

Cd 对水稻根尖细胞的遗传损伤效应

何俊瑜^{1,2}, 任艳芳¹, 朱 诚², 蒋德安²

(1.贵州大学农学院, 贵州 贵阳 550025; 2.浙江大学生命科学学院, 浙江 杭州 310058)

摘 要:以水稻(*Oryza sativa* L.)为材料,研究了不同浓度 Cd 对根尖细胞的遗传损伤作用。结果表明,随着 Cd 浓度增加和处理时间延长,水稻幼苗根尖细胞有丝分裂指数明显降低;4 个时期相比,Cd 对中期的影响最小。微核率随着 Cd 胁迫浓度的增加和时间的延长而增加,但浓度过高时,微核率反而有所降低;此外,Cd 能诱发根尖细胞染色体畸变,染色体畸变率随着 Cd 处理浓度的增加和处理时间的延长而升高,呈现明显的剂量-效应和时间-效应关系。以上结果表明,Cd 可引起水稻根尖细胞有丝分裂抑制和染色体损伤,具有明显的遗传毒性。

关键词:水稻;Cd;根尖;有丝分裂指数;微核率;染色体畸变率

中图分类号:X503.231 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2008)06-2303-05

Cytogenetic Damage Induced by Cadmium in Rice(*Oryza sativa* L.)Root Tips

HE Jun-yu^{1,2}, REN Yan-fang¹, ZHU Cheng², JIANG De-an²

(1.College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2.College of Life Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: Cadmium (Cd) is one of the most toxic pollutants in the soil, which can limit plant growth and crop productivity. In order to explore the cytogenetic damage induced by cadmium on rice (*Oryza sativa* L.) root tips cells, the root tips were treated with different concentrations of cadmium for 24 h, 48 h and 72 h, and the mitosis index, cell cycle, the frequency of micronucleus and chromosomal aberrations were determined. The results showed the mitotic index in root tip cells of rice seedlings were significantly decreased with the increase of Cd concentrations and treatment duration. Cadmium had the least effects on the metaphase cell ratios among four phases during the mitosis. The frequencies of micronucleus increased with the increase of Cd concentrations and treatment duration; However, beyond concentration of 75 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, cadmium restrained the frequencies of micronucleus. Moreover, high frequencies of chromosomal aberrations of root tip cells in rice seedlings were produced by Cd, and the chromosomal aberration frequencies were increased in treated time-response and dose-response manners. The results of the present study indicated that cadmium could inhibit the mitosis and damage the chromosomes of root meristematic cells of rice seedlings, suggesting that cadmium had clear cytogenetic toxic effects on plant cells.

Keywords: rice; cadmium; root tip; mitosis index; frequencies of micronucleus; frequencies of chromosomal aberration

镉(Cd)是自然界中相对稀有的重金属元素之一,地壳中 Cd 的平均含量为 0.15~0.20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。近年来,由于自然因素和人类活动,如农业生产中施用含 Cd 的肥料,灌溉含 Cd 的污水、污泥农用等,Cd 的施放量日益增加,其进入生物圈的速率约为每年 30 000 t,

同时酸雨作用使得土壤 Cd 的可溶性增加,导致土壤 Cd 毒性增强,农作物 Cd 毒害现象时有发生^[1-2]。农作物受到 Cd 污染后,不仅影响其产量和质量,更为严重的是 Cd 经食物链进入人体,并在人体内富集,危害人类健康^[3-5]。因此,环境 Cd 污染问题不容忽视,Cd 毒害的研究越来越引起人们的广泛重视。

Cd 不是生物生长的必需元素,在生物体内含量甚微,它通常不参与生物体的结构和代谢活动,但其毒性大,易被植物吸收,植物体内吸收和积累过量的 Cd 时,将对生物有机体产生严重毒害。植物 Cd 中毒后会表现出生长迟缓、植株矮小、褪绿、产量下降等症

收稿日期:2008-02-16

基金项目:国家重点基础研究发展规划(973)项目(2002CB410804);贵州省自然科学基金(20072058);贵州大学人才基金(X060036)

