

# 重金属镉及其与锌组合对黄瓜毛状根生长及其抗氧化酶活性的影响

张艳<sup>1</sup>, 施和平<sup>1</sup>, 曾宝强<sup>2</sup>

1 华南师范大学生命科学学院 广东省植物发育生物工程重点实验室, 广州 510631

2 香港教育学院数社科学系, 香港新界

**摘要:** 为了探讨利用黄瓜毛状根来修复重金属镉(Cd)污染的可能性, 研究了重金属 Cd 单独及其与锌(Zn)组合对黄瓜毛状根生长及其抗氧化酶 SOD、POD 活性变化的影响。结果表明, Cd ≤ 10 mg/L 仅在培养 5~15 d 间促进黄瓜毛状根生长, 使根增粗; 而 Cd ≥ 15 mg/L 则抑制黄瓜毛状根生长, 浓度愈高抑制作用愈明显, 侧根变得短而细小。在供试的不同浓度 Cd 培养的黄瓜毛状根中, 除 10 mg/L Cd 外, 其余 Cd 浓度培养的黄瓜毛状根可溶性蛋白含量随着培养时间的延长而逐渐下降; 但其 POD 和 SOD 活性则随着培养时间的延长而逐渐升高。与对照(仅添加 25 mg/L Zn)相比, 仅 1 mg/L Cd+25 mg/L Zn 组合在培养 7~15 d 期间促进黄瓜毛状根生长; 其余浓度 Cd 和 25 mg/L Zn 组合都抑制黄瓜毛状根的生长, 且 Cd 浓度愈高抑制作用越强, 侧根数目更少且短小, 侧根根尖变得肿胀; 同时, 除培养 5 d 外, 25 mg/L Zn 和不同浓度 Cd 组合培养的黄瓜毛状根的生物量、POD 和 SOD 活性均比单独添加对应浓度 Cd 培养的毛状根降低, 但其可溶性蛋白含量则较之明显提高。结果表明: 黄瓜毛状根具有较强的重金属 Cd 耐受能力, 高浓度 Cd 则抑制其生长; 而镉和锌组合会随着培养时间的延长而加重 Cd 对黄瓜毛状根生长的抑制作用。

**关键词:** 黄瓜, 毛状根, Cd, Zn, SOD, POD

## Influences of heavy metal cadmium alone and in combination with zinc on the growth and activities of antioxidant enzymes of *Cucumis sativus* hairy roots

Yan Zhang<sup>1</sup>, Heping Shi<sup>1</sup>, and Eric Po Keung Tsang<sup>2</sup>

1 Guangdong Provincial Key Lab of Biotechnology for Plant Development, College of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China

2 The Hong Kong Institute of Education, New Territories, Hong Kong, China

**Abstract:** The effects of heavy metal cadmium (Cd), alone and in combination with zinc (Zn), on the root growth and activity of antioxidant enzymes superoxide dismutase(SOD) and peroxidase(POD) in *Cucumis sativus* L. hairy roots were studied. The purpose was to study the possibilities on using *C. sativus* hairy roots for phytoremediation of cadmium contamination. The results showed that less than 10 mg/L Cd enhanced the growth of *C. sativus* hairy roots and increased root diameter only in 5–15 days of root culture. At Cd concentrations above 15 mg/L hairy root growth was gradually inhibited with increasing Cd concentration. The roots formed

**Received:** February 26, 2008; **Accepted:** October 31, 2008

**Supported by:** Guangdong Natural Science Foundation (No. 031510) and Hong Kong Croucher Foundation.

**Corresponding author:** Heping Shi. E-mail: shihp@scnu.edu.cn

广东省自然科学基金项目(No. 031510)和香港裘槎基金项目资助。

were shorter with smaller lateral roots. Among all the Cd concentrations tested, except with 10 mg/L Cd, the soluble protein contents in the *C. sativus* hairy roots cultured with the other Cd concentrations decreased, but the POD and SOD activities increased gradually with time during the culture process. Further tests were conducted using a control culture containing 25 mg/L Zn alone. The addition of 1mg/L Cd to the 25 mg/L Zn culture stimulated the growth of *C. sativus* hairy roots after 7–15 days of growth, compared with the control. At all other Cd concentrations the growth of *C. sativus* hairy roots was inhibited compared to the control. Growth inhibition increased with increasing Cd concentration, and the hairy roots formed fewer, shorter and smaller lateral roots, the tips of which became swollen. After 5 days culture with different concentrations of Cd + 25 mg/L Zn, the root biomass and the activity of POD and SOD were lower than in *C. sativus* hairy roots cultured without the addition of Zn. However, the soluble protein content was significantly higher when the culture contained 25 mg/L Zn. Our results suggested that *C. sativus* hairy roots have higher tolerance to heavy metal Cd but higher concentration of Cd inhibited the growth. Cd in combination with Zn would result in more serious Cd-induced growth inhibition.

**Keywords:** *Cucumis sativus* L, hairy roots, Cd, Zn, SOD (superoxide dismutase), POD (peroxidase)

镉(Cd)虽不是植物生长发育必需的微量元素, 但因其生物迁移性很强, 对人和动物具有致癌、致畸、致突变的作用<sup>[1]</sup>, 是目前土壤和水体中最受关注的毒性最强的重金属元素之一; 因而, 如何治理和控制重金属 Cd 污染, 寻找降低 Cd 毒害或修复被 Cd 污染环境的有效方法, 一直是国内外环境科学研究的热点与难点。根是植物吸收矿质离子的最主要器官。有研究表明, 利用植物尤其是重金属蓄积植物的根系对土壤和水体中某种重金属污染元素具有特殊的吸收、富集和转化能力, 不失为治理重金属污染、实现生态修复的高效而廉价的有效方法之一。与对照根(自然根)相比, 由发根农杆菌(*Agrobacterium rhizogenes*)感染植物细胞后遗传转化后产生的毛状根(Hairy root), 由于它具有产生分枝侧根能力很强、可快速自主生长, 根系极发达及具有很大的吸收面积; 最近国外相继有人成功利用可离体自主快速生长的毛状根来吸收重金属离子 Ni 和 Cd<sup>[2]</sup>或根滤(Rhizofiltration)重金属铀以修复被放射性金属元素铀污染的环境<sup>[3]</sup>以及利用毛状根迅速吸收和转化废水中的酚及氯酚类污染物<sup>[4, 5]</sup>。但到目前为止, 国内外利用发根农杆菌遗传转化产生的毛状根来开展对重金属污染物修复的研究还刚刚起步, 未见有关重金属 Cd 对黄瓜毛状根生长或毒害影响的任何报道。Cd 和锌(Zn)属同一簇元素, 化学性质相似。已有研究表明, 它们之间存在复杂的交互影响关系, 如拮抗或协同作用等<sup>[6]</sup>。但到目前为止, 未见有关 Cd 和 Zn 结合对毛状根生长或毒害影响的研究报道。

