

砷胁迫对不同砷富集能力植物叶片抗氧化酶活性的影响

谢 飞, 王宏镔, 王海娟, 尧彦倬

(昆明理工大学环境科学与工程学院, 云南 昆明 650093)

摘要:采用室内水培试验方法,研究了砷胁迫($0\sim50 \text{ mgAs}\cdot\text{L}^{-1}$)对砷超富集植物大叶井口边草(*Pteris cretica* var. *nervosa*)和非砷超富集植物剑叶凤尾蕨(*Pteris ensiformis*)叶片的过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性以及丙二醛(MDA)含量和自由基 O_2^{\cdot} 产生速率的影响,并研究了 $25 \text{ mgAs}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理下上述6种指标的时间动态。结果表明,随着砷浓度升高,除APX外,剑叶凤尾蕨叶片的CAT、POD和SOD活性受到很大抑制,而大叶井口边草叶片这3种酶的活性能够维持,特别是POD活性显著增加;大叶井口边草叶片的MDA含量降低,剑叶凤尾蕨则升高;剑叶凤尾蕨叶片中的 O_2^{\cdot} 产生速率比大叶井口边草增加显著。从时间动态看,随处理时间的延长,大叶井口边草叶片中的CAT和APX活性先降低再升高,POD活性显著增加,SOD活性变化不显著;剑叶凤尾蕨叶片的POD和SOD活性显著降低,APX活性无显著变化,CAT活性则先降低后升高;两种供试植物叶片的MDA含量第6 d时均出现明显下降,但大叶井口边草叶片中 O_2^{\cdot} 的产生速率在第6 d则显著增加,而后降至实验初始时的水平。总起来看,砷超富集植物大叶井口边草比非砷超富集植物剑叶凤尾蕨具有更强的抗氧化能力,并且POD在其抗氧化体系中起关键作用。

关键词:砷;抗氧化酶;大叶井口边草;剑叶凤尾蕨

中图分类号:Q945.78 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2009)07-1379-07

Effects of Arsenic Stress on Activities of Antioxidant Enzymes in the Fronds of Plants with Different Abilities to Accumulate Arsenic

XIE Fei, WANG Hong-bin, WANG Hai-juan, YAO Yan-zhuo

(School of Environmental Sciences and Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650093, China)

Abstract: The effects of arsenic(As) stress($0, 5, 25, 50 \text{ mgAs}\cdot\text{L}^{-1}$) on activities of catalase(CAT), peroxidase(POD), superoxide dismutase(SOD) and ascorbate peroxidase(APX) as well as malondialdehyde(MDA) content and production rate of free radical O_2^{\cdot} in the fronds of As hyperaccumulator(*Pteris cretica* var. *nervosa*) and non-hyperaccumulator(*Pteris ensiformis*) were evaluated by hydroponic experiments. In addition, the variations of these six indexes along with time under $25 \text{ mgAs}\cdot\text{L}^{-1}$ stress were also studied. Results showed that increased inhibition of CAT, POD and SOD activities were observed in the fronds of *P. ensiformis* with increasing As concentrations except for APX. However for *P. ensiformis*, the activities of CAT, POD and SOD were maintained, and POD activity was enhanced under the stress of As. MDA contents in the fronds of *P. cretica* var. *nervosa* were depressed by As, but *P. ensiformis* showed the opposite trend. The production rate of free radical O_2^{\cdot} in the fronds of *P. ensiformis* increased more significantly compared with *P. cretica* var. *nervosa* in the presence of As. For *P. cretica* var. *nervosa*, CAT and APX activities decreased followed by an increase with extended time, POD activity increased significantly, but no significant change in SOD activity was observed with time. In the case of *P. ensiformis*, the activities of POD and SOD decreased significantly, CAT activity decreased and then increased, while APX activity did not show any significant change along with time. MDA contents in both plants decreased significantly starting from the sixth day. O_2^{\cdot} production rate in the fronds of *P. cretica* var. *nervosa* increased significantly in the sixth day, then decreased to the initial level with extended time. These findings indicate that the antioxidative ability of *P. cretica* var. *nervosa* is superior to that of *P. ensiformis* under As stress, and POD plays an important role in the antioxidative system.

