

# Cd、Cr(VI)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

徐勤松, 施国新, 郝怀庆

(南京师范大学生命科学学院, 江苏南京 210097)

**摘要:** 主要研究了Cd、Cr(VI)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, 研究表明: 随Cd、Cr(VI)胁迫浓度的增加, 菹草总叶绿素含量下降, 单一Cd处理SOD活性下降, POD和CAT活性表现出先升后降的趋势, Cd、Cr(VI)复合污染的效应明显大于单一污染的效应。

**关键词:** Cd、Cr(VI); 单一及复合污染; 菹草; 叶绿素; 抗氧化酶系统; 协同效应

**中图分类号:** Q946.9175 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2001)01-0087-04

## Effects of Cd、Cr (VI) single and combined pollution on chlorophyll content and antioxidant enzyme systems of *Potamogeton crispus* Linn.

XU Qin-song, SHI Guo-xin, HAO Huai-qing

(School of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

**Abstract:** The paper mainly studied the effects of Cd、Cr(VI) single and combined pollution on chlorophyll content and antioxidant enzyme systems of *Potamogeton crispus* Linn. . The results showed that with the increasing of the stress concentration of Cd、Cr(VI), content of chlorophyll and the SOD activity of single Cd treatment decreased, the activity of POD and CAT increased first and decreased afterwards. At the same time, the effects of combined pollution heavier than those of single pollution did clearly.

**Key words:** Cd、Cr(VI); single and combined pollution; *Potamogeton crispus* Linn. ; chlorophyll content; antioxidant enzyme systems; synergism

自然界中, 重金属污染往往是多种金属污染物的复合污染<sup>[1]</sup>, 由于重金属元素之间的加和、协同、拮抗等效应使重金属污染的评价和监测更复

杂, 如何正确评价重金属元素之间的联合作用对环境污染治理具有重要意义。

工业废水和污水淤泥中常含有Cd、Cr(VI)等

收稿日期: 2000-07-19

作者简介: 徐勤松(1976-), 男, 硕士, 主要研究重金属污染水对水生植物的毒害影响。

基金项目: 国家自然科学基金项目(39770046)和江苏省自然科学基金项目(BK97107)共同资助。

重金属离子,关于 Cd、Cr(VI)共同作用对水生植物的毒性效应至今尚未见报道。本实验旨在探讨 Cd、Cr(VI)复合污染的机理,为治理重金属污染水提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

菹草(*Potamogeton crispus* Linn.)采自江苏省高邮湖和南京师范大学生命科学学院水生植物培育池,采集后放在玻璃缸中用 Hoagland 完全培养液进行驯化培养,生长正常后,一次性施入含 CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O(AR)和 K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>(AR),使培养液中 Cd(以纯 Cd 计)和 Cr(VI)(以纯 Cr(VI)计)浓度为 0、1、10、50 mg/L。Cd、Cr(VI)单一和复合处理共 16 个组合(表 1)。处理后第 5 d 取相同叶位的叶片,蒸馏水洗净,擦干,测定各生理指标用。

### 1.2 实验方法

叶绿素含量的测定:分光光度法<sup>[2]</sup>,单位:mg/g·FW。

SOD、POD、CAT 酶液的制备:取材于预冷研钵中,加入 pH7.8 磷酸缓冲液(0.05 M/L),冰浴下研磨成匀浆,10 000 rpm,低温离心 20 min。上清液即为所需酶液。

SOD 活性的测定:化学比色法,按从南京建成生物工程研究所所购买的试剂盒的顺序测定。单位:NU/g·FW 以 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量为一个亚硝酸盐单位。

CAT 活性的测定:一般分光光度法,按从南京建成生物工程研究所所购买的试剂盒的顺序测定。单位:U/g·FW。

POD 活性的测定:愈创木酚法<sup>[3]</sup>。单位:Δ470 nm/min·g·FW。

## 2 结果与讨论

### 2.1 Cd、Cr(VI)单一及复合污染对叶绿素含量的影响

由表 2 可看出,Cd、Cr(VI)单一及复合污染对叶绿素含量影响明显,随各处理浓度的增加,叶绿素含量逐渐减少,其中,单一 Cd 处理比单一 Cr(VI)处理叶绿素减少明显,相关系数 r 分别为-

0.988 6 和 -0.372 3,为极显著负相关和负相关,说明 Cd 对叶绿素的形成和破坏毒性大于 Cr(VI)。Cd 和 Cr(VI)复合处理后的叶绿素含量变化趋势与单一处理的相同,并且均低于相应的单一 Cd 和 Cr(VI)处理。其中在各 Cr(VI)处理中加入 Cd 后,随 Cd 浓度的增加,叶绿素含量与单一 Cr(VI)处理的差异显著性增强,特别是加入 50 mg/L 后的差异极其显著( $|t|=5.966 8 > t_{0.01}=5.841$ ),这意味着复合污染对叶绿素的破坏毒性比单一离子更强,显示出明显的协同作用。