本研究以发根农杆菌遗传转化产生的可在无激素培养基上自主生长的黄瓜毛状根为材料, 来探讨

重金属 Cd 以及其与微量元素 Zn 组合对黄瓜毛状根生长的影响及其毒害的生理机理; 为今后开展利用生长迅速的黄瓜毛状根或具发达根系的黄瓜毛状根转化植株来净化或修复被重金属 Cd 污染的水体和土壤环境奠定实验技术基础和提供可能性。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料

采用发根农杆菌 ATCC15834 遗传转化黄瓜(*Cucumis sativus* L.)子叶外植体所产生的能在 MS<sup>[7]</sup>培养基上自主快速生长的毛状根, 其诱导和继代培养见施和平等<sup>[8]</sup>的方法。

### 1.2 培养基及培养条件

在探讨 Cd 对黄瓜毛状根生长影响时, 采用添加不同浓度 Cd (以 CdCl<sub>2</sub> 的形式加入)的液体 MS 培养基, 其中 Cd 浓度分别为 0 mg/L、1 mg/L、5 mg/L、10 mg/L、15 mg/L 和 25 mg/L。而在探讨 Zn 和 Cd 组合对黄瓜毛状根生长影响时, 根据 Zn 对黄瓜毛状根生长影响的实验结果(该结果另文发表), 采用添加 25 mg/L Zn 和上述不同浓度梯度 Cd 组合的液体 MS 培养基进行培养。每锥形瓶中分装培养基 50 mL, 接种毛状根后, 于 25°C±2°C、100 r/min 的摇床中黑暗振荡培养。

### 1.3 黄瓜毛状根的培养及其生长的测定

选取生长旺盛的黄瓜毛状根, 剪切成 4~5 cm 且具根尖的根段, 接入含不同浓度 Cd 或 Cd+Zn 组合的 MS 液体培养基中进行暗培养, 每锥形瓶的接种量约为 0.5 g FW(鲜重)。在为期 25 d 的培养过程中, 每隔 5 d 随机抽取不同浓度处理的毛状根培养物各 3 瓶, 用蒸馏水冲洗去除培养物上的残留液体培养基,

用吸水纸吸干水分后进行毛状根鲜重和干重测量;另取一部分新鲜毛状根培养物保存于 $-80^{\circ}\text{C}$ 的超低温冰箱中,供进行毛状根可溶性蛋白含量、SOD和POD活性的测定。

#### 1.4 毛状根培养物可溶性蛋白含量、POD活性及SOD活性的测定

毛状根培养物可溶性蛋白提取液的制备参照黄维南<sup>[9]</sup>的方法进行操作。黄瓜毛状根培养物可溶性蛋白含量的测定参照Bradford的方法<sup>[10]</sup>,其SOD活性变化采用NBT光化还原法测定<sup>[11]</sup>,其POD活性采用愈创木酚法测定<sup>[12]</sup>。上述各实验数据重复3次,取平均值。

## 2 结果与分析

### 2.1 单独Cd与Cd/Zn组合对黄瓜毛状根生长及形态的影响

黄瓜毛状根接种至含不同浓度Cd的培养基中培养后,对照(不添加Cd的MS培养基培养)毛状根的生物量随着培养时间的延长而逐渐增加,并在培养25d时达到最大,其生物量(鲜重)增殖倍数达到23.51;随后毛状根生长速率下降。与对照相比,培养后5~15d期间,不同浓度Cd培养的毛状根生物量也逐渐增加;除15mg/L Cd和25mg/L高浓度Cd外, $\leq 10$  mg/L Cd浓度培养的黄瓜毛状根生物量增殖倍数都比对照略高;但液体培养20d后,无论是高浓度还是低浓度Cd培养的毛状根生物量都比对照低。图1为黄瓜毛状根在不同浓度Cd的培养基中培养15d的生长形态。从图1可见,培养至15d时,添加低浓度1mg/L Cd培养的黄瓜毛状根的主、侧根变粗;而且随着培养基Cd浓度的加大,黄瓜毛状根变得更加粗而短。其中,高浓度25mg/L Cd培养的黄瓜毛状根的主根很少伸长,所产生的侧根短小(长度 $\leq 1$  cm);并且发现随着培养时间的延长,毛状根的表面附着一层红色的物质,使毛状根表面逐渐变红,质地变软。表明随着培养基Cd浓度的升高以及培养时间延长,高浓度Cd已严重抑制黄瓜毛状根的生长,并开始出现毒害症状(图1)。

而当黄瓜毛状根在不同浓度Cd和25mg/L Zn组合的培养基中培养时,对照(不加Cd但加25mg/L Zn的MS培养基)黄瓜毛状根生物量(干重)随着培养时间的延长呈现逐渐上升的趋势,在20d时达到

最大;之后则逐渐下降。与对照培养的黄瓜毛状根相比,除25mg/L Zn和1mg/L Cd结合培养的黄瓜毛状根生物量在培养后7~15d时比对照略高外,其余各浓度Cd和25mg/L Zn组合培养的黄瓜毛状根干重均比对照减少;且25mg/L Zn和不同浓度Cd组合的培养基培养的黄瓜毛状根生长的抑制程度也与培养基中Cd浓度成正比;Cd浓度愈高对生长的抑制越大。图2为黄瓜毛状根在不同浓度Cd与25mg/L