Keywords: arsenic; antioxidant enzymes; *Pteris cretica* var. *nervosa*; *Pteris ensiformis*

收稿日期:2008-12-24

基金项目:国家自然科学基金项目(30600081);云南省应用基础研究计划项目(2006C0015Q);昆明理工大学人才科研基金项目(14118016);昆明理工大学研究生课外学术科技创新基金(ycb0720)

作者简介:谢 飞(1980—),男,安徽铜陵人,在读硕士,主要从事污染生态学和环境生物学研究。E-mail:fayex2002@163.com

通讯作者:王宏镔 E-mail:whb1974@126.com

砷(As)是一种变价元素,具有剧毒、致畸、致癌和致突变效应^[1],砷污染已严重损害了土壤、水体和大气的环境质量^[2]。修复砷污染环境的方法有很多,其中植物修复技术具有经济有效、环境友好和操作简便等优点,受到国内外的广泛关注。自从 Ma 等^[3]、Chen 等^[4]独立发现凤尾蕨属植物蜈蚣草(*Pteris vitata*)能超富集 As 以来,多种砷超富集植物相继被发现,如粉叶蕨(*pityrogramma calomelanos*)^[5]、大叶井口边草(*Pteris cretica* var. *nervosa*)^[6]、井栏边草(*pteris multifida*)、斜羽凤尾蕨(*pteris oshimensis*)、金钗凤尾蕨(*pteris fauriei*)和紫轴凤尾蕨(*pteris aspericaulis*)等^[7-8],同时也发现了凤尾蕨属中一些非砷超富集植物,如半边旗(*Pteris semipinnata*)^[7]、剑叶凤尾蕨(*Pteris ensiformis*)^[8]等,同属而不同砷富集能力植物的发现,为比较生理学的研究提供了丰富的植物种质资源。植物对环境胁迫具有一定的抵抗能力,植物细胞膜酶保护系统如超氧化物歧化酶(SOD)^[9]、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)等,它们在因活性氧引起的植物抗氧化胁迫中具有重要功能,能有效去除活性氧自由基^[10-11]。抗氧化酶活性的增加既是一种保护机制,也表明植物受到了胁迫。试验表明,不同植物对逆境反应存在的差异与抗氧化系统的整体活力相关。丙二醛(MDA)是细胞膜脂过氧化作用的产物之一,它的产生能加剧膜的损伤。因此,丙二醛产生数量的多少能够代表膜脂过氧化程度,也可间接反映植物组织抗氧化能力的强弱^[12]。植物体在正常的生长发育过程中会产生一定量的活性氧,主要有 O₂⁻、H₂O₂、·OH、·O₂等^[13]。研究表明,植物在各种逆境下细胞内产生的活性氧自由基对植物抗逆性调控因子的表达和细胞凋亡调控具有重要意义^[14-15]。

本研究通过室内水培试验,设置一系列砷浓度梯度,以凤尾蕨属中砷超富集植物大叶井口边草(*P. cretica* var. *nervosa*)和非砷超富集植物剑叶凤尾蕨(*P. ensiformis*)为试验材料,并在一定的时间梯度上,比较这两种植物 CAT、POD、SOD、APX 的活性,MDA 含量以及自由基 O₂⁻产生速率。

1 材料与方法

1.1 供试植物

大叶井口边草(*P. cretica* var. *nervosa*)采自昆明理工大学校园,剑叶凤尾蕨(*P. ensiformis*)采自云南省红河州屏边县郊区。将两种植物的幼苗(4~5 cm 高,

带3~4片小叶)带回实验室后,在温室中用清洁土壤培养2个月,让其长成带6~7片小叶的均匀一致的植株进行下一步试验。

1.2 试验处理

用1/2浓度的Hoagland营养液培养,将长势基本一致的大叶井口边草和剑叶凤尾蕨分别加入0(对照)、5、25和50 mg·L⁻¹的含砷营养液培养(以Na₂HAsO₄·7H₂O形式加入,砷离子浓度以纯砷计),各处理重复3次,每5 d 更换1次营养液。为了研究酶活性随胁迫时间的动态变化情况,以25 mg·L⁻¹含砷营养液处理两种植物,在试验开始后的1、6、11、16、21 d 分别取样测定,重复3次。整个培养试验在温室自然光照下完成,室温(20~25)℃。

1.3 粗酶液的制备和处理

称取植物叶片1 g,加入5倍量(m:V)的pH 7.0磷酸缓冲液(PBS),冰浴研磨,15 000 r·min⁻¹离心15 min,取部分上清液经适当稀释后用于CAT、POD、SOD活性测定^[16]。

称取植物叶片0.5 g,按1:5(m:V)加入预冷的pH 7.8 PBS,研磨后在10 000 g条件下离心10 min,上清液用于APX活性测定^[17]。

称取植物叶片0.5 g,加10%三氯乙酸(TCA)5 mL研磨后,3 000 r·min⁻¹离心10 min,上清液用于MDA含量测定^[16]。

取植物叶片1 g,加入5 mL 10 mmol·L⁻¹盐酸羟胺,真空渗入后,将试管置于30 ℃温箱中温浴45 min,然后吸取2 mL溶液,与1 mL对氨基苯磺酸和1 mL α-萘胺充分混合,约10 min完成显色反应,显色后的混合液如有混浊可在2 500 g条件下离心10 min,上清液用于自由基O₂⁻产生速率的测定^[18]。

