

植物 CytP450 和抗氧化酶对土壤 低浓度菲、芘胁迫的响应

宋玉芳¹, 李昕馨², 张 薇³, David Freestone⁵, M. Leigh Ackland⁵, 陈 朗^{1,4},
吉普辉^{1,4}, 杨晓霞^{1,4}

(1. 中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110016; 2. 沈阳大学环境工程重点实验室, 沈阳 110041;

3. 沈阳农业大学土地与环境学院, 沈阳 110161; 4. 中国科学院研究生院, 北京 100039; 5. 澳大利亚 Deakin 大学细胞与分子生物学中心)

摘要:以小麦(*Triticum aestivum*)为供试植物, 草甸棕壤为供试土壤, 以微粒体细胞色素 P450 及抗氧化酶 SOD、POD 和 CAT 酶活性为指标, 进行了土壤中菲、芘单一及复合胁迫响应研究。结果初步表明, 菲、芘胁迫引起植物体内解毒代谢和抗氧化防御酶反应。菲、芘单一胁迫浓度为 1 mg kg^{-1} 时对细胞色素 P450 产生显著诱导; 4 mg kg^{-1} 时 P450 酶含量明显被抑制, 表明低浓度菲、芘单一胁迫对植物代谢解毒系统产生损伤; 而非、芘复合 1 mg kg^{-1} 时 P450 酶含量明显被抑制, 说明菲、芘复合胁迫对植物的代谢解毒具有协同毒性效应。土壤中菲、芘单一胁迫未引起 SOD 酶活性的明显改变, 复合胁迫下 SOD 酶活性出现微弱下降; 菲、芘单一胁迫对 CAT 和 POD 酶活性具有显著抑制作用; 复合胁迫对 CAT 产生抑制作用, 而 POD 酶活性并未对菲、芘复合产生增强毒性响应。研究从代谢解毒和抗氧化防御酶系统两方面, 为土壤低浓度 PAHs 污染诊断提供了实验依据。

关键词:土壤; 植物; CytP450; 抗氧化酶; 菲; 芘

文章编号: 1000-0933(2009)07-3768-07 中图分类号: Q143 文献标识码: A

The response of CytP450 and antioxidant enzymes in plants to Phenanthrene and Pyrene exposure in soil at lower concentrations

SONG Yu-Fang¹, LI Xin-Xin², ZHANG Wei³, David Freestone⁵, M. Leigh Ackland⁵, CHEN Lang^{1,4}, JI Pu-Hui^{1,4}, YANG Xiao-Xia^{1,4}

1 Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China

2 Key Laboratory of Environment Engineering, Shenyang University, Shenyang 110041, China

3 Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China

4 Graduated School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China

5 Centre for Cellular and Molecular Biology, Deakin University Burwood 3125, Melbourne, Australia

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(6): 3768 ~ 3774.

Abstract: Wheat (*Triticum aestivum*) was chosen to analyze the effect of two polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), Phenanthrene (PHE) and Pyrene (PY) in brown meadow soil at low concentrations. The effects of PHE and PY were determined by analyzing the changes in activity of Cytochrome P450 (CytP450) and antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT). Results indicated that both PHE and PY caused changes in activity of CytP450 and the antioxidant enzymes, SOD, POD and CAT. CytP450 activity was significantly stimulated with 1 mg kg^{-1} of both PHE and PY individually and significantly inhibited with 4 mg kg^{-1} , which showed that pollution stress of PHE or PY can damage the metabolism and detoxification systems of plants. Moreover, as PHE and PY combined at

基金项目:国家重点基础研究发展规划 973 资助项目(2004CB418503); 国家科技支撑计划资助项目(2007BAD89B03); 国家高技术研究发展 863 资助项目(2006AA06Z386)

收稿日期: 2008-04-05; 修订日期: 2008-10-20

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: Songyufang@iae.ac.cn

1 mg kg⁻¹, CytP450 was increased significantly more than when PHE and PY were applied individually, which illustrates obvious synergistic effects. No significant variation were found in activity of SOD in response to individual exposure of PHE or PY in soil, but SOD activity decreased slightly in response to a combined PHE and PY exposure. Great decrease variation was found in CAT and POD activity in response to individual exposure of PHE or PY in soil. No enhanced toxic effects were shown by POD in response to a PHE and PY combined exposure, however CAT showed increased inhibition. From the aspects of metabolism and detoxification as well as antioxidant enzyme activity, our study has provided experimental basis for the pollution diagnosis of PAHs in soils at low concentrations.

