

镉和萘单一及复合胁迫对红树植物白骨壤幼苗生理影响的差异分析

陆志强¹, 陈昌徐², 马 丽³, 章耕耘¹, 郑文教^{2,①}

(1. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021; 2. 厦门大学环境与生态学院, 福建 厦门 361102;

3. 国家海洋局第三海洋研究所, 福建 厦门 361005)

摘要: 采用砂基培养法, 对不同浓度镉(Cd) (0, 25 和 150 mg · L⁻¹) 和萘(Nap) (0 和 10 mg · L⁻¹) 单一及复合胁迫 45 和 90 d 后红树植物白骨壤 [*Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.] 的叶片叶绿素含量, 根尖和叶片的 MDA、AsA 和可溶性蛋白质含量及 SOD 和 POD 活性, 根、茎、子叶和叶片中的 Cd 含量进行了比较分析。结果表明: 胁迫处理 45 d 时, Cd-Nap 复合胁迫处理组的叶片叶绿素 a 含量、根尖和叶片的可溶性蛋白质含量及 SOD 和 POD 活性大多显著高于相同浓度 Cd 单一胁迫处理组, 叶片叶绿素 b 含量显著低于后者, Chla/Chlb 值显著高于后者。胁迫处理 90 d 时, 与相同浓度 Cd 单一胁迫处理组相比, Cd-Nap 复合胁迫处理组叶片的叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量以及 Chla/Chlb 值, 根尖和叶片的 MDA 和 AsA 含量总体上无显著差异, 而根尖和叶片的可溶性蛋白质含量和 POD 活性及根尖的 SOD 活性均显著提高。经 Cd-Nap 复合胁迫处理后白骨壤幼苗的根、茎、子叶和叶片中的 Cd 含量总体上高于相同浓度 Cd 单一胁迫处理组, 且随胁迫时间延长其差异越来越明显。研究结果显示: 在 Cd-Nap 复合胁迫条件下 Cd 和 Nap 具有协同作用, 随胁迫时间延长和 Cd 浓度提高, Cd-Nap 复合胁迫对白骨壤幼苗的伤害逐渐增强, 并能够促进各器官对 Cd 的累积。

关键词: 红树植物; 白骨壤; 镉; 萘; 复合胁迫; 生理指标

中图分类号: Q945.78; S793.9; X53 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2015)03-0060-08

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2015.03.08

Difference analysis on effects of single and combination stresses of Cd and Nap on physiology of mangrove *Avicennia marina* seedlings LU Zhiqiang¹, CHEN Changxu², MA Li³, ZHANG Gengyun¹, ZHENG Wenjiao^{2,①} (1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. College of Environment and Ecology, Xiamen University, Xiamen 361102, China; 3. The Third Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, Xiamen 361005, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2015, 24(3): 60-67

Abstract: Chlorophyll content in leaf, MDA, AsA, soluble protein contents and SOD and POD activities in root tip and stem, Cd content in root, stem, cotyledon and leaf of mangrove *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. of different treatment groups after single and combination stressed for 45 and 90 d with different concentrations of cadmium (Cd) (including 0, 25 and 150 mg · L⁻¹) and naphthalene (Nap) (including 0 and 10 mg · L⁻¹) were comparatively analyzed by sand culture method. The results show that when stressed for 45 d, Chla content in leaf, soluble protein content and SOD and POD activities in root tip and leaf of Cd-Nap combination stress treatment group are mostly significantly higher than those of single stress treatment group with the same concentration of Cd, Chlb content in leaf is significantly lower than that of the latter, and Chla/Chlb ratio is significantly higher than that of the latter. When stressed for 90 d, compared with single stress treatment group with the same concentration of Cd, there are generally no significant differences in Chla, Chlb and total chlorophyll contents and Chla/Chlb ratio of

收稿日期: 2015-01-20

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目(2010J05098); 国家海洋局海洋环境保护司 2013 年业务性科研课题(HD130701)

作者简介: 陆志强(1977—), 男, 安徽池州人, 博士, 副教授, 主要从事环境生态学方面的研究。

① 通信作者 E-mail: zhengwenjiao2008@sina.com

leaf, MDA and AsA contents in root tip and leaf of Cd-Nap combination stress treatment group, while soluble protein content and POD activity in root tip and leaf and SOD activity in root tip are all increased significantly. After treated by Cd-Nap combination stress, Cd content in root, stem, cotyledon and leaf of *A. marina* seedlings is generally higher than that of single stress treatment group with the same concentration of Cd, and their differences are more and more obvious with prolonging of stress time. It is suggested that under condition of Cd-Nap combination stress, Cd and Nap have a synergistic effect, with prolonging of stress time and increasing of Cd concentration, damage of Cd-Nap combination stress to *A. marina* seedlings enhances gradually and Cd-Nap combination stress can promote the accumulation of Cd in different organs.