1.4 测定方法

过氧化氢法测定CAT活性,在752分光光度计上测定240 nm处OD降低速度,酶活性单位为U·g⁻¹FW;愈创木酚法测定POD活性,在470 nm处测定OD增加速度,酶活性单位为U·g⁻¹FW;氮蓝四唑(NBT)光还原法测定SOD活性,在560 nm处测定反应液OD值,酶活性单位为U·g⁻¹FW; H₂O₂法测定APX,在290 nm处测定OD值的变化,酶活性单位为μmol·g⁻¹FW·min⁻¹;硫代巴比妥酸(TBA)法测定MDA,分别于532、600和450 nm处测定OD值,浓度单位为μmol·g⁻¹FW;羟胺氧化法测定自由基O₂⁻产生速率,在530 nm处测定OD值,速率单位为nmol·min⁻¹·mg⁻¹FW。具体试验方法参看文献[16-18]。

1.5 数据处理

实验结果用 SPSS 14 软件进行方差分析(ANOVA),采用 Tucky 法进行多重比较,显著性水平 P 取 0.05。

2 结果与分析

2.1 砷胁迫对植物生长的影响

第 3 d $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理下的非砷超富集植物剑叶凤尾蕨的叶片即出现了毒害现象, 第 11 d $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 砷处理也出现了毒害现象, 第 16 d 时, 已有部分 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 砷处理的剑叶凤尾蕨枯萎死亡; 而砷超富集植物大叶井口边草在试验过程中长势基本良好, 仅在 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 砷浓度处理 20 d 时有少许叶片出现了毒害现象。由于水培时间较短, 水培后两种供试植物的生物量未发生显著变化。根据随机取样测定结果($n=5$), 试验末期大叶井口边草(*P. cretica* var. *nervosa*)单株株高(10.03 ± 2.61)cm, 鲜重(4.82 ± 0.84)g, 干重(1.95 ± 0.34)g; 剑叶凤尾蕨(*P. ensiformis*)单株株高(9.67 ± 2.08)cm, 鲜重(4.66 ± 1.26)g, 干重(1.52 ± 0.27)g。从形态上看, 砷超富集植物大叶井口边草比非砷超富集植物剑

