

汞、镉复合污染对轮叶狐尾藻的毒害影响

谷巍,施国新,杜开和,徐楠

(南京师范大学生命科学学院,南京 210097)

[摘要] 研究了  $Hg^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$  及其复合污染对轮叶狐尾藻的毒害影响.实验结果表明: $Hg^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$  复合污染使轮叶狐尾藻叶片叶绿素含量、呼吸速率、光合速率、过氧化物酶活性、可溶性蛋白含量降低得更快.超微结构的变化也证明了这一结论,复合污染对细胞结构的破坏程度明显比单离子高.两种离子的相互作用表现为协同作用.

[关键词] 轮叶狐尾藻; $Hg^{2+}$ ; $Cd^{2+}$ ;复合污染;生理指标;超微结构

[中图分类号] Q945;Q949.210.5; [文献标识码] A; [文章编号] 1001-4616(2001)03-0075-05

重金属污染已引起人们的日益关注.前人有关重金属污染对植物影响的研究多集中在单一离子,复合污染研究不多.在自然界中常常是多种金属离子的复合污染.复合污染目前越来越受重视.相关报道多集中在植物生理生化方面<sup>[1,2]</sup>,植物细胞超微结构变化稀有报导.沉水植物轮叶狐尾藻(*Myriophyllum verticillatum* Linn.)与水体直接接触,对污染非常敏感,而  $Hg^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$  是水污染的重要影响因子.为此,我们选择轮叶狐尾藻作为研究对象,研究  $Hg^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$  复合污染对其生理指标及超微结构变化的影响,以进一步探讨重金属污染机制.

1 材料和方法

轮叶狐尾藻于 2000 年 6 月采自南京江心州,采集后,将其水培 1 周后,于上午 8:00 分别移至已加入污染物的玻璃缸中.处理方式和浓度按表 1 进行(经单离子试验, $Hg^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$  对轮叶狐尾藻的致死浓度分别为 1~2 mg/L、3~5 mg/L),另取两缸作对照(去离子水).从第二天开始每天上午 8:00 定时采样.选取植株倒数第三至第五轮叶片进行以下测定.(叶片重量均为鲜重.)

表 1 $Hg^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$ 及其复合污染对轮叶狐尾藻的处理方式及浓度						
污染物	处理浓度( mg/L )					
$Hg^{2+}$	0.5	1.0	3.0	5.0	7.0	10.0
$Cd^{2+}$	0.5	1.0	3.0	5.0	7.0	10.0
$Hg^{2+} + Cd^{2+}$	0.5+0.5	1.0+1.0	3.0+3.0	5.0+5.0	7.0+7.0	10.0+10.0

1.1 生理指标(实验重复 5 次)

- (1)叶绿素含量测定:参照刘学明等<sup>[3]</sup>的方法,用 754 型分光光度计测定.
- (2)光合速率、呼吸速率的测定:参照秦京东等<sup>[4]</sup>的方法,用氧电极法测定.
- (3)POD 活性的测定:参照陈雄等<sup>[5]</sup>的方法,用 754 型分光光度计测定.

(4)可溶性蛋白含量的测定:参照陈武等<sup>[6]</sup>的方法,采用考马斯蓝染料结合法,以 BSA 为标准蛋白,用 754 型分光光度计测定。

## 1.2 超微结构

用 2.5%戊二醛和 2% 锇酸双重固定,丙酮系列脱水,Epon 812 包埋,LKB 超薄切片机切片,切片经醋酸双氧铀-柠檬酸铅双重染色后,于 Hitachi 600-A-2 型透射电镜下观察并拍照。

# 2 实验结果与讨论

## 2.1 叶绿素含量

复合污染使轮叶狐尾藻叶片叶绿素含量下降程度加大(图 1),对叶绿素含量的影响比  $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  单离子严重。经检验复合污染与两种单离子的差异均显著。处理至第 5 天,与对照相比,以 3 mg/L 计, $\text{Cd}^{2+}$  处理的下降 27%, $\text{Hg}^{2+}$  处理的下降 50%, $\text{Hg}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$  处理的下降 57%。叶绿素含量下降与重金属抑制原叶绿素酸酯还原酶和影响氨基-酮戊酸的合成有关<sup>[7]</sup>, $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  二者协同,加速破坏了叶绿素合成系统。

