

DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2020082004

张小茜, 张富贵, 董祥林, 等. Zn 和 Cd 胁迫作用对长梗白菜形态和生理性能的生态毒理影响[J]. 环境化学, 2022, 41(1): 22-30.

ZHANG Xiaoxi, ZHANG Fugui, DONG Xianglin, et al. Ecotoxicological effects of Zn and Cd stress on the morphology and physiological properties of long-stalk cabbage[J]. Environmental Chemistry, 2022, 41 (1): 22-30.

Zn 和 Cd 胁迫作用对长梗白菜形态和生理性能的生态毒理影响*

张小茜^{1,2} 张富贵³ 董祥林⁴ 魏祥平⁴ 郑刘根^{1,2}**

(1. 安徽大学资源与环境工程学院, 合肥, 230601; 2. 安徽省矿山生态修复工程实验室, 合肥, 230601; 3. 淄博市环境保护科学研究设计院, 淄博, 255040; 4. 淮北矿业(集团)有限责任公司通防地测部, 淮北, 235000)

摘要 本文以不同 Cd、Zn 浓度胁迫下的长梗白菜为研究对象, 采用盆栽实验, 分析了 Cd 和 Zn 胁迫下长梗白菜形态参数(重量、长度、表面积、叶的分形维数)、生理性能的影响以及从土壤中提取 Cd 和 Zn 的能力. 结果表明, Cd、Zn 胁迫对长梗白菜的生长具有“低促高抑”效应, 且共同胁迫对生长的影响大于单一胁迫. 在 $0.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 和 $250 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn 同时胁迫下叶茎生物量分别增加 93.27% 和 155.84%; 当 Cd、Zn 同时胁迫下浓度分别升至 $0.9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $350 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 叶茎生物量分别降低 63% 和 66.23%. 随重金属浓度的升高, 植物中过氧化物酶(POD)的活性先升高后降低. 与对照组相比, 在 $150 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn 胁迫下 POD 活性提高了 64.17%, 在 $350 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn 胁迫下降低了 31.50%. 重金属处理导致长梗白菜中过氧化氢酶(CAT)活性不同程度升高. 在 $0.9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 和 $350 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn 同时胁迫下达到最大活性 $99.74 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$. Cd 和 Zn 的联合处理显著降低了丙二醛(MDA)含量. Zn 的添加促进 Cd 的吸收, 根中 Cd 含量可达 $0.21 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. 研究结果可为土壤重金属复合污染防治, 提高蔬菜品质提供科学支撑.

关键词 Cd, Zn, 氧化应激, 重金属复合作用, 长梗白菜.

Ecotoxicological effects of Zn and Cd stress on the morphology and physiological properties of long-stalk cabbage

ZHANG Xiaoxi^{1,2} ZHANG Fugui³ DONG Xianglin⁴
WEI Xiangping⁴ ZHENG Liugen^{1,2}**

(1. School of Resources and Environmental Engineering, Anhui University, Hefei, 230601, China; 2. Anhui Province Engineering Laboratory for Mine Ecological Remediation, Hefei, 230601, China; 3. The Scientific Research and Design Institute of Environmental Protection of Zibo, Zibo, 255040, China; 4. Huaibei Mining (Group) Co., Ltd. Anti-piping and Measuring Department, Huaibei, 235000, China)

Abstract In this paper, the long-stalk cabbage under different Cd and Zn concentration stresses was used as the research object. Potted experiments were used to analyze the morphological parameters (length, weight, surface area, leaf fractal dimension) and physiological properties of long-stemmed cabbage under Cd and Zn stress. Influence and the ability to extract Cd and Zn from the soil. The

2020年8月20日收稿(Received: August 20, 2020).

* 安徽高校协同创新项目(GXXT-2019-029), 平安煤炭开采工程技术研究院有限责任公司科技项目(W2018JSFW0551)和国家自然科学基金(41702176)资助.

Supported by the Anhui University Collaborative Innovation Project (GXXT-2019-029), Science and Technology Project of Ping An Coal Mining Engineering Technology Research Institute Co., Ltd. (W2018JSFW0551) and the National Natural Science Foundation of China (41702176).

** 通信联系人 Corresponding author, Tel:18655117726, E-mail: lgzheng@ustc.edu.cn

results showed that: Cd and Zn stress have a “low-promoting high-inhibition” effect on the growth of long-stemmed cabbage, and the common stress has a greater impact on the growth than a single stress. Under the simultaneous stress of $0.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd and $250 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn, the leaf and stem biomass increased by 93.27% and 155.84%, respectively; when Cd and Zn were simultaneously stressed, the concentration increased to $0.9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ and 350, respectively $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, the leaf and stem biomass decreased by 63% and 66.23%, respectively. As the concentration of heavy metals increases, the activity of peroxidase (POD) in plants first increases and then decreases. Compared with the control group, POD activity increased by 64.17% under $150 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn stress, and decreased by 31.50% under $350 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn stress. The treatment of heavy metals resulted in the increase of CAT activity in long-stemmed cabbage. The maximum activity of $99.74 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ was reached under the simultaneous stress of $0.9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd and $350 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn. The combined treatment of Cd and Zn significantly reduced the content of malondialdehyde (MDA). The addition of Zn promotes the absorption of Cd, and the Cd content in the root can reach $0.21 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. The research results can provide scientific support for the prevention and control of soil heavy metal compound pollution and the improvement of vegetable quality.

Keywords Cd, Zn, oxidative stress, heavy metal compounding stresses, long-stalk cabbage.

重金属自然存在于土壤中,然而工农业生产等人为活动使其毒性水平广泛提高^[1].微量金属通过影响植物的生长、发育、开花,阻碍植物生产力,并通过食物链中的生物放大作用危害人类健康^[2].

