

Pb胁迫对双穗雀稗生长、抗氧化酶活性及Pb富集的影响

陈明君,傅杨武,陈书鸿,唐青梅,林 润,赵智慧
(重庆三峡学院 环境与化学工程学院,重庆 万州 404000)

摘要:以消落带适生植物双穗雀稗(*Paspalum distichum* L.)为试验材料,通过水培试验,研究了Pb胁迫对双穗雀稗生长、抗氧化酶活性及其对Pb富集的影响。结果表明,低浓度($\leq 400\text{ }\mu\text{mol/L}$)Pb胁迫对双穗雀稗生长有促进作用,根系耐性指数大于1,叶绿素含量明显增加,抗氧化保护酶系统超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性提高;当Pb浓度 $> 400\text{ }\mu\text{mol/L}$ 时,双穗雀稗生长受到抑制,叶尖发黄,根系耐性指数小于1,叶片叶绿素含量下降,SOD、POD、CAT活性均呈下降趋势。在 $200\text{ }\mu\text{mol/L}$ Pb胁迫下,随胁迫时间延长,叶片叶绿素含量及SOD、POD、CAT活性均先升高后降低,在12 d时达到最大。双穗雀稗主要通过地下部和地上部迁移富集Pb,迁移富集量与水体中Pb浓度表现为明显的线性正相关,转运系数小于1,不属于Pb超积累植物,但能明显降低水体中的Pb浓度,因而双穗雀稗既是消落带植被重建的优良物种,也能较好修复水体中的Pb污染。

关键词: Pb胁迫; 双穗雀稗; 生理特性; 抗氧化酶; Pb富集
中图分类号: S543; X173 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2015)07-0073-05

Effects of Pb Stress on Growth and Antioxidative Enzymes Activity of *Paspalum distichum* L. and its Pb Uptake

CHEN Mingjun, FU Yangwu, CHEN Shuhong, TANG Qingmei, LIN Run, ZHAO Zhihui
(College of Environmental and Chemistry Engineering, Chongqing Three Gorges University, Wanzhou 404000, China)

Abstract: The hydro-fluctuation belt plant *Paspalum distichum* L. was taken as material, the effects of Pb stress on the growth and antioxidative enzymes activity of *Paspalum distichum* and its Pb enrichment were investigated by hydroponic experiment. The results showed that the growth of *Paspalum distichum* could be improved under low concentration of Pb stress ($\leq 400\text{ }\mu\text{mol/L}$), the root tolerance index was greater than one, the chlorophyll content in leaves increased obviously, and the activity of SOD, POD and CAT increased. When the concentration of Pb in water was greater than $400\text{ }\mu\text{mol/L}$, the growth of *Paspalum distichum* was inhibited, the leaf tip becomed yellow, the root tolerance index was less than one, the chlorophyll content in leaves decreased obviously, and the activity of SOD, POD and CAT decreased. Under $200\text{ }\mu\text{mol/L}$ Pb stress, the chlorophyll content and the activity of SOD, POD and CAT increased first and then decreased with the increase of the stress time, which reached the peak after 12 days. The enrichment and transportation of Pb was found mainly in the root and culm of *Paspalum distichum*. The enrichment and transportation amount were positively related with the Pb concentration, and the transmission coefficients of Pb was smaller than one, indicating *Paspalum distichum* was not Pb-hyperaccumulator, but *Paspalum distichum* had the ability to repair heavy metal Pb pollutions, and it was the good plants for the river water

ecosystem restoration.

