*J. Lake Sci.*(湖泊科学), 2006, **18**(2):157 – 162
http://www.jlakes.org. E-mail: jlakes@niglas.ac.cn
© 2006 by *Journal of Lake Sciences*

# $Cd^{2+}$和$Cr^{6+}$对慈姑(*Sagittaria sagittifolia* L.)的毒害效应*

胡金朝,施国新**,丁秉中,陈苏雅,许丙军,赵　娟,吴国荣
(南京师范大学生命科学学院,南京 210097)

**摘　要**:以水生经济植物慈姑(*Sagittaria sagittifolia* L.)为实验材料,通过模拟水体$Cd^{2+}$和$Cr^{6+}$污染环境,研究了两种单一离子处理对慈姑的毒害影响. 结果表明:随着水体$Cd^{2+}$、$Cr^{6+}$浓度增大,慈姑叶绿素含量与根细胞质膜透性先升高后降低;$Cd^{2+}$浓度增大,根和叶的POD活性,叶的SOD活性、丙二醛(MDA)含量及根的超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)产生速率均是先升后降;根和叶的CAT活性、根的SOD活性、MDA含量和叶的$O_2^{\cdot-}$产生速率则逐渐升高;而$Cr^{6+}$处理时,MDA含量、根的SOD、CAT、POD活性均随浓度增大而升高,$O_2^{\cdot-}$产生速率和叶的SOD、CAT、POD活性则升高后降低;$Cd^{2+}$和$Cr^{6+}$污染都对慈姑产生毒害,其毒害的效应既有相似性又有差异,同浓度条件下根的受害程度比叶严重.
**关键词**:$Cd^{2+}$; $Cr^{6+}$; 慈姑;毒害

## The toxic effects of $Cd^{2+}$ and $Cr^{6+}$ on *Sagittaria sagittifolia* L.

HU Jinzhao, SHI Guoxin**, DING Bingzhong, CHEN Shuya, XU Bingjun, ZHAO Juan & WU Guorong
(*College of Life Science*, *Nanjing Normal University*, *Nanjing* 210097, *P. R. China*)

**Abstract**: *Sagittaria sagittifolia* L. was cultivated in $Cd^{2+}$ and $Cr^{6+}$ solution, imitating polluted water environment, the toxic effects of the two single ions on the physiology and biochemistry in roots and leaves of *Sagittaria sagittifolia* L. were measured. It's found that the chlorophyll content and the relative membrane penetrability (RMP) of root cells increased first and decreased afterwords with the augmenting of $Cd^{2+}$ and $Cr^{6+}$ concentration in the solution; With $Cd^{2+}$ concentration augmenting, peroxidase (POD) activity in roots and leaves, superoxide dismutase (SOD) activity in leaves, malondiadehyde (MDA) content and the generation rate of superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$) in roots all increased first and decreased afterwards; And catalase (CAT) activity in roots and leaves, SOD activity in roots, MDA content and the generation rate of $O_2^{\cdot-}$ in leaves were all increased gradually. For the plants treated only with $Cr^{6+}$, the content of MDA and the activities of SOD, CAT and POD in roots increased with the augmenting of concentration, but the generation rate of $O_2^{\cdot-}$ and the activities of SOD, CAT and POD in leaves increased first and decreased afterwards; Both $Cd^{2+}$ and $Cr^{6+}$ destroyed *S. sagittifolia* L. in the polluted solution, and the toxic effects were either same or different. The toxic effect on roots was more severe than that on leaves under the equal concentration of $Cd^{2+}$ or $Cr^{6+}$.
**Keywords**: $Cd^{2+}$; $Cr^{6+}$; *Sagittaria sagittifolia* L.; toxic effect

水体环境中的重金属不但影响水生植物的产量和质量,而且通过食物链能进一步影响人畜健康[1]. 因此重金属水污染及由此造成的对水生植物的毒害已成为各国学者的研究热点之一[2]. 镉(cadmium)和铬(chromium)都是环境中主要的重金属污染物,近年来,有关镉和铬对植物的影响已有较多报道[3,4],而$Cd^{2+}$和$Cr^{6+}$对水生植物慈姑(*Sagittaria sagittifolia* L.)生理生化影响的研究则鲜有报道. 慈姑为泽泻科多年生草本植物,分布广泛. 其球茎可供食用或制淀粉,入药有清热解毒的功效[5],是著名的水生经济植物. 本文

