

# 复合重金属胁迫对两种藓类植物生理特性的影响

孙天国,沙伟\*,刘岩

(齐齐哈尔大学生命科学与工程学院遗传工程重点实验室,黑龙江齐齐哈尔 161006)

**摘要:**研究混合金属离子( $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$ )溶液对东亚砂藓(*Racomitrium japonicum*)和拟垂枝藓(*Rhytidiadelphus squarrosus*)的膜系统、光合系统的损伤情况及其抗氧化酶系统的变化。结果表明:随着处理重金属浓度的增加,两种藓类植物体中的游离脯氨酸含量先降后升高再下降;丙二醛含量具应激效应;SOD、POD 和 CAT 活性在低浓度下升高(东亚砂藓 $\leq 50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,拟垂枝藓 $\leq 30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )。在高浓度下降低(东亚砂藓 $> 50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,拟垂枝藓 $> 30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ );可溶性蛋白含量在东亚砂藓中表现为降低-升高-降低,而拟垂枝藓先升后降;叶绿素含量呈抑制效应。拟垂枝藓的生理变化较东亚砂藓明显,更有利于检测重金属的污染。

**关键词:**重金属胁迫;东亚砂藓;拟垂枝藓;生理特性

## The effects of compound heavy metal stress on some physiological characteristics of two moss species

SUN Tianguo, SHA Wei\*, LIU Yan

Key Laboratory of Genetic Engineering, Life Science and Engineering College, Qiqihaer University, Qiqihaer Heilongjiang 161006, China

**Abstract:** The membrane system, photosynthetic system and antioxidant enzyme system of *Racomitrium japonicum* and *Rhytidiadelphus squarrosus* were characterized under stimulated stress environment of mixed heavy metal ( $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$ ) resolution in this study. The moss samples used in the study were collected from Wudalianchi, Heilongjiang Province. The compound heavy metal mixture was composed of the equal concentrations of four kinds of metal ions, such as  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$ . In this study, the samples were cultured in light incubators at 25 °C for 72 h, with a light cycle of 12 h; 12 h treated with six different metal concentration, namely 0 (control), 10, 30, 50, 60, 70 ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  of each kind of metal ions), respectively.

The results showed that the content of free proline decreased first then increased and decreased again with the increasing concentration of compound heavy metal. The accumulation of proline in *Rhytidiadelphus squarrosus* under the metal concentration of 30  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  reached the maximum, which was 35.3% higher than that of the control; the maximum content appeared in *Racomitrium japonicum* under the concentration of 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  metal ions, which was 43.5% higher than that of the corresponding control. The above results implied the two concentrations of mixture ions were physiological limit of the two mosses. With the concentration of mixture metal ions increasing, MDA levels of *Racomitrium japonicum* and *Rhytidiadelphus squarrosus* also gradually increased, and reached the highest at 70  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , which were higher 66.7 % and 75.6 % than that of the corresponding control, respectively. The activity of SOD in two mosses increased first and then decreased. The highest levels of SOD activity of *Racomitrium japonicum* and *Rhytidiadelphus squarrosus* appeared under the ions concentration of 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  and 30  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , which were higher 15.7% and 28.8% than that of the corresponding control, respectively. The highest levels of POD activity of *Racomitrium japonicum* and *Rhytidiadelphus squarrosus* appeared under the ions concentration of 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  and 30  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , which were 80.1% and 98.1% higher than that of the

**基金项目:**黑龙江省科技厅农业公关资助项目(GC06J101);黑龙江省教育厅海外学人合作资助项目(1151hz022)

**收稿日期:**2009-11-10; **修订日期:**2010-02-22

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: shw1129@263.net

corresponding control, respectively. Moreover, the lowest levels of POD activity in *Racomitrium japonicum* and *Rhytidiadelphus squarrosus* appeared at  $70 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , which was 34.2% and 74.3% lower than that of the corresponding control, respectively. The trend of CAT activity was the same as that of SOD and POD. The highest levels of CAT activity in *Racomitrium japonicum* and *Rhytidiadelphus squarrosus* appeared under the concentration of  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , which was 19.33% and 28.51% higher than that of the corresponding control, respectively. The maximum contents of soluble protein in *Racomitrium japonicum* and *Rhytidiadelphus squarrosus* appeared at the concentration of  $30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , which was 20.69% and 39.8% higher than that of the corresponding control, respectively. Along with the increase of metal concentrations, the chlorophyll content decreased, which implied that chlorophyll content of two kinds of mosses and metal ion concentration was significantly negatively correlated. The minimum chlorophyll content of *Racomitrium japonicum* and *Rhytidiadelphus squarrosus* appeared at  $70 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , which was 62.5% and 67.0% lower than that of the corresponding control, respectively.

Comprehensive analysis shows that *Rhytidiadelphus squarrosus* is more sensitive to heavy metal stress and could be an indicator to heavy metal pollution.