Key words: lead stress; *Paspalum distichum* L.; physiological characteristics; antioxidative enzyme; Pb enrichment

随着经济的快速发展,重金属污染已成为世界范围内一个严重的问题。日益频繁的采矿、冶炼、加工、废弃物处置及农药化肥的施用等加快了重金属在土壤、水体、大气、生物系统中的自然循环^[1-2]。重金属具有形态多变、容易在生物体内累积、无法被生物降解、隐蔽性强等特点,是三峡库区消落带水体污染物的重要组成部分,其中 Pb 污染问题尤为突出^[3-4]。Pb 对人体所有器官都能够造成损害,影响人的智力和骨骼发育,造成内分泌失调,导致贫血、高血压和心律失常,破坏肾功能等,直接威胁人居环境和人类健康^[5]。植物修复技术是 20 世纪 80 年代初期发展起来的环境污染治理技术^[6],寻找既能进行植被重建和恢复又能修复水体和土壤重金属污染的物种是一项十分有益的工作。

双穗雀稗(*Paspalum distichum*)是一种多年生禾本科雀稗属植物,夏绿冬枯,为典型的暖季型草^[7],广泛分布于我国亚热带地区。谭淑端等^[8]研究表明,双穗雀稗是三峡库区消落带植被恢复与重建的优良物种之一。Pb 是消落带水体中主要的重金属污染物,有关 Pb 胁迫对某些植物如紫穗槐及小麦幼苗抗氧化酶活性的影响的研究已有报道^[9-10],而 Pb 胁迫对库区适生植物双穗雀稗生长、抗氧化酶活性及 Pb 在植株中迁移的影响研究尚未见报道。为此,采用水培方法,研究不同浓度 Pb 胁迫对双穗雀稗生长、抗氧化酶活性及 Pb 富集的影响,为探讨 Pb 污染下双穗雀稗的应激反应机制以及库区消落带植被恢复与重建的同时尽可能降低水体 Pb 污染风险提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

双穗雀稗采自三峡库区非消落带,选取生物量、根长大致相近的植株,用自来水洗去大量泥沙后再用去离子水冲洗数次,至淘洗过的去离子水中检测不出 Pb 为止,备用。栽培基质河沙取自长江次级河流——苕溪河,洗去泥浆后再用去离子水淘洗 3~4 次,经消毒、烘干处理后过 2 mm 筛备用。

1.2 试验设计

先将双穗雀稗放入盛有 Hoagland 营养液的烧杯中培养 7 d,使其适应水培环境。然后在 Hoagland 营养液中添加外源重金属 Pb($\text{Pb}(\text{Ac})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$),使其浓度分别达到:0(对照)、100、200、400、500、1 000 $\mu\text{mol/L}$,同时加入终浓度为 550 $\mu\text{mol/L}$ 的 EDTA,

培植 18 d 后取样;同时以含有 200 $\mu\text{mol/L}$ Pb 的 Hoagland 营养液处理双穗雀稗,分别在处理 3、6、9、12、15、18 d 取样,以无 Pb 的 Hoagland 营养液处理作为空白对照,均设 3 个重复,然后用去离子水反复淘洗至淘洗液无 Pb 检出,待测。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 生长状况 观察新生根、新生芽数目及根、叶的生长变化情况,并计算根系耐性指数(RTI), $\text{RTI} = \text{Pb 处理植株根系长度} / \text{无 Pb 处理植株根系长度}$ ^[11]。

1.3.2 叶绿素含量及抗氧化酶活性 双穗雀稗叶片叶绿素 a 和叶绿素 b 含量采用丙酮-乙醇分光光度法测定^[10],过氧化氢酶(CAT)活性参照 Aebi 等^[12]的方法测定,过氧化物酶(POD)活性和超氧化物歧化酶(SOD)活性参照文献[13]的方法测定。

1.3.3 Pb 富集量 将 1.2 中取出的每份样品在 105 $^{\circ}\text{C}$ 的烘箱中杀青 0.5 h,然后将地下部、地上部分分开,再调节烘箱温度至 85 $^{\circ}\text{C}$,继续烘干 24 h,用研钵分别将地下部、地上部研磨成极细的粉末,保存于干燥器中。每份样品称取 0.05 g 左右,加入混合酸 13 mL(浓硝酸 10 mL、氢氟酸 3 mL),浸泡过夜,次日加热消解,若变棕黑色,继续添加混合酸直至冒白烟,加热过程中添加一定量双氧水,直至消化液呈无色透明或略带黄色,待酸冷却后转入 50 mL 容量瓶中,定容、混匀,再用一次性水相滤头(孔径 0.45 μm)过滤,用日本岛津 AA-7000 型原子吸收分光光度计测定样品中 Pb 含量,并计算 Pb 转运系数(TF), $\text{TF} = \text{地上部 Pb 富集量} / \text{地下部 Pb 富集量}$ 。