* 国家自然科学基金(30370083)与江苏省教育厅自然科学基金(12003600JSJB131)联合资助. 2005 – 06 – 06 收稿;2005 – 07 – 20 收修改稿.
胡金朝,男,1972 年生,博士研究生,讲师. E-mial:hujinzhaobio@hotmail.com.
** 通讯作者:施国新,E-mial:gxshi@njnu.edu.cn.

以慈姑为实验材料,对其进行了急性毒害实验,观察了 $Cd^{2+}$ 和 $Cr^{6+}$ 单一离子毒害下慈姑根和叶的一些生理生化指标的变化规律,以期为重金属污染防治及生物监测提供依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 主要实验仪器及试剂

实验仪器:Forma Scientific－3744 光照培养箱(美国生产);Beckman J2－Mc 型冷冻离心机(德国 Sigma 公司);UV－754 型分光光度计(上海第三分析仪器厂);HHS－4S 型电热恒温水浴锅(上海天平仪器厂).

主要试剂:$CdCl_2 2.5H_2O$ 与 $K_2Cr_2O_7$ 分别为上海亭新化工试剂厂和上海浦江化工厂产品,均为分析纯(A.R);考马斯亮蓝 G250 为 Fluka 公司产品;标准牛血清白蛋白(BSA)为上海生工生物工程有限公司产品(A.R);CAT 试剂盒和 SOD 试剂盒均购自南京建成生物工程研究所.

### 1.2 实验材料

所用慈姑取自中国南京市双闸镇慈姑种植基地. 选大小一致、无损伤的球茎,在 Forma Scientific－3744 光照培养箱中用去离子水培养. 光照强度:70 000 μmol /($m^2$ · s), 光照周期:12h/12h,光暗温度:25℃/18℃. 待第一片真叶完全展开后,用浓度分别为 0、1、3、5、10、20mg/L 的 $Cd^{2+}$ 和 $Cr^{6+}$ 处理(分别用 $CdCl_2 2.5H_2O$ 与 $K_2Cr_2O_7$ 配制,浓度以纯 $Cd^{2+}$、$Cr^{6+}$ 计). 以第一片叶和 2－3 cm 长的根进行生理指标测定.

### 1.3 实验方法及数据处理

叶绿素含量和质膜透性分别参照徐勤松等[6]和张小兰等[7]的方法,单位分别为 mg/g(F.W.)和 $OD_{264}$/g.h; CAT 活性用 CAT 试剂盒测定,以每克植物材料每秒分解 1μmol $H_2O_2$ 的 CAT 量为一个活力单位,记为 U/g(F.W.);SOD 活性用 SOD 试剂盒测定,以每 ml 反应液中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量为一个亚硝酸盐单位,用 NU/g(F.W.)表示;POD 活性用愈创木酚法测定[8],以每分钟吸光度的变化值表示酶活大小,单位 $A_{470}$nm /(min · g);MDA 含量参照 Heath 和 Packer 的硫代巴比妥酸(TBA)比色法[9],略有改进,单位 nmol/g(F.W.);$O_2^-$ 产生速率用吴国荣等[10]的方法,单位 $A_{530}$nm/min.g. 各实验重复 3 次,数据用统计学方法进行处理,结果用平均值 ± 标准误差表示,用相关系数对各生理指标与 $Cd^{2+}$、$Cr^{6+}$ 浓度间进行相关性统计,查相关系数检验表进行差异显著性分析.

## 2 实验结果

### 2.1 $Cd^{2+}$ 和 $Cr^{6+}$ 对叶绿素含量的影响

叶绿素含量在较底浓度 $Cd^{2+}$ 处理时迅速升高,3 mg/L 时达最大值,是对照的 2.04 倍,3－20mg/L $Cd^{2+}$ 浓度范围内,叶绿素含量随 $Cd^{2+}$ 浓度增大而逐渐下降($R = -0.883$, $P < 0.05$). $Cr^{6+}$ 处理时叶绿素含量也是在低浓度处理时升高而高浓度处理时下降,但最大值出现在 5 mg/L $Cr^{6+}$ 浓度,是对照的 1.59 倍,并且叶绿素含量降低幅度比相应浓度 $Cd^{2+}$ 处理的小($R = -0.899$, $P < 0.05$)(图 1).