作者简介:何俊瑜(1975—),男,博士,副教授,主要从事植物环境生物学与农产品安全方面的研究。
E-mail:junyuhe0303@sina.com

状,严重时导致死亡。目前对 Cd 毒害作用的研究主要集中在对植物伤害的生理生化反应机制方面。研究表明, Cd 可引起光合强度下降、保护性酶发生变化、体内营养元素失调等^[6-9]。根系是 Cd 最直接、最严重的受害器官之一, Cd 进入植物体后大部分积累在根部,严重抑制根系生长,可引起根尖细胞的遗传损伤。对大麦、玉米、洋葱、蚕豆等根尖细胞的观察结果表明, Cd 可引起根尖细胞分裂出现障碍或不正常分裂,表现为细胞分裂周期延长,产生 C-有丝分裂、染色体断裂、畸变、粘连等^[10-14]。此外, Cd 能与带负电的核酸结合,破坏细胞核、核仁结构,抑制 DNase 和 RNase 活性,干扰 DNA 的代谢,导致染色体和分子变异并使 RNA 的合成受阻,影响基因的转录与表达^[14]。也有研究表明低浓度的 Cd 可能会促进蚕豆根尖细胞分裂,刺激 RNA 和蛋白质合成酶的活性进而促进植物生长^[15]。水稻是我国主要粮食作物之一,但有关 Cd 对水稻根尖细胞的遗传损伤目前未见报道。本文以水稻为材料,研究了不同浓度 Cd 对水稻根尖细胞分裂指数、细胞周期、微核率、染色体畸变率的影响,以揭示 Cd 对水稻根尖细胞的损伤机制,为研究 Cd 的毒性效应机制及农业生产预报 Cd 对作物的毒理效应提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

本试验所选的材料水稻品种秀水 11(*Oryza sativa* L. cv. Xiushui11),种子由中国水稻所孙宗修研究员惠赠。

1.2 方法

1.2.1 材料准备

挑选饱满健康的种子用 5% NaClO 消毒 10 min,去离子水反复冲洗干净,蒸馏水浸种 24 h 后,选已萌发的水稻种子均匀播于铺有 2 层滤纸的培养皿中,每皿 50 粒种子,30℃恒温培养,每 12 h 换 1 次水。待胚根长约 2 cm 时,用于毒性试验。

1.2.2 材料处理

选取根长一致的幼苗随机分组,分别转移到不同浓度的 Cd 溶液中(1、5、10、25、75、200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 6 个不同的浓度),30℃暗培养。以蒸馏水作对照。

1.2.3 取材与观察

每隔 24 h 从每一处理组随机切取 10 个根尖,用卡诺氏固定液(甲醇/冰乙酸=3/1, V/V)室温下固定 24 h,蒸馏水浸洗 3 次后,转入 70%的乙醇中,4℃冰箱中保存备用。制片时,取固定根尖,用蒸馏水浸洗 3

次,1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸解离,改良石炭酸品红染液染色后切取根尖分生区 1 mm 左右,加 1 滴蒸馏水,常规压片后镜检^[16]。每个处理观察 10 个根尖,每个根尖约 5 000 个细胞,统计有丝分裂指数、微核率、染色体畸变率^[17]。所有试验重复 3 次。

1.3 数据分析

采用 SPSS10.0 数据处理系统进行方差分析。*、** 分别表示不同处理组与蒸馏水对照组之间的差异显著性达 0.05、0.01 水平。

2 结果与分析

2.1 Cd 胁迫对水稻根尖细胞有丝分裂指数的影响

根尖细胞有丝分裂指数是体细胞分裂频率,可作为根尖生长速率的一个重要参数,其值越高,处于分裂期的细胞越多,单位时间内形成的子细胞越多,植物生长越旺盛,反之则生长不良^[16]。由图 1 可知,不同浓度 Cd 处理,水稻根尖细胞有丝分裂指数随 Cd 浓度增高及处理持续时间的延长而递减。经相关分析表明, Cd 浓度与有丝分裂指数间呈显著的负相关 $[P(24\text{ h})<0.01; P(48\text{ h})<0.01; P(72\text{ h})<0.01]$ 。说明 Cd 能够阻滞水稻幼苗根尖细胞进入分裂态,抑制细胞有丝分裂,具有明显积累效应。

