With the increasing of the concentration of Hg²⁺ and Cr³⁺, accumulation of O₂^{·-} and MDA were stimulated in lower level but decreased afterwards. The crest value of O₂^{·-} appeared earlier than MDA. The activities of SOD and POD also raised first and dropped then. The activities of CAT raised a little at first and dropped afterwards. It was concluded that antioxidant enzyme systems may be regarded as a protecting function of plants and having effect in antioxidation.

Key words *Vallisneria spiralis* L.; Hg²⁺; Cr³⁺; Combinative stress

重金属离子对水生植物毒害机理在单种离子的研究方面比较多, 而在自然环境、特别是水环境中, 重金属元素往往是以复合污染的形式出现^[1-2]。由于重金属离子之间存在拮抗与协同作用, 使得有关重金属元素的复合污染对植物的毒害机理的研究更具有理论和实际意义。

苦草(*Vallisneria spiralis* L.)为水鳖科(Hydrocharitaceae)苦草属(*Vallisneria*)沉水草本植物, 无直立茎, 叶基生, 线形或带形, 常被称为扁担草等^[3]。苦草营养丰富, 是草食性鱼等动物的重要饵料, 苦草也是猪、鸡、鸭的饲料。该植物广泛分布于世界各地, 在淡水湖泊、池塘等处均能很好地生长^[4]。目前, 有关苦草受到Cr、Hg共同胁迫的研究还少见报道。

1 材料与方

1.1 实验材料 从水塘中采集高为20~30 cm苦草, 新鲜材料及时放入盛有按1:40稀释的Hgland培养液的玻璃缸中, 置于LRH250-GS型人工气候箱内, 设置光照周期为12 h/12 h(L/D), 温度为25℃, 培养备用。选用长、宽、高分别为30、30和45 cm的玻璃缸为培养容器。用去离子水配成的Hgland培养液作溶液^[5], 配成单离子系列浓度分别为0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 ng/L HgCl₂, 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 ng/L CrCl₃; 分别取2 L的1.0、2.0、4.0 ng/L HgCl₂溶液分别逐一加入到等体积(2 L)的1.0、2.0、4.0、10.0、20.0 ng/L CrCl₃溶液中, 配成复合离子系列浓度。选取生长正常、健壮、株高25 cm左右的植株, 每缸5株进行培养^[6]。培养6 d后, 对苦草进行测试, 各处理组设置3个重复实验。另设对照组。

1.2 实验方法 超氧阴离子(O₂^{·-})、丙二醛(MDA)含量的测定: 按照王爱国等^[7]的方法测定O₂^{·-}, 参照Heath等^[8]的硫代巴比妥酸(TBA)比色法测定MDA。超氧化物歧化酶(SOD)

活性的测定: 参照Ganopltis等^[9]的方法。以抑制NBT光化还原50%为一个酶活性单位。过氧化物酶(POD)活性的测定: 参照Mehly^[10]的愈创木酚氧化法测定。过氧化氢酶(CAT)活性的测定: 参照张志良等^[11]介绍的氧电极法进行。

2 结果与分析

2.1 Hg²⁺、Cr³⁺及其共同胁迫对苦草O₂^{·-}、MDA含量的影响 经Hg²⁺、Cr³⁺处理的苦草, O₂^{·-}含量有明显变化; 当O₂^{·-}达最高值时, Hg²⁺、Cr³⁺各为1.0、5.0 ng/L, 其含量为对照的169%和165%。随着Hg²⁺、Cr³⁺浓度的增大, O₂^{·-}含量逐渐下降。在Hg²⁺、Cr³⁺共同胁迫时, O₂^{·-}含量最高值出现在Cr³⁺、Hg²⁺浓度分别为1.0、2.0 ng/L时; 复合离子胁迫下O₂^{·-}峰值比单一离子提前, 且O₂^{·-}下降幅度也较大, 显示Cr³⁺、Hg²⁺共同胁迫产生的毒性效应要大(图1、2)。