表 1 Cd、Cr(VI)处理的实验设计

Table 1 Experimental design of Cd、Cr(VI) treatment

| Cr(VI)<br>(mg/L) | Cd (mg/L) |      |       |       |
|------------------|-----------|------|-------|-------|
|                  | 0         | 1    | 10    | 50    |
| 0                | 0+0       | 1+0  | 10+0  | 50+0  |
| 1                | 0+1       | 1+1  | 10+1  | 50+1  |
| 10               | 0+10      | 1+10 | 10+10 | 50+10 |
| 50               | 0+50      | 1+50 | 10+50 | 50+50 |

表 2 Cd、Cr(VI)单一及复合污染对叶绿素含量的影响

Table 2 The effect of Cd、Cr(VI) single and combined pollution on the content of chlorophyll(mg/g·FW)

| Cr(VI)<br>(mg/L) | Cd (mg/L) |       |       |       |
|------------------|-----------|-------|-------|-------|
|                  | 0         | 1     | 10    | 50    |
| 0                | 1.218     | 1.164 | 1.153 | 0.896 |
| 1                | 1.070     | 1.060 | 0.981 | 0.825 |
| 10               | 1.070     | 0.916 | 0.881 | 0.693 |
| 50               | 1.080     | 0.954 | 0.724 | 0.626 |

叶绿素作为植物进行光合作用的主要色素,含量的高低能够反映光合作用水平的强弱。严重玲等<sup>[4]</sup>认为叶绿素含量的减少是衡量叶片衰老的重要指标。叶绿素含量降低的原因,Stobart A K<sup>[5]</sup>等认为是重金属抑制原叶绿素酸酯还原酶(protochlorophyllide reductase)和影响了氨基-r-酮戊酸(aminolaevulinic acid)的合成。而这 2 个酶对于叶绿素的合成是必需的。Cd、Cr(VI)复合污染使菹草叶绿素含量下降的幅度更大,说明复合污染加速了菹草的衰老。

### 2.2 Cd、Cr(VI)单一及复合污染对超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

由表 3 可看出,单一 Cd 处理中随浓度的上升,SOD 活性呈下降趋势,50 mg/L 处理的活性仅是对照的 62.7%,其相关系数  $r=-0.736 6$ ;而单一 Cr(VI)处理则在(0~10 mg/L)有一抗性峰,

而后下降,其中50 mg/L 处理的酶活性比对照减少了2.36%,显示出 Cd 比 Cr(VI)的破坏性大。二者在复合污染情况下,在各 Cd 处理中加入1 mg/L Cr(VI)的活性与单一 Cd 处理的相差显著( $t=4.3738 > t_{0.05} = 3.812$ ),而加入10 mg/L 的则与相应单一处理的相差极其显著( $|t|=13.9624 > t_{0.01} = 5.841$ ),同时,可看出除50 mg/L Cd+50 mg/L Cr(VI)外,复合污染的 SOD 活性都高于单一处理的,但随浓度的增大呈现出下降趋势。说明植物体内产生的  $O_2^-$  超过了 SOD 正常的歧化能力。并且在 Cd 处理中加入50 mg/L Cr(VI)后的相关系数  $r=-0.9211$ ,为显著负相关。而单一 Cd 处理的相关系数  $r=-0.7366$ 。

表3 Cd、Cr(VI)单一及复合污染对 SOD 活性的影响  
Table 3 The effect of Cd、Cr(VI) single and combined pollution on activity of SOD (NU/g·FW)

| Cr(VI)<br>(mg/L) | Cd (mg/L) |        |        |        |
|------------------|-----------|--------|--------|--------|
|                  | 0         | 1      | 10     | 50     |
| 0                | 13.324    | 12.848 | 8.510  | 8.369  |
| 1                | 14.209    | 23.333 | 20.438 | 18.540 |
| 10               | 17.435    | 19.866 | 18.274 | 17.730 |
| 50               | 13.010    | 15.869 | 14.630 | 7.490  |

表4 Cd、Cr(VI)单一及复合污染对 CAT 活性的影响  
Table 4 The effect of Cd、Cr(VI) single and combined pollution on activity of CAT(U/g·FW)

| Cr(VI)<br>(mg/L) | Cd (mg/L) |         |         |         |
|------------------|-----------|---------|---------|---------|
|                  | 0         | 1       | 10      | 50      |
| 0                | 160.592   | 459.920 | 357.993 | 298.508 |
| 1                | 336.578   | 667.240 | 546.189 | 401.480 |
| 10               | 292.309   | 562.174 | 438.645 | 354.210 |
| 50               | 286.336   | 487.600 | 322.747 | 304.448 |

