

汞、镉复合污染对金鱼藻的影响 及其抗性机制的探讨

常福辰, 施国新, 吴国荣, 丁小余, 解凯彬, 陆长梅

(南京师范大学生命科学学院, 江苏南京 210097)

摘要: 研究了金鱼藻在不同浓度 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 以及 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 共同胁迫下叶绿素含量、叶绿素 a/b 值、可溶性蛋白含量、SOD 活性和游离脯氨酸含量等的变化。结果表明: 低浓度 Cd^{2+} ($\leq 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 对上述指标有激应性反应, 低浓度 Hg^{2+} ($\leq 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 对叶绿素含量、叶绿素 a/b 值、可溶性蛋白含量、SOD 活性也有激应性反应; 可以认为这是植物的一种保护性机制。但随着 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 处理浓度增大, 上述生理指标呈下降趋势, 表明植物细胞遭受伤害。 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 共同胁迫下上述生理指标下降幅度明显增大, 表现为协同作用。

关键词: 金鱼藻; Hg^{2+} ; Cd^{2+} ; 复合污染

中图分类号: Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2002)05-0453-05

Effects of the combinative pollution of mercury and cadmium on *Ceratophyllum demersum* L. and preliminary studies of its mechanism

CHANG Fu-chen, SHI Guo-xin, WU Guo-rong,

DING Xiao-yu, XIE Kai-bin, LU Chang-mei

(College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

Abstract: The paper deals with Hg^{2+} 、 Cd^{2+} and their interactions on chlorophyll a/b values, SOD activities and the contents of chlorophyll, soluble protein, free proline of *Ceratophyllum demersum* L. The results showed the indexes increased first in lower concentration of Hg^{2+} 、 Cd^{2+} , which may be regarded as a protecting function of plants, and decreased afterwards with the increasing of the concentration of Hg^{2+} 、 Cd^{2+} . The decreases in those indexes indicate the cells have been harmed. The combination of Hg^{2+} and Cd^{2+} shows the function of synergism.

Key words: *Ceratophyllum demersum* L.; Hg^{2+} ; Cd^{2+} ; combinative pollution

在自然环境特别是水环境中, 污染物往往是以复合污染的形式出现, 而重金属元素之间的复合污染是当前无机复合污染研究的重点^[1]。重金属元素

之间和其它污染物一样存在着拮抗、加和或协同作用, 使得有关重金属元素的复合污染对植物的毒害机理的研究更具有理论和实际意义。汞、镉是具有

收稿日期: 2001-07-24

作者简介: 常福辰(1952-), 男, 江苏南京市人, 高级实验师, 主要从事植物结构、生理学方面的研究与教学。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 39770046); 江苏省自然科学基金项目(编号: BK97107)。

较强毒性的重金属元素,其在水体的污染对水生植物造成伤害,影响经济水生植物的种植。有关水生植物受汞、镉复合污染的影响的研究还鲜见报道。

金鱼藻(*Ceratophyllum demersum* L.)属金鱼藻科金鱼藻属;是一种沉水植物,广布于我国南北各地。本文研究比较 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 离子及其复合污染对金鱼藻生长和某些生理生化指标的影响,旨在为水体中重金属复合污染对水生植物毒害机理的研究积累有价值的资料。

1 材料和方法

1.1 实验材料

供实验的金鱼藻(*Ceratophyllum demersum* L.)采于南京东郊风景区的池塘内。用 1:40 稀释的 Hogland 培养液培养于玻璃培养缸,置于 Forma 光照培养箱内,设置光照周期为 12 h:12 h(L:D),温度为 25 °C。培养 48 h 后,用去离子水配制的 Hogland 培养液配制:单离子系列浓度为 0.5、1、2、5、10 $mg \cdot L^{-1}$ $HgCl_2$, 2、5、10、15、30 $mg \cdot L^{-1}$ $CdCl_2$;复合离子系列浓度为 2、5、10、15 $mg \cdot L^{-1}$ $CdCl_2$ 分别加入 0.5、1、2、5 $mg \cdot L^{-1}$ $HgCl_2$,另设置对照组。选取生长正常的植株吸干水分称重,等量投入培养。各处理组设置 3 个重复。各项生理指标的测定在第四天进行,最终结果取 3 次重复测定的平均值。

