

DOI:CNKI:61-1390/S.20111216.1116.007

网络出版时间:2011-12-16 11:16

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20111216.1116.007.html>

Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 对玉米幼苗生长和 抗氧化酶活性的影响

黄真池, 彭舒, 欧阳乐军, 欧日华, 曾富华

(湛江师范学院 生命科学与技术学院, 广东 湛江 524048)

【摘要】【目的】研究必需元素 Cu^{2+} 和非必需元素 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 对玉米幼苗生长及抗氧化酶活性的影响, 探讨玉米抵抗重金属毒害的机理。【方法】用自来水(CK)及高(1 mmol/L)、中(0.5 mmol/L)、低(0.25 mmol/L) 3 个浓度的重金属离子 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 溶液滴灌玉米幼苗, 处理 3 d 后测定玉米幼苗根长和叶长、可溶性蛋白和叶绿素含量及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)的活性, 并对根系和叶片中 POD 同工酶表达的变化进行电泳分析。【结果】与 CK 相比, 3 种重金属离子明显抑制玉米幼苗生长, 提高根系和叶片中可溶性蛋白含量, 对叶绿素含量的影响与其浓度有关。 Cu^{2+} 对玉米根系中 SOD 活性无明显影响, Cd^{2+} 和 Hg^{2+} 明显降低了根系中 SOD 活性。 Cu^{2+} 使玉米幼苗根系中 POD 活性增强; 低浓度 Cd^{2+} 和 Hg^{2+} 使玉米根系中 POD 活性增强, 中、高浓度 Cd^{2+} 和 Hg^{2+} 则使玉米根系中 POD 活性减弱。重金属对根系中 POD 同工酶的影响表现为: Cu^{2+} 无明显影响, Cd^{2+} 减弱了 Rb1 和 Rb2 的表达, Hg^{2+} 则抑制了 Rb1 的表达, 增强了 Rb2 的表达, 且低浓度 Hg^{2+} 诱导出了 Rb3。重金属对叶片中 POD 同工酶的影响表现为: 随着处理浓度的增大, Lb5 表达增强, 其中 Cd^{2+} 的诱导效果最强; 与 CK 及 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 相比, Hg^{2+} 完全抑制了 Lb6 的表达。【结论】 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 对玉米生长及 SOD 和 POD 活性的影响, 与重金属种类和浓度有关, 并存在器官特异性。重金属中必需元素和非必需元素都会影响 POD 同工酶的表达, 但作用机理不同。

【关键词】 玉米; 重金属; 生理生化指标; POD 同工酶; 抗氧化酶

【中图分类号】 S513.01

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2012)01-0037-06

Effects of Cu^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} on the antioxidant enzyme activities of maize seedlings

HUANG Zhen-chi, PENG Shu, OUYANG Le-jun,

OU Ri-hua, ZENG Fu-hua

(School of Life Science and Technology, Zhanjiang Normal University, Zhanjiang, Guangdong 524048, China)

Abstract: 【Objective】The effects of Cu^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} on several physiological indexes of maize seedling were conducted in order to investigate plants resistance mechanisms to different types of heavy metal ion. 【Method】The maize seedlings were treated with Cu^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} with different concentrations including 0, 0.25, 0.5, 1.0 mmol/L for 3 days and the length, chlorophyll, protein, superoxide dismutase activities, peroxidase activities and isoperoxidases were measured. 【Result】Heavy metals significantly inhibited the growth of roots and leaves, made the soluble protein content of leaves and roots rise sharply, decreased the SOD activities of leaves. Cu^{2+} had no significant effect on the SOD activity of root, but Cd^{2+} and Hg^{2+} significantly reduced the SOD activity of root. Cu^{2+} increased the POD activity of root. Low concentration

* [收稿日期] 2011-07-04

[基金项目] 广东省自然科学基金项目(10452404801004328, 8152404801000011); 湛江师范学院科研项目(ZL0905, QL0913)

