

何洁, 高钰婷, 贺鑫, 等. 2013. 重金属 Zn 和 Cd 对翅碱蓬生长及抗氧化酶系统的影响[J]. 环境科学学报, 33(1): 312-320

He J, Gao Y T, He X, et al. 2013. The effect of Zn and Cd on growth and antioxidant enzymes activity of *Suaeda heteroptera Kitagawa* [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 33(1): 312-320

重金属 Zn 和 Cd 对翅碱蓬生长及抗氧化酶系统的影响

何洁^{1,2,4}, 高钰婷^{1,2}, 贺鑫^{1,2}, 刘长发², 周一兵^{3,4,*}

1. 大连海洋大学 海洋科技与环境学院, 大连 116023
 2. 大连海洋大学 近岸海洋环境科学与技术辽宁省高校重点实验室, 大连 116023
 3. 大连海洋大学 水产与生命学院, 大连 116023
 4. 大连海洋大学 辽宁省海洋生物资源恢复与生境修复重点实验室, 大连 116023
- 收稿日期: 2012-03-16 修回日期: 2012-05-23 录用日期: 2012-06-04

摘要: 通过测定翅碱蓬生长和生理指标, 研究了不同含量 Zn 和 Cd 对翅碱蓬的发芽率、苗高、苗重、体内超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)、过氧化氢(H_2O_2)的产生及对抗氧化酶(超氧化物歧化酶 SOD、过氧化氢酶 CAT、过氧化物酶 POD)活性的影响, 以探讨盐生植物翅碱蓬对重金属胁迫的反应. 结果表明, 两种重金属均不同程度地加快了超氧阴离子自由基的产生速率; 翅碱蓬对 Zn 胁迫的耐受阈值为 $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, Zn 含量低于 $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 发芽率和苗高、苗重保持良好; 含量高于 $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 实验组, 翅碱蓬生长及体内酶活性机制受到不同程度抑制, SOD、POD 反应迅速, CAT 相对缓慢. 翅碱蓬对 Cd 污染抵御能力差, 含量高于 $0.4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 即可造成严重伤害, 阻碍翅碱蓬生长, 降低抗氧化酶活性. Zn 和 Cd 共同作用($200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} + 0.2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)时, 表现为协同作用, 发芽率仅为对照组的 50.5%、苗重仅为 49.2%, 实验 50 d 后, SOD、CAT 均失活, 影响极显著.

关键词: 重金属; 翅碱蓬; 生长; 抗氧化酶系统

文章编号: 0253-2468(2013)01-312-09 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

The effect of Zn and Cd on growth and antioxidant enzymes activity of *Suaeda heteroptera Kitagawa*

HE Jie^{1,2,4}, GAO Yuting^{1,2}, HE Xin^{1,2}, LIU Changfa², ZHOU Yibing^{3,4,*}

1. School of Marine Technology and Environment, Dalian Ocean University, Dalian 116023
2. Liaoning Province Key Laboratory of Nearshore Marine Environmental Science and Technology, Dalian Ocean University, Dalian 116023
3. School of Fisheries and Life, Dalian Ocean University, Dalian 116023
4. Key Laboratory of Marine Bio-resources Restoration and Habitat Reparation in Liaoning Province, Dalian Ocean University, Dalian 116023

Received 16 March 2012; **received** in revised form 23 May 2012; **accepted** 4 June 2012

Abstract: The effects of heavy metals Zn and Cd on germination, height, weight, production of superoxide anion free radical ($O_2^{\cdot-}$) and hydrogen peroxide (H_2O_2), and antioxidant enzyme activities of *Suaeda heteroptera Kitagawa* were studied. Glasswort *Suaeda heteroptera Kitagawa* was exposed to different Zn and Cd concentrations in order to evaluate the responses of the plant to heavy metal stress. Zn and Cd promoted the production of superoxide anion free radicals. The plant had tolerance threshold of $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ for Zn showing similar germination rate, height and weight in the control group in Zn concentration of under $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. In Zn concentration of over $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, however, the inhibition of growth and the antioxidant enzyme activities were found to some extent in the plant, superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) responding rapidly but catalase (CAT) responding slowly. The plant had low resistance to Cd, showing severe damage even at Cd concentration of over $0.4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. At this dose of Cd, the growth was hindered and the antioxidant enzymes activity decreased. The synergy effect of Zn and Cd was observed at Zn concentration of $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ and Cd

基金项目: 国家自然科学基金(No. 41171389); 国家海洋局公益项目(No. 200805069); 辽宁省教育厅项目(No. 2009A167)

Supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 41171389), the Nonprofit Research Project for the State Oceanic Administration (No. 200805069) and the Liaoning Provincial Department of Education Project(No. 2009A167)

作者简介: 何洁(1966—), 女, 副教授(博士), E-mail: hejie@dlou.edu.cn; * **通讯作者(责任作者)**, E-mail: ybzhou@dlou.edu.cn

Biography: HE Jie(1966—), female, associate professor(Ph. D.), E-mail: hejie@dlou.edu.cn; * **Corresponding author**, E-mail: ybzhou@dlou.edu.cn

concentration of $0.2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ where the germination rate of the experimental plants was found to be only 50.5% of the control group and the plant weight 49.2% of the of the control group. The SOD and CAT were both inactivated at Zn concentration of $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ and Cd concentration of $0.2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ in the 50 day experiment. The findings will provide a reference for halophytes toxicology study in contaminated coastal beach.

