

DOI:10.19431/j.cnki.1673-0062.2020.05.003

铜锈环棱螺 SOD、CAT 对铅、镉单一与复合胁迫的响应

黄 微^{1,2,3,4},李志良^{1,2,3,4},刘 俊^{1,2,3,4*},彭翠英^{1,2,3,4},
谢红艳^{1,2,3,4},胡劲松^{1,2,3,4},朱允华^{1,2,3,4}

(1. 南华大学 衡阳医学院,湖南 衡阳 421001;2. 生态健康与人类重要疾病防控湖南省高校重点实验室,
湖南 衡阳 421001;3. 有色金属矿区耕地重金属污染生态阻抗技术研究衡阳市重点实验室,
湖南 衡阳 421001;4. 生物毒理与生态修复衡阳市重点实验室,湖南 衡阳 421001)

摘 要:为了探讨铅(Pb)、镉(Cd)单一与复合胁迫对铜锈环棱螺的生理耐受机制,采用胁迫试验,研究了不同质量浓度 Pb(0、0.05、0.1、0.2 和 0.4 mg/L)、Cd(0、0.005、0.01、0.02 和 0.04 mg/L)和 Pb-Cd 混合溶液(0+0、0.05+0.005、0.1+0.01、0.2+0.02 和 0.4+0.004 mg/L)在不同时期(0、2、4、6、8 d)对铜锈环棱螺过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响。研究表明:短时间(≤ 6 d)、低浓度 Pb、Cd 单一胁迫时,铜锈环棱螺 CAT(catalase)与 SOD(superoxide dismutase)活性显著升高,但长时间(>6 d)、高浓度的 Pb(0.4 mg/L)、Cd(0.04 mg/L)单一胁迫导致其 CAT 与 SOD 活性显著降低。在第 8 天时,在 Pb、Cd 的单一胁迫浓度分别达到 0.20 mg/L 和 0.020 mg/L 水平时,CAT 与 SOD 活性达到最大值,但高浓度处理组的酶活性下降。CAT 和 SOD 活性的升高,可以缓解 Pb、Cd 胁迫对铜锈环棱螺的生物毒性,但其作用范围有一定限度。Pb、Cd 复合胁迫下,铜锈环棱螺 SOD 与 CAT 活性呈先升后降趋势。两种酶的活性变化贡献顺序为 Cd 单一胁迫>Pb-Cd 复合胁迫>Pb 单一胁迫,说明 Cd 毒害作用可能更强,Pb、Cd 复合胁迫属于拮抗作用。

关键词:铅;镉;铜锈环棱螺;过氧化氢酶;超氧化物歧化酶

中图分类号:X171.5;X826 **文献标志码:**A

文章编号:1673-0062(2020)05-0014-10

Responses of SOD and CAT of *Bellamya aeruginosa* to Single and Joint Stress of Lead and Cadmium

HUANG Wei^{1,2,3,4}, LI Zhiliang^{1,2,3,4}, LIU Jun^{1,2,3,4*}, PENG Cuiying^{1,2,3,4},
XIE Hongyan^{1,2,3,4}, HU Jingsong^{1,2,3,4}, ZHU Yunhua^{1,2,3,4}

(1. Hengyang Medical College, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China;

收稿日期:2020-03-17

基金项目:湖南省自然科学基金项目(2018JJ2325);湖南省教育厅重点项目(15A168);衡阳市科技局项目(2018KJ111;2016KF14)

作者简介:黄 微(1996-),女,硕士研究生,主要从事环境生物学方面的研究。E-mail:balloon1996@126.com。* 通信作者:刘 俊(1976-),男,副教授,博士,主要从事生态学方面的研究。E-mail:nhuliujun@126.com

2. The Key Laboratory of Ecological Environment and Critical Human Diseases Prevention of Hunan Province of Higher Education, Hengyang, Hunan 421001, China;
3. The Key Laboratory of Hengyang City on Ecological Impedance Technology of Heavy Metal Pollution in Cultivated Soil of Nonferrous Metal Mining Area, Hengyang, Hunan 421001, China;
4. The Key Laboratory of Hengyang City on Biological Toxicology and Ecological Restoration, Hengyang, Hunan 421001, China)

Abstract: In order to investigate the single and joint toxicity of cadmium (Cd) and lead (Pb) on *Bellamya aeruginosa*, stress test was used to study the different concentrations of Pb (0, 0.05, 0.1, 0.2, and 0.4 mg/L), Cd (0, 0.005, 0.01, 0.02, and 0.04 mg/L) and a Pb-Cd mixed solution (0+0, 0.05+0.005, 0.1+0.01, 0.2+0.02, and 0.4+0.004 mg/L) at different stress time (0, 2, 4, 6, 8 d) on the catalase (CAT) activity and superoxide dismutase (SOD) activity of *B. aeruginosa*. Short-term (≤ 6 d), low-concentration Pb, Cd single stress, CAT and SOD activity of *B. aeruginosa* significantly increased, but long-term (>6 d), high-concentration Pb (0.4 mg/L), Cd (0.04 mg/L) single stress caused a significant decrease in its CAT and SOD activities. On the 8th day, when the single stress concentrations of Pb and Cd reached the levels of 0.20 mg/L and 0.020 mg/L, respectively, the activities of CAT and SOD reached the maximum, and the enzyme activity of the high concentration treatment group decreased. The increase of CAT and SOD activities can alleviate the biological toxicity of Pb and Cd stress to the *B. aeruginosa*, but its scope of action has a certain limit. Under the joint stress of Pb and Cd, the activities of SOD and CAT of *B. aeruginosa* showed an upward trend and then a downward trend. The contribution order of the activity changes of the two enzymes is Cd single stress $>$ Pb-Cd joint stress $>$ Pb single stress, indicating that the poisoning effect of Cd may be stronger, and the compound stress of Pb and Cd has an antagonistic effect.

key words: lead; cadmium; *Bellamya aeruginosa*; catalase; superoxide dismutase

0 引言

近年来由于工业、农业活动以及生活废水的排放导致河流受到严重污染,而河流是水生生物的栖息地为其提供营养来源,但同时河流中不同来源的污染物经过物理、化学、生物的转运和转化最终仍会留在河底沉积物中^[1]。湖南省素有“有色金属之乡”的美名,郴州柿竹园、衡阳水口山、株洲清水塘、湘潭岳塘等工业区沿湘江干流布局,矿产开发、冶炼和化工等工业活动产生废弃物大量排放到环境介质中造成湘江流域重金属污染^[2-10]。肖瑶的研究指出,湘江沉积物中 Cu、Zn、Pb、Cd 等重金属严重污染^[10],且主要赋存在铁-锰氧化物和碳酸盐矿物中^[7]。湘江底泥重金属 Cd、Pb、Zn、Cu 含量极显著高于湖南省土壤背景值,尤其是具有毒性的生物必需元素 Cd、Pb 的污染特别严重^[11]。姚玲霞等^[12]的研究指出