[作者简介] 黄真池(1972—), 男, 湖南岳阳人, 副教授, 博士, 主要从事植物生理生化及分子生物学研究。

[通信作者] 曾富华(1952—), 男, 湖南浏阳人, 教授, 博士, 主要从事植物生理生化及天然产物研究。

of Cd^{2+} and Hg^{2+} increased the POD activity of root, but medium concentration and high concentration of Cd^{2+} and Hg^{2+} decreased the POD activity of root. The influence of heavy metal on maize was as follows: on root, Cu^{2+} had no obvious effect; Cd^{2+} weakened the Rb1 and the Rb2; Hg^{2+} restrained the Rb1, enhanced the Rb2, and induced the Rb3 at low concentration; on leave, the higher the concentration of heavy metal was, the more Lb5 was expressed; Cu^{2+} and Cd^{2+} didn't affect the types of isoperoxidases, however, Hg^{2+} fully suppressed the expression of Lb6. 【Conclusion】 The effect on the activity of superoxide dismutase and peroxidase of heavy metal depends on heavy metal types, concentrations and tissue types. Both necessary element and nonessential element have obvious influence on isoperoxidases' expressing, but the mechanism is different. Moreover, the action mechanism of different nonessential elements shows apparent differences.

Key words: maize; heavy metal; physiological and biochemical indicators; isoperoxidase; antioxidant enzyme activity

受到人类活动的影响,大量重金属进入到土壤和水体中,且引起的污染很难消除。重金属抑制植物的生长,并通过富集效应对农业生产和人类健康造成极大的危害^[1]。 Cu^{2+} 是植物必需的微量元素。过量的 Cu^{2+} 会妨碍植物对二价铁的吸收和运转,抑制脱羧酶的活性,造成缺铁病并损伤根系^[2]。 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 是植物的非必需元素。 Cd^{2+} 抑制植物的呼吸、光合、气体交换等生理作用,破坏活性氧的代谢平衡,引起膜脂过氧化和叶绿素的分解^[3];此外,还可以通过促进吡哆乙酸氧化酶活性,改变植物细胞的生长素代谢,从而抑制植物生长^[4]。 Hg^{2+} 强烈抑制植物的生长,主要对种子萌发、营养器官生长、光合作用以及多种酶的活性起抑制作用^[5];此外,其还显著抑制根的生长,并通过降低根的代谢及钝化水通道蛋白以减少根系的水分吸收^[6-7]。微量的 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 就能强烈地抑制植物生长发育,甚至使植物死亡^[8]。

植物抗氧化酶参与植物代谢的整个过程。过氧化物酶(POD)在植物中分布非常广泛,参与细胞壁代谢、生长素的降解、植物抗逆性和衰老及根的发育并维持正常根功能等生理过程^[9-10]。Gao等^[11]克隆了柽柳属的10个POD基因,发现这些基因都能在根、茎和叶组织中表达并参与了抵抗不同的非生物逆境。不同的重金属处理能引起大麦根系POD活性升高^[12]。 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 处理使大麦根尖POD和超氧化物歧化酶(SOD)活性上升^[7]。李影和刘登义^[13]报道, Cu^{2+} 胁迫下,节节草抗氧化酶活性随 Cu^{2+} 浓度的增加而上升,且与 Cu^{2+} 浓度呈显著正相关关系。张玉秀等^[14]发现,商陆叶片SOD和POD活性随着 Cd^{2+} 处理含量的提高及时间的延长而迅速增加,抗氧化酶在清除 Cd^{2+} 毒害产生的活性氧自由基和提高 Cd^{2+} 耐性中有重要作用。

虽然大量文献报道了重金属对植物保护酶活性

的影响,但同时比较必需元素 Cu^{2+} 和非必需元素 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 对植物根系和叶组织的抗氧化酶活性及同工酶表达影响的报道还较少。本研究分析不同浓度 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 对玉米幼苗根系和叶组织生长及抗氧化酶活性的影响,并通过同工酶电泳分析过氧化物酶表达的变化,旨在探明植物抵抗重金属毒害的机理。