### 2.2 $Cd^{2+}$ 和 $Cr^{6+}$ 对根细胞膜透性的影响

随 $Cd^{2+}$ 和 $Cr^{6+}$ 浓度增大,慈姑根细胞膜透性呈先升后降趋势. $Cd^{2+}$ 和 $Cr^{6+}$ 分别在 3 mg/L 和 1 mg/L 时膜透性达最大值,且 $Cd^{2+}$ 胁迫下膜透性下降的幅度明显大于 $Cr^{6+}$ ($R_{Cd} = 0.793$, $P < 0.05$; $R_{Cr} = -0.949$, $P < 0.01$)(图 2).

### 2.3 $Cd^{2+}$ 和 $Cr^{6+}$ 对抗氧化酶系统的影响

慈姑根的 SOD 活性随处理液中 $Cd^{2+}$、$Cr^{6+}$ 浓度增大持续升高,其中与 $Cd^{2+}$ 浓度呈极显著正相关($R_{Cd} = 0.928$, $P < 0.01$; $R_{Cr} = 0.727$)(图 3a);叶的 SOD 活性随 $Cd^{2+}$、$Cr^{6+}$ 浓度增大先升后降,$Cd^{2+}$ 和 $Cr^{6+}$ 分别在 5 mg/L 和 10 mg/L 时 SOD 活性最高,分别是对照的 1.99 倍和 1.77 倍($R_{Cd} = 0.851$; $R_{Cr} = 0.897$, $P < 0.01$)(图 3b).

$Cd^{2+}$ 处理可明显增强慈姑根和叶的 CAT 活性,其中根的 CAT 活性与浓度显著相关($R_{根} = 0.830$, $P < 0.05$; $R_{叶} = 0.677$). 而 $Cr^{6+}$ 处理时,根和叶的 CAT 活性分别表现出升高和升高后降低($R_{根} = 0.834$, $P < 0.05$; $R_{叶} = -0.832$, $P < 0.05$)(图 3c,d).

$Cd^{2+}$ 处理时慈姑根和叶的 POD 活性都是在 5 mg/L 时升到最高后降低,且变化的幅度很小($R_{根}$ =

$-0.844$, $P < 0.05$; $R_{叶} = -0.960$, $P < 0.05$); $Cr^{6+}$浓度增大,慈姑根的 POD 活性呈上升趋势,而叶的 POD 活性为先升后降,变化幅度都大于同浓度的 $Cd^{2+}$处理($R_{根} = 0.939$, $P < 0.01$; $R_{叶} = 0.972$, $P < 0.01$)(图 3e,f).

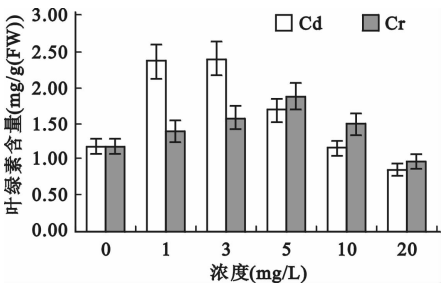



图 1 $Cd^{2+}$和$Cr^{6+}$对慈姑叶绿素含量的影响

Fig. 1 The effect of $Cd^{2+}$ and $Cr^{6+}$ on chlorophyll content of *S. sagittifolia* L.

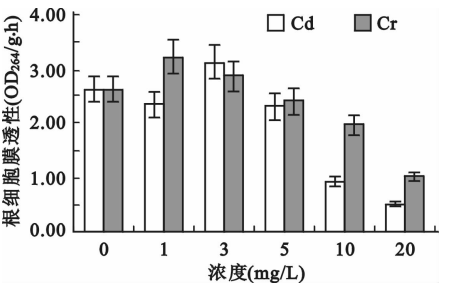



图 2 $Cd^{2+}$和$Cr^{6+}$对慈姑根细胞膜透性的影响

Fig. 2 The effect of $Cd^{2+}$ and $Cr^{6+}$ on membrane permeability of *S. sagittifolia* L.

