

重金属镉胁迫下氮磷对江蓠体内主要抗氧化酶活性的影响

张皓

(常州市环境监测中心, 江苏 常州 213001)

摘要:以大型海藻细基江蓠繁枝变种(*Gracilaria tunuistipitata* Var *Liui*)为实验材料,研究重金属 Cd²⁺胁迫下,无机氮磷作用对藻体各类抗氧化酶类活性的影响,为进一步探索重金属和营养盐复合污染下江蓠对水体的修复能力奠定一定的理论基础。实验结果显示:适当浓度 N、P(560 μmol/L、56 μmol/L)的添加能提高藻体内各主要抗氧化酶的活性,降低 Cd²⁺对藻体的毒害作用。不加入 N、P 或加入过量的 N、P(2 160 μmol/L、216 μmol/L)均会抑制藻体内各主要抗氧化酶的活性。从总体上看,同时加入 N、P 要比加入单一的营养盐更有利于提高藻体内各主要抗氧化酶的活性,增强藻体的抗氧化能力。

关键词:细基江蓠繁枝变种;镉胁迫;抗氧化酶

中图分类号:

文献标识码:

文章编号:1674-6732(2012)-06-0046-04

The Effect on the Activity of *Gracilaria*'s Antioxidant Enzymes in Different Conditions of Nitrogen and Phosphorus under Cadmium Stress

ZHANG Hao

(Changzhou Environmental Monitoring Center, Changzhou, Jiangsu 213001, China)

ABSTRACT: In this experiment, we used large algae (*Gracilaria tunuistipitata* Var *Liui*) as a base of experimental materials to study the impact of N, P on the antioxidant enzymes of *Gracilaria* under cadmium stress. Through those experiments, we wanted to lay the theoretical foundation of the *Gracilaria*'s repair capacity of the water in order to further explore the combined pollution of heavy metals and nutrients. The result showed that adding appropriate concentration of N, P(560 μmol/L, 56 μmol/L) could improve the activity of antioxidant enzymes inside algae, however without N, P or adding excess N, P(2 160 μmol/L, 216 μmol/L) could restrain the activity. Overall, adding N, P at the same time was better than adding a single nutrient in improving the activity of antioxidant enzymes inside algae and increasing the antioxidant capacity of algae.

KEY WORDS: *Gracilaria tunuistipitata* Var *Liui*; cadmium stress; antioxidant enzymes

0 引言

近年来,随着沿海经济建设的不断发展,近海养殖水域富营养化和重金属污染的趋势愈加严峻^[1,2]。已有许多学者开展了利用江蓠对富营养化海域进行生物修复的研究^[3,4],而有关江蓠对于海域富营养化和重金属复合污染的生物修复和生物监测的报道十分鲜见。由于营养盐和重金属对水体的污染几乎是同步进行的,这些污染物之间或多或少地存在一定的相乘或拮抗作用,无法根据它们各自独立的作用过程来预测其共同导致的环境影响^[5]。因而,研究它们对近海养殖水域生态环境的复合作用显得十分必要。江蓠是经济价值较高的海藻,广泛分布在世界的热带、亚热带和温带地区。它在现代食品工业、化妆品工业、生物工程研究和生态修复等方面具有

广泛的应用前景^[6]。因此,本实验选用大型海藻细基江蓠繁枝变型(*Gracilaria tunuistipitata* Var)为实验材料,研究在重金属 Cd 胁迫下,不同浓度氮磷营养盐地加入对江蓠藻体内各主要抗氧化酶活性的影响。这对于进一步探索江蓠 Cd 耐受机制以及重金属和营养盐复合污染条件下,江蓠对水体的实际修复能力均有十分重要的理论意义^[7]。

收稿日期: 2012-11-29

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项项目(2012ZX07506-003)。

作者简介: 张皓(1984—),男,工程师,硕士,主要从事生物多样性和生态毒理方面的研究。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