叶凤尾蕨有更强的砷耐性。

2.2 砷胁迫对植物叶片抗氧化酶活性的影响

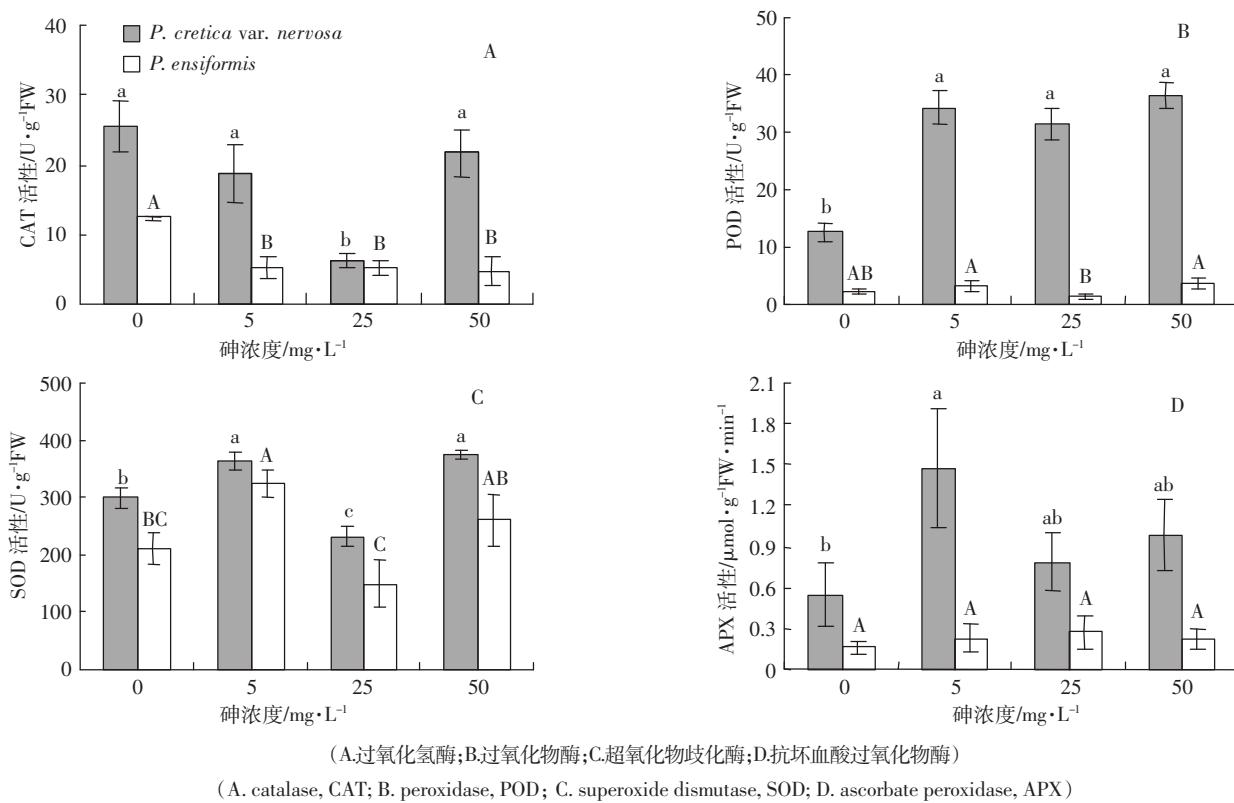
2.2.1 试验末期植物叶片抗氧化酶活性的变化

试验结束时(第 21 d)两种供试植物叶片在不同砷浓度($0, 5, 25$ 和 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)处理下 4 种抗氧化酶(CAT、POD、SOD 和 APX)活性的变化如图 1 所示。

从图 1 A 可以看出, 随砷浓度的增加, 大叶井口边草叶片中的 CAT 活性在 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ As 处理时有显著下降($P<0.05$), 但到 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ As 处理时, 活性又恢复; 而在砷胁迫下剑叶凤尾蕨叶片的 CAT 活性一直较低, 在 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理时便比对照(0)有显著下降($P<0.05$), 并且 $5, 25$ 和 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理下 CAT 活性无显著差异, 但均比对照显著降低($P<0.05$)。

从图 1 B 可以看出, 在砷胁迫下, 大叶井口边草叶片的 POD 活性比对照显著上升($P<0.05$), 而剑叶凤尾蕨中的 POD 基本失去活性。

从图 1 C 可以看出, 除 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ As 处理下两种植物叶片 SOD 活性降低外, 其他浓度处理下的砷超富集植物大叶井口边草和非砷超富集植物剑叶凤尾



图中小写字母表示不同砷浓度处理下大叶井口边草叶片酶活性的显著性差异程度, 大写字母表示剑叶凤尾蕨的显著性差异程度, 字母相同表示差异不显著($P>0.05$), 字母不同表示差异显著($P<0.05$)。误差线表示每一处理平均值的标准差, $n=3$ 。下同。

图 1 不同 As 浓度处理下植物叶片抗氧化酶活性的变化

Figure 1 Antioxidant enzyme activities in the fronds of tested plants under different arsenic concentrations

蕨变化规律基本一致,但大叶井口边草的SOD活性比剑叶凤尾蕨略高。

从图1D可以看出,大叶井口边草在 $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ As处理下的APX活性比对照($0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)明显增强($P<0.05$),而剑叶凤尾蕨的APX活性基本保持不变,各处理浓度之间无明显差异($P>0.05$)。另外,大叶井口边草叶片比剑叶凤尾蕨有更高的APX活性。

2.2.2 叶片抗氧化酶活性随时间的动态变化

在 $25\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ As处理下,两种供试植物叶片4种抗氧化酶的活性随时间的变化如图2所示。

从图2A可以看出,在试验的21 d中,大叶井口边草(*P. cretica* var. *nervosa*)和剑叶凤尾蕨(*P. ensiformis*)叶片的CAT活性都是先降低再回升,在试验结束时基本恢复了原活性。显著性差异分析结果表明,大叶井口边草在第6 d时叶片CAT活性明显降低($P<0.05$),但第21 d与第1 d无显著差异($P>0.05$),剑叶凤尾蕨第21 d与第6 d无显著差异($P>0.05$)。

从图2B可以看出,在试验的21 d中,大叶井口边草叶片POD活性增强,而剑叶凤尾蕨叶片POD在试验第6 d便基本失去活性。显著性差异分析结果表明,大叶井口边草第21 d POD活性显著升高($P<0.05$)。

0.05),而剑叶凤尾蕨叶片第6 d便显著下降($P<0.05$)。

从图2C可以看出,在试验的21 d中,砷超富集植物大叶井口边草叶片的SOD活性下降后再缓慢上升,而非砷超富集植物剑叶凤尾蕨则一直下降。显著性差异分析结果表明,大叶井口边草叶片SOD活性在培养时间之间无显著差异($P>0.05$),但剑叶凤尾蕨第6 d开始SOD活性便显著下降($P<0.05$)。

从图2D可以看出,在试验的21 d中,大叶井口边草叶片的APX活性先有所降低,再逐渐恢复;而剑叶凤尾蕨叶片的APX活性保持稳定,大叶井口边草叶片比剑叶凤尾蕨有更高的APX活性。显著性差异分析结果表明,大叶井口边草叶片APX活性第6 d出现明显下降($P<0.05$),但第21 d与第1 d相比无显著差异($P>0.05$),剑叶凤尾蕨叶片APX活性在培养时间之间无显著差异($P>0.05$)。

