

土壤 Cd 胁迫对三七生长和根系 DNA 损伤及抗氧化酶活性的影响

朱美霖^{1a,1b}, 魏富刚², 崔斌^{1a,1b}, 陈中坚², 蒋艳雪^{1a,1b}, 曹红斌^{1a,1b,①}

(1. 北京师范大学: a. 中药资源保护与利用北京市重点实验室, b. 资源药物教育部工程研究中心, 北京 100875;
2. 苗乡三七科技有限公司, 云南 文山 663000)

摘要: 采用盆栽实验法,研究了土壤中添加 0.0(对照)、0.1、0.3、0.6、1.0、3.0、6.0、10.0 和 30.0 mg · kg⁻¹ Cd 对三七 [*Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen] 生长和抗氧化酶活性的影响,并采用彗星实验对 Cd 胁迫条件下三七根尖细胞的 DNA 损伤进行了分析。结果显示:随土壤 Cd 添加量增加,三七的成活率、株高、单株复叶数和单株叶面积以及单株根、茎和叶片的干质量及鲜质量总体上呈先升高后降低的趋势;其中,各处理组三七植株的成活率和单株复叶数均高于对照,而株高和单株叶面积则在 Cd 添加量较低条件下高于对照、在 Cd 添加量较高的条件下低于对照;单株根、茎和叶片的鲜质量及干质量在 Cd 添加量 30 mg · kg⁻¹ 条件下均小于对照但差异不显著。随 Cd 添加量的提高,三七根系中 SOD 和 CAT 活性呈先上升后下降、再上升再下降的变化趋势,而 POD 活性总体上逐渐升高;其中,Cd 添加量 0.6、1.0、3.0 和 30.0 mg · kg⁻¹ 处理组的 SOD 活性极显著或显著低于对照,而各处理组的 POD 和 CAT 活性总体上均高于对照且在 Cd 添加量 1.0 ~ 30.0 mg · kg⁻¹ 条件下与对照有极显著差异。彗星实验结果表明:各处理组三七根尖细胞的彗尾长、尾部 DNA 相对含量和 Olive 尾矩均有差异,其中,在 Cd 添加量较高的条件下各指标均高于对照但差异均不显著。研究结果显示:在较低水平的土壤 Cd 胁迫条件下,三七的生长、抗氧化酶活性和根系 DNA 均没有受到明显伤害,而较高水平的 Cd 胁迫则对其生长和抗氧化酶活性有抑制作用,且根尖细胞 DNA 损伤也较严重。

关键词: 土壤 Cd 胁迫; 三七; 生长; DNA 损伤; 彗星实验; 抗氧化酶活性

中图分类号: Q945.78; S567.23⁺6 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2014)01-0058-07

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2014.01.09

Effect of soil Cd stress on growth, root system DNA damage and antioxidant enzyme activity of *Panax notoginseng* ZHU Meilin^{1a,1b}, WEI Fugang², CUI Bin^{1a,1b}, CHEN Zhongjian², JIANG Yanxue^{1a,1b}, CAO Hongbin^{1a,1b,①} (1. Beijing Normal University: a. Key Laboratory for Natural Medicine Protection and Utilization in Beijing, b. Center for Natural Medicine Engineering, Ministry of Education, Beijing 100875, China; 2. Miaoxiang *Panax notoginseng* Technology Co., Ltd., Wenshan 663000, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2014, 23(1): 58-64

Abstract: Effect of soil with Cd adding amounts of 0.0 (CK), 0.1, 0.3, 0.6, 1.0, 3.0, 6.0, 10.0 and 30.0 mg · kg⁻¹ on growth and antioxidant enzyme activity of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen was studied by pot experiment method, and DNA damage in root-tip cell of *P. notoginseng* under Cd stress was analyzed by Comet assay. Results show that with rising of Cd adding amount in soil, survival rate, plant height, compound leaf number per plant, leaf area per plant and dry and fresh weights of root, stem and leaf per plant appear the trend of first increasing and then decreasing. In which, survival rate and compound leaf number per plant of all treatment groups are higher than those of the control, while plant height and leaf area per plant are higher under low adding amount of Cd and are lower under high adding amount of Cd than those of the control. And dry and fresh weights of root, stem and leaf per

收稿日期: 2013-08-24

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金项目

作者简介: 朱美霖(1987—),女,宁夏固原人,博士研究生,研究方向为天然药物重金属安全性评价。

①通信作者 E-mail: caohongbin@bnu.edu.cn

plant under Cd adding amount of $30.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ are all lower than those of the control with no significant difference. With rising of Cd adding amount, SOD and CAT activities in root system appear the changing trend of “enhancing-reducing-enhancing-reducing”, while overall, POD activity enhances gradually. In which, SOD activity of treatment groups with Cd adding amounts of 0.6, 1.0, 3.0 and $30.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ is extremely significant or significant lower than that of the control, while POD and CAT activities of all treatment groups are generally higher than those of the control and have extremely significant difference with the control under Cd adding amounts of 1.0– $30.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Comet assay result shows that there are some differences in tail length, tail DNA relative content and Olive tail moment in root-tip cell of all treatment groups, in which, these three indexes are higher under higher adding amount of Cd than those of the control with no significant difference. It is suggested that there is no obvious injury on growth, antioxidant enzyme activity and root system DNA of *P. notoginseng* under soil Cd stress with lower level, but there is an inhibitory action on growth and antioxidant enzyme activity and a serious injury on root-tip cell DNA under soil Cd stress with higher level.