试验用江蓠采自福建沿海,经空运带回实验室后的鲜活藻体除去表面附着杂藻,用过滤海水冲洗干净,移植到光照条件下盛有 15 L 水体的水族箱(容积为 20 L)中预培养,加入 f/2 配方的微量元素并保持 NP 饥饿(不加 NP),水体盐度为 28,pH 值为 8.0,水温为 23 ± 0.5℃;光照周期为 12L:12D,强度为 80 μmol. photons. m⁻². s⁻¹。期间每隔 2d 添加除 NP 以外的营养盐 1 次,每天不定时搅水或充气 4 ~ 6 次以保持藻体健康。

1.2 实验方法

根据预先进行的 N、P 和 Cd²⁺ 单因子试验结果,将三种因素均设定为零、中、高三个水平,N 按 NH₄⁺ -N: NO₃⁻ -N = 3: 1、P 以 PO₄₃⁻ -P 形式添加,均为每 2 d 加富一次,以保持浓度。按下表所示进行组合并分组,每组设 2 个平行。在每个 500 mL 水体的三角瓶内分别装入健康藻体 3 ± 0.2 g,并按照实验设计的浓度梯度分别加入培养液和 CdCl₂。实验结果采用 F 值方差分析法进行显著性差异分析。取 α = 0.05,此时 F > 19 时,有显著性差异;F ≤ 19 时,无显著性差异。

表 1 不同 N、P 浓度条件下, 江蓠对 Cd 胁迫生理生化响应的实验分组			
组号	N/(μmol/L)	P/(μmol/L)	Cd/(mg/L)
1	0	216	2.5
2	0	0	2.5
3	2 160	0	2.5
4	560	0	2.5
5	560	216	2.5
6	560	56	2.5
7	0	56	2.5
8	2 160	56	2.5

1.3 实验设计

SOD 酶,过氧化氢酶(CAT),过氧化酶(POD)等抗氧化酶活性的测定采用南京建成生物工程研究所的试剂盒,统一按照说明书进行测定和计算。

2 结果与分析

2.1 Cd 胁迫环境下,不同 N、P 浓度对江蓠 SOD 活性的影响

图 1 显示了在 Cd 胁迫条件下,N 盐浓度变化对

江蓠 SOD 活性的影响。随着 N 盐浓度的增高,江蓠的 SOD 活性均呈现出先上升后下降的趋势。经方差分析显示,当 N 盐浓度为 560 μmol/L 时,江蓠 SOD 活性均分别显著高于相应其他各组(*p* < 0.05),当 N 盐浓度为 2 160 μmol/L 时,江蓠 SOD 活性均分别显著低于相应其他各组(*p* < 0.05);同一 N 盐浓度下,P 盐浓度为 56 μmol/L 时的江蓠 SOD 活性显著高于 P 盐浓度为 0 μmol/L 时江蓠 SOD 活性(*p* < 0.05)。图 2 显示了在 Cd 胁迫条件下,P 盐浓度变化对江蓠 SOD 活性的影响。随着 P 盐浓度的增高,江蓠 SOD 活性均呈现出先上升后下降的趋势。经方差分析显示,当 P 盐浓度为 56 μmol/L 时,江蓠 SOD 活性均分别显著高于相应其他各组(*p* < 0.05),当 P 盐浓度为 216 μmol/L 时,江蓠 SOD 活性均分别显著低于相应其他各组(*p* < 0.05);同一 P 盐浓度下,N 盐浓度为 560 μmol/L 时的江蓠 SOD 活性显著高于 N 盐浓度为 0 μmol/L 时江蓠 SOD 活性(*p* < 0.05)。

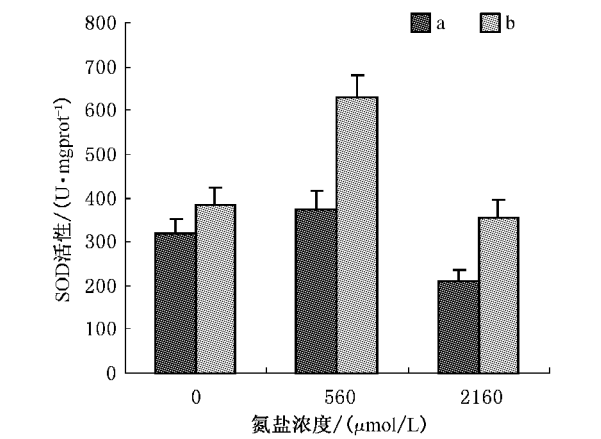


图 1 Cd 胁迫条件下,N 盐浓度变化对江蓠 SOD 活性的影响(a:P 为 0 μmol/L,b:P 为 56 μmol/L)