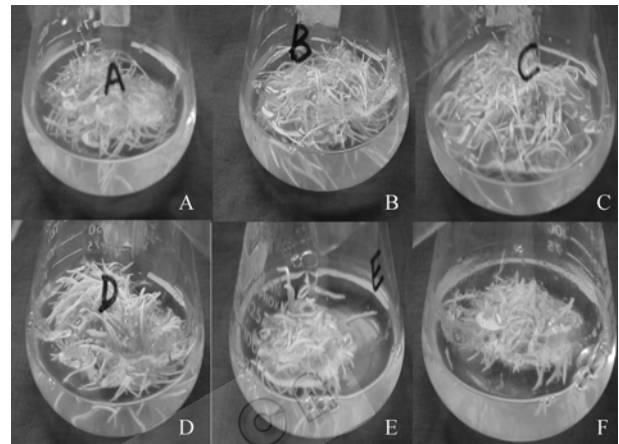


图1 培养基Cd浓度对黄瓜毛状根生长形态的影响

Fig. 1 Effect of Cd concentration in the medium on growth and morphology of *C. sativus* hairy roots. A-F: *C. sativus* hairy roots cultured with different concentration of Cd for 15 days. A: 0 mg/L Cd; B: 1 mg/L Cd; C: 5 mg/L Cd; D: 10 mg/L Cd; E: 15 mg/L Cd; F: 20 mg/L Cd.

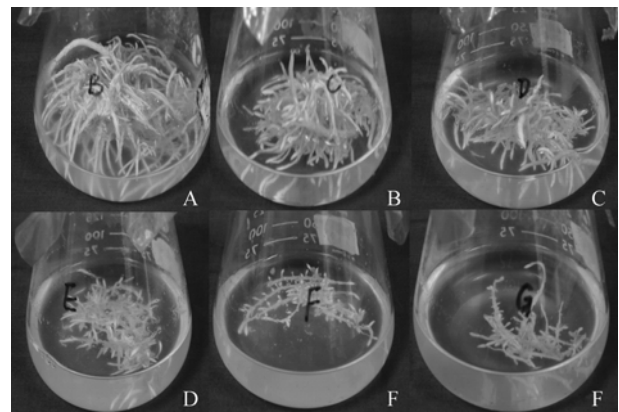


图2 Cd/Zn组合对黄瓜毛状根生长形态的影响

Fig. 2 Effect of Cd in combination with Zn on growth and morphology of *C. sativus* hairy roots. A-F: *C. sativus* hairy roots cultured into medium with different concentration of Cd + 20 mg/L Zn for 15 days. A: 25 mg/L Zn; B: 20 mg/L Zn + 1 mg/L Cd; C: 20 mg/L Zn + 5 mg/L Cd; D: 20 mg/L Zn + 10 mg/L Cd; E: 20 mg/L Zn + 15 mg/L Cd; F: 20 mg/L Zn + 25 mg/L Cd.

Zn组合的培养基中培养15d的生长情形。从图2可见,当黄瓜毛状根在25mg/L Zn加1mg/L Cd或5mg/L Cd中培养时,其主根及所产生的侧根比对照略增粗;而当黄瓜毛状根在25mg/L Zn加10、15和

25 mg/L Cd 中培养时, 随着培养基中 Cd 浓度升高, 黄瓜毛状根主根生长变得十分缓慢或几乎没有生长, 且侧根更加短而小, 数目更少, 且其侧根根尖出现膨大; 其中, 当黄瓜毛状根用 25 mg/L Zn 和 25 mg/L Cd 培养 25 d 时, 不仅黄瓜毛状根的生长被严重抑制, 而且还观察到, 其主根表面呈红色, 所产生的侧根极其短小, 数目极少, 且其根尖明显肿胀(图 2)。

## 2.2 单独 Cd 及 Cd/Zn 组合对黄瓜毛状根可溶性蛋白含量的影响

从图 3 可见, 单独添加 Cd 培养时, 除 10 mg/L Cd 培养的黄瓜毛状根可溶性蛋白含量呈先上升后逐渐下降外, 其余 Cd 浓度培养的黄瓜毛状根可溶性蛋白含量随着培养时间的延长呈逐渐下降的趋势; 其中以 5 mg/L Cd 培养 5 d 的黄瓜毛状根可溶性蛋白含量最高, 表明在培养初期该浓度的 Cd 可促进毛状

根可溶性蛋白的产生; 但随着 Cd 胁迫处理时间的延长, 毛状根的蛋白质合成受阻或合成能力下降。而在含不同浓度 Cd 和 25 mg/L Zn 组合的培养基中培养时, 除培养 5 d 时黄瓜毛状根的可溶性蛋白含量未升高或有所下降外, 在培养后 10~25 d 期间, 无论是在 25 mg/L Zn+低浓度 Cd 组合还是 25 mg/L Zn+高浓度 Cd 组合的培养基中, 其黄瓜毛状根的可溶性蛋白含量均较仅添加对应浓度 Cd 培养的黄瓜毛状根明显提高。这表明, 随着 Cd 胁迫处理时间的延长, Zn 可能通过促进了蛋白水解酶活性, 加强了蛋白质分解, 提高黄瓜毛状根的可溶性蛋白含量来影响重金属 Cd 对黄瓜毛状根的生长。