Zn-Cd 复合暴露下,铜锈环棱螺对 Zn 吸收呈抑制作用,对 Cd 的吸收有促进作用,Zn、Cd 之间可能存在拮抗关系。孙宁宁等^[13]发现,铜、锌联合作用时,不同浓度“ $\text{Cu}^{2+} + \text{Zn}^{2+}$ ”搭配对铜锈环棱螺的 SOD 和 CAT 酶活性的影响具有较大的差异,不是简单的协同作用或者拮抗作用;铜和锌并不是独立地发挥其生物学作用,而是相互影响。这与 S. M. Hegazy 等^[14]和邓铁柱等^[15]的研究结果类似。Pb、Cd 是环境中普遍存在的重金属污染物,在环境中存在单一及复合毒性^[16]。铜锈环棱螺(*Bellamya aeruginosa*)是我国淡水生态系统一种常见的底栖动物,具有生物量大、繁殖能力强、分布广泛等特点,以沉积物中的细菌、藻类及有机碎屑等为食,对水体生态系统的物质循环发挥着重要作用,是淡水水生系统的主要群落成员^[17]。研究发现,湘江蕴藏着丰富的软体动物资源,铜锈环棱螺是湘江软体动物的优势种群^[18-21]。铜锈环棱螺

广泛栖居于 Pb、Cd 污染特别严重的湘江沉积物,表明铜锈环棱螺具有累积和耐受 Pb、Cd 的能力。但是,铜锈环棱螺耐受 Pb、Cd 和 Pb-Cd 复合毒性的机制尚不清楚。因此,本实验以铜锈环棱螺为试验动物,用人工胁迫的方法,研究 Pb、Cd 单一及复合污染对其 CAT 活性和 SOD 活性的影响,以期探讨铜锈环棱螺耐受 Pb、Cd 污染的生理机制,并为水生生物环境重金属污染的生态风险评价提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

本实验选择人工养殖的成体铜锈环棱螺(壳高 (34.96 ± 0.56) mm、壳宽 (18.48 ± 0.68) mm、体质量 (9.15 ± 0.18) g),将铜锈环棱螺置于去氯自来水驯养一周待用。选取驯养后的铜锈环棱螺置于 9 L 聚乙烯饲养盆(长×宽×高:27.5 cm×20 cm×16.5 cm)中,每盆 30 只,加入 4 L 水,每 4 h 通氧 30 min,每盆每天投喂沉底鱼饲料(意牌观赏鱼饲料)1 g。培养条件:水温 (24 ± 1) °C;光照周期为光照 12 h、黑暗 12 h。

1.2 重金属 Pb、Cd 对铜锈环棱螺 CAT、SOD 的影响

用去离子水配置 100 mg/L 的 Pb^{2+} 和 Cd^{2+} 母液,按比例制成不同处理浓度。Pb 处理浓度 0、0.05、0.1、0.2 和 0.4 mg/L; Cd 处理浓度 0、0.005、0.01、0.02 和 0.04 mg/L; Pb 和 Cd 混合处理浓度 0+0、0.05+0.005、0.1+0.01、0.2+0.02 和 0.4+0.004 mg/L。将驯养后的铜锈环棱螺饲养在以上浓度的饲养盆中,在第 0、2、4、6、8 d 取铜锈环棱螺的内脏团,剔除消化道中残留物,测定 CAT、SOD 活性。参照 M. M. Bradford^[22] 考马斯亮蓝 G-250 法测定蛋白质含量。采用 NBT 法测定 SOD 活性^[23],CAT 活性采用紫外分光光度法^[24]测定。计算公式如下:

$$C = \frac{(A_{CK} - A_E) \times V_T}{0.1 \times V_S \times t \times W}$$

式中, C 为过氧化氢酶活性, A_{CK} 为样品吸光值, A_E 为对照组吸光值; V_T 粗酶提取液总体积; V_S 测定用酶液体积; t 为测定总时间; W 为样品鲜质量;0.1 指 OD_{240} 每下降 0.1 为一个酶活单位。

$$S = \frac{(A_{CK} - A_E) \times V}{0.5 \times A_{CK} \times W \times V_i}$$

式中, S 为超氧化物歧化酶总活性表示; A_{CK} 为对照组的吸光值; A_E 样品的吸光值; V 样品的

总体积; V_i 测定的是样品用量; W 样品鲜质量。

1.3 统计分析

用 SPSS 25 对实验数据进行组间差异显著性的多重比较检验(least significant difference, LSD)和 2×2 析因设计方差分析(ANOVA),差异显著性水平为 0.05,析因分析中若无交互作用即为联合作用的相加作用,有交互作用则为联合作用中的协同或拮抗作用^[25]。采用 OriginPro 9.1 和 GraphPad Prism 8 进行绘图。

2 结果与讨论

2.1 Pb、Cd 单一胁迫对铜锈环棱螺 CAT 活性的影响

重金属胁迫导致细胞内产生过量的活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)进而使生物机体氧化损伤,ROS 的存在可能会诱导或抑制某些生物标志物,主要取决于金属与酶活性位点结合的差异以及 ROS 的诱导机制^[26],而多种抗氧化酶(CAT、SOD 等)通过清除超氧化物或激活解毒蛋白,可以阻止 ROS 的产生,从而保护细胞、免受伤害^[27]。从图 1 可知,当 Pb、Cd 的单一胁迫浓度分别低于 0.20 mg/L 和 0.020 mg/L 水平时,随胁迫时间的延长,铜锈环棱螺 CAT 活性稳步升高,且其升高速率显著高于对照组($P < 0.05$);当 Cd 的单一胁迫浓度达到 0.040 mg/L 水平时,CAT 活性在第 8 天显著降低($P < 0.05$)。生物有机体可以通过 CAT 催化 H_2O_2 或其他有机过氧化物转化为 H_2O 或无毒醇,防止毒性活性氧中间体在有机体内积累^[28]。当胁迫时间短于 6 d 时,CAT 活性随着 Pb、Cd 的单一胁迫浓度的升高而显著升高;当胁迫时间达到 8 d 时,随着 Pb、Cd 的单一胁迫浓度的升高,CAT 活性先升高后降低,在 Pb、Cd 的单一胁迫浓度分别达到 0.20 mg/L 和 0.020 mg/L 水平时,CAT 活性达到最大值。CAT 活性随浓度和时间的动态变化可能取决于金属离子与 CAT 亚基中活性位点的结合。在本研究中,铜锈环棱螺 CAT 活性随 Pb、Cd 胁迫浓度和时间的增加而升高,但长时间、高浓度的 Pb、Cd 胁迫抑制了 CAT 活性。这表明,CAT 活性的升高,可以缓解 Pb、Cd 胁迫对铜锈环棱螺的生物毒性,但其作用范围有一定限度。