Key Words: soil; plant; CytP450; antioxidant enzymes; phenanthrene; pyrene

细胞色素 P450 酶也称混合功能氧化酶或单加氧酶,是外来物质进行生物转化相 I 过程的重要代谢酶系。它可将脂溶性外源物质转化为水溶性化合物排出生物体外,起到代谢解毒作用。在这一过程中,外源物质可诱导生物体内 P450 酶活性显著增加或降低。如鱼类暴露于不同浓度的 PAHs、PCBs 和 PCDFs 等污染物时,可诱导鱼肝 P450 酶总水平显著/极显著升高或下降^[1-3]。利用 P450 酶活性(或含量)与污染物浓度之间的量-效关系,可进行环境中污染物毒性的早期预报与诊断^[4-6]。

不同植物对污染物响应的敏感度不同,这可能与植物本身特性有关。高等植物生长实验结果表明,小麦较其它植物对有机污染胁迫更为敏感^[7]。然而,以小麦为实验植物的研究多进行植物生长毒性实验,由于指标性质的限制很难对更低浓度的有机污染进行毒性指示,而以植物细胞色素 P450 为生物标记物有望使这一目标得到进一步实现。本实验通过前期摸索,解决了方法上存在的问题,实现了植物 P450 酶的定性和定量测定,为在更低浓度水平上的土壤有机污染毒理诊断奠定基础^[8]。

有毒物质可加速细胞内活性氧或氧自由基的产生,干扰生物体内自由基生成与清除反应的平衡。因此抗氧化酶对污染物的胁迫响应可作为抗氧化损伤的生物标记物。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)是植物体内主要的活性氧清除酶,利用其活性指标的变化情况,可检测有毒化合物引发的抗氧化系统影响,对土壤污染的毒性效应起到污染诊断作用。根据文献报道,以往有关抗氧化酶系指标的研究主要集中在重金属元素上,对有毒有害持久性有机污染物的研究较少^[9,10]。多环芳烃(Polycyclic aromatic hydrocarbons,简称 PAHs)普遍存在于土壤等环境介质中,属具有三致效应的持久性有毒有害有机污染物。它们的环境浓度一般较低,以常规的生态毒理学方法很难检测到其毒性危害。因此,环境浓度多环芳烃的生态毒理诊断及生态风险需要更灵敏的方法。

本研究以高等植物小麦为供试体,以菲、芘为供试 PAHs,将 CytP450 含量和 SOD、POD 和 CAT 活性两组酶系指标结合,进行土壤 PAHs 污染胁迫响应研究,旨在为环境浓度下土壤污染生态毒理指标的建立和完善提供依据,进而为其在土壤污染诊断中的应用发挥作用。

1 材料与方法

1.1 供试材料

小麦(*Triticum aestivum*)品种为辽春 14,购自沈阳市富友种子公司。供试草甸棕壤采自中国科学院沈阳生态实验站。

表 1 供试土壤的理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of test soils

土壤类型 Soil type	总磷 Total P	全钾 Total K	凯氏氮 Kjeldahl-nitrogen	有机质 Organic matters	CEC/100g	pH
草甸棕壤 Meadow brown soil	0.04%	0.18%	0.091%	1.65%	12.26	6.22

CEC/100g: 阳离子交换量每 100g 土, Cation exchange capacity

菲、苾为分析纯,购自瑞士 Fluka 公司。Tris 和 DTT 购自美国 Amresco 公司,分析纯。牛血清白蛋白(BSA)与考马斯亮蓝 G-250(CBG)均购于上海生工,分析纯。其他药品均为市购分析纯。CO 购于沈阳市气体站,纯度 99.99%。

1.2 主要仪器设备

CP-80MX 低温超速离心机(日立);紫外双光束分光光度计 UV-2550(岛津);内切式组织匀浆器(宁波新芝);手动玻璃匀浆器;光照培养箱;硬质玻璃培养皿。

1.3 实验设计

于 90mm 直径玻璃培养皿中放置 2 层滤纸,先将滤纸用蒸馏水浸湿后,将种子均匀放入培养皿中,盖好玻璃培养皿,置于恒温培养箱中 25℃ 暗处培养。对照种子发芽率大于 90% 确定根伸长抑制率 5% ~ 20% 的浓度区间(10 ~ 40mg kg⁻¹),并确定菲、苾加入浓度后,开始菲、苾暴露的植物培养实验。