Keywords: heavy metals; *Suaeda heteroptera Kitagawa*; growth; antioxidant enzyme system

1 引言 (Introduction)

随着我国沿海经济的发展,滨海湿地生态环境问题日益突出,其中,重金属污染是滨海湿地主要污染之一(王瑞山等,2000).研究表明,许多外源性化学污染通过产生大量活性氧从而诱发生物机体损坏,同时生物体中起重要保护作用的抗氧化酶的活性或含量可能会因为污染物的胁迫作用而发生改变(Banerjee *et al.*, 1999).水生植物抗氧化酶活性的变化可以间接反映环境中有毒有害物质的存在,已被用来监测和评价有机污染物对水生生物的毒性效应(李伟民等,2002).重金属胁迫同样会对生物的抗氧化酶活性产生影响(徐建明等,2008;龚双娇等,2008;徐勤松等,2006),但目前关于耐盐植物受环境污染胁迫后其生理特性变化的报道不多.因此,本文以不同含量 Zn 和 Cd 为胁迫因子,以在沿海滩涂分布广泛的盐生植物翅碱蓬为受试材料,研究翅碱蓬生长指标及体内超氧阴离子 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 的产生速率及抗氧化酶(SOD、POD、CAT)活性的变化,以期阐明重金属对翅碱蓬的毒性机理特征,为重金属污染滩涂的植物毒理学研究及植物修复技术提供参考依据.

2 材料与方法 (Materials and methods)

2.1 材料

翅碱蓬种子购于山东省东营市农业科学研究所;土壤取自旅顺龙王堂海滩,供试土壤 pH 为 8.3,有效 N 为 $23.4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,有效 P 为 $81.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,有机碳为 $25.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,海水为沙滤海水;淡水为自来水.

2.2 实验方法

依据土壤环境质量标准(GB/15618—1995),设定重金属 Zn、Cd 的浓度梯度,在土壤中加入 CdSO_4 和 ZnSO_4 溶液,于室内干湿交替平衡 3 个月,浓度梯度见表 1. 每组设 3 个平行样本,每盆(直径 10 cm)中装入 0.5 kg 处理土壤,翅碱蓬种子用清水浸泡 24 h 后,每盆均匀播种 100 颗种子.培养条件:光暗比 14 h:10 h,光强 8800 lx,土壤盐度为 1%~1.6%,白天温度 $22 \text{ }^\circ\text{C}$,夜晚温度 $18 \text{ }^\circ\text{C}$,相对湿度 75%.发芽

后第 10、20、30、40、50 d 分别测定翅碱蓬体内抗氧化酶系统指标 SOD、CAT 和 POD 活性, H_2O_2 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量,50 d 后测定发芽率、苗高、苗重.

表 1 土壤中 Zn 和 Cd 含量设定值
Table 1 The Zn and Cd concentration in soil

处理组	含量设定值/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)		
	Zn	Cd	Zn + Cd
对照组	0	0	0
A	50	0.1	50 + 0.6
B	100	0.2	100 + 0.4
C	200	0.4	200 + 0.2
D	400	0.6	400 + 0.1

2.3 测定方法

2.3.1 发芽率、苗高和苗重 按照发芽情况记录,与对照组进行比较.用刻度尺测量苗高,用分析天平测量苗重,每盆取其全部植株.测量后记录并计算,在置信水平 0.05 下进行单因素方差分析.

2.3.2 抗氧化酶系统指标 准确称取翅碱蓬植株地上部分 1.2 g ,加 9 倍生理盐水制成 10% 的组织匀浆, $2500 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液测定. CAT、SOD 活性 ($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$,以 prot 计)及 POD 活性 ($\text{U}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) 的测定使用可见分光光度法,超氧阴离子自由基 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量 ($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$)、 H_2O_2 含量 ($\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$),均按南京建成生物工程研究所购买的试剂盒测定.

2.4 数据分析

用计算机系统自带软件分析各测定指标与不同含量处理间的差异(方差分析),以置信度 0.95 为差异显著,置信度 0.99 为差异极显著,结果以均值表示.

3 实验结果 (Experimental results)

3.1 重金属胁迫对翅碱蓬生长的影响

如表 2 所示,在 Zn 胁迫下翅碱蓬发芽率、苗高、苗重均随 Zn 含量升高而降低. Zn 含量为 $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,实验组发芽率、苗重降低效果显著;含量为 $400 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,实验组苗高降低效果显著,发芽率、苗重降低效果极显著.可见 Zn 污染对翅碱蓬生长的影响随着其含量的升高而逐渐显著.

表2 Zn和Cd对翅碱蓬生长的影响

Table 2 The influence of Zn and Cd on growth of *Suaeda heteroptera* Kitagawa

重金属	含量 ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	发芽率	苗高 /cm	苗重 /g
对照组		91% ^{Aa}	6.6 ^{Aa}	0.120 ^{Aa}
Zn	50	92% ^{Aa}	6.4 ^{Aa}	0.118 ^{Aa}
	100	81% ^{Aa}	6.5 ^{Aa}	0.108 ^{Aa}
	200	74% ^{Ab}	6.0 ^{Aa}	0.083 ^{Ab}
Cd	400	67% ^{Bb}	5.6 ^{Ab}	0.062 ^{Bb}
	0.1	87% ^{Aa}	6.4 ^{Aa}	0.083 ^{Aa}
	0.2	84% ^{Aa}	4.5 ^{Ab}	0.050 ^{Ab}
	0.4	79% ^{Aa}	4.7 ^{Aa}	0.047 ^{Ab}
	0.6	67% ^{Ab}	4.3 ^{Ab}	0.038 ^{Bb}
Zn + Cd	50 + 0.6	51% ^{Bb}	6.2 ^{Aa}	0.071 ^{Ab}
	100 + 0.4	79% ^{Ab}	5.5 ^{Aa}	0.072 ^{Ab}
	200 + 0.2	46% ^{Bb}	5.4 ^{Ab}	0.059 ^{Bb}
	400 + 0.1	53% ^{Ab}	5.3 ^{Ab}	0.057 ^{Ab}

注:同列数字后不同大写字母表示组间差异极显著($p < 0.01$);不同小写字母表示组间差异显著($p < 0.05$);相同小写字母者表示组间差异不显著($p > 0.05$).苗高和苗重均为50 d的平均值.