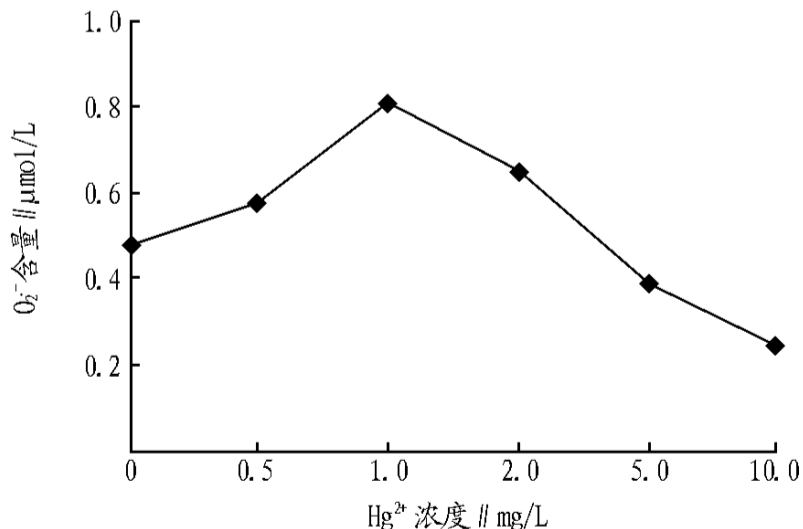


图1 Hg²⁺对苦草的O₂^{·-}含量的影响

MDA含量变化与O₂^{·-}相似, 但整体上略滞后于O₂^{·-}含量变化。在低于1.0 ng/L Hg²⁺和2.0 ng/L Cr³⁺时, MDA含量缓慢上升; 随着离子浓度增高而显著增加, 并分别在5.0 ng/L Cr³⁺、2.0 ng/L Hg²⁺时达到最高值; 在2.0 ng/L Hg²⁺和1.0 ng/L Cr³⁺共同胁迫时, MDA含量最大(图3、4)。在离子胁迫下, 植物体正常的O₂^{·-}产生与清除平衡被打破了, 致使O₂^{·-}等含量增加; 过多的O₂^{·-}加速膜脂过氧化, 植物体