称取 50g 风干土壤于 90mm 直径的玻璃培养皿中。分别将一定浓度的菲或苾或等量配比的菲、苾复合溶液(丙酮)均匀的加入培养皿中,污染物浓度分别为 1、2、4、6mg kg⁻¹和 8mg kg⁻¹和一个空白对照 CK。培养皿置于暗处待丙酮挥发至干,搅拌。调节土壤含水量至最大持水量的 60%,避光平衡 48h。同时,取一定量的土壤样品,进行菲、苾的提取与测定。

供试种子经 2% 的双氧水表面消毒 5min,用蒸馏水反复冲洗 5 遍,滤纸吸干水分后,将 20 粒种子均匀播种于土壤中,播种时保持种子的胚向上且方向一致。于光照培养箱中(25 ± 1)℃ 进行培养(光暗比为 14:10)。定时喷水以保持土壤湿度。实验设 5 个重复,周期 14d。

1.4 测定指标及方法

(1) CytP450 总量测定

将样品(小麦地上部分)剪碎后转移到装有 5ml 匀浆缓冲液(250mmol L⁻¹蔗糖,50mmol L⁻¹Tris pH 7.5,1mmol L⁻¹ DTT,1mmol L⁻¹ EDTA)的 25ml 离心管中,内切式组织匀浆器以 8000r/min 匀浆 40s。匀浆物通过双层纱布过滤,将滤液装入 10ml 的离心管中,在低温(4℃)超速离心机上以 12000 r/min 离心 30min。离心后所得上清液于 4℃ 下 46500 r/min 再次离心 90min。所得沉淀即为微粒体,用保存缓冲液(250mmol L⁻¹蔗糖,50mmol L⁻¹ Tris pH 7.5,1mmol L⁻¹ DTT,1mmol L⁻¹ EDTA,20% 甘油)溶解,留 1ml 待测蛋白含量,其余部分待测 P450 总量。

植物 P450 含量测定参照 Omura 和 Sato 的方法进行适当改进^[11]。微粒体蛋白悬液 6ml,加入适量的连二亚硫酸钠将其还原。混匀后,分装于两个 3ml 的样品和参比比色杯中,于样品杯中通入一氧化碳至反应完全,静置片刻后,紫外双光束分光光度计上 400 ~ 500nm 处扫描光谱,分别记录 450nm 和 490nm 处的吸光值。根据以下公式计算 P₄₅₀ 含量:

$$P_{450} \text{ 含量} (\text{nmol mg}^{-1} \text{Pro}) = \frac{450\text{nm 吸光值} - 490\text{nm 吸光值}}{0.091 \times \text{微粒体悬液蛋白浓度} (\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1})}$$

式中,0.091 为消光系数

(2) 抗氧化酶系活性测定^[12]

取 1g 左右鲜叶,加入 5ml 浓度为 0.1mol L⁻¹ 的磷酸缓冲液(pH7.8),冰浴中匀浆后双层纱布过滤,15000g 低温(4℃)离心 20min,上清液即为粗酶提取液,于 0 ~ 4℃ 冰箱中保存。

超氧化物歧化酶(SOD)活性测定,采用氮蓝四唑法,以 560nm 下的吸光值计算酶活性,单位为 U/mg Pr,以 50% 抑制率的酶量为一个酶活力单位(U)。

过氧化物酶(POD)活性测定,采用愈创木酚法,470nm 下测定吸光值单位为 ΔOD/mg Pro min,以每分钟吸光度变化值表示酶活力的大小。

过氧化氢酶(CAT)活性测定采用紫外吸收法,以 240nm 处吸光度变化速度计算活性,单位 U/mg Pro min,以 1min 内 A240 减少 0.1 的酶量为一个酶活单位(U)。

各样品组酶活性采用相对活性表示:即样品组与对照组酶活性的比值。

(3) 蛋白质浓度测定采用考马斯亮蓝法^[13]。

(4) 土壤中菲、芘的提取与测定采用超声震荡-液相色谱法^[14]。

1.5 数据分析

试验数据均采用统计软件 SPSS 12.0 进行统计分析。对样品与对照间的测定指标进行了以胁迫剂量为因子的单因素方差分析(One-way ANOVA, Dunnett's *t* test(2-sided)),对多环芳烃浓度与测定指标值进行相关性检验(Pearson Correlation(2-tailed))和回归分析。

2 结果与分析

2.1 土壤菲、芘的含量测定

如表 2 所示,菲的回收率在 74.1% ~ 76.3%,芘的回收率在 82.5% ~ 86.6%,回收率偏低与菲、芘的自然挥发及土壤颗粒的吸附有关。本试验结果与先前报道相近^[14]。