2.2 Cd 对水稻根尖分生细胞有丝分裂各期的影响

不同浓度 Cd 对水稻幼苗处理 24、48、72 h 后,分别观察各处理根尖分裂细胞中前期、中期、后期、末期细胞所占的比例,统计结果见表 1、表 2、表 3。从表 1 中可以看出, Cd 处理 24 h 后,水稻根尖分裂细胞中,前期、后期和末期的分裂细胞所占比例随着 Cd 浓度的增加明显降低,但中期细胞,在较低浓度处理下(1 和 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)有所增加;当 Cd 浓度 $\geq 10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,

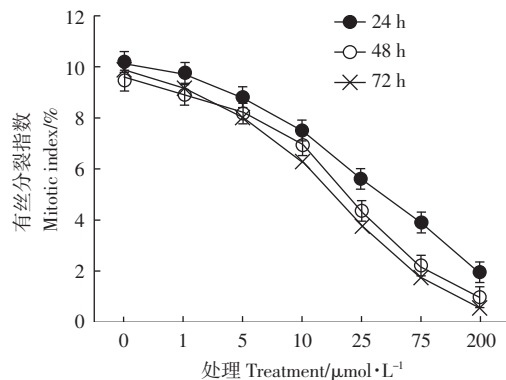


图 1 Cd 胁迫对水稻根尖细胞有丝分裂指数的影响
Figure 1 Effects of Cd on the mitotic index in root tip cells of rice seedling

中期分裂细胞数呈浓度依赖性降低。4 个时期相比,前期、后期和末期的降幅较大,而中期降幅最小。随着处理时间的延长,各期分裂细胞所占比例下降,且各期变化与 24 h 处理的基本一致,并与分裂指数基本对应。可见,Cd 处理一方面能够阻滞细胞进入分裂期,使各期细胞数目减少,分裂指数降低,另一方面干扰细胞分裂周期。

2.3 Cd 诱导水稻根尖细胞微核率

微核是常见的染色体变异现象。凡是主核大小 1/3 以下,着色与主核相当或稍浅并与主核分离的小核,称为细胞中的微核。不同浓度 Cd 诱发水稻幼根细胞

表 1 Cd 胁迫 24 h 对水稻根尖细胞周期的影响
Table 1 Effect of cadmium on cell cycle in rice root tips after 24 h

Cd 浓度/ μmol·L ⁻¹	前期/%		中期/%		后期/%		末期/%	
	比率	降幅	比率	降幅	比率	降幅	比率	降幅
0	5.54		1.82		1.68		1.09	
1	5.34	2.71	1.88	-3.29	1.61	4.17	0.88	19.27
5	4.76	14.08	1.84	-1.09	1.44	14.29	0.72*	33.95
10	4.00*	27.79	1.81	0.55	1.13*	32.74	0.56**	48.62
25	2.70**	51.26	1.76	3.29	0.83**	50.59	0.33**	69.72
75	1.71**	69.13	1.59**	12.64	0.46**	72.62	0.16**	85.32
200	0.79**	85.74	0.93**	48.90	0.13**	92.26	0.05**	95.41

注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, 下同。

表 2 Cd 胁迫 48 h 对水稻根尖细胞周期的影响
Table 2 Effect of cadmium on cell cycle in rice root tips after 48 h

Cd 浓度/ μmol·L ⁻¹	前期/%		中期/%		后期/%		末期/%	
	比率	降幅	比率	降幅	比率	降幅	比率	降幅
0	5.40		1.76		1.53		0.92	
1	4.96	8.14	1.81	-2.84	1.51	1.31	0.81	11.96
5	4.32	20.00	1.88	-6.82	1.40	8.49	0.61**	33.69
10	3.61**	33.15	1.82	-3.41	1.18**	22.86	0.41**	55.43
25	2.02**	62.59	1.62	7.95	0.44**	71.24	0.19**	79.34
75	0.88**	83.70	1.05**	40.34	0.14**	90.85	0.07**	92.39
200	0.38**	92.96	0.52**	70.45	0.05**	96.73	0.02**	97.82

表 3 Cd 胁迫 72 h 对水稻根尖细胞周期的影响
Table 3 Effect of cadmium on cell cycle in rice root tips after 72 h