2.2 Pb、Cd 单一胁迫对铜锈环棱螺 SOD 活性的影响

从图 2 可知,当 Pb、Cd 的单一胁迫浓度分别

低于 0.20 mg/L 和 0.020 mg/L 水平时,随胁迫时间的延长,铜锈环棱螺 SOD 活性稳步升高,且其升高速率显著高于对照组 ($P<0.05$);当 Pb、Cd 的单一胁迫浓度分别为 0.40 mg/L 和 0.040 mg/L 水平时,SOD 活性在第 8 天显著降低 ($P<0.05$)。当胁迫时间短于 6 d 时,SOD 活性随着 Pb、Cd 的单一胁迫浓度的升高而显著升高;当其胁迫时间达到 8 d 时,随着 Pb、Cd 的单一胁迫浓度的升高,SOD 活性先升高后降低,且差异显著 ($P<0.05$);在 Pb、Cd 的单一胁迫浓度分别达到 0.20 mg/L 和 0.020 mg/L 水平时,SOD 活性达到最大值。随

胁迫浓度和时间的增加,铜锈环棱螺 SOD 活性显著升高,产生了 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 ,但长时间、高浓度的 Pb、Cd 胁迫使得过量的 $O_2^{\cdot-}$ 抑制了 SOD 活性。研究表明,重金属离子与 SOD 结构的两个亚基的结合,在胁迫的初始阶段激活其活性,且 Pb 容易通过静电相互作用与 SOD 酶结合,并通过引起 Cu^{2+} 和 Zn^{2+} 释放而改变了酶的二级结构^[29-30]。显然,SOD 能有效地清除 Pb、Cd 胁迫导致铜锈环棱螺产生的 ROS,但仅能在一定范围内发挥其保护防御功能。

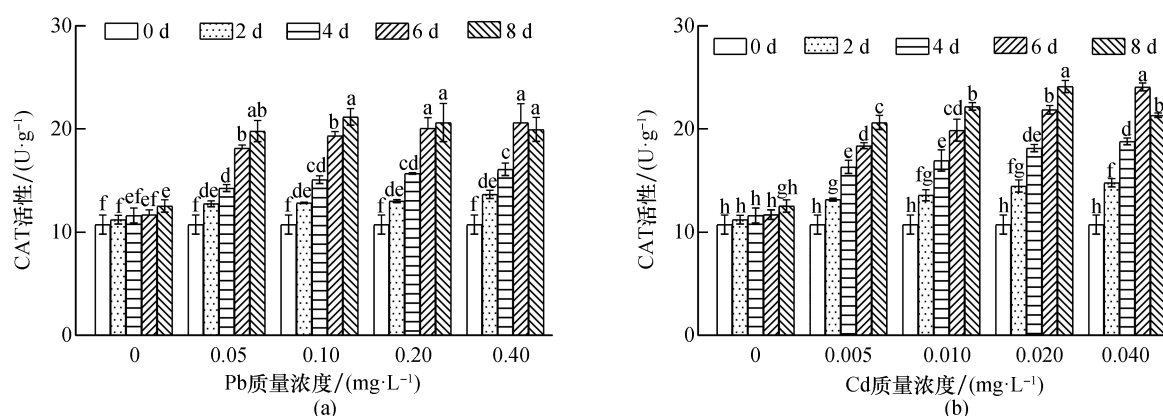


图1 Pb、Cd 单一胁迫对铜锈环棱螺 CAT 活性的影响(不同字母代表差异显著 ($P<0.05$))

Fig. 1 Effects of Pb and Cd single stress on CAT activity of *B. aeruginosa*

(Different letters indicate that differences are significant ($P<0.05$))

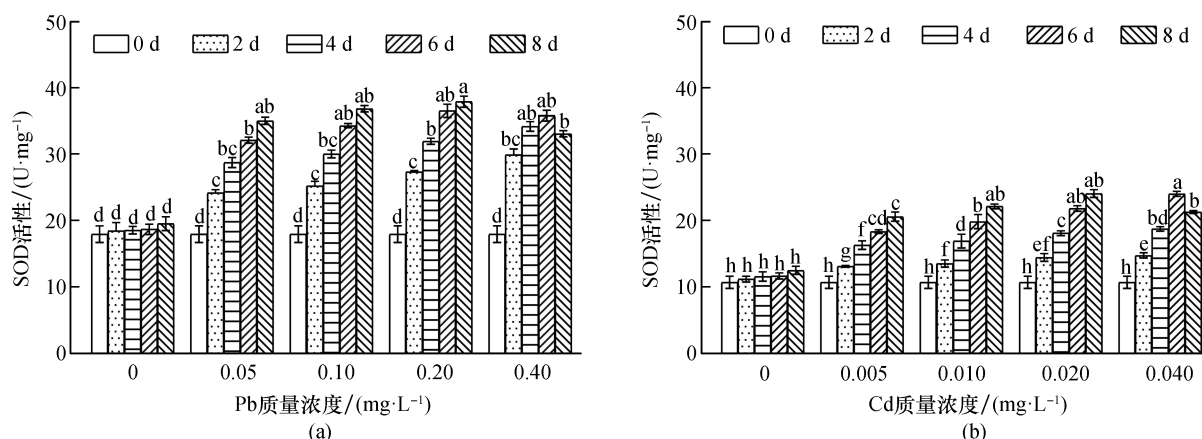


图2 Pb、Cd 单一胁迫对铜锈环棱螺 SOD 活性的影响(不同字母代表差异显著 ($P<0.05$))

Fig. 2 Effects of Pb and Cd single stress on SOD activity of *B. aeruginosa*

(Different letters indicate that differences are significant ($P<0.05$))

2.3 Pb-Cd 复合胁迫对铜锈环棱螺 CAT 活性和 SOD 活性的影响

从图 3 可知当 Pb-Cd 复合胁迫浓度较低时 (Pb1+Cd1),随着胁迫时间的延长,铜锈环棱螺

CAT 与 SOD 活性稳步升高,且差异显著;当 Pb-Cd 复合胁迫浓度 $\geq$ (Pb2+Cd2) 水平时,随着胁迫时间的延长,铜锈环棱螺 CAT 与 SOD 活性呈先升后降趋势且差异显著 ($P<0.05$)。从胁迫第