1 材料与方法

1.1 试验材料及处理

将玉米正大619(*Zea mays* L. Zhengda 619)种子播种于盛满细沙的200 mL塑料杯中,置于日温28℃、夜温25℃,16 h光照、8 h黑暗,光照强度为50 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的人工气候箱中培养。待玉米长至三叶期后,每天早晚用注射器滴灌10 mL CuCl_2 、 CdCl_2 或 HgCl_2 溶液,每种重金属溶液又分别设低、中、高3个浓度梯度,即0.25,0.5,1 mmol/L,对照组(CK)浇等量自来水,处理3 d后采集玉米根系和叶片用于生理指标测定。每处理9株幼苗,设3个重复。试验中为减轻蒸腾耗水和涝害对试验结果的影响,塑料杯底部用针头均匀刺孔以使过量的重金属溶液及时流出。测量结果用统计软件SAS 8.0分析。

1.2 测定项目及方法

1.2.1 根长和叶长的测定 倒出杯中细沙,取出幼苗,用自来水冲洗干净,剪刀剪开根和叶,测量各处理幼苗的根长、叶长。

1.2.2 叶绿素含量的测定 参考Hegedüs等^[15]的方法进行。取各处理叶片50 mg,剪碎后置于具塞试管中,加体积分数95%乙醇10 mL,摇匀后置于黑暗处,25℃浸提。待叶片充分变白后,测 A_{665} 和 A_{649} ,计算叶绿素含量。

1.2.3 可溶性蛋白含量的测定 用牛血清白蛋白

作标准蛋白,用 Bradford^[16] 方法测 A₅₉₅,标准曲线方程计算可溶性蛋白含量。

1.2.4 酶活性的测定 (1) 粗酶液的制备。分别剪取各处理玉米距根尖或叶尖 3 cm 的根系或叶片 100 mg 置于预冷的研钵中,加入 50 mmol/L pH 7.8 的磷酸缓冲液(PBS)0.5 mL 冰浴匀浆,再加入 0.5 mL PBS 充分研磨,将研磨液转移至 2 mL 离心管中,再用 0.5 mL PBS 洗涤研钵后转入离心管。4 ℃、8 000 r/min 离心 8 min,得上清液即为粗酶液,4 ℃保存备用。

(2) SOD 活性的测定。取透明度好、质地相同的试管 4 支,2 支为测定管,2 支为对照管,各管先后加入 50 mmol/L PBS 1.5 mL、130 mmol/L 甲硫氨酸溶液 0.3 mL、750 μmol/L 氯化硝基四氮唑蓝溶液 0.3 mL、100 μmol/L EDTA-Na₂ 溶液 0.3 mL、20 μmol/L 核黄素溶液 0.3 mL、蒸馏水 0.25 mL、粗酶液 50 μL,混匀后将 1 支对照管置暗处,其他各管于 100 μmol/(m² · s)光照强度下反应 20 min。反应结束后,以不照光的对照管做空白,测定其他各管的 A₅₆₀。以 SOD 抑制 NBT 光化还原的 50% 为 1 个酶活力单位(U)。

(3) POD 活性的测定。向 500 mL 0.1 mol/L pH 为 6.0 的 PBS 中加入 280 μL 0.05 mol/L 愈创木酚充分搅拌,再加入体积分数 30% 的过氧化氢 190 μL 混匀得反应混合液,于棕色瓶中 4 ℃保存备用。取反应混合液 3 mL,加入粗酶液 20 μL,测定前 4 min 的 ΔA₄₇₀。以每分钟内 A₄₇₀ 变化 0.01 为 1 个酶活性单位(U)。

1.3 POD 同工酶电泳

用不连续 PAGE 分离 POD 同工酶,浓缩胶质量浓度 25 g/L,分离胶质量浓度 75 g/L。每孔添加含 10 μg 蛋白的根系或叶片粗酶液,以 15 mA 电流浓缩样品,以 25 mA 电流分离 POD 同工酶。电泳结束后取出凝胶,参考 Dong 等^[17]的方法染色。

2 结果与分析

2.1 重金属离子对玉米幼苗根长和叶长的影响

由图 1 可以看出,Cu²⁺、Cd²⁺、Hg²⁺ 明显抑制玉米幼苗根和叶片的生长,且其对玉米幼苗根系生长的抑制作用强于叶片。当处理浓度相同时,3 种重金属离子对玉米幼苗根系和叶片生长的抑制作用无显著性差异。