**Key Words:** heavy metal stress; *Racomitrium japonicum*; *Rhytidiadelphus squarrosus*; physiological characteristics

随着城市化、工业化等人类活动对全球环境的影响,环境的重金属污染和危害已成为世界范围内的一个日益突出的问题。目前,工业“三废”导致的重金属污染已成为全球环境的重要污染源,土壤环境污染日益严重,植物的金属毒害问题逐渐显现<sup>[1-2]</sup>。常见的主要有  $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$  等,这几种重金属的污染在我国极其严重,不仅降低土壤肥力和作物的产量与品质,而且恶化环境<sup>[3]</sup>。在高浓度下对植物产生毒害作用,并在食物链中富集,进入人体,导致一些疾病的发生,且这几种重金属在环境中的行为表现为协同作用,重金属复合污染的协同作用对环境安全有重大威胁<sup>[4]</sup>。苔藓植物在形态和结构上具有独特之处,植物体形小、结构简单,有特殊的生理适应机制,分布于各种环境,对环境因子的反应敏感度是种子植物的 10 倍,是一类很好的环境生物指示器,不仅可以清除环境中的重金属污染,而且其在监测重金属污染时具有灵敏、精确、直接、采样容易等优点<sup>[5-8]</sup>。

东亚砂藓 (*Racomitrium japonicum*) 和拟垂枝藓 (*Rhytidiadelphus squarrosus*) 为我国常见种类。东亚砂藓植物体上部绿色或黄绿色,下部褐色,生于低海拔地区的岩面、岩面薄土和砂地面上,有时见于石壁上或近树基部地上,为典型的耐干耐旱藓类<sup>[9]</sup>。拟垂枝藓植物体淡绿色或黄绿色,有绢丝光泽,疏松群集成大片生长,多生于针阔混交林下潮湿土上或腐木上<sup>[10]</sup>。

目前,在有关重金属胁迫对苔藓的伤害机理研究中,主要是有关单一重金属胁迫,金属主要集中在 Zn、Cu、Cr、Ni 等元素<sup>[11-13]</sup>,关于多种元素复合胁迫对苔藓的影响研究较少<sup>[14-15]</sup>,多数为 2 种复合离子。而有关  $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$  4 种复合离子对苔藓的研究,只有衣艳君<sup>[16]</sup> 等研究了尖叶走灯藓叶绿素荧光对复合重金属胁迫的响应,而对抗氧化酶系统的影响未见报道。本文通过模拟胁迫环境下东亚砂藓和拟垂枝藓的膜脂过氧化和膜保护系统相关指标的变化特点的研究,旨在了解东亚砂藓和拟垂枝藓在重金属污染环境监测上的应用潜力。

## 1 实验材料与方法

### 1.1 实验材料

东亚砂藓和拟垂枝藓采集于黑龙江省五大连池。标本保存于齐齐哈尔大学生命科学与工程学院遗传工程重点实验室。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 重金属处理方法

野外采回的东亚砂藓和拟垂枝藓去除杂物用去离子水洗净,培养箱中培养 2d,然后挑选长势一致的材料

处理,先用滤纸吸干表面水分,放入培养皿中,分别加入浓度为 0(对照)、10、30、50、60、70 ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 金属复合离子 ( $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$ ) 溶液 200mL,每 1 处理中 4 种重金属浓度相同,在 25℃ 光照培养箱中培养 72h,光周期为 12h:12h,湿度为 70%。每个处理 3 次重复。

### 1.2.2 测定方法

游离脯氨酸含量的测定采用磺基水杨酸法<sup>[17]</sup>,丙二醛含量采用硫代巴比妥酸法<sup>[18]</sup>,过氧化物酶活性的测定采用愈创木酚法<sup>[18]</sup>,超氧化物歧化酶活性的测定采用 NBT 光化还原法<sup>[18]</sup>,用 Bradford 考马斯亮蓝 G-250 法测定可溶性蛋白含量<sup>[19]</sup>,叶绿素含量的测定为乙醇丙酮混合液法<sup>[20]</sup>,CAT 活性的测定采用碘量法<sup>[21]</sup>。

### 1.2.3 实验数据处理

以上各生理指标均测 3 次取平均值。采用 SPSS16.0 进行数据分析,单因素方差分析,Microsoft Excel 2003 作图。

## 2 实验结果与分析

### 2.1 复合金属离子胁迫对东亚砂藓和拟垂枝藓游离脯氨酸含量的影响

4 种重金属元素混合处理后东亚砂藓和拟垂枝藓植物内脯氨酸含量的变化趋势见图 1。随着金属离子浓度的增加,游离脯氨酸呈先下降后升再降的趋势。拟垂枝藓在  $30\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  达到最大值,高于对照 35.3%,东亚砂藓在  $50\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  达到最大值,高于对照 43.5%,说明这 2 个浓度为两种藓类的生理极限浓度。方差分析表明:东亚砂藓中各处理与对照间均达到显著 ( $F = 275.1$ ,  $P < 0.05$ ),拟垂枝藓各处理与对照间均达到显著 ( $F = 487.2$ ,  $P < 0.05$ )。所以拟垂枝藓对外界环境的变化反应比东亚砂藓灵敏。

### 2.2 复合金属离子胁迫对东亚砂藓和拟垂枝藓丙二醛含量的影响

丙二醛(MDA)是细胞膜脂过氧化反应的产物,其含量的变化可作为检测逆境条件下膜系统受损程度的指标<sup>[22]</sup>。如图 2 所示:两种藓类植物内 MDA 含量均随胁迫浓度的增加逐渐增大,当处理浓度为  $70\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时达到最高值,东亚砂藓高于对照 66.7%,拟垂枝藓高于对照 75.6%。方差分析表明:东亚砂藓中  $10\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的处理与对照无差异 ( $\text{Sig} = 0.329$ ),其它处理之间差异极显著 ( $F = 357.6$ ,  $P < 0.01$ )。拟垂枝藓各处理间差异显著 ( $F = 364.7$ ,  $P < 0.05$ )。说明东亚砂藓在金属离子  $10\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的处理没有对植物造成伤害,而拟垂枝藓在该浓度时出现伤害,所以拟垂枝藓对低浓度重金属的反应快于东亚砂藓。