在Cd胁迫下翅碱蓬发芽率、苗高、苗重均随Cd含量的升高而降低,但下降幅度与Zn胁迫相比更大.Cd含量为 $0.2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的实验组,对翅碱蓬苗高、苗重影响显著,但Cd含量为 $0.4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的实验组,仅对苗重影响显著;Cd含量为 $0.6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的实验组,对发芽率、苗高影响显著,对苗重影响极显著.可见Cd污染对翅碱蓬生长的影响也随含量的升高而逐渐显著.

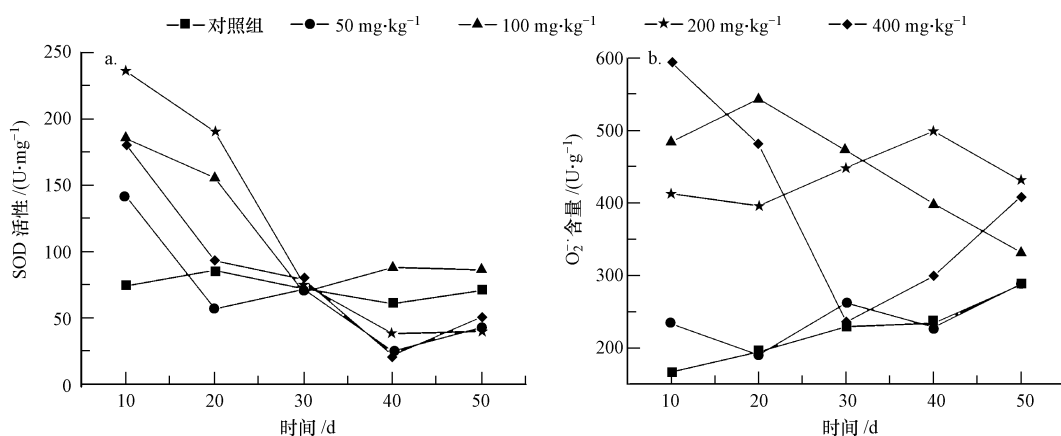
Zn与Cd共同胁迫下,实验50 d后,Zn + Cd为 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} + 0.6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的实验组,对翅碱蓬发芽率影响极显著,对苗重影响显著; $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} +$

$0.4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的实验组,对发芽率、苗重影响显著; $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} + 0.2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的实验组,对苗高影响显著,对发芽率和苗重影响极显著; $400\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} + 0.1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的实验组,对翅碱蓬的发芽率、苗高、苗重影响均显著,且对翅碱蓬的影响均大于单独作用的效果之和,表明Zn和Cd共同胁迫对翅碱蓬生长的影响更大,且对发芽率的影响表现出协同作用.

3.2 重金属胁迫对翅碱蓬SOD活性和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量的影响

3.2.1 Zn对翅碱蓬SOD活性和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量的影响

Zn对翅碱蓬SOD活性及 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量的影响如图1所示.其中,图1a中对照组的SOD活性随时间波动较小,这与图1b中 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量的波动趋势相似,表明抗氧化酶SOD的产生与植物体内 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量有关.图1a不同Zn污染实验组中,SOD值均有所降低,Zn含量为 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 实验组,初始SOD活性最高,且随时间推移的下降速度最快,这与图1b中 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量随时间推移逐渐上升相对应.Zn含量为50和 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的实验组及对照组中, $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量随时间延长均有所上升,说明植物体自身的抵御能力随Zn胁迫剂量的升高而逐渐下降,清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的能力逐渐减弱,导致体内超氧阴离子自由基含量升高.Zn含量为 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,翅碱蓬体内 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量先上升再下降,20 d时达到最大值,这可能与翅碱蓬体内SOD活性逐渐上升有关,表明翅碱蓬机体对外界影响有主动调节的能力,Zn含量低于 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,对翅碱蓬的生长几乎没有抑制作用(表2),表明低含量Zn对翅碱蓬的毒性较小.

图1 Zn对翅碱蓬SOD活性(a)和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量(b)的影响Fig. 1 The influence of Zn on (a) the activity of SOD and (b) content of $\text{O}_2^{\cdot-}$

3.2.2 Cd 对翅碱蓬 SOD 活性和 $O_2^{\cdot-}$ 含量的影响

Cd 对翅碱蓬 SOD 活性和 $O_2^{\cdot-}$ 含量的影响如图 2 所示. 由图 2a 可知, SOD 活性波动较大, 表明 SOD 对 Cd 的响应较灵敏. 图 2b 结果表明, Cd 含量为 $0.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的实验组中, $O_2^{\cdot-}$ 含量先升高后降低, 在 20 d 时达到最大值, 其他实验组中 $O_2^{\cdot-}$ 含量均逐

渐上升, 50 d 后, 各实验组植物体内的 $O_2^{\cdot-}$ 含量相似. Cd 含量为 $0.2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的实验组中 SOD 活性逐渐下降, 而对其苗高和苗重的影响也很显著(表 2); 其他实验组的 SOD 活性波动较大, Cd 胁迫剂量比 Zn 低 3 个数量级, 但各剂量实验组中 $O_2^{\cdot-}$ 含量上升明显, 表明微量 Cd 污染即能影响翅碱蓬的生理特性.