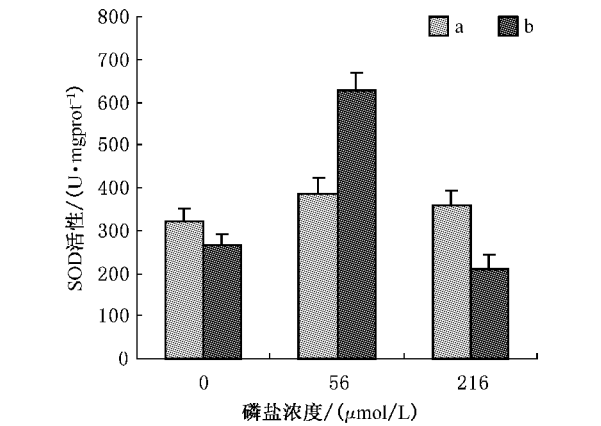


图 2 Cd 胁迫条件下,P 盐浓度变化对江蓠 SOD 活性的影响(a:N 为 0 μmol/L,b:N 为 560 μmol/L)

2.2 Cd 胁迫环境下, 不同 N、P 浓度对江菰 POD 活性的影响

图 3 显示了在 Cd 胁迫条件下, N 盐浓度变化对江菰 POD 活性的影响。随着 N 盐浓度的增高, 江菰的 POD 活性均呈现出先上升后下降的趋势。经方差分析显示, 当 N 盐浓度为 560 $\mu\text{mol/L}$ 时, 江菰 POD 活性均分别显著高于相应其他各组 ($p < 0.05$), 当 N 盐浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$ 时, 江菰 POD 活性均分别显著低于相应其他各组 ($p < 0.05$); 同一 N 盐浓度下, P 盐浓度为 56 $\mu\text{mol/L}$ 时的江菰 POD 活性显著高于 P 盐浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$ 时江菰 POD 活性 ($p < 0.05$)。图 4 显示了在 Cd 胁迫条件下, P 盐浓度变化对江菰 POD 活性的影响。随着 P 盐浓度的增高, 江菰 POD 活性均呈现出先上升后下降的趋势。经方差分析显示, 当 P 盐浓度为 56 $\mu\text{mol/L}$ 时, 江菰 POD 活性均分别显著高于相应其他各组 ($p < 0.05$), 当 P 盐浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$ 时, 江菰 POD 活性均分别显著低于相应其他各组 ($p < 0.05$); 同一 P 盐浓度下, N 盐浓度为 560 $\mu\text{mol/L}$ 时的江菰 POD 活性显著高于 N 盐浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$ 时江菰 POD 活性 ($p < 0.05$)。

2.3 Cd 胁迫环境下, 不同 N、P 浓度对江菰 CAT 活性的影响

图 5 显示了在 Cd 胁迫条件下, N 盐浓度变化对江菰 CAT 活性的影响。随着 N 盐浓度的增高, 江菰的 CAT 活性均呈现出先上升后下降的趋势。经方差分析显示, 当 N 盐浓度为 560 $\mu\text{mol/L}$ 时, 江菰 CAT 活性均分别显著高于相应其他各组 ($p < 0.05$), 当 N 盐浓度为 2 160 $\mu\text{mol/L}$ 时, 江菰 CAT 活性均分别显著低于相应其他各组 ($p < 0.05$); 同一 N 盐浓度下, P 盐浓度为 56 $\mu\text{mol/L}$ 时的江菰 CAT 活性显著高于 P 盐浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$ 时江菰 CAT 活性 ($p < 0.05$)。图 6 显示了在 Cd 胁迫条件下, P 盐浓度变化对江菰 CAT 活性的影响。随着 P 盐浓度的增高, 江菰 CAT 活性均呈现出先上升后下降的趋势。经方差分析显示, 当 P 盐浓度为 56 $\mu\text{mol/L}$ 时, 江菰 CAT 活性均分别显著高于相应其他各组 ($p < 0.05$), 当 P 盐浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$ 时, 江菰 CAT 活性均分别显著低于相应其他各组 ($p < 0.05$); 同一 P 盐浓度下, N 盐浓度为 560 $\mu\text{mol/L}$ 时的江菰 CAT 活性显著高于 N 盐浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$ 时的江菰 CAT 活性 ($p < 0.05$)。

