

## Pb 单一及 Pb-Cu 复合胁迫对香蒲部分生理指标的影响

徐小颖<sup>①</sup>, 徐义昆, 池源, 金银根

(扬州大学生物科学与技术学院, 江苏扬州 225009)

**Effects of Pb single and Pb-Cu complex stresses on some physiological indexes of *Typha orientalis* Presl** XU Xiaoying<sup>①</sup>, XU Yikun, CHI Yuan, JIN Yin'gen (College of Bioscience and Biotechnology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2015, 24(4): 105-107

**Abstract:** Changes of photosynthetic pigment (including chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and carotenoid) content in leaf, MDA and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> contents, O<sub>2</sub><sup>-</sup> production rate, SOD, CAT and POD activities in root and leaf of *Typha orientalis* Presl were analyzed after stressed by 50 μmol · L<sup>-1</sup> Pb and 50 μmol · L<sup>-1</sup> Pb-50 μmol · L<sup>-1</sup> Cu for 15 d. The results show that under Pb single and Pb-Cu complex stress conditions, chlorophyll *a* content in leaf of *T. orientalis* is significantly lower than that of the control, chlorophyll *b* and carotenoid contents are not significantly different from those of the control; O<sub>2</sub><sup>-</sup> production rate and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content in root and leaf are generally not significantly different from those of the control, but MDA content is higher or lower than that of the control and the difference is significant. Compared with the control, under Pb single and Pb-Cu complex stress conditions, there are different change rules in SOD, CAT and POD activities in root and leaf. The comprehensive analysis result indicates that *T. orientalis* has a certain tolerance to 50 μmol · L<sup>-1</sup> Pb single stress and 50 μmol · L<sup>-1</sup> Pb-50 μmol · L<sup>-1</sup> Cu complex stress, but its protection mechanism replying to Pb single and Pb-Cu complex stresses is probably different.

**关键词:** 香蒲; Pb 单一胁迫; Pb-Cu 复合胁迫; 光合色素含量; 过氧化伤害; 保护机制

**Key words:** *Typha orientalis* Presl; Pb single stress; Pb-Cu complex stress; photosynthetic pigment content; peroxide damage; protection mechanism

中图分类号: Q945.78; S682.32; X53 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2015)04-0105-03

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2015.04.14

近年来,许多研究者<sup>[1-4]</sup>针对重金属胁迫条件下植物生理生化指标变化和体内矿质元素积累规律进行了相关研究,以期筛选出重金属超富集植物,用于重金属污染环境的修复。香蒲属(*Typha* Linn.)植物宽叶香蒲(*T. latifolia* Linn.)和狭叶香蒲(*T. angustifolia* Linn.)均对Pb具有较强的耐性及吸附能力<sup>[5-6]</sup>,可用于Pb污染水体的净化和修复;同属植物香蒲(*T. orientalis* Presl)为多年生挺水植物,繁殖能力及适应性强,其叶片挺拔、花序粗壮,常作为观赏花卉使用,亦用于污水净化。相关研究表明:东方香蒲(*Typha orientalis* Presl)对Pb具有较强的耐受能力和富集作用,其根部是主要的Pb积累器官<sup>[7-8]</sup>。通常,Pb和Cu在自然环境中普遍共存,容易形成Pb-Cu复合污染或与其他重金属元素形成复合污染环境,然而关于香蒲对Pb-Cu复合胁迫的耐性尚不明确,一定程度上限制其在重金属污染环境修复中的应用。因此,亟待明确香蒲对Pb-Cu复合胁迫的耐性。

鉴于此,作者采用营养液培养法对Pb单一及Pb-Cu复合胁迫条件下香蒲叶片的光合色素(包括叶绿素*a*、叶绿素*b*和

类胡萝卜素)含量以及叶片和根中MDA和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量、O<sub>2</sub><sup>-</sup>产生速率及SOD、POD和CAT活性进行分析,以期明确香蒲对Pb单一及Pb-Cu复合胁迫的生理响应差异,探讨Cu对香蒲Pb耐受性的影响。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

供试香蒲植株采自江苏扬州的无污染水域,经驯化培养后将具有嫩芽的地下茎置于温度24℃、光照度17 600 lx、光照时间12 h · d<sup>-1</sup>的光照培养箱中培养,待新生植株高达40 cm时置于无底泥玻璃缸中,用1/10 Hoagland营养液预培养5 d,选取生长状况一致的植株进行胁迫实验。