基金项目 江苏省教育厅自然科学基金指导项目(2004KJD180113); 南京晓庄学院自然科学基金(2004NXY10); 南京晓庄学院重点课程生态学资助。

作者简介 王小平(1969-), 男, 江苏南京人, 讲师, 从事植物形态结构及生理的教学和研究工作。

收稿日期 2007-10-16

内 MDA 含量增多, 从而造成植物组织伤害、坏死。

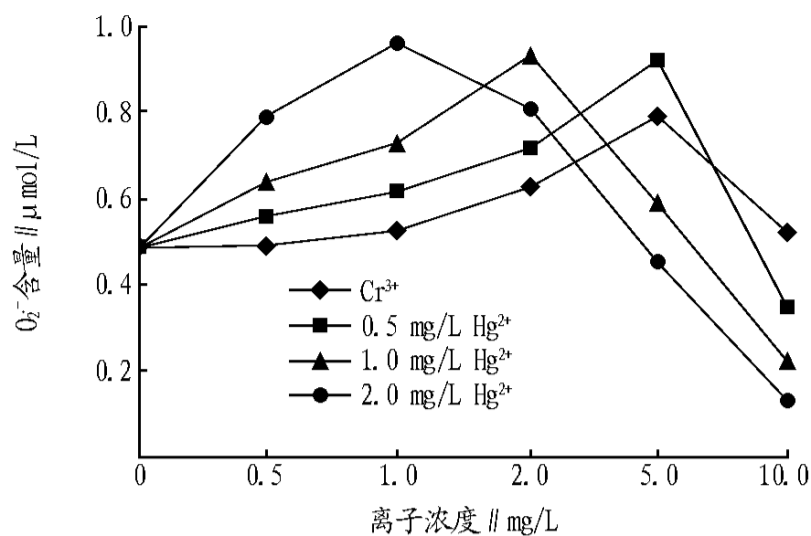


图2 Cr^{3+} 及复合污染对苦草 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量的影响

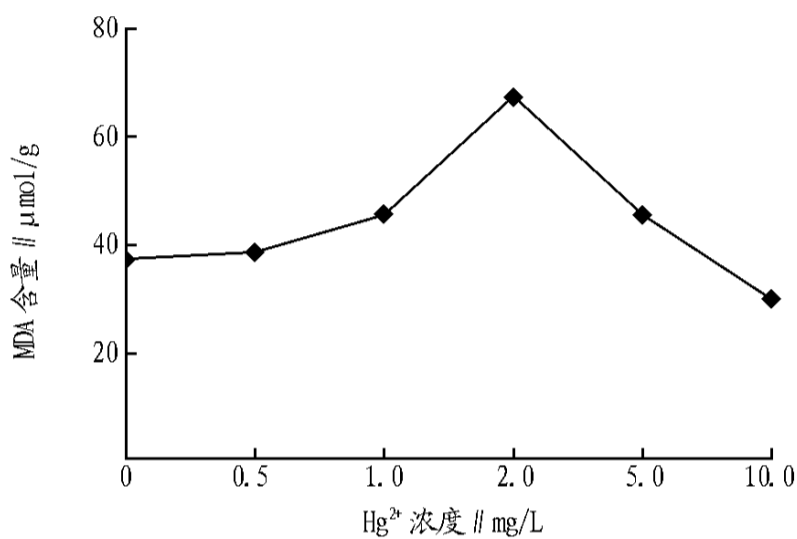


图3 Hg^{2+} 对苦草的 MDA 含量的影响

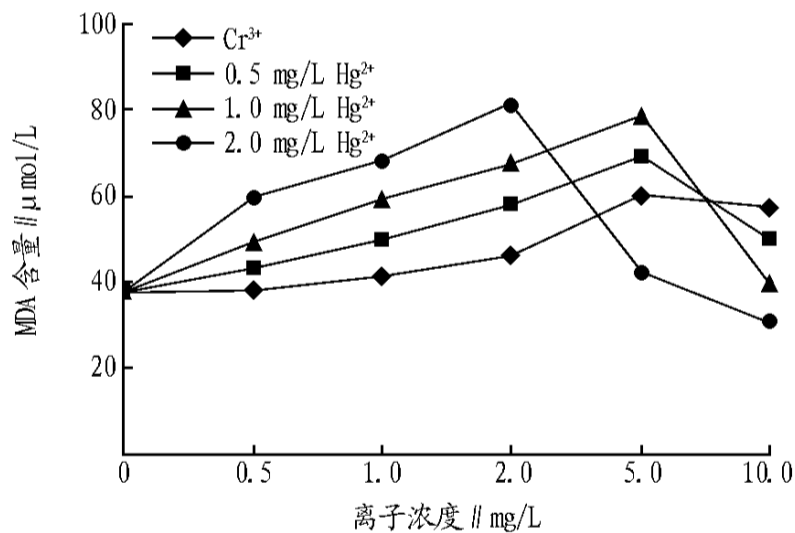


图4 Cr^{3+} 及复合污染对苦草的 MDA 含量的影响

2.2 Hg^{2+} 、 Cr^{3+} 复合污染对 SOD 活性的影响 在低浓度 Hg^{2+} 、 Cr^{3+} 处理下, SOD 活性上升明显并达到最大值; 随着 Hg^{2+} 、 Cr^{3+} 浓度的增大, SOD 活性缓慢下降; 1.0 mg/L Hg^{2+} 加到 Cr^{3+} 系列浓度, SOD 活性变化曲线和单一 Cr^{3+} 污染相似, 2.0 mg/L Hg^{2+} 加到 Cr^{3+} 系列浓度时, SOD 活性开始阶段略有下降, 于 Cr^{3+} 1.0 mg/L 后平稳下降, 4.0 mg/L Hg^{2+} 加到 Cr^{3+} 系列浓度时, SOD 活性只降不升(图5)。

2.3 Hg^{2+} 、 Cr^{3+} 复合污染对 POD 活性的影响 POD 能清除植物体内 H_2O_2 , 避免因 H_2O_2 而造成卡尔文循环中酶的失活^[12]。实验表明: 复合离子胁迫对 POD 活性影响较为明显, 在低浓度复合离子胁迫下, POD 活性有个先升后降的过程, 如低浓度 Hg^{2+} (0.5 mg/L) 与 Cr^{3+} 系列浓度的复合污染表现出与 Cr^{3+} 的相似变化, 但最大值提前, 为对照组的 151%; 复合物浓度越大, POD 活性下降越明显(图6)。

2.4 Hg^{2+} 、 Cr^{3+} 复合污染对 CAT 活性的影响 过氧化氢酶

是清除植物体内 H_2O_2 另一关键酶, 负责将植物体内 H_2O_2 分解为 H_2O 和 O_2 ^[5]。实验表明: 在 Cr^{3+} 离子胁迫下 CAT 活性略有升高, 浓度为 2.0 mg/L 达到对照的 131%。复合污染对 CAT 活性影响较明显, 都低于对照组, 随着复合浓度增大, 活性下降幅度也增大, 其中 1.0 mg/L Hg^{2+} 加 1.0 mg/L Cr^{3+} 和 4.0 mg/L Hg^{2+} 加 20.0 mg/L Cr^{3+} 的 CAT 变化分别为最小和最大, 最大值分别达到对照组的 89.7% 和 11.8% (图7)。