## 2.3 单独 Cd 及 Cd/Zn 结合对黄瓜毛状根 POD 活性的影响

植物体内的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶

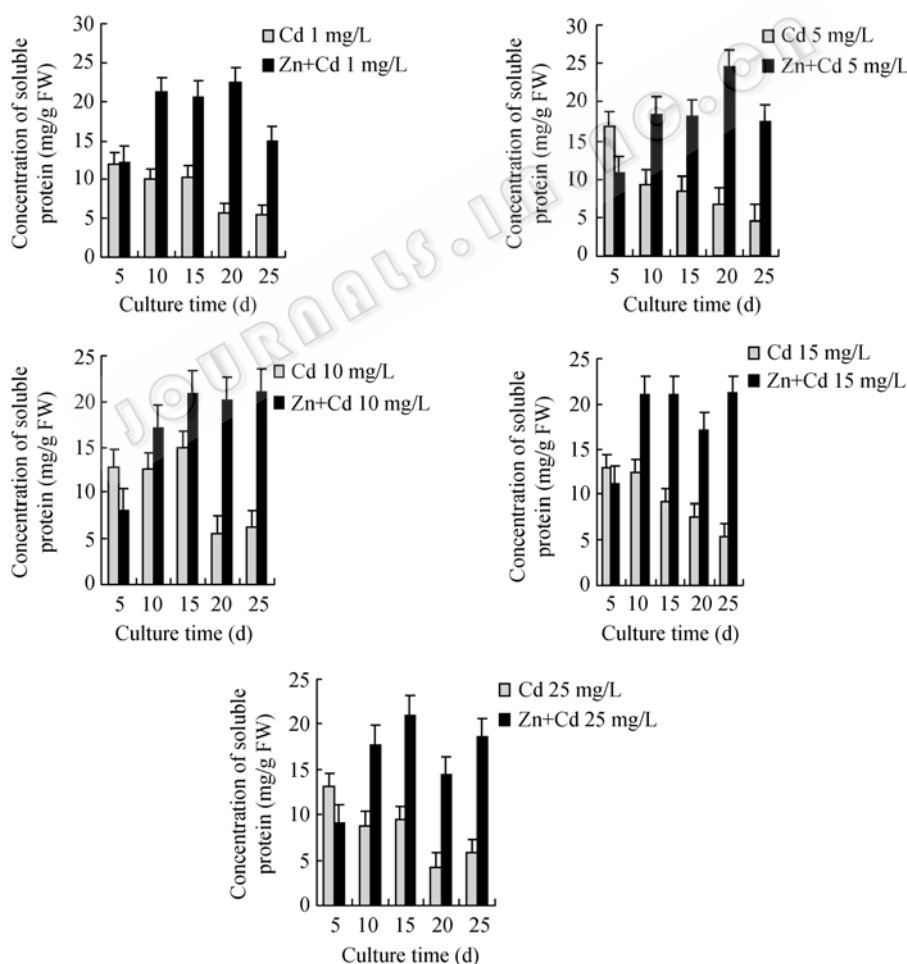


图 3 Cd 单独及 Cd/Zn 组合对黄瓜毛状根可溶性蛋白含量的影响

Fig. 3 Effect of Cd alone and in combination with Zn on the soluble protein content of *C. sativus* hairy roots.

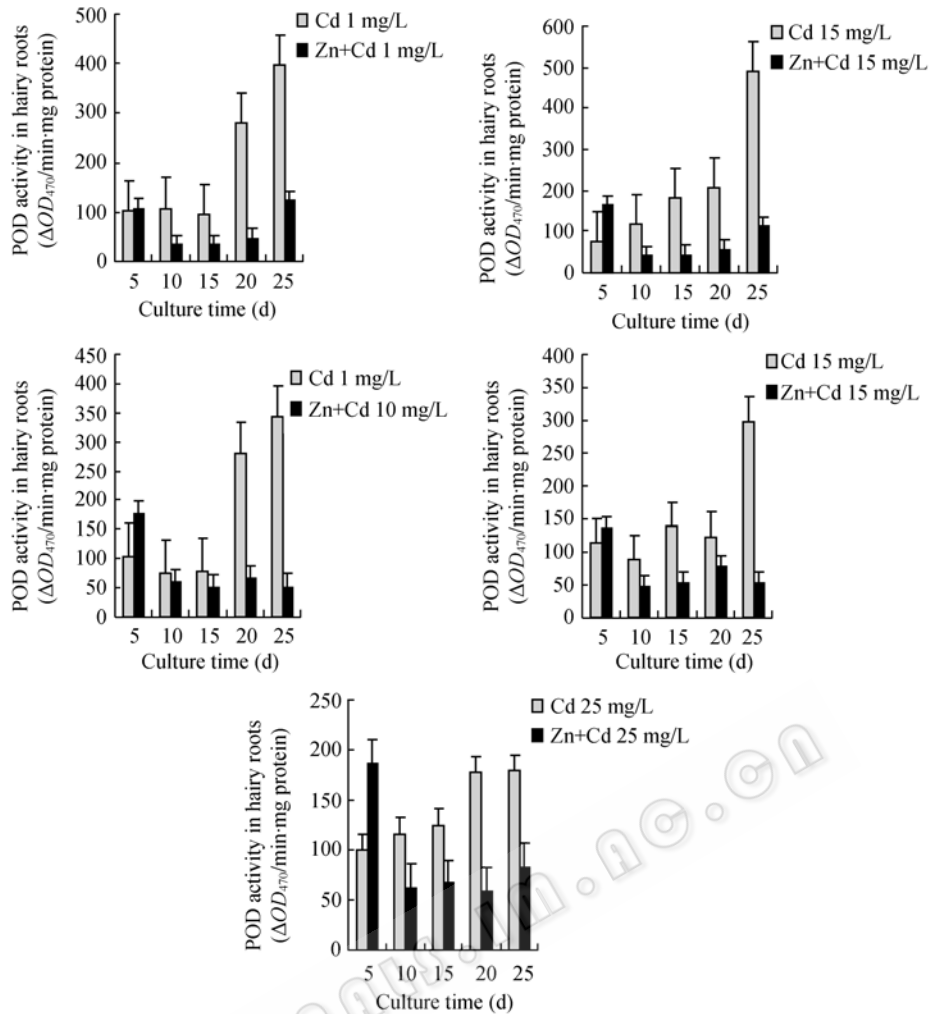


图 4 Cd 单独及 Cd/Zn 结合对黄瓜毛状根 POD 活性的影响

Fig. 4 Effect of Cd alone and in combination with Zn in the medium on POD activity of *C. sativus* hairy roots.

