

铅(Pb)胁迫对黄菖蒲叶片生理生化指标的影响

黄苏珍 (江西财经大学资源与环境管理学院, 江西南昌 330032)

摘要 [目的] 研究铅(Pb)胁迫对黄菖蒲叶片生理生化指标的影响。[方法] 以黄菖蒲(*Iris pseudacorus* L.)为材料, 采用沙培方法, 对不同Pb浓度(0.2、4、6、8、10 mmol/L)和处理时间(7、14、21、28 d)胁迫下植物的叶片叶绿素、丙二醛(MDA)和脯氨酸(Pro)含量以及超氧化物歧化酶(SOD)活性的变化进行了研究。[结果] 结果表明: 在Pb胁迫下, 黄菖蒲植物叶绿素含量随Pb处理浓度的增加而降低, 而随着时间的延长相同Pb处理下叶绿素的含量先降后升。在6 mmol/L以上浓度Pb胁迫下, 黄菖蒲叶片的MDA水平明显高于对照; SOD活性和脯氨酸含量在Pb胁迫下均有不同程度增加。脯氨酸在Pb胁迫下出现相对更大幅度的上升, 可能是使黄菖蒲提高诱导胁迫抗性的主要调节物质之一。[结论] 初步揭示了不同浓度Pb胁迫对黄菖蒲生理生化代谢的影响, 为进一步探讨Pb胁迫下黄菖蒲生理生化指标与Pb耐性能力的相关关系奠定了基础。

关键词 黄菖蒲; 铅(Pb)胁迫; 生理生化指标

中图分类号 S311 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)25-10760-03

Effects of Lead (Pb) Stress on the Physiological and Biochemical Indices of *Iris pseudacorus* L.

HUANG Su-zhen (College of Resource & Environment Management, Jiangxi University of Finance & Economy, Nanchang, Jiangxi 330032)

Abstract [Objective] The research aimed to study the effects of Pb on the physiological and biochemical indices of *Iris pseudacorus* L. [Method] Taking *I. pseudacorus* L. as material, the changes of the contents of chlorophylls, MDA, proline and the activity of SOD of *I. pseudacorus* L. leaves were studied with different Pb concentration and different treatment time by sand culture. [Result] The results showed that the contents of chlorophylls in the leaves of *I. pseudacorus* L. decreased as Pb concentrations were raised, and the contents of chlorophylls dropped and then slowly raised at same Pb treatment as treatment period longer. The contents of MDA in the leaves of *I. pseudacorus* L. treated with above 6 mmol/L Pb were significantly different with those of control. The contents of proline and the activities of SOD in the leaves of *I. pseudacorus* L. increased as the Pb concentrations were raised. The contents of proline were increased much higher in the leaves of *I. pseudacorus* L. under Pb treatments, which showed that proline might be one of the most important materials for the tolerance of *I. pseudacorus* L.. [Conclusion] The study preliminarily revealed the effects of different Pb stress on the physiological and biochemical indices of *Iris pseudacorus* L., providing the basis for further studying the correlativity between the physiological and biochemical indices of *Iris pseudacorus* L. with Pb stress and its endurance to Pb.

Key words *Iris pseudacorus* L.; Lead (Pb) stress; Physiological and Biochemical Indices

干旱、水涝、盐以及空气、水、土壤的有毒物质和重金属污染等对植物生长的胁迫越来越严重, 特别是日益严重的土壤重金属污染已经严重影响到农作物生长以及农业生产和发展。土壤有害重金属的积累不仅导致土壤土质退化、农作物的产量和品质降低, 而且可通过直接接触、食物链等危及人类的生命和健康^[1-2]。因此, 土壤的重金属特别是有毒重金属污染防治已经成为国际环境领域研究的热点, 同时又因重金属性质的特殊性而成为该领域研究的难点。

铅(Pb)是重金属环境污染物中影响最严重的重金属元素之一^[2-3], 又是植物非必需元素。Pb进入土壤后, 会产生明显的生物效应。Pb在植物组织中的大量积累会导致体内活性氧代谢失调, 活性氧水平上升, 从而引起细胞膜脂过氧化, 并最终影响植物的生长以及农作物的产量和品质^[3-4]。而Pb对人体的危害包括了造血功能、免疫功能及内分泌系统、消化系统、神经等多个系统^[5]。因此, 开展植物对Pb的生理抗(耐)性机理以及筛选兼抗性强、观赏性良好的重金属土壤污染修复植物等的研究有重要意义。为此, 笔者以具有一定Pb积累能力的鸢尾属植物黄菖蒲(*Iris pseudacorus* L.)^[6]为试材, 采用溶液培养方法, 对Pb胁迫下植物叶片叶绿素含量、丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性以及游离脯氨酸(Pro)含量进行分析, 初步揭示不同浓度Pb胁迫对黄菖蒲植物生理代谢的影响, 旨在探讨Pb胁迫下鸢尾植物部分的生理生化指标与Pb耐性能力的相关关系。

1 材料与方法

1.1 材料 供试材料为黄菖蒲(*Iris pseudacorus* L.)。植物材

基金项目 国家自然科学基金项目(30771520)。

作者简介 黄苏珍(1959-), 江苏启东人, 博士, 教授, 从事观赏植物资源抗性评价与利用方面的研究。

收稿日期 2008-06-17

料栽培于江苏省中国科学院植物研究所鸢尾种质圃, 种子分别为无性繁殖群体自然结实的当年种子。

1.2 方法 试验在江苏省中国科学院植物研究所培养温室进行。挑选籽实饱满的黄菖蒲种子, 用0.5% NaClO消毒20 min, 自来水冲洗数次后浸种催芽。待种子萌发后选择萌发一致的种子播于干净的石英砂中培养, 4周后选择生长一致的幼苗植株置于8 cm×10 cm的500 ml培养瓶进行溶液培养。培养瓶外以黑色塑料包裹, 用1 cm厚的打孔白色泡沫板盖在容器上, 幼苗根茎与泡沫板孔之间用海绵固定, 每2 d换等量1/2 Hoagland营养液1次, 每瓶栽种苗6株。预培养1周后, Pb以PbNO₃形式加入, 浓度为: 0(CK)、2、4、6、8、10 mmol/L, 共6个处理, 每处理3次重复。每4 d补充1次等量营养液, 分别于Pb处理后7、14、21、28 d取样, 用自来水和蒸馏水冲洗干净, 吸干水分, 测定生理生化指标。

1.3 测定项目与方法 叶绿素含量、Pro含量的测定选用丙酮乙醇混合提取法和茚三酮法^[7]; MDA含量、SOD活性的测定采用硫代巴比妥酸法和NBT光化还原法^[8]。数据采用Excel和SAS软件处理。

2 结果与分析

2.1 Pb胁迫对黄菖蒲叶片叶绿素含量的影响 植物在逆境胁迫或衰老过程中, 叶绿素含量下降^[9]。叶绿素为植物光合作用的主要色素, 其含量高低可反映光合作用能力的强弱。植物叶片叶绿素含量低, 光合作用弱, 对植物生长必然不利。由表1可知, 相同胁迫时间下, 与对照相比黄菖蒲的叶绿素a、b含量基本上均随着Pb胁迫浓度的增加呈递减趋势; 而相同Pb胁迫浓度不同胁迫时间下, 黄菖蒲的叶绿素a、b含量的变化不规律。

2.2 Pb胁迫对黄菖蒲植物叶片MDA含量的影响 MDA

是植物体内膜脂过氧化的产物,其含量的高低反映了细胞膜脂过氧化程度的大小,含量越高表明细胞膜脂过氧化程度越高,细胞膜结构完整性越差。由图1可知,当营养液中添加Pb后,黄菖蒲叶片膜脂过氧化产物MDA含量均随着Pb处理浓度的增加而增加。在Pb胁迫的4周内,除2 mmol/L胁迫浓度外,4 mmol/L以上Pb胁迫浓度均使黄菖蒲叶片MDA含

量明显增加。这表明4 mmol/L以上Pb胁迫浓度引起了不同程度的细胞膜伤害,其活性氧积累导致黄菖蒲叶片不同程度地脂质过氧化,且Pb胁迫程度越高,脂质过氧化程度越重。在10 mmol/L Pb浓度胁迫下MDA含量的增幅达到了221.9%,约为对照的3.2倍。

表1 Pb胁迫对黄菖蒲叶片叶绿素含量的影响

Table 1 Effects of Pb stress on the content of chlorophyll in the leaves of *Iris pseudacorus*

Pb 浓度 Pb concentration	叶绿素a Chlorophyll a				叶绿素b Chlorophyll b			
	处理后7 d After treating 7 d	处理后14 d After treating 14 d	处理后21 d After treating 21 d	处理后28 d After treating 28 d	处理后7 d After treating 7 d	处理后14 d After treating 14 d	处理后21 d After treating 21 d	处理后28 d After treating 28 d
	0	2.02 a	2.02 a	2.06 a	2.04 a	0.63 a	0.62 a	0.64 a
2	2.01 a	1.98 a	1.99 a	2.01 a	0.61 a	0.63 a	0.62 a	0.61 ab
4	1.92 ab	1.83 a	1.91 ab	1.95 a	0.60 ab	0.62 a	0.63 a	0.62 ab
6	1.84 b	1.82 a	1.65 bc	1.90 ab	0.58 ab	0.60 a	0.57 ab	0.58 ab
8	1.77 b	1.53 b	1.61 c	1.74 bc	0.52 b	0.56 a	0.51 bc	0.53 bc
10	1.54 c	1.43 b	1.53 c	1.58 c	0.43 c	0.36 b	0.44 c	0.45 c

注:数据为3次重复的平均值;同列不同小写字母表示经邓肯氏新复级差测验在0.05水平上有差异。

Note: The data are the average values for 3 repetitions. Different small letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level by Duncan's new multiple range test.

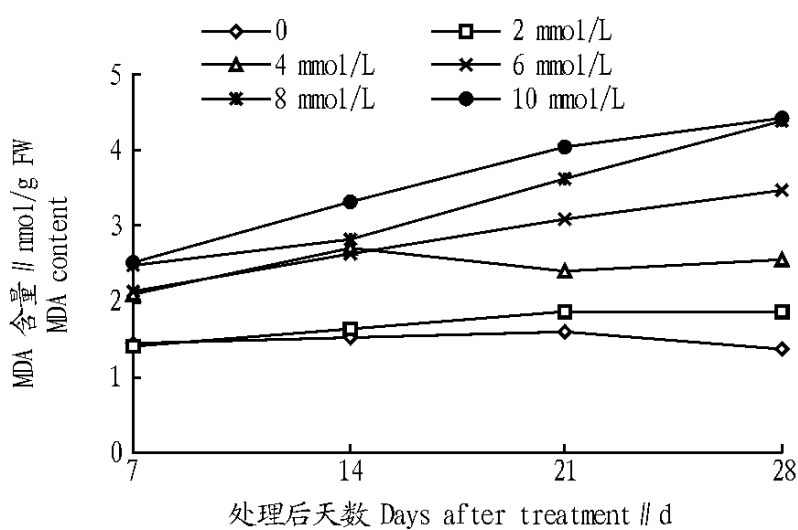


图1 不同Pb胁迫浓度和胁迫时间对黄菖蒲叶片MDA含量的影响

Fig. 1 Effects of different concentration and time of Pb stress on MDA content in the leaves of *Iris pseudacorus*

2.3 Pb胁迫对黄菖蒲植物叶片SOD酶活性的影响 正常情况下,植株体内抗氧化系统的共同作用使细胞内的活性氧保持在较低水平,但植物在受到各种逆境胁迫时,体内活性氧水平增加,酶系统对胁迫造成的活性氧积累作出积极反应。SOD是植物体内清除活性氧自由基最关键的保护酶之一,它能有效清除植物体内过多的氧自由基并降低其对膜的过氧化程度。在一定程度的逆境诱导范围内,SOD抗氧化酶活性的提高意味着抗氧化保护能力的增强。由图2可知,Pb胁迫下黄菖蒲SOD活性均有小幅上升的变化趋势。其特点是各Pb处理浓度下SOD的活性升高均表现为:胁迫处理的第7、14天较对照稍高,并表现出Pb胁迫浓度越高增幅相对越高的特点,而延长胁迫时间至第21、28天,其各胁迫浓度下黄菖蒲幼苗SOD活性没有出现明显变化。这一结果表明,黄菖蒲SOD抗氧化酶对相对高浓度Pb胁迫的早期有一定的诱导抗性作用,而低浓度Pb以及延长高浓度Pb对黄菖蒲胁迫时间并不能明显提高植物SOD抗氧化酶活性。

2.4 Pb胁迫对黄菖蒲植物叶片Pro含量的影响 一般认为,Pro是植物适应逆境重要的渗透调节物质,可作为植物抗

性评价的指标之一^[10]。从图3可以看出,不同浓度Pb处理

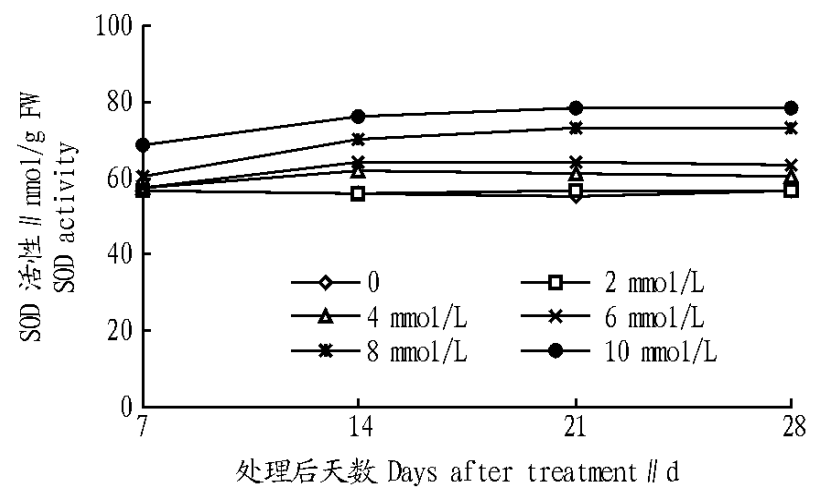


图2 不同Pb胁迫浓度和时间对黄菖蒲叶片SOD活性的影响

Fig. 2 Effects of different concentration and time of Pb stress on SOD activity in the leaves of *I. pseudacorus*

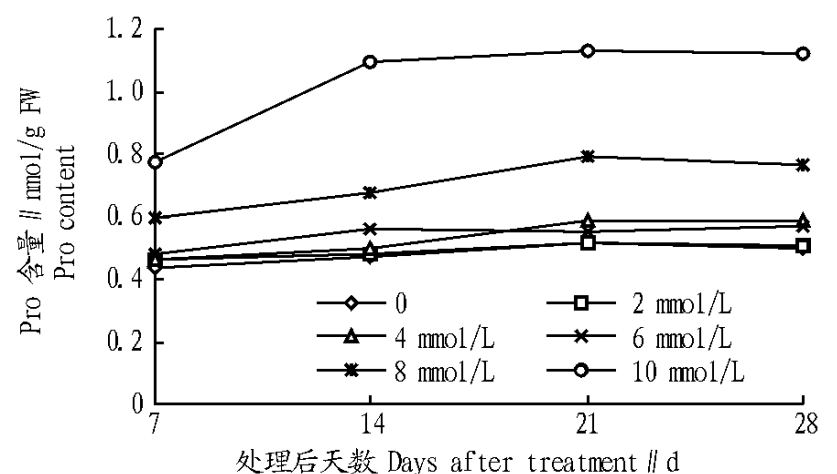


图3 不同Pb胁迫浓度和时间对黄菖蒲叶片Pro含量的影响

Fig. 3 Effects of different concentration and time of Pb stress on Pro content in the leaves of *I. pseudacorus*

下,黄菖蒲体内Pro含量均随着Pb胁迫浓度的增加呈递进升高的变化趋势,反映了黄菖蒲植物自身对重金属Pb胁迫有一定的适应及抗性调节能力。在Pb胁迫后7~21 d,6 mmol/L以下相对低Pb浓度处理黄菖蒲叶片中的Pro含量与对照相比差异并不明显;8 mmol/L以上Pb处理下黄菖蒲体内Pro含量显著增加,在10 mmol/L Pb浓度处理下胁迫21 d,

其 Pro 含量与对照相比最高增幅为 55.1%, 而在此浓度下, 黄菖蒲生长已受到显著抑制(表 1)。由图 3 可知, 0~6 mmol/L Pb 胁迫下, 黄菖蒲在胁迫 28 d 内 Pro 含量变化差异不明显; 高于 8 mmol/L Pb 处理浓度, 黄菖蒲体内 Pro 含量随着 Pb 胁迫时间的延长呈先增后降的趋势。这表明相对高浓度 Pb 胁迫可明显诱导黄菖蒲体内 Pro 含量的增加, 提高植物的相对抗性, 而相对高浓度和长时间的 Pb 胁迫可导致植物体内调节物质代谢的失调, 并最终影响植物的生长。

3 结论与讨论

已有研究表明, Pb 胁迫导致植物叶绿素含量减少^[9,11-13]。该研究中 10 mmol/L 高浓度 Pb 胁迫下, 黄菖蒲叶片叶绿素 a、b 的含量在 Pb 胁迫后不同生长时间均显著下降, 说明该浓度 Pb 胁迫已对植物的正常生长造成严重伤害。Pb 胁迫致使叶绿素含量下降的原因很多, 可能是由于高浓度 Pb 破坏了叶绿素合成过程并影响了叶绿素酶的活性^[14-16]; 也可能是 Pb 胁迫下植物叶绿素分子中的 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 被包括 Pb 在内的其他重金属元素所取代^[17-18]。Burzyski 等研究发现, Pb、Cd、Cu 影响黄瓜叶片的光系统的量子效率^[19]。此外, 胁迫条件下进入叶片中的重金属引起的超量活性氧自由基将叶绿素作为靶分子, 致使叶绿素结构破坏也会导致叶绿素含量的减少^[20-21]。因此, 黄菖蒲在高浓度 Pb 胁迫下叶绿素含量下降的原因仍有待于进一步研究。

Pb 胁迫不仅降低了植物叶绿素含量、破坏叶绿体结构进而影响植物的光合作用, 同时 Pb 胁迫诱发生物代谢过程产生的自由基对植物细胞膜还具有伤害作用, 导致膜脂过氧化产物 MDA 含量明显上升。MDA 是细胞膜脂过氧化的重要产物, 可与蛋白质、核酸、氨基酸等活性物质交联, 形成不溶性化合物(脂褐素)沉积, 干扰细胞的正常生命活动^[20]。生物体自身的保护酶系统能清除自由基, 减轻危害^[22]。该研究结果表明, 黄菖蒲在 2 mmol/L 相对低浓度 Pb 处理下 MDA 含量与对照无显著差异, 表明该浓度下黄菖蒲叶片的细胞膜没有受到明显的伤害, 其完整性和功能性尚好。另外, 在低于 6 mmol/L Pb 胁迫浓度下, 黄菖蒲叶片中的叶绿素 a、b 含量均未出现显著下降, 表明黄菖蒲有一定的抗 Pb 胁迫的能力。但随着 Pb 胁迫浓度的增大, 特别是在 10 mmol/L 相对高浓度 Pb 胁迫下, 虽然黄菖蒲自身通过胁迫诱导进一步提高了叶片内 SOD 的抗氧化活性和增加叶片内 Pro 的含量, 但仍然出现了 MDA 含量的显著升高和叶绿素 a、b 含量显著下降的现象。

这表明高浓度 Pb 胁迫的伤害已经超过了黄菖蒲抵御胁迫的诱导防护能力, 而 Pro 作为细胞膜的渗透调节物质, 在黄菖蒲植物 Pb 胁迫下出现相对更大幅度的上升, 可能是使黄菖蒲提高诱导胁迫抗性的主要调节物质之一。

参考文献

- [1] ODJEGBA V J, FASID I O. Accumulation of trace elements by *Histia striatoides*: Implications for phytoremediation[J]. *Ecotoxicology*, 2004, 13: 637-646.
- [2] 秦天才, 吴玉树, 王焕校, 等. 镉、铅及其相互作用对小白菜根系生理生态效应的研究[J]. *生态学报*, 1998, 18(3): 320-325.
- [3] HANY L, YUAN H Y, HUANG S Z, et al. Cadmium tolerance and accumulation by two species of *Iris*[J]. *Ecotoxicology*, 2007, 16: 557-563.
- [4] CHO U H, PARK J O. Mercury-induced oxidative stress in tomato seedlings[J]. *Hort Sci*, 2000, 159: 1-9.
- [5] MCLAUGHIN M J, PARKER D R, CLARKE J M. Metals and micronutrients: food safety issues[J]. *Field Crops Research*, 1999, 60: 143-163.
- [6] 韩玉林. 鸢尾属(*Iris* L.) 植物铅积累、耐性及污染土壤修复潜力研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2007.
- [7] 张宪政. 作物生理研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1992.
- [8] 李合生. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [9] 严重玲, 付舜珍, 方重华, 等. Hg, Cd 及其共同作用对烟草叶绿素含量及抗氧化酶系统的影响[J]. *植物生态学报*, 1997, 21(5): 468-473.
- [10] QURESHI M I, ABDIN M Z, QADIR S, et al. Lead-induced oxidative stress and metabolic alterations in *Cassia angustifolia* Vahl[J]. *Bd Parturum*, 2007, 51: 121-128.
- [11] ARRIAGADA C A, HERRERA M A, OCAMPO J A. Contribution of arbuscular mycorrhizal and saprobes fungi to the tolerance of *Eucalyptus globulus* to Pb[J]. *Water Air Soil Poll*, 2005, 166(1/4): 31-47.
- [12] KASTORI R, PLESNAR M, SAKAC D, et al. Effect of excess lead on sunflower growth and photosynthesis[J]. *J Hort Ntr*, 1998, 21(1): 75-85.
- [13] KOSOBROUKHOV A, KNYAZEVA I, MLDRIK V. Plantago major plants responses to increase content of lead in soil: Growth and photosynthesis[J]. *Plant Growth Regulation*, 2004, 42(2): 145-151.
- [14] PRASAD D D K, PRASAD A R K. Effect of lead and mercury on chlorophyll synthesis in mung bean seedlings[J]. *Phytochemistry*, 1987, 26: 881-883.
- [15] STOBART A K, CRIFTHA W T, AMEEN BUKHARI I. The effect of Cd^{2+} on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley[J]. *Physiol Plant*, 1985, 63: 293-298.
- [16] BAZZAZ F A. Differing sensitivity of corn and soybean photosynthesis and transpiration to lead contamination[J]. *J Environ Qual*, 1974, 3(2): 156-158.
- [17] 孙赛初. 水生维管束植物受 Cd 污染后的生理生化变化及受害机制初探[J]. *植物生理学报*, 1985(11): 113-121.
- [18] KUPPER H, KLUPPER F, SHILLER M. Environmental relevance of heavy metal substituted chlorophylls using the example of water plants[J]. *J Exp Bot*, 1996, 47: 259-266.
- [19] BURZYSKI M, KOBUS G. Changes of photosynthetic parameters in cucumber leaves under Cu, Cd, and Pb stress[J]. *Photosynthetica*, 2004, 42(4): 505-510.
- [20] 徐勤松, 施国新, 杜开和. 镉胁迫对水车前叶片抗氧化酶系统和亚显微结构的影响[J]. *农村生态环境*, 2001, 17(2): 30-34.
- [21] 何翠屏, 王慧忠. 重金属镉、铅对草坪植物根系代谢和叶绿素水平的影响[J]. *湖北农业科学*, 2003(5): 60-63.
- [22] FRIDOMCHI. The superoxide radical is an agent of oxygen toxicity, superoxide dismutases provide an important defense[J]. *Sience*, 1978, 201: 875-880.

(上接第 10759 页)

- [7] MAURIZIO TEOBALDELLI, MAURIZIO MENCUCINI, HEIRO RUSSI. Water table salinity, rainfall and water use by untrell pine trees (*Pinus pinea* L.)[J]. *Hort Ecology*, 2004, 171: 23-33.
- [8] CHRISTIAN P. IARDINAS G, HOLLY BARNARD. The effect of fertilization on sap flux and canopy conductance in a *Eucalyptus saligna* experimental forest[J]. *Global Change Biology*, 2004, 10: 427-436.
- [9] BRENT E EWERS, RAM OREN, NATHAN PHILLIPS, et al. Mean canopy

stonatal conductance responses to water and nutrient availabilities in *Heca alies* and *Pinus taeda*[J]. *Tree physiology*, 2001, 21: 841-850.

- [10] 周晓峰, 康绍忠. 叶斑病对白桦树干液流的影响[J]. *西北植物学报*, 2004, 24(5): 837-842.
- [11] GEDNEY N, COX P M, BETTS R A, et al. Detection of a direct carbon dioxide effect in continental river runoff records[J]. *Nature*, 2006, 439: 835-838.
- [12] WANG K Y, SEPO KELLOMAKI, ZHANG T S, et al. Annual and seasonal variation of sap flow and conductance of pine trees grown in elevated carbon dioxide and temperature[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005, 56(409): 155-165.