Cd 与 Zn 属于同族重金属元素,具有相似的地球化学和环境特性,常共存于土壤中. Cd 没有生理功能,通过改变气孔运动和蒸腾作用阻碍植物生长,对植物有剧毒^[3].与 Cd 不同, Zn 是一种必需元素,作为各种金属蛋白的辅助因子参与生理代谢^[4].然而过量的 Zn 也会导致生长抑制,叶片卷曲和叶尖坏死^[5].已有研究探讨了 Cd、Zn 胁迫作用下植物生长和重金属的吸收影响.如郭俊梅等^[6]研究了不同 Cd、Zn 浓度胁迫作用对三七景天生长、根系形态及 Cd、Zn 吸收和积累的影响,研究发现三七景天具有较强的 Cd 富集能力;贾彦等^[7]以金针菇为试验材料,研究了食用菌富集 Cd、Zn 以及其交互作用对食用菌积累重金属的影响;潘秀等^[8]通过盆栽试验,研究了 Cd、Zn 及其交互作用下对互花米草生长、重金属吸收及亚细胞分布的影响.目前还没有关于 Cd、Zn 复合胁迫模式对长梗白菜的形态和生理性能影响研究.

与其他农作物(除水稻外^[9])相比,由于绿叶蔬菜表面积大而更容易暴露在环境中受到污染^[10],叶类蔬菜中积累的重金属浓度更高.长梗白菜作为普通食用蔬菜之一,与人们日常消费紧密相关.本次研究选择长梗白菜为研究对象,采用盆栽实验,通过分析生长抑制、脂质过氧化和抗氧化酶活性几个胁迫参数以及重金属吸收量,研究 Cd、Zn 胁迫对长梗白菜的影响.研究结果可为农田-植物系统中复合污染土壤重金属安全阈值研究和土壤重金属复合污染防治提供科学支撑.

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 材料与试剂

供试植物为浙江农科种业有限公司的长梗白菜种子.本试验在安徽大学资源与环境学院实验大棚内进行.盆栽试验供试土壤为安徽合肥地区城郊黄棕壤土,供试土壤的基本理化性质见表 1.采集表层土壤(0—20 cm),自然晾干,去除杂物,磨碎土样过 2 mm 筛后,玻璃罐中储存备用,而后对土壤进行人工模拟污染,取模拟重金属污染土模拟 15 cm 耕作层土壤厚度,种植.

表 1 供试土壤的基本理化性质及重金属含量

Table 1 Basic physical and chemical properties and heavy metal content of the tested soil

pH	有机质/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) Organic matter	EC/ ($\text{ms}\cdot\text{cm}^{-1}$)	黏粒/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) Clay	粉粒/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) Silt	Zn/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Cd/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
6.52	12.34±0.63	0.41±0.011	335.89±5.03	383.32±4.22	75.23±6.48	0.065±0.0019

1.2 实验设计

以《土壤环境质量标准》(GB 5618—2018)农用地土壤污染风险筛选值(Cd: 0.3 mg·kg⁻¹, Zn: 250 mg·kg⁻¹)为参照,在塑料盆中分别设置不同重金属浓度梯度的土壤用于种植长梗白菜,将其编号. CK 是空白对照组; A 组是向土壤中添加不同重金属 Cd 浓度,分别是 0.3、0.6、0.9 mg·kg⁻¹, 设置为 A1、A2、A3; B 组是向土壤中添加不同重金属 Zn 浓度,分别是 150、250、350 mg·kg⁻¹, 设置为 B1、B2、B3; C 组是向土壤中添加不同复合重金属 Cd+Zn 浓度,分别为(0.3+150)、(0.6+250)、(0.9+350)mg·kg⁻¹, 设置为 C1、C2、C3.

按盆栽作物对养分的需求,氮、磷、钾施用量分别为 N 0.13 g·kg⁻¹、P₂O₅ 0.14 g·kg⁻¹、K₂O 0.3 g·kg⁻¹. 将土壤与其混和均匀,装入盆中,保持 70% 田间最大持水量的湿润状态,平衡 1 个月. 分别挑选饱满、大小均一的供试种子经消毒后,用蒸馏水冲洗数次,浸泡 4 h,待种子吸胀后播种,82 d 成熟后采集植物和根际层土壤样品. 每盆播入蔬菜种子 30 粒,间苗后每盆留 15 株. 田间水分管理和肥料管理与正常的生产相一致,适时进行除草、浇水,并保持正常的日光照射. 上述实验每个处理组设置 3 次重复实验,最后结果取 3 次测量的平均值.

1.3 样品重金属含量测定

将收集的蔬菜用去离子水清洗后于 105 °C 烘至恒质量,后在 70 °C 下将植物样品烘干,用电子天平称取干物质重量. 分别称取 0.2 g 烘干后磨碎的根、茎、叶样品,0.5 g 土壤样品. 分别加入 HNO₃-HClO₄(5:1, 体积比)和 HNO₃-HCl-H₂O₂-HF(3:1:1:1, 体积比)混合液于电热板上消解,消解温度开始设定为 65 °C,其次升高至 160 °C 直至样品溶液澄清. 利用石墨炉原子吸收分光光度计(Hitachi Z-2000, 日本)测定样品中重金属含量. 测定过程中以国家生物成分分析标准物质 GBW10015(GSB-6 菠菜)和 GBW07427(GSS-13 土壤)进行分析质量控制,误差控制在 5% 以内.

1.4 小麦生理指标的测定

根据张志良等^[1]的方法测定丙二醛(MDA)含量、过氧化物酶(POD)活性和过氧化氢酶(CAT)活性. 此外在扫描每个分析的叶片后使用数字技术(ImageJ 1.38 软件),测量植物的各个部位的长度,叶片的表面积和分形维数.