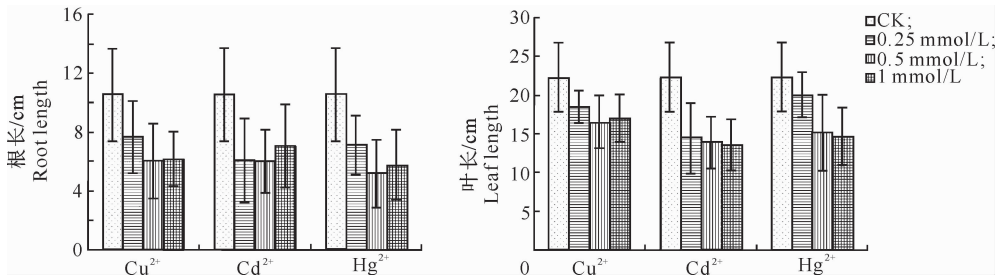


图 1 重金属离子对玉米幼苗根长和叶长的影响

Fig. 1 Effect of heavy metals on maize seedlings root and leaf length

2.2 重金属离子对玉米幼苗叶片中叶绿素含量的影响

由图 2 可以看出,Cu²⁺、Cd²⁺、Hg²⁺ 对玉米幼苗叶片叶绿素含量的影响与其浓度有关。当处理浓度为 0.25 mmol/L 时,Cu²⁺ 和 Hg²⁺ 在一定程度上促进了玉米幼苗叶片叶绿素含量的增加,而 Cd²⁺ 对玉米幼苗叶片叶绿素含量的影响不明显;当处理浓度为 0.5 或 1 mmol/L 时,Cd²⁺ 对玉米幼苗叶片叶绿素含量则有较明显的抑制作用。