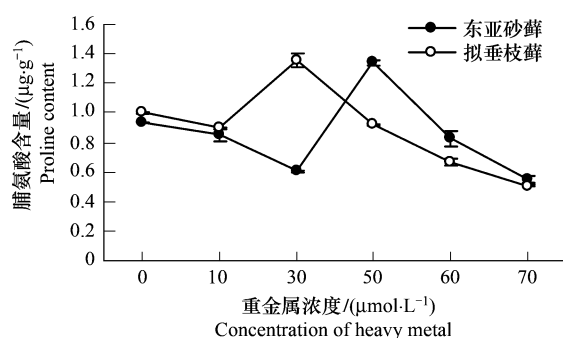


图1 重金属离子胁迫对东亚砂藓和拟垂枝藓游离脯氨酸含量的影响

Fig.1 Effects of heavy metal stress on free proline content of *R. japonicum* and *R. squarrosus*

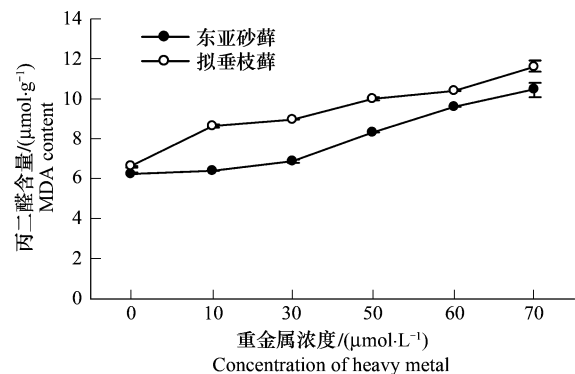


图2 重金属离子胁迫对东亚砂藓和拟垂枝藓丙二醛含量的影响  
Fig.2 Effects of heavy metal stress on MDA content of *R. japonicum* and *R. squarrosus*

### 2.3 复合金属离子胁迫对东亚砂藓和拟垂枝藓抗氧化酶活性的影响

SOD 是最重要的自由基清除酶,能催化超氧阴离子自由基  $\text{O}_2^-$  发生歧化反应,生成  $\text{O}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,减轻  $\text{O}_2^-$  对

植物体的毒害作用<sup>[23]</sup>。4 种重金属混合处理后两种藓类 SOD 活性的变化如图 3:随着金属离子浓度的增加, SOD 活性均表现为先上升后下降的趋势,东亚砂藓在  $50\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  处 SOD 活性达到最大值,比对照高 15.7%;而拟垂枝藓在  $30\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  处达到最大值,比对照高 28.8%。通过方差分析东亚砂藓和拟垂枝藓 SOD 各处理间差异达到极显著 ( $F_{\text{东亚砂藓}} = 1116.3, P < 0.01; F_{\text{拟垂枝藓}} = 553.6, P < 0.01$ )。

由图 4 可知,东亚砂藓在  $50\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  处 POD 活性达到最大值,比对照高 80.1%;而拟垂枝藓在  $30\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  处达到最大值,比对照高 98.1%。在  $70\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  处 POD 活性达到最小值,与对照相比东亚砂藓下降了 34.2%,拟垂枝藓下降 74.3%。通过方差分析可知东亚砂藓和拟垂枝藓 POD 处理差异达到极显著 ( $F_{\text{东亚砂藓}} = 669.3, P < 0.01; F_{\text{拟垂枝藓}} = 464.1, P < 0.01$ )。

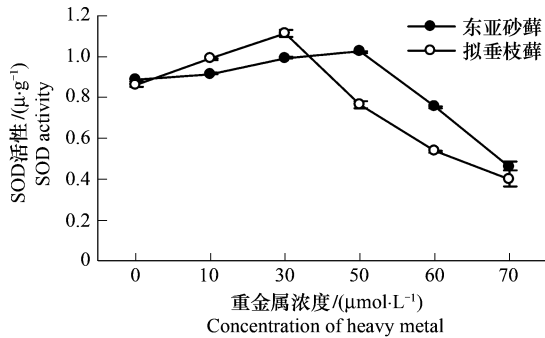


图 3 重金属离子胁迫对东亚砂藓和拟垂枝藓 SOD 活性的影响

Fig. 3 Effects of heavy metal stress on SOD activity of *R. japonicum* and *R. squarrosus*

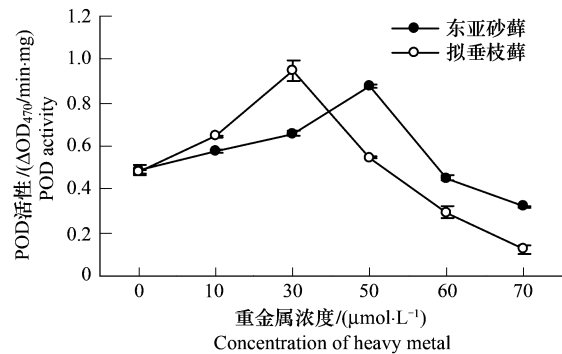


图 4 重金属离子胁迫对东亚砂藓和拟垂枝藓 POD 活性的影响

Fig. 4 Effects of heavy metal stress on POD activity of *R. japonicum* and *R. squarrosus*