## 2.2 光合速率

$\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  复合污染对轮叶狐尾藻叶片光合速率抑制作用比单离子强。处理第 2 天,以 3 mg/L 计, $\text{Cd}^{2+}$  处理的下降 18%, $\text{Hg}^{2+}$  处理的下降 79%, $\text{Hg}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$  处理的下降 89%。 $\text{Cd}^{2+}$  可引起光系统 II 捕光叶绿素蛋白质复合物部分解聚和总量减少<sup>[8]</sup>,这可能是由于  $\text{Hg}^{2+}$  与  $\text{Cd}^{2+}$  的协同作用加速了复合物解聚和总量减少的过程。这一结果在结构方面也得到证实(图版 I 5~6)。叶绿体膜结构破坏程度加大,必然导致复合污染对轮叶狐尾藻叶片光合速率的抑制作用增强。

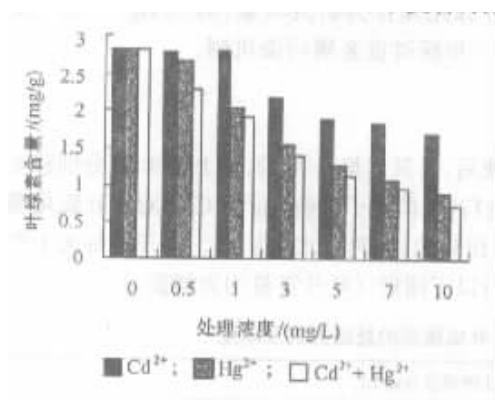


图 1  $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  复合污染对轮叶狐尾藻叶片叶绿素含量的影响(第 4 天)

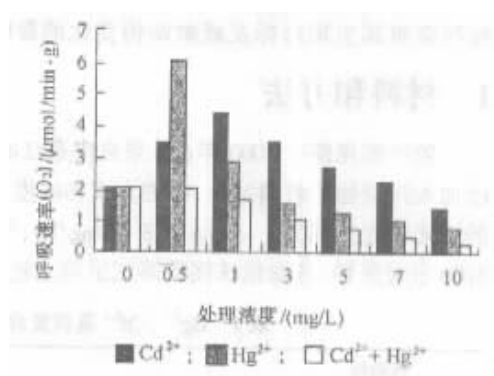


图 2  $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  复合污染对轮叶狐尾藻叶片呼吸速率的影响(第 4 天)

## 2.3 呼吸速率

在一定浓度范围内重金属可增强植物的呼吸作用,这是植物对逆境的一种适应机制。污染较重时,重金属则抑制植物的呼吸作用<sup>[9]</sup>。在我们的研究中发现, $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  两种离子共存时,这种抑制作用的程度加大(图 2)。可能是  $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  两种离子均可引起相关呼吸酶的失活,其共同作用使这一过程加速。也与线粒体膜结构破坏加重有关(图版 I 3、7~9)。

## 2.4 过氧化物酶(POD)活性

$\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  复合污染使轮叶狐尾藻叶片 POD 活性降低得更快。处理第 4 天(图 3), $\text{Hg}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$  处理的均低于对照值。POD 是植物适应多种逆境胁迫的重要保护酶之一,在一定的污染

浓度范围内,酶的活性得以维持或提高,超过这个范围,活性下降<sup>[10]</sup>。 $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 复合污染在低浓度时达到了单一离子较高浓度的效应,表明两者发生了协同作用。

## 2.5 可溶性蛋白含量

可溶性蛋白与细胞内多种代谢过程有关。张玉秀等<sup>[11]</sup>认为重金属胁迫能诱导相关胁迫蛋白基因的表达,从而降低重金属的毒性,是植物对环境胁迫的一种防卫机制。这种防卫机制的保护作用是有一定限度的,这与可溶性蛋白含量有关。 $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 复合污染加重了污染的程度,使蛋白含量下降更快(图4),说明 $\text{Hg}^{2+}$ 与 $\text{Cd}^{2+}$ 协同作用,加速了植物对环境胁迫的防卫机制的解体。