Key words: mangrove; *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.; Cd; Nap; combination stress; physiological index

红树林是分布于热带和亚热带潮间带中的重要生态系统,在防风护堤、维持沿海生态系统平衡和物种多样性方面具有重要作用^[1-2]。白骨壤(*Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.)是中国常见的红树植物之一,为红树林群落的先锋树种和重要树种。由于红树林湿地的环境条件特殊,加之具有生产力高,富含有机碳、硫化物和腐殖质等特性,红树林湿地已经成为陆地和海域环境污染物的主要汇集地^[3-5]。

重金属和有机物[如多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)]污染普遍存在于各种环境介质中,发生重金属污染的地区通常也会受到不同类型有机污染物的侵害^[3],镉(Cd)和萘(Nap)分别是重金属污染和多环芳烃污染的典型污染物。虽然Cd并不是植物生长发育的必需元素,但却极易被植物吸收和富集,较低浓度的Cd即会在基因、生化以及生理水平上对植物的新陈代谢产生非常不利的影响^[2],使植物生长发育受限,甚至导致植物死亡。PAHs是一类广泛存在于环境中的持久性有毒污染物^[6-7],具有较强的致癌、致畸、致突变以及生物蓄积特性^[8-9],低分子量PAHs对植物的毒害作用强于高分子量PAHs^[10];在16种优控PAHs中,Nap的分子量最低且水溶性较强。因此,Nap不但对植物具有很强的毒害作用,而且还很容易被植物根部吸收,强烈抑制植物生长^[11]。

目前,有关重金属或PAHs胁迫对红树植物的影响已有较多研究,但这些研究多为单一污染因子胁迫,而实际上在生态系统中植物接触的污染环境多包含复合污染物,复合污染物的作用机制比较复杂,无法用单一污染物的作用机制进行解释^[12],因此,开展重金属和PAHs复合胁迫条件下红树植物生长发育的相关研究,对系统研究复合污染对红树植物的生态效应具有重要意义。

在石油污染、水淹、盐胁迫等逆境条件下,红树植

物的生长通常伴随着叶绿素含量、抗氧化酶促系统及非酶促系统等方面的变化^[13-16]。鉴于此,作者对Cd和Nap单一及复合胁迫条件下红树植物白骨壤幼苗叶片的叶绿素含量,根尖和叶片的MDA、AsA和可溶性蛋白质含量及SOD和POD活性进行了比较分析,并比较了白骨壤不同部位的Cd含量,以期明确Cd-Nap复合胁迫条件下白骨壤各器官中Cd的累积效应,为科学预测和评价重金属和PAHs复合污染对红树林的生态效应提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

成熟白骨壤种苗(成熟胚轴)采自福建省九龙江口红树林自然保护区海门岛的白骨壤林,挑选无病虫害、大小一致且成熟度相近的种苗进行胁迫实验。实验用CdCl₂·2.5H₂O和Nap均为分析纯级,分别购自国药集团有限公司和美国Sigma-Aldrich公司。

1.2 方法

1.2.1 胁迫及培养方法 实验共设置6个处理组,分别为0 mg·L⁻¹Cd-0 mg·L⁻¹Nap(CK)、0 mg·L⁻¹Cd-10 mg·L⁻¹Nap、25 mg·L⁻¹Cd-0 mg·L⁻¹Nap、25 mg·L⁻¹Cd-10 mg·L⁻¹Nap、150 mg·L⁻¹Cd-0 mg·L⁻¹Nap和150 mg·L⁻¹Cd-10 mg·L⁻¹Nap;采用盐度为15的人工海水以及CdCl₂·2.5H₂O和Nap固体配制相应浓度的处理液,处理液酸碱度为pH 7~pH 8。

栽培用砂基经清洗及消毒后等量分装于直径30 cm、高15 cm培养盆中,每盆加入1 500 mL上述处理液,使液面刚好没过砂基表面;每盆栽植12~14株幼苗,每盆视为1次重复,每处理3盆,共40株苗。将幼苗置于自然透光的玻璃温室中培养90 d,昼、夜平

均温度分别为 24 ℃ 和 16 ℃, 昼、夜平均空气相对湿度分别为 47% 和 76%; 实验期间每 7 天更换 1 次相应浓度的处理液, 每天用自来水补足散失的水分。

1.2.2 样品采集及指标测定方法 在胁迫处理的第 45 天和第 90 天分别随机选取部分植株, 收集每株顶芽下的第 2 对叶片以及根尖(长度约 1 cm), 用于叶片的叶绿素含量以及叶片和根尖的 MDA、AsA 和可溶性蛋白质含量及 SOD 和 POD 活性测定; 同时, 将植株分成根、茎、子叶和叶片 4 部分, 经 105 ℃ 杀青 15 min 后, 置于 80 ℃ 条件下烘干至恒质量, 研磨后过 100 目筛, 备用。由于胁迫处理第 90 d 时 150 mg · L⁻¹ Cd-0 mg · L⁻¹ Nap 和 150 mg · L⁻¹ Cd-10 mg · L⁻¹ Nap 处理组的植株均全部死亡, 故未采集相应的样品。

将叶片去中脉后剪碎, 称取约 100 mg 样品, 采用混合液法^[17]测定叶绿素含量。分别称取约 500 mg 叶片和根尖, 采用硫代巴比妥酸(TBA)显色法^[18]测定 MDA 含量; 参考 Dutilleul 等^[19]的方法测定 AsA 含量; 采用考马斯亮蓝法^[20]测定可溶性蛋白质含量; 采用氮蓝四唑(NBT)还原法^[21]测定 SOD 活性(以抑制 50% NBT 光化学还原为 1 个酶活性单位); 采用愈