Cd 浓度/ μmol·L ⁻¹	前期/%		中期/%		后期/%		末期/%	
	比率	降幅	比率	降幅	比率	降幅	比率	降幅
0	5.31		1.91		1.72		0.98	
1	4.99	6.03	1.88	1.57	1.59	7.56	0.79	19.39
5	3.97*	25.24	1.85	3.14	1.29**	25.00	0.48**	51.02
10	3.18**	40.11	1.77	7.33	0.93**	45.93	0.34**	65.31
25	1.77**	66.67	1.58*	17.28	0.31**	81.98	0.13**	86.73
75	0.68**	87.19	0.97**	49.21	0.09**	94.77	0.04**	95.92
200	0.19**	96.42	0.39**	79.58	0.02**	98.84	0.01**	98.98

微核率的结果见表 4。从表 4 可知,Cd 处理水稻幼苗 24 h 后,不同浓度 Cd 处理的水稻根尖分生细胞中微核率均比对照呈现一定的升高趋势,在 1~75 μmol·L⁻¹ 浓度范围内,微核率随 Cd 浓度的升高而增加,75 μmol·L⁻¹ 浓度处理出现高峰(25.64%±4.36%),但 1 μmol·L⁻¹ 处理组与对照组没有统计学的差异;当 Cd 浓度进一步升至 200 μmol·L⁻¹ 时,微核率反而下降,明显低于 75 μmol·L⁻¹ 处理($P<0.01$)。各处理微核率随着处理时间的延长,低浓度(1~25 μmol·L⁻¹)Cd 处理微核率呈现一定的升高趋势,表明 Cd 诱发水稻根尖细胞遗传损伤具有时间效应;但高浓度组(75 和 200 μmol·L⁻¹)引起微核率降低,可能与其生理毒性有关。

表 4 Cd 胁迫对水稻根尖细胞微核率(%)的影响
Table 4 Effects of Cd on the frequencies of micronuclei of root tip cells in rice seedling(%)

Cd 浓度/ μmol·L ⁻¹	根尖数	处理时间 Treatment time/h		
		24	48	72
0	10	0.36±0.15	0.35±0.17	0.39±0.18
1	10	0.69±0.35	1.13±0.49	1.98±0.71
5	10	1.26±0.58	3.49±0.81*	4.27±1.17*
10	10	3.47±0.95*	6.82±1.38**	10.49±1.56**
25	10	11.13±2.43**	26.79±4.37**	37.52±5.33**
75	10	25.64±4.36**	23.37±3.92**	24.46±4.20**
200	10	19.01±3.52**	12.63±3.11**	9.44±3.02**

2.4 Cd 处理对水稻根尖细胞染色体畸变率的影响

从表 5 可见,Cd 有明显的诱发水稻根尖细胞染色体畸变的作用。在本试验浓度范围内,Cd 处理水稻幼苗 24 h 后,随着处理浓度的升高,根尖分生细胞中畸变率均比对照组呈现一定的升高趋势,除 1、5 μmol·L⁻¹ 24 h 处理组外,各处理组(10~200 μmol·L⁻¹)分裂细胞畸变率与对照组相比,表现出显著的统计学差异($P<0.05$, $P<0.01$);随着 24、48、72 h 处理时间的延长,

表 5 Cd 胁迫对水稻根尖细胞染色体畸变率(%)的影响
Table 5 Effects of Cd on the frequencies of chromosomal aberration of root tip cells in rice seedling(%)

浓度/ μmol·L ⁻¹	根尖数	处理时间 Treatment time/h		
		24	48	72
0	10	0.40±0.21	0.45±0.25	0.47±0.24
1	10	1.29±0.58	2.09±0.79	2.77±0.87
5	10	3.11±0.88	5.07±1.01*	6.55±1.17*
10	10	7.23±1.45*	10.99±1.88**	18.58±2.56**
25	10	20.29±4.43**	40.16±4.37**	62.04±5.33**
75	10	45.79±5.36**	67.28±6.22**	82.11±7.20**
200	10	66.22±6.22**	80.99±7.11**	99.04±9.09**

畸变率也呈现一定的升高趋势,5~200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 48 和 72 h 处理组与对照组相比,均有显著的统计学差异($P<0.05$)。可见畸变率与 Cd 处理之间呈现明显的时间-效应和剂量-效应关系。