SOD 是一种重要的活性氧防御酶,在消除超氧化物自由基、减轻脂质过氧化作用和膜伤害方面起重要作用<sup>[6]</sup>。正常的植物细胞的叶绿体和线粒体在光合作用和呼吸作用过程中会产生自由基( $O_2^-$  和  $\cdot OH$ )<sup>[7]</sup>,SOD 能清除超氧化物的阴离子自由基( $O_2^-$ ),并产生歧化产物  $H_2O_2$ 。因此 SOD 在一定程度上支配植物体内的  $O_2^-$  和  $H_2O_2$  的浓度。作为一种诱导酶,在逆境条件下,植物体内  $O_2^-$  含量一定程度的增加能诱导酶活性的上升,保持植物体清除自由基的正常功能,SOD 活性的提高是相应于  $O_2^-$  含量增加的应急解毒措施,是使细胞免受毒害的调节反应<sup>[8]</sup>。通过提高活性来增加植

物对逆境的适应能力。SOD 活性下降后,对  $O_2^-$  的消除能力减弱,造成  $O_2^-$  在体内积累和产生  $\cdot OH$  及 MDA 的危险<sup>[9]</sup>。重金属毒害细胞的原因之一是引起膜脂过氧化作用加强<sup>[10]</sup>。因此,SOD 活性的高低与植物的抗逆性之间具有一定的相关性。

### 2.3 Cd、Cr(VI)单一及复合污染对过氧化氢酶(CAT)活性的影响

由表4可看出,单一 Cd、Cr(VI)都是在1 mg/L 处理处出现一抗性峰,而后下降,但仍高于对照。二者复合污染下,使 CAT 活性上升的幅度增大,尽管随处理浓度的增大呈下降趋势,但都高于相应的单一处理。其中在各 Cr(VI)处理中加入1 mg/L Cd 后与单一的相比差异极其显著( $t=5.9405 > t_{0.01} = 5.841$ ),而后显著性下降。

CAT 是抗氧化酶系统的重要组成部分,它是一种含 Fe 的血蛋白酶类,能催化  $H_2O_2$  分解成水和氧,因此与植物代谢强度及抗逆境能力密切相关,CAT 活性的提高能更有效的清除  $H_2O_2$ ,SOD 和 CAT 的共同作用能把体内具潜在危害的  $O_2^-$  和  $H_2O_2$  转化为无害的  $H_2O$  和  $O_2$ ,并且能减少具毒性的、高活性的氧化剂羟自由基( $\cdot OH$ )的形成<sup>[11]</sup>。从而阻止由  $H_2O_2$  和  $\cdot OH$  导致的氧伤害。逆境条件下,有研究表明 CAT 活性的下降可以导致  $H_2O_2$  的累积<sup>[12]</sup>,从而使植物膜结构受到损伤。本实验中各复合处理较对照上升的幅度都大于相应的单一处理增加的幅度,表明复合污染导致植物体产生了更多的  $H_2O_2$ ,由于催化底物增多从而使其活性上升。同样显示复合污染具有明显的协同作用的趋势。

### 2.4 Cd、Cr(VI)单一及复合污染对过氧化物酶(POD)活性的影响

由表5可看出,单一 Cd 处理,POD 活性随浓度上升在1 mg/L 处理下达到最大,而后呈下降趋势,50 mg/L 比对照下降了约50%。Cr(VI)处理则在10 mg/L 处理有抗性峰出现,50 mg/L 处理处下降,但仍高于对照。二者复合污染下,除了1 mg/L Cd+1 mg/L Cr(VI)处理外,其它组合的活性都远低于对照,并且都小于相应的单一处理的活性。在各单一 Cr(VI)处理中加入 Cd 后随 Cd 浓度的增大差异显著性比单一的明显增强,其中,

当 Cd 浓度为 10 mg/L 时差异显著 ( $|t| = 4.0999 > t_{0.05} = 3.812$ ), 而当浓度是 50 mg/L 时则是差异极其显著 ( $|t| = 12.8412 > t_{0.01} = 5.841$ )。表明复合污染产生的有毒物质远超过 POD 的催化能力, 协同作用趋势比较明显。