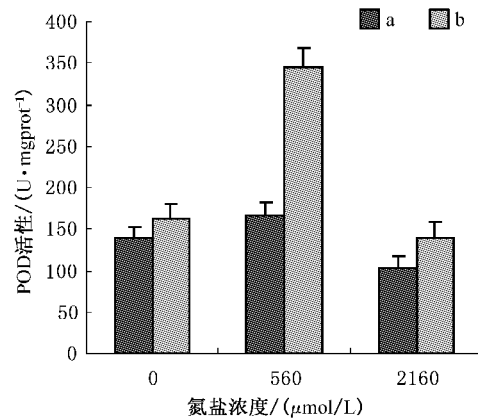


图 3 Cd 胁迫条件下, N 盐浓度变化对江菰 POD 活性的影响 (a: P 为 0 $\mu\text{mol/L}$, b: P 为 56 $\mu\text{mol/L}$)

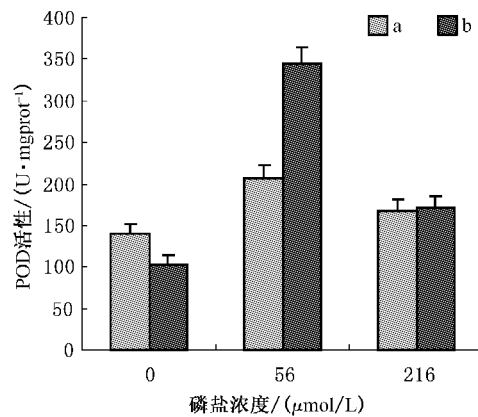


图 4 Cd 胁迫条件下, P 盐浓度变化对江菰 POD 活性的影响 (a: N 为 0 $\mu\text{mol/L}$, b: N 为 560 $\mu\text{mol/L}$)

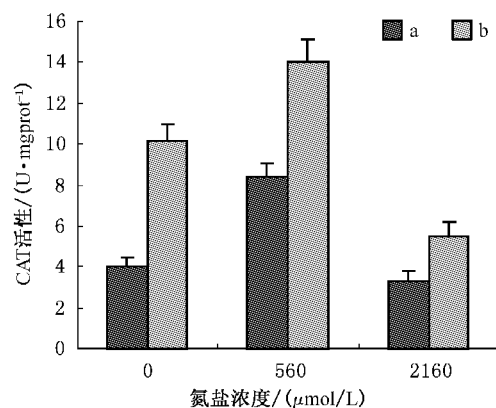


图 5 Cd 胁迫条件下, N 盐浓度变化对江菰 CAT 活性的影响 (a: P 为 0 $\mu\text{mol/L}$, b: P 为 56 $\mu\text{mol/L}$)

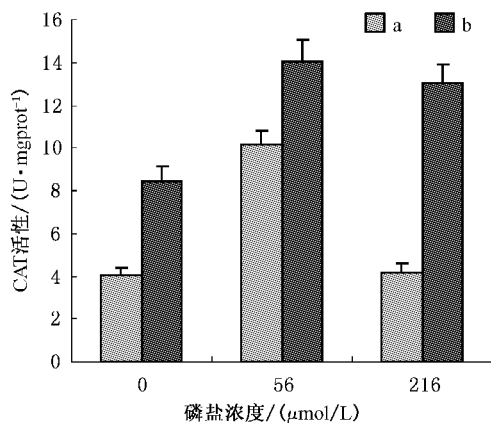


图6 Cd胁迫条件下,P盐浓度变化对江蓠CAT活性的影响(a:N为0 μmol/L,b:N为560 μmol/L)