2.5 Cd 浓度与水稻根尖细胞遗传损伤的相关性

回归分析表明(表 6),在本试验浓度范围内,水稻根尖细胞的有丝分裂指数与 Cd 处理浓度间呈极显著的负相关,表明 Cd 毒害明显地抑制水稻根尖细胞有丝分裂,且 Cd 处理浓度越高,抑制作用越强。微核率和染色体畸变率与 Cd 处理浓度间呈显著或极显著的正相关,表明 Cd 毒害可明显地诱发微核和染色体畸变的发生。有丝分裂指数与微核率和染色体畸变率间均呈极显著的负相关,而微核率与染色体畸变率间呈极显著的正相关。

表 6 Cd 诱发水稻根尖细胞遗传损伤的相关分析

Table 6 Analysis of correlation among cytogenetic damage in rice root tip cells after Cd treatments

	Cd 浓度	有丝分裂指数	微核率
有丝分裂指数	-0.831**		
微核率	0.365*	-0.719**	
染色体畸变率	0.846**	-0.932**	0.760**

3 讨论

农作物受到 Cd 污染后,能导致农产品中 Cd 的累积,并进一步经食物链进入人体,在人体内富集,从而危害人类健康。许多研究表明,植物对 Cd 有较强的蓄积作用,而且根部蓄积能力较其他部位强^[6,8]。在本试验中观察到,Cd 对水稻根尖细胞有丝分裂有明显的抑制作用,这种抑制作用随着处理浓度的增加和时间的延长而加强。从根尖细胞各期所占比例的结果可以看出,Cd 处理能抑制细胞进入分裂期,造成前期、中期、后期及末期细胞数目的减少。研究表明,重金属 Cd 不仅能与细胞内各种有机无机配体(如 NO_3^- 、 Cl^- 、氨基酸、有机酸、蛋白质和糖类等)结合^[18],还能与细胞核中的 DNA 牢固地结合,影响 DNA 的结构和功能,减少 DNA 的复制,延长分裂间期,抑制细胞进入分裂期^[19]。本研究中 Cd 处理降低根尖细胞分裂指数、抑制细胞进入分裂期,导致细胞分裂指数下降,可能与此有关。此外,Cd 干扰细胞分裂周期,可能是 Cd 诱导有丝分裂必需的纺锤体微管和成膜体的降解,从而直接抑制有丝分裂的进行^[16,20]。本试验结果与前人对大麦^[10]、洋葱^[12-13]、蚕豆^[14]等的结论一致。

微核是典型的遗传损伤指标之一^[14]。研究表明,微核的形成途径有两条:一条途径是由于前一分裂周期 G2 期后产生的染色体断片在分裂过程不能与正常染色体协调活动,在进入间期时,即被排斥于核外形成的;另一条途径是由于各种形式的落后染色体、未及中板集合染色体以及染色体分组造成的^[21]。本试验表明 Cd 能诱发较高频率的微核,表明环境中一定浓度的 Cd 对水稻细胞具有遗传损伤作用。处理 24 h,微核率随着 Cd 浓度的增加而上升,75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 处理时其微核率达最大值,这可能是因为随着 Cd 处理浓度的升高,Cd 对细胞的 DNA 的毒害加强,另一方面,可能破坏纺锤丝的结构和功能,干扰染色体自身运动的规律,形成断片、滞后染色体,断片和滞后染色体在子核重建时不能包被到核内,形成游离于主核的微核,导致微核率也随之增加。之后随着浓度的增大微核率下降,可能是高浓度 Cd 处理抑制细胞分裂所致。本试验结果与毛学文等的报道一致^[22]。1~25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 浓度范围内,随着处理时间的延长微核率均逐渐增加,表明时间延长能提高 Cd 的遗传毒性;75 和 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 处理 72 h 的微核率反而低于 24、48 h。这可能是因为随着 Cd 处理浓度的增大、时间的延长,对细胞的损伤加剧,导致有丝分裂下降和染色体畸变的产生,分裂细胞减少,而且有效地阻止该细胞内纺锤丝微管蛋白的聚合作用而使细胞滞留在分裂期,进而使微核率下降;也可能由于 Cd 处理使得一些受损的细胞未完成有丝分裂过程或不能继续分裂,导致微核率下降^[23]。