CAT 活性的变化与 SOD 和 POD 的相同(图 5),东亚砂藓在  $50\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  处 CAT 活性达到最大值,高于对照 19.33%;拟垂枝藓在  $30\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  处达到最大值,比对照高 28.51%。东亚砂藓和拟垂枝藓在  $70\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  处 CAT 活性达到最小值,方差分析表明:东亚砂藓  $10\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的处理与对照差异不显著 ( $\text{Sig} = 0.169$ ),其余各处理间差异显著 ( $F = 102.88, P < 0.05$ ),而拟垂枝藓各处理间差异均显著 ( $F = 253.223, P < 0.05$ )。从图 3、图 4 和图 5 可以看出,东亚砂藓和拟垂枝藓对处理金属浓度的响应来看拟垂枝藓在  $30\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  处达到自身保护极限,而东亚砂藓在  $50\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  处达到自身保护极限,说明拟垂枝藓对金属的污染反映较快,所以从抗氧化酶结果说明东亚砂藓对环境变化的灵敏度小于拟垂枝藓。

#### 2.4 复合金属离子胁迫对东亚砂藓和拟垂枝藓可溶性蛋白含量的影响

可溶性蛋白多是未与膜系统特异结合的酶,其含量越高该部位的生理生化反应与代谢活动就越旺盛,有利于植物抵抗不良环境的胁迫和伤害。由图 6 可见,东亚砂藓在金属浓度为  $30\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时达到最大值,比对照高 20.6%,而拟垂枝藓在  $10\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  处达到最大值,比对照高 39.8%。说明拟垂枝藓达到生理极限的浓度比东亚砂藓低,对环境的变化更敏感。方差分析表明:东亚砂藓中各处理间均达极显著 ( $F = 195.6, P < 0.01$ );拟垂枝藓中只有金属浓度为  $50\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理与对照无差异 ( $\text{Sig} = 0.865$ ),其余均极显著 ( $F = 709.1, P < 0.01$ )。

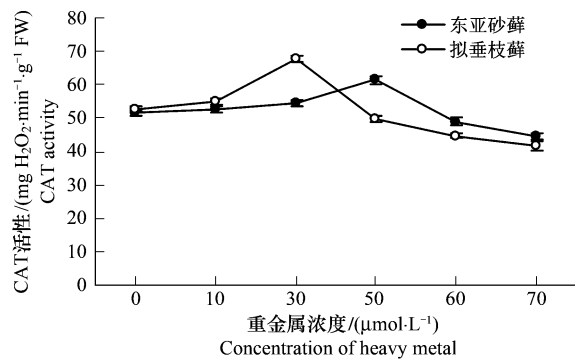


图 5 重金属离子胁迫对东亚砂藓和拟垂枝藓 CAT 活性的影响

Fig. 5 Effects of heavy metal stress on CAT activity of *R. japonicum* and *R. squarrosus*

## 2.5 复合金属离子胁迫对东亚砂藓和拟垂枝藓叶绿素含量的影响

当环境条件变化时,叶绿素的变化可以在一定程度上反映环境因子对植物的影响<sup>[24-25]</sup>。由图 7 表明,随着处理金属浓度的增大东亚砂藓和拟垂枝藓叶绿素含量呈下降趋势。相关分析表明:两种藓类的叶绿素含量与金属浓度呈显著负相关( $r_{\text{东亚砂藓}} = -0.990$ ,  $r_{\text{拟垂枝藓}} = -0.925$ )。当金属浓度为  $70 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,达到最小值。东亚砂藓与对照比下降了 62.5%,拟垂枝藓与对照比下降了 67.0%。方差分析显示:拟垂枝藓与对照间均达到显著( $F = 420.1$ ,  $P < 0.01$ );东亚砂藓处理  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  与对照之间处理差异不显著( $\text{Sig} = 0.482$ ),其余均极显著( $F = 4408$ ,  $P < 0.01$ )。东亚砂藓在金属浓度为  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时叶绿素含量与对照无差异,表明该浓度下金属没有影响叶绿素的合成或影响较小;而在浓度  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时拟垂枝藓的叶绿素的含量下降较大,已经抑制拟垂枝藓叶绿素合成。因此拟垂枝藓监测金属污染的作用更明显。

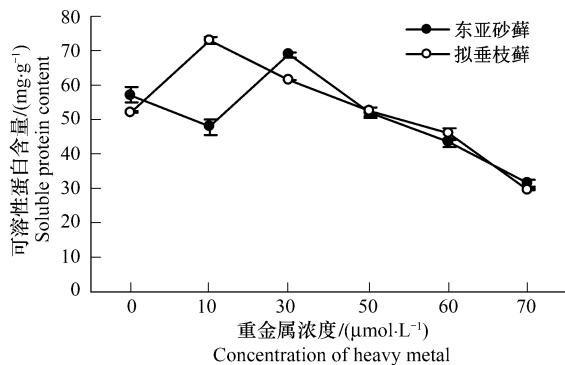


图 6 重金属离子胁迫对东亚砂藓和拟垂枝藓可溶性蛋白含量的影响

Fig. 6 Effects of heavy metal stress on soluble protein content of *R. japonicum* and *R. squarrosus*