(POD) 是活性氧自由基清除系统中重要的保护酶之一, 其活性的提高是使细胞免受毒害的调节反应。从图 4 可见, 培养基中单独添加不同浓度 Cd 进行培养时, 黄瓜毛状根的 POD 活性大都随着毛状根培养时间的延长而逐渐升高; 表明 Cd 胁迫处理时, 黄瓜毛状根通过提高其抗氧化酶 POD 活性来抵御 Cd 胁迫引起的毒害。而当黄瓜毛状根分别在含相应浓度 Cd+25 mg/L Zn 的培养基中进行培养时, 除培养 5 d 时, 各浓度 Cd+25 mg/L Zn 培养的黄瓜毛状根的 POD 活性均较其相应对照(仅加对应浓度 Cd 而不加 Zn)相当或升高外; 在培养 10~25 d 期间, 随着培养时间的延长, 无论是在 25 mg/L Zn+低浓度 Cd 还是 25 mg/L Zn+高浓度 Cd 的培养基中, 黄瓜毛状根的 POD 活性均较仅添加对应浓度 Cd 培养的黄瓜毛状根明显降低。这表明, 微量元素 Zn 只能在培养初期

通过维持或提高 POD 活性而减轻 Cd 对黄瓜毛状根生长的毒害; 但随着培养时间的延长, Zn 和 Cd 组合则可使黄瓜毛状根的 POD 活性较仅添加对应浓度 Cd 的显著降低; 从而加重 Cd 对毛状根生长的抑制或毒害效果。

#### 2.4 单独 Cd 与 Cd/Zn 组合对黄瓜毛状根 SOD 活性的影响

图 5 为单独 Cd 及其 Cd/Zn 组合对黄瓜毛状根 SOD 活性影响的测定结果。从图 5 可见, 当黄瓜毛状根在仅添加不同浓度 Cd 的液体培养基中进行培养时, 除高浓度 25 mg/L Cd 外, 黄瓜毛状根的 SOD 活性大都随着培养时间的延长而逐渐升高; 表明受 Cd 胁迫后, 黄瓜毛状根通过提高其抗氧化酶 SOD 活性来抵御重金属 Cd 的毒害。而与单独添加不同浓度 Cd 的培养相比, 当黄瓜毛状根在含不同浓度

Cd+25 mg/L Zn 的培养基中培养时, 除培养 5 d 时, 其 SOD 活性均较对应的仅添加相应浓度 Cd 培养的黄瓜毛状根明显升高或相当外; 在培养 10~25 d 期间, 随着培养时间的延长, 黄瓜毛状根的 SOD 活性均较对应的仅添加不同浓度 Cd 培养的黄瓜毛状根显著降低。SOD 作为一种重要的防御酶, 其活性的维持和提高是植物耐受 Cd 胁迫的物质基础之一。该结果表明, 黄瓜毛状根对 Cd 胁迫有一定的耐受能力, 添加微量元素 Zn 仅在培养初期能提高各浓度 Cd 培养的黄瓜毛状根的 SOD 活性, 解除 Cd 对其生长的抑制或毒害; 但随着培养时间的延长, 微量元素 Zn 和 Cd 结合会显著降低黄瓜毛状根的 SOD 活性, 从而加重 Cd 对其生长的抑制或毒害。

### 3 讨论

至今为止, 有关重金属 Cd 对植物生长和毒害的研究大都是通过水培或沙培或盆栽的方法来研究 Cd 对完整植株生长的影响; 未见有关 Cd 对黄瓜毛状根生长影响的系统研究报道。而这些研究表明, 重金属 Cd 对植物生长的影响及其毒害具有剂量效应和因植物类型而异; 并可能是通过损害植物体内的保护酶 POD 和 SOD 活性及蛋白质的合成等变化表现出毒性<sup>[13,14]</sup>。如发现低浓度 Cd (<1 mg/L)能刺激或促进苜蓿生长, 但高浓度 Cd 则抑制其生长; 而且其抗氧化酶 SOD 活性呈先升后降的趋势<sup>[13]</sup>。而 Cd 对小麦幼苗生长的抑制程度也随着 Cd 浓度的增