试验表明不同浓度 Cd 均可诱发染色体畸变。染色体畸变率随 Cd 处理浓度的升高而呈现上升趋势($P<0.01$)。说明 Cd 对水稻根尖细胞染色体的主要组成物质 DNA 的结构、组成可能有一定影响,其对水稻根尖细胞遗传毒性效应也得到充分证实。染色体畸变产生可能有几条途径:一是由于药物直接作用于 DNA 分子,造成 DNA 断裂损伤,出现染色体断片、染色体桥;二是由于药物干扰了 DNA、蛋白质合成或 RNA 的转录,结果使与染色体运动有关的物质不能形成,使染色体不能及时到达细胞两极,产生滞后染色体;三是药物还可通过干扰某些损伤的正常修复过程,阻止染色体在正常情况下的重建,而形成新的重接,出现染色体桥、断片、落后、粘连等^[24-25]。

本试验我们观察到,一定浓度范围内的 Cd 对水稻根尖细胞有致畸和诱导效应,但其对水稻根尖细胞 DNA 和染色体复制影响的具体机理还有待深入研究。

其致畸作用的详细机制有待于进一步的研究和探讨。

参考文献:

- [1] Chen H M, Zheng C R, Wang S Q, et al. Combined pollution and pollution index of heavy metals in red soil[J]. *Pedosphere*, 2000, 10: 117–124.
- [2] 黄益宗, 朱永官. 森林生态系统镉污染研究进展[J]. *生态学报*, 2004, 24(1): 101–108.
- HUANG Yi-zong, ZHU Yong-guan. A review on cadmium contamination in forest ecosystem[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(1): 101–108.
- [3] 杨春刚, 廖西元, 章秀福, 等. 不同基因型水稻籽粒对镉积累的差异[J]. *中国水稻科学*, 2006, 20(6): 660–662.
- YANG Chun-gang, LIAO Xi-yuan, ZHANG Xiu-fu, et al. Genotypic difference in cadmium accumulation in brown rice[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2006, 20(6): 660–662.
- [4] 刘 宛, 郑 乐, 李培军, 等. 镉胁迫对大麦幼苗基因组 DNA 多态性影响[J]. *农业环境科学学报*, 2006, 25(1): 19–24.
- LIU Wan, ZHENG Le, LI Pei-jun, et al. Effects of cadmium stress on DNA polymorphism of genome in barley seedlings[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(1): 19–24.
- [5] Mc Laughlin M J, Parker D R, Clarke J M. Metals and micronutrients—food safety issues[J]. *Field Crops Research*, 1999, 60: 143–163.
- [6] Das P, Samantaray S, Rout G R. Studies on cadmium toxicity in plants: A review[J]. *Environ Pollution*, 1998, 98: 29–36.
- [7] Linger P, Ostwald A, Haensler J. *Cannabis sativa* L. Growing on heavy metal contaminated soil: Growth, cadmium uptake and photosynthesis[J]. *Biol Plant*, 2005, 49: 567–576.
- [8] He J Y, Zhu C, Ren Y F, et al. Genotypic variation in grain cadmium concentration of lowland rice[J]. *J Plant Nutr Soil Sci*, 2006, 169: 711–716.
- [9] Yang Y J, Cheng L M, Liu Z H. Rapid effect of cadmium on lignin biosynthesis in soybean roots[J]. *Plant Sci*, 2007, 172: 632–639.
- [10] Zhang Y X, Yang X L. The toxic effects of cadmium on cell division and chromosomal morphology of *Hordeum vulgare*[J]. *Mutant Research*, 1994, 312: 121–126.
- [11] Kozhevnikova A D, Seregin I V, Bystrova E I, et al. Effects of heavy metals and strontium on division of root cap cells and meristem structural organization[J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2007, 54(2): 257–266.
- [12] 刘东华, 蒋悟生, 李懋学. 镉对洋葱生长和细胞分裂的影响[J]. *环境科学学报*, 1992, 12(4): 439–446.
- LIU Dong-hua, JIANG Wu-sheng, LI Mao-xue. Effects of Cd²⁺ on root growth and cell division of allium cepa[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1992, 12(4): 439–446.
- [13] Glińska S, Bartzak M, Oleksiak S, et al. Effects of anthocyanin-rich extract from red cabbage leaves on meristematic cells of *Allium cepa* L. roots treated with heavy metals[J]. *Ecotoxicol Environ Safety*, 2007, 68: 343–350.