2 结果与分析

2.1 Pb 胁迫对双穗雀稗生长的影响

经观察及表 1 发现,当 Pb 浓度 $\leq 400 \mu\text{mol/L}$ 时,双穗雀稗长势优于对照,有大量新根长出并伴有 1~2 个新芽长出,根系耐性指数均大于 1,且随 Pb 浓度增加双穗雀稗长势越来越好、根系耐性指数逐渐增加,当 Pb 浓度为 400 $\mu\text{mol/L}$ 时,植株幼苗长势最好,根系耐性指数达到最大值,为 1.171;当 Pb 浓度 $> 400 \mu\text{mol/L}$ 时,随 Pb 浓度增加双穗雀稗长势逐渐变差、根系耐性指数逐渐降低,无新芽长出,根系耐性指数均小于 1,当浓度达到 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 时根部仅长出少许须根,根短、根部呈现黑褐色,稍有发烂现象,叶尖变黄。综上所述,低浓度($\leq 400 \mu\text{mol/L}$)Pb 胁迫对双穗雀稗生长有促进作用,此时

双穗雀稗对 Pb 具有较强的耐性;当 Pb 浓度超过一定值(>400 $\mu\text{mol/L}$)时,其对双穗雀稗生长有抑制作用,且 Pb 浓度越大,抑制作用越强,此时 Pb 对双穗雀稗具有较强的毒害作用,其根系活力受到较大程度的影响,根系发育受阻。

表 1 不同浓度 Pb 处理下双穗雀稗根系耐性指数

项目	Pb 浓度/($\mu\text{mol/L}$)					
	0	100	200	400	500	1 000
耐性指数	1.013	1.136	1.171	0.891	0.689	

2.2 Pb 胁迫对双穗雀稗叶片叶绿素含量的影响

由图 1 可知,在 Pb 浓度 $\leq 400\ \mu\text{mol/L}$ 时,双穗雀稗叶片叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a + b 含量总体均随着 Pb 浓度升高呈增加趋势,叶绿素 a、叶绿素 a + b 含量均在 Pb 浓度为 $400\ \mu\text{mol/L}$ 时达到最大,叶绿素 b 含量在 Pb 浓度为 $200\ \mu\text{mol/L}$ 时最大。当 Pb 浓度高于 $400\ \mu\text{mol/L}$ 后,叶绿素含量开始下降, $500\ \mu\text{mol/L}$ 时,叶绿素 a、叶绿素 a + b 含量略高于对照,远低于最大值; $1\ 000\ \mu\text{mol/L}$ 时,叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a + b 含量均低于对照,生长处于停止状态。出现这种现象的原因可能是由于叶绿素代谢是一个动态平衡的过程,Pb 胁迫能够破坏该平衡,低浓度($\leq 400\ \mu\text{mol/L}$)Pb 对双穗雀稗具有刺激作用,而刺激作用与双穗雀稗新陈代谢等的活化作用有关,从而叶绿素含量增加;随着 Pb 浓度增加,高浓度的 Pb 进入植物体内,使得叶绿体酶活性失调,叶绿体结构发生变化,从而导致叶绿素分解加快,使叶绿体基粒结构解体及与片层结构有关的基质明显减少而导致叶绿素合成受阻,叶绿素含量下降。

