

# 外源硼缓解铅对蜈蚣萍毒害作用的研究

王学 (山东理工大学生命科学院, 山东淄博 255049)

**摘要** [目的] 探讨了外源硼缓解植物重金属毒害的机制。[方法] 以水生植物蜈蚣萍为材料, 研究了外源硼对不同浓度铅胁迫下植物叶内  $O_2^-$  产生速率、叶绿素、可溶性蛋白含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性的影响。[结果] 随铅浓度的升高, 叶绿素和可溶性蛋白含量逐渐下降, 抗氧化酶系统的平衡被打破,  $O_2^-$  产生速率急剧上升。而外施硼有效维持了抗氧化酶系统的平衡, 降低了  $O_2^-$  产生速率, 并且提高了铅胁迫下蜈蚣萍叶内可溶性蛋白和叶绿素含量。[结论] 外源硼有效缓解了植物的铅毒害。

**关键词** 蜈蚣萍; 硼; 铅; 抗氧化酶

**中图分类号** Q945 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)23-09861-02

## Toxic Effects of Pb on *Salvinia natans* Alleviated by Exogenous Boron

WANG Xue (College of Life Science, Shandong University of Technology, Zibo, Shandong 255049)

**Abstract** [Objective] The purpose was to discuss the mechanism that exogenous boron alleviated the toxic effects of Pb on plants. [Method] With *Salvinia natans* as tested material, the effects of exogenous boron on  $O_2^-$  generation rate, the contents of chlorophyll and soluble protein, and the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD) in the plant leaves under Pb stress were observed. [Result] With the increase of Pb concentration in culture medium, the contents of chlorophyll and soluble protein decreased gradually, the equilibrium of antioxidant enzyme systems was broken,  $O_2^-$  generation rate rose rapidly. Exogenous boron addition maintained the equilibrium of antioxidant enzyme systems, lessened  $O_2^-$  generation rate, increased the contents of chlorophyll and soluble protein in the leaves of *Salvinia natans* under Pb stress. [Conclusion] Exogenous boron could alleviate the toxic effects of Pb.

**Key words** *Salvinia natans*; Boron; Pb; Antioxidant enzyme

随着工农业生产的发展, 许多有害物质通过大气沉降、地矿渗漏以及工业废水、生活污水大量排入水系, 造成严重的水污染, 其中重金属污染是最严重的问题之一<sup>[1]</sup>。大量事实表明, 水体中重金属不仅影响水生植物的产量和质量, 而且通过食物链进一步影响人畜健康。因此, 找到一种提高植物抗逆性、治理水体重金属污染的方法, 已迫在眉睫。近年来, 对于提高植物抗重金属胁迫的研究较多, 而硼作为一种微量元素是否对重金属胁迫有缓解作用则鲜有报道。

蜈蚣萍 [*Salvinia natans* (L.) All.] 为蕨类 1 年生浮水草本植物, 从东北到长江以南地区都有分布。其茎细长, 横走, 有毛。叶有 2 种, 一种细长如根, 垂生水中; 另一种浮在水面, 绿色, 羽状排列于茎的两侧。全草具有清热解毒、活血止痛的作用。以蜈蚣萍为研究对象, 以植物非必需金属元素铅为胁迫因子, 以硼为调节因子, 笔者探讨了铅胁迫下硼对水生植物的缓解机制, 以期为解决重金属胁迫下植物的生存问题提供理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料培养与处理** 供试蜈蚣萍采自苏州太湖。选取生长健壮、长势一致的植株置于 Forma3744 培养箱内无底泥玻璃缸中培养。光照周期为 12 h/12 h, 光暗温度为 25 °C/18 °C, 光照强度为 115  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。培养 14 d 后, 选取长势一致的植株, 分成 2 组: ① 对照组, 分别用含有 0、1、3、5、10 mg/L Pb 的 Hoagland 培养液处理; ② 处理组, 在上述含不同浓度梯度 Pb 的 Hoagland 培养液中均加入 0.5 mg/L 硼。第 5 天取植株倒数第 2 对至倒数第 5 对叶进行各项生理指标测定, 重复 3 次。