2.3 重金属离子对玉米幼苗根系和叶片中可溶性蛋白质含量的影响

由图 3 可以看出,Cu²⁺、Cd²⁺、Hg²⁺ 3 种重金属离子明显促进了玉米幼苗根系和叶片中可溶性蛋白含量的增加,对叶片作用效果大于根系。Hg²⁺、

Cd²⁺ 促进玉米幼苗根系中可溶性蛋白含量增加的效果明显高于 Cu²⁺。Hg²⁺ 促进玉米幼苗叶片中可溶性蛋白含量增加效果明显高于 Cu²⁺ 和 Cd²⁺。

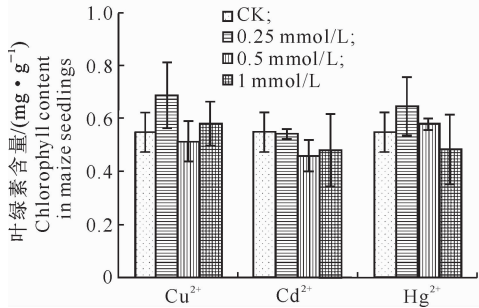


图 2 重金属离子对玉米幼苗叶片中叶绿素含量的影响

Fig. 2 Effect of heavy metals on chlorophyll content in maize seedlings

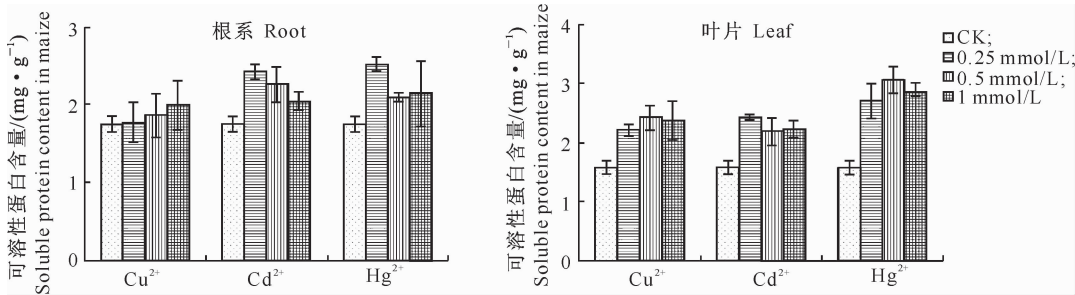


图 3 重金属离子对玉米幼苗根和叶片中可溶性蛋白含量的影响

Fig. 3 Effect of heavy metals on content of maize root and leaf soluble protein

2.4 重金属离子对玉米幼苗根和叶片中 SOD 活性的影响

由图 4 可以看出,与 CK 相比, Cu^{2+} 对玉米根系 SOD 活性的影响不显著; Cd^{2+} 和 Hg^{2+} 则显著降低

了根系 SOD 活性,其中 Cd^{2+} 的影响表现为浓度越高,抑制作用越显著。 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 3 种重金属处理均明显抑制了玉米幼苗叶片的 SOD 活性,抑制效率依次为 $\text{Cd}^{2+} > \text{Hg}^{2+} > \text{Cu}^{2+}$ 。

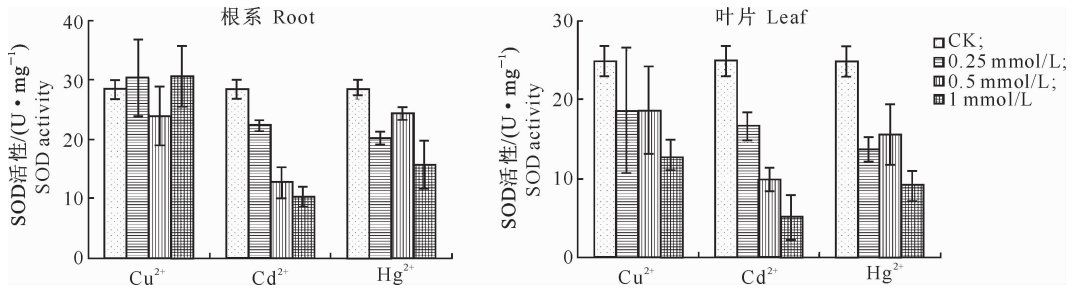


图 4 重金属离子对玉米幼苗根和叶片中 SOD 活性的影响

Fig. 4 Effect of heavy metals on SOD activity of maize root and leaf

2.5 重金属离子对玉米幼苗根和叶片中 POD 活性的影响

由图 5 可见,不同浓度 Cu^{2+} 使玉米幼苗根系 POD 活性增强,低浓度 (0.25 mmol/L) Cd^{2+} 和 Hg^{2+} 使玉米幼苗根系 POD 活性增强;中、高浓度

(0.5 或 1 mmol/L) Cd^{2+} 和 Hg^{2+} 则使玉米幼苗根系 POD 活性减弱。不同浓度 Cu^{2+} 和 Hg^{2+} 对玉米幼苗叶片 POD 活性无明显影响,而不同浓度 Cd^{2+} 使玉米叶片 POD 活性明显增强。

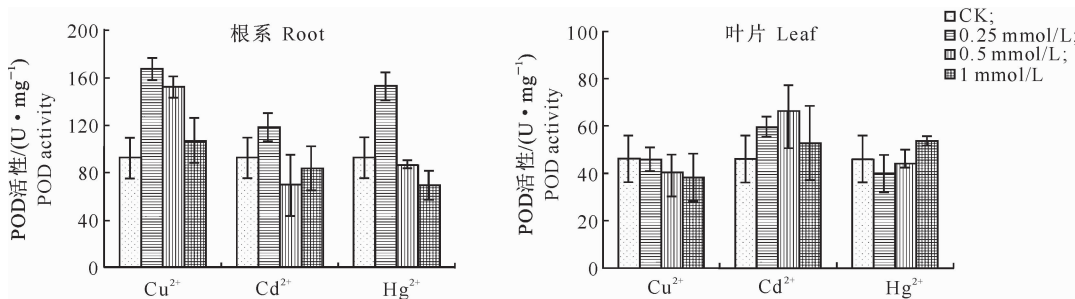


图 5 重金属离子对玉米幼苗根和叶片中 POD 活性的影响

Fig. 5 Effect of heavy metals on POD activity of maize root and leaf

2.6 重金属离子处理后玉米幼苗根和叶片中 POD 同工酶的电泳分析

由图 6 可以看出,与 CK 相比, Cu^{2+} 对玉米幼苗根系中 POD 同工酶的表达无明显影响;不同浓度的 Cd^{2+} 处理在一定程度上减弱了 Rb1 和 Rb2 的表达; Hg^{2+} 处理抑制了 Rb1 的表达,增强了 Rb2 的表达。