2 天开始 CAT 活性显著升高 ($P < 0.05$), 但胁迫 6 d 后 CAT 活性升高缓慢, Pb3+Cd3 在第 8 天时 CAT 活性达到最大值。Pb-Cd 复合胁迫浓度越高, SOD 活性达到最大值所需时间越短。Pb1+Cd1 组, SOD 活性在第 8 天显著降低 ($P < 0.05$), Pb3+Cd3 组, SOD 活性均在第 6 天开始显著降低 ($P < 0.05$), Pb4+Cd4 组 SOD 活性在第 4 天开始降低。从第 6 天开始 Pb4+Cd4 组的 CAT 活性比 Pb3+Cd3 组低且第 8 天时活性抑制显著, 可能是由于实验时间长重金属累积过多, 产生的 ROS 无法及时清除发生氧化损伤, 机体受损的同时和成

CAT、SOD 的能力下降同时酶活性也降低。酶活性的下降, 可能意味着胁迫强度和时间已超出其调节的范围, 或者说其保护机制被破坏了。CAT、SOD 常被作为评价污染物潜在生态毒性的标志物^[31-32]。由于 Pb、Cd 能通过食物链富集最终影响人类健康, Pb、Cd 胁迫使得 CAT 和 SOD 活性变化而 Pb-Cd 复合胁迫对酶活性的影响较单一胁迫更为复杂, 因此, 不仅要关注 Pb、Cd 本身的毒性, 更要关注不同重金属之间的联合污染, 同时还要考虑环境因子的影响才能更全面的了解其环境生态风险。

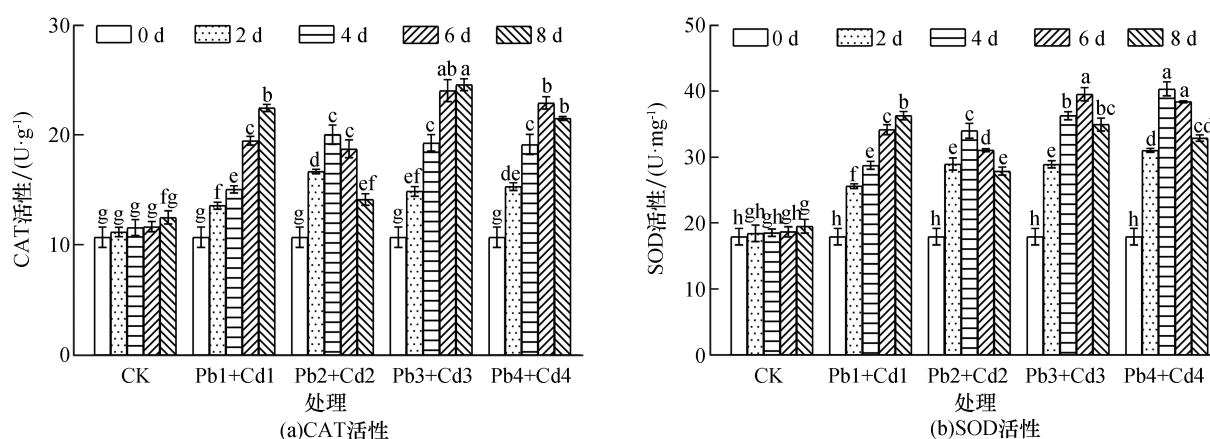


图3 Cd-Pb 复合胁迫对铜锈环棱螺 CAT 活性和 SOD 活性的影响(不同字母代表差异显著($P < 0.05$))

Fig.3 Effects of Cd-Pb combined stress on CAT and SOD activity of *B. aeruginosa*

(Different letters indicate that differences are significant ($P < 0.05$))

2.4 Pb、Cd 胁迫对铜锈环棱螺的相互作用

2×2 析因设计方差分析可以更好的判断 Pb-Cd 胁迫复合作用, 并可以通过量一效应曲线图确定复合毒性作用特征。由 Partial Eta² 可知在前 6 天各因素对 CAT 活性变化的贡献顺序均为 Cd 单一胁迫最强其次是 Pb 单一胁迫, 至第 8 天时 Pb、Cd 复合胁迫对 CAT 活性变化的贡献最大。第 2 天时量与效应图显示 Pb1+Cd1 对 CAT 活性的联合作用为相加作用, Pb2+Cd2 对 CAT 活性的联合作用为协同作用, Pb3+Cd3、Pb4+Cd4 对 CAT 活性的联合作用为拮抗作用(图 5a、5e、5i、5m); 第 4 天时量与效应图显示 Pb1+Cd1、Pb3+Cd3、Pb4+Cd4 对 CAT 活性的联合作用为拮抗作用, Pb2+Cd2 对 CAT 活性的联合作用为相加作用(图 5b、5f、5j、5n); 第 6 天时量与效应图显示 Pb-Cd 对 CAT 活性的联合作用均为拮抗作用(图 5c、5g、5k、5o), 第 8 天时量与效应图显示 Pb-Cd 对 CAT 活性的联合作用均为拮抗作用(图 5d、5h、

5l、5p)。由 Partial Eta² 可知在第 2 天时 Pb 对 SOD 活性变化的贡献最强; 第 4 天时各因素对 SOD 活性变化的贡献顺序为 Pb 单一胁迫最强其次是 Cd 单一胁迫; 第 6~8 天时 Pb、Cd 复合胁迫对 SOD 活性变化的贡献最强。量与效应图显示不同时期 Pb-Cd 对 SOD 活性的联合作用均为拮抗作用(图 6)。在本实验中, Pb 和 Cd 在不同剂量和时间下的相互作用大多是拮抗的, 与 Cobbina 等人的研究一致^[33]。这可能是由于结合位点的竞争^[34]与金属的毒理动力学密切相关, 目前已有研究证明重金属的毒害作用随浓度和时间而变化^[35]。

金属阳离子在形成阳离子- π 键时与富含电子的有机污染物具有高亲和力而引起增溶作用, 这被称为“盐化”效应^[36]。通过双齿或多齿有机配体与潜在有毒元素之间的配位键组装形成的复合物改变了现有的污染物形式, Pb²⁺ 和/或 Cd²⁺ 的共存可增强菲在土壤中的吸附, 可能源自菲的

芳环与黏土土壤颗粒上吸附的软金属阳离子之间的阳离子- π 键^[37]。Pb 和 Cd 之间存在氨基酸配体或相关表面转运蛋白之间的竞争,取决于混合物中每种金属对配体和转运蛋白的相对亲和力^[38-39];一种重金属可能影响与其他重金属有关的酶的代谢过程,从而降低了整个重金属复合污

染的生物毒性。Pb、Cd 单一胁迫及复合胁迫下,铜锈环棱螺 CAT 和 SOD 活性变化趋势基本相似,但其酶活性变化的贡献顺序为: Cd 单一胁迫>Pb-Cd 复合胁迫>Pb 单一胁迫。说明 Pb、Cd 复合胁迫是降低了生物毒性,这与孙宁宁等^[13]对于两种重金属复合污染的研究结果略有差异。