创木酚法^[22]测定 POD 活性(以 1 min 内反应液在 470 nm 处吸光值增加 0.01 为 1 个酶活性单位)。将根、茎、子叶和叶片的干样经箱式电阻炉干灰化后, 用优级纯硝酸溶解灰分并定容, 采用 PE 9000 电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS, 美国 PE 公司)测定 Cd 含量。由于采样量的限制, 仅对胁迫处理 90 d 的根尖和叶片样品中的 MDA 和 AsA 含量进行了测定。每个指标重复测定 3 次。

1.3 数据统计及分析

采用 SPSS 20.0 统计分析软件对各处理组数据间的差异显著性进行 LSD-t 检验, 并对各变量之间的相关性进行 Pearson 相关性分析。

2 结果和分析

2.1 Cd 和 Nap 单一及复合胁迫对白骨壤幼苗部分生理指标的影响

2.1.1 对叶片中叶绿素含量的影响 Cd 和 Nap 单一及复合胁迫 45 和 90 d 后白骨壤幼苗叶片叶绿素含量的变化见表 1。

表 1 Cd 和 Nap 单一及复合胁迫对白骨壤幼苗叶片中叶绿素含量的影响($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 1 Effects of single and combination stresses of Cd and Nap on chlorophyll content in leaf of *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. seedlings ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

处理时间/d Treatment time	Cd 浓度/mg · L ⁻¹ Conc. of Cd	Nap 浓度/mg · L ⁻¹ Conc. of Nap	叶绿素含量/mg · g ⁻¹ Chlorophyll content			Chla/Chlb
			Chla	Chlb	总计 Total	
45	0	0	0.53±0.02b	0.27±0.01a	0.80±0.02b	1.94±0.01b
	0	10	0.60±0.05a	0.19±0.02c	0.78±0.06b	3.18±0.26a
	25	0	0.58±0.02a	0.30±0.01a	0.87±0.03a	1.96±0.01b
	25	10	0.60±0.03a	0.19±0.01c	0.78±0.02b	3.22±0.31a
	150	0	0.44±0.02c	0.22±0.01b	0.66±0.03c	2.00±0.01b
	150	10	0.52±0.03b	0.17±0.02c	0.69±0.05c	3.19±0.29a
90	0	0	0.40±0.03ab	0.13±0.02a	0.53±0.05a	3.11±0.20b
	0	10	0.41±0.02a	0.10±0.01b	0.50±0.02ab	4.15±0.14a
	25	0	0.34±0.03b	0.09±0.01b	0.43±0.04b	3.88±0.12a
	25	10	0.34±0.04b	0.09±0.02b	0.43±0.06b	3.81±0.43a
	150	0	#	#	#	#
	150	10	#	#	#	#

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示同一处理时间各处理组间差异显著($P < 0.05$) Different small letters in the same column indicate the significant difference among different treatment groups at the same treatment time ($P < 0.05$). #: 植株死亡 Plant death.

由表 1 可以看出: 胁迫处理 45 d, 0 mg · L⁻¹ Cd-10 mg · L⁻¹ Nap 处理组幼苗的叶绿素 a 含量显著高于对照(0 mg · L⁻¹ Cd-0 mg · L⁻¹ Nap) ($P < 0.05$), 而叶绿素 b 含量则显著低于对照, 但它们的总叶绿素含量差异不显著。Cd 和 Nap 复合胁迫处理组幼苗的叶

绿素 a 含量均高于相同浓度 Cd 单一胁迫处理组, 而其叶绿素 b 含量均低于相同浓度 Cd 单一胁迫处理组, 如 150 mg · L⁻¹ Cd-10 mg · L⁻¹ Nap 处理组的叶绿素 a 含量显著高于 150 mg · L⁻¹ Cd-0 mg · L⁻¹ Nap 处理组, 而叶绿素 b 含量则显著低于 150 mg · L⁻¹ Cd-

0 mg · L⁻¹ Nap 处理组。25 mg · L⁻¹ Cd-10 mg · L⁻¹ Nap 处理组的总叶绿素含量显著低于 25 mg · L⁻¹ Cd-0 mg · L⁻¹ Nap 处理组,150 mg · L⁻¹ Cd-10 mg · L⁻¹ Nap 处理组与 150 mg · L⁻¹ Cd-0 mg · L⁻¹ Nap 处理组间的总叶绿素含量差异不显著 ($P>0.05$)。此外,对 Chla/Chlb 值的分析结果显示:Cd 单一胁迫处理组的 Chla/Chlb 值与对照接近,而 Cd-Nap 复合胁迫处理组的 Chla/Chlb 值则与 Nap 单一胁迫处理组接近,且 Cd-Nap 复合胁迫处理组的 Chla/Chlb 值均显著高于相同浓度 Cd 单一胁迫处理组。总体上看,150 mg · L⁻¹ Cd 单一或复合胁迫处理组的叶绿素 *a*、叶绿素 *b* 和总叶绿素含量均低于对照且大多差异显著。

由表1还可以看出:胁迫处理 90 d,0 mg · L⁻¹ Cd-10 mg · L⁻¹ Nap 处理组叶绿素 *a* 含量略高于对照且差异不显著,叶绿素 *b* 含量显著低于对照,总叶绿素含量略低于对照且差异不显著,Chla/Chlb 值显著高于对照;而 25 mg · L⁻¹ Cd-10 mg · L⁻¹ Nap 处理组与 25 mg · L⁻¹ Cd-0 mg · L⁻¹ Nap 处理组的叶绿素 *a*、叶绿素 *b* 及总叶绿素含量一致且均低于对照,前者的 Chla/Chlb 值略低于后者且差异不显著,但二者的 Chla/Chlb 值均显著高于对照。总体上看,随胁迫时