低浓度 Hg^{2+} 处理下,玉米幼苗根系中表达出了其他离子和浓度处理下未见表达的特征条带 Rb3。

由图 7 可见,在玉米幼苗叶片中可检测到 6 条 POD 同工酶酶带,依分子质量从大到小分别命名为 Lb1~Lb6。3 种重金属处理下,Lb1~Lb4 表达差异不明显,而 Lb5 和 Lb6 2 条酶带表达有明显改变。

与 CK 相比,3 种重金属离子使 Lb5 的表达明显增强,且都呈现出随着重金属离子浓度增强 Lb5 表达越来越强的规律。3 种重金属离子中,Cd²⁺ 诱导

Lb5 表达增强的效果最明显。与 CK 和 Cu²⁺、Cd²⁺ 处理比,Hg²⁺ 处理完全抑制了 Lb6 的表达。

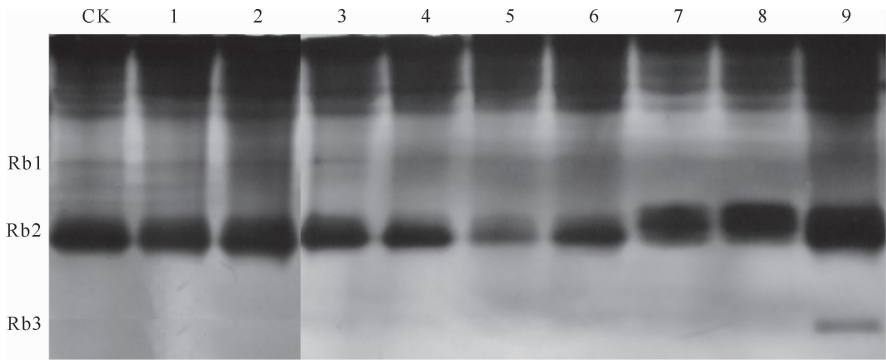


图 6 重金属离子处理后玉米幼苗根系中 POD 同工酶的电泳结果

1~3. Cu²⁺ 浓度分别为 1,0.5,0.25 mmol/L;4~6. Cd²⁺ 浓度分别为 1,0.5,0.25 mmol/L;7~9. Hg²⁺ 浓度分别为 1,0.5,0.25 mmol/L;Rb1、Rb2、Rb3. 重金属离子处理后玉米幼苗根组织中呈现表达差异的 3 条 POD 同工酶特征条带

Fig. 6 Isoperoxidases electrophoresis of maize seedling roots treated with heavy metals

1—3. Treated with Cu²⁺ content 1,0.5,0.25 mmol/L, respectively;4—6. Treated with Cd²⁺ content 1,0.5,0.25 mmol/L, respectively;7—9. Treated with Hg²⁺ content 1,0.5,0.25 mmol/L, respectively;Rb1, Rb2, Rb3. 3 isoperoxidase bands of maize seedling roots that showed expressing difference after being treated with Cu²⁺, Cd²⁺ or Hg²⁺

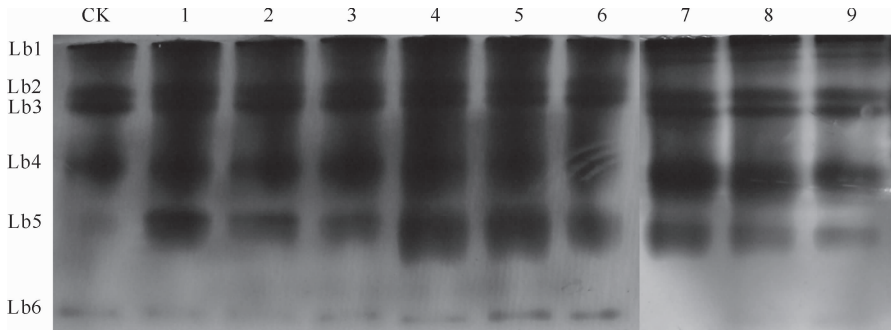


图 7 重金属离子处理后玉米幼苗叶片中 POD 同工酶的电泳结果

1~3. Cu²⁺ 浓度分别为 1,0.5,0.25 mmol/L;4~6. Cd²⁺ 浓度分别为 1,0.5,0.25 mmol/L;7~9. Hg²⁺ 浓度分别为 1,0.5,0.25 mmol/L;Lb1、Lb2、Lb3、Lb4、Lb5、Lb6. 重金属离子处理后玉米幼苗叶组织中表达出的 6 条 POD 同工酶条带