1.5 数据处理

生物浓缩因子(BCF),转运因子(TF)和耐性指数(TI)用作评估植物积累,转运(从根到叶)和耐受重金属的能力的指数. 其计算公式如下所示:

$$BCF = C_p/C_s \quad (1)$$

$$TF_{根-茎} = C_{茎}/C_{根} \quad (2)$$

$$TF_{茎-叶} = C_{叶}/C_{茎} \quad (3)$$

$$TI = T/C \quad (4)$$

其中, C_p: 植物体内重金属含量, mg·kg⁻¹; C_s: 土壤中重金属的含量, mg·kg⁻¹; C_根、C_茎和 C_叶: 根、茎和叶中的重金属浓度, mg·kg⁻¹; T: 处理过的植物生物量, g; C: 对照植物生物量, g.

使用 Excel 软件进行数据相关计算, 试验结果采用 SPSS Statistics 19 统计分析软件进行方差分析, 不同处理间采用最小显著差数法(LSD 法)进行差异显著性检验(P<0.05), 采用 Origin 2018 软件进行作图.

2 结果与讨论(Results and discussion)

2.1 不同 Cd、Zn 浓度胁迫对长梗白菜生长的影响

植物生物量反映金属对其生长的影响, 是植物总体健康状况的重要指标. Cd、Zn 单一胁迫及其复合作用对长梗白菜各组织生物量的影响如表 2 所示. 低浓度重金属胁迫增加长梗白菜地上部分的生物量, 而高浓度抑制了其地上部分的生物量, Cd、Zn 复合作用较单一胁迫的作用更显著. 在 0.6 mg·kg⁻¹ Cd 和 250 mg·kg⁻¹ Zn 同时胁迫下叶、茎生物量分别增加 93.27% 和 155.84%, 达到显著水平(P<0.05).

在 $0.9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 及 $350 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn 同时胁迫下叶、茎生物量分别降低 63% 和 66.23% ($P < 0.05$). 这说明 Cd、Zn 对长梗白菜生长的影响表现出协同作用.

表 2 Cd、Zn 单一胁迫及其复合作用对长梗白菜生物量的影响

Table 2 Effects of single and combined stress of Cd and Zn on the biomass of long-stalk cabbage

处理组别 Treatment group	叶生物量/g Leaf biomass	茎生物量/g Stem biomass	根生物量/g Root biomass	TI
CK	3.27±0.04fg	1.54±0.08f	0.70±0.02e	
A1	4.38±0.18cd	2.55±0.12c	0.86±0.06c	1.41
A2	3.85±0.12e	1.85±0.08e	0.71±0.02e	1.16
A3	3.04±0.22f	1.36±0.04d	0.85±0.07c	1.17
B1	3.86±0.10e	2.22±0.08d	0.72±0.04e	1.23
B2	3.14±0.15fg	1.02±0.03h	0.42±0.04g	0.83
B3	3.16±0.03fg	1.23±0.14g	0.44±0.10g	0.88
C1	4.38±0.13d	2.24±0.07d	0.82±0.04cd	1.35
C2	6.32±0.23b	3.94±0.09a	0.65±0.10e	1.98
C3	1.21±0.04h	0.52±0.09i	0.18±0.02h	0.35

注: 数据为平均值±标准差, 同一列不同字母代表差异显著 ($P < 0.05$).

Note: the data are mean ± SD, and different letters in the same column represent significant difference ($P < 0.05$).

Cd 胁迫对植物生长具有“低促高抑”的作用, 这与郭俊梅等^[6]的研究结果一致. 在低 Cd 处理中, 金属离子可能已经激活了细胞因子在新陈代谢中的酶, 从而加速植物的生长^[12]. 然而, 由于 Cd 对植物的生长不是必需的, Cd 的浓度超过一定水平则具有渐进的毒性作用. 与之类似, 低浓度 Zn 单一胁迫下, 长梗白菜各组织生物量干重显著提高; 而高浓度下产生抑制作用. 可能是因为 Zn 作为植物必需的微量营养元素, 低浓度时参与代谢活动, 而过量的 Zn 通过干扰必需离子的吸收, 运输和调节造成离子稳态系统的紊乱, 从而影响蒸腾作用和光合作用等代谢过程, 导致生长减少^[4].

在 Cd 单一胁迫下茎生物量和根生物量具有不同的响应模式, 根系生物量在 0.71—0.86 g, 无显著变化. Yan 和 Tam^[13] 也发现受重金属胁迫下, 植物茎、叶生物量受到影响而根生物量无显著影响. Zn 单一胁迫抑制长梗白菜的根系生长, 在 Zn 浓度分别为 $250 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $350 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时根生物量降低 40% 和 37.14% ($P < 0.05$). Cd、Zn 同时胁迫在低浓度时促进, 高浓度下抑制根系生长, 在 $0.3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 和 $150 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn 同时胁迫下根生物量增加 17.14% ($P < 0.05$), 在 $0.9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 和 $350 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn 同时胁迫下显著降低 74.28% ($P < 0.05$). 不同 Cd、Zn 添加量下长梗白菜耐性指数在 0.35—1.98, 在同时添加 $0.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 和 $250 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn 时耐性指数最高.

2.2 不同 Cd、Zn 浓度胁迫对长梗白菜形态特征的影响

植物形态特征的变化是评估重金属负面影响的重要参数. 长梗白菜形态特征变化参数的值如表 3 所示. 从表 3 可知, 单一 Cd 胁迫促进了根部的长度, 除 $0.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 胁迫外其他处理对根系直径均产生了抑制作用. 根系直径的降低可能是由于 Cd 抑制了根尖分生细胞的有丝分裂, 导致染色体畸变, 减少根毛生长, 造成根表皮和皮层细胞以及细胞间隙的不对称, 从而影响根系正常生长^[14]. 而张弛强^[15] 在研究 Cd 胁迫对锦葵根际特征影响时发现其根尖数在 Cd ($0.56 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 处理下出现了小幅的上升. 这与本次实验中在 $0.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 胁迫根系直径增大类似, 这些现象可能是长梗白菜对 Cd 胁迫的一种富集和耐性机制. Cd 浓度为 $0.9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 根直径最小, 与对照处理相比下降 32.48% ($P < 0.05$). 与对照组相比, Zn 单一胁迫抑制了长梗白菜的根系长度和直径. 随浓度增加, 根直径有所增加而根长受到抑制. 在 $150 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn 胁迫下根直径最小, 为 1.6 cm; 在 $350 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn 胁迫下根长最短, 为 9.68 cm. 复合胁迫较 Cd 单一胁迫对根长的促进作用显著, 在 $0.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd、 $250 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn 同时胁迫下根部长度增长 33.08% ($P < 0.05$).