间延长,白骨壤幼苗叶片中的叶绿素 *a*、叶绿素 *b* 和总叶绿素含量均明显下降,但 Chla/Chlb 值却明显升高。
2.1.2 对根尖和叶片中 MDA 和 AsA 含量的影响
Cd 和 Nap 单一及复合胁迫 90 d 后白骨壤幼苗根尖和叶片中 MDA 和 AsA 含量的变化见表 2。

由表2可见:胁迫处理 90 d,25 mg · L⁻¹ Cd-10 mg · L⁻¹ Nap 处理组幼苗根尖和叶片的 MDA 含量与 25 mg · L⁻¹ Cd-0 mg · L⁻¹ Nap 处理组无显著差异 ($P>0.05$),但却显著低于 0 mg · L⁻¹ Cd-10 mg · L⁻¹ Nap 处理组 ($P<0.05$);25 mg · L⁻¹ Cd-10 mg · L⁻¹ Nap 处理组根尖和叶片的 AsA 含量与 25 mg · L⁻¹ Cd-0 mg · L⁻¹ Nap 处理组间也无显著差异,但与 0 mg · L⁻¹ Cd-10 mg · L⁻¹ Nap 处理组差异显著 ($P<0.05$),其中,根尖 AsA 含量较后者降低 58.6%,叶片中 AsA 含量则升高 6.5%。总体上看,10 mg · L⁻¹ Nap 单一处理组的根尖和叶片的 MDA 和 AsA 含量均显著高于对照,而 25 mg · L⁻¹ Cd 单一胁迫处理组及 25 mg · L⁻¹ Cd-10 mg · L⁻¹ Nap 复合胁迫处理组的根尖 MDA 含量与对照无显著差异,但叶片的 MDA 含量显著低于对照,根尖和叶片的 AsA 含量均显著高于对照。

表 2 Cd 和 Nap 单一及复合胁迫 90 d 对白骨壤幼苗根尖和叶片中 MDA 和 AsA 含量的影响 ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

Table 2 Effects of single and combination stresses of Cd and Nap for 90 d on MDA and AsA contents in root tip and leaf of *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. seedlings ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

Cd 浓度/mg · L ⁻¹ Conc. of Cd	Nap 浓度/mg · L ⁻¹ Conc. of Nap	不同部位 MDA 含量/nmol · g ⁻¹ MDA content in different parts		不同部位 AsA 含量/mg · g ⁻¹ AsA content in different parts	
		根尖 Root tip	叶片 Leaf	根尖 Root tip	叶片 Leaf
0	0	0.85±0.23b	2.95±0.24b	0.34±0.02c	0.89±0.02c
0	10	4.86±0.32a	3.52±0.10a	1.33±0.05a	0.93±0.01b
25	0	0.36±0.17b	2.30±0.24c	0.55±0.03b	0.98±0.01ab
25	10	1.16±0.84b	2.30±0.17c	0.55±0.01b	0.99±0.00a
150	0	#	#	#	#
150	10	#	#	#	#

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示各处理组间差异显著 ($P<0.05$)。Different small letters in the same column indicate the significant difference among different treatment groups ($P<0.05$). #: 植株死亡 Plant death.

2.1.3 对根尖和叶片中可溶性蛋白质含量的影响
Cd 和 Nap 单一及复合胁迫 45 和 90 d 后白骨壤幼苗根尖和叶片中可溶性蛋白质含量的变化见表 3。

由表3可以看出:胁迫处理 45 d,25 mg · L⁻¹ Cd-10 mg · L⁻¹ Nap 和 150 mg · L⁻¹ Cd-10 mg · L⁻¹ Nap 处理组的根尖和叶片中可溶性蛋白质含量均高于相同浓度的 Cd 单一胁迫处理组,其中,150 mg · L⁻¹ Cd-10 mg · L⁻¹ Nap 处理组的根尖和叶片中可溶性蛋白

质含量均显著高于 150 mg · L⁻¹ Cd-0 mg · L⁻¹ 处理组 ($P<0.05$),分别较后者提高 40.8% 和 15.7%。此外,10 mg · L⁻¹ Nap 单一胁迫处理组的叶片可溶性蛋白质含量高于其他处理组,其根尖可溶性蛋白质含量也较高。总体上看,各处理组的根尖可溶性蛋白质含量均高于对照,而除 150 mg · L⁻¹ Cd 单一胁迫处理组外,其他处理组的叶片可溶性蛋白质含量也均高于对照。

由表3还可以看出:胁迫处理90 d, 25 mg · L⁻¹ - 10 mg · L⁻¹ Nap 处理组根尖和叶片的可溶性蛋白质含量基本上均显著高于 25 mg · L⁻¹ Cd-0 mg · L⁻¹ Nap 处理组,其根尖和叶片的可溶性蛋白质含量分别较 25 mg · L⁻¹ Cd-0 mg · L⁻¹ Nap 处理组提高 19.5%

表3 Cd 和 Nap 单一及复合胁迫对白骨壤幼苗根尖和叶片中可溶性蛋白质含量的影响 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 3 Effects of single and combination stresses of Cd and Nap on soluble protein content in root tip and leaf of *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. seedlings ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