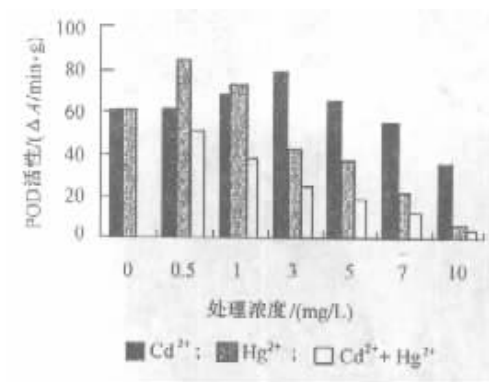


图3  $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 复合污染对轮叶狐尾藻叶片 POD 活性的影响(第4天)

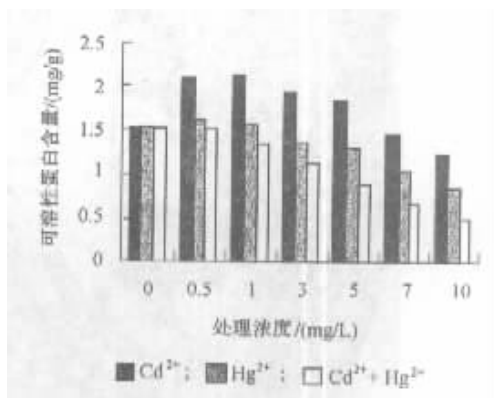


图4  $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 复合污染对轮叶狐尾藻叶片可溶性蛋白含量的影响(第4天)