1.2 实验方法

叶绿素含量的测定:根据 Arnon 的分光光度法^[2]。可溶性蛋白含量的测定:采用 Bradford^[3]的考马斯亮蓝 G-250 法测定。SOD 活性的测定:参照 Giannopolitis^[4]等的方法,以抑制 NBT 光化还原 50% 为一个酶活性单位。脯氨酸含量的测定参照张殿忠,汪沛洪等的方法^[5]。

2 结果

2.1 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 及其复合污染对生长的影响

Hg^{2+} 浓度为 1 $mg \cdot L^{-1}$ 时,部分叶片失绿、发黄;5 $mg \cdot L^{-1}$ 时,茎叶部分腐烂;10 $mg \cdot L^{-1}$ 时,植株坏死。 Cd^{2+} 对金鱼藻明显伤害浓度为 5 $mg \cdot L^{-1}$, 15 $mg \cdot L^{-1}$ 时,植株发生坏死。在复合污染中,0.5 $mg \cdot L^{-1}$ Hg^{2+} 加 2 $mg \cdot L^{-1}$ Cd^{2+} 浓度下,金鱼藻即表现出受到伤害;在其余浓度下, Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 共同胁迫下的毒害效应明显大于单一离子的毒害(图 1)。

2.2 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 及其复合污染对叶绿素含量、叶绿素 a/b 比值的影响

经 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 处理的叶绿素含量发生显著的变化。从图 1 可见,0.5 $mg \cdot L^{-1}$ Hg^{2+} 时叶绿素含量略有上升;大于 0.5 $mg \cdot L^{-1}$ 时发生不可逆转的降低。 Cd^{2+} 胁迫下叶绿素含量在 ≤ 2 $mg \cdot L^{-1}$ 时也有小幅度的上升,5 $mg \cdot L^{-1}$ 时下降幅度较大,随着浓度的继续增大,下降趋势明显放缓(图 2)。 Hg^{2+} 加 Cd^{2+} 复合污染系列中,叶绿素含量俱呈下降趋势,下降幅度大于单一 Hg^{2+} 或 Cd^{2+} 胁迫下的变化(图 2);显示出共同胁迫下的毒害效应比单一 Hg^{2+} 或 Cd^{2+} 的要大。

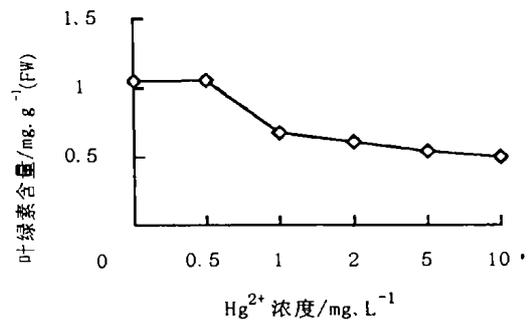


图 1 Hg^{2+} 对叶绿素含量的影响

Fig. 1 Effects of Hg^{2+} on chlorophyll contents

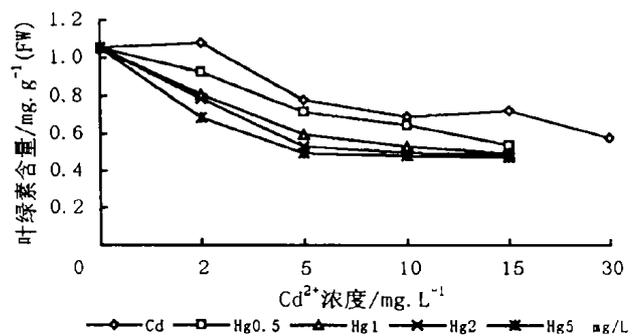


图 2 Cd^{2+} 及其 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 共同作用对叶绿素含量的影响

Fig. 2 Effects of Cd^{2+} and the interactions of Hg^{2+} and Cd^{2+} on chlorophyll contents

经 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 处理的叶绿素 a/b 比值也发生了显著的变化。0.5 $mg \cdot L^{-1}$ Hg^{2+} 和 2 $mg \cdot L^{-1}$ Cd^{2+} 分别处理时 a/b 比值增大,结合叶绿素含量的测定,显示叶绿素 a 明显增加;随着 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 离子处理浓度的增大,叶绿素 a/b 比值一般呈下降趋势,表明叶绿素 a 比叶绿素 b 所受的伤害要大。 Hg^{2+} 加 Cd^{2+} 复