Key words: soil Cd stress; *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; growth; DNA damage; Comet assay; antioxidant enzyme activity

三七 [*Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen] 隶属于五加科 (Araliaceae) 人参属 (*Panax* Linn.), 根可入药, 为中国出口的大宗药材之一。目前中药材应用领域和出口量日趋扩大, 但世界各国对中药材质量的要求日趋增高, 除对其农药残留的限制越来越严格外, 还增加了 Cd、Hg、Pb、Cu 和 Cr 等重金属元素的检测。中药三七主要产区为云南及广西的富 Cd 区^[1], 这些地区拥有大量 Cd 富集的铅锌矿床, 有可能造成土壤 Cd 污染, 也可能导致三七药材中 Cd 积累。冯江等^[2]和韩小丽等^[3]的研究结果均显示三七药材中存在 Cd 含量超标的状况。因此, 研究土壤 Cd 污染对三七生长发育的影响对保障三七药材的品质有重要意义。目前, 已有研究者对三七植株内 Cd 含量及残留量进行了分析^[4-5]; 冯光泉等^[6]比较了土壤及三七药材中重金属的含量; Yan 等^[7]还研究了三七对重金属 As 的耐性机制。但至今有关 Cd 污染对三七的毒害效应特别是分子水平的毒害效应尚未见研究报道。

Cd 是植物生长的非必需元素, 当植物体内的 Cd 积累到一定程度时, 植物表现出毒害症状。在形态上主要表现为根和茎生长迟缓、叶面卷曲和黄叶病; 而生理生化方面主要表现为光合作用和蒸腾作用受到抑制、体内酶活性受到影响、引起氧化应激反应和细胞膜损伤等一系列反应^[8], 导致抗氧化酶活性产生适应性变化。但 Cd 浓度较低时反而出现作物产量增加的情况^[9-10], 说明低浓度 Cd 对某些植物的生长发育有一定的促进作用。SOD (超氧化物歧化酶)、POD (过氧化物酶) 和 CAT (过氧化氢酶) 是植物体内最重要的抗氧化酶, 这些酶活性的改变可作为机体受到氧

化胁迫的指标。此外, Cd 胁迫可不同程度损伤植物细胞 DNA, 对植物的繁衍及子代健康造成伤害, 甚至可以改变植物的进化过程, 目前广泛采用彗星实验 (Comet assay)、通过对植物 DNA 损伤的评价确定污染物的毒理学^[11-12]。

作者采用盆栽实验法, 研究了不同程度土壤 Cd 胁迫对三七幼苗生长以及根系保护酶活性的影响, 并采用彗星实验分析了 Cd 胁迫对三七根系细胞 DNA 的损伤效应, 以期在宏观及微观水平上揭示土壤 Cd 污染对三七生长发育的影响, 为三七药材的标准化种植提供数据支撑和理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试三七种苗由云南文山苗乡三七科技有限公司提供, 栽植于该公司砚山实验基地。实验用土取自基地附近 0~20 cm 的表层土, 理化性质为: pH 4.94, 有机质含量 $27.40 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 阳离子交换量 $19.27 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全磷含量 $0.21 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 速效磷含量 $117.95 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 粉粒 $141.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 粘粒 $782.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 砂粒 $75.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 土壤 Cd 本底值 $0.45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

供试主要仪器包括 ZM200 Pulverisette 14 型高速旋转粉碎机/仪 (德国 Fritsch 公司)、PHG-9030A 型烘箱 (上海精宏设备有限公司)、ST-60 型自动消解仪 (北京普利泰科仪器有限公司) 和 SPECTRO ARCOS EOP 型 ICP-AES (德国斯派克公司) 等; 彗星实验试

剂盒由北京博乐通生物科技有限公司提供,其余试剂均为分析纯或优级纯。

1.2 方法

1.2.1 胁迫处理 于 2012 年 1 月进行 Cd 胁迫处理。用 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 配制 Cd 处理液。将实验用土过 0.5 cm 尼龙筛,称取适量土壤,将 Cd 处理液喷洒至土壤中并搅拌均匀,使土壤中 Cd 添加量分别为 0.0(对照)、0.1、0.3、0.6、1.0、3.0、6.0、10.0 和 30.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,土壤中 Cd 实际含量为添加量与本底量之和。将各处理土壤分别装入花盆中,每个花盆 5 kg,每处理设 4 次重复。将生长健壮且生长状况相似的 1 年生三七种苗移栽至花盆中,每盆栽种 3 株,统一栽培管理。于 2012 年 10 月进行生长状况观察并采集根系样品供酶活性测定及 DNA 损伤检测。