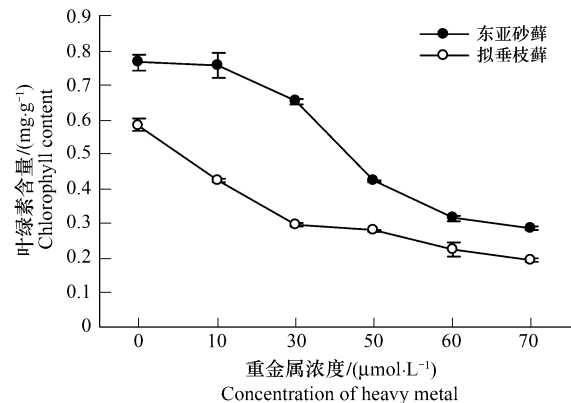


图 7 重金属离子胁迫对东亚砂藓和拟垂枝藓叶绿素含量的影响

Fig. 7 Effects of heavy metal on chlorophyll content of *R. japonicum* and *R. squarrosus*

## 3 讨论

植物体内脯氨酸含量的增加是植物对逆境胁迫的一种生理生化反应,可能具有双重意义<sup>[26]</sup>:其一是细胞结构和功能遭受伤害的反应;其二是植物在逆境下的适应性表现。另外,Smimoff<sup>[27]</sup>提出环境胁迫下植物内源脯氨酸可能具有清除活性氧的作用。本实验结果显示:在金属浓度较低时脯氨酸含量下降,可能是金属离子抑制了脯氨酸的合成。而当金属离子浓度在东亚砂藓中达到  $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、拟垂枝藓达到  $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,已是细胞能够抵抗逆境的极大值,植物自身启动生理反应抵抗外界的伤害,所以脯氨酸含量急剧上升。当金属离子浓度进一步增大时脯氨酸含量急剧下降,低于对照,表明细胞已遭到严重破坏,无法修复。本研究与刘登义等<sup>[28]</sup>的研究小麦叶片游离脯氨酸含量随尾矿比例的增大而增大不一致,与蔡琪敏<sup>[26]</sup>的研究果灰藓与丛本藓游离脯氨酸含量随铜离子浓度的升高而上升也不相同。具体原因有待进一步研究。

MDA 反映细胞膜脂过氧化程度和植物对逆境条件反应的强弱<sup>[29]</sup>。金属胁迫使得东亚砂藓和拟垂枝藓 MDA 含量增加,表明膜脂过氧化程度加剧,细胞膜透性也逐渐增加,细胞膜透性越大表明细胞内含物流失越严重,对植物的毒害作用就越大。孙守琴等<sup>[30]</sup>研究发现 Pb、Ni 单一及复合胁迫均导致大羽藓 MDA 含量增加。Choudhary M 研究表明<sup>[31]</sup>,随着重金属 Pb 含量的增加,蓝藻植物体内 MDA 过度累积,膜结构受损程度逐步加深。本研究结果与之相同。

目前有关重金属胁迫下植物体内 SOD 的活性变化有两种情况:一是 SOD 活性随重金属浓度的增加而增加<sup>[32]</sup>;二是随着重金属浓度的增加,SOD 活性变化呈先上升后下降的现象<sup>[33]</sup>。本研究的结论与后者相符。本文中 POD 活性先升高后下降,升高的原因可能是由于植物体内金属达到一定浓度时,膜脂过氧化作用增强,东亚砂藓和拟垂枝藓体内过氧化物浓度增加,即 POD 的底物浓度增加,从而使 POD 酶活性上升。当金属

浓度增加到一定程度时则对 POD 造成伤害,因而 POD 活性急剧下降。杨盛昌等<sup>[34]</sup>认为,当  $\text{Cd}^{2+}$  质量浓度大于  $0.5\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,  $\text{Cd}^{2+}$  就会对桐花树幼苗叶片中的 POD 造成伤害,使其活性急剧下降。CAT 活性在一定程度上有所增加,这是由于低浓度重金属胁迫刺激了藓类的酶系统,使其自身的抗性增加所致。但随着重金属胁迫浓度的增加,藓类植物体内产生的大量过氧化物,已经超出了 CAT 酶的消除能力,使细胞受到伤害,致使 CAT 活性下降。东亚砂藓和拟垂枝藓 CAT 活性升高后降低与龚双娇等<sup>[35]</sup>在研究镉对 3 种藓类抗氧化酶活性时得出结论相同;而孙守琴等<sup>[30]</sup>研究发现 Pb、Ni 单一及复合胁迫均导致大羽藓 CAT 活性随胁迫水平的增加而逐渐降低,其原因为金属种类及浓度不同造成的。SOD、CAT、POD 活性随着污染程度的加剧先应激性升高然后降低,东亚砂藓在浓度  $50\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  3 种抗氧化酶出现高峰值,拟垂枝藓在处理为  $30\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  高峰值出现,体现 3 种酶协同作用的同时,也表明在受害较轻的情况下,体内活性氧增多,诱导了抗氧化酶活性升高,在一定程度上减轻了自由基对膜的伤害。而在受害较重的情况下,超过了防御反应的限度,植物体结构破坏,酶活性降低,这时清除活性氧的能力减弱,从而加剧膜脂过氧化程度,最终使膜结构和功能受到破坏,这也是重金属毒害植物的主要原因。