处理时间/d Treatment time	浓度/mg · L ⁻¹ Concentration		不同部位可溶性蛋白质含量/mg · g ⁻¹ Soluble protein content in different parts	
	Cd	Nap	根尖 Root tip	叶片 Leaf
45	0	0	2.00±0.17d	12.52±0.20b
	0	10	4.02±0.24b	14.55±1.00a
	25	0	3.32±0.18c	13.90±0.16a
	25	10	3.73±0.26bc	14.42±0.54a
	150	0	3.55±0.25bc	12.10±0.77b
	150	10	5.00±0.44a	14.00±0.39a
90	0	0	3.30±0.09bc	12.25±0.17b
	0	10	2.95±0.11c	12.77±0.39ab
	25	0	3.43±0.46b	12.26±0.11b
	25	10	4.10±0.05a	13.20±0.47a
	150	0	#	#
	150	10	#	#

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示同一处理时间各处理组间差异显著 ($P < 0.05$) Different small letters in the same column indicate the significant difference among different treatment groups at the same treatment time ($P < 0.05$). #: 植株死亡 Plant death.

和 7.7%。总体上看,各处理组的叶片可溶性蛋白质含量均高于对照;除 10 mg · L⁻¹ Nap 单一胁迫处理组外,其他处理组的根尖可溶性蛋白质含量也均高于对照。

随胁迫时间延长,白骨壤幼苗根尖中的可溶性蛋白质含量均小幅增加,但叶片中的可溶性蛋白质含量却下降。

2.1.4 对根尖和叶片中 SOD 和 POD 活性的影响
Cd 和 Nap 单一及复合胁迫 45 和 90 d 后白骨壤幼苗根尖和叶片中 SOD 和 POD 活性的变化见表 4。

由表 4 可以看出:胁迫处理 45 d, 25 mg · L⁻¹ Cd-10 mg · L⁻¹ Nap 处理组根尖和叶片的 SOD 活性均显著高于 25 mg · L⁻¹ Cd-0 mg · L⁻¹ Nap 处理组 ($P < 0.05$); 150 mg · L⁻¹ Cd-10 mg · L⁻¹ Nap 处理组根尖的 SOD 活性显著高于 150 mg · L⁻¹ Cd-0 mg · L⁻¹ Nap 处理组,而其叶片的 SOD 活性仅略高于后者且二者间差异不显著 ($P > 0.05$)。胁迫处理 90 d, 25 mg · L⁻¹ Cd-10 mg · L⁻¹ Nap 处理组根尖的 SOD 活性仍显著高于 25 mg · L⁻¹ Cd-0 mg · L⁻¹ Nap 处理组,但其叶片的 SOD 活性却显著低于 25 mg · L⁻¹ Cd-0 mg · L⁻¹ Nap 处理组。总体上看,多数处理组根尖和叶片的 SOD 活性高于对照。

由表 4 还可以看出:胁迫处理 45 d, 25 mg · L⁻¹ Cd-10 mg · L⁻¹ Nap 处理组根尖的 POD 活性显著高于 25 mg · L⁻¹ Cd-0 mg · L⁻¹ Nap 处理组,而其叶片

表4 Cd 和 Nap 单一及复合胁迫对白骨壤幼苗根尖和叶片中 SOD 和 POD 活性的影响 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 4 Effects of single and combination stresses of Cd and Nap on SOD and POD activities in root tip and leaf of *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. seedlings ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

处理时间/d Treatment time	Cd 浓度/mg · L ⁻¹ Conc. of Cd	Nap 浓度/mg · L ⁻¹ Conc. of Nap	不同部位 SOD 活性/U · g ⁻¹ SOD activity in different parts		不同部位 POD 活性/U · g ⁻¹ · min ⁻¹ POD activity in different parts	
			根尖 Root tip	叶片 Leaf	根尖 Root tip	叶片 Leaf
45	0	0	46.54±3.24e	192.27±7.38b	94.67±2.47e	210.59±6.25c
	0	10	95.96±0.67b	176.24±5.22c	163.89±15.06d	307.74±10.71a
	25	0	64.54±1.27d	164.75±5.34c	153.44±12.19d	291.93±4.52ab
	25	10	74.14±3.02c	209.03±7.48a	246.87±6.02c	292.65±9.41ab
	150	0	68.49±4.08cd	213.49±13.18a	276.88±5.03b	205.17±13.56c
	150	10	109.15±8.28a	217.24±5.37a	447.51±24.69a	285.69±13.48b
90	0	0	85.73±3.91b	212.73±2.88b	120.05±7.82c	188.07±8.18c
	0	10	78.85±1.89b	217.41±10.64b	116.08±3.25c	208.59±5.82b
	25	0	84.76±8.89b	239.26±6.60a	170.54±11.51b	216.02±12.50b
	25	10	101.30±2.88a	218.48±7.43b	195.77±5.68a	245.65±11.66a
	150	0	#	#	#	#
	150	10	#	#	#	#

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示同一处理时间各处理组间差异显著 ($P < 0.05$) Different small letters in the same column indicate the significant difference among different treatment groups at the same treatment time ($P < 0.05$). #: 植株死亡 Plant death.