#### 1.2 方法

1.2.1 胁迫处理 采用单因素实验设计,设置Pb单一胁迫处理液中的Pb终浓度为50 μmol · L<sup>-1</sup>、Pb-Cu复合胁迫处理液中的Pb和Cu终浓度均为50 μmol · L<sup>-1</sup>。于2014年7月16

收稿日期: 2015-03-26

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金资助项目(31300324); 江苏省高校自然科学研究面上项目(13KJB180028)

作者简介: 徐小颖(1985—),女,山东淄博人,博士,讲师,主要从事植物生理与分子生物学研究。

<sup>①</sup>通信作者 E-mail: xuxiaoying@yzu.edu.cn

日 8:00 分别在 1/10 Hoagland 营养液中一次性加入一定体积的 50 mmol · L<sup>-1</sup> Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 和 50 mmol · L<sup>-1</sup> CuSO<sub>4</sub> 溶液配制 Pb 单一胁迫处理液和 Pb-Cu 复合胁迫处理液, 对照组为不添加 Pb 和 Cu 的 1/10 Hoagland 营养液。每缸种植 5 株, 每处理组各 3 缸(视为 3 次重复); 按照上述条件处理 15 d, 期间每 2 天更换 1 次培养液。

1.2.2 指标测定 处理结束时, 选取各处理组植株相同部位的叶片和根, 自来水洗净后用于各项生理生化指标的测定。参照李合生<sup>[9]</sup>的方法测定光合色素含量; 采用硫代巴比妥酸比色法<sup>[10]</sup>测定 MDA 含量; 采用氯化羟胺法<sup>[11]</sup>测定 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率; 使用 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 试剂盒(购自南京建成生物工程研究所)测定 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量; 采用 NBT 光化还原法<sup>[12]</sup>测定 SOD 活性; 采用钼酸盐法<sup>[13]</sup>测定 CAT 活性; 采用愈创木酚法<sup>[14]</sup>测定 POD 活性。每个指标重复测定 3 次。

### 1.3 数据统计分析

采用 STATISTICA 6.0 统计分析软件对原始数据进行处理, 并进行差异显著性分析。

## 2 结果和分析

### 2.1 对香蒲叶片光合色素含量的影响

实验结果(表 1)显示: 在 Pb 单一及 Pb-Cu 复合胁迫条件下香蒲叶片中的叶绿素 b 和类胡萝卜素含量均略低于对照但无显著差异, 叶绿素 a 含量则显著低于对照; 且在 Pb 单一胁迫条件下 3 类光合色素的含量均最低, 但与 Pb-Cu 复合胁迫处理组间无显著差异。

表 1 Pb 单一及 Pb-Cu 复合胁迫对香蒲叶片光合色素含量的影响 ( $\bar{X} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

Table 1 Effects of Pb single and Pb-Cu complex stresses on photosynthetic pigment content in leaf of *Typha orientalis* Presl ( $\bar{X} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

浓度/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$		Conc.	色素含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$		
Pb	Cu		Chla	Chlb	Car
0	0		0.49±0.06a	0.25±0.08a	0.11±0.03a
50	0		0.18±0.06b	0.12±0.06a	0.05±0.03a
50	50		0.22±0.04b	0.14±0.01a	0.11±0.02a

<sup>1)</sup> Chla: 叶绿素 a Chlorophyll a; Chlb: 叶绿素 b Chlorophyll b; Car: 类胡萝卜素 Carotenoid. 同列中不同的小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different small letters in the same column indicate the significant difference ( $P < 0.05$ ).