2.2 小麦 CytP450 对土壤菲、芘胁迫的响应

由图 1 可见,菲单一胁迫下浓度为 1 ~ 4 mg kg⁻¹ 时,小麦 CytP450 含量随菲浓度显著升高,最大比对照提高 2.02 倍;菲浓度由 4 mg kg⁻¹ 增至 6 ~ 8 mg kg⁻¹ 时,CytP450 含量由 2.9 nmol mg⁻¹ 分别下降至 2.6 和 1.6 nmol mg⁻¹。CytP450 含量随菲浓度增加“先升高后下降”的趋势表明,1 ~ 4 mg kg⁻¹ 低浓度菲胁迫引发植物代谢解毒能力的提高,是一种应激诱导反应。

菲浓度 4 ~ 8 mg kg⁻¹ 可能超出植物自身的代谢解毒能力,导致酶功能一定程度的减弱,是一种应激抑制效应。本研究的其他一组实验以玉米为供试植物,菲浓度 4 mg kg⁻¹ 时 CytP450 含量最大值仅为 1.2 nmol mg⁻¹^[15]。相比之下,小麦对菲胁迫的响应显然更明显,说明小麦为敏感植物种。

同样浓度下,芘胁迫导致 CytP450 含量的变化幅度明显比菲低(图 1b)。芘 1 mg kg⁻¹ 时 CytP450 含量比对照略有增加。芘 4 mg kg⁻¹ 时,CytP450 含量由对照的 0.89 nmol mg⁻¹ 增加至 1.4 nmol mg⁻¹。6 ~ 8 mg kg⁻¹ 芘时 CytP450 含量分别下降至 1.2 nmol mg⁻¹ 和 1.0 nmol mg⁻¹。CytP450 含量受芘胁迫诱导先升高后抑制下降的规律与菲的胁迫效应相似(图 1a)。

CytP450 对芘胁迫响应强度减弱可能与芘的有效性(0.013 mg L⁻¹)有关^[16]。芘几乎不溶于水,在土壤中的生物有效性不及菲。但从图 1b 可见,CytP450 随芘浓度升高作用强度增强,即由低浓度下的诱导效应转为较高浓度下的抑制效应,这说明除了与溶解态相关的那部分芘对植物 CytP450 作用外,还有其他的生物有效性形式(吸附在土壤表面的和挥发为气态的芘)对植物 CytP450 起作用。这与蚯蚓 CytP450 对菲、芘响应的结果不同。芘胁迫对蚯蚓 CytP450 诱导性更强,且大于菲^[5]。这可能与生物体对污染物的暴露路径不同有关。

图 1c 可见,菲、芘复合胁迫时 CytP450 含量逐渐下降,菲、芘浓度与 CytP450 含量呈显著剂量-效应负相

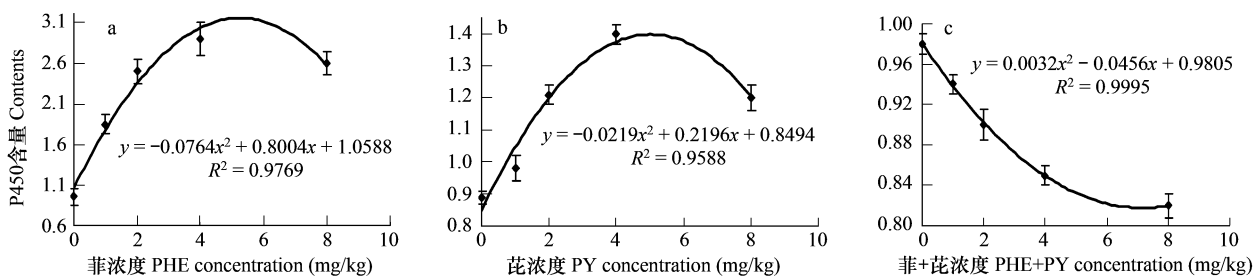


图 1 (a, b, c) 小麦 CytP450 酶含量对菲、芘单一与复合胁迫的响应

Fig. 1 The Stress response of Cyt p450 enzyme content of wheat to single phenanthrene or pyrene and their combination

关,这与菲、芘单一污染胁迫下 CytP450 先上升后下降的响应趋势明显不同,说明菲、芘复合的胁迫强度增强。

菲、芘很可能与 P450 的辅酶,还原酶作用,增大其对植物代谢解毒酶系统的影响,导致植物机体的代谢解毒能力减弱。由于菲、芘本身并不是强毒性物质,其毒性可能与其代谢过程有关。