的 POD 活性则仅略高于 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}-0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Nap}$ 处理组且二者之间无显著差异; $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}-10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Nap}$ 处理组根尖和叶片的 POD 活性均显著高于 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}-0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Nap}$ 处理组。胁迫处理 90 d, $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}-10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Nap}$ 处理组根尖和叶片的 POD 活性均显著高于 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}-0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Nap}$ 处理组。与对照相比,绝大多数处理组根尖和叶片的 POD 活性均高于对照。

随胁迫时间延长,白骨壤幼苗根尖和叶片的 SOD 活性总体上升高,而根尖和叶片的 POD 活性则总体上降低。

2.2 Cd 和 Nap 单一及复合胁迫对白骨壤幼苗根尖和叶片中 Cd 含量的影响

经不同浓度 Cd 和 Nap 单一及复合胁迫 45 和 90 d 后白骨壤幼苗不同器官(包括根、茎、子叶和叶片)中的 Cd 含量见表 5。

由表 5 可见:胁迫处理 45 d, $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}-10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Nap}$ 和 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}-10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Nap}$ 处理组根中的 Cd 含量均显著高于相同浓度 Cd 单一胁迫处理组($P<0.05$),其中, $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}-10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Nap}$ 处理组根中 Cd 含量较 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}$ 单一胁迫处理组增加 157.9%,而 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}-10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Nap}$ 处理组根中 Cd 含量仅比 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}$ 单一胁迫处理组增加 18.4%。胁迫处理 90 d, $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

$\text{Cd}-10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Nap}$ 处理组根中的 Cd 含量显著高于 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}$ 单一胁迫处理组,增幅为 7.8%。

胁迫处理 45 d, $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}-10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Nap}$ 和 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}-10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Nap}$ 处理组茎中的 Cd 含量均高于相同浓度 Cd 单一胁迫处理组,分别提高 37.2% 和 27.6%。胁迫处理 90 d, $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}-10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Nap}$ 处理组茎中的 Cd 含量显著高于 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}$ 单一胁迫处理组,增幅为 77.4%。

胁迫处理 45 d, $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}-10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Nap}$ 处理组子叶中的 Cd 含量显著高于 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}$ 单一胁迫处理组,增幅为 93.6%;而 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}-10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Nap}$ 处理组子叶中的 Cd 含量较 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}$ 单一胁迫处理组显著降低,降幅为 14.2%。胁迫处理 90 d, $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}-10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Nap}$ 处理组子叶中的 Cd 含量显著高于 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}$ 单一胁迫处理组,增幅达 189.0%。

胁迫处理 45 d, $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}-10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Nap}$ 和 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}-10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Nap}$ 处理组叶片中的 Cd 含量仅略高于相同浓度 Cd 单一胁迫处理组;胁迫处理 90 d, $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}-10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Nap}$ 处理组叶片中的 Cd 含量显著高于 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}-0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Nap}$ 处理组,增幅为 109.6%。

随胁迫时间延长,白骨壤幼苗根、茎、子叶和叶片中的 Cd 含量总体上均明显增加。

表 5 经 Cd 和 Nap 单一及复合胁迫 45 和 90 d 后白骨壤幼苗不同器官的 Cd 含量比较($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 5 Comparison on Cd content in different organs of *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. seedlings after single and combination stresses of Cd and Nap for 45 and 90 d ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

处理时间/d Treatment time	Cd 浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Conc. of Cd	Nap 浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Conc. of Nap	不同器官中的 Cd 含量/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ Cd content in different organs			
			根 Root	茎 Stem	子叶 Cotyledon	叶 Leaf
45	0	0	-	-	-	-
	0	10	-	-	-	-
	25	0	27.22±4.61d	3.82±0.20b	1.57±0.09d	0.95±0.13b
	25	10	70.19±18.61c	5.24±1.33b	3.04±0.38c	0.98±0.22b
	150	0	109.41±5.35b	17.21±0.23a	8.80±0.45a	1.80±0.13a
	150	10	129.53±5.43a	21.96±5.04a	7.55±0.61b	2.07±0.40a
90	0	0	-	-	-	-
	0	10	-	-	-	-
	25	0	91.10±2.97b	3.37±0.26b	10.44±2.43b ²⁾	6.53±0.99b
	25	10	98.21±4.12a	5.98±0.61a	30.17±5.76a ²⁾	13.69±0.90a
	150	0	#	#	#	#
	150	10	#	#	#	#

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示同一处理时间各处理组间差异显著($P<0.05$) Different small letters in the same column indicate the significant difference among different treatment groups at the same treatment time ($P<0.05$). -: 未检出 Undetected; #: 植株死亡 Plant death.

²⁾ 供试样品为凋落的子叶 The sample tested is withered cotyledon.