1.2.2 生长状况观察及生长量测定 2012 年 10 月,记录各处理三七植株的成活率和单株复叶数,并测量植株的株高、叶长和叶宽(用于单株叶面积计算),测量精度 0.1 cm。用普通天平(精度 0.01 g)分别称量三七单株根、茎和叶片的鲜质量;将新鲜根、茎和叶置于 55 °C 处理 72 h,冷却后分别称量单株根、茎和叶片干质量。

1.2.3 彗星实验 采集三七成熟植株根系,先将根尖取下,洗净后于 4 °C 保存。取 4 °C 保存的根尖,切成适当大小,采用机械法分离细胞核,使细胞核悬液密度为每个视野下 20 ~ 40 个^[13],按照彗星实验试剂盒说明进行单细胞凝胶电泳和彗星图像分析。以彗尾长、尾部 DNA 相对含量(尾部 DNA 含量与总 DNA 含量的比值)和 Olive 尾矩(尾部 DNA 含量与尾长的乘积)作为彗星实验定量分析指标。

1.2.4 抗氧化酶活性测定 将去除根尖后的剩余根系洗净,4 °C 保存。取 0.2 g 根系样品置于预冷研钵中,加入预冷的 50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液(pH 7.8) 1.6 mL,冰浴研磨至匀浆,于 4 °C、12 000 g 离心 20 min,取上清液用于酶活性测定。参照文献[14],采用氮蓝四唑光还原法测定 SOD 活性,采用愈创木酚法测定 POD 活性,采用过氧化氢法测定 CAT 活性。

1.3 数据分析

用 EXCEL 2010 数据分析软件计算平均值(\bar{X})和标准误(SE);用 SPSS 18.0 统计分析软件进行单因素方差分析(ANOVA);用 Comet A 1 软件分析彗星图像参数,包括彗尾长、尾部 DNA 相对含量及 Olive 尾矩 3 个参数。

2 结果和分析

2.1 土壤 Cd 胁迫对三七生长的影响

不同程度土壤 Cd 胁迫对三七植株成活率、株高、单株复叶数和单株叶面积的影响见表 1;不同程度土壤 Cd 胁迫对三七单株根、茎和叶片鲜质量及干质量的影响见表 2;在不同程度土壤 Cd 胁迫条件下种植 10 个月后三七植株的形态见图 1。

表 1 土壤 Cd 胁迫对三七植株 4 个生长指标的影响($\bar{X} \pm SE$)¹⁾
Table 1 Effect of soil Cd stress on four growth indexes of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen ($\bar{X} \pm SE$)¹⁾

Cd 添加量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd adding amount	成活率/% Survival rate	株高/cm Plant height	单株复叶数 Compound leaf number per plant	单株叶面积/ cm^2 Leaf area per plant
0.0(CK)	56±7	18.90±2.05	3.88±0.43	12.37±1.39
0.1	72±5	20.85±0.87	4.94±0.18*	14.08±1.69
0.3	68±8	23.19±1.55*	4.86±0.05*	16.39±1.52
0.6	80±6*	20.21±1.12	4.72±0.13	14.20±1.85
1.0	84±7*	21.95±1.22	4.90±0.47*	14.20±1.85
3.0	88±8*	19.18±1.31	5.01±0.09*	13.74±1.40
6.0	72±5	19.35±1.27	3.94±0.49	9.91±0.73
10.0	68±10	16.34±1.75	4.65±0.29	9.83±1.49
30.0	68±5	15.81±1.35	4.68±0.15	9.57±1.28

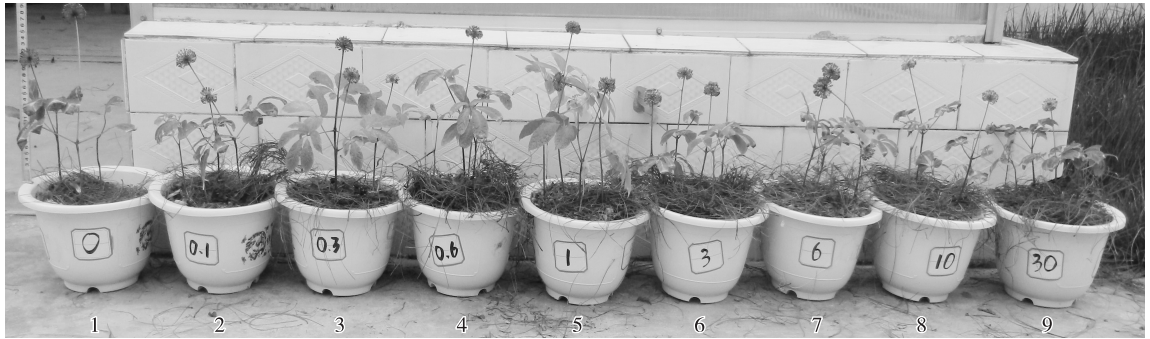
¹⁾ * : 与对照差异显著($P < 0.05$) Significant difference to the control ($P < 0.05$).