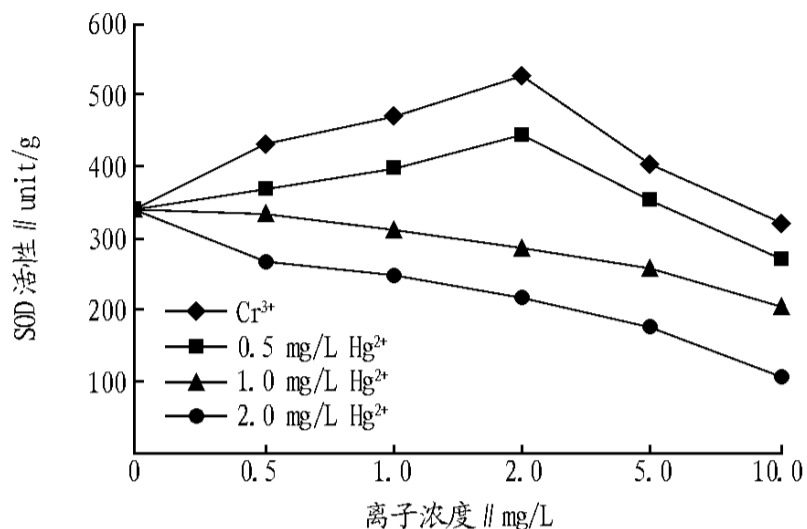


图5 Cr^{3+} 及其复合污染对苦草 SOD 活性的影响

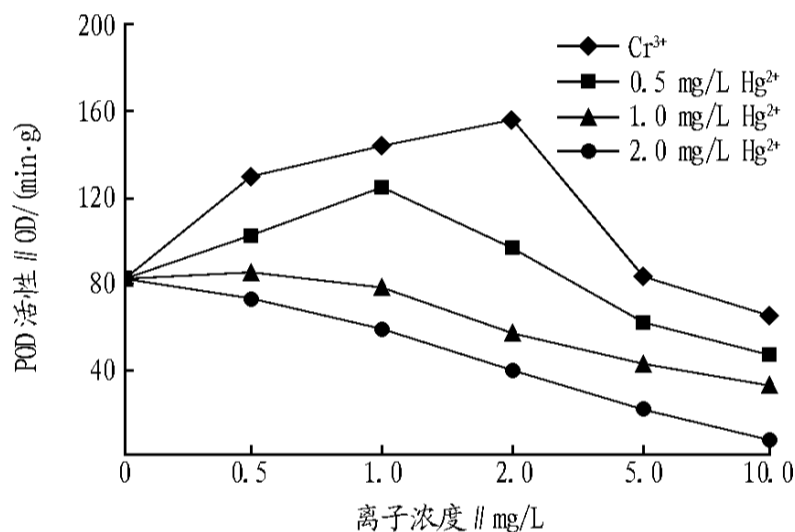


图6 Cr^{3+} 及其复合污染对苦草的 POD 活性的影响

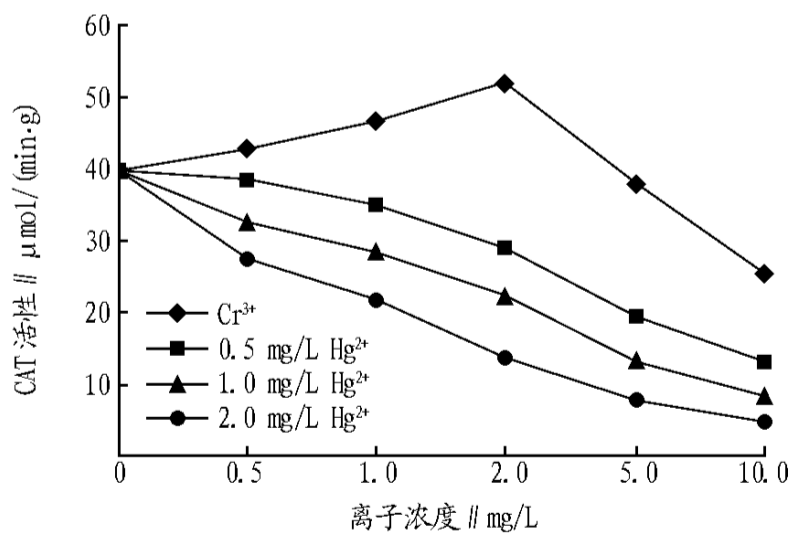


图7 Cr^{3+} 及复合污染对苦草的 CAT 活性的影响

3 讨论

自由基理论揭示了在逆境下植物机体活性氧化代谢的失调导致自由基 (OH^{\cdot}) 积累, 并进而使得细胞膜结构损伤和生理代谢紊乱^[12]。由于 MDA 是一种重要的脂质过氧化产物, 其含量的增高可以表明膜系统受伤害的程度。实验中 MDA 含量曲线峰值滞后于 $\text{O}_2^{\cdot-}$, $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 MDA 含量变化表明了自由基的累积和膜伤害的关系。在复合离子胁迫下, $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量上升过程表明苦草体内的自由基清除系统尚能有效地

(下转第 10627 页)

(上接第10606页)

发挥作用,但随着 Hg^{2+} 、 Cr^{3+} 浓度的增大, $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、MDA含量下降可能表明苦草受到不可逆转的伤害,以致 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 等活性氧、自由基诱发膜脂不饱和脂肪酸发生过氧化反应,导致脂肪酸发生降解,进而对细胞内代谢有较大影响。

进一步研究表明,植物在逆境胁迫下抗氧化酶活性随活性氧的升高而上升,在低浓度 Hg^{2+} 、 Cr^{3+} 复合离子胁迫下,SOD、POD受到活性氧自由基的诱导而活性上升以清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 等。从图1.2可见单离子从起始浓度分别到2.0 ng/L Cr^{3+} 、0.5 ng/L Hg^{2+} 和1.0 ng/L Hg^{2+} 加2.0 ng/L Cr^{3+} 处理组 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量上升较缓,而此阶段SOD、POD的活性都有不同程度的升高,这表明在重金属离子的胁迫下SOD、POD等抗氧化酶在活性氧的清除中起着主要作用;CAT作为抗氧化酶系统的重要组成部分,在开始阶段离子浓度较低的情况下,活性有所增强,但在混合浓度较高的情况下一般都低于对照组,这种现象可能与此酶的特性和污染物的性质和植物的种类有关。实验表明,SOD、POD等作为内源活性清除剂,只能在一定程度上清除植物体内过量的活性氧,维持活性氧代谢平衡,降低脂质过氧化作用,减轻重金属离子对细胞的伤害,一