合污染系列中,a/b 比值的变化同上述叶绿素含量的变化相似(表 1)。

表 1 Hg²⁺、Cd²⁺及其复合污染对叶绿素 a/b 比值的影响

Table 1 Effects of Hg²⁺、Cd²⁺ and their interactions on the chlorophyll a/b values

Hg ²⁺ (mg · L ⁻¹)	Cd ²⁺ (mg · L ⁻¹)					
	0	2	5	10	15	30
0	1.764	1.8	1.58	1.43	1.443	1.07
0.5	1.819	1.697	1.734	1.606	—	—
1	1.62	1.55	1.494	1.411	—	—
2	1.521	1.374	1.334	1.334	—	—
5	1.372	1.333	1.33	1.331	—	—
10	1.337	—	—	—	—	—

2.3 Hg²⁺、Cd²⁺及其复合污染对可溶性蛋白含量的影响

植物细胞中可溶性蛋白含量作为植物代谢和生理状态的一个重要指标,其变化反映细胞内蛋白质合成、变性及降解等多方面的动态。0.5 mg · L⁻¹ Hg²⁺时可溶性蛋白含量增加明显;Hg²⁺大于 0.5 mg · L⁻¹时开始下降;Hg²⁺为 2 mg · L⁻¹时,仅为对照的 41%;大于 2 mg · L⁻¹时在极低的水墙上仍呈减少趋势(图 3)。Cd²⁺处理下的可溶性蛋白含量变化曲线也是先升后降;但在 Cd²⁺大于 5 mg · L⁻¹时,又有较大幅度的上升,出现一个反弹;Cd²⁺大于 15 mg · L⁻¹时,急剧下降(图 4)。Hg²⁺加 Cd²⁺复合胁迫下,可溶性蛋白含量持续下降,且下降幅度比同浓度的单一 Hg²⁺或 Cd²⁺胁迫要大(图 4)。

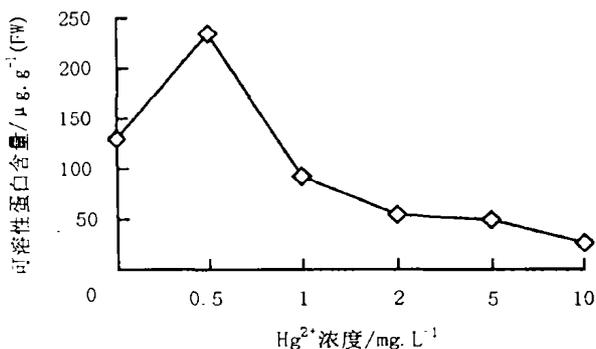


图 3 Hg²⁺对可溶性蛋白含量的影响

Fig. 3 Effects of Hg²⁺ on soluble protein contents

2.4 Hg²⁺、Cd²⁺及其复合污染对 SOD 活性的影响

SOD 活性在 0.5 mg · L⁻¹ Hg²⁺时上升到最大值;1 mg · L⁻¹时,下降幅度较大;随着 Hg²⁺浓度的继续增大,下降呈较平缓的趋势(图 5)。Cd²⁺浓度为 2 mg · L⁻¹时,SOD 活性有一明显上升;大于 2 mg · L⁻¹

时,开始下降,在 10 mg · L⁻¹时,SOD 活性已低于对照组(图 6)。复合污染中,Cd²⁺系列浓度不变,分别加添 0.5 mg · L⁻¹或 1 mg · L⁻¹ Hg²⁺,在不同浓度 Hg²⁺、Cd²⁺的共同胁迫下,SOD 活性变化曲线相似