表 3 长梗白菜的形态参数

Table 3 Morphological parameters of long-stalk cabbage

处理组别 Treatment group	根 Root		茎 Stem	叶 Leaf		
	长度/cm Length	直径/mm Diameter	长度/cm Length	长度/cm Length	宽度/cm Width	面积/cm ² Area
CK	10.61±3.6b	2.34±1.3abc	6.15±0.2a	14.79±3.4a	6.81±1.0a	61.05±29.1ab
A1	10.64±3.2b	1.62±0.6cd	2.50±1.4bc	7.64±1.9c	4.52±1.0b	42.40±20.1b
A2	11.47±3.3ab	2.78±1.5a	2.75±0.6bc	12.79±1.4ab	6.77±1.4a	68.05±22.7a
A3	10.64±2.1b	1.49±0.8d	5.33±1.7abc	12.34±1.3ab	6.42±0.9a	55.48±11.8ab
B1	10.38±1.7b	1.60±0.7cd	1.65±1.0c	10.84±1.2b	6.13±1.1a	44.68±12.5b
B2	10.19±3.0b	1.66±0.9bcd	3.83±2.3b	10.26±4.6bc	4.41±1.7b	49.83±11.4ab
B3	9.68±2.9b	1.99±1.2abcd	2.69±0.9bc	11.58±1.3b	6.05±0.6a	50.92±12.6ab
C1	13.19±4.4a	1.72±0.9bcd	2.80±1.5bc	8.80±2.4bc	5.48±1.7ab	55.40±11.9ab
C2	14.12±3.8a	2.15±0.7abcd	3.10±1.3bc	12.97±3.1ab	6.38±1.1a	61.54±25.0ab
C3	13.43±2.4ab	2.71±1.1ab	1.57±0.8c	10.21±1.2bc	5.19±0.7ab	48.52±11.9ab

注：数据为平均值±标准差，同一列不同字母代表差异显著($P < 0.05$)。

Note: the data are mean ± SD, and different letters in the same column represent significant difference ($P < 0.05$).

与对照组相比,单一及复合重金属胁迫显著抑制了茎长,在 $0.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Cd}$ 、 $350 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Zn}$ 同时胁迫下茎长显著减少 74.55% ($P < 0.05$)。随着单一 Zn 或 Cd 浓度增加,茎长增加。这与魏明化^[16]的研究结果相同,蔬菜的茎长对重金属浓度不敏感,甚至有促进作用。与对照组对比,各处理均显著降低了叶片的长度、宽度和面积。Cd 浓度为 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,对长梗白菜叶的伤害较其他胁迫情况下严重,叶片长度减少 48.35% ($P < 0.05$),叶片宽度下降 33.59% ($P < 0.05$),叶面积下降 30.55% 。而表 2 中显示在 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Cd}$ 胁迫下叶生物量增加,这可能是因为间苗后对照组生长出的成熟蔬菜数量偏少而 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Cd}$ 胁迫下叶片偏小但数量多。研究表明,无论浓度和类型如何,重金属都会对长梗白菜形态的大多数指标产生显著影响,形态的改变更能反映 Cd、Zn 胁迫对植物生长的影响。

Mandelbrot 等^[17]提出分形结构和维数的概念。事实证明,分形维数是描述、测量和比较自然特征的有效工具,也用作植物分布的形式以及毒性指示剂^[18]。从这些应用出发,本研究基于计算出长梗白菜中叶片的分形维数,分析由 Cd 和 Zn 的毒性所引起其形态的变化。将获得的有关 Cd 和 Zn 对每个实验变体的分形维数的影响的结果与对照组进行比较。图 1 显示叶片的分形维数。

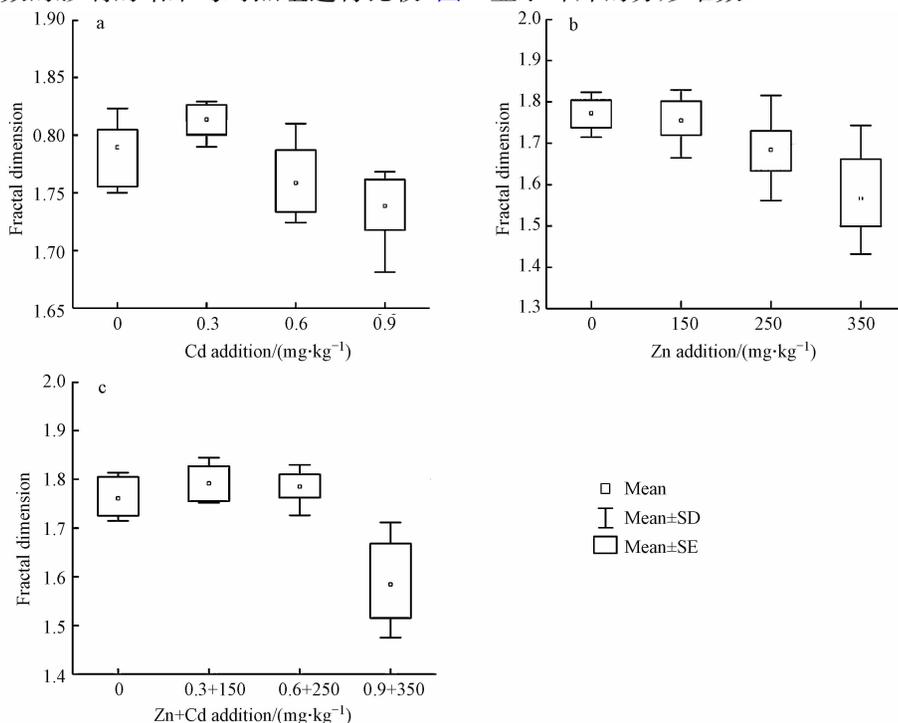


图 1 土壤中不同 Cd(a)、Zn(b)和 Cd+Zn 混合物(c)浓度下叶片的分形维数

Fig.1 Fractal dimension of leaves under different concentrations of Cd+Zn mixture in soil