在多种逆境胁迫下,植物体内正常的蛋白质合成会受到抑制,但是往往会有一些被诱导出的新蛋白出现。但当胁迫加重时,细胞结构被破坏,蛋白质合成受阻。本研究中东亚砂藓和拟垂枝藓的表现差异,是由于两种藓对金属污染的反应不同造成的。冯淑利等<sup>[36]</sup>在研究  $\text{Zn}^{2+}$  对小麦幼苗影响时认为,随着  $\text{Zn}^{2+}$  浓度增加,蛋白质含量呈下降趋势;周楠等<sup>[37]</sup>在研究铝毒胁迫对两种基因型油菜生理特性的影响时发现,在高浓度时与对照相比蛋白质含量一个上升,另一个下降。所以蛋白质含量在金属胁迫下的反应随品种的不同而有差异。

随着金属离子浓度增大,东亚砂藓和拟垂枝藓的叶绿素含量呈抑制效应,与孙健等<sup>[38]</sup>用 Cd、Pb、Cu、Zn、As 几种重金属处理玉米的结果一致。研究表明<sup>[39]</sup>,重金属胁迫能显著降低植物叶绿素含量,呈现出极显著的负相关关系。随着重金属浓度的增加,叶绿素含量降低,表明东亚砂藓和拟垂枝藓光合作用系统受到不可修复的破坏。胁迫引起细胞膜结构发生改变,叶绿体的完整结构遭到破坏,导致叶绿素含量减少<sup>[40]</sup>。也可能是金属离子的积累抑制了 Chl 酸酯还原酶和氨基-r-戊酮酸的合成,从而影响了 Chl 的生物合成<sup>[41]</sup>,或是金属离子与这些酶的巯基结合<sup>[42]</sup>,改变了酶的构象而使酶失活,继而导致 Chl 含量下降。

金属的复合污染影响了植物的生理活性,原因在于:金属的复合污染通过改变与代谢污染物有关的酶的活性,干扰生物体的正常生理活动和改变有关生理生化过程而发生相互作用,进一步改变细胞结构与功能,甚至干扰生物大分子的结构与功能,使细胞遭到破坏,甚至死亡。

通过对东亚砂藓和拟垂枝藓游离脯氨酸含量、丙二醛含量、SOD 活性、POD 活性、CAT 活性、可溶性蛋白含量和叶绿素含量的研究,可以认为拟垂枝藓的生理变化更加明显,更适合从生理方面检测金属污染作为环境指示物。

## References:

- [ 1 ] Liao J F. The environmental capacity of copper, zinc, nickel in agricultural in Nanhai Guangdong. *Soil and Environmental Sciences*, 1999, 8 (1): 15-18.
- [ 2 ] Marschner H. *Mineral Nutrition of Higher Plants*(2<sup>nd</sup>ed). London: Academic Press, 1995: 333-347.
- [ 3 ] He L L, Jiao Y M, Wang L H, Zhou H B. Advance in study of Pb, Zn, Cu and Cd hyperaccumulators. *Environmental Science and Technology*, 2009, 32 (11): 120-123.
- [ 4 ] Zheng Z H, Zhou P J, Wu Z B. New advance in research of combined pollution. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2001, 12(3): 469-473.
- [ 5 ] Szczepaniak K, Biziuk M. Aspects of the biomonitoring studies using mosses and lichens as indicator of metal pollution. *Environmental Research*, 2003, 93(3): 221-230.
- [ 6 ] Onianwa P C. Monitoring atmospheric metal pollution: a review of the use of mosses as indicators. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2001, 71: 13-50.
- [ 7 ] Lee S L, Li X D, Zhang G, Peng X Z, Zhang L. Biomonitoring of trace metals in the atmosphere using moss (*Hypnum plumaeforme*) in the Nanling Mountains and the Pearl River Delta, Southern China. *Atmospheric Environment*, 2005, 39: 397-407.