**2.4 $Cd^{2+}$和$Cr^{6+}$对$O_2^-$产生速率的影响**

$Cd^{2+}$处理时,慈姑叶的$O_2^-$产生速率随处理浓度增大而升高,根的$O_2^-$产生速率则先升后降($R_{叶} = 0.989$, $P < 0.01$; $R_{根} = -0.948$, $P < 0.01$);$Cr^{6+}$处理时,$O_2^-$产生速率先随$Cr^{6+}$浓度增大而升高,1 mg/L $Cr^{6+}$和 5 mg/L $Cr^{6+}$时慈姑根和叶的$O_2^-$产生速率分别达最大值,是对照的 1.434 倍和 1.425 倍,($R_{根} = -0.990$, $P < 0.01$; $R_{叶} = 0.997$, $P < 0.01$)(图 4).

**2.5 $Cd^{2+}$和$Cr^{6+}$对 MDA 的影响**

随$Cd^{2+}$浓度增大,根的 MDA 含量逐渐升高,叶的 MDA 含量先升高,5 mg/L 时达最大值,是对照的1.59 倍,然后降低,$Cd^{2+}$浓度为 20 mg/L 时 MDA 含量为对照的 1.35 倍($R_{根} = 0.608$, $R_{叶} = 0.995$, $P < 0.01$). $Cr^{6+}$处理时根和叶的 MDA 含量均呈先升后降趋势($R_{根} = 0.858$, $P < 0.05$; $R_{叶} = 0.992$, $P < 0.01$)(图 5).

## 3 讨论

叶绿素是参与光合作用的一种主要色素,我们在研究中发现慈姑的叶绿素含量随$Cd^{2+}$和$Cr^{6+}$浓度增大均先升后降(图 1),说明$Cd^{2+}$和$Cr^{6+}$对叶绿素的影响有相似性. 叶绿素含量在低浓度$Cd^{2+}$和$Cr^{6+}$处理时升高可能是植物在低浓度重金属胁迫下的一种保护性适应现象,高浓度时叶绿素含量下降则与重金属抑制原叶绿素酸酯还原酶(protochlorophyllide reductase)活性,或影响氨基-酮戊酸(aminolaevulinic acid)的合成等有关[11]. 重金属与叶绿体蛋白质的-SH 基结合或取代其中的$Fe^{2+}$、$Zn^{2+}$、$Mg^{2+}$等,造成叶绿体结构或功能破坏也是叶绿素含量下降的重要原因[12,13].

重金属污染往往打破细胞内活性氧产生与清除的平衡,导致自由基积累,对植物是有害的[14,15]. SOD、CAT、POD 等多种抗氧化酶组成植物体内一个有效的活性氧清除系统[16],它们协调作用能将植物体内有潜在毒害的$O_2^-$和$H_2O_2$转化成无害的$H_2O$和$O_2$,降低 -OH 的产生,从而保护细胞膜的结构[17]. 实验结果表明,慈姑叶和根的$O_2^-$产生速率随$Cr^{6+}$浓度增大先升后降,而$Cd^{2+}$处理时分别呈升高和先升后降趋势(图 4). 从图 3 可以看出,CAT 和 POD 活性随$Cd^{2+}$浓度增大分别呈逐渐升高和先升后降趋势, 根和叶的 SOD 活性分别是升高和升高后降低;$Cr^{6+}$胁迫时,根的 SOD、CAT、POD 活性随浓度增大而升高,叶的 SOD 、CAT、POD 活性则升高后下降. 这些结果表明$Cd^{2+}$和$Cr^{6+}$对不同的抗氧化酶的影响既有部分共性又有不同的方式,可能与离子的浓度、迁移性、在植物体内的存在状态等有关,也与不同酶有着不同的氨基酸序列及空间结构等有关. 根和叶对重金属胁迫的反应存在差异,单一离子相同浓度毒害时慈姑根的受害程度比叶重. 可能是根直接与重金属溶液接触,根细胞中有较多重金属积累以及根和叶自身存在着结构和代谢水平