- [14] 段昌群, 王焕校. 重金属对蚕豆的细胞遗传学毒理作用和对蚕豆根尖微核技术的探讨[J]. *植物学报*, 1995, 37(1): 14–24.
- DUAN Chang-qun, WANG Huan-xiao. Cytogenetical toxic effects of heavy metals on vicia faba and inquires into the vicia micronucleus[J]. *Acta Botanica Sinica*, 1995, 37(1): 14–24.
- [15] 曹德菊, 汤 斌. 铅、镉及其复合污染对蚕豆根尖细胞的诱变效应[J]. *激光生物学报*, 2004, 13(4): 302–304.
- CAO De-ju, TANG Bin. Effect of plumbum, cadmium and the combined pollution actatt on root tip cell of *vicia faba*[J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2004, 13(4): 302–304.
- [16] 李红孩, 王变珍, 仪慧兰. 铝对蚕豆根尖细胞的遗传损伤[J]. *生态环境*, 2006, 15(6): 1246–1249.
- LI Hong-hai, WANG Bian-zhen, YI Hui-lan. Cytogenetic damage induced by aluminum trichloride in *Vicia faba* root tips[J]. *Ecology and Environment*, 2006, 15(6): 1246–1249.
- [17] 钱晓薇. 硫酸铝对蚕豆根尖细胞遗传毒性效应的研究[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2003, 29(4): 413–418.
- QIAN Xiao-wei. Cytogenetic toxicity effect of aluminum sulphate on *Vicia faba* root tip cells[J]. *Journal of Zhejiang University(Agric. & Life Sci.)*, 2003, 29(4): 413–418.
- [18] Meychik N R, Honarmand S J, Nikolaeva Y I, et al. Ion exchange properties of *Cicer arietinum* L. root cell walls under different environmental salt conditions[J]. *Biologija*, 2007, 53(3): 75–79.
- [19] Ates I, Suzen H S, Aydin A, et al. The oxidative DNA base damage in tests of rats after intraperitoneal cadmium injection[J]. *Biometals*, 2004, 17(4): 371–377.
- [20] Fusconi A, Gallo C, Camusso W. Effects of cadmium on root apical meristems of *Pisum sativum* L.: Cell viability, cell proliferation and microtubule pattern as suitable markers for assessment of stress pollution[J]. *Mutation Research*, 2007, 632: 9–19.
- [21] 李 宏. 饱和对二氯苯液诱导小麦根尖细胞异常性的研究[J]. *渝州大学学报(自然科学版)*, 1997, 14(1): 36–42.
- LI Hong. Study abnormality of wheat top cells induced by saturation dichlorobenzol solutions[J]. *Journal of Yuzhou University(Natu Sci.)*, 1997, 14(1): 36–42.
- [22] 毛学文, 王弋博. 氯化铅对豌豆根尖细胞微核和异常分裂的作用[J]. *植物生理学通讯*, 2001, 37(5): 406–408.
- MAO Xue-wen, WANG Yi-bo. Effect of PbCl₂ on micronuclei and abnormal division in root tip of *Pisum sativum*[J]. *Plant Physiology Communications*, 2001, 37(5): 406–408.
- [23] Rivetta A, Negrini N, Cocucci M. Involvement of Ca²⁺-calmodulin in Cd²⁺ toxicity during the early phases of radish (*Raphanus sativus* L.) seed germination[J]. *Plant Cell Environment*, 1997, 20: 600–608.
- [24] 钱晓薇, 朱小春, 陈哲晓, 等. 三氧化二砷(As₂O₃)对蚕豆根尖毒性效应的细胞遗传学研究[J]. *遗传*, 2002, 24(3): 305–309.
- QIAN Xiao-wei, ZHU Xiao-chun, CHEN Zhe-xiao, et al. Studies of cytogenetic toxic effect of As₂O₃ on *Vicia faba* root tip cells in vivo[J]. *Hereditas*, 2002, 24(3): 305–309.
- [25] Hartwig A, Schwerdtle T. Interaction by carcinogenic metal compounds with DNA repair processes: Toxicological implications[J]. *Toxicol Lett*, 2002, 127: 47–54.