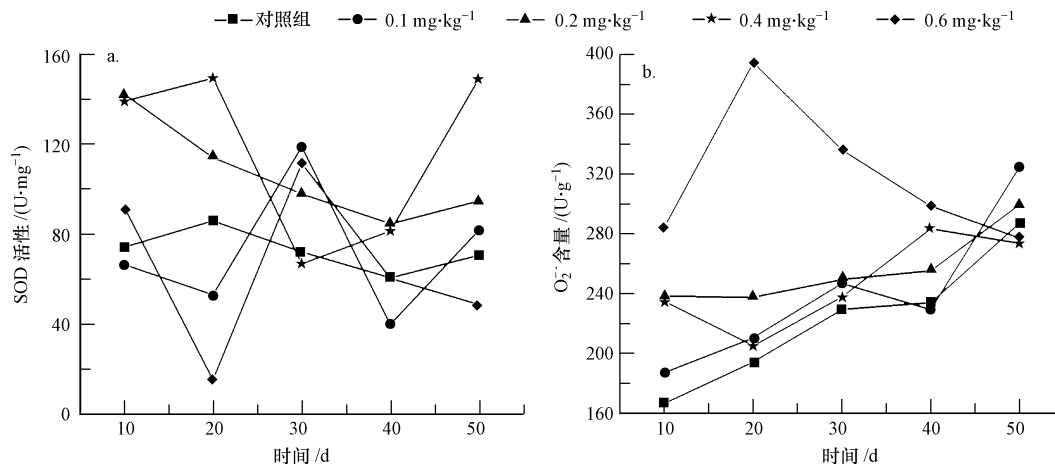


图 2 Cd 对翅碱蓬 SOD 活性(a) 和 $O_2^{\cdot-}$ 含量(b) 的影响

Fig. 2 The influence of Cd on (a) the activity of SOD and (b) content of $O_2^{\cdot-}$

3.2.3 Zn、Cd 共同胁迫对翅碱蓬 SOD 活性和 $O_2^{\cdot-}$ 含量的影响

Zn 与 Cd 共同胁迫对翅碱蓬 SOD 活性及 $O_2^{\cdot-}$ 含量的影响如图 3 所示. 随着时间的推移, 不同剂量混合污染实验组中, SOD 活性均下降, 而 $O_2^{\cdot-}$ 含量均上升. Zn + Cd 为 $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} + 0.4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的实验组中, 实验第 10 d SOD 活性最高, 然后随时间推移逐渐下降(图 3a). 对应图 3b 中, $O_2^{\cdot-}$ 含量在实验前 30 d 内持续下降, 40 d 时上升, 至实验结束时略有回落, 表明 SOD 活性与 $O_2^{\cdot-}$ 含量相互

影响、制约. Zn + Cd 为 $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} + 0.2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的实验组中, 实验 20 d 后, SOD 值上升, 之后持续下降, $O_2^{\cdot-}$ 含量在整个实验过程中持续上升, 前 30 d 速度较快, 后 20 d 渐缓. Zn + Cd 为 $400 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} + 0.1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的实验组中, SOD 活性下降速度最快, 而植物体内 $O_2^{\cdot-}$ 含量上升最为明显. 由此可知, 高含量 Zn 和低含量 Cd 的共同作用能使 SOD 活性与 $O_2^{\cdot-}$ 含量的关系更加突出, 而对生长指标的影响也都显著(表 2), 共同作用的影响大于单独作用.

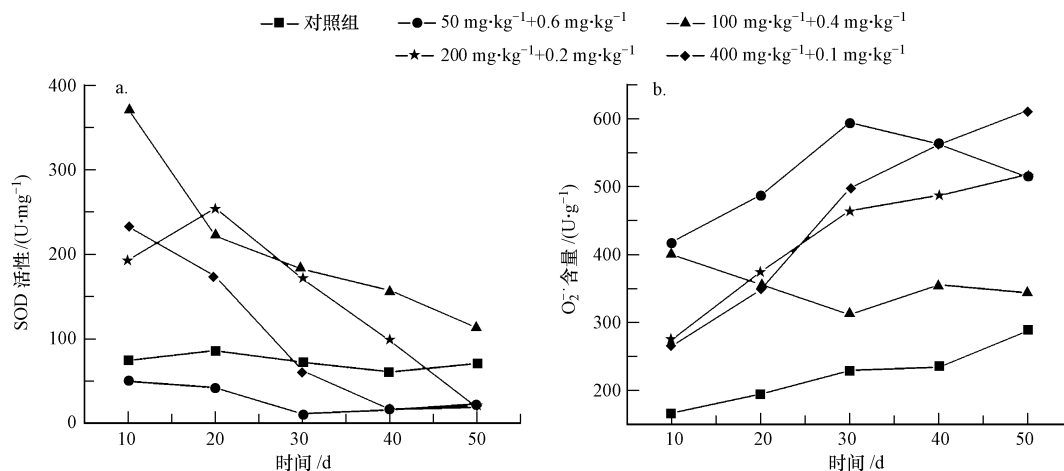


图 3 Zn、Cd 共同胁迫对翅碱蓬 SOD 活性(a) 和 $O_2^{\cdot-}$ 含量(b) 的影响

Fig. 3 The influence of Zn and Cd on (a) the activity of SOD and (b) content of $O_2^{\cdot-}$

3.3 重金属胁迫对翅碱蓬 CAT、POD 活性和 H_2O_2 含量的影响

3.3.1 Zn 对翅碱蓬 CAT、POD 活性和 H_2O_2 含量的影响 Zn 对翅碱蓬 CAT、POD 活性和 H_2O_2 含量的影响如图 4 所示. 由图 4a 可知, 各实验组 CAT 活性均先升高后降低, 且均在 30 d 时出现最大值. 实验过程中 CAT 活性波动较大, 但从整体看实验前后 CAT 活性变化不大.

由图 4b 可知, 各实验组中 POD 活性均下降, 对照组和 Zn 含量为 200、400 $mg \cdot kg^{-1}$ 的实验组在整个实验过程中 POD 活性有波动, 最高值出现在第 30 d, 但整体趋势均为下降.