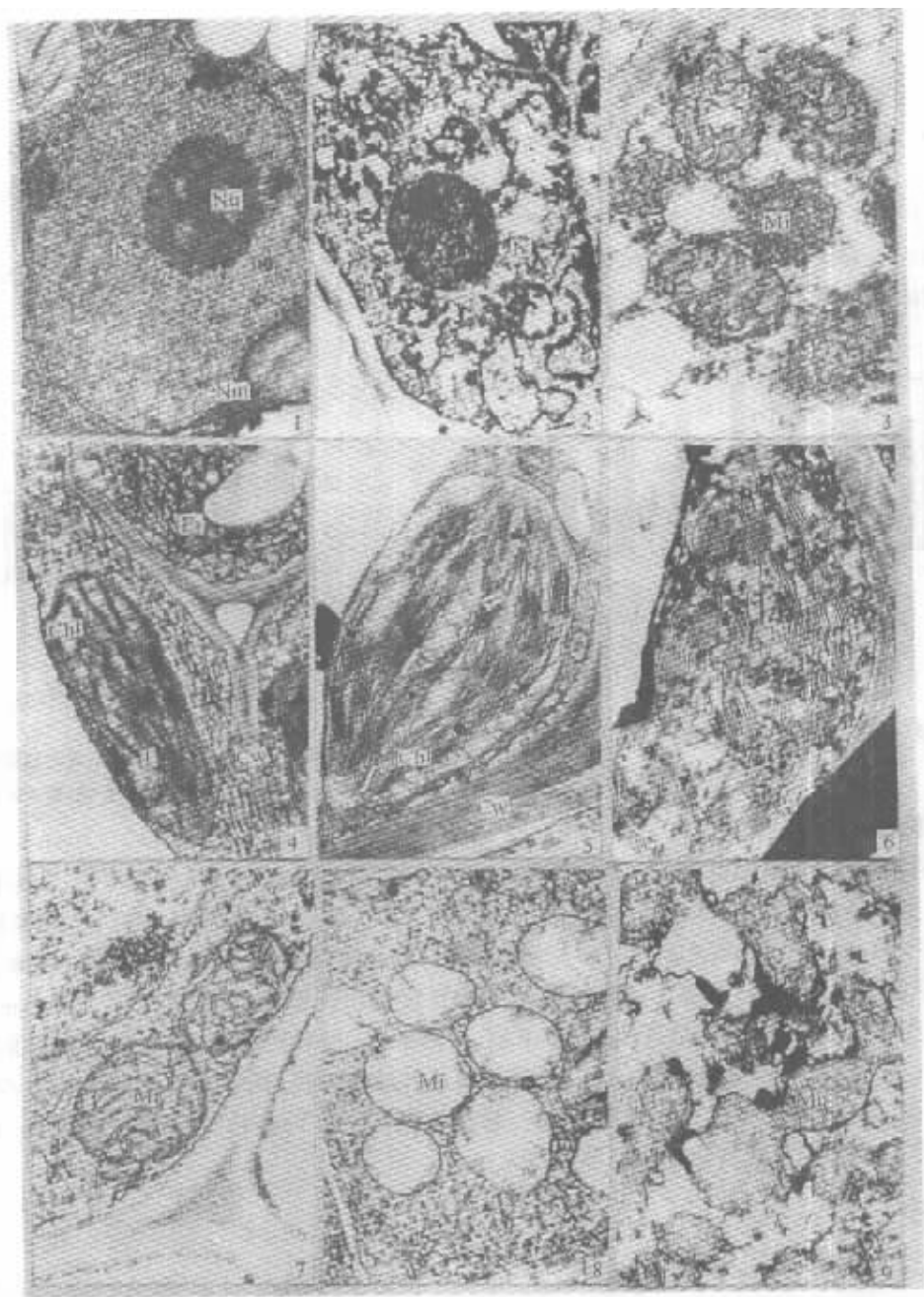
## 2.6 超微结构变化

电镜结果显示:对照叶细胞,结构完整,细胞核核仁、双层核膜清晰,核质均匀,叶绿体呈长椭圆形,类囊体垛叠整齐,线粒体数量较多,内质网大多为粗糙型,核糖体丰富,质膜紧贴细胞壁(图版 I 1、4)。受  $3 \text{ mg/L } \text{Hg}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$  处理 2 d 的,细胞质凝聚,核中染色质凝集(图版 I 2);叶绿体中的类囊体膨胀(图版 I 5);线粒体中的脊突也出现膨胀(图版 I 3、7);受  $3 \text{ mg/L}$  以下  $\text{Hg}^{2+}$  及  $5 \text{ mg/L}$  以下  $\text{Cd}^{2+}$  处理 3 d 的叶细胞,与对照比,没有明显的差异。随着污染的加重,受  $3 \text{ mg/L}$  以上  $\text{Hg}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$  处理 4 d 的,叶绿体双层外被膜破裂(图版 I 6);线粒体空泡、解体(图版 I 8、9);细胞核核仁消失,核膜破裂,核糖体消失。受  $3 \text{ mg/L}$  以下  $\text{Hg}^{2+}$  及  $7 \text{ mg/L}$  以下  $\text{Cd}^{2+}$  处理 4 d 的,没有观察到细胞器解体现象。

## 3 结论

综合实验结果,生理方面,与  $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  单离子污染相比, $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  复合污染使轮叶狐尾藻所受的毒害影响加重,叶绿素含量、呼吸速率、光合速率、POD 活性、可溶性蛋白含量降低得更快。超微结构的变化也证明了这一结论,相同处理浓度的  $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  复合污染对细胞结构的破坏程度明显比单离子高。两种离子的相互作用表现为协同作用。

元素之间的相互作用是十分复杂的,不仅与浓度、植物吸收与运输以及测试指标的敏感性有关,而且与体内核酸、蛋白质、脂类,特别是酶等生物大分子的结合位点的竞争有关<sup>[1]</sup>。余国营等<sup>[2]</sup>认为重金属复合污染受到共存元素的影响。 $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  二者协同作用,加重了污染的程度,有关重金属之间相互作用机制有待进一步探讨。



图版 I

## 4 图版 I 说明

N 细胞核 Nu 核仁 Nm 核膜 Chl 叶绿体 T 类囊体 Er 内质网 Cw: 细胞壁 Mi 线粒体.