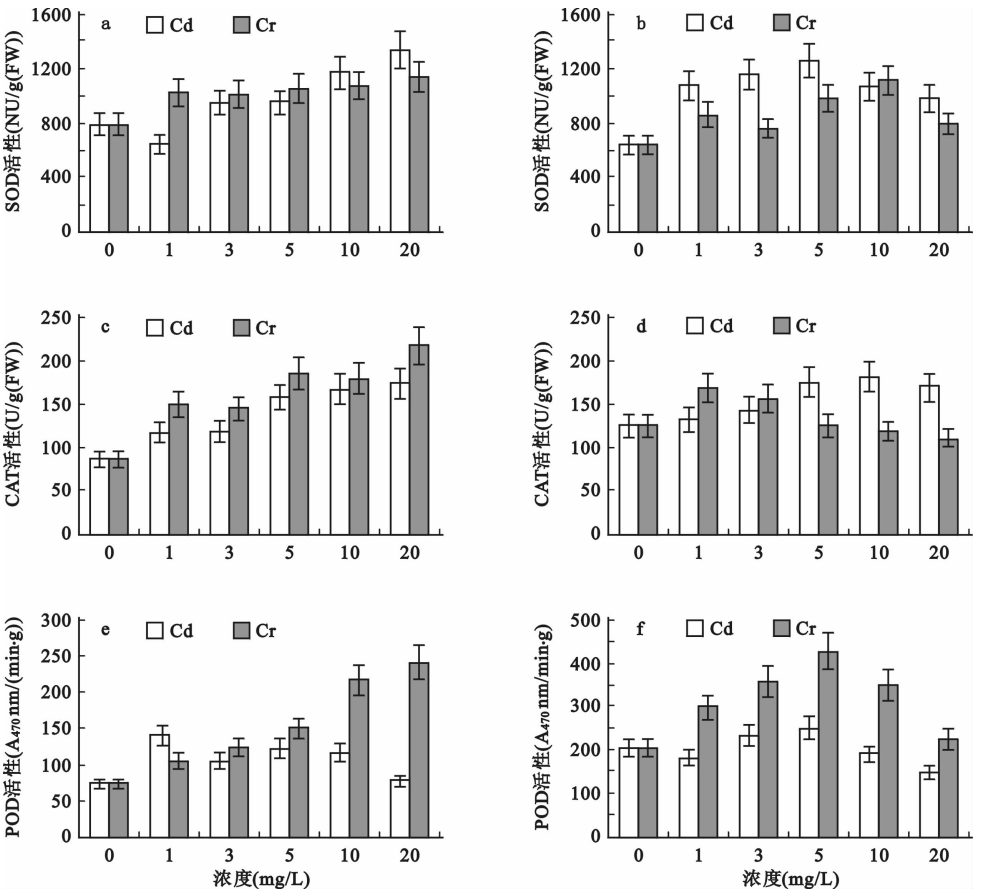



图 3 $Cd^{2+}$ 和 $Cr^{6+}$ 对慈姑根及叶中抗氧化酶活性的影响

(a:根 SOD 活性、b:叶 SOD 活性、c:根 CAT 活性、d:叶 CAT 活性、e:根 POD 活性、f:叶 POD 活性)

Fig. 3 The effects of $Cd^{2+}$ and $Cr^{6+}$ on activities of antioxidant enzymes of *S. sagittifolia* L.

a: SOD activity of root; b: SOD activity of leaf; c: CAT activity of root; d: CAT activity of leaf; e: POD activity of root; f:POD activity leaf