- [ 8 ] Fernández J A, Aboal J R, Real C, Carballeira A. A new moss biomonitoring method for detecting sources of small scale pollution. *Atmospheric Environment*, 2007, 41: 2098-2110.
- [ 9 ] Li X J, Cao T, Gao Q, Zhang D C, Wu Y H. *Flora Bryophytorum Sinicorum* (vol.3). Beijing: Science Press, 2000: 54-57.
- [ 10 ] Wu P C, Jia Y (Redactors Principalis). *Flora Bryophytorum Sinicorum* (vol.8). Beijing: Science Press, 2004: 327-328.
- [ 11 ] Panda S K, Choudhury S. Changes in nitrate reductase activity and oxidative stress response in the moss *polytrichum commune* subjected to chromium, copper and zinc phytotoxicity. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 2005, 17: 191-197.
- [ 12 ] Choudhury S, Panda S K. Induction of oxidative stress and ultrastructural changes in moss *Taxithelium nepalense*(Schwaegr.) broth. under lead and arsenic phytotoxicity. *Current Science*, 2004, 87: 342-348.
- [ 13 ] Brown D H, Wells J M. Physiological effects of heavy metals on the moss *Rhytidiadelphus squarrosus*. *Annals of Botany*, 1990, 6: 641-647.
- [ 14 ] Wei H Y, Fang Y M, Yin Z F. Effects of  $Pb^{2+}$  and  $Cd^{2+}$  pollution on physiological characteristics of *Thuidium cymbifolium*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(5): 982-984.
- [ 15 ] Wei H Y, Fang Y M, Ying Z F. Effects of Pb, Cd single and joint pollution on some physiological characters of *hypnum revolutum*. *Guhaia Plant*, 2003, 23(1): 69-72.
- [ 16 ] Yi Y J, Li F B, Liu J Y. Physiological response of chlorophyll fluorescence in moss *Plagiomnium cuspidatum* to mixture heavy metal solution. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(11): 5437-5444.
- [ 17 ] Wang J Y, Ao H, Zhang J, Qu G Q. *Introduction to the Technique and Principle Plant Physiology and Biochemistry Laboratory*. Harbin: Northeast Forestry University Press, 2003: 133-135.
- [ 18 ] Li H S, Sun Q, Zhao S J, Zhang W H. *Theory and Technique of Plant Physiological and Biochemical Experiments*. Beijing: High Education Press, 2000.
- [ 19 ] Zhang X Z. *Methodology of Crop Physiology*. Beijing: Agriculture Press, 1992: 156-157.
- [ 20 ] Zhang X Z. *Experimental Technology on Plant Physiology*. Shenyang: Liaoning Science and Technology Press, 1989: 75-77.
- [ 21 ] Xiao M X, Lin W X, Chen D M, Liang K J, Ke Q M. Effects of Cd on the cell membrane lipid peroxidation and activity of protecting enzymes in seedlings of rice with different tolerance to Cd pollutant. *Chinese Journal of Ecology Agriculture*, 2006, 16(4): 256-258.
- [ 22 ] Liu J X, Zhao G L, Wang Y M. Effects of Cd and Zn combined stress on membrane lipid peroxidation and antioxidant enzyme system of maize seedlings. *Journal of Agro-Environmental Science*, 2006, 25(1): 54-58.
- [ 23 ] Sreenivasulu N, Grimm B, Wobus U, Weschke W. Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedlings of foxtail millet(*Setaria italica*). *Physiologia Plantarum*, 2000, 109: 435-442.
- [ 24 ] Strasser B J, Strasser R J. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions; The JIP test//Mathis P ed. *Photosynthesis: From Light to Biosphere*. Dordrecht: KAP Press, 1995, 5: 977-980.
- [ 25 ] Lichtenthaler H K, Miesche J A. Fluorescence imaging as a diagnostic tool for plant stress. *Trends Plant Science*, 1997, 2: 316-320.
- [ 26 ] Cai Q M, Chen J, Zhang Z X, Gu Y H, Liu P. Influence of copper stress on physiological and biochemical characteristics of bryophytes. *Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology*, 2008, 28(6): 24-27.
- [ 27 ] Smimoff N. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist*, 1993, 125(1): 27-58.
- [ 28 ] Liu D Y, Xie J C, Yang S Y. Effects of copper mine tailings on growth and development and physiological function wheat. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2001, 12(1): 126-128.
- [ 29 ] Kanazawa S, Sano S, Koshiba T, Ushimaru T. Changes in antioxidative enzymes in cucumber cotyledons during natural senescence; comparison with those during dark-induced senescence. *Physiologia Plantarum*, 2000, 109: 211-216.
- [ 30 ] Sun S Q, He M, Cao T, Cheng S, Song H T. Effects of Pb and Ni stress on antioxidant enzyme system of *Thuidium cymbifolium*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, 20(4): 937-942.
- [ 31 ] Choudhary M, Jetley U K, Khan M, Zutshi S, Fatma T. Effect of heavy metal stress on proline, malondialdehyde, and superoxide dismutase activity in the *Cyanobacterium spirulina platensis*-S5. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, 66: 204-209.
- [ 32 ] Cakmak I, Horst W J. Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tips of soybean. *Physiologia Plantarum*, 1991, 83: 463-468.
- [ 33 ] Yan C L, Hong Y T, Fu S Z, Fang C H, Lei J X, Shen Q. Effect of Cd, Pb stress on scavenging system of activated oxygen in leaves of tobacco. *Acta Ecologica Sinica*, 1997, 17(5): 488-492.
- [ 34 ] Yang S C, Wu Q. Effect of Cd on growth and physiological characteristics of *Aegiceras constrictatum* seedlings. *Marine Environmental Science*, 2003, 22(1): 38-42.
- [ 35 ] Gong S J, Ma T W, Jiang Y F, Chen J, Liu Y D, Li J. Antioxidant enzyme activities induced by cadmium stress in three species of mosses. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2008, 28(9): 1765-1771.

- [36] Feng S L, Shao Y, Liu Y, Jiang L N, Lu X Y, Hou X L, Li C X. Effects of  $Zn^{2+}$  stress on physiological activity of wheat seedlings. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(1): 140-145.
- [37] Zhou N, Wei D P, Liu P, Cai M Z, Xu G D, Li Z G, Liang H. Effects of aluminum stress on the morphological and physiological characteristics in roots of two genotype rape seedlings. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2008, 30(4): 443-449.
- [38] Sun J, Tie B Q, Qian Z, Yang S W, Mao X Q, Zhao T. The effect of compound heavy metal on seedling growth of *Zea mays* and *Sorghum vulgare*. *Journal of Mountain Agriculture and Biology*, 2005, 24(6): 514-521.
- [39] Hu J Z, Shi G X, Wang X, Xu Q S, Ma G Y, Wang C T. Physiological effect of cadmium on *Salvinia natans* and comparison of the detoxication of exogenous lanthanum and calcium against it. *Guihaia Plant*, 2005, 25(2): 156-160.
- [40] Xu Q S, Shi G X, Du K H, Zhang X L, Zeng X M. Toxic effect of  $Cd^{2+}$  treatment on protective enzyme activity and ultrastructure in leaf cells *Potamogeton crispus*. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2003, 27(6): 584-589.
- [41] Stobart A K, Griffiths W T, Ameen-Bukhari I, Sherwood R. The effects of  $Cd^{2+}$  on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley. *Physiologia Plantarum*, 1985, 63: 293-298.
- [42] Somashekaraiah B V, Padmaja K, Prasad A R K. Phytotoxicity of cadmium ions on germination seedlings of mung bean (*Phaseolus vulgaris*): Involvement of lipid peroxides in chlorophyll degradation. *Physiologia Plantarum*, 1992, 85: 85-89.