从获得的数据中可以看出,随着 Cd、Zn 浓度的增加,叶片的分形维数值减小.在单一 Cd 污染的情况下,分形维数在浓度为 $0.3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时为 1.81,分形维数最高.在单一 Zn 污染的情况下,分形维数在浓度为 $350 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时为 1.57,分形维数最低. Cd、Zn 混合物的分形维数分别为 1.79、1.78 和 1.58. 研究数据证实与 Cd 相比, Zn 对长梗白菜叶片具有更高的毒性作用.

2.3 不同 Cd、Zn 浓度胁迫对长梗白菜生理指标的影响

图 2 反映了 Cd、Zn 单一胁迫及其相互作用对长梗白菜抗氧化酶活性的影响.由图 2(a) 可知,重金属处理导致长梗白菜中 CAT 活性不同程度升高.在 $0.9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 和 $350 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn 同时胁迫下表现出最大活性 $99.74 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$,与对照组相比增加了 271.89% ($P < 0.05$).金属中的毒性可能是由于金属与蛋白质巯基的结合,抑制酶的活性或改变蛋白质的结构所致.在 Zn、Cd 复合处理中, $-\text{SH}$ 基团未受到 Zn 的硫醇氧化^[19].这可能是实验结果中重金属复合胁迫引起 CAT 极高诱导的原因.此外, CAT 作用于过氧化氢的机理实质上是过氧化氢的歧化,必须有两个 H_2O_2 分子先后与 CAT 相遇且碰撞在活性中心上,才能发生反应. H_2O_2 浓度越高,分解速度越快. Abid 等^[20] 研究发现重金属复合胁迫导致了 H_2O_2 的升高.这也使得重金属复合胁迫下 CAT 活性升高.

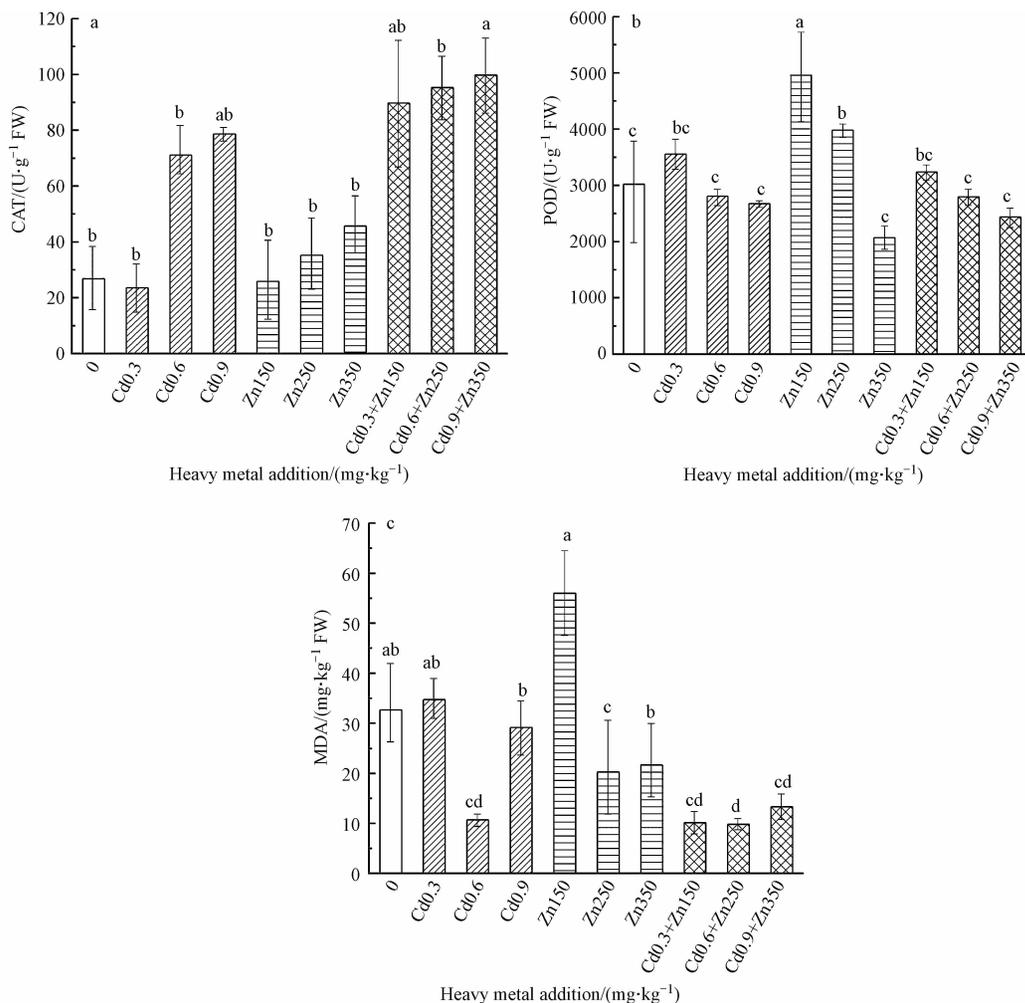


图 2 重金属胁迫对长梗白菜中 CAT(a)、POD(b)和 MDA(c)的影响

注: 数据为平均值 \pm 标准差, 不同字母代表差异显著 ($P < 0.05$).