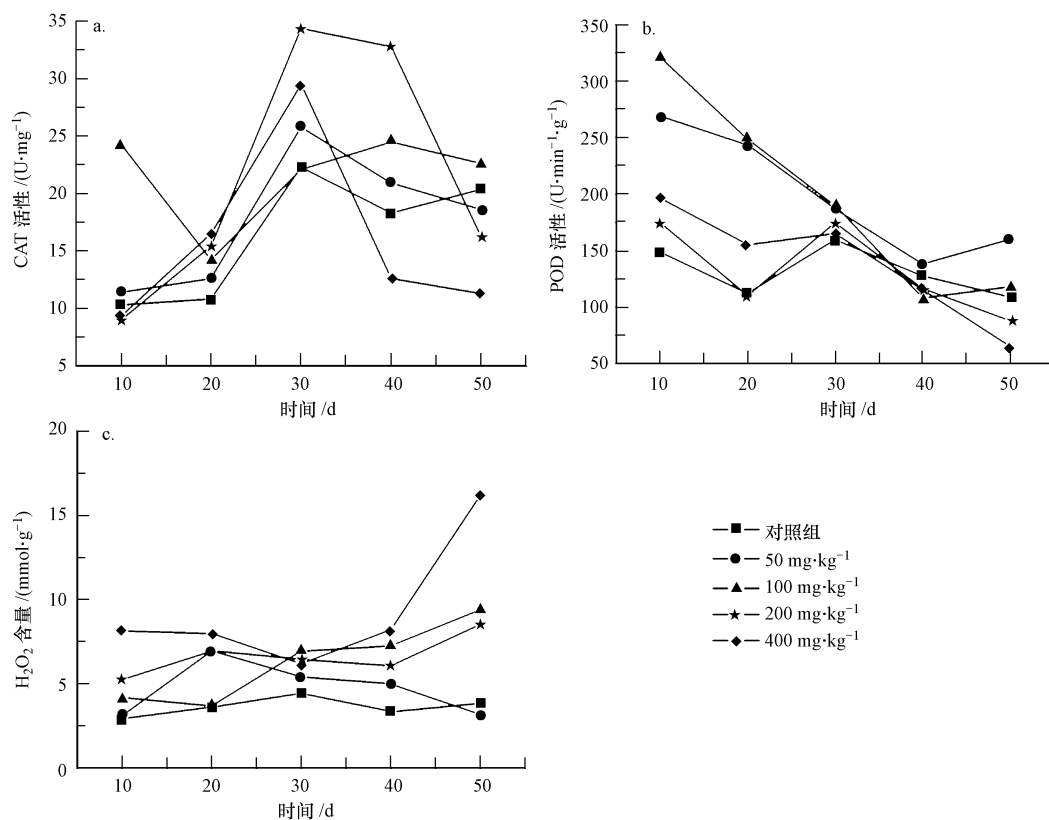


图 4 Zn 对翅碱蓬 CAT 活性 (a)、POD 活性 (b) 和 H_2O_2 含量 (c) 的影响

Fig. 4 The influence of Zn on the activity of CAT (a), the activity of POD (b) and content of H_2O_2 (b)

3.3.2 Cd 对翅碱蓬 CAT、POD 活性和 H_2O_2 含量的影响 Cd 对翅碱蓬 CAT、POD 活性和 H_2O_2 含量的影响如图 5 所示. 由图 5a 可知, 各实验组中, CAT 活性均先升高后降低, 且最大值都出现在第 30 d. 这与 Zn 污染实验组的规律相似. Cd 含量为 0.4 $mg \cdot kg^{-1}$ 实验组在整个实验过程中, CAT 活性波动最大, 但整体来看, 实验前后 CAT 活性变化不大. 这与 Cd 对 SOD 活性的影响趋势相似.

对实验前后的 H_2O_2 含量进行比较, 除 Zn 含量为 50 $mg \cdot kg^{-1}$ 的实验组外, 其他实验组 H_2O_2 含量均比实验前有所升高 (图 4c). Zn 含量为 400 $mg \cdot kg^{-1}$ 的实验组, 40 d 后 H_2O_2 含量的迅速升高可能是由于高含量 Zn 破坏了植物生理机能, 使 H_2O_2 大量积累. 翅碱蓬体内 H_2O_2 含量的变化与 $O_2^{\cdot -}$ 含量不同, $O_2^{\cdot -}$ 含量上升较明显, 而 H_2O_2 在整个实验过程中, 只有最高含量实验组的实验后期明显上升, 且 CAT 活性在实验后期回升, 表明翅碱蓬机体对 Zn 胁迫下 CAT 及 H_2O_2 的调节有较好的效果.

由图 5b 可知, 各实验组的 POD 活性波动均较大, 0.1 $mg \cdot kg^{-1}$ 实验组的 POD 活性的数值、变化趋势在前 30 d 与对照组接近, 而后逐渐上升, 50 d 时达到对照组的 2.6 倍. Cd 含量为 0.2、0.4 $mg \cdot kg^{-1}$ 实验组的 POD 活性在实验过程中波动幅度最大, 但实验前后 POD 活性变化不大. 不同剂量 Cd 胁迫实验组没有明显相似趋势, 表明 Cd 会导致翅碱蓬体内 POD 活性的紊乱.

由图 5c 可知,各实验组 H_2O_2 含量的总体变化趋势是先上升后下降,对照组和 $0.1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 实验组 H_2O_2 含量的最大值出现在第 30 d,其余实验组的 H_2O_2 含量最大值出现在第 40 d 左右.实验结束时,

各实验组 H_2O_2 含量均稍高于对照组,表明翅碱蓬机体对 H_2O_2 有自动调节的能力,经过一段时间,能够控制 Cd 影响下过氧化氢对翅碱蓬机体的损害.