**1.2 测定指标与方法** 叶绿素含量的测定参照 Arnon 的方

法<sup>[2]</sup>。可溶性蛋白含量采用 Bradford 的考马斯亮蓝 G2250 法<sup>[3]</sup>测定, 以牛血清白蛋白(BSA)为标准蛋白作标准曲线。 $O_2^-$  产生速率测定按照王爱国等的方法<sup>[4]</sup>。SOD 和 CAT 活性均使用从南京建成生物工程研究所购买的试剂盒进行测定。SOD 活力单位定义为: 每毫升反应液中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量为 1 个亚硝酸盐单位(U); CAT 活力单位定义为: 以每克叶片每秒分解 1  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  的 CAT 量为 1 个活力单位(U)。POD 活性采用愈创木酚法<sup>[5]</sup>测定。

## 2 结果与分析

**2.1 外源 B 对 Pb 胁迫下蜈蚣萍叶片可溶性蛋白和叶绿素含量的影响** 由图 1、2 可知, 随 Pb 浓度的升高, 蜈蚣萍叶片可溶性蛋白和叶绿素含量逐渐降低, 在 10 mg/L Pb 胁迫下, 蜈蚣萍叶片可溶性蛋白和叶绿素含量降至最低点, 分别比相应对照降低 51.3%、40.4%。这与前人研究结论一致<sup>[6]</sup>。若同时加入外源 B, 与单一 Pb 胁迫相比, 植株叶绿素和可溶性蛋白含量则大幅度提高, 尤其是可溶性蛋白。这说明 B 可以调节蜈蚣萍对重金属胁迫的适应能力, 提高抗逆性。

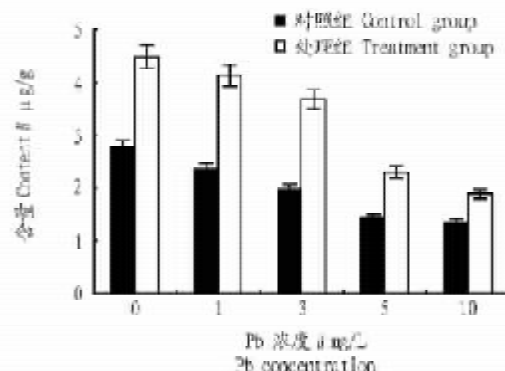


图 1 外源 B 对 Pb 胁迫下蜈蚣萍叶片可溶性蛋白含量的影响

Fig. 1 Effects of exogenous B on the soluble protein content in *Salvinia natans* leaves under Pb stress

**基金项目** 山东理工大学博士科研启动经费(4041-406027)。

**作者简介** 王学(1974-), 女, 山东淄博人, 讲师, 从事环境毒理、环境生态方面的研究。

**收稿日期** 2008-06-02

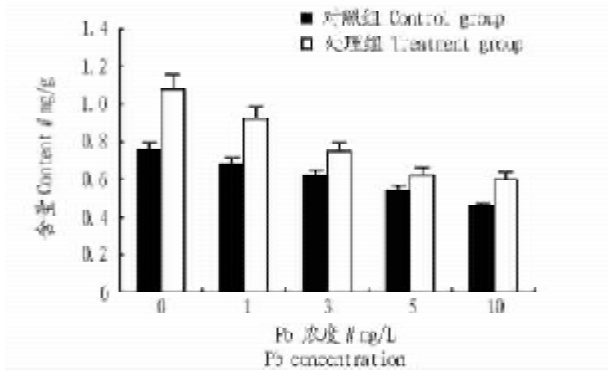


图2 外源 B 对 Pb 胁迫下蜈蚣萍叶片叶绿素含量的影响

Fig.2 Effects of exogenous B on the chlorophyll content in *Salvinia natans* leaves under Pb stress

**2.2 外源 B 对 Pb 胁迫下蜈蚣萍叶片 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率的影响** 正常情况下,植物代谢过程中会产生活性氧,植物体内的抗氧化胁迫系统处于动态平衡状态。当处于逆境条件,细胞内自由基产生和消除的平衡遭到破坏,导致活性氧积累,细胞受到伤害<sup>[7]</sup>。由图3可知,外施0.5 mg/L B 均可降低不同浓度 Pb 胁迫下蜈蚣萍叶片 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率,其中在 10 mg/L Pb 胁迫下 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率降低幅度最大,比相应对照降低 23.8%。B 对植物抗氧化防护效应的调控机理可能与 B 诱导的抗坏血酸(ASA)合成有关<sup>[8]</sup>。ASA 是一种水溶性极强的抗氧化剂,能防止自由基对细胞的伤害,因而外施 B 减少了 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的产生。