Fig.2 Effect of heavy metal stress on MDA in long-stalk cabbage

Note: the data are mean \pm SD, and different letters in the same column represent significant difference ($P < 0.05$).

由图 2(b) 可知,在 $150 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn 胁迫下 POD 表现出最大活性,与对照组相比提高了 64.17% ($P < 0.05$).在 $350 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn 胁迫下 POD 活性最低,降低了 31.50% .随重金属处理浓度的升高植物中 POD 活性先升高后降低,且复合重金属较单一重金属胁迫下活性降低.一方面 POD 活性对重金属胁迫的响应不同于 CAT^[21],复合重金属胁迫下产生过高浓度的 H_2O_2 造成 POD 的保护功能达到极限,这

是由于酶活性的阈值引起的. 另一方面由于复合胁迫下 CAT 高活性, 这使其成为催化 H_2O_2 分解的主要酶, 也导致了 POD 的活性降低^[21]. POD 活性与呼吸作用、光合作用及生长素的氧化等都有关系, 影响植物的生长. 在 $0.3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd、 $150\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn 复合胁迫下 POD 活性较高促使植物生物量增加; 在 $0.9\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd、 $350\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn 复合胁迫时 POD 降低抑制了植物的生长.

图 2(c) 反映了 Cd、Zn 单一胁迫及其相互作用下 MDA 含量的变化. 由图 2(c) 可知, 随着浓度的增加, 相对于不同的重金属组合, MDA 含量表现出不同的模式. 单一 Cd 及联合处理在高浓度时均显著降低 MDA 含量. 过量重金属对植物的主要毒性作用是氧化应激和活性氧(ROS)的过量产生^[22], 其特征是脂质过氧化, 从而破坏了细胞膜结构. MDA 是膜脂氧化的最终分解产物^[13]. 而植物受重金属胁迫后, 细胞组织的受损程度不仅取决于 ROS 产生的速率也与抗氧化系统清除其的效率有关^[23]. CAT、POD 可以降解掉对植物细胞有毒害作用的副产物 H_2O_2 . 因此内源 ROS 清除剂 CAT 和 POD 活性的升高, 可在长梗白菜体内清除过剩的 ROS, 维持 ROS 代谢平衡, 使 MDA 含量降低, 保护膜结构, 使其具有一定的抵抗重金属胁迫的能力. 在 Cu 处理过及 Pb、Zn 复合处理的欧芹^[24]中也发现了类似的结果. 单一 Cd 胁迫时, 在 $0.6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时 MDA 含量最低. 结合图 4、图 5 可知在 $0.6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 单一 Cd 胁迫 POD 活性开始逐渐降低而 CAT 却显著增加, 这表明此时 CAT 在消除脂质过氧化中开始起主导作用, CAT 的高活性使清除这些超氧自由基的效率提高从而导致 MDA 含量最低. 在 $150\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn 处理下含量最大, 为 $55.98\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 而在 $0.6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 和 $250\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn 复合胁迫下 MDA 含量最低, 为 $9.81\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. 这是因为向 Cd 中添加 Zn 可以有效抑制 NADPH 氧化, 从而抑制 $O_2^{\cdot-}$ 产生、阻止 ROS 的形成^[25].

2.4 不同 Cd、Zn 浓度胁迫对长梗白菜 Cd、Zn 吸收转运的影响

不同重金属浓度下长梗白菜的 Cd、Zn 富集量如图 3 所示. 从中可知, 在 Cd 单一胁迫下, 长梗白菜各部位中 Cd 富集量随 Cd 浓度的增加而增加, 且增加程度达到显著水平 ($P < 0.05$). 在 Cd 添加量为 $0.9\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的条件下, 根的富集量最大为 $0.11\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. 添加 Zn 使其各组织中 Cd 富集量增加 ($P < 0.05$), 在 $0.9\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 和 $350\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn 同时胁迫下, 根中 Cd 含量最高, 为 $0.21\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Kutrowska 等^[1]研究也发现油菜在添加 Zn 后对 Cd 的吸收增加. 这种反应可能与基因的上调有关, 该基因的编码是由于暴露于 Zn^{2+} 触发某些金属转运蛋白的传递, 而通过 Zn^{2+} 可以主动转运 Cd^{2+} . Cd 吸收较高另一个原因是 Cd 和 Zn 对土壤吸附位点直接竞争, 因两者具有相似的原子特征, 都受到静电相互作用的影响^[26]. 考虑到所添加的 Zn 的浓度比 Cd 高, 很可能是 Zn 导致 Cd 置换到溶液中, 从而增加植物吸收的有效性. Zn 单一胁迫下重金属富集量随胁迫浓度的增加而增加, 在 $350\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Zn 胁迫时, 长梗白菜根中 Zn 的富集量最大为 $51.15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. 添加 Cd 使其各组织中 Zn 的富集量不同程度降低 ($P < 0.05$).