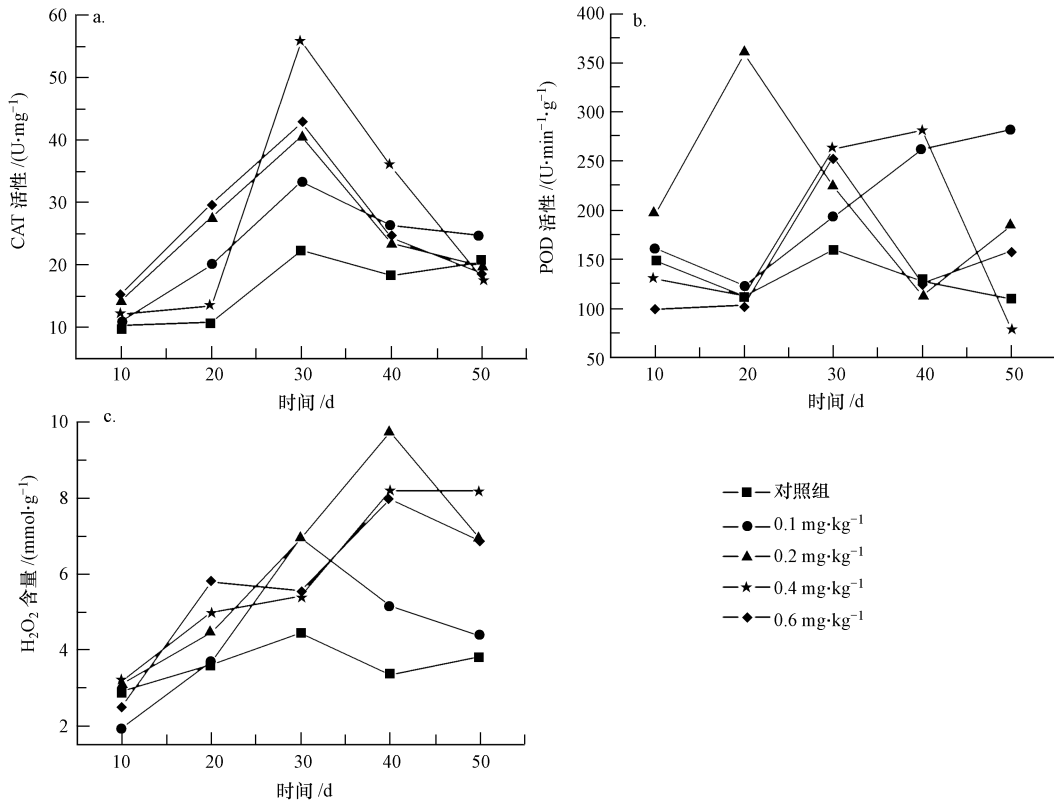
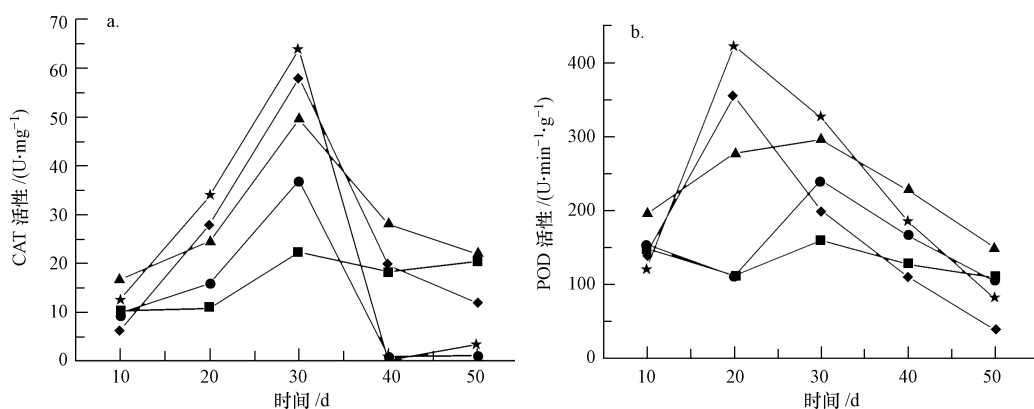


图 5 Cd 对翅碱蓬 CAT 活性(a)、POD(b)活性和 H_2O_2 含量(c)的影响

Fig. 5 The influence of Cd on the activity of CAT (a), the activity of POD (b) and content of H_2O_2 (c)

3.3.3 Zn、Cd 共同胁迫对翅碱蓬 CAT、POD 活性和 H_2O_2 含量的影响 Zn 与 Cd 共同胁迫对翅碱蓬 CAT、POD 活性和 H_2O_2 含量的影响如图 6 所示.由图 6a 可知,各实验组 CAT 活性均由较低水平快速上升,30 d 时达到较高水平,然后快速下降,至 40 d 时,Zn + Cd 为 $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} + 0.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 实验组与

$200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} + 0.2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 实验组的 CAT 活性均降低至失活水平,其他实验组降至与对照组相近.与 Zn、Cd 单独作用比较,共同作用对 CAT 活性影响更大,CAT 活性变化幅度更大,且实验后高剂量实验组基本失活.



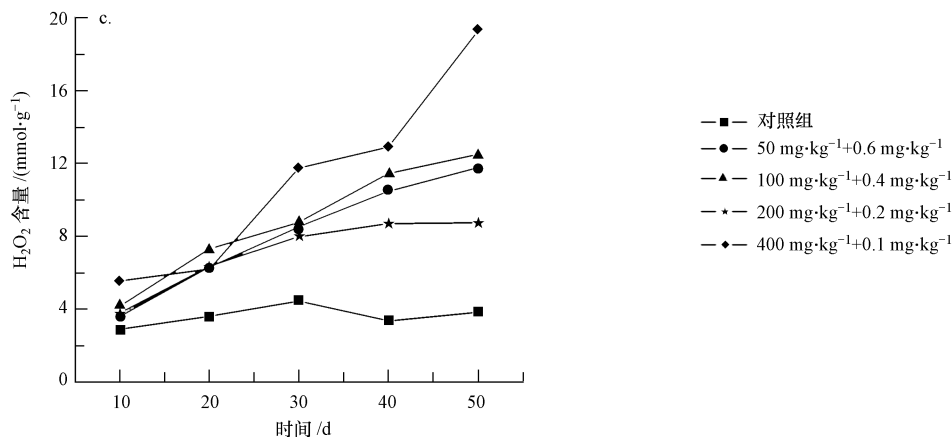


图6 Zn与Cd共同胁迫对翅碱蓬CAT活性(a)、POD(b)活性和H₂O₂含量(c)的影响

Fig. 6 The influence of Zn and Cd on the activity of CAT (a), the activity of POD (b) and content of H₂O₂ (c)

由图6b可知,各实验组POD活性的变化趋势基本是先上升后下降. Zn + Cd为200 mg·kg⁻¹ + 0.2 mg·kg⁻¹实验组与为400 mg·kg⁻¹ + 0.1 mg·kg⁻¹实验组在20 d时,POD活性升高至最高,之后POD活性逐渐下降,直至失活水平;其他实验组经过波动,至实验结束时POD活性与对照组基本持平或略高.