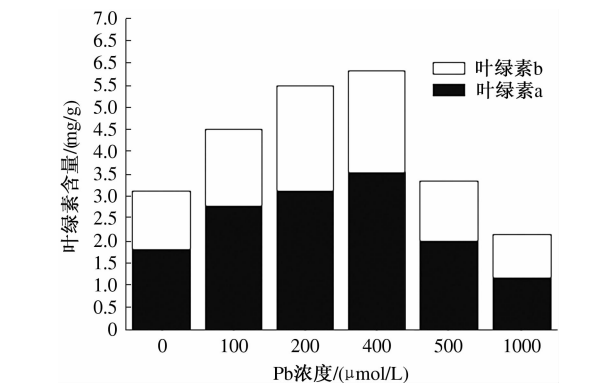


图 1 不同浓度 Pb 胁迫对双穗雀稗叶片中叶绿素含量的影响

由图 2 可知,在 $200\ \mu\text{mol/L}$ Pb 胁迫下,双穗雀稗叶片中叶绿素 a + b 含量随着处理时间的增加逐渐上升,处理 12 d 时达到高峰,其后叶绿素 a + b 含量稍微下降,胁迫条件下叶绿素 a + b 含量始终高于无 Pb 处理组。这主要是因为胁迫初期,双穗雀稗的应激效应将刺激叶绿素的合成,而随着胁迫时间的

延长,双穗雀稗适应了胁迫环境,叶绿素合成刺激效应减弱。

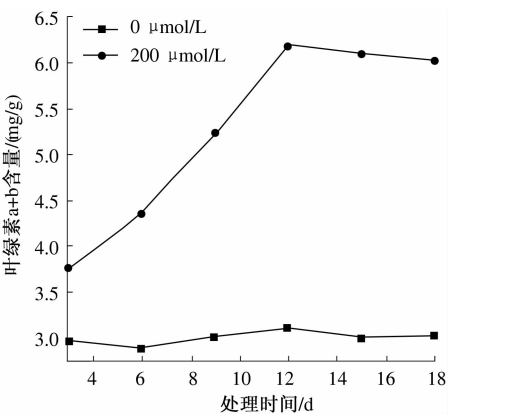


图 2 Pb 胁迫下双穗雀稗叶片中叶绿素含量变化

2.3 Pb 胁迫对双穗雀稗抗氧化酶活性的影响

2.3.1 SOD SOD 是活性氧清除反应过程中第一个发挥作用的抗氧化酶,SOD 活性的增加表明植物细胞清除超氧自由基的能力增强,植物的抗逆性也随之增强^[14-15]。图 3 表明,随 Pb 胁迫浓度增加,双穗雀稗叶片 SOD 活性呈先升高后降低的趋势,在 $400\ \mu\text{mol/L}$ 时最高,当 Pb 浓度 $\leq 500\ \mu\text{mol/L}$ 时 SOD 活性均高于对照;当 Pb 浓度达 $1\ 000\ \mu\text{mol/L}$ 时,SOD 活性低于对照。在 $200\ \mu\text{mol/L}$ Pb 胁迫下,双穗雀稗叶片 SOD 活性随胁迫时间的增加先升高后降低,12 d 时达到最大,之后减小但均高于无 Pb 处理组(图 4)。这可能是因为低浓度 Pb 胁迫或胁迫初期双穗雀稗叶片 SOD 活性被激活,但当胁迫程度过于严重时,双穗雀稗的自身调节系统被破坏,从而导致 SOD 活性有所降低。

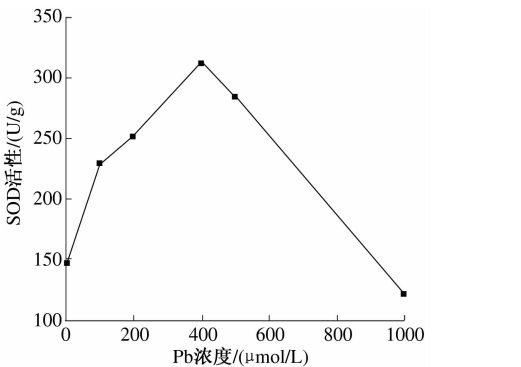


图 3 不同浓度 Pb 胁迫对双穗雀稗 SOD 活性的影响

2.3.2 POD POD 在生物体内的抗氧化代谢中具有关键作用,它主要清除 H_2O_2 以及过氧化物 ROOH ^[16],从而保护细胞。由图 5 可知,随着 Pb 浓度增加,双穗雀稗叶片 POD 活性先升高后降低,在 $400\ \mu\text{mol/L}$ 时最高,之后降低并趋于平缓,但均高于对照。其原因可能是由于 Pb 进入植物体后,植物