2.3 抗氧化酶系活性对土壤菲、芘单一与复合胁迫的响应

2.3.1 SOD 酶对菲、芘单一与复合胁迫的响应

图 2 为菲、芘单一/复合胁迫下与 SOD 酶活性响应的关系图,如图可见菲对 SOD 酶活性影响不大。菲浓度为 1~8mg kg⁻¹ 时 SOD 酶活性基本稳定在 1.0,芘浓度与 SOD 酶活性的响应趋势与菲相似。芘浓度为 8mg kg⁻¹ 时 SOD 酶活性略有升高。SOD 酶是惟一以 O₂⁻ 自由基为底物的抗氧化酶,土壤中菲或芘胁迫未引起 SOD 酶活性的明显改变,说明试验浓度范围内菲或芘胁迫未造成小麦生物体氧化损伤。

菲、芘复合胁迫下,SOD 酶活性出现微弱下降趋势,由对照的 1.0 下降至 0.9(图 2)。菲、芘复合污染对 SOD 酶活性具有协同作用,但协同作用不明显。与此相反,以玉米为供试生物,同样浓度下菲或芘胁迫使 SOD 酶活性显著被抑制,而菲、芘复合产生 SOD 酶活性明显升高的拮抗作用^[15]。这表明植物种之间对污染物胁迫响应具有差异性。重金属胁迫与抗氧化酶活性具有明显响应关系^[20],但文献报道的研究中重金属胁迫的浓度一般较高。如,10 mg kg⁻¹ 及 50~150 mg kg⁻¹ Cd 胁迫下,草本宿根植物马蔺(*Iris lactea* var. *chinensis*) 和银杏叶 SOD 活性均呈上升的趋势^[17,18]。Cd 浓度大于 80mg L⁻¹ 时,蚕豆的 SOD 活性开始出现下降^[19]。比较上述结果可见,菲、芘对植物的抗氧化酶系统的作用浓度比 Cd 低得多,显然,从植物抗氧化酶的响应分析,有机污染物的抗氧化胁迫的毒性效应比重金属更强。

2.3.2 CAT 酶对菲、芘单一与复合胁迫的响应

由图 3 可见,菲、芘单一与复合胁迫对 CAT 酶活性有显著抑制作用。菲浓度为 1 mg kg⁻¹ 时即引起 CAT 酶活性从 1.0 下降至 0.72;菲浓度为 2mg kg⁻¹ 和 4 mg kg⁻¹ 时,CAT 分别为 0.64 和 0.7,与对照差异显著($p < 0.01$);菲浓度为 8 mg kg⁻¹ 时 CAT 酶活性明显回升。芘胁迫下 CAT 酶的响应趋势与菲相似,为抑制作用。CAT 酶活性分别由对照的 1.0 降至 0.78,0.6 和 0.62,与对照差异显著($p < 0.01$)。菲、芘复合胁迫下,对 CAT 酶活性显著抑制,抑制强度与菲、芘浓度呈显著线性负相关。比较可见,菲、芘复合与单一胁迫对 CAT 酶活性作用,在较低浓度下复合时抑制强度较菲、芘弱,而在较高浓度下较单一胁迫时更加明显,这表明菲、芘复合在较低浓度下产生一定的拮抗效应,而浓度升高时,具有氧化胁迫效应增强的趋势。

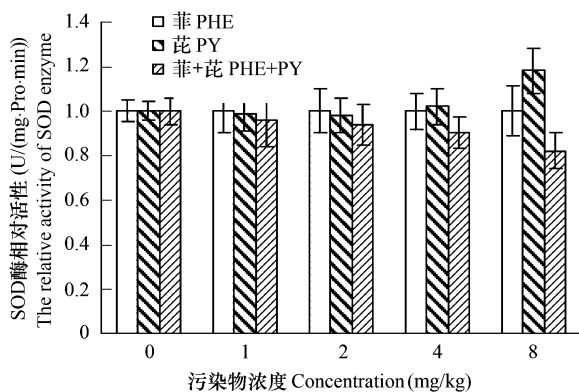


图 2 小麦 SOD 酶活性对菲、芘单一与复合胁迫的响应

Fig. 2 The Stress response of SOD enzyme activities of wheat to single phenanthrene or pyrene and their combination