图版 I(1~9) 1: 对照叶细胞中的细胞核,  $\times 12000$ ; 2:  $3\text{ mg/L Hg}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$  处理 2d 的叶细胞 细胞核中染色质凝集,  $\times 8000$ ; 3:  $3\text{ mg/L Hg}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$  处理 2d 的 线粒体中的脊突出现膨胀,  $\times 30000$ ; 4: 对照叶细胞中的叶绿体,  $\times 15000$ ; 5:  $3\text{ mg/L Hg}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$  处理 2d



的 ,示叶绿体中的类囊体膨胀(↓), $\times 17\,000$ ; 6:  $3\text{ mg/L Hg}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$  处理 4 d 的 ,示叶绿体外膜破裂、解体, $\times 17\,000$ ; 7:  $3\text{ mg/L Hg}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$  处理 2 d 的 ,线粒体中的脊突出现膨胀, $\times 35\,000$ ; 8:  $3\text{ mg/L Hg}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$  处理 4 d 的 ,线粒体出现空泡, $\times 20\,000$ ; 9:  $7\text{ mg/L Hg}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$  处理 4 d 的 ,线粒体解体, $\times 25\,000$ .

### [ 参考文献 ]

- [ 1 ] 李元 祖艳群 王焕校. 镉、铁及其复合污染对烟草叶片氨基酸含量的影响[ J ]. 生态学报, 1998, 18( 6 ): 640—647.
- [ 2 ] 余国营 吴燕玉 王新. 重金属复合污染对大豆生长的影响及其综合评价研究[ J ]. 应用生态学报, 1995, 6( 3 ): 433—439.
- [ 3 ] 刘学铭 王菊芳 余若黔 等. 不同氮水平下异养小球藻生物量和叶绿素含量的变化[ J ]. 植物生理学通讯, 1999, 35( 3 ): 198—201.
- [ 4 ] 秦京东 邵宁 施定基 等. 聚球藻 7942 高效泌氮突变种的获得及其泌氮、谷氨酰氨合成酶活性、光合和生长[ J ]. 植物学报, 1999, 41( 1 ): 65—70.
- [ 5 ] 陈雄 王宗灵 任红旭 等. 海拔高度对大车前叶和根中抗氧化系统的影响[ J ]. 植物学报, 1999, 41( 8 ): 846—850.
- [ 6 ] 陈武 陈珈. 玉米根尖质膜的受钙激活蛋白激酶的特性[ J ]. 植物学报, 1999, 41( 2 ): 166—170.
- [ 7 ] Stobart A K, Griffiths W T, Ameen-Bukhari I, *et al.* The effect of  $\text{Cd}^{2+}$  on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley[ J ]. *Physiol Plant*, 1985, 63: 293—298.
- [ 8 ] 杨丹慧 许春辉 王可玢 等. 镉离子对菠菜叶绿体色素蛋白质复合物及激发能分配的影响[ J ]. 植物学报, 1990, 32( 3 ): 198—204.
- [ 9 ] 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[ J ]. 植物学报, 2000, 42( 4 ): 373—378.
- [ 10 ] 张金彪 黄维南. 镉对植物的生理生态效应的研究进展[ J ]. 生态学报, 2000, 20( 3 ): 514—523.
- [ 11 ] 张玉秀 柴团耀, Gerard BURKARD. 植物耐重金属机理研究进展[ J ]. 植物学报, 1999, 41( 5 ): 453—457.

## The Toxic Effect of $\text{Hg}^{2+}$ and $\text{Cd}^{2+}$ Combined Pollution on *Myriophyllum Verticillatum* Linn

Gu Wei, Shi Guoxin, Du Kaihe, Xu Nan

( School of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, PRC )

**Abstract** : In this paper, we studied the effect of  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  and their combined pollution on *Myriophyllum verticillatum* Linn. The experimental results showed that the chlorophyll content, photosynthesis rate, respiration rate, the activity of POD and protein content of leaves were more quickly decreased in the combined pollution than in the pollution of a single species of ions. The changes of ultrastructure demonstrated this, the cell structures were more heavily destroyed in combined pollution. The type of their interaction is synergy.

**Key words** : *Myriophyllum verticillatum* Linn,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ , combined pollution, physiological index, ultrastructure

[ 责任编辑 孙德泉 ]