3 讨论和结论

相关研究结果^[23-24]表明:多环芳烃能够诱导植物分泌脱落酸(ABA),从而导致叶片中的叶绿素含量下降。由本实验结果可以看出:与对照(0 mg · L⁻¹ Cd-0 mg · L⁻¹ Nap)相比,在整个实验过程中 Nap 单一胁迫均能够导致白骨壤幼苗叶片中的叶绿素 *a* 含量提高、叶绿素 *b* 含量降低,总体表现为总叶绿素含量小幅下降但 Chl*a*/Chl*b* 值显著升高,这一研究结果与孙成芬等^[25]和 Tomar 等^[26]的相关研究结果相似,而 Chl*a*/Chl*b* 值升高说明与 PS II 光化学反应效率相关的光捕获量降低^[26-27]。

无论是多环芳烃还是重金属都会对植物细胞造成氧化损伤。本研究中,胁迫处理 90 d, 25 mg · L⁻¹ Cd-10 mg · L⁻¹ Nap 复合胁迫处理组根尖和叶片的 MDA 含量均与 25 mg · L⁻¹ Cd 单一胁迫处理组无显著差异但却显著低于 10 mg · L⁻¹ Nap 单一胁迫处理组,这与 Sun 等^[28]的研究结果明显不同。通常,植物体通过酶促和非酶促 2 种抗氧化系统清除因胁迫产生的过量活性氧(ROS),从而减轻或防止植物细胞的损伤。AsA 是植物体内普遍存在的一种非酶促类抗氧化剂,可以直接清除 O₂⁻、H₂O₂ 和 ·OH 等活性氧自由基。胁迫处理 90 d,各 Cd 和 Nap 单一及复合胁迫处理组白骨壤幼苗根尖和叶片中的 AsA 含量均显著高于对照,说明 Cd 和 Nap 单一及复合胁迫均可诱发白骨壤体内非酶促类抗氧化系统,以减轻胁迫环境的伤害。

在受到重金属胁迫后,植物细胞会产生植物络合素(PC)等重金属结合多肽或蛋白,用于络合进入细胞中的重金属元素,从而降低重金属对植物体的伤害^[29],而可溶性蛋白质含量为衡量重金属胁迫的常用指标之一。与相同浓度 Cd 单一胁迫相比,在 Cd 和 Nap 复合胁迫条件下白骨壤根尖和叶片可溶性蛋白质含量的增幅更大,且这种作用随 Cd 胁迫浓度升高和胁迫时间延长而增强,这一现象是否与重金属胁迫条件下植物细胞产生植物络合素(PC)等重金属结合多肽或蛋白有关,尚待深入研究。

与 Cd 单一胁迫相比,经 Cd 和 Nap 复合胁迫后白骨壤幼苗根尖的 SOD 和 POD 活性均显著升高,多数处理组的叶片 SOD 和 POD 活性也有所升高;其中,叶片 SOD 活性的增幅随 Cd 胁迫浓度升高和胁迫时间

延长而减小,叶片 POD 活性的增幅则随 Cd 胁迫浓度升高和胁迫时间延长而增大。由于胁迫条件下白骨壤叶片的受害程度比根部更严重(另文发表),推测 Cd 和 Nap 复合胁迫条件下,随胁迫浓度的升高和胁迫时间的延长,白骨壤植株受到的过氧化伤害逐渐加重,导致叶片中 SOD 酶的基因表达受到抑制,从而使叶片的 SOD 活性增幅下降,而叶片 POD 活性增幅增大可能与白骨壤叶片启动 POD 有效防御过氧化伤害的阈值较高有关^[5]。

与 Cd 单一胁迫相比,Cd 和芘(Pyr)复合胁迫能够显著提高秋茄树(*Kandelia obovata* Sheue, H. Y. Liu et J. Yong)根部的 Cd 含量^[3];低浓度的 Cd 和 PAHs 复合胁迫也能够促使灯芯草属(*Juncus* Linn.)植物 *J. subsecundus* N. A. Wakef. 各器官累积更多的 Cd 元素^[30]。本研究中,在 Cd 和 Nap 复合胁迫条件下白骨壤各器官中的 Cd 含量基本上都高于相同浓度 Cd 单一胁迫处理组,且胁迫时间越长、Cd 含量越高,说明 Nap 能够提高白骨壤幼苗根、茎、子叶及叶片对 Cd 的累积能力且这种效应随时间延长而增强。Wang 等^[3]认为,PAHs 能抑制植物根尖质外体屏障的形成,导致根尖质粒体和质外体中 Cd 浓度上升,从而使植物对 Cd 的吸收量增加。然而,作者对秋茄树^[31]的相关研究结果表明 Nap 能够增加植物的细胞膜透性,据此推测在 Cd 和 Nap 复合胁迫条件下,由于 Nap 不需要任何载体就能够直接渗透进入根部细胞中并使根部细胞膜透性增大,致使 Cd 能大量进入细胞中^[32],由此导致白骨壤各器官中 Cd 的含量上升。但 Cd 和 Nap 复合胁迫的具体作用机制尚待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 林 鹏. 红树林[M]. 北京: 海洋出版社, 1984: 297-316.
- [2] XIE X, WEISS D J, WENG B, et al. The short-term effect of cadmium on low molecular weight organic acid and amino acid exudation from mangrove (*Kandelia obovata* (S., L.) Yong) roots [J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2013, 20(2): 997-1008.
- [3] WANG W Y, ZHANG X F, HUANG J, et al. Interactive effects of cadmium and pyrene on contaminant removal from co-contaminated sediment planted with mangrove *Kandelia obovata* (S., L.) Yong seedlings[J]. Marine Pollution Bulletin, 2014, 84 (1/2): 306-313.
- [4] LU Z Q, ZHENG W J, MA L. Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in roots of three mangrove species in Jiulong River Estuary[J]. Journal of Environmental Sciences, 2005, 17 (2): 285-289.