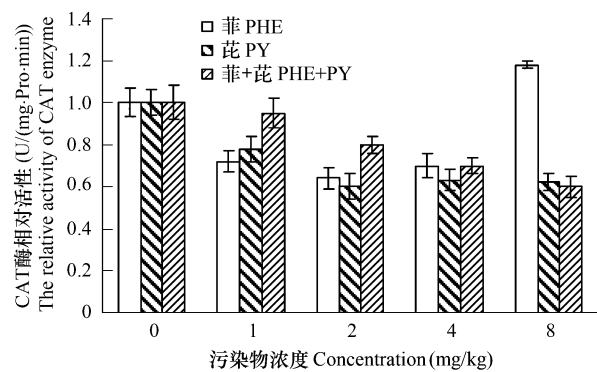


图 3 小麦 CAT 酶活性对菲、芘单一与复合胁迫的响应

Fig. 3 The Stress response of CAT enzyme activities of wheat to single phenanthrene or pyrene and their combination

CAT 酶活性下降是小麦抗氧化系统对土壤 PAHs 污染胁迫的应激反应。菲、芘单一胁迫下 CAT 酶活性呈波动性变化。类似的情况在其他研究中也有报道^[6]。有关重金属对生物抗氧化酶的胁迫响应研究已有较多报道,重金属胁迫与抗氧化酶的响应一般呈明显的剂量-效应关系,且多发生在较高的浓度范围内。如银杏

叶实验中 Cd 浓度在 $50 \sim 150 \text{ mg kg}^{-1}$ 时,蚕豆实验中 Cd 浓度超过 80 mg kg^{-1} 时,开始对 CAT 酶活性产生抑制^[18,19]。比较可见,有机污染物与抗氧化酶的胁迫响应存在差异,除了具有波动性外,引起抗氧化响应的浓度更低。以本研究为例,菲、芘诱发植物 CAT 的防御反应的作用浓度为 1 mg kg^{-1} ,因此其氧化胁迫效应较重金属更强。

2.3.3 POD 酶活性对菲、芘单一与复合胁迫的响应

由图 4 可见,菲、芘单一胁迫对 POD 酶活性具有抑制作用。菲胁迫导致 POD 酶活性下降。菲浓度在 $1 \sim 8 \text{ mg kg}^{-1}$ 范围内 POD 酶活性分别由对照的 1.0 降至 0.8, 0.5 和 0.6, 最大降幅达 50%, 与对照差异显著 ($p < 0.01$)。芘胁迫也导致 POD 酶活性下降,但芘对 POD 酶的抑制强度不及菲。芘浓度为 $1 \sim 2 \text{ mg kg}^{-1}$ 时, POD 酶活性略有下降;芘浓度为 4 mg kg^{-1} 时, POD 酶活性比对照减少 0.3;芘为 8 mg kg^{-1} 时, POD 酶活性回升。总体上菲、芘胁迫对 POD 酶的抑制效应明显。

菲、芘复合对 POD 酶活性并未显示增强的毒性效应。相反,在多个处理浓度下, POD 酶活性增高。如菲、芘复合浓度为 $2 \sim 4 \text{ mg kg}^{-1}$ 时 POD 酶活性分别达 1.2 和 1.16。但整个浓度范围内,污染物与 POD 酶活性之间不存在剂量-效应关系。这与本实验及其他实验中酶的反应相类似,即菲、芘胁迫引起 POD 酶活性波动性响应。

实验生物种与抗氧化酶之间的胁迫响应具有多样性。本研究另一组实验结果表明,玉米与小麦对同样浓度菲、芘的胁迫响应趋势不尽相同^[16]。污染物种类、浓度与抗氧化酶之间的胁迫响应应具有差异性。有文献报道高浓度的重金属与 POD 酶活性之间存在诱导响应关系,而在更高的浓度下产生抑制效应。例如, Cd 浓度在 50 mg kg^{-1} 以下,对 POD 酶活性产生胁迫诱导效应,超过 50 mg kg^{-1} 时产生胁迫抑制效应^[18]。另一组实验显示 Cd 浓度在 $0 \sim 100 \text{ mg kg}^{-1}$ 范围内, POD 活性一直呈逐渐上升趋势^[19]。除了进一步表明生物种之间对抗氧化胁迫响应的敏感性存在差异外,两组数据进一步说明有机污染的氧化胁迫效应更强。菲、芘对 POD 酶的氧化损伤效应比重金属更为严重。