2.3 砷胁迫对植物叶片MDA和自由基 O_2^{\cdot} 含量的影响

2.3.1 试验末期植物叶片MDA和自由基 O_2^{\cdot} 含量

培养至第21 d时两种供试植物叶片MDA和 O_2^{\cdot} 含量如图3所示。

从图3A可以看出,随着砷浓度的增加大叶井口边草叶片MDA含量有下降的趋势,但与对照(0)相

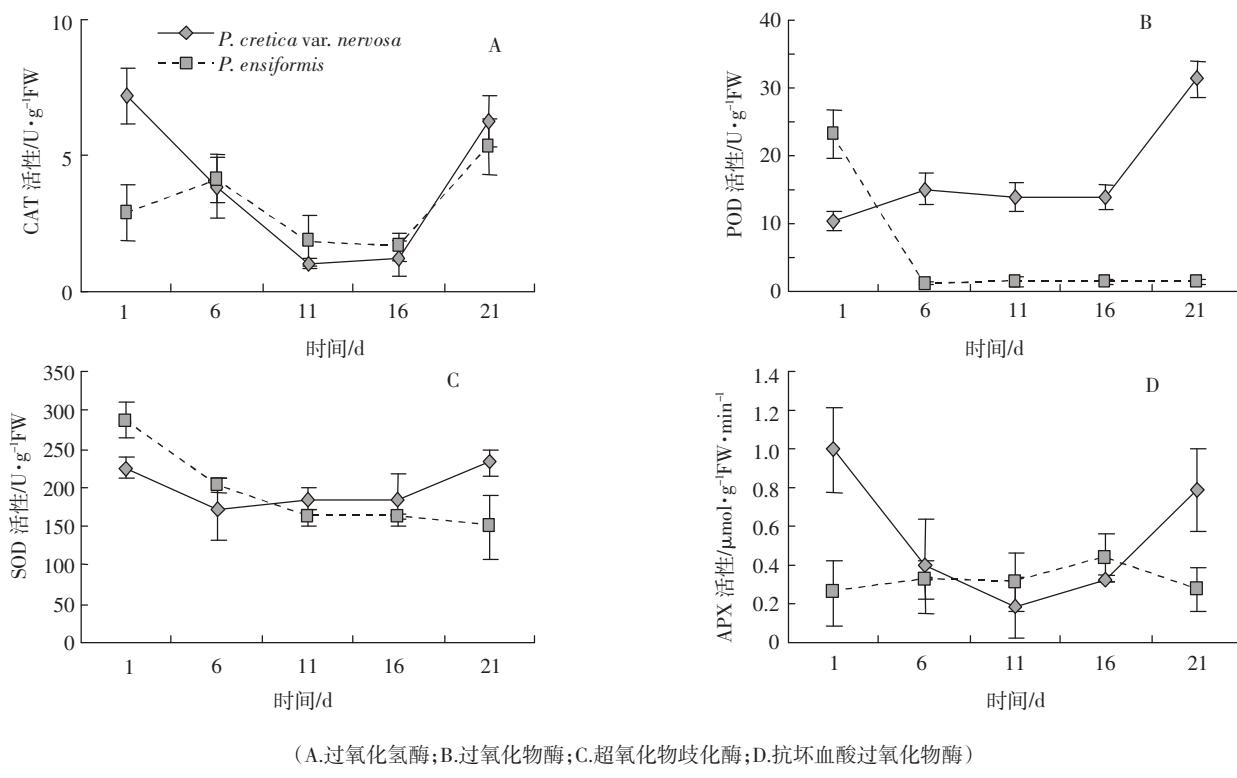


图2 $25\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ As处理下植物叶片抗氧化酶活性随时间的变化

Figure 2 Time-course effect of antioxidant enzyme activities in the fronds of tested plants under $25\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ arsenic concentration treatment

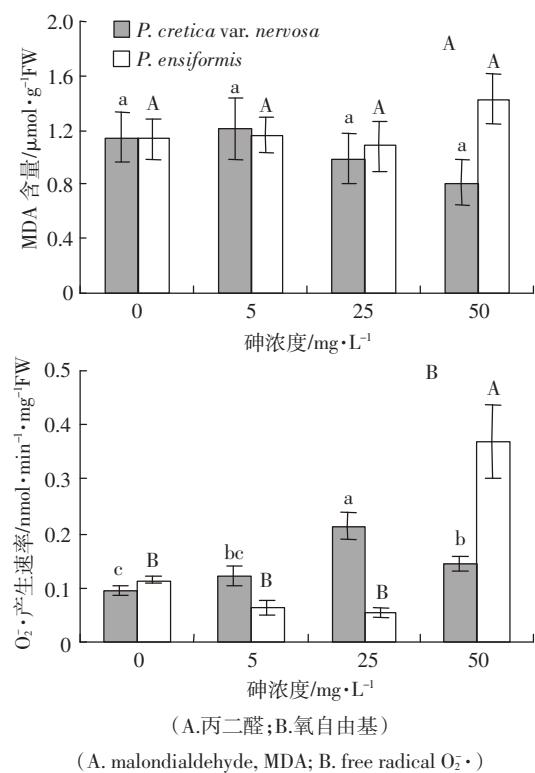
图3 不同As浓度处理下植物叶片MDA和自由基O₂[•]含量

Figure 3 Contents of MDA and free radical O₂[•] in the fronds of tested plants under different arsenic concentrations