- [5] 孙娟,郑文教,赵胡. 萘胁迫对白骨壤种苗萌生及抗氧化作用的影响[J]. 厦门大学学报:自然科学版, 2005, 44(3): 433-436.
- [6] CHRISTENSEN E R, ARORA S. Source apportionment of PAHs in sediments using factor analysis by time records: application to Lake Michigan, USA[J]. Water Research, 2007, 41(1): 168-176.
- [7] TSANG H L, WU S, LEUNG C K M, et al. Body burden of POPs of Hong Kong residents, based on human milk, maternal and cord serum[J]. Environment International, 2011, 37(1): 142-151.
- [8] HAVELCOVÁ M, MELEGY A, RAPANT S. Geochemical distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils and sediments of El-Tabbin, Egypt[J]. Chemosphere, 2014, 95: 63-74.
- [9] KWON H O, CHOI S D. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils from a multi-industrial city, South Korea[J]. The Science of the Total Environment, 2014, 470/471: 1494-1501.
- [10] HENNER P, SCHIAVON M, DRUELLE V, et al. Phytotoxicity of ancient gaswork soils: effect of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on plant germination[J]. Organic Geochemistry, 1999, 30(8): 963-969.
- [11] KIPOPOULOU A M, MANOLI E, SAMARA C. Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables grown in an industrial area[J]. Environmental Pollution, 1999, 106(3): 369-380.
- [12] 徐胜,王慧,陈玮,等. 土壤中多环芳烃污染对植物生理生态的影响[J]. 应用生态学报, 2013, 24(5): 1284-1290.
- [13] 王雪峰,陈桂珠,许夏玲. 白骨壤对石油污染的生理生态响应[J]. 生态学报, 2005, 25(5): 1095-1100.
- [14] 何斌源,赖廷和,陈剑锋,等. 两种红树植物白骨壤(*Avicennia marina*)和桐花树(*Aegiceras corniculatum*)的耐淹性[J]. 生态学报, 2007, 27(3): 1130-1138.
- [15] 廖岩,陈桂珠. 三种红树植物对盐胁迫的生理适应[J]. 生态学报, 2007, 27(6): 2208-2214.
- [16] YAN Z, TAM N F Y. Differences in lead tolerance between *Kandelia obovata* and *Acanthus ilicifolius* seedlings under varying treatment times[J]. Aquatic Toxicology, 2013, 126: 154-162.
- [17] 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, 2004: 67-70.
- [18] HODGES D M, DeLONG J M, FORNEY C F, et al. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds[J]. Planta, 1999, 207(4): 604-611.
- [19] DUTILLEUL C, GARMIER M, NOCTOR G, et al. Leaf mitochondria modulate whole cell redox homeostasis, set antioxidant capacity, and determine stress resistance through altered signaling and diurnal regulation[J]. The Plant Cell, 2003, 15(5): 1212-1226.
- [20] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1/2): 248-254.
- [21] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2000: 167-169.
- [22] 陈坚,李妮亚,刘强,等. NaCl处理下两种引进红树的光合及抗氧化防御能力[J]. 植物生态学报, 2013, 37(5): 443-453.
- [23] AHAMMED G J, YUAN H L, OGWENO J O, et al. Brassinosteroid alleviates phenanthrene and pyrene phytotoxicity by increasing detoxification activity and photosynthesis in tomato[J]. Chemosphere, 2012, 86(5): 546-555.
- [24] VÁŇOVÁ L, KUMMEROVÁ M, KLEMŠ M, et al. Fluoranthene influences endogenous abscisic acid level and primary photosynthetic processes in pea (*Pisum sativum* L.) plants *in vitro* [J]. Plant Growth Regulation, 2009, 57(1): 39-47.
- [25] 孙成芬,马丽,盛连喜,等. 土壤萘污染对玉米苗期生长和生理的影响[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(3): 443-448.
- [26] TOMAR R S, JAJOO A. Fluoranthene, a polycyclic aromatic hydrocarbon, inhibits light as well as dark reactions of photosynthesis in wheat (*Triticum aestivum*) [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2014, 109: 110-115.
- [27] DEMMIG-ADAMS B, ADAMS W W III. Chlorophyll and carotenoid composition in leaves of *Euonymus kiautschovicus* acclimated to different degrees of light stress in the field[J]. Australian Journal of Plant Physiology, 1996, 23(5): 649-659.
- [28] SUN L, YAN X L, LIAO X Y, et al. Interactions of arsenic and phenanthrene on their uptake and antioxidative response in *Pteris vittata* L. [J]. Environmental Pollution, 2011, 159(12): 3398-3405.
- [29] 冯保民,麻密. 植物络合素及其合酶在重金属抗性中的功能研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2003, 9(6): 657-661.
- [30] ZHANG Z H, RENGEL Z, MENEY K, et al. Polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) mediate cadmium toxicity to an emergent wetland species [J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 189(1/2): 119-126.
- [31] 陆志强,郑文教,马丽. 萘和芘胁迫对红树植物秋茄幼苗膜透性及抗氧化酶活性的影响[J]. 厦门大学学报:自然科学版, 2008, 47(5): 757-760.
- [32] ALKIO M, TABUCHI T M, WANG X C, et al. Stress responses to polycyclic aromatic hydrocarbons in *Arabidopsis* include growth inhibition and hypersensitive response-like symptoms[J]. Journal of Experimental Botany, 2005, 56(421): 2983-2994.

(责任编辑:佟金凤)