表 1 结果显示:与对照组相比,随土壤 Cd 添加量的增加,三七植株的成活率、株高、单株复叶数和单株叶面积均呈先升高后下降的变化趋势。在 Cd 胁迫条件下三七植株的成活率均高于对照,且在 Cd 添加量 0.6、1.0 和 3.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 条件下植株成活率较高(均超过 80%),显著高于对照($P < 0.05$),而其余处理组的成活率均与对照无显著差异。在 Cd 添加量 0.1 ~ 6.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 条件下株高均高于对照,而在 Cd 添加量 10.0 和 30.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 条件下株高则均低于对照;其中,在 Cd 添加量 0.3 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 条件下株高最大(23.19 cm)且显著高于对照($P < 0.05$),其余处理组的株高与对照均无显著差异。各处理组的单株复叶数均多于对照,其中 Cd 添加量 3.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理组的单株复叶数最多(5.01 片);在 Cd 添加量 0.1、0.3、1.0 和 3.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 条件下单株复叶数显著多于对照($P < 0.05$),其余处理组的单株复叶数与对照差异不显著。在 Cd 添加量 0.1 ~ 3.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 条件下三七植株的单株叶面积均高于对照、而在 Cd 添加量 6.0、

表2 土壤 Cd 胁迫对三七单株不同器官质量的影响 ($\bar{X}\pm SE$)¹⁾Table 2 Effect of soil Cd stress on weight of different organs of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen individual ($\bar{X}\pm SE$)¹⁾

Cd 添加量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd adding amount	根 Root		茎 Stem		叶 Leaf	
	鲜质量/g Fresh weight	干质量/g Dry weight	鲜质量/g Fresh weight	干质量/g Dry weight	鲜质量/g Fresh weight	干质量/g Dry weight
0.0 (CK)	3.06±0.14	0.81±0.19	1.64±0.25	0.30±0.04	0.91±0.16	0.37±0.08
0.1	2.97±0.39	0.86±0.09	1.96±0.26	0.34±0.04	0.56±0.11	0.32±0.03
0.3	5.12±0.71*	1.17±0.23	1.12±0.32	0.28±0.06	0.95±0.07	0.35±0.01
0.6	3.09±0.75	0.97±0.16	1.84±0.89	0.30±0.13	2.25±0.99	0.33±0.08
1.0	3.54±0.38	0.97±0.18	2.05±0.32	0.38±0.06	2.43±0.38	0.66±0.57*
3.0	3.93±0.46	0.94±0.12	1.85±0.37	0.35±0.09	0.61±0.22	0.31±0.06
6.0	3.25±0.34	0.55±0.16	1.40±0.15	0.31±0.04	0.61±0.18	0.43±0.02
10.0	3.37±0.48	0.66±0.04	1.62±0.37	0.35±0.06	0.60±0.21	0.33±0.06
30.0	2.77±0.28	0.57±0.05	1.29±0.27	0.29±0.06	0.58±0.11	0.27±0.04

¹⁾ *: 与对照差异显著 ($P<0.05$) Significant difference to the control ($P<0.05$).



1-9: 土壤 Cd 添加量分别为 0.0 (对照), 0.1, 0.3, 0.6, 1.0, 3.0, 6.0, 10.0 和 30.0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Adding amount of Cd in soil is 0.0 (CK), 0.1, 0.3, 0.6, 1.0, 3.0, 6.0, 10.0 and 30.0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, respectively.

图1 土壤 Cd 胁迫条件下三七生长状况的比较

Fig. 1 Comparison of growth status of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen under soil Cd stress

10.0 和 30.0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 条件下单株叶面积则低于对照,但各处理组的单株叶面积与对照均无显著差异;其中,在 Cd 添加量 0.3 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 条件下单株叶面积最大,达到 16.39 cm^2 。

表2 结果显示:随土壤 Cd 添加量的增加,三七单株根、茎和叶的鲜质量及干质量均呈波动但总体上先升高后下降的变化趋势。三七单株根鲜质量和干质量、单株茎鲜质量和干质量、单株叶鲜质量和干质量的最大值分别出现在土壤 Cd 添加量 0.3、1.0 和 1.0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 处理组,其中仅单株根鲜质量和单株叶干质量的最大值与对照有显著差异 ($P<0.05$),其余处理组的各项指标均与对照无显著差异。在土壤 Cd 添加量 30 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 条件下,单株根、茎和叶的鲜质量及干质量均小于对照但差异不显著。