3 结论

本研究以植物(小麦)微粒体细胞色素 P450 含量和 SOD、POD 和 CAT 酶活性为指标,研究代谢解毒及抗氧化酶对土壤菲、芘单一/复合污染的胁迫响应。目的是通过实验验证上述指标对较低浓度菲、芘胁迫的响应及指标的敏感性,为诊断土壤中多环芳烃等持久性有机污染物的生态毒性提供备选方法,进而为其生态风险的评价提供依据。本实验进一步证实菲、芘胁迫引起植物代谢解毒和抗氧化防御系统的应激变化和损伤状况。相比之下, CytP450 酶对菲、芘胁迫响应更敏感。

本研究发现与重金属胁迫相比,多环芳烃(菲、芘)引起的代谢解毒酶及抗氧化酶的响应浓度更低和作用时间更短。因此推断持久性有机污染物对植物的代谢解毒及抗氧化系统影响更大,生态毒性更强。通过检测 P450 含量和 SOD、POD 和 CAT 酶活性指标的变化情况,可在植物代谢解毒和抗氧化防御水平上确定多环芳烃污染物的生态毒性,并进行污染诊断及风险预警。

References:

- [1] Kloepper-Sams P J, Benton E. Exposure of fish to biologically treated bleached-kraft effluent. 2. induction of hepatic cytochrome P4501A in mountain whitefish (*Prosopium williamson*) and other species. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1994, 13: 1483 - 1496.
- [2] Hugla J L, Thome J P. Effects of polychlorinated biphenyls on liver ultrastructure, hepatic monooxygenases and reproductive success in the barbel. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1999, 42: 265 - 273.

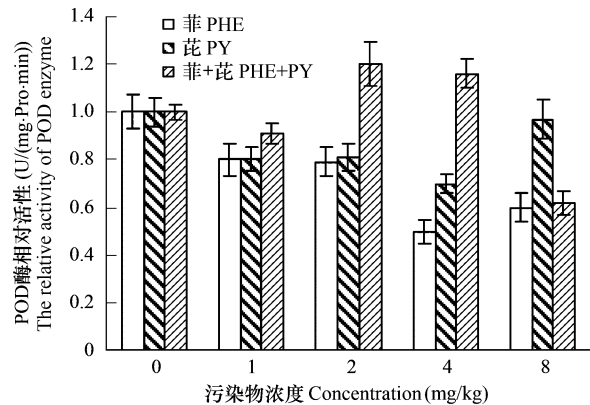


图 4 小麦 POD 酶活性对菲、芘单一与复合胁迫的响应

Fig. 4 The Stress response of POD enzyme activities of wheat to single phenanthrene or/and pyrene and their combination

- [3] Van der Weiden M E J, Van der Kolk J, Bleumink R, *et al.* Concurrence of P450 1A1 induction and toxic effects after administration of a low dose of 2,3,7,8 -tetrachlorodibenzo- p-dioxin (TCDD) to the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 1992, 24: 123 – 142.
- [4] Leng X F, Qiu X H. The structure, function and applied prospect of cytochrome P450 enzymes. Beijing: Science Press, 2001.
- [5] Zhang W, Song Y F, Sun T H, *et al.* Establishment of method for cytochrome P450 of earthworms (*Eisenia fetida*) as a biomarker. *Chinese Journal of Environmental Science*, 2006, 27(8): 1636 – 1642.
- [6] Zhang W, Song Y F, Sun T H, *et al.* Influence of Phenanthrene and Pyrene on cytochrome P450 and antioxidant enzymes in earthworms (*Eisenia fetida*). *Environmental Chemistry*, 2007, 26(2): 202 – 206.
- [7] Song Y F, Zhou Q X, Xu H X, *et al.* Eco-toxicological effects of Phenanthrene, Pyrene and 1,2,4-Trichlorobenzene in soils on the inhibition of root elongation of higher plants. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 22(11): 1945 – 1950.
- [8] Li X X, Song Y F, Yang D L, *et al.* Cytochrome P450 in wheat as a biomarker for diagnosing pollution in soil. *Environmental Chemistry*, 2006, 25(3): 283 – 287.
- [9] Liu J C, Li Y H, Jin H. Effects of copper contamination on yields, accumulated copper distribution and membrane protective enzyme activities of pepper. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2003, 18: 254 – 257.
- [10] Tang Y. Effect of lead pollution on the growth and the activity of superoxide dismutase and peroxidase in hotpepper seedlings. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2001, 32(1): 26 – 28.
- [11] Omura T, Sato R. The Carbon Monoxide-binding Pigment of Liver Microsomes. *J Biol Chem*, 1964, 239(7): 2370 – 2378.
- [12] Liu X Z, Huang B. Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in greening bentgrass. *Crop Sci*, 2000, 40: 503 – 510.
- [13] Bradford M M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding. *Anal. Biochem*, 1976, 72: 248 – 254.
- [14] Song Y F, Jing X, Fleischmann S, *et al.* Comparative Study of Extraction Methods for the Determination of PAHs from Contaminated Soils and Sediments. *Chemosphere*, 2002, 48(9): 993 – 1001.
- [15] Song Y F, Wang L, Li X X, *et al.* Ecotoxic responses of CytP450 and antioxidant enzymes in maize due to exposures to Phenanthrene and Pyrene in soil. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2009, 29(2): 381 – 388.
- [16] Sims R C, Overcash M R. Fate of polynuclear aromatic-compounds (PNAs) in soil-plant systems. *Residue Review*, 1983, 88: 1 – 68.
- [17] Yuan H Y, Huang S Z, Guo Z, *et al.* Effects of Zn on the growth, Cd accumulation and physiological resistance of *Iris lactea* var. *chinensis* under Cd stress. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(9): 2111 – 2116.
- [18] Zhu Y L, Cao F L, Tan P. Effects of Cd single and Pb combined stress on the antioxidant enzymes activities of ginkgo leaves. *Journal of Northwest Forestry University*, 2007, 22(5): 7 – 11.
- [19] Zheng S Y, Zhang X L, Wang L Y, *et al.* Effects of Cd²⁺ on Antioxidant enzyme activity and MDA content of horsebean. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2007, 2: 35 – 37.
- [20] Hu Z B, Chen Y H, Wang G P, *et al.* Effects of copper stress on growth, chlorophyll fluorescence parameters and antioxidant enzyme activities of *Zea mays* seedlings. *Chinese Bulletin of Botany*, 2006, 23(2): 129 – 13.