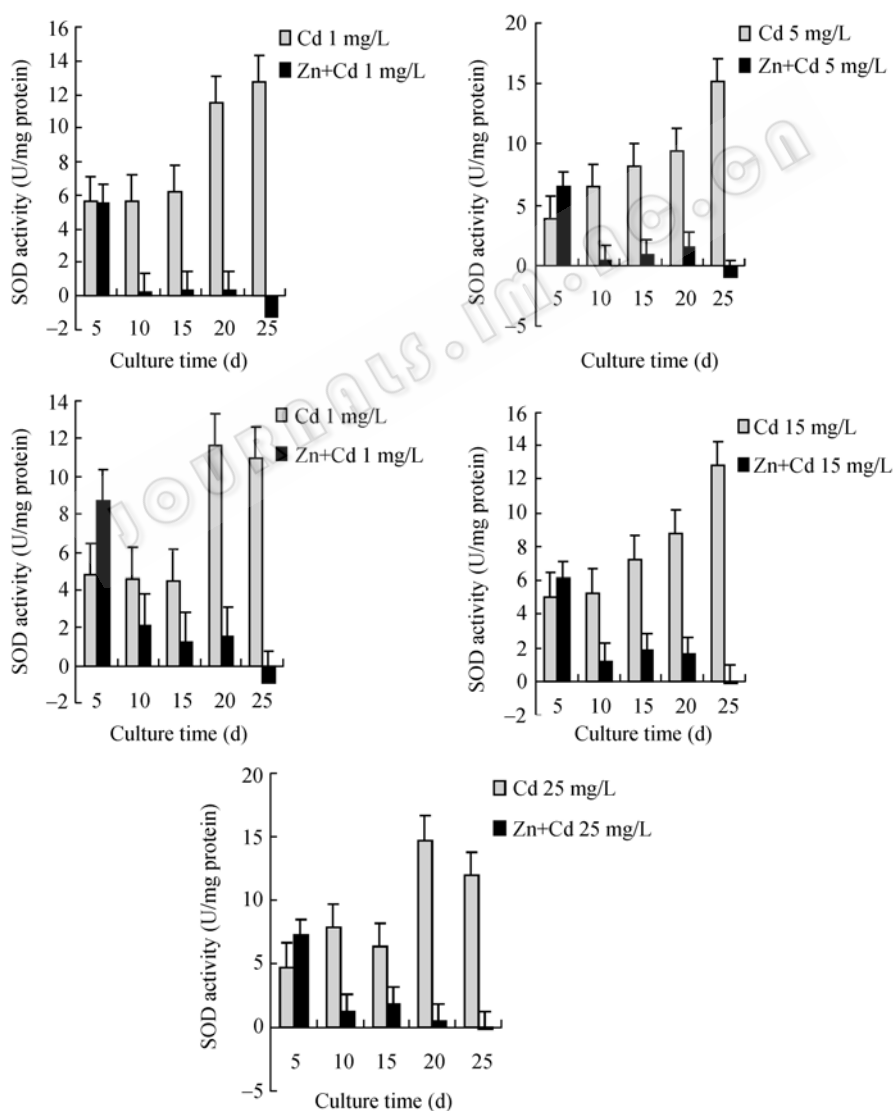


图 5 Cd 单独及 Cd/Zn 组合对黄瓜毛状根 SOD 活性的影响

Fig. 5 Effect of Cd alone and in combination with Zn in the medium on SOD activity in *C. sativus* hairy roots.

高而加重;同时,其SOD和POD活性也随Cd浓度的增加而增加<sup>[15]</sup>。秦天才等还发现,低浓度Cd能促进植物蛋白质合成,但高浓度的Cd则对蛋白质合成起破坏或抑制作用<sup>[16]</sup>。有报道表明,由于受Cd胁迫后增加了抗氧化酶的底物 $O_2^-$ 和 $H_2O_2$ 等,因而低浓度Cd会对SOD和POD存在刺激作用<sup>[17]</sup>。而玉米幼苗受 $Cd^{2+}$ 胁迫时,随着 $Cd^{2+}$ 浓度的增加和 $Cd^{2+}$ 毒害时间的延长,除抑制玉米幼苗生长外,其保护酶SOD和CAT活性降低,POD活性增强,并明显抑制蛋白质合成<sup>[18]</sup>;而这与本实验的结果不完全一致。在本实验中,在培养初期添加低浓度Cd( $\leq 10$  mg/L)能促进毛状根生长,使毛状根增粗和伸长;但高浓度Cd( $\geq 15$  mg/L)则开始抑制黄瓜毛状根的生长,且随着Cd浓度的增大,其抑制作用更明显;同时,在供试的不同浓度Cd培养的黄瓜毛状根中,除10 mg/L Cd培养的黄瓜毛状根可溶性蛋白含量呈先上升后逐渐下降外,其余Cd浓度培养的黄瓜毛状根可溶性蛋白含量随着培养时间的延长而逐渐下降;但不同浓度Cd培养的黄瓜毛状根POD活性大都随着毛状根培养时间的延长而逐渐升高;除高浓度25 mg/L Cd外,其SOD活性则都随着培养时间的延长而逐渐升高。然而,在探讨Cd浓度对不同品种白菜[*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* (L.) Makino]生长及抗氧化酶活性影响时发现,低浓度1 mg/L Cd对两品种白菜生长无显著影响;10 mg/L Cd显著抑制植株生长;1 mg/L Cd显著增加白菜植株的POD活性;而10 mg/L Cd则显著降低植株叶片抗氧化酶SOD、CAT及POD活性<sup>[19]</sup>;因而我们认为这种差异的产生可能与所使用的Cd浓度、处理时间长短、植物类型和毛状根的生长特性有关。

有研究表明,除影响植物生长外,Cd还可影响根的形态及促进侧根的产生。如受 $Cd^{2+}$ 毒害的玉米幼苗生长迟缓,叶尖黄褐,根尖膨大变黑,继而腐烂,且 $Cd^{2+}$ 处理浓度越大,Cd毒害症状出现也越早<sup>[18]</sup>。而对小白菜根系而言,低浓度0.1 mg/L Cd可促进其侧根的发育,而 $\geq 5$  mg/L Cd则可使小白菜根变短变粗,根毛缺乏,侧根分枝减少,根幅变小,根系生物量和体积比对照减少<sup>[16]</sup>。而这与本实验中观察到的结果不完全一致。在本实验中,添加低浓度1 mg/L Cd培养的黄瓜毛状根培养至15 d时,其主、侧根变粗,而随着培养基Cd浓度的加大,毛状根变

得更加粗而短;并且发现,高浓度25 mg/L Cd培养的黄瓜毛状根,其主根很少伸长生长,所产生的侧根极其短小,长度 $\leq 1$  cm。说明Cd对黄瓜毛状根的伸长及其侧根的生长有抑制作用。然而,本实验液体培养黄瓜毛状根所使用的部分Cd浓度分别为10 mg/L、15 mg/L和20 mg/L,尽管所采用的Cd浓度比秦天才等<sup>[16]</sup>水培小白菜所使用的Cd浓度高得多,但却只发现各浓度Cd对毛状根生长的抑制,并未观察到十分明显的Cd毒害症状;表现在黄瓜毛状根即使在高浓度25 mg/L Cd的培养基中培养时,在整个培养过程中其生物量仍然增加;这表明高浓度25 mg/L Cd只对黄瓜毛状根生长产生严重抑制或可能产生轻微毒害,或者表明,由发根农杆菌遗传转化产生的能在无激素培养基上自主生长的黄瓜毛状根具有比一般植物根更高的耐重金属Cd毒害的能力。然而,有研究表明,黄瓜植株的Cd致死浓度低于1.0 mg/L,当Cd浓度在0.1~0.5 mg/L范围时,黄瓜生长明显受到抑制并出现中毒症状<sup>[20]</sup>;而这与本实验的结果明显不一致。我们认为,这种差异的产生可能与植物的类型、植株部位以及毛状根独特的快速自主生长特性等有关。