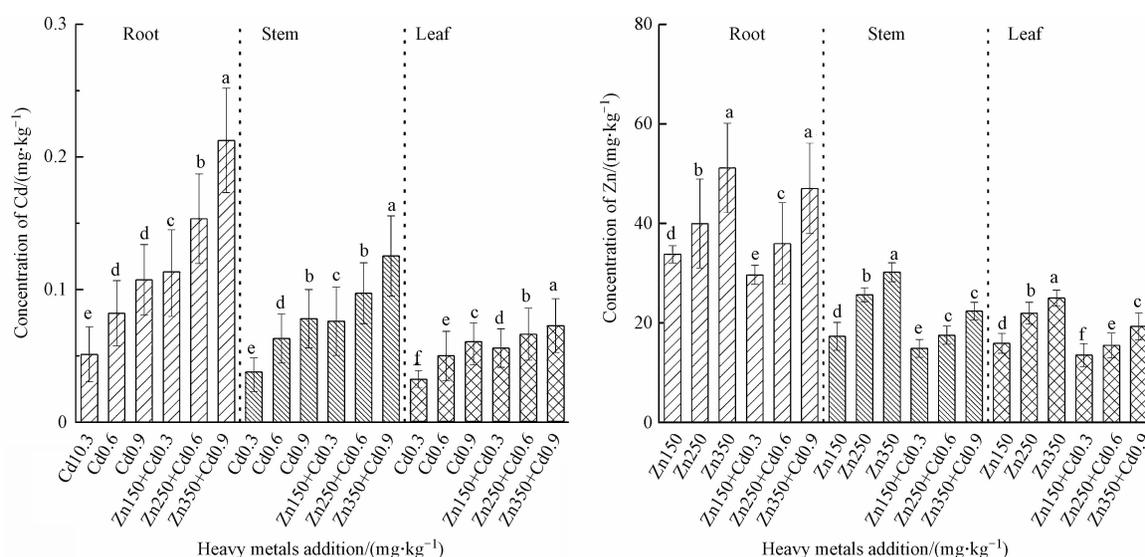


图 3 不同重金属浓度胁迫下长梗白菜各组织中 Cd、Zn 含量的影响

数据为平均值±标准差, 不同字母代表差异显著 ($P < 0.05$)

Fig.3 Effects of Cd and Zn contents in various tissues of long-stalk cabbage with different heavy metal concentrations.

Note: the data are mean ± SD, and different letters in the same column represent significant difference ($P < 0.05$).

在不同浓度重金属胁迫下长梗白菜中 Cd、Zn 的富集、转运系数结果列于表 4。由表可知,复合胁迫下 Cd 的富集系数较单一胁迫大。这说明 Zn 的加入促进了 Cd 在长梗白菜中的富集。复合胁迫下 Zn 的富集系数较单独胁迫下小,说明 Cd 的加入抑制了 Zn 的富集能力,即此时 Cd、Zn 之间产生拮抗作用。随胁迫浓度的增加,两种重金属富集系数均呈下降趋势。这可能是因为随胁迫浓度的增加,植物对于 Cd、Zn 的富集量也在增加,但浓度增加速率小于土壤时,BCF 随浓度增大而减小。此外植物对 Cd、Zn 的吸收到一定浓度范围内不再能迫使增加吸收量时。Cd、Zn 复合胁迫下重金属的迁移能力较单一胁迫低,随着胁迫浓度的升高 TF 降低。这说明复合重金属胁迫下长梗白菜倾向在根部积累重金属而避免其吸收和转运。

表 4 在不同浓度 Cd 和 Zn 胁迫下长梗白菜中 Cd、Zn 的富集、转运系数

Table 4 Enrichment and transport coefficient of Cd and Zn in long-stalk cabbage under different concentrations of Cd and Zn stress

	处理组别 Treatment group	BCF			TF _{根-茎}	TF _{茎-叶}
		根 Root	茎 Stem	叶 Leaf		
Cd	A1	0.34	0.27	0.21	0.78	0.80
	A2	0.25	0.19	0.15	0.77	0.79
	A3	0.22	0.16	0.12	0.73	0.77
	C1	0.76	0.51	0.37	0.67	0.73
	C2	0.46	0.29	0.20	0.63	0.68
	C3	0.42	0.25	0.14	0.59	0.58
Zn	B1	0.45	0.23	0.21	0.51	0.92
	B2	0.32	0.21	0.18	0.64	0.85
	B3	0.27	0.16	0.13	0.59	0.83
	C1	0.39	0.20	0.18	0.50	0.91
	C2	0.29	0.14	0.12	0.49	0.84
	C3	0.25	0.12	0.10	0.48	0.82

3 结论(Conclusion)

(1)在不同的处理方法下,长梗白菜生长和生化参数发生不同的变化。Cd、Zn 共同胁迫下茎叶的生物量及根长达到最高。

(2)单一 Cd 污染下,分形维数最高;单一 Zn 污染的情况下,分形维数最低。两种重金属同时作用较 Zn 单一污染高,添加 Cd 对 Zn 毒害叶片具有拮抗作用。

(3)重金属处理导致长梗白菜中 CAT 活性不同程度升高。随重金属处理浓度的升高植物中 POD 活性先升高后降低,且复合重金属较单一重金属胁迫下活性降低。复合重金属处理显著降低 MDA 含量。

(4)单一及复合污染下,长梗白菜对 Cd、Zn 的累积均主要发生在根部。复合作用促进其对 Cd 的积累,抑制对 Zn 的富集。复合作用均可降低对 Cd、Zn 的转运。

参考文献 (References)

- [1] KUTROWSKA A, AGNIESZKA A, PIECHALAK A, et al. Effects of binary metal combinations on zinc, copper, cadmium and lead uptake and distribution in *Brassica juncea* [J]. Journal of Trace Elements in Medicine & Biology, 2017, 44: 32-39.
- [2] 许生辉,南忠仁,王胜利,等.绿洲土壤Cd-Ni复合污染对油菜生长及吸收的影响[J].环境化学,2018,37(5):1037-1044.
XU S H, NAN Z R, WANG S L, et al. Effect of Cd-Ni compound pollution in oasis soil on growth and absorption of rape [J]. Environmental Chemistry, 2018, 37(5): 1037-1044 (in Chinese).
- [3] 杨思楠,刘玲,郑刘根.多壁碳纳米管与镉复合污染对水稻生长的影响[J].环境化学,2019,38(5):1113-1118.
YANG S N, LIU L, ZHENG L G. Effects of combined pollution of multi-walled carbon nanotubes and cadmium on rice growth [J]. Environmental Chemistry, 2019, 38(5): 1113-1118 (in Chinese).
- [4] SHAHZAD B, TANVEER M, CHE Z, et al. Role of 24-epibrassinolide (EBL) in mediating heavy metal and pesticide induced oxidative