参考文献:

- [4] 冷欣夫, 邱星辉. 细胞色素 P450 酶系的结构、功能与应用前景. 北京: 科学出版社, 2001.
- [5] 张薇, 宋玉芳, 孙铁珩, 等. 蚯蚓细胞色素 P450 生物标记物方法研究. *环境科学*, 2006, 27(8): 1636 ~ 1642.
- [6] 张薇, 宋玉芳, 孙铁珩, 等. 菲和芘对蚯蚓(*Eisenia fetida*)细胞色素 P450 和抗氧化酶系的影响. *环境化学*, 2007, 26(2): 202 ~ 206.
- [7] 宋玉芳, 周启星, 许华夏, 等. 菲、芘、1,2,4-三氯苯对土壤高等植物根伸长抑制的生态毒性效应. *生态学报*, 2001, 22(11): 1945 ~ 1950.
- [8] 李昕馨, 宋玉芳, 杨道丽, 等. 小麦细胞色素 P450 为土壤污染生物标记物的研究. *环境化学*, 2006, 25(3): 283 ~ 287.
- [9] 刘景春, 李裕红, 晋红. 铜污染对辣椒产量、铜累积及叶片膜保护酶活性的影响. *福建农业学报*, 2003, 18: 254 ~ 257.
- [10] 唐咏. 铅污染对辣椒幼苗生长及 SOD 和 POD 活性的影响. *沈阳农业大学学报*, 2001, 32(1): 26 ~ 28.
- [15] 宋玉芳, 王磊, 李昕馨, 等. 植物 CytP450 和抗氧化酶对土壤菲、芘暴露的生态毒理响应. *环境科学学报*, 2009, 29(2): 381 ~ 388.
- [17] 原海燕, 黄苏珍, 郭智, 等. 锌对镉胁迫下马蔺生长、镉积累及生理抗性的影响. *应用生态学报*, 2007, 18(9): 2111 ~ 2116.
- [18] 朱宇林, 曹福亮, 谭萍. Cd 单一及其与 Pb 复合胁迫对银杏叶抗氧化保护酶活性的影响. *西北林学院学报*, 2007, 22(5): 7 ~ 11.
- [19] 郑世英, 张秀玲, 王丽燕, 等. Cd²⁺ 胁迫对蚕豆抗氧化酶活性及丙二醛含量的影响. *河南农业科学*, 2007, 2: 35 ~ 37.
- [20] 胡筑兵, 陈亚华, 王桂萍, 等. 铜胁迫对玉米幼苗生长、叶绿素荧光参数和抗氧化酶活性的影响. *植物学通报*, 2006, 23(2): 129 ~ 13.