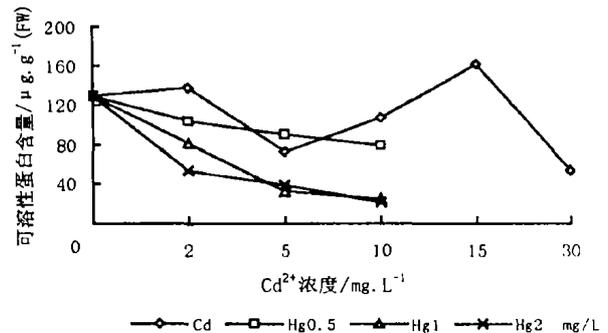


图 4 Cd²⁺及其 Hg²⁺、Cd²⁺共同作用对可溶性蛋白含量的影响

Fig. 4 Effects of Cd²⁺ and the interactions of Hg²⁺ and Cd²⁺ on soluble protein contents

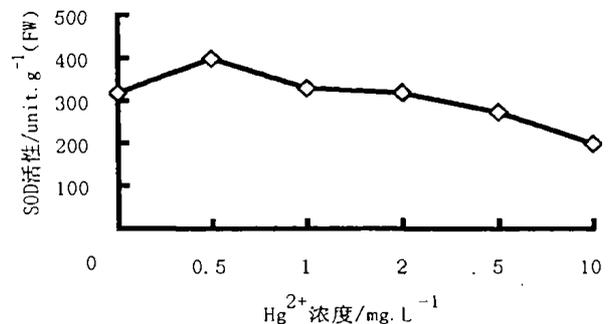


图 5 Hg²⁺对 SOD 活性的影响

Fig. 5 Effects of Hg²⁺ on SOD activities

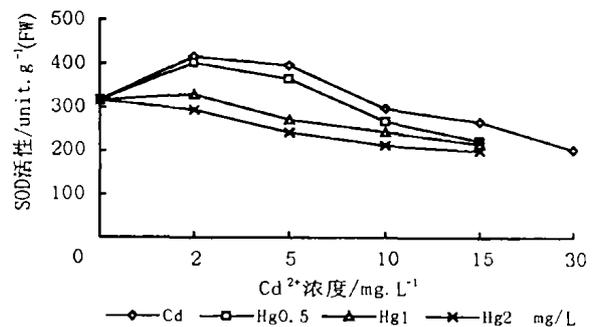


图 6 Cd²⁺及其 Hg²⁺、Cd²⁺共同作用对 SOD 活性的影响

Fig. 6 Effects of Cd²⁺ and the interactions of Hg²⁺ and Cd²⁺ on SOD activities

于单一 Cd^{2+} 污染时的变化曲线,但变化值却依次递减;加添 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Hg}^{2+}$, SOD 活性只降不升(图 6)。

2.5 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 及其复合污染对游离脯氨酸含量的影响

脯氨酸作为植物重要的渗透调节物质,它的积累有着对逆境适应的意义。在重金属离子污染下,其含量的变化可以认为是植物对逆境胁迫的一种生理生化反应。

从图 7 可见, $\text{Hg}^{2+} \leq 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,脯氨酸含量下降明显;大于 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,下降幅度趋于平稳,可能是细胞中脯氨酸含量已接近基底值的缘故。在 Cd^{2+} 浓度 $2 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内,脯氨酸含量没有出现大的波动; $10 \sim 15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,脯氨酸含量出现上升趋势,并达到最大值。大于 $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,急剧下降。 Hg^{2+} 加 Cd^{2+} 复合胁迫下,脯氨酸含量一直呈下降趋势;与单一 Cd^{2+} 污染时的变化曲线相比较,显示出 Hg^{2+} 的存在加大了对金鱼藻的毒害。