旦抗氧化酶系统受损而功能紊乱,清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 等活性氧、自由基的功能就会丧失。

参考文献

- [1] 郝怀庆,施国新,徐勤松.汞污染对水鳖的毒害影响[J].南京师范大学学报:自然科学版,2000,23(3):87-90.
- [2] 王小平,华春,刘少华. Hg^{2+} 污染下苦草的细胞膜脂过氧化和抗氧化酶活性的研究[J].南京晓庄学报,2005,21(5):121-124.
- [3] 孙祥钟.中国植物志第8卷[M].北京:科技出版社,1992:176-180.
- [4] 熊秉红,李伟.我国苦草属(Vallisneria L.)植物的生态学研究[J].武汉植物研究所,2000,18(6):500-508.
- [5] 潘瑞炽.植物生理学[M].3版.北京:高等教育出版社,1999:30.
- [6] 常福辰,施国新,丁小余,等. Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 复合污染下金鱼藻的细胞膜脂过氧化和抗氧化酶活性的变化[J].南京师范大学学报:自然科学版,2002,25(1):44-48.
- [7] 王爱国,罗广华.植物的超氧自由基与羟胺的定量关系[J].植物生理学通讯,1990,26(6):55-57.
- [8] HEATH R L, PARKER L. Photooxidation in isolated chloroplasts: kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1968, 125(2): 189-198.
- [9] GANNON P I, RIES S K. Superoxide dismutase(I) occurrence in higher plants[J]. Plant Physiology, 1977, 59(2): 309-314.
- [10] ABELSON J L, SIMON M I. Methods in enzymology (Vol. 3) [C]// MAEHLI A C. Peroxidase. San Diego: Academic Press, 1996: 801-813.
- [11] 张志良,瞿伟菁.植物生理学实验指导[M].3版.北京:高等教育出版社,2003:121-123.
- [12] LUNA C M, GONZALEZ C A, TROPH V S. Oxidative damage caused by an excess of copper in oat leaves[J]. Plant Cell Physiology, 1994, 35(1): 11-15.