细胞通过一系列生理生化反应产生了有害的过氧化物,随着有害物质浓度的增加,POD 活性逐渐增加^[17]。但 Pb 胁迫程度过于严重($\geq 500\text{ }\mu\text{mol/L}$)时,双穗雀稗的自身调节系统被破坏,从而导致 POD 活性降低。说明 Pb 胁迫发生后,双穗雀稗会采取各种措施提高抗性以适应不良环境,但当胁迫超过其承受最大程度时,其防御措施也就相应减弱。在 $200\text{ }\mu\text{mol/L}$ Pb 胁迫下,双穗雀稗叶片 POD 活性随胁迫时间的增加先升高后降低,12 d 时达到最大,之后减小,但均高于无 Pb 处理组(图 6)。

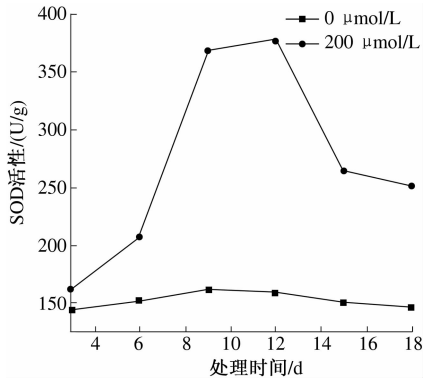


图 4 Pb 胁迫下双穗雀稗 SOD 活性变化

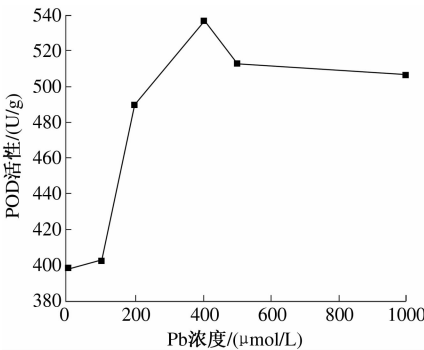


图 5 不同浓度 Pb 胁迫对双穗雀稗 POD 活性的影响

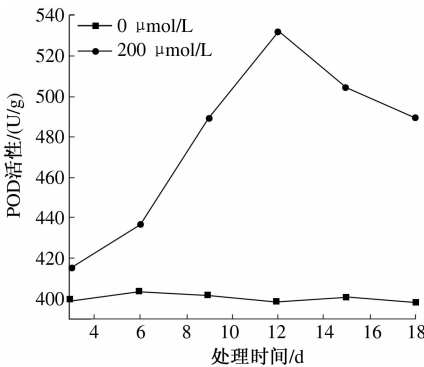


图 6 Pb 胁迫下双穗雀稗 POD 活性变化

2.3.3 CAT CAT 存在于各种植物组织中,其功能主要是催化细胞内多余的 H_2O_2 分解生成 H_2O ,使细胞内的 H_2O_2 维持在正常水平,使植物细胞免遭毒害,其活性的高低与植物的抗逆性有一定关

联^[15]。图 7 表明,随 Pb 胁迫浓度增加,双穗雀稗叶片 SOD 活性呈先升高后降低的趋势,在 $400\text{ }\mu\text{mol/L}$ 时最高,之后降低并趋于平稳,但一直高于对照。在 $200\text{ }\mu\text{mol/L}$ Pb 胁迫下,双穗雀稗叶片 CAT 活性随胁迫时间的增加先升高后降低,12 d 时达到最大,之后减小但均高于无 Pb 处理组(图 8)。