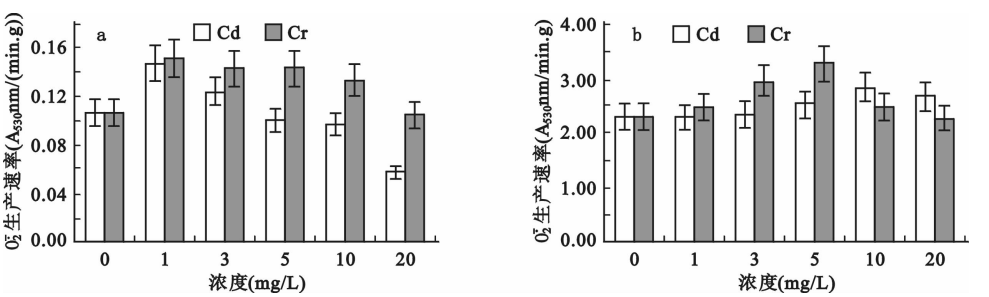



图 4 $Cd^{2+}$ 和 $Cr^{6+}$ 对慈姑根(a)和叶(b)中超氧阴离子产生速率的影响

Fig. 4 The effects of $Cd^{2+}$ and $Cr^{6+}$ on $O_2^-$ generation rate of *S. sagittifolia* L. (a: root; b: leaf)

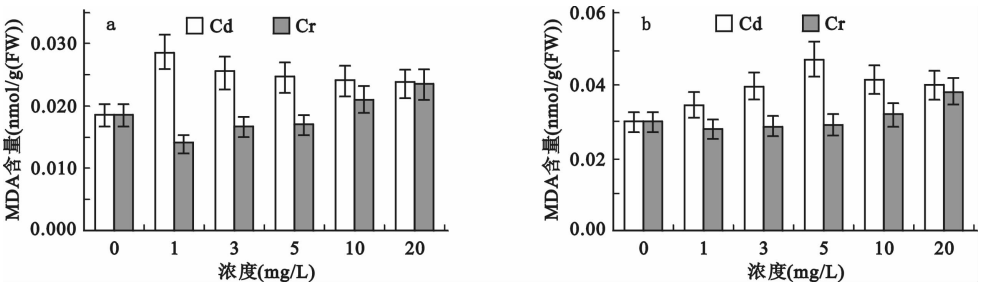



图 5 $Cd^{2+}$和$Cr^{6+}$对慈姑根(a)和叶(b)中 MDA 含量的影响

Fig. 5 The effect of $Cd^{2+}$ and $Cr^{6+}$ on MDA content of *S. sagittifolia* L. (a:root; b:leaf)

上的差异有关,其机理尚有待进一步研究. 慈姑受害较轻时,体内活性氧增多,诱导了抗氧化酶活性升高,在一定程度上可减轻自由基对膜的伤害,Patra 等把这种现象解释为低浓度重金属对植物积极的"刺激作用"[18],可能是活性氧信号作为第二信使启动了细胞的防御反应[19]. 而保护酶的这种防御作用是有限的,随着溶液中重金属胁迫浓度增大,慈姑体内酶系统功能紊乱,清除活性氧的能力减弱,$O_2^-$ 和 $H_2O_2$ 等大量积累,引起细胞膜结构损伤和生理代谢紊乱[20],这是重金属毒害植物的主要原因之一.

丙二醛是膜脂过氧化的主要产物之一,其含量可用以表示膜脂过氧化程度[21]. 实验表明,慈姑根和叶的 MDA 含量随 $Cd^{2+}$浓度增大逐渐升高或先升后降,随 $Cr^{6+}$浓度增大均呈先升后降趋势(图 5). $Cd^{2+}$和 $Cr^{6+}$均使膜透性先升后降(图 2). 这与植物清除活性氧的能力减弱,$O_2^-$ 过量积累相一致,表明膜脂过氧化程度加剧. $Cd^{2+}$和膜蛋白中的 -SH 直接结合及 $Cr^{6+}$氧化膜的不饱和脂肪酸引起膜结构破坏[22,23],可能是增大膜透性的另一个原因. $Cd^{2+}$ >3 mg/L 和 $Cr^{6+}$ > 1 mg/L 后,质膜透性反而下降,说明膜结构已严重损伤,较多的细胞内容物在早期就已大量流失.

综上所述,重金属对植物的毒害并不只是破坏某一种酶或影响某一种物质的含量,而是对植物整个的生理活动和生化反应造成整体伤害[13]. SOD、POD、CAT 在重金属胁迫过程中,能清除细胞内过量的活性氧,保护膜结构,使植物在一定程度上忍耐、减缓或抵抗胁迫,它们的水平可作为植物逆境生理和衰老生理指标. $Cd^{2+}$和 $Cr^{6+}$使三者的活性比例失调,从而导致体内活性氧产生和清除失衡,使植物的生理代谢紊乱,并最终衰老和死亡.