由图6c可知,各实验组翅碱蓬体内H₂O₂含量均呈逐渐上升趋势. 400 mg·kg⁻¹ + 0.1 mg·kg⁻¹实验组的H₂O₂含量上升速度最快,且实验后含量最高,这与CAT、POD活性下降到失活水平相对应. 结合翅碱蓬生长指标,Zn和Cd共同作用明显阻碍了翅碱蓬的发芽,苗高和苗重(表2),可能与体内超氧阴离子自由基含量的升高及抗氧化酶活性的降低有关.

4 讨论(Discussion)

4.1 Zn、Cd含量与翅碱蓬生长的关系

Zn是生产植物激素的重要原料,但含量超过植物体生长的需要时,则会破坏植物细胞的结构和功能,从而对植物产生毒性(张义贤等,1997). 本研究表明,Zn含量低于100 mg·kg⁻¹时,发芽率和苗高、苗重保持良好,充分发挥了Zn的必需元素作用;Zn胁迫剂量升高对翅碱蓬各生长指标的影响逐渐显著,Zn含量为400 mg·kg⁻¹的实验组,对翅碱蓬发芽率、苗重影响极显著,对苗高影响显著,可能是由于土壤中高含量的Zn污染破坏了翅碱蓬根部细胞的结构,导致翅碱蓬体内Zn元素含量过高,引起机体失衡. 徐勤松等(2001)通过实验证明Zn²⁺浓度为10~50 mg·L⁻¹溶液中,菹草叶绿素含量仍高于

对照组,而浓度为100 mg·L⁻¹实验组中叶绿素含量则减少了37.52%,证明翅碱蓬对Zn胁迫的耐受阈值为100 mg·kg⁻¹.

Cd主要通过损害植物膜脂结构,影响植物DNA合成和DNA修复,阻碍植物细胞分裂,导致染色体突变(张义贤,1999)等手段抑制植物生长,且Cd污染浓度越高抑制作用越明显(常学秀等,2002). 本研究中,Cd含量为0.1 mg·kg⁻¹的实验组,对翅碱蓬发芽率、苗高、苗重影响微弱;随土壤样本中Cd含量的升高,对翅碱蓬生长指标的影响逐渐显著,说明翅碱蓬对低含量Cd污染有积极的抵御作用;Cd含量为0.6 mg·kg⁻¹的实验组,对翅碱蓬生长各指标影响均极显著,说明高含量Cd污染可能破坏翅碱蓬根系细胞的膜脂结构,使大量的Cd进入翅碱蓬体内,抑制翅碱蓬生长. 马文丽等(2004)的实验也表明,Cd处理对乌麦种子的萌发具有低浓度下刺激和高浓度下抑制的效应. 可见,Cd对植物生长有普遍毒性作用,且产生毒性的浓度较低,即毒性较强.

Zn与Cd共同胁迫的实验样本中,重金属污染对翅碱蓬发芽率表现出协同作用,各实验组的生长指标均低于Zn、Cd单独作用生长指标,Zn + Cd为50 mg·kg⁻¹ + 0.6 mg·kg⁻¹实验组的苗高、苗重均优于同剂量Cd单独污染实验组,说明低含量的Zn有利于翅碱蓬生长. Zn + Cd为200 mg·kg⁻¹ + 0.2 mg·kg⁻¹实验组对翅碱蓬生长的影响最为显著,说明在有Cd存在的条件下,高含量Zn的毒性作用增强,表现出协同作用. 肖昕(2009)在对小麦的研究中也提出了类似结论,可见,多种重金属对植物机

体的损伤均会呈现协同作用,且浓度越高,效果越显著.

4.2 Zn 和 Cd 对翅碱蓬抗氧化酶系统的影响

重金属干扰物质在细胞中的运输过程(Rengel *et al.*, 1992),抑制蛋白质的合成,进而抑制植物体内一些保护酶的活性(赵海泉等,1998),导致大量的超氧阴离子自由基产生(Aleksandra *et al.*, 2006; Luna *et al.*, 1994).抗氧化酶系统中的 CAT 和 POD 能有效移走 H_2O_2 , SOD 能清除 $O_2^{\cdot-}$,减少细胞受到的伤害(唐萍,2000).

Zn 是植物生长的必须元素,无 Zn 或高 Zn 胁迫,翅碱蓬体内抗氧化酶活性都会升高(徐卫红等,2006).本研究中,Zn 含量低于 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,翅碱蓬体内 SOD、POD、CAT 活性均升高,因此,可以认为它们在抗 Zn 毒害中可能起到促进作用,且对 H_2O_2 与 $O_2^{\cdot-}$ 含量的调节始终较好;但 3 种抗氧化酶活性的增加是有限度的,Zn 含量 $\geq 200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,POD 和 CAT 活性减弱,分别为对照组的 65% 和 55%,SOD 活性也表现出下降趋势,说明其对超氧阴离子自由基的清除能力大大削弱,导致细胞代谢紊乱.徐勤松等(2001)亦有研究证明,Zn 含量低于 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,抗氧化酶系起主要作用,而高于该含量时,SOD、POD、CAT 活性均下降 20%~30%,不能阻止自由基在细胞内的过量累积,从而损害细胞代谢.

Cd 能够扰乱光呼吸系统功能,使植物体内自由基累积,从而导致自由基过氧化损伤,并引起植物抗氧化酶活性的变化(汤春芳等,2004).本研究中,各剂量 Cd 胁迫下翅碱蓬体内 $O_2^{\cdot-}$ 含量、 H_2O_2 含量持续上升,CAT、POD 活性波动较大,实验后酶活性均略有上升,但远比不上超氧阴离子自由基升高的幅度.可能是由于高含量 Cd 污染抑制抗氧化酶的形成,使翅碱蓬体内的抗氧化酶不足以抵御超氧阴离子自由基含量的升高,使其耐受能力降低.杨红玉等(1990)在实验中亦证实,低浓度 Cd^{2+} 促进植物呼吸酶和三羧酸循环,随 Cd^{2+} 浓度升高,酶活性受抑制.