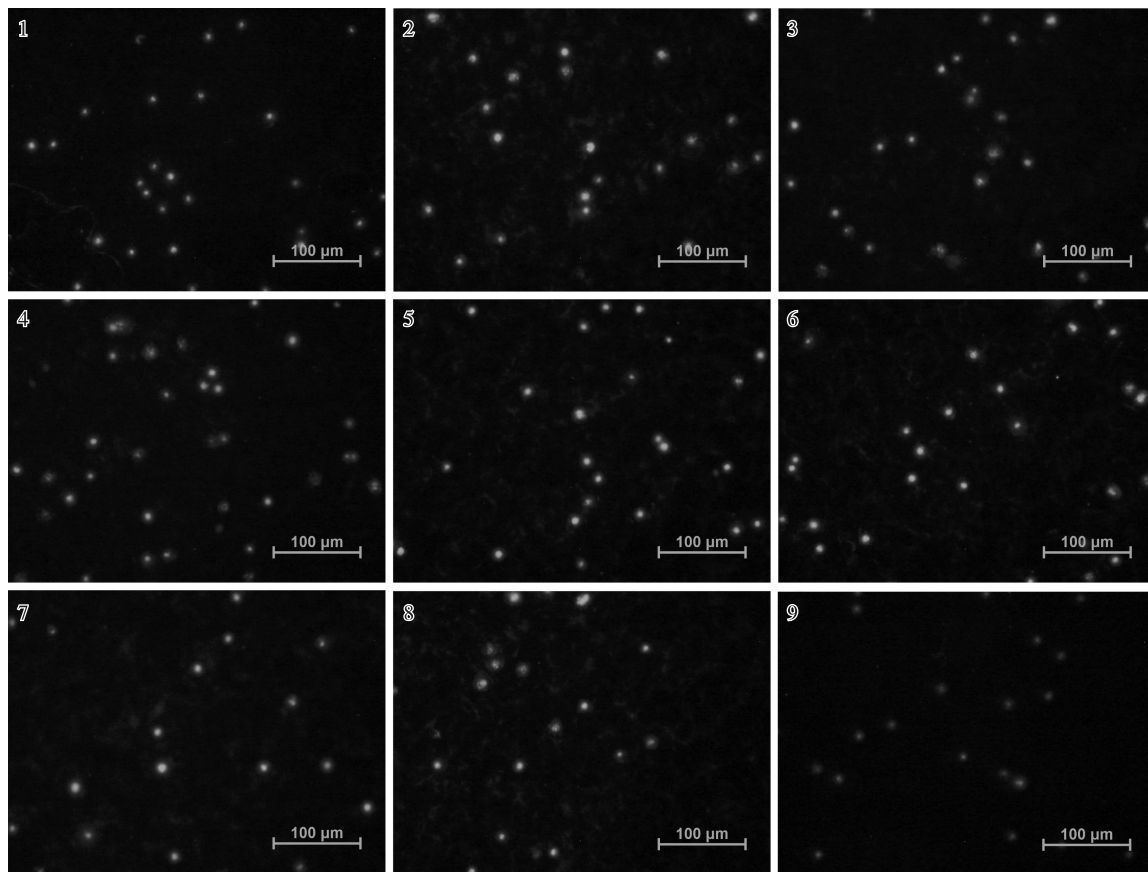
从上述生长指标可见:在土壤 Cd 水平较低的条件,三七的各项生长指标均高于对照,表明低水平

Cd 处理对三七生长有促进作用。从不同处理组植株的形态(图1)也可看出这一结果。

2.2 土壤 Cd 胁迫对三七根系 DNA 损伤的分析

在不同程度土壤 Cd 胁迫条件下种植 10 个月后三七根尖细胞 DNA 的彗星图像见图2;对照组与各处理组根尖细胞 DNA 损伤参数见表3。

由图2 可以看出:没有受损的三七根尖细胞 DNA 呈现出圆形的荧光核心,而受损的 DNA 则出现彗星状拖尾。由表3 可以看出:不同程度土壤 Cd 胁迫条件下三七根尖细胞 DNA 的损伤程度有一定差异,但各指标与对照均无显著差异。其中,彗尾长以 1.0 和 6.0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 处理组最长,平均值分别达到 0.24 和 0.23 μm ;10.0 和 30.0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 处理组彗尾也较长,平均值分别达到 0.18 和 0.19 μm ,均明显高于对照(0.15 μm)。尾部 DNA 相对含量以 6.0 和 10.0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 处理组最高,平均值分别为 14.16% 和



1-9: 土壤 Cd 添加量分别为 0.0 (对照)、0.1、0.3、0.6、1.0、3.0、6.0、10.0 和 30.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Adding amount of Cd in soil is 0.0 (CK), 0.1, 0.3, 0.6, 1.0, 3.0, 6.0, 10.0 and 30.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, respectively.