比无显著差异($P>0.05$);而剑叶凤尾蕨在50 mg·L⁻¹As处理时有所上升,但几种处理浓度之间也无显著差异($P>0.05$)。

从图3 B可以看出,砷超富集植物大叶井口边草随着砷浓度的增加,叶片氧自由基产生在低浓度砷(5 mg·L⁻¹)处理下与对照(0 mg·L⁻¹)相比无显著差异($P>0.05$);而剑叶凤尾蕨的氧自由基产生速率基本稳定,但当砷浓度增加到50 mg·L⁻¹以后,活性氧的产生速率大幅升高,与0、25 mg·L⁻¹处理存在显著差异($P<0.05$)。

2.3.2 MDA 和自由基O₂[•]含量随处理时间的动态变化

25 mg·L⁻¹ As处理下两种供试植物叶片MDA和O₂[•]含量随时间变化如图4所示。

从图4 A并经显著性差异分析可以看出,在试验的21 d中,随着培养时间的延长,砷超富集植物大叶井口边草和非砷超富集植物剑叶凤尾蕨叶片的MDA含量变化规律基本一致,在第6 d后MDA含量开始明显下降($P<0.05$),但随着时间延长又缓慢回升,第11、16和21 d之间均无显著差异($P>0.05$)。

从图4 B并经显著性差异分析可以看出,第6 d

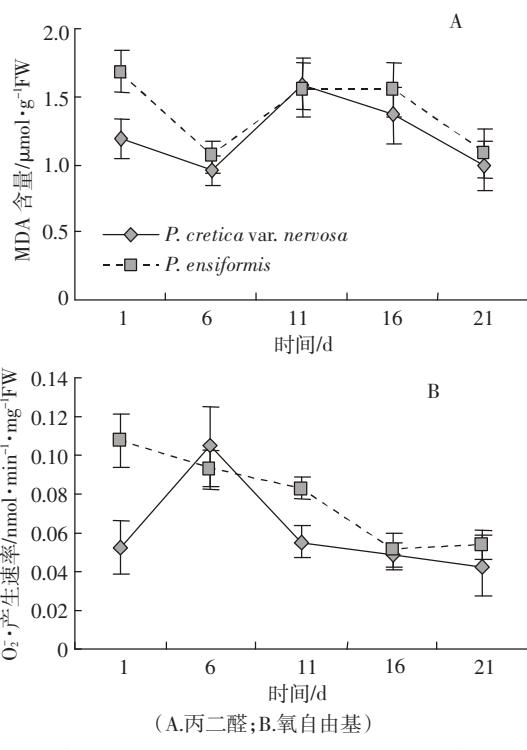
图4 25 mg·L⁻¹As处理下植物叶片MDA和自由基O₂[•]随时间的变化

Figure 4 Time-course effect of MDA and free radical O₂[•] contents in the fronds of tested plants under 25 mg·L⁻¹ arsenic concentration treatment

砷超富集植物大叶井口边草叶片中的氧自由基产生速率显著上升($P<0.05$),和非砷超富集植物剑叶凤尾蕨叶片中的氧自由基产生速率基本相同,但在第11 d便显著下降($P<0.05$),此后的时间与第1 d相比无显著差异($P>0.05$);剑叶凤尾蕨叶片氧自由基产生速率在第11 d出现显著下降($P<0.05$),第16和21 d时降至最低,这两个时间之间无显著差异($P>0.05$)。

3 讨论

非砷超富集植物剑叶凤尾蕨在受到砷胁迫后,外部明显出现了毒害症状,而砷超富集植物大叶井口边草则极少表现出毒害症状。形态观察表明非砷超富集植物剑叶凤尾蕨更易受到砷的伤害。

CAT主要存在于细胞的过氧化体中,能够清除细胞内过多的H₂O₂^[19],以使细胞内H₂O₂维持在正常水平,从而保护细胞膜结构^[20]。本研究表明,大叶井口边草和剑叶凤尾蕨在受到砷胁迫后CAT活性都有所下降,但在25 mg·L⁻¹砷浓度下随着胁迫时间的延长,植物逐渐产生适应,CAT的活性都有所恢复。对比不同浓度砷处理反映出大叶井口边草对砷胁迫的抗性很

强,在 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 砷浓度下,CAT的活性已经基本恢复,而剑叶凤尾蕨在低浓度砷处理下CAT的活性一直很低,说明在砷胁迫下砷超富集植物大叶井口边草比非砷超富集植物剑叶凤尾蕨有更高的CAT活性,即使受到砷胁迫也能迅速恢复活性,起到很好的抗氧化调节作用。