3 讨论

SOD酶是生物体内重要的保护酶之一^[7,8],可有效清除生物体内的氧自由基。它可将 $O^{\cdot 2}$ 歧化为 H_2O_2 与 O_2 ,控制膜脂过氧化,减少膜系统的伤害。POD是植物体内常见的氧化还原酶,可催化形成 H_2O ^[9],从而有效防止 H_2O_2 在植物体内的积累。SOD和POD协同作用,可排除这些氧化产物对植物细胞膜结构的潜在伤害。CAT则是一种酶类清除剂,又称为触酶,是以铁卟啉为辅基的结合酶。它可促使 H_2O_2 分解为分子氧和水,清除体内的过氧化氢,从而使细胞免于遭受 H_2O_2 的毒害,是生物防御体系的关键酶之一^[10]。从上述结果分析可以看出,当不加N、P时,Cd胁迫下江蓠生长受到抑制,无法获得足够营养元素的藻体不能顺利进行各类代谢,蛋白合成无法顺利进行,作为蛋白类的SOD、POD、CAT酶合成受阻,其活性较低。当加入适中浓度的N盐(560 μmol/L)或P盐(56 μmol/L)后,藻体获得了足够的生理代谢所需的营养元素,能顺利进行各类代谢,SOD、POD、CAT酶活性较高,藻体膜系统恢复正常运行,能较好地抵御 Cd^{2+} 的侵入,且体内的自由基和过氧化产物被大量清除,藻类能保持一个健康生长的状态。当加入N盐(2160 μmol/L)或P盐(216 μmol/L)过高时,易形成重金属 Cd^{2+} 和营养盐的双重胁迫,此时藻体生长再次受到抑制,藻体膜系统遭到重金属

离子的破坏,自由基大量在藻体内聚集,导致膜脂过氧化,藻类不再能顺利从水体中吸收代谢所需的营养盐,蛋白合成停滞,因此SOD、POD、CAT酶的活性较低。此外,同时加入N、P要比加入单一的营养盐更有利于提高藻体的SOD、POD、CAT酶活性。

4 结论

(1) 适当浓度N、P(560 μmol/L、56 μmol/L)的添加能提高藻体内各主要抗氧化酶的活性,降低 Cd^{2+} 对藻体的毒害作用。不加入N、P或加入过量的N、P(2160 μmol/L、216 μmol/L)均会抑制藻体内各主要抗氧化酶的活性。

(2) 从总体上看,同时加入N、P要比加入单一的营养盐更有利于提高藻体内各主要抗氧化酶的活性,增强藻体的抗氧化能力。

[参考文献]

- [1] 朱歆莹,高为,钟运建. 重金属离子对斜生栅列藻毒性的研究[J]. 环境监控与预警,2010,2(5):44-45.
- [2] 刘杜娟. 中国沿海地区海水入侵现状与分析[J]. 地质灾害与环境保护,2004,15(1):31-36.
- [3] 杨宇峰,费修纭. 大型海藻对富营养化海水养殖区生物修复的研究与展望[J]. 青岛海洋大学学报,2003,33(1):53-57.
- [4] FEI X. G. Solving the coastal eutrophication problem by large scale seaweed cultivation[J]. Hydrobiologia, 2004, 512(1-3): 145-151.
- [5] NELSON S G, GLENN E P, CONN J, et al. Cultivation of *Gracilaria parvispora* (Rhodophyta) in shrimp farm effluent ditches and floating cages in Hawaii: a two-phase polyculture system[J]. Aquaculture, 2001,193:239-248.
- [6] 汤坤贤. 龙须菜对富营养化海水的生物修复[J]. 生态学报, 2005,25(11):3044-3050.
- [7] 李建宏,浩云涛,翁永萍. Cd^{2+} 胁迫条件下椭圆小球藻(*Chlorella ellipsoidea*)的生理应答[J]. 水生生物学报,2004,28(6):659-663.
- [8] SCANDALIOS J G. Oxygen stress and super oxide dismutases[J]. Plantphysio,1993,101:7-12.
- [9] PAULA K P, THOMPSON J E. Evidence for the accumulation of peroxidized lipids in membranes of senescing cotyledons[J]. Plant Physiol,1984,75:1152-1157.
- [10] 李仕飞,刘世同. 分光光度法测定植物过氧化氢酶活性的研究[J]. 安徽农学通报,2007,13(2):72-73.