表 5 Cd、Cr(VI) 单一及复合污染对 POD 活性的影响  
Table 5 The effect of Cd, Cr(VI) single and combined pollution on activity of POD ( $\Delta 470 \text{ nm}/\text{min} \cdot \text{g} \cdot \text{FW}$ )

| Cr(VI)<br>(mg/L) | Cd (mg/L) |         |         |        |
|------------------|-----------|---------|---------|--------|
|                  | 0         | 1       | 10      | 50     |
| 0                | 166.830   | 336.500 | 188.500 | 86.310 |
| 1                | 257.880   | 208.000 | 59.710  | 29.860 |
| 10               | 281.590   | 140.980 | 46.830  | 28.470 |
| 50               | 209.430   | 113.440 | 34.490  | 26.890 |

POD 是一种含 Fe 的金属蛋白质, 是植物体内常见的氧化还原酶, 催化过氧化氢氧化酚类的反应。广泛参与植物的物质和能量代谢, 在植物的呼吸代谢和抗性生理中起重要作用。POD 活性的维持和提高是植物耐受重金属胁迫的物质基础之一<sup>[13]</sup>。POD 和 CAT 共同作用催化  $\text{H}_2\text{O}_2$  形成  $\text{H}_2\text{O}$ , 从而有效的阻止  $\text{O}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  在植物体内的积累, SOD、CAT、POD 协同作用, 排除这些自由基对植物细胞膜结构潜在氧伤害的可能性。在逆境条件下, POD 活性和同工酶都会发生明显变化, 对环境因子比较敏感。本实验中, POD 活性上升的原因是 Cd、Cr(VI) 胁迫下菹草体内产生的过氧化物增加诱导的结果。而当处理浓度进一步增加, 有毒物质超过它正常的催化能力后则导致其活性的下降, 后果是使植物体内  $\text{H}_2\text{O}_2$  过量积累, 进而植物的膜结构遭受潜在的氧伤害。

### 3 结 论

(1) Cd、Cr(VI) 单一及复合污染不同程度的减少菹草的叶绿素含量, 而复合污染的破坏效应明显大于相应的单一处理。显示出协同效应的趋势。

(2) SOD、POD、CAT 是植物体内保护系统的主要酶, 能在逆境胁迫过程中, 清除植物体内过量的活性氧, 维持活性氧代谢平衡、保护膜结构, 从而使植物在一定程度上忍耐、减缓或抵抗逆境胁迫, 它们的水平可作为植物逆境生理和衰

老生理指标。Cd、Cr(VI) 胁迫使三者的活性比例失调, 从而导致植物体内活性氧的产生和清除失衡, 使植物的生理代谢紊乱, 加速植物的衰老和死亡。

### 参考文献:

- [1] Coughtrey P J, Martin M H. Tolerance of *Holcus lanatus* of Lead, Zinc and Cadmium in factorial combination [J]. *New Phytol*, 1978, **81**: 147~154
- [2] 华东师范大学生物系植物生理教研组. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 人民教育出版社, 1980. 88~90
- [3] 张志良. 植物生理学实验指导 [M] (第二版). 北京: 高等教育出版社, 1990. 154~155
- [4] 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** (增刊): 124~131
- [5] 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]. *Plant Physiol*, 1985, **63**: 293~298
- [6] 刘鸿先, 曾韶西, 王以柔等. 低温对不同耐寒力的黄瓜幼苗子叶各细胞器中超氧化物歧化酶(SOD)的影响 [J]. 植物生理学报, 1985, **11** (1): 48~57
- [7] Elstner E F. Oxygen activation and oxygen toxicity [J]. *Ann. Rev. Plant Physiol*, 1982, (33): 73~96
- [8] 罗广华, 王爱国, 邵从本等. 高浓度氧对种子萌发和幼苗生长的伤害 [J]. 植物生理学报, 1987, **13** (2): 161~167
- [9] 黄玉山, 罗广华, 关策文. 镉诱导的自由基过氧化损伤 [J]. 植物学报, 1997, **39** (6): 522~526
- [10] 宋松泉, 简伟军, 傅家瑞.  $\text{Cd}^{2+}$  对玉米种子活力的影响及  $\text{Ca}^{2+}$  的拮抗作用 [J]. 应用与环境生物学报, 1997, **3** (1): 1~5
- [11] Scandalios J G. Oxygen stress and superoxide dismutase [J]. *Plant Physiol*, 1993, **101**: 7~12
- [12] Kellogg E W, Fridovich I. Superoxide, hydrogen peroxide and singlet oxygen in lipid peroxidation by a xanthine oxidase system [J]. *J. Biol. Chem*, 1975, **250**: 8812~8817
- [13] 杨居荣, 贺建群, 张国祥等. 不同耐性作物中几种酶活性对 Cd 胁迫的反应 [J]. 中国环境科学, 1996, **16** (2): 113~117