Zn 和 Cd 共同污染实验组, SOD、POD、CAT 活性随时间下降明显,且均低于 Zn 和 Cd 单独作用效果.各剂量重金属胁迫实验样本中, $O_2^{\cdot-}$ 含量均持续升高,这与 SOD、POD 活性的降低相对应; H_2O_2 含量在实验前 30 d 上升缓慢,30 d 后上升速度加快,导致 CAT 的活性出现在 30 d 时达到最大值的波动形势.说明在实验前中期,CAT 在低剂量重金属污染

时可发挥有效作用(龚双娇等,2008),随重金属在翅碱蓬植株细胞中的累积,CAT 活性被严重抑制,Zn 和 Cd 表现出协同作用,对翅碱蓬体内过氧化氢和超氧阴离子自由基的清除严重抑制.实验证实,重金属复合污染降低了抗氧化酶——SOD、POD、CAT 对植物细胞的保护能力,破坏细胞结构及生理生化反应,最终将加速植物的衰老和死亡(Cobbett, 2000).

5 结论(Conclusions)

翅碱蓬对 Zn 胁迫的耐受阈值为 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,高于该阈值, $O_2^{\cdot-}$ 含量升高,翅碱蓬生长因子及体内酶活性机制均受到不同程度的抑制;翅碱蓬对 Cd 污染抵御能力差,微量 Cd 即可损害翅碱蓬发芽率、苗高、苗重,高含量 Cd 污染(0.4 、 $0.6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)对植物抗氧化酶 SOD、POD、CAT 生成的影响效果显著,导致超氧阴离子自由基升高. Zn 和 Cd 共同胁迫时,Zn 含量超过阈值时表现为协同作用,即对翅碱蓬生长因子的影响及体内酶活性的抑制均高于同剂量单独重金属作用的影响之和.

责任作者简介:周一兵(1957—),男,教授,主要研究领域为海洋生物学和水产养殖学,长期从事海洋环境生物修复和资源恢复领域的研究.

参考文献(References):

- Aleksandra N S, Iwona L, Ryszard C, *et al.* 2006. Activity of selected enzymes in soil loaded with varied levels of heavy metals[J]. *Acta agrophysica*, 8(3): 713-725
- Banerjee B D, Seth V, Bhattacharya A. 1999. Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers[J]. *Toxicology Letters*, 107: 33-47
- 常学秀,王焕校. 2002. Cd^{2+} 、 Al^{3+} 对蚕豆(*Vicia faba*) DNA 合成和修复的影响[J]. *生态学报*, 29(3): 227-232
- Cobbett C S. 2000. Phytochelatin biosynthesis and function in heavy-metal detoxification[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 3: 211-216
- 龚双娇,马陶武,姜业芳,等. 2008. 镉胁迫下 3 种藜类植物抗氧化酶活性变化的比较研究[J]. *西北植物学报*, 28(9): 1765-1771
- 李伟民,尹大强,胡双庆,等. 2002. 氯代硝基苯胺对鲫鱼(*Carassius auratus*)血清抗氧化酶的影响[J]. *环境科学学报*, 22(2): 236-240
- Luna C M, Gonzalez C A, Troppi V S. 1994. Oxidative damage caused by an excess of copper in oat leaves[J]. *Plant Cell Physiol*, 35: 11-15
- 马文丽,金小弟,王转花. 2004. 镉处理对燕麦种子萌发幼苗生长及抗氧化酶的影响[J]. *农业环境科学学报*, 23(1): 55-59
- Rengel Z, Elliott D C. 1992. Mechanisms of aluminium inhibition of net $^{45}Ca^{2+}$ uptake by *Amaranthus* protoplasts[J]. *Plant Physiol*, 98:

- 632-638
- 汤春芳,刘云国,曾光明,等. 2004. 镉胁迫对萝卜幼苗活性氧产生、脂质过氧化和抗氧化酶活性的影响[J]. 植物生理与分子生物学学报,30(4):469-474
- 唐萍. 2000. 自由基及植物的抗氧化酶系统[J]. 连云港教育学院学报,2:96-97
- 王瑞山,王义勇,杨青,等. 2000. 我国湿地资源现状、问题及对策[J]. 资源科学,22(1):9-13
- 肖昕. 2009. 重金属复合污染对小麦的毒理效应及其微观机制[D]. 北京:中国矿业大学. 118-121
- 徐建明,李才生,毛善国. 2008. 锌对水稻幼苗生长及体内 SOD、POD 活性的影响[J]. 安徽农业科学,36(3):877-878
- 徐勤松,施国新,杜开和,等. 2001. Zn 诱导的菹草叶抗氧化酶活性的变化和超微结构损伤[J]. 植物研究,21(4):569-573
- 徐勤松,施国新,王学,等. 2006. 镉、铜和锌胁迫下黑藻活性氧的产生及抗氧化酶活性的变化研究[J]. 水生生物学报,30(1):107-112
- 徐卫红,王宏信,李文一,等. 2006. 重金属富集植物黑麦草对 Zn 的响应[J]. 水土保持学报,20(3):43-46
- 杨红玉,王焕校. 1990. 某些绿藻对镉的富集作用及其毒性反应[J]. 环境科学学报,10(1):64-71
- 张义贤. 1999. 三价铬和六价铬对大麦毒性效应的比较[J]. 生态学报,19(6):855-859
- 张义贤. 1997. 重金属对大麦(*Hordeum vulgare*)的毒性[J]. 环境科学学报,17(2):199-201
- 赵海泉,洪法水. 1998. 汞胁迫下小麦酶活性的变化[J]. 农业环境保护,17(1):20-21