图 2 土壤 Cd 胁迫条件下三七根尖细胞 DNA 损伤的彗星图像

Fig. 2 Comet image of DNA damage of root-tip cell of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen under soil Cd stress

表 3 土壤 Cd 胁迫条件下三七根尖细胞 DNA 损伤参数比较 ($\bar{X} \pm SE$)
Table 3 Comparison of DNA damage parameters of root-tip cell of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen under soil Cd stress ($\bar{X} \pm SE$)

Cd 添加量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd adding amount	彗尾长/ μm Tail length	尾部 DNA 相对含量/% Tail DNA relative content	Olive 尾矩 Olive tail moment
0.0 (CK)	0.15 \pm 0.03	12.98 \pm 1.21	0.12 \pm 0.02
0.1	0.14 \pm 0.03	13.63 \pm 1.05	0.25 \pm 0.05
0.3	0.09 \pm 0.03	12.92 \pm 1.18	0.15 \pm 0.04
0.6	0.13 \pm 0.03	12.55 \pm 1.19	0.24 \pm 0.05
1.0	0.24 \pm 0.02	13.98 \pm 1.35	0.14 \pm 0.04
3.0	0.16 \pm 0.04	11.81 \pm 1.03	0.21 \pm 0.05
6.0	0.23 \pm 0.07	14.16 \pm 1.16	0.45 \pm 0.14
10.0	0.18 \pm 0.04	15.05 \pm 1.21	0.34 \pm 0.09
30.0	0.19 \pm 0.03	12.49 \pm 1.37	0.33 \pm 0.05

15.05%, 均明显高于对照 (12.98%)。Olive 尾矩以 6.0、10.0 和 30.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd 处理组最大, 平均值分别为 0.45、0.34 和 0.33, 均明显高于对照 (0.12)。

说明在土壤 Cd 添加量较高的条件下 (6.0、10.0 和 30.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd), Cd 对三七根尖细胞的 DNA 损伤较为严重。

2.3 土壤 Cd 胁迫对三七根系抗氧化酶活性的影响

经不同程度土壤 Cd 胁迫处理后三七根系 SOD、POD 和 CAT 活性的变化见表 4。结果表明: 随 Cd 添加量的提高, 三七根系中 SOD、POD 和 CAT 活性均有明显变化, 但变化趋势有差异。SOD 活性呈现先上升后下降、然后再缓慢上升再下降的波动趋势, 其中 0.3 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd 处理组的 SOD 活性显著 ($P < 0.05$) 高于对照, 而 0.6、1.0、3.0 和 30.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd 处理组的 SOD 活性极显著 ($P < 0.01$) 或显著 ($P < 0.05$) 低于对照。POD 活性总体上随土壤 Cd 添加量的提高逐渐升高, 仅 0.1 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd 处理组的 POD 活性低于对照, 其余处理组的 POD 活性均高于对照; 其中, 1.0、3.0、6.0、10.0 和 30.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd 处理组的 POD 活

性与对照有极显著差异 ($P < 0.01$), 以 $10.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd 处理组的 POD 活性最高。CAT 活性的变化趋势也呈先上升后略有下降、再上升再下降的波动趋势, 各处理组的 CAT 活性均高于对照, 其中, 1.0 、 3.0 、 6.0 、 10.0 和 $30.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理组的 CAT 活性与对照有极显著差异 ($P < 0.01$), 以 $6.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理组的 CAT 活性最高。

实验结果表明: 在 Cd 添加量较低的条件下, 三七根系中 SOD、POD 和 CAT 活性有所提高, 但 Cd 添加量超过一定限制值, 则抗氧化酶活性受到抑制。不同酶的 Cd 限制值不同, 三七根系中 SOD、POD 和 CAT 活性的 Cd 限制值分别为 0.3 、 10.0 和 $6.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

表 4 土壤 Cd 胁迫对三七根系中 SOD、POD 和 CAT 活性的影响 ($\bar{X} \pm SE$)¹⁾

Table 4 Effect of soil Cd stress on SOD, POD and CAT activities in root system of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen ($\bar{X} \pm SE$)¹⁾

Cd 添加量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd adding amount	SOD 活性/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ SOD activity	POD 活性/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ POD activity	CAT 活性/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ CAT activity
0.0 (CK)	151.11±3.18	30.00±4.41	93.33±3.66
0.1	111.18±10.04	15.00±2.45	132.35±6.76
0.3	205.88±4.47**	37.50±4.06	217.50±9.06
0.6	61.59±31.39**	48.53±2.06	233.82±20.50
1.0	89.59±19.89*	57.69±4.28**	184.62±17.51**
3.0	101.11±8.42*	97.30±9.77**	385.14±43.92**
6.0	145.75±9.43	125.00±7.23**	475.00±20.18**
10.0	152.35±9.24	146.25±8.88**	363.75±36.31**
30.0	108.42±7.84*	138.24±3.48**	358.82±39.94**

¹⁾ *: 与对照差异显著 ($P < 0.05$) Significant difference to the control ($P < 0.05$); **: 与对照差异极显著 ($P < 0.01$) Extremely significant difference to the control ($P < 0.01$).