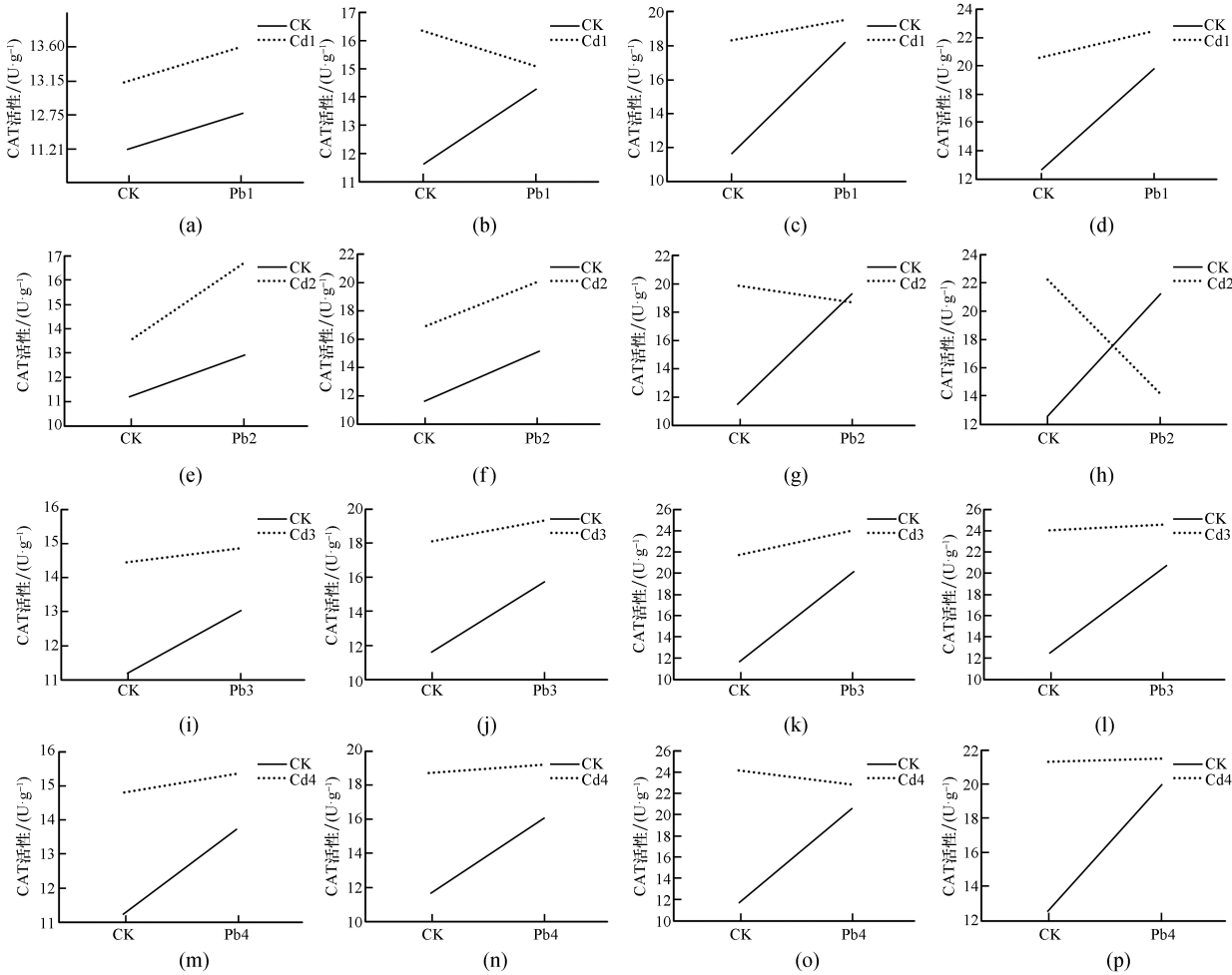


图 4 Pb/Cd 处理 2、4、6、8 d 后对铜锈环棱螺 CAT 活性的交互作用

Fig. 4 The interaction effects of Cd and Pb in sediments with different concentrations on CAT in *B. aeruginosa* after exposure for 2 days, 4 days, 6 days and 8 days

表 1 Pb/Cd 处理不同时间后对铜锈环棱螺 CAT 活性的析因分析

Table 1 Factorial analysis of combined effects of Cd-Pb with different concentrations on CAT in *B. aeruginosa* during different periods

处理组	2 d			4 d			6 d			8 d		
	F 值	P 值	Partial Eta ²	F 值	P 值	Partial Eta ²	F 值	P 值	Partial Eta ²	F 值	P 值	Partial Eta ²
Pb1	18.680	0.005 *	0.795	3.251	0.121	0.351	206.929	<0.001 *	0.972	103.740	<0.001 *	0.945
Cd1	37.088	0.001 *	0.861	48.186	<0.001 *	0.889	231.039	<0.001 *	0.975	145.555	<0.001 *	0.960
Pb1+Cd1	5.661	0.055	0.485	23.948	0.003 *	0.800	101.281	<0.001 *	0.944	36.422	0.001 *	0.859
Pb2	90.964	<0.001 *	0.938	42.855	0.001 *	0.877	56.500	<0.001 *	0.904	0.623	0.475	0.095

续表

处理组	2 d			4 d			6 d			8 d		
	F 值	P 值	Partial Eta ²	F 值	P 值	Partial Eta ²	F 值	P 值	Partial Eta ²	F 值	P 值	Partial Eta ²
Cd2	156.324	<0.001 *	0.963	103.430	<0.001 *	0.945	76.315	<0.001 *	0.927	11.153	0.016 *	0.650
Pb2+Cd2	9.033	0.024 *	0.601	0.113	0.794	0.018	100.944	<0.001 *	0.944	448.418	<0.001 *	0.987
Pb3	15.835	0.007 *	0.725	42.230	0.001 *	0.876	133.576	<0.001 *	0.957	49.192	<0.001 *	0.891
Cd3	85.216	<0.001 *	0.934	157.535	<0.001 *	0.963	238.873	<0.001 *	0.975	161.325	<0.001 *	0.964
Pb3+Cd3	6.030	0.049 *	0.501	12.885	0.012 *	0.682	44.872	0.001 *	0.882	38.310	0.001 *	0.865
Pb4	32.586	0.001 *	0.845	28.458	0.002 *	0.826	47.529	<0.001 *	0.888	78.979	<0.001 *	0.929
Cd4	98.239	<0.001 *	0.942	125.686	<0.001 *	0.954	169.247	<0.001 *	0.966	145.939	<0.001 *	0.961
Pb4+Cd4	13.009	0.011 *	0.684	20.080	0.004 *	0.770	78.950	<0.001 *	0.929	70.518	<0.001 *	0.922