SOD作为超氧自由基清除剂,在适度逆境条件下,其活性有所升高,以增加植物的抗逆能力。本研究表明,大叶井口边草在受到砷胁迫后,比剑叶凤尾蕨有更高的SOD活性,有更好的抗氧化能力。

APX也是一种清除 H_2O_2 、有机氢的过氧化物为功能的酶^[21],本研究结果表明,在砷胁迫下大叶井口边草的APX活性比剑叶凤尾蕨增加更快,有更高的抗氧化性。

POD的活性变化非常明显,砷超富集植物大叶井口边草在 $5\text{ mgAs}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理时POD活性便迅速增加,为对照(0)的2.7倍,在25和 $50\text{ mgAs}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理下也能保持如此高的活性(图1B)。与前几种酶相比,POD在抗氧化过程中起了关键作用,这与王友保等^[22]对黄豆(*Glycine max*)、王友保和刘登义^[23]对小麦(*Triticum aestivum*)的研究结果类似。POD是植物体内常见的氧化还原酶,可催化有毒物质氧化分解,当环境被污染时,其活性和同工酶都会发生急剧变化。POD依照其生理功能的不同可分为两类:一类是参与催化反应的电子供体的氧化产物具有一定生理功能的POD,另一类是以清除 H_2O_2 、有机氢的过氧化物为功能的酶^[24]。本研究所探讨的就是第二类。POD活性的增加是由于As进入植物体后产生了对自身有害的过氧化物,POD利用 H_2O_2 来催化这些过氧化物的氧化分解,因此,随植物体内这些过氧化物酶的底物浓度的增加,致使过氧化物酶活性逐渐增加^[22]。

本研究结果表明,砷超富集植物大叶井口边草中的CAT、POD、APX的活性明显强于非砷超富集植物剑叶凤尾蕨,而SOD的活性差异却不显著。所以我们认为,砷超富集植物大叶井口边草的抗性机理主要是由于POD、CAT、APX等抗氧化酶对 H_2O_2 的清除功能比非砷超富集植物剑叶凤尾蕨强,而SOD清除氧自由基的作用较小。这与Cao等^[25]对砷超富集植物蜈蚣草(*P. vittata*)研究的结果一致。

植物在逆境或衰老条件下,会发生膜脂过氧化作用,MDA就是膜脂过氧化产物之一,其浓度表示脂质过氧化程度和膜系统伤害程度^[14]。本研究结果表明,随着砷处理浓度的增加大叶井口边草和剑叶凤尾蕨

叶片内MDA含量均没有显著变化,但 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 砷浓度处理下,剑叶凤尾蕨叶片内MDA含量显著高于大叶井口边草($P<0.05$),说明在砷胁迫下超富集植物有更高的阻止膜脂过氧化产物生成的能力。在正常条件下,活性氧的产生和清除处于平衡状态,植物受到的危害较小。但在逆境条件下,植物体通过各种途径大量产生活性氧,而且一般植物活性氧清除能力下降,造成活性氧积累,引起严重的危害。本研究表明,在受到砷胁迫后,砷超富集植物大叶井口边草叶片的氧自由基的产生速率逐渐降低,植物受到砷胁迫的影响很小,但非砷超富集植物剑叶凤尾蕨的氧自由基在高浓度砷处理下产生速率快速增加,可以认为剑叶凤尾蕨比大叶井口边草受到了更大的伤害,细胞膜脂的抗氧化能力降低。

参考文献:

- Hunges M F. Arsenic toxicity and potential mechanisms of action[J]. *Toxicology Letters*, 2002, 133:1-16.
- Azcue J M, Mudroch A, Rosa F, et al. Effects of abandoned gold mine tailings on the arsenic concentrations in water and sediments of Jack of Clubs lake, British Columbia[J]. *Environmental Technology*, 1994, 15: 669-678.
- Ma L Q, Komar K M, Tu C, et al. A fern that hyperaccumulates arsenic—a hardy, versatile, fast-growing plant helps to remove arsenic contaminated soils[J]. *Nature*, 2001, 409:579.
- Chen T B, Wei C Y, Huang Z C, et al. *Pteris vittata* L.: an arsenic hyperaccumulator and its character in accumulating arsenic[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2002, 47:207-210.
- Visoottiviseth P, Francesconi K, Sridokchan W. The potential of Thai indigenous plant species for the phytoremediation of arsenic contaminated land[J]. *Environmental Pollution*, 2002, 118:453-461.
- 韦朝阳,陈同斌,黄泽春,等.大叶井口边草——一种新发现的富集砷的植物[J].生态学报,2002,22(5):496-502.
WEI Chao-yang, CHEN Tong-bin, HUANG Ze-chun, et al. Cretan Brake (*Pteris cretica* L.): an arsenic-accumulating plant[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(5):496-502.
- Wang H B, Ye Z H, Shu W S, et al. Arenic uptake and accumulation in fern species growing at arsenic-contaminated sites of southern China: field surveys[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2006, 8:1-11.
- Wang H B, Wong M H, Lan C Y, et al. Uptake and accumulation of arsenic by 11 *Pteris* taxa from southern China[J]. *Environmental Pollution*, 2007, 145 :225-233.
- 杜秀敏,殷文璇,张慧.超氧化物歧化酶研究进展[J].中国生物工程杂志,2002,23(1):77-79.
DU Xiu-min, YIN Wen-xuan, ZHANG Hui. The researching progress of superoxide dismutase [J]. *Journal of Chinese Biotechnology*, 2002, 23 (1):77-79.

- [10] Srivastava M, Ma L Q, Singh N, et al. Antioxidant response of hyperaccumulator and sensitive fern species to arsenic[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005, 56:1335–1342.
- [11] Van Assche, Clijsters H F. Effects of metals on enzyme activity in plants[J]. *Plant, Cell and Environment*, 1990, 13:195–206.
- [12] 肖美秀, 林文雄, 陈冬梅, 等. 镉胁迫对耐性不同的水稻幼苗膜脂过氧化和保护酶活性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2006, 14(4): 256–258.
XIAO Mei-xiu, LIN Wen-xiong, CHEN Dong-mei, et al. Effects of Cd on the cell membrane lipid peroxidation and activity of protecting enzymes in seedlings of rice with different tolerance to Cd pollutant[J]. *Chinese Journal of Eco-agriculture*, 2006, 14(4):256–258.
- [13] Meharg A A. Ecological impact of major industrial chemicals[J]. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 1994, 138:21–48.
- [14] 郝建军, 康宗利. 植物生理学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
HAO Jian-jun, KANG Zong-li. Plant physiology[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005.
- [15] 冯建灿, 毛训甲, 胡秀丽. 光氧化胁迫条件下叶绿体中活性氧的产生、清除及防御[J]. 西北植物学报, 2005, 25(7):1487–1488.
FENG Jian-can, MAO Xun-jia, HU Xiu-li. Formation, functions and prevention of reactive oxygen in chloroplasts under photo-oxidative stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalis Sinica*, 2005, 25 (7): 1487–1488.
- [16] 程建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2006.
CHENG Jian-xun, WANG Xiao-feng. Experimental guideline for plant physiology[M]. Guangzhou: South China University Technology Press, 2006.
- [17] 郝建军, 康宗利, 于洋. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.
HAO Jian-jun, KANG Zong-li, YU Yang. Experimental technologies for plant physiology[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2006.
- [18] 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, The Shanghai Society for Plant Physiology. Experimental guideline for modern plant physiology[M]. Beijing: Science Press, 1999.
- [19] 刘素纯, 萧浪涛, 廖柏寒, 等. 铅胁迫对黄瓜幼苗抗氧化酶活性及同工酶的影响[J]. 应用生态学报, 2006, 17(2):300–304.
LIU Su-chun, XIAO Lang-tao, LIAO Bo-han, et al. Effects of lead stress on antioxidative enzyme activities and isoenzymes in cucumber seedlings[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17 (2):300–304.
- [20] 张福锁. 环境胁迫与植物营养[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1993;79–91.
ZHANG Fu-suo. Environmental stress and plant nutrition[M]. Beijing: China Agricultural University Press, 1993; 79–91.
- [21] 严重玲, 洪业汤, 付舜珍, 等. Cd, Pb 胁迫对烟草叶片中活性氧清除系统的影响[J]. 生态学报, 1997, 17(5):488–492.
YAN Chong-ling, HONG Ye-tang, FU Shun-zhen, et al. Effect of Cd, Pb stress on scavenging system of activated oxygen in leaves of tobacco[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 1997, 17(5):488–492.
- [22] 王友保, 刘登义, 张莉, 等. 铜、砷及其复合污染对黄豆(*Glycine max*)影响的初步研究[J]. 应用生态学报, 2001, 12(1):117–120.
WANG You-bao, LIU Deng-yi, ZHANG Li, et al. Effect of Cu and As and their combination pollution on *Glycine max*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2001, 12(1):117–120.
- [23] 王友保, 刘登义. Cu, As 及其复合污染对小麦生理生态指标的影响[J]. 应用生态学报, 2001, 12(5):773–776.
WANG You-bao, LIU Deng-yi. Effect of Cu, As and their combination pollution on eco-physiological index of wheat[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2001, 12(5):773–776.
- [24] 庞欣, 王东红, 彭安. 铅胁迫对小麦幼苗抗氧化酶活性的影响[J]. 环境科学, 2001, 22(5):108–111.
PANG Xin, WANG Dong-hong, PENG An. Effect of lead stress on the activity of antioxidant enzymes in wheat seedling[J]. *Environmental Science*, 2001, 22(5):108–111.
- [25] Cao X D, Ma L Q, Tu C. Antioxidative responses to arsenic in the arsenic-hyperaccumulator Chinese brake fern (*Pteris vittata* L.)[J]. *Environmental Pollution*, 2004, 128:317–325.