Zn和Cd属同一簇元素,化学性质相似。有研究表明它们之间主要存在拮抗或协同作用<sup>[6]</sup>,且其影响类型可依植物种类、植物部位、Zn/Cd绝对含量等而异<sup>[21,22]</sup>。如周启星等<sup>[21]</sup>发现,同一土壤中Cd、Zn浓度相同时,在玉米籽实中Cd-Zn表现为互相抑制作用,而在大豆籽实中则表现为促进效应。党锋等<sup>[22]</sup>发现,Zn处理可对Cd毒害产生拮抗作用,减少烟草植株不同部位Cd的浓度。而郭秀璞等<sup>[23]</sup>发现,单独使用 $Zn^{2+}$ (1 mmol/L)就可解除低浓度Cd对小麦的毒害作用;但单独使用Zn不能完全解除高浓度Cd对小麦造成的毒害,说明Zn拮抗Cd的毒害具有剂量效应。此外,采用Cd(10 mmol/L)和Zn(20~200  $\mu$ mol/L)结合培养水生植物(*Ceratophyllum demersum*)时,其SOD、CAT、APX和GPX活性均较只加Cd显著增强,说明Zn可通过提高植物的抗氧化酶活性而产生对Cd的拮抗作用,从而使植物受Cd危害减轻<sup>[24]</sup>。然而,也有相反的报道表明Cd-Zn间具有协同作用。如发现施Zn后可促进水车前*Ottelia alismoides* (Linn.)对Cd的吸收累积及使各浓度Cd培养的水车前植物体内的SOD、POD和CAT

3种防御酶活性降低;而使得Cd对植物的毒害作用增强<sup>[25]</sup>,而这些与本实验的结果不完全一致。不同的是,在本实验中,Cd、Zn同时存在比Cd单独存在时,不仅更加抑制黄瓜毛状根的生长,使毛状根侧根变短,数目减少;而且在含Cd的培养基中添加20 mg/L Zn仅在培养初期能提高各浓度Cd培养的黄瓜毛状根的SOD和POD活性,但随着培养时间的延长,Zn和Cd同时施加会显著降低黄瓜毛状根的SOD和POD活性;这可能说明,随着培养时间延长,Cd、Zn同时存在比Cd单独存在对黄瓜毛状根生长的抑制更严重,表明对不同浓度Cd培养的黄瓜毛状根而言,Zn可能通过降低其抗氧化保护酶SOD和POD活性而加重Cd对黄瓜毛状根生长的抑制作用,即Zn对Cd引起的黄瓜毛状根生长的抑制具有协同或加成作用。而这种Cd和Zn作用差异的产生可能与植物类型、毛状根的独特生长特性以及本实验所用的Zn浓度高低等因素有关。

本实验的结果表明,黄瓜毛状根具有很强的重金属Cd耐受能力;而Zn加Cd复合处理会加重Cd对黄瓜毛状根生长的抑制或毒害作用。本研究的结果为今后研究黄瓜毛状根对重金属Cd的吸收和转化,以及利用黄瓜毛状根及其再生植株来对受重金属Cd污染的环境进行植物修复奠定了相关的前期工作基础和提供了可能性。

## REFERENCES

- [1] Sun TH, Zhou QX, Li PJ. Pollution Ecology. Beijing: Science Press, 2001: 136–292.  
孙铁珩, 周启星, 李培军. 污染生态学. 北京: 科学出版社, 2001: 136–292.
- [2] Boominathan R, Doran PM. Cadmium tolerance and antioxidative defenses in hairy roots of the cadmium hyperaccumulator, *Thlaspi caerulescens*. *Biotechnol Bioeng*, 2003, **83**: 158–167.
- [3] Eapen S, Suseelan KN, Tivarekar S, et al. Potential for rhizofiltration of uranium using hairy root cultures of *Brassica juncea* and *Chenopodium amaranticolor*. *Environ Res*, 2003, **91**: 127–133.
- [4] Santos de Araujo S, Dec J, Bollag JM, et al. Uptake and transformation of phenol and chlorophenols by hairy root cultures of *Daucus carota*, *Ipomoea batatas* and *Solanum aviculare*. *Chemosphere*, 2006, **63**: 642–651.
- [5] Gonzalez PS, Capozucca CE, Tigier HA, et al. Phytoremediation of phenol from wastewater by peroxidase of tomato hairy root cultures. *Enzy Microbial Technol*, 2006, **39**: 647–653.
- [6] Mekenna IM, Chaney RL, Williams FM. The effect of cadmium and zinc interactions on the accumulation and tissue distribution of zinc and cadmium in lettuce and spinach. *Environ Pollut*, 1993, **79**: 113–120.
- [7] Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant*, 1962, **15**: 473–497.
- [8] Shi HP, Qi Y, Zhang Y, et al. Induction of cucumber hairy roots and effect of cytokinin 6-BA on its growth and morphology. *Chin J Biotech*, 2006, **22**(3): 514–520.  
施和平, 齐莹, 张悦, 等. 黄瓜毛状根的诱导及细胞分裂素6-BA对其生长和形态的影响. 生物工程学报, 2006, **22**(3): 514–520.
- [9] Huang WN. Extraction and determination of protein. An experimental guide for modern plant physiology. Beijing: Science Press, 1999: 141–142.  
黄维南. 蛋白质的提取和测定. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999: 141–142.
- [10] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 1976, **72**: 248–254.
- [11] Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase, improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal Biochem*, 1971, **44**: 276–287.
- [12] Zhang ZL, Zhai WJ. A Text-Manual for Plant Physiology. 3rd ed. Beijing: Higher Education Press, 2003: 123–124.  
张志良, 翟伟菁. 植物生理学实验指导. 第三版. 北京: 高等教育出版社, 2003: 123–124.
- [13] Wu XH, Fu BL. Effects of different concentrations of cadmium on growth and antioxidant system in *Medicago sativa* L. *J Heilongjiang Univ(Nat Sci)*, 2005, **3**: 86–88.  
吴旭红, 付本丽. 不同浓度镉对苜蓿生长及抗氧化系统的影响. 黑龙江大学自然科学学报, 2005, **3**: 86–88.
- [14] Muramoto S. Comparison of metal uptake between glutinous and non-glutinous rice for cadmium chloride, oxide and sulfide at the critical levels. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1990, **45**(3): 415–421.
- [15] Zhang LH, Li PJ, Li XM, et al. Effects of cadmium stress on the growth and physiological characteristics of wheat seedlings. *Chin J Ecol*, 2005, **24**(4): 458–460.  
张利红, 李培军, 李雪梅, 等. 镉胁迫对小麦幼苗生长及生理特性的影响. 生态学杂志, 2005, **24**(4): 458–460.
- [16] Qin TC, Wu YS, Wang HX, et al. Effect of cadmium, lead and their interactions on the physiological and ecological characteristics of root system of *Brassica chinensis*. *Acta Ecol Sin*, 1998, **18**(3): 320–325.  
秦天才, 吴玉树, 王焕校, 等. 镉、铅及其相互作用对小白菜根系生理生态效应的研究. 生态学报, 1998, **18**(3): 320–325.
- [17] Wong YS, Luo GH, Kwan KMF. Peroxidation damage of oxygen free radicals induced by cadmium to plant. *Acta*