* 表示显著差异 ($P < 0.05$) ; Partial Eta² 表明因素对变化的贡献; Pb1、Pb2、Pb3、Pb4 分别为 0、0.05、0.1、0.2 和 0.4 mg/L; Cd1、Cd2、Cd3、Cd4 分别为 0、0.005、0.01、0.02 和 0.04 mg/L。

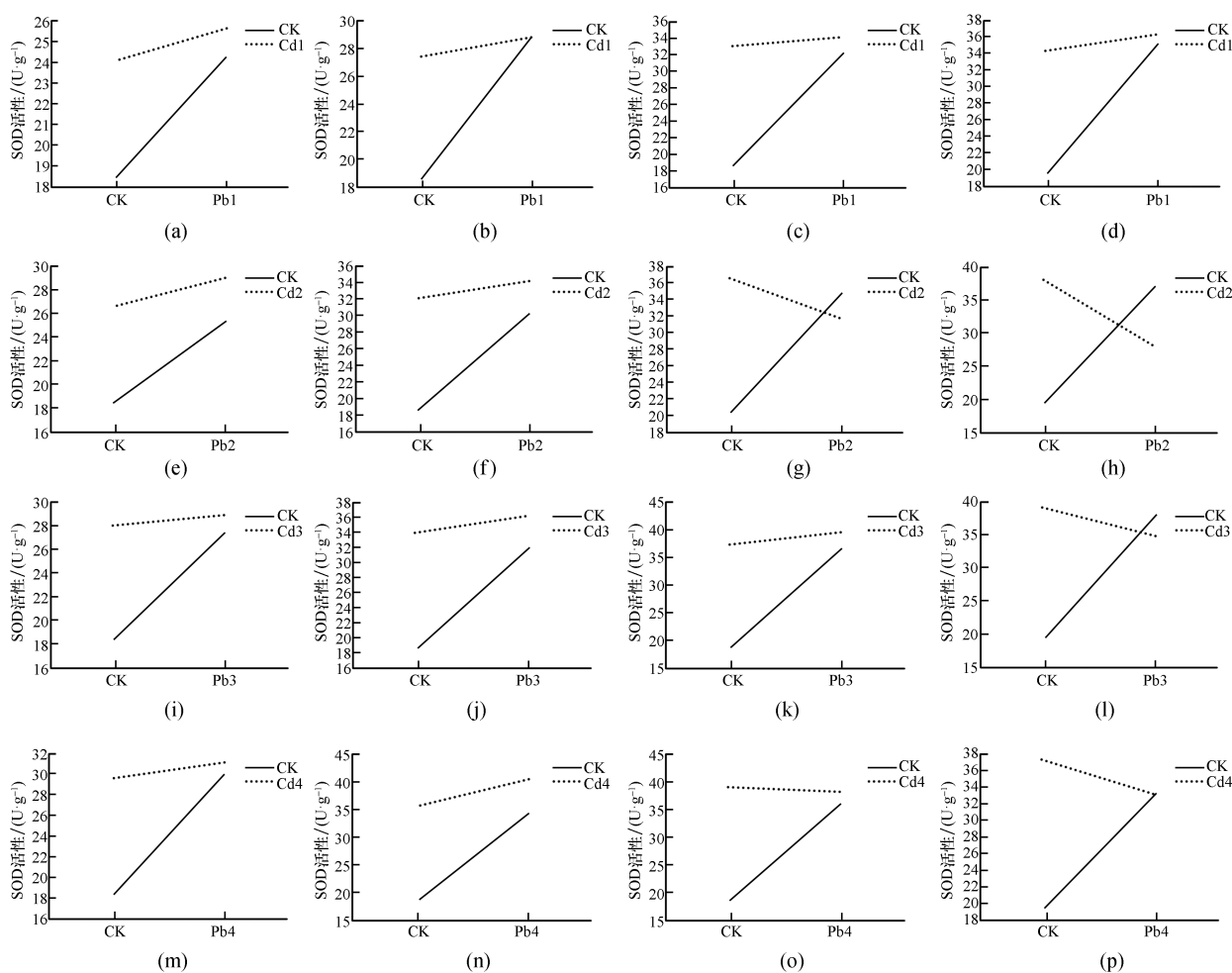


图5 Pb/Cd 处理 2、4、6、8d 后对铜锈环棱螺 SOD 活性的交互作用

Fig.5 The interaction effects of Cd and Pb in sediments with different concentrations on SOD in *B. aeruginosa* after exposure for 2 days, 4 days, 6 days and 8 days

表 2 Pb/Cd 处理不同时间后对铜锈环棱螺 SOD 活性的析因分析
Table 2 Factorial analysis of combined effects of Cd-Pb with different concentrations on SOD in *B. aeruginosa* during different periods

处理组	2 d			4 d			6 d			8 d		
	F 值	P 值	Partial Eta ²	F 值	P 值	Partial Eta ²	F 值	P 值	Partial Eta ²	F 值	P 值	Partial Eta ²
Pb1	30.731	0.001 *	0.837	243.688	<0.001 *	0.976	211.686	<0.001 *	0.972	239.247	<0.001 *	0.976
Cd1	28.185	0.002 *	0.824	142.844	<0.001 *	0.960	261.716	<0.001 *	0.978	199.735	<0.001 *	0.971
Pb1+Cd1	9.936	0.020 *	0.623	142.521	<0.001 *	0.960	147.547	<0.001 *	0.961	141.942	<0.001 *	0.959
Pb2	48.154	<0.001 *	0.889	200.262	<0.001 *	0.971	173.038	<0.001 *	0.966	45.410	0.001 *	0.883
Cd2	81.039	<0.001 *	0.931	330.474	<0.001 *	0.982	345.033	<0.001 *	0.983	75.882	<0.001 *	0.927
Pb2+Cd2	11.492	0.015 *	0.657	97.059	<0.001 *	0.942	721.795	<0.001 *	0.992	640.312	<0.001 *	0.991
Pb3	64.322	<0.001 *	0.915	343.842	<0.001 *	0.983	349.811	<0.001 *	0.983	116.057	<0.001 *	0.951
Cd3	81.407	<0.001 *	0.931	541.671	<0.001 *	0.989	428.297	<0.001 *	0.986	115.131	<0.001 *	0.962
Pb3+Cd3	42.091	0.001 *	0.875	170.487	<0.001 *	0.966	225.351	<0.001 *	0.974	279.569	<0.001 *	0.979
Pb4	99.760	<0.001 *	0.943	473.894	<0.001 *	0.987	369.074	<0.001 *	0.984	74.520	<0.001 *	0.925
Cd4	90.840	<0.001 *	0.938	639.527	<0.001 *	0.991	721.124	<0.001 *	0.992	257.122	<0.001 *	0.977
Pb4+Cd4	60.055	<0.001 *	0.909	143.434	<0.001 *	0.960	434.123	<0.001 *	0.986	267.587	<0.001 *	0.978