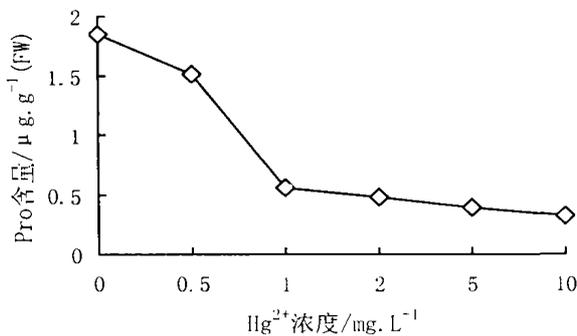


图 7 Hg^{2+} 对游离脯氨酸含量的影响

Fig. 7 Effects of Hg^{2+} on free proline contents

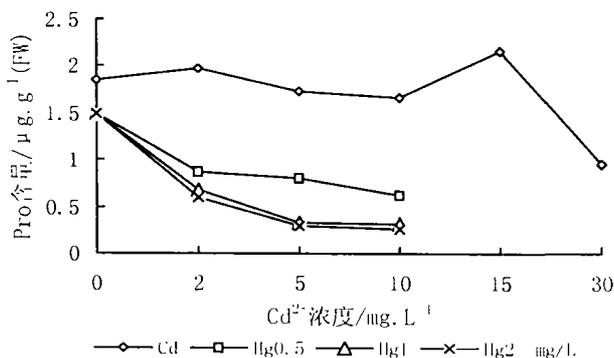


图 8 Cd^{2+} 及其 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 共同作用对游离脯氨酸含量的影响

Fig. 8 Effects of Cd^{2+} and the interactions of Hg^{2+} and Cd^{2+} on free proline contents

3 讨论

Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 属环境中毒性很强的重金属离子,当其在植物体内积累的数量超过临界值时就会影响植物的正常生理活动,如:光合作用、呼吸作用等,植物生长受到抑制,叶片失绿、枯黄,植株腐烂直至死亡。

叶绿素含量和叶绿素 a/b 比值是衡量叶片衰老的较重要的指标⁽⁶⁾,也是表示植物光合器官生理状况的重要指标。在低浓度 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 胁迫下,叶绿素的含量小幅度上升,这可能是叶绿素合成系统的一种激活性反应。但随着 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 浓度的增大,光合作用系统受到不可修复的破坏,表现为植株受到严重伤害。其原因可能是 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 等重金属离子的积累抑制叶绿素酸酯还原酶和影响氨基- γ -戊酮酸的合成⁽⁷⁾,从而影响叶绿素的生物合成;同时使叶绿体膜系统在结构上受到逐渐破坏⁽⁸⁾,导致叶绿素总量的下降,光合速率降低。对照单一 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 处理下的金鱼藻叶绿素含量所发生的变化,可以认为 Hg^{2+} 对叶绿素的破坏作用要比 Cd^{2+} 的大。

Hg^{2+} 对金鱼藻可溶性蛋白含量的影响表现为在低浓度下的促进作用和高浓度下的抑制作用。Vallee 提出, Hg^{2+} 能增加细胞内核糖体、核糖体亚基及多聚核糖体的数量,诱导蛋白质合成⁽⁹⁾。 $\leq 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Hg}^{2+}$ 的胁迫下可溶性蛋白含量的明显增加表明了这种诱导体制的存在。 Cd^{2+} 在小于 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时也表现出促进可溶性蛋白含量增加的效应。金鱼藻在低浓度 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 胁迫下可溶性蛋白含量的显著增加,这可以被看作是植物在一定限度下对外来毒害的一种具有自我保护作用的激活性反应;可能包括一些抗氧化酶(SOD、POD)等的表达和翻译。实验中 SOD 活性的变化也部分证实了这一点。 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 在植物体内的继续积累,导致蛋白质合成系统的逐渐破坏,阻碍蛋白质合成,加速蛋白质分解⁽¹⁰⁾。而 $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd}^{2+}$ 浓度时,可溶性蛋白含量的增加可能是植物的又一种解毒机制的启动,如在 Cd^{2+} 诱导下产生 Cd 结合蛋白⁽¹¹⁾,以降低 Cd^{2+} 的毒性;作者有关重金属离子胁迫下诱导形成相关重金属结合蛋白的研究工作进展顺利,就诱导蛋白而言, Cd^{2+} 较 Hg^{2+} 的诱导效应更为明显(资料另作报道);可能这也是金鱼藻等水生植物对 Cd^{2+} 的耐受性较 Hg^{2+} 大的内在原因之一。Cd 结合蛋白的产生还增加细胞渗透浓

度和功能蛋白的数量,有助于维持细胞正常代谢^[12]。然而,这种结合蛋白的诱导产生也是在一定范围内;随着 Cd²⁺浓度的进一步增大,蛋白质合成系统遭到不可逆转的破坏,导致可溶性蛋白含量急剧下降。