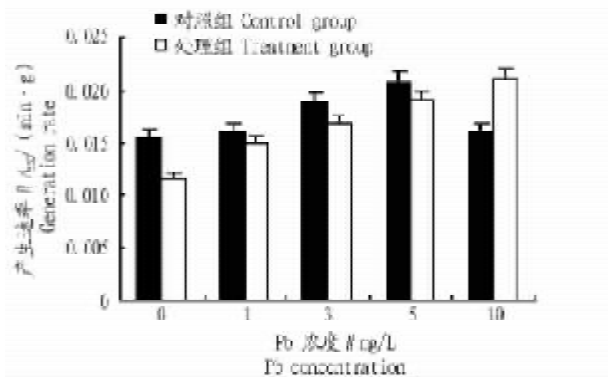


图3 外源 B 对 Pb 胁迫下蜈蚣萍叶片 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率的影响

Fig.3 Effects of exogenous B on O<sub>2</sub><sup>-</sup> generation rate in *Salvinia natans* leaves under Pb stress

**2.3 外源 B 对 Pb 胁迫下蜈蚣萍叶片抗氧化酶活性的影响** 由图4、5可知,外施 B 提高了 Pb 胁迫下蜈蚣萍叶片 SOD 和 CAT 活性。其中,B 对高浓度 Pb 胁迫下 CAT 活性的影响最明显。由此可见,外施 B 使得 Pb 胁迫下蜈蚣萍的抗氧化能力增强。这是因为 SOD、CAT 可以清除细胞中多余的 O<sub>2</sub><sup>-</sup>。[9-10]。

由图6可知,POD 活性的变化规律与 SOD、CAT 活性不同。外施 B 使 Pb 胁迫下蜈蚣萍叶片 POD 活性明显降低。POD 除了参与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的清除外,还参与膜活性氧的产生<sup>[7]</sup>。当 Pb 进入植物组织后,通过影响一系列生理生化反应产生并且积累一些对机体有害的过氧化物。随着 POD 底物含量的增加,POD 活性提高。高活性的 POD 可能是植物 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 积累的一个重要原因。外施 B 使得单一 Pb 胁迫下植株 POD

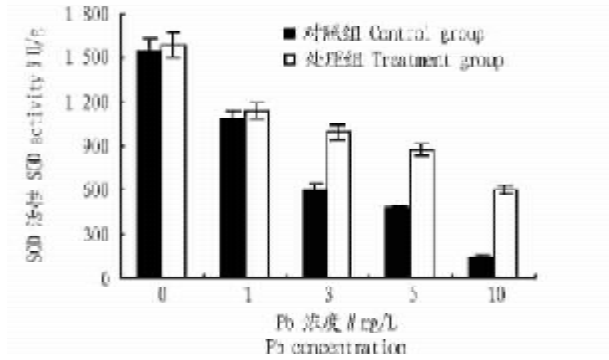


图4 外源 B 对 Pb 胁迫下蜈蚣萍叶片 SOD 活性的影响

Fig.4 Effects of exogenous B on the SOD activity in *Salvinia natans* leaves under Pb stress

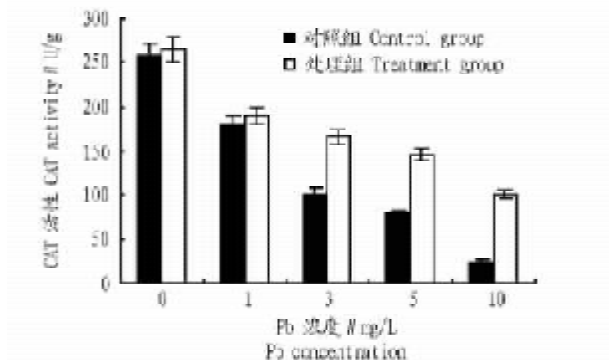


图5 外源 B 对 Pb 胁迫下蜈蚣萍叶片 CAT 活性的影响

Fig.5 Effects of exogenous B on the CAT activity in *Salvinia natans* leaves under Pb stress

活性明显降低,证实外源 B 可以缓解重金属胁迫。

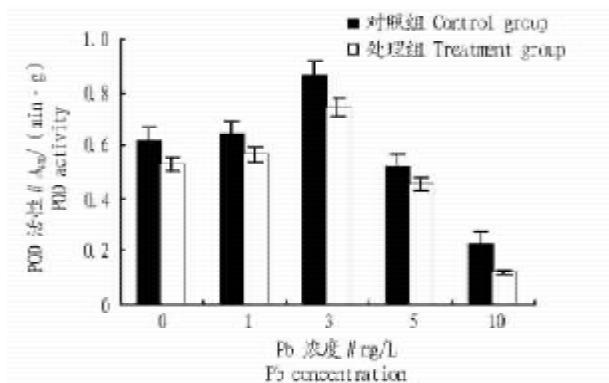


图6 外源 B 对 Pb 胁迫下蜈蚣萍叶片 POD 活性的影响

Fig.6 Effects of exogenous B on POD activity in *Salvinia natans* leaves under Pb stress

3 结语

Pb 对植物的毒害并不是破坏某一种酶或影响某一种物质的含量,而是对植物整个生理活动和生化反应造成伤害。这与笔者以前的研究结果<sup>[10]</sup>一致。外施 B 可提高 Pb 胁迫下蜈蚣萍叶片 SOD、CAT 活性,增加叶绿素和可溶性蛋白含量,降低 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率,缓解 Pb 对蜈蚣萍的毒害作用。

参考文献

[1] MASCHER R, LIPPMANN B, HOLZINGER S, et al. Arsenate toxicity: Effects on oxidative stress response molecules and enzymes in red clover plants[J]. Plant Sci, 2002, 143: 1-9.  
 [2] ARNON D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol oxidase in beta vulgaris[J]. Plant Physiol, 1949, 24: 1-15.

长速度大于以上几种,7年生树在2 m时由于受冻害而长成灌木状,在园林中需谨慎应用。

当植物由其自然分布区引种到一个新的环境后,都会有一个对环境适应的驯化过程,在此过程中,就会有部分物种不能适应新的环境而死亡,如属于H级的桂南木莲、卵叶木莲(栽培2年后死亡,未记入)、观光木、金叶含笑,主要是受冬季冻害而死。其中,高度已达3 m的桂南木莲已开花,其主干年年受冻害,最后逐渐死亡。金叶含笑的死亡可能由于寒冷和干旱的共同作用造成的。在南京情侣园的金叶含笑冻害不是十分严重,来年可恢复生长,也和该植株树龄较大,抗性较强有关。

##### 5 南京引种的不同属木兰科植物的适应性情况

木兰科不同属的个体适应表现有差异,其适应性从强到弱的顺序是鹅掌楸属>木兰属>含笑属>木莲属>拟单性木兰属>观光木属。不同气候区来源的植物适应性表现也有很大不同,其顺序为本地>北亚热带>中亚热带>南亚热带。鹅掌楸属的2个种在南京均表现良好,北美鹅掌楸已有胸径60 cm以上的大树,能够正常开花结实,但种子有胚率比原产地要低许多,在南京夏、秋高温,炎热时生长不受影响,且耐寒,有较好的推广价值。鹅掌楸在南京引种已有50多年,在凉爽湿润的生境下生长发育良好,已有胸径50 cm以上的大树,该种对南京的高温、炎热表现不适应,在开阔地种植,树皮易灼伤或提早落叶,在园林中宜群植或与其他树木混植。两者的杂交种——杂种鹅掌楸适应性较强,生长速度快,耐热性也比亲本强,在北京以南的各地园林中已得到广泛认可,是一个值得推广利用的好树种。木兰属的种类大多生长较好,已经开花结实,有较高的观赏价值,如天目木兰、宝华玉兰、望春玉兰、黄山木兰等。杂交种二乔玉兰在各种园林绿地中表现出色,适应性强,观赏价值高,并且筛选出许多观赏价值更高的园艺品种。木莲属在南京生长基本正常,且能开花结果的只有木莲和乳源木莲2种,但也生长弱化,花果数量少,冬季温度过低,则会出现落叶和叶片受冻害的现象。含笑属只有灰毛含笑、台湾含笑、深山含笑等几种,可以基本适应南京的气候,并且有较好的观赏效果。拟单性木兰属中,只有乐东拟单性木兰1种可以基本适应南京的气候,但栽培近20年的个体,一直未见其开花结果。在西南分布的云南拟单性木兰的幼苗在南京年年受冻害,幼树稍好一些,观赏价值稍低。观光木在-2℃时叶片就开始受冻,在-6℃时受冻死亡,无观赏利用价值。

不同地理种源的同一种树种表现也相差巨大,如栽植在

植物园的乐昌含笑,其种源地是湖南新宁,在-6℃的情况下就受冻严重,上部主干枯死,长成灌木状,引种至今有20余年,还没有开花结果。而种植在江苏省林业科学院的乐昌含笑却生长良好,已正常开花和结果。由此可见,不同地理种源的树木其抗寒性有很大差异。引种不同地理种源的植物材料在引种工作中也十分必要。

##### 6 种源的引种地气候和区系成分对引种木兰科植物的影响

引种的木兰科植物对南京环境的适应受引种地的气候和种的区系起源的共同影响<sup>[5]</sup>,其中,气候因素起主要作用。南京地处亚热带北缘,与木兰科的主要分布地的亚热带中南部地区相比,冬季寒冷,1月平均温度和最低温度都是最低的。因此,冬季低温是引种木兰科树种的主要威胁,尤其对一些自然分布在中亚热带以南的常绿种类而言,更是如此。分布比较靠南的一些常绿种类,如亮叶含笑、乐昌含笑、红花木莲等,有时秋梢萌发较迟,生长期长,冬季来临前,没有充分木质化,易受低温危害,由于顶梢经常受冻,从干部萌发很多的新枝,形成灌木状,从而影响其生殖生长和观赏效果。

降水减少也是限制木兰科树种引种的重要因素,一些常绿种类如木莲、乳源木莲等,在遇到夏季高温干旱时,就会出现落叶现象,一些年份的落叶在冬季达到80%以上。这也是在引种过程中,树木对新环境一种不适应的表现,同时也显示出驯化不是很成功。

植物区系对植物的引种也有重要影响,有着共同起源的植物往往成功的可能性大。属温带区系成分的木兰属和鹅掌楸属植物,在同属温带区系植物为主体的南京适应性良好,表现出较高的观赏价值。木兰属的植物可适当地进行引种,但分布靠南的常绿种类或分布海拔较高的种要慎重。木莲属、含笑属、拟单性木兰属、观光木属等属于热带区系成分,且多分布在中亚热带以南地区,尤以西南为多,华东是其分布的北源,在南京引种成活且有观赏价值的种类,多是分布区广泛,分布区边缘靠北的种,其有潜在的适应低温的遗传因子。

##### 参考文献

- [1] 李晓储,黄利斌,施士争,等.深山含笑和乐昌含笑的引种栽培技术[J].江苏林业科技,2001,28(3):37-38,41.
- [2] 朱云华,徐有新.几种木兰科常绿树种在南京郊区引种育苗试验[J].金陵科技学院学报,2006(2):86-89.
- [3] 贺善安,顾姻,於虹.论植物园的活植物收集[J].植物资源与环境学报,2005,14(1):49-53.
- [4] 黄仕训,骆文华,唐文秀,等.广西稀有濒危植物迁地保护评价[J].广西植物,2006,26(4):429-433.
- [5] 王名金.树木引种驯化概论[M].南京:江苏科学技术出版社,1990.
- [6] BRADFORD M A. Rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Anal Biochem,1976,72(1):248-254.
- [7] 王爱国,罗广华.植物的超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系[J].植物生理学通讯,1990(6):55-57.
- [8] MAEHLI A C. Plant peroxidase[J]. Meth Enzym,1955,2:801-813.
- [9] 晁雷,周启星,陈苏,等.小麦对Pb胁迫的生理生化反应研究[J].生态科学,2007,26(1):6-9.
- [10] 王学,施国新,马广岳,等.外源亚精胺对苜蓿抗Hg<sup>2+</sup>胁迫能力的影

(上接第9862页)

- [1] 响[J].植物生理与分子生物学报,2004,30(1):69-74.
- [2] 杨暹,陈晓燕,刘志才.硼钼营养对青花菜花球产量及活性氧代谢的影响[J].园艺学报,2000,27(2):112-116.
- [3] 王学,施国新,徐勤松,等.外源亚精胺缓解苜蓿(Nymphoides peltatum)Cr<sup>6+</sup>毒害的生理研究[J].环境科学学报,2003,23(5):689-693.
- [4] XUE W, GUOXIN S, QINSONG X, et al. Exogenous polyamines enhance copper tolerance of *Nymphoides peltatum* [J]. Journal of Plant Physiology, 2007, 164:1062-1070.