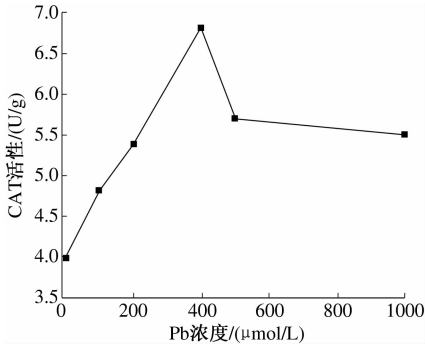


图 7 不同浓度 Pb 胁迫对双穗雀稗 CAT 活性的影响

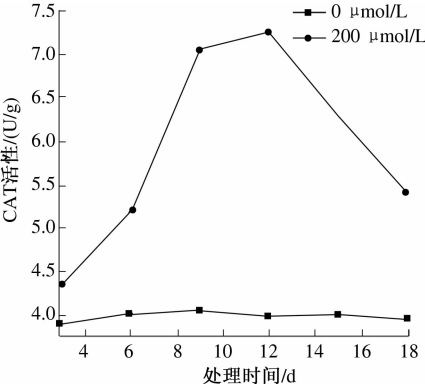


图 8 Pb 胁迫下双穗雀稗 CAT 活性变化

综上所述,在低浓度 Pb 胁迫下或胁迫初期,双穗雀稗植株体内抗氧化酶活性增加,其可清除较多的活性氧,降低 Pb 胁迫对植株的伤害;但当 Pb 胁迫浓度超过 $400\text{ }\mu\text{mol/L}$ 或胁迫时间超过 12 d 后,抗氧化酶活性下降,其对活性氧的清除能力大大减弱,从而使双穗雀稗细胞受损,影响双穗雀稗生长。

2.4 Pb 在双穗雀稗植株中的迁移富集规律

从表 2 可知,随着 Pb 浓度增加,双穗雀稗地上部和地下部 Pb 积累量明显升高,地下部最大富集量可达到 574.80 mg/kg ,地上部最大富集量可达到 370.76 mg/kg ,转运系数在 $0.37\sim 0.80$,有较多的 Pb 运输到地上部,说明其能较好地修复重金属 Pb 污染的水体。但转运系数均小于 1,说明其不具备重金属超积累植物的一般特点。

将双穗雀稗在 Pb ($100\sim 1\text{ }000\text{ }\mu\text{mol/L}$) 胁迫下地上部和地下部的 Pb 富集量(Y)与水体中 Pb 浓度(X)进行回归分析发现,地上部两者关系为: $Y=0.311X+70.215$,相关系数为 0.959 ;地下部两者关系为: $Y=0.408X+182.908$,相关系数为 0.969 ,Pb

迁移富集量与水体中 Pb 浓度均存在明显的线性正相关。

表 2 Pb 胁迫下双穗雀稗中 Pb 含量及转运系数的变化						
项目	Pb 浓度/($\mu\text{mol/L}$)					
	0	100	200	400	500	1 000
地上部 Pb 含量	1.98	79.66	146.50	186.75	251.58	370.76
地下部 Pb 含量	2.49	214.65	248.93	349.57	423.56	574.80
Pb 转运系数	0.80	0.37	0.59	0.53	0.59	0.65

3 结论与讨论

本研究表明,水体中低浓度 ($\leq 400\text{ }\mu\text{mol/L}$) Pb 对双穗雀稗生长有一定的促进作用,根系耐性指数均大于 1;而随着水体中 Pb 浓度增加,双穗雀稗生长受到抑制,叶尖开始发黄,根须逐渐变成褐色,根系耐性指数小于 1,这是因为较高浓度 Pb 胁迫可使细胞液泡和细胞结构发生变化,导致细胞器受到不可逆转的致死性分离,造成细胞功能丧失或细胞死亡^[4]。本研究中 Pb 浓度改变对双穗雀稗生长的影响与杨金凤等^[18]的研究结果一致。

在 Pb 胁迫下双穗雀稗 SOD、POD、CAT 活性变化趋势表现为先升高后降低,符合植物对胁迫反应的典型特征,与余顺慧等^[