#### 参考文献:

- [1] 廖金凤. 广东省南海市农业土壤中铜锌镍的环境容量. *土壤与环境*, 1998, 8(1): 15-18.
- [3] 何兰兰, 角媛梅, 王李鸿, 周鸿斌. Pb、Zn、Cu、Cd 的超富集植物研究进展. *环境科学与技术*, 2009, 32(11): 120-123.
- [4] 郑振华, 周培疆, 吴振斌. 复合污染研究的新进展. *应用生态学报*, 2001, 2(3): 469-473.
- [9] 黎兴江, 曹同, 高谦, 张大成, 吴玉环. 中国苔藓志(第三卷). 北京: 科学出版社, 2000: 54-57.
- [10] 吴鹏程, 贾渝(主编). 中国苔藓志(第八卷). 北京: 科学出版社, 2004: 327-328.
- [14] 魏海英, 方炎明, 尹增芳. 铅和镉污染对大羽藓生理特性的影响. *应用生态学报*, 2005, 6(5): 982-984.
- [15] 魏海英, 方炎明, 尹增芳. Pb、Cd 单一及复合污染对弯叶灰藓某些生理特性的影响. *广西植物*, 2003, 3(1): 69-72.
- [16] 衣艳君, 李芳柏, 刘家尧. 尖叶走灯藓 (*Plagiomnium cuspidatum*) 叶绿素荧光对复合重金属胁迫的响应. *生态学报*, 2008, 28(11): 5437-5444.
- [17] 王晶英, 敖红, 张杰, 曲桂琴. 植物生理生化实验技术与原理. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2003: 133-135.
- [18] 李合生, 孙群, 赵世杰, 章文华. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [19] 张宪政. 作物生理研究法. 北京: 农业出版社, 1992: 156-157.
- [20] 张宪政. 植物生理学实验技术. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1989: 75-77.
- [21] 肖美秀, 林文雄, 陈冬梅, 梁康廷, 柯庆明. 镉胁迫对耐性不同的水稻幼苗膜脂过氧化和保护酶活性的影响. *中国生态农业学报*, 2006, 16(4): 256-258.
- [22] 刘建新, 赵国林, 王毅民. Cd Zn 复合胁迫对玉米幼苗膜脂过氧化和抗氧化酶系统的影响. *农业环境科学学报*, 2006, 25(1): 54-58.
- [26] 蔡琪敏, 陈洁, 张志祥, 顾艳红, 刘鹏. 铜胁迫对两种苔藓植物生理生化的影响. *浙江林业科技*, 2008, 28(6): 24-27.
- [28] 刘登义, 谢建春, 杨世勇. 铜尾矿对小麦生长发育和生理功能的影响. *应用生态学报*, 2001, 12(1): 126-128.
- [30] 孙守琴, 何明, 曹同, 程颂, 宋宏涛. Pb、Ni 胁迫对大羽藓抗氧化酶系统的影响. *应用生态学报*, 2009, 20(4): 937-942.
- [33] 严重玲, 洪业汤, 付舜珍, 方重华, 雷基详, 沈琴. Cd、Pb 胁迫对烟草叶片中活性氧清除系统的影响. *生态学报*, 1997, 17(5): 488-492.
- [34] 杨盛昌, 吴琦. Cd 对桐花树幼苗生长及某些生理特性的影响. *海洋环境科学*, 2003, 22(1): 38-42.
- [35] 龚双娇, 马陶武, 姜业芳, 陈军, 刘应迪, 李箐. 镉胁迫下三种藓类植物抗氧化酶活性变化的比较研究. *西北植物学报*, 2008, 28(9): 1765-1771.
- [36] 冯淑利, 邵云, 刘洋, 姜丽娜, 鲁旭阳, 侯小丽, 李春喜.  $Zn^{2+}$  胁迫对小麦幼苗生理活性影响的研究. *农业环境科学学报*, 2007, 26(1): 140-145.
- [37] 周楠, 韦冬萍, 刘鹏, 蔡妙珍, 徐根娣, 李志刚, 梁和. 铝毒胁迫对两种基因型油菜苗期根系形态及生理特性的影响. *中国油料作物学报*, 2008, 30(4): 443-449.
- [38] 孙健, 铁柏清, 钱湛, 杨余伟, 毛晓茜, 赵婷. 复合重金属胁迫对玉米和高粱成苗过程的影响. *山地农业生物学报*, 2005, 24(6): 514-521.
- [39] 胡金朝, 施国新, 王学, 徐勤松, 马广岳, 王春涛. Cd 对槐叶苹的生理影响及外源 La、Ca 的缓解效应比较. *广西植物*, 2005, 25(2): 156-160.
- [40] 徐勤松, 施国新, 杜开和, 张小兰, 曾晓敏.  $Cd^{2+}$  处理对菹草叶片保护酶活性和细胞超微结构毒害影响. *水生生物学报*, 2003, 27(6): 584-589.