- stress in plants: A review [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 147: 935-944.
- [5] 朱启红, 夏红霞. 蜈蚣草对Pb、Zn复合污染的响应 [J]. *环境化学*, 2012, 31(7): 1029-1035.
ZHU Q H, XIA H X. Response of centipede grass to Pb and Zn compound pollution [J]. *Environmental Chemistry*, 2012, 31(7): 1029-1035(in Chinese).
- [6] 郭俊梅, 杨俊兴, 杨军, 等. Cd、Zn交互作用对三七景天根系形态和重金属吸收积累的影响 [J]. *环境科学*, 2019, 40(1): 470-479.
GUO J M, YANG J X, YANG J, et al. Effect of Cd and Zn interaction on root morphology and heavy metal absorption and accumulation of sedum notoginseng [J]. *Environmental Science*, 2019, 40(1): 470-479(in Chinese).
- [7] 贾彦, 杨勇, 江荣风, 等. Cd Zn交互作用对金针菇富集重金属的影响 [J]. *农业环境科学学报*, 2009, 28(7): 1368-1373.
JIA Y, YANG Y, JIANG R F, et al. Effects of interactions between Cd and Zn on accumulation of heavy metals in the *Flammulina velutipes* [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(7): 1368-1373(in Chinese).
- [8] 潘秀, 石福臣, 刘立民, 等. Cd、Zn及其交互作用对互花米草中重金属的积累、亚细胞分布及化学形态的影响 [J]. *植物研究*, 2012, 32(6): 717-723.
PAN X, SHI F C, LIU L, et al. Effects of Cd, Zn and their interactions on accumulation, subcellular distribution and chemical forms of heavy metals in *Spartina alterniflora* [J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2012, 32(6): 717-723(in Chinese).
- [9] CHANEY, RUFUS L. How does contamination of rice soils with Cd and Zn cause high incidence of human Cd disease in subsistence rice farmers [J]. *Current Pollution Reports*, 2015, 1(1): 13-22.
- [10] JAISHANKAR, MONISHA T, TENZIN A, et al. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals [J]. *Interdisciplinary Toxicology*, 2014, 7(2): 60-72.
- [11] 张志良, 瞿伟菁, 李小芳. 植物生理学实验指导[M]. (第4版) 北京: 高等教育出版社, 2009: 30-31, 98-103, 208-209.
ZHANG Z L, ZHAI W Q, LI X F. *Plant Physiology Experiment Guide*[M]. (4th) Beijing: Higher Education Press, 2009: 30-31, 98-103, 208-209(in Chinese).
- [12] LIU Z, BAI Y, YANG T. Effect of Cd on the uptake and translocation of Pb, Cu, Zn, and Ni in Potato and wheat grown in sierozem [J]. *Soil and Sediment Contamination*, 2019, 22: 650-669.
- [13] YAN, Z Z, TAM N F. Differences in lead tolerance between seedlings of *Kandelia obovata* and *Acanthus ilicifolius* under varying treatment times [J]. *Aquatic Toxicology*, 2013, 126: 154-62.
- [14] BENÁKOVÁ M, AHMADI H, DUCAIOVÁ Z, et al. Effects of Cd and Zn on physiological and anatomical properties of hydroponically grown Brassica napus plants [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 24(25): 20705-20716.
- [15] 张弛强. 锦葵(*Malva sinensis* Cavan.)在Cd胁迫下的主要根际特征和根系生理响应研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2016.
ZHANG C Q. Study on rhizosphere characteristics and root responses of *Malva sinensis* Cavan. under cadmium stress[D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2016(in Chinese).
- [16] 魏明化. 不同土地利用方式与管理措施下土壤重金属对植物种子的生态毒性[D]. 武汉: 华中农业大学, 2012.
WEI M H. Toxicity of heavy metals on plant seeds in soils with different land use and managements[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2012(in Chinese).
- [17] MANDELBROT, BENOIT B. The fractal geometry of nature [J]. *American Journal of Physics*, 1983, 51(3): 286-287.
- [18] DU J X, ZHAI C M, WANG Q P. Recognition of plant leaf image based on fractal dimension features [J]. *Neurocomputing*, 2013, 116: 150-156.
- [19] KONLECHNER C, TUERTAS M, LANGER I, et al. Expression of zinc and cadmium responsive genes in leaves of willow (*Salix caprea* L.) genotypes with different accumulation characteristics [J]. *Environmental Pollution*, 2013, 178(100): 121-127.
- [20] ABID R, MANZLOOR M, DE OLIVEIRA L M, et al. Interactive effects of As, Cd and Zn on their uptake and oxidative stress in As-hyperaccumulator *Pteris vittata* [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 248: 756-762.
- [21] XU X Y, SHI G X, WANG J, et al. Copper-induced oxidative stress in *Alternanthera philoxeroides*, callus [J]. *Plant Cell Tissue & Organ Culture*, 2011, 106(2): 243-251.
- [22] WU, X Y, COBBINA, S J, MAO, G H, et al. A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(9): 8244-8259.
- [23] HEGED S A, ERDEI S, HORVTH G. Comparative studies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress [J]. *Plant Science*, 2001, 160(6): 1085-1093.
- [24] SHEN X, Li R, CHAI M, et al. Interactive effects of single, binary and trinary trace metals (lead, zinc and copper) on the physiological responses of *Kandelia obovata* seedlings [J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 2019, 41(1): 135-148.
- [25] AREVALO-GARDINI E, AREVALO-HERNANDEZ C O, BALIGAR V C, et al. Heavy metal accumulation in leaves and beans of cacao (*Theobroma cacao* L) in major cacao growing regions in Peru [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 605-606(15): 792-800.
- [26] SILVA M C, ALLEONI L R F. Adsorption of Cd, Cu, Ni and Zn in tropical soils under competitive and non-competitive systems [J]. *Scientia Agricola*, 2010, 67(3): 301-307.