* 表示显著差异 ($P<0.05$) ; Partial Eta² 表明因素对变化的贡献; Pb1、Pb2、Pb3、Pb4 分别为 0、0.05、0.1、0.2 和 0.4 mg/L; Cd1、Cd2、Cd3、Cd4 分别为 0、0.005、0.01、0.02 和 0.04 mg/L。

3 结 论

1) 当 Pb、Cd 的单一胁迫浓度分别低于 0.20 mg/L 和 0.020 mg/L 水平时,铜锈环棱螺体内的 CAT、SOD 活性升高以降低 Pb、Cd 在体内产生的毒害作用,但高于此浓度后酶活性降低。
2) 当 Pb-Cd 复合胁迫浓度 $\geq$ (Pb2+Cd2) 水平时,铜锈环棱螺 CAT 与 SOD 活性呈先升后降趋势。
3) CAT、SOD 活性变化的贡献顺序为 Cd 单一胁迫>Pb-Cd 复合胁迫>Pb 单一胁迫,Cd 毒害作用更强,Pb、Cd 复合胁迫属于拮抗作用。

参考文献:

[1] FU J,ZHAO C P,LUO Y P,et al. Heavy metals in surface sediments of the Jialu River,China:Their relations to environmental factors[J]. Journal of hazardous materials,2014, 270:102-109.
[2] 彭翠英,李志良,黄微,等. 湘江中游衡阳:株洲段沉积物几种典型重金属的污染特征及其生态风险评价[J]. 南华大学学报(自然科学版),2019,33(4): 89-96.
[3] CHAI L,LI H,YANG Z,et al. Heavy metals and metalloids in the surface sediments of the Xiangjiang River, Hunan,China:Distribution,contamination,and ecological

risk assessment[J]. Environmental science and pollution research international,2017,24(1):874-885.
[4] BARTKOWIAK A,LEMANOWICZ J,HULISZ P. Ecological risk assessment of heavy metals in salt-affected soils in the Natura 2000 area (Ciechocinek,north-central Poland)[J]. Environmental science and pollution research international,2017,24(35):27175-27187.
[5] BIAN B,LIN C,LV L. Health risk assessment of heavy metals in soil-plant system amended with biogas slurry in Taihu basin,China [J]. Environmental science and pollution research international,2016,23(17):16955-16964.
[6] BORTEY-SAM N,NAKAYAMA S M,AKOTO O,et al. Ecological risk of heavy metals and a metalloid in agricultural soils in Tarkwa,Ghana[J]. International journal of environmental research and public health,2015,12(9):11448-11465.
[7] AL-SALEH I,ABDULJABBAR M. Heavy metals (lead, cadmium,methylmercury,arsenic) in commonly imported rice grains (Oryza sativa) sold in Saudi Arabia and their potential health risk[J]. International journal of hygiene and environmental health,2017,220(7):1168-1178.
[8] 杨阳,李艳玲,王美娥,等. 湖南攸县稻米镉(Cd)富集特征及原因解析[J]. 环境科学学报,2017,37(4): 1502-1507.
[9] 桂雨婷,王健,余建波,等. 洞庭湖流域湘江铜锈环棱螺(*Bellamya aeruginosa*)的重金属富集特征及其膳食风险评估[J]. 湖泊科学,2019,31(3):724-733.

- [10] 肖瑶,彭渤,杨梓璇,等. 湘江下游重污染段河床沉积物重金属赋存特征[J]. 环境化学, 2017, 36(9): 1977-1986.
- [11] 刘俊,朱允华,胡劲松,等. 湘江中游江段沉积物重金属污染特征及生态风险评价[J]. 生态与农村环境学报, 2017, 33(2): 135-141.
- [12] 姚玲霞,宋猛猛,周迎,等. 锌、镉复合暴露对铜锈环棱螺内脏抗氧化酶活性和丙二醛含量的影响[J]. 环境化学, 2015, 34(12): 2316-2318.
- [13] 孙宁宁,南旭阳,戴灵鹏,等. 铜锌复合污染对铜锈环棱螺 CAT 和 SOD 酶活性的影响[J]. 河南科学, 2015, 33(5): 725-730.
- [14] HEGAZY S M, ADACHI Y. Comparison of the effects of dietary selenium, zinc, and selenium and zinc supplementation on growth and immune response between chick groups that were inoculated with *Salmonella* and aflatoxin or *Salmonella*[J]. Poultry science, 2000, 79(3): 331-335.
- [15] 邓铁柱,苏丽敏,袁星,等. 乙草胺与 Cu, Zn 对发光菌和斑马鱼胚胎的联合毒性效应[J]. 环境化学, 2007, 26(6): 741-744.
- [16] LIU X, CHEN Q, ALI N, et al. Single and joint oxidative stress-related toxicity of sediment-associated cadmium and lead on *Bellamya aeruginosa* [J]. Environmental science and pollution research, 2019, 26(24): 24695-24706.
- [17] MA T, GONG S, ZHOU K, et al. Laboratory culture of the freshwater benthic gastropod *Bellamya aeruginosa* (Reeve) and its utility as a test species for sediment toxicity[J]. Journal of environmental sciences, 2010, 22(2): 304-313.
- [18] 胡自强,刘俊,傅秀芹,等. 湘江干流软体动物的研究[J]. 水生生物学报, 2007, 31(4): 524-531.
- [19] LIU J, HUANG W, LI Z L, et al. Accumulation, subcellular distribution, and ecological risk assessment of Pb and Cd in *Bellamya aeruginosa* from the Xiangjiang River, China[J]. Chemistry and ecology, 2020, 36(4): 327-341.
- [20] 张琦,王方鸣,罗岳平,等. 湘江流域大型底栖动物群落结构及其与环境因子的关系[J]. 水生态学杂志, 2018, 39(2): 48-57.
- [21] 刘俊,吴彦琼,李静,等. 湘江衡阳段软体动物多样性调查和水质生物学评价[J]. 中国环境监测, 2011, 27(2): 97-101.
- [22] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical biochemistry, 1976, 72(1/2): 248-254.
- [23] ILOUNO L E, SHU E N, IGBOKWE G E. An improved technique for the assay of red blood cell superoxide dismutase (SOD) activity[J]. Clinica chimica acta, 1996, 247(1/2): 1-6.
- [24] JOHANSSON L H, BORG L A H. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples[J]. Analytical biochemistry, 1988, 174(1): 331-336.
- [25] 马陶武,朱程,周科,等. Cd Pb 单一及复合污染沉积物对铜锈环棱螺肝胰脏 SOD 和 MT 的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(1): 30-37.
- [26] CAPELA R, RAIMUNDO J, SANTOS M M, et al. The use of biomarkers as integrative tools for transitional water bodies monitoring in the Water Framework Directive context: A holistic approach in Minho river transitional waters[J]. Science of the total environment, 2016, 539: 85-96.
- [27] YOLOGLU E, OZMEN M. Low concentrations of metal mixture exposures have adverse effects on selected biomarkers of *Xenopus laevis* tadpoles[J]. Aquatic toxicology, 2015, 168: 19-27.
- [28] GEBICKA L, KRYCH-MADEJ J. The role of catalases in the prevention/promotion of oxidative stress [J]. Journal of inorganic biochemistry, 2019, 197: 110699.
- [29] QU R, FENG M, WANG X, et al. Metal accumulation and oxidative stress biomarkers in liver of freshwater fish *carassius auratus* following in vivo exposure to waterborne zinc under different pH values[J]. Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands), 2014, 150: 9-16.
- [30] MARANHO L A, DELVALLS T A, MARTÍN-DÍAZ M L. Assessing potential risks of wastewater discharges to benthic biota: An integrated approach to biomarker responses in clams (*ruditapes philippinarum*) exposed under controlled conditions[J]. Marine pollution bulletin, 2015, 92(1/2): 11-24.
- [31] MCCORD J M, FRIDOVICH I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein) [J]. The journal of biological chemistry, 1969, 244(22): 6049-6055.
- [32] ALMEIDA J A, DINIZ Y S, MARQUES S F G, et al. The use of the oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination[J]. Environment international, 2002, 27(8): 673-679.
- [33] COBBINA S J, CHEN Y, ZHOU Z, et al. Toxicity assessment due to sub-chronic exposure to individual and mixtures of four toxic heavy metals[J]. Journal of hazardous materials, 2015, 294: 109-120.