- Bot Sin*, 1997, **39** (6): 522–526.
- [18] Kong XS, Guo XP, Zhang MX. Effect of cadmium stress on seedling growth and physiology-chemistry of maize. *J Huazhong Agr Univ*, 1999, **18**(2): 111–113.  
孔祥生, 郭秀璞, 张妙霞. 镉胁迫对玉米幼苗生长及生理生化的影响. *华中农业大学学报*, 1999, **18**(2): 111–113.
- [19] Sun GW, Zhu ZJ, Fang XZ. Effects of different cadmium levels on the growth and antioxidant enzymes in *Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* (L.) Makino. *Acta Hort Sin*, 2004, **31** (3): 378–380.  
孙光闻, 朱祝军, 方学智. 不同镉水平对白菜生长及抗氧化酶活性的影响. *园艺学报*, 2004, **31** (3): 378–380.
- [20] Peng WZ, Wang KQ, Hu D, *et al*. Distribution of Cd in cucumber plant and its effect on growth and some physiological properties. *J Agro-Environ Sci*, 2006, **25** (suppl 1): 92–95.  
彭伟正, 王克勤, 胡蝶, 等. 镉在黄瓜植株体内分布规律及其对黄瓜生长和某些生理特性的影响. *农业环境科学学报*, 2006, **25**(增刊 1): 92–95.
- [21] Zhou QX, Gao ZM. Interaction between Cd and Zn in seeds of crops and its mechanism. *Agro-Environ Prot*, 1994, **13** (4): 148–151.  
周启星, 高拯民. 作物籽实中 Cd 与 Zn 的交互作用及其机理的研究. *农业环境保护*, 1994, **13** (4): 148–151.
- [22] Dang F, Jiang RF, Xia LJ. Effects of cadmium and zinc on growth and cadmium concentration of flue-cured tobacco. *J Agro-Environ Sci*, 2007, **26**(2): 713–717.  
党锋, 江荣风, 夏立江. Cd Zn 处理对烤烟生长和烟株 Cd 含量的影响. *农业环境科学学报*, 2007, **26**(2): 713–717.
- [23] Guo XP, Kong XS, Zhang MX, *et al*. Buffer effect of zinc on cadmium toxic of wheat. *J Henan Agr Univ*, 1999, **2**: 211–214.  
郭秀璞, 孔祥生, 张妙霞, 等. 锌对小麦镉毒害的缓解效应. *河南农业大学学报*, 1999, **2**: 211–214.
- [24] Aravind P, Prasad MNV. Zinc alleviates cadmium-induced oxidative stress in *Ceratophyllum demersum* L: a free floating freshwater macrophyte. *Plant Physiol Biochem*, 2003, **41**: 391–397.
- [25] Xu QS, Shi GX, Zhou HW, *et al*. Effects of Cd and Zn combined pollution on chlorophyll content and scavenging system of activated oxygen in leaves of *Ottelia alismoides* (L.) Pers. *Chin J Ecol*, 2003, **22**(1): 5–8.  
徐勤松, 施国新, 周红卫, 等. Cd、Zn 复合污染对水车前叶绿素含量和活性氧清除系统的影响. *生态学杂志*, 2003, **22**(1): 5–8.



## 2009 年中科院微生物所期刊联合编辑部联合征订全面启动



《微生物学报》月刊(每月 4 日出版), 单价 55.00 元, 全年定价 660 元。刊号: ISSN 0001-6209; CODEN WSHPA8。国内邮发代号: 2-504; 国外邮发代号: BM67。

《生物工程学报》月刊(每月 25 日出版), 单价 65.00 元, 全年定价 780 元。刊号: ISSN 1000-3061; CODEN SGXUED。国内邮发代号: 82-13; 国外邮发代号: BM5608。

《微生物学通报》月刊(每月 20 日出版), 单价 48.00 元, 全年定价 576 元。刊号: ISSN 0253-2654; CODEN WSWPDI。国内邮发代号: 2-817; 国外邮发代号: BM413。

《菌物学报》双月刊(单月 15 日出版), 单价 80.00 元, 全年定价 480 元。刊号: ISSN 1672-6472, CODEN JXUUAЕ。国内邮发代号: 2-499; 国外邮发代号: Q723。

欢迎广大读者直接与本刊发行部联系订购, 我们将按期免费为您邮寄

汇款地址: (100101)北京市朝阳区大屯路中科院微生物所 B401

收信人: 《 》编辑部; 电话: (010)64807521; E-mail: bjb@im.ac.cn

请在附言处注明“订刊费”及所订期刊名称、年代、卷、期和数量

欲知详细信息请查看如下网址: <http://journals.im.ac.cn>