### 2.2 对香蒲根和叶片中与过氧化伤害相关的生理生化指标的影响

经 Pb 单一及 Pb-Cu 复合胁迫 15 d 后香蒲根和叶片中 MDA 含量、O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量及 SOD、POD 和 CAT 活性见表 2。

由表 2 可见: 3 个处理组香蒲根和叶片的 MDA 含量均有显著差异, O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率无显著差异。其中, Pb-Cu 复合胁迫处理组根的 MDA 含量和 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率均最低, 叶片的 MDA 含量和 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率均最高; Pb 单一胁迫处理组根的 MDA 含量和 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率均最高, 叶片的 MDA 含量和 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率均最低。Pb 单一及 Pb-Cu 复合胁迫处理组香蒲根和叶片的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量均低于对照, 其中, 仅 Pb-Cu 复合胁迫处理组香蒲根的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量与对照差异显著。

表 2 Pb 单一及 Pb-Cu 复合胁迫对香蒲根和叶片中与过氧化伤害相关的生理生化指标的影响 ( $\bar{X} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

Table 2 Effects of Pb single and Pb-Cu complex stresses on physiological and biochemical indexes related to peroxidation injury of root and leaf of *Typha orientalis* Presl ( $\bar{X} \pm SD$ )<sup>1)</sup>

浓度/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$		MDA 含量/ $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$		O <sub>2</sub> <sup>-</sup> 产生速率/ $\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$		H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 含量/ $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$	
Concentration		MDA content		O <sub>2</sub> <sup>-</sup> production rate		H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> content	
Pb	Cu	根 Root	叶 Leaf	根 Root	叶 Leaf	根 Root	叶 Leaf
0	0	9.72±0.07b	5.51±0.05b	1.64±0.60a	1.73±0.33a	1.21±0.13a	1.13±0.13a
50	0	13.41±0.15a	5.05±0.06c	1.78±0.14a	1.48±0.08a	1.00±0.08a	1.11±0.09a
50	50	4.15±0.08c	8.98±0.11a	1.55±0.13a	1.99±0.12a	0.63±0.07b	1.08±0.12a

  

浓度/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$		SOD 活性/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$		CAT 活性/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$		POD 活性/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$	
Concentration		SOD activity		CAT activity		POD activity	
Pb	Cu	根 Root	叶 Leaf	根 Root	叶 Leaf	根 Root	叶 Leaf
0	0	23.44±9.61c	185.45±2.58a	148.60±28.17b	615.08±11.45b	7386.67±104.10a	1179.26±134.90b
50	0	235.64±3.73a	136.67±1.68b	208.29±6.96a	708.20±3.80a	7866.67±344.13a	2776.89±133.90a
50	50	128.13±18.83b	188.07±3.70a	164.19±5.82b	383.83±41.90c	5469.63±564.22b	2278.52±308.48a

<sup>1)</sup> 同列中不同的小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different small letters in the same column indicate the significant difference ( $P < 0.05$ ).

由表 2 还可见: 在 3 个处理组中, Pb 单一胁迫处理组根的 SOD、CAT 和 POD 活性以及叶片的 CAT 和 POD 活性均最高, 而其叶片的 SOD 活性最低, 且总体上与对照有显著差异。Pb-Cu 复合胁迫处理组根的 SOD 活性显著高于对照但显著低于

Pb 单一胁迫处理组, 而叶片的 SOD 活性显著高于 Pb 单一胁迫处理组但与对照无显著差异; 根的 CAT 活性显著低于 Pb 单一胁迫处理组但与对照无显著差异, 叶片的 CAT 活性显著低于 Pb 单一胁迫处理组和对照; 根的 POD 活性显著低于对照和

Pb单一胁迫处理组,叶片的POD活性显著高于对照但与Pb单一胁迫处理组无显著差异。

### 3 讨论和结论

植物体内叶绿素含量的变化可在一定程度上反映重金属胁迫对机体的伤害程度<sup>[15]</sup>。经Pb单一胁迫后香蒲叶片的叶绿素含量均低于对照,可能由于Pb<sup>2+</sup>能够降低叶绿素合成必需的原叶绿素还原酶活性<sup>[6]</sup>,并可取代叶绿素分子中的Mg<sup>2+</sup>,进而直接破坏叶绿素结构<sup>[17]</sup>。而经Pb-Cu复合胁迫后香蒲叶片的叶绿素含量略高于Pb单一胁迫处理组,说明Cu能够在一定程度上缓解Pb胁迫对叶绿素的破坏作用。

在重金属胁迫条件下植物体内的MDA含量会不同程度增加<sup>[6]</sup>,但经Pb-Cu复合胁迫后香蒲根的MDA含量却显著低于对照,可能是由于其根部细胞膜上的多元不饱和脂肪酸易发生过氧化损伤<sup>[18]</sup>,从而导致根中MDA含量显著降低。