Fig. 7 Isoperoxidases electrophoresis of maize seedling leaves after being treated with heavy metals

1—3. Treated with Cu²⁺ content 1,0.5,0.25 mmol/L, respectively;4—6. Treated with Cd²⁺ content 1,0.5,0.25 mmol/L, respectively;7—9. Treated with Hg²⁺ content 1,0.5,0.25 mmol/L, respectively;Lb1, Lb2, Lb3, Lb4, Lb5, Lb6. 6 isoperoxidase bands of maize seedling leaves treated with Cu²⁺, Cd²⁺ or Hg²⁺

3 结论与讨论

重金属离子对植物的生长、呼吸、光合等代谢有明显的抑制作用,并通过破坏活性氧代谢的平衡,引起膜脂过氧化和叶绿素的分解^[11]。植物通过积累脯氨酸、增强过氧化物酶活性等方式提高对重金属逆境的耐受能力^[15,17-18]。Zhao 等^[19]发现,Cu 胁迫下,高羊茅和黑麦草 2 种草根组织的丙二醛含量都显著增高;高羊茅根 SOD 活性随 Cu²⁺ 浓度升高而升高,POD 活性则表现为低浓度 Cu²⁺ 胁迫下活性升高,高浓度 Cu²⁺ 胁迫下活性降低;黑麦草根系

SOD 和 POD 活性不受 Cu²⁺ 胁迫影响。L'ubica 等^[12]报道了不同种类重金属处理均能引起大麦根系 POD 活性升高。Ladislav 等^[7]研究表明,Cd²⁺、Hg²⁺ 处理使大麦根尖 POD 和 SOD 活性上升。

本研究结果表明,Cu²⁺、Cd²⁺、Hg²⁺ 3 种重金属离子抑制玉米幼苗根系和叶片的生长,使根系和叶片中可溶性蛋白含量增加,Cd²⁺ 明显抑制叶片叶绿素的合成,这与文献^[2,3,5-7]报道相同。本研究发现,Hg²⁺、Cd²⁺ 促进玉米幼苗根系可溶性蛋白含量增加的效果明显高于 Cu²⁺;Hg²⁺ 促进叶片可溶性蛋白含量增加的效果明显高于 Cu²⁺ 和 Cd²⁺。表

明不同重金属离子对不同器官的作用机理不同,其中有些重金属离子的浓度不同,其对植物的影响也不同。

本研究结果显示, Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 对玉米幼苗根系和叶组织中的 SOD 和 POD 活性的影响因离子种类、浓度和器官类型的不同而存在差异。说明重金属对 SOD 和 POD 活性的影响与重金属种类和浓度有关,并存在器官特异性。这与 Zhao^[18]、L'ubica 等^[12] 和 Ladislav 等^[7] 的报道不同,其原因可能与作物种类、离子浓度及处理时间有关。

本研究的同工酶电泳结果显示,必需元素 Cu^{2+} 对玉米幼苗根系中 POD 同工酶的表达无明显影响;非必需元素 Cd^{2+} 和 Hg^{2+} 则改变了根系中 Rb1、Rb2 和 Rb3 3 种同工酶的表达; Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 处理下,随着重金属离子浓度增大,玉米幼苗叶片中 Lb5 表达呈现出增强的规律,其中, Cd^{2+} 诱导 Lb5 表达增强的效果最明显,与 CK 和 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 相比, Hg^{2+} 完全抑制了 Lb6 的表达。上述结果表明,重金属中必需元素和非必需元素都会影响 POD 同工酶的表达,但作用机理不同。至于重金属如何引起 POD 同工酶表达的改变,被诱导表达或表达受抑制的同工酶在抵抗重金属毒害中起何种作用,必需元素和非必需元素如何影响 POD 同工酶的表达的具体机理均还需进行深入研究。