脯氨酸通常被看作是植物体内的氨基酸库。脯氨酸含量变化作为植物体内氨基酸代谢是否受重金属影响的指标是值得考虑的^[10]。金鱼藻游离脯氨酸含量无论是正常值还是变化值都远低于陆生植物^[13],反映了水生植物的一个特点。但是其变化幅度还是比较明显的;特别是 Hg²⁺对金鱼藻游离脯氨酸含量的影响更为明显。Hg²⁺、Cd²⁺胁迫下金鱼藻游离脯氨酸含量的不同变化进一步论证了不同重金属离子对同一植物所造成的影响存在着差异。我们在探讨植物对重金属离子影响下的抗性机制时要给予足够的注意。

比较单一 Hg²⁺、Cd²⁺及其复合污染中金鱼藻几项生理指标的变化可以认为:Hg²⁺、Cd²⁺共同作用对金鱼藻所造成的毒害效应比单一 Hg²⁺或 Cd²⁺的大;这表明 Hg²⁺、Cd²⁺之间存在着协同作用。这可能与这两种重金属离子进入细胞后对功能性蛋白等生物大分子毒害的机制大致相同是相关的。

参考文献:

- [1] 何勇田,熊先哲.复合污染研究进展[J].环境科学,1994,15(6):79-83.
- [2] Aarmon D L. Copper enzymes in isolated chloroplasts, Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*[J]. *Plant Physiol*, 1949, 24: 1-15.
- [3] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantity of protein dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, 72: 248-254.
- [4] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase (I); Occurrence in higher plant [J]. *Plant Physiol*, 1977, 59(2): 309-314.
- [5] 张殿忠.测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法[J].植物生理学通讯,1990,26(4):62-65.
- [6] 严重玲,李瑞智,钟章成.模拟酸雨对绿豆、玉米生理生态特性的影响[J].应用生态学报,1995,6:124-131.
- [7] Stobart A K, Griffiths W T, Ameen-Bukhari I, et al. The effect of Cd on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley[J]. *Physiol Plant*, 1985, 63: 293-298.
- [8] 施国新,杜开和,常福辰,等.汞、镉污染对黑藻叶细胞伤害的超微结构研究[J].植物学报,2000,42(4):373-378.
- [9] Vallee B I, Ulmer D D. Biochemical effects of mercury, cadmium and lead[J]. *Annu. Rev Biochem*, 1972, 41: 91-128.
- [10] 江行玉,赵可夫.植物重金属伤害及其抗性机理[J].应用与环境生物学报,2001,7(1):92-99.
- [11] Bartolf M, Brennan E, et al. Partial characterization of a cadmium-binding protein from the roots of potassium, cadmium treated tomato[J]. *Plant Physiol*, 1980, 66: 438-441.
- [12] 李俊明,耿庆汉.低温玉米不同耐冷类型自交型自交系生理生化变化[J].华北农学报,1989,4(2):15-21.
- [13] 汤章城.逆境条件下植物脯氨酸的累积及其可能的意义[J].植物生理学通讯,1984,20(1):15-21.

(上接第468页 Continue from page 468)

产地的野菊花品质不同。经过筛选研究,我们购进湖北省麻城市的野菊花进行提取生产成浸膏,野菊花浸膏总黄酮含量均在11%以上,达到药厂内定标准,为野菊花栓剂的制备生产提供质量保证。药典中,野菊花加工方法有晒干和蒸后晒干,经试验测定结果表明晒干加工的野菊花中总黄酮含量最高,但野菊花采收加工生产量大,秋末气温低,自然干燥时间长,受天气限制,故靠自然晒干不能适应生产的需要,而烘干法加工的野菊花总黄酮含量仅低于晒干法,但高于蒸后晒干法,且烘干法干燥时间短,生产效率高,加工过程中只要控制好温度,即可

保证质量,所以建议野菊花产地采用烘干法加工,以便保证药材质量。

参考文献:

- [1] 《全国中草药汇编》编写组.全国中草药汇编(上册)[M].北京:人民卫生出版社,1975.789-790.
- [2] 北京市野菊花协作组.野菊花制剂临床观察一附454例疗效分析[J].中药通报,1983,8(4):39-40.
- [3] 北京第六制药厂.野菊花药理研究及栓剂临床疗效观察[J].中药通报,1985,10(7):45-46.
- [4] 卫生部药典会.中华人民共和国药典(一部)[M].广州:广东科技出版社,1995.311.