## 4 参考文献

[1] Sugiyama M. Role of cellular antioxidants in metal - induced damage. *Cell Biol Toxicol*, 1994, **10**: 1 - 22.

[2] Stobart A K, Griffths W T, Ameen - Bukhari. The effects of $Cd^{2+}$ on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley. *Plant Physiol*, 1985, **63**: 293 - 298.

[3] Kneer R, Zenk M H. Phytochelatins protect plant enzymes from heavy metal poisoning. *Phytochem*, 1992, **31**: 2663 - 2667.

[4] 任安芝,高玉葆. 铅、镉、铬单一和复合污染对青菜种子萌发的生物学效应. 生态学杂志,2000,**19**(1):19 - 22.

[5] 吴国芳,冯志坚,马炜梁等. 植物学. 北京:高等教育出版社, 1992:350.

[6] 徐勤松,施国新, 郝怀庆. Cd、Cr(Ⅳ)单一及复合污染对菹草叶绿素含量和抗氧化酶系统的影响. 广西植物, 2001,**21**(1):87 - 90.

[7] 张小兰,施国新,徐勤松等. 镧缓解镍对水鳖叶片的毒害效应研究. 中国稀土学报,2003. **21**(1):81 - 84.

[8] Maehly A C. Plant peroxidase. *Meth Enzym*, 1955, **2**: 801 - 813.

[9] Heath R L, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts I. kinetics and stoichiometry of fatty acid

peroxidation. *Arch Biochem Biophys*, 1968,**125**: 189 – 198.

[10] 吴国荣,陆长梅,陶明煊等. 百草枯和 $H_2O_2$ 预处理提高盐泽螺旋藻对铅的耐受性. 湖泊科学, 2000,**12**(3): 240 – 246.

[11] Stobart A K, Griffths W T, Ameen-Bukhari. The effects of $Cd^{2+}$ on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley. *Plant Physiol*, 1985, **63**: 293 – 298.

[12] 孙赛初,王焕校,李启任. 水生维管束植物受镉污染后的生理变化及受害机制初探. 植物生理学报, 1985,**11**(2):113 – 121.

[13] 施国新,杜开和,解凯彬等. 汞、镉污染对黑藻叶细胞伤害的超微结构研究. 植物学报,2000,**42**(4): 373 – 378.

[14] Cilina M L, Claudio A G, Victorio S T. Oxidative damage caused by an excess of copper in oat leaves. *Plant Cell Physiol*, 1994,**35**: 11 – 15.

[15] Wong YuK Shan, Luo Guanghua, Kwan K M Frances. Peroxidation damage of oxygen free radicals induced by cadmium to plant. *Acta Bot Sin*, 1997,**39**(6):522 – 526.

[16] Fridovich I. The biology of oxygen radical. *Science*, 1978,**201**: 870 – 875.

[17] Scandalios J G. Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiol*,1993,**101**: 7 – 12.

[18] Patra J, Lenka M, Panda B B. Tolerance and co-tolerance of the grass Chloris barbata Sw. totercury, cadmium and zinc. *New Phytol*, 1994,**128**: 165 – 171.

[19] Vera-Estrella R, Hiffins V J, Blumwald E. Plant defense response to fungal pathogens: Ⅱ G-protein mediated changes in host plasma membrane redox reaction. *Plant Physiol*, 1994,**106**: 97 – 102.

[20] Luna C M, Gonzalez C A, Tripp V S. Oxidative damage caused by on excels of copper in oat leaves. *Plant Cell physiol*, 1994,**35**: 11 – 15.

[21] Chris B, Marc V H, Dirk I. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu Rer Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1992,**43**: 83.

[22] Vallee B I. Biochemical effects of mercury, cadmium and lead. *Annu Rev Biochem*, 1972, **41**: 91 – 98.

[23] 吴玉萍,沈焕校. LAS 和 $K_2Cr_2O_7$ 对梨形四膜虫 *Tetrhymena pyriformis* 细胞毒性效应的研究. 中国环境科学,1993,**13**(3):204 – 208.