3 讨论和结论

实验结果表明: Cd 对三七生长的抑制作用不是简单的毒害作用, 而是在低浓度条件下促进其生长、在高浓度条件下抑制三七生长, 而在其他植物中也有类似现象^[15-18]。低浓度 Cd 胁迫能促进植物生长, 其原因是低浓度 Cd 可提高或加速根系的某些生理生化反应, 从而促进根系生长^[19]; 也有研究者^[20]认为低浓度 Cd 胁迫对根毛生长有一定的促进作用, 从而增强植物对 Cd 的耐性。但根系的这种作用因植物种类不同而异。

通过彗星实验研究 Cd 胁迫条件下三七根尖 DNA

损伤, 但通过肉眼观察并不能从各处理组的彗星图像中发现明显的拖尾现象, 而且虽然某些 Cd 处理组的 DNA 损伤参数较高, 但与对照无显著差异。分析其原因可能为: 其一, 其他研究者^[21-22]是用 Cd 盐溶液直接处理植物组织, 而本研究采用的胁迫方法是将 Cd 盐加入土壤中进行胁迫处理, 由于土壤的缓冲性能^[23-24]使 Cd 毒性明显减弱。其次, 本研究采用机械法分离三七根尖细胞核, 细胞核的分离效果可能不佳, 从而影响彗星实验的结果, 有待利用其他方法 (如酶解法) 进行进一步研究。第三, 一些植物组织中含有某些特殊的化学成分, 这些成分会增加凝胶的粘性进而阻碍 DNA 在电场中的迁移^[25], 但三七根尖中是否含有这类成分则需进一步研究。此外, 不同植物种类及不同器官间彗星实验的结果也存在很大差异, 如在 Cd 胁迫条件下, 洋葱 (*Allium cepa* Linn.)^[26]、蚕豆 (*Vicia faba* Linn.)^[22] 及豌豆 (*Pisum sativum* Linn.)^[27] 的 DNA 损伤程度不同, 而且 Cd 对豌豆根部 DNA 的损伤远大于其对叶片 DNA 的损伤^[27]。这些因素均对彗星实验的结果有影响。

SOD、POD 和 CAT 是清除植物体内活性氧的抗氧化酶, 在逆境条件下通过抗氧化酶降低体内活性氧的积累, 从而减轻逆境因子对机体的伤害。在 Cd 胁迫条件下, 抗氧化酶活性也有类似的适应性作用, 且这种作用与 Cd 胁迫水平有关^[28-29]。本研究中, 三七根系的 SOD 和 CAT 活性随 Cd 添加量的提高呈波动的变化趋势, 在其他植物种类中也有类似现象。如 Cd 胁迫条件下狭叶香蒲 (*Typha angustifolia* Linn.) 叶片中 SOD 和 POD 活性随 Cd 浓度提高呈低浓度时上升、高浓度时下降的变化趋势^[30]; Al 胁迫条件下小麦 (*Triticum aestivum* Linn.) 的 SOD、CAT 和 POD 活性随胁迫强度的增加而升高, 重度胁迫下会有所下降^[31]。其原因可能是: 在低浓度胁迫条件下, 植物体内的抗氧化酶系统受到诱导, 其活性增强以清除过量的活性氧; 而当胁迫水平持续增加时, 植物体内的活性氧积累超过了抗氧化酶的清除能力, 使植物细胞及组织功能受到影响, 进而导致抗氧化酶活性降低^[32]。抗氧化酶活性的变化是植物对 Cd 胁迫的耐性机制之一。而 Yan 等^[7]的研究结果显示: 随 As 胁迫水平的增加, 三七的 SOD 和 POD 活性显著增加、CAT 活性降低。这一结果与三七根系抗氧化酶活性对 Cd 胁迫的响应不同, 说明三七对不同重金属胁迫的耐性不一致。

研究表明: 较低水平的土壤 Cd 胁迫具有促

进三七生长的作用,而较高水平的土壤 Cd 胁迫可抑制三七生长;Cd 胁迫对三七根尖细胞 DNA 没有明显的损伤,但可导致三七根系 SOD、POD 和 CAT 活性不同程度变化。因此,对药材三七种植而言,不能仅仅依据 Cd 对三七生长的影响确立其土壤 Cd 安全浓度限值,还需要考虑 Cd 在三七药材中的富集状况和富集程度。有关三七药材中 Cd 的积累和富集机制则有待进一步的实验研究。

参考文献:

- [1] 李航,朱长生,谭显龙,等. 云南金顶超大型铅锌矿床岩(矿)石中镉的分布及富集特征[J]. 矿物学报, 2007, 27(21): 381-382.
- [2] 冯江,黄鹏,周建民. 100 种中药材中有害元素铅 镉 砷的测定和意义[J]. 微量元素与健康研究, 2001, 18(2): 43-44.
- [3] 韩小丽,张小波,郭兰萍,等. 中药材重金属污染现状的统计分析[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(18): 2041-2048.
- [4] 郝南明,田洪,苟丽. 三七生长初期不同部位重金属元素含量测定[J]. 微量元素与健康研究, 2004, 21(5): 27-28, 31.
- [5] 冯光泉,刘云芝,张文斌,等. 三七植物体中重金属残留特征研究[J]. 中成药, 2006, 28(12): 1796-1798.
- [6] 冯光泉,张文斌,陈中坚,等. 三七及其栽培土壤中几种重金属元素含量的测定[J]. 中草药, 2003, 34(11): 1051-1054.
- [7] YAN X L, LIN L Y, LIAO X Y, et al. Arsenic accumulation and resistance mechanism in *Panax notoginseng*, a traditional rare medicinal herb[J]. Chemosphere, 2012, 87(1): 31-36.
- [8] SANITÀ Di TOPPI L, GABBRIELLI R. Response to cadmium in higher plants[J]. Environmental and Experimental Botany, 1999, 41(2): 105-130.
- [9] 魏小凤. 污染元素镉对能源作物的生长影响[D]. 北京: 华北电力大学(北京)环境工程学院, 2010.
- [10] 张金彪,黄维南. 镉对植物的生理生态效应的研究进展[J]. 生态学报, 2000, 20(3): 514-523.
- [11] ROJAS E, LOPEZ M C, VALVERDE M. Single cell gel electrophoresis assay: methodology and applications [J]. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 1999, 722(1/2): 225-254.
- [12] TICE R R, AGURELL E, ANDERSON D, et al. Single cell gel/comet assay: guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing[J]. Environmental and Molecular Mutagenesis, 2000, 35(3): 206-221.
- [13] 曹玉伟,马军,郭长虹,等. 植物彗星实验及其在生态毒理监测中的应用[J]. 生态毒理学报, 2009, 4(2): 183-189.
- [14] 杨光,钱丹,郭兰萍,等. 重金属对膜荚黄芪种子生长及抗氧化系统的影响[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(9): 1095-1099.
- [15] 何俊瑜,任艳芳,王阳阳,等. 不同耐性水稻幼苗根系对镉胁迫的形态及生理响应[J]. 生态学报, 2011, 31(2): 522-528.
- [16] 张玲,李俊梅,王焕校. 镉胁迫下小麦根系的生理生态变化[J]. 土壤通报, 2002, 33(1): 61-65.
- [17] 于方明,仇荣亮,汤叶涛,等. Cd 对小白菜生长及氮素代谢的影响研究[J]. 环境科学, 2008, 29(2): 506-511.
- [18] 任艳芳,何俊瑜,刘畅,等. 镉胁迫对莴苣幼苗生长及抗氧化酶系统的影响[J]. 生态环境学报, 2009, 18(2): 494-497.
- [19] 段昌群,王焕校,曲仲湘. 重金属对蚕豆(*Vicia faba*)根尖的核酸含量及核酸酶活性影响的研究[J]. 环境科学, 1992, 13(5): 31-35.
- [20] 仇硕,黄苏珍. Cd 胁迫下黄苣蒲幼苗根系生长与 Cd 积累的研究[J]. 植物资源与环境学报, 2008, 17(3): 33-38.
- [21] 聂志刚,王艳,李韶山. 重金属诱导拟南芥原生质体 DNA 损伤的单细胞凝胶电泳检测[J]. 植物学报, 2009, 44(1): 117-123.
- [22] 张旭红,林爱军,苏玉红,等. 镉引起蚕豆(*Vicia faba*)叶片 DNA 损伤和细胞凋亡研究[J]. 环境科学, 2006, 27(4): 787-793.
- [23] 林玉锁. 土壤对重金属缓冲性能的研究[J]. 环境科学学报, 1995, 15(3): 289-294.
- [24] 符娟林,章明奎,黄昌勇. 用分级方法评估土壤对重金属的缓冲能力[J]. 环境科学研究, 2006, 19(3): 109-113.
- [25] DELINCÉE H, SOIKA C. Improvement of the ESR detection of irradiated food containing cellulose employing a simple extraction method[J]. Radiation Physics and Chemistry, 2002, 63(3): 437-441.
- [26] SETH C S, MISRA V, CHAUHAN L K, et al. Genotoxicity of cadmium on root meristem cells of *Allium cepa*: cytogenetic and Comet assay approach [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2008, 71(3): 711-716.
- [27] HATTAB S, CHOUBA L, BEN KHEDER M, et al. Cadmium- and copper-induced DNA damage in *Pisum sativum* roots and leaves as determined by the Comet assay[J]. Plant Biosystems, 2009, 143(S1): S6-S11.
- [28] 刘可慧,于方明,李明顺,等. 镉胁迫对小白菜(*Brassica campestris* L.)抗氧化机理的影响[J]. 生态环境, 2008, 17(4): 1466-1470.
- [29] 段云青,王艳,雷焕贵. 镉胁迫对小白菜 POD、PPO 和 SOD 活性的影响[J]. 河南农业科学, 2006(7): 88-91.
- [30] 吴晓丽,罗玉明,徐迎春,等. 镉胁迫对狭叶香蒲某些生理指标的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2007, 16(1): 74-78.
- [31] 彭艳,李洋,杨广笑,等. 铝胁迫对不同小麦 SOD、CAT、POD 活性和 MDA 含量的影响[J]. 生物技术, 2006, 16(3): 38-42.
- [32] 尹永强,胡建斌,邓明军. 植物叶片抗氧化系统及其对逆境胁迫的响应研究进展[J]. 中国农学通报, 2007, 23(1): 105-110.

(责任编辑:惠红,张明霞)