(下转第 50 页)

- 89-91.
- [5] 全国电磁兼容标准化技术委员会(SAC/TC246). 电磁兼容试验和测量技术浪涌(冲击)抗扰度试验:GB/T 17626.5-2019[S]. 北京:中国国家标准化管理委员会,2019:1-22.
- [6] 陈贺,辛中华,刘涛,等. 煤矿安全监控系统 CAN 总线浪涌抗扰度测试方法[J]. 电子质量,2019(1):78-81.
- [7] 许斌,汤伟,田宏强,等. 基于差模共模保护模式下的交流电源端口浪涌防护对比分析[J]. 电瓷避雷器,2018(2):83-87.
- [8] 赖淋香. 通信端口的浪涌(冲击)防护[J]. 电子产品可靠性与环境试验,2016,34(2):46-51.
- [9] 王肃. 信号线路浪涌保护器防雷设计[J]. 现代制造,2017(9):75-77.
- [10] LI D, DANG W, SUN L, et al. Reliability analysis of rectification on electromagnetic compatibility test[C]//2017 IEEE International Conference on Industrial Engineering and Engineering Management (IEEM). Singapore:IEEE,2017:939-943.
- [11] VRIGNON B, CAUNEGRE P, SHEPHERD J, et al. Automatic verification of EMC immunity by simulation[C]//2013 9th International Workshop on Electromagnetic Compatibility of Integrated Circuits (EMC Compo). Nara, Japan:IEEE,2013:202-207.
- [12] 张秦国,曾诚. 不同退耦电阻对信号 SPD 级间能量配合的影响[J]. 通讯世界,2017(15):134-136.
- [13] LUO G, ZHANG W, HUANG S, et al. Equivalent circuit modeling of electro-magnetic pulse generator for typical immunity simulation[C]//2017 International Symposium on Electromagnetic Compatibility-EMC EUROPE. Angers, France:IEEE,2017:1-5.
- [14] 李祥超,周中山,陈则煌,等. 气体放电管与压敏电阻能量配合的分析[J]. 电器与能效管理技术,2014(21):26-31.
- [15] 姜琦松. 三级复合型电涌保护器的设计与研究[C]//雷电委员会,中国气象科学研究院. 第31届中国气象学会年会 S9 第十二届防雷减灾论坛:雷电物理防雷新技术. 雷电委员会,中国气象科学研究院:中国气象学会,2014:662-674.
- [16] ZOLA J G. Gas discharge tube modeling with PSpice[J]. IEEE transactions on electromagnetic compatibility,2008,50(4):1022-1025.
- [17] ZOLA J G. Simple model of metal oxide varistor for pspice simulation[J]. IEEE transactions on computer-aided design of integrated circuits and systems,2004,23(10):1491-1494.
- [18] JIM L, WILLIAM L. 采用 SPICE 评估 TVS 保护电路[J]. 电子设计应用,2006(3):133-135.
- [19] 陈超,周先春. 基于 PSPICE 软件的多级 SPD 仿真与实际冲击实验对比分析[J]. 电瓷避雷器,2017(1):60-63;71.
- (上接第 22 页)
- [34] SCUDIERO R, CRETÌ P, TRINCHELLA F, et al. Evaluation of cadmium, lead and metallothionein contents in the tissues of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from the Campania coast (Italy): Levels and seasonal trends [J]. Comptes rendus biologiques, 2014, 337 (7/8): 451-458.
- [35] LIU J, QU R, YAN L, et al. Evaluation of single and joint toxicity of perfluorooctane sulfonate and zinc to *Limnodrilus hoffmeisteri*: Acute toxicity bioaccumulation and oxidative stress[J]. Journal of hazardous materials, 2015, 301:342-349.
- [36] GOKEL G W, BARBOUR L J, WALL S L D, et al. ChemInform abstract: Macrocyclic polyethers as probes to assess and understand alkali metal cation- π interactions [J]. Coordination chemistry reviews, 2001, 222 (1):127-154.
- [37] ZHANG W H, ZHUANG L W, YUAN Y, et al. Enhancement of phenanthrene adsorption on a clayey soil and clay minerals by coexisting lead or cadmium[J]. Chemosphere,2011,83(3):302-310.
- [38] SPURGEON D J, JONES O A H, DORNE J L C M, et al. Systems toxicology approaches for understanding the joint effects of environmental chemical mixtures [J]. Science of the total environment,2010,408(18):3725-3734.
- [39] SILINS I, HÖGBERG J. Combined toxic exposures and human health: Biomarkers of exposure and effect[J]. International journal of environmental research and public health,2011,8(3):629-647.