[参考文献]

- [1] Kim Y H, Lee H S, Kwak S S. Differential responses of sweet-potato peroxidases to heavy metals [J]. Chemosphere, 2010, 81: 79-85.
- [2] Monnet F, Bordas F, Deluchat V, et al. Toxicity of copper excess on the lichen *Dermatocarpon luridum*: Antioxidant enzyme activities [J]. Chemosphere, 2006, 65: 1806-1813.
- [3] Sun R L, Zhou Q X, Sun F H, et al. Antioxidative defense and proline/phytochelatin accumulation in a newly discovered Cd-hyperaccumulator, *Solanum nigrum* L. [J]. Environ Exp Bot, 2007, 60: 468-476.
- [4] Chaoui A, Ferjani E E. Effects of cadmium and copper on antioxidant capacities, lignification and auxin degradation in leaves of pea (*Pisum sativum* L.) seedlings [J]. C R Biol, 2005, 328: 23-31.
- [5] Gao S, Ouyang C, Tang L, et al. Growth and antioxidant responses in *Jatropha curcas* seedling exposed to mercury toxicity [J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 182: 591-597.
- [6] Andrew C P H, Clayton L R, Wang N J. Physiological responses of transgenic mera-tobacco (*Nicotiana tabacum*) to foliar and root mercury exposure [J]. Water, Air and Soil Pollution, 2005, 161: 137-155.
- [7] Ladislav T, Igor M, Jana H, et al. Role of reactive oxygen species-generating enzymes and hydrogen peroxide during cadmium, mercury and osmotic stresses in barley root tip [J]. Planta, 2010, 231: 221-231.
- [8] Macek T, Mackova M, Pavlikova D, et al. Accumulation of cadmium by transgenic tobacco [J]. Acta Biotechnol, 2002, 22: 101-106.
- [9] Hiraga S, Sasaki K, Ito H, et al. A large family of class III plant peroxidases [J]. Plant Cell Physiol, 2001, 42: 462-468.
- [10] Passardi F, Cosio C, Penel C, et al. Peroxidases have more functions than a Swiss army knife [J]. Plant Cell Rep, 2005, 24: 255-265.
- [11] Gao C Q, Wang Y H, Liu G F, et al. Cloning of ten peroxidase (POD) genes from *Tamarix Hispida* and characterization of their responses to abiotic stress [J]. Plant Mol Biol Rep, 2010, 28: 77-89.
- [12] L'ubica H, Katarina V, Igor M, et al. Effect of heavy metals on root growth and peroxidase activity in barley root tip [J]. Acta Physiol Plant, 2010, 32: 59-65.
- [13] 李影, 刘登义. 铜对节节草生理代谢及抗氧化酶活性的影响 [J]. 应用生态学报, 2006, 17(3): 498-501.
Li Y, Liu D Y. Physiological metabolism and protective enzyme activity of *Equisetum ramosissimum* under Cu stress [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2006, 17(3): 498-501. (in Chinese)
- [14] 张玉秀, 张红梅, 黄智博, 等. 商陆耐重金属 Cd 关键酶抗氧化酶的研究 [J]. 环境科学, 2011, 32(3): 891-897.
Zhang Y X, Zhang H M, Huang Z B, et al. Antioxidative enzymes play key roles in cadmium tolerance of *Phytolacca americana* [J]. Environmental Science, 2011, 32(3): 891-897. (in Chinese)
- [15] Hegedüs A, Erdei S, Horváth G. Comparative studies of H_2O_2 detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress [J]. Plant Sci, 2001, 106: 1085-1093.
- [16] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248-254.
- [17] Dong H, Chin B. Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber; in gel enzymes activity assays [J]. Plant Sci, 2000, 159: 75-85.
- [18] Zhao Y. Cadmium accumulation and antioxidative defenses in leaves of *Triticum aestivum* L. and *Zea mays* L. [J]. African Journal of Biotechnology, 2011, 10: 2936-2943.
- [19] Zhao S L, Liu Q, Qi Y T, et al. Responses of root growth and protective enzymes to copper stress in turfgrass [J]. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 2010, 52: 7-11.