经Pb单一胁迫后香蒲根的SOD活性、根和叶中的CAT和POD活性均显著高于对照,说明机体启动了抗氧化酶保护机制。而经Pb-Cu复合胁迫后香蒲根的SOD活性、根和叶片的CAT和POD活性均低于单一胁迫处理组,但其根和叶片中的O<sub>2</sub><sup>-</sup>产生速率与后者无显著差异,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量则显著低于后者,说明Pb-Cu复合胁迫不会加重香蒲受到的过氧化伤害,而且香蒲植株应对Pb单一及Pb-Cu复合胁迫的保护机制有一定差异。

综上所述,Pb单一及Pb-Cu复合胁迫下香蒲根和叶片的ROS水平(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量和O<sub>2</sub><sup>-</sup>产生速率)较对照无显著变化,而且50 μmol·L<sup>-1</sup> Pb-50 μmol·L<sup>-1</sup> Cu复合胁迫并未明显加重香蒲受到的毒害效应,说明香蒲对于50 μmol·L<sup>-1</sup> Pb胁迫和同浓度Pb-Cu复合胁迫均具有一定的耐受性。但香蒲对Pb单一和Pb-Cu复合胁迫的耐受机制差异及其对Pb和Cu的富集能力尚不明确,有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 徐勤松,施国新,王学,等. 镉、铜和锌胁迫下黑藻活性氧的产生及抗氧化酶活性的变化研究[J]. 水生生物学报, 2006, 30(1): 107-112.
- [2] 胡宗达,杨远祥,朱雪梅,等. Pb, Zn对超富集植物(小鳞苔草)抗氧化酶活性的影响[J]. 水土保持学报, 2007, 21(6): 86-91.
- [3] 计汪栋,施国新,张慧,等. 菹草对Hg<sup>2+</sup>胁迫的生理和结构应答反应[J]. 生态学报, 2007, 27(7): 2856-2863.
- [4] 计汪栋,施国新,徐勤松,等. 水鳖叶片矿质营养、保护酶活性及同工酶对Cu<sup>2+</sup>胁迫的响应[J]. 南京师范大学学报:自然科学版, 2008, 31(1): 93-99.
- [5] 叶志鸿,陈桂珠,蓝崇钰,等. 宽叶香蒲净化塘系统净化铅/锌矿废水效应的研究[J]. 应用生态学报, 1992, 3(2): 190-194.
- [6] 徐金波,徐迎春,赵慧,等. Pb胁迫条件下狭叶香蒲种子的萌发特性及其幼苗的生理响应[J]. 植物资源与环境学报, 2014, 23(3): 74-80.
- [7] 李永丽,李欣,李硕,等. 东方香蒲(*Typha orientalis* Presl)对铅的富集特征及其EDTA效应分析[J]. 生态环境, 2005, 14(4): 555-558.
- [8] 王凤永,郭朝晖,苗旭峰,等. 东方香蒲(*Typha orientalis* Presl)对重度污染土壤中As、Cd、Pb的耐性与累积特征[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(10): 1966-1971.
- [9] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [10] HEATH R L, PACKER L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1968, 125: 189-198.
- [11] 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.
- [12] STEWART R R, BEWLEY J D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes[J]. Plant Physiology, 1980, 65: 245-248.
- [13] KARSTEN U, FRANKLIN L A, LÜNING K, et al. Natural ultraviolet radiation and photosynthetically active radiation induce formation of mycosporine-like amino acids in the marine macroalga *Chondrus crispus* (Rhodophyta) [J]. Planta, 1998, 205: 257-262.
- [14] MAEHLI A C. Plant peroxidase [J]. Methods in Enzymology, 1955, 2: 801-813.
- [15] 李铮铮,伍钧,唐亚,等. 铅、锌及其交互作用对鱼腥草(*Houttuynia cordata*)叶绿素含量及抗氧化酶系统的影响[J]. 生态学报, 2007, 27(12): 5441-5446.
- [16] 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.
- [17] KÜPPER H, KÜPPER F, SPILLER M. Environmental relevance of heavy metal-substituted chlorophylls using the example of water plants [J]. Journal of Experimental Botany, 1996, 47: 259-266.
- [18] XU X Y, SHI G X, WANG J, et al. Copper-induced oxidative stress in *Alternanthera philoxeroides* callus [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2011, 106: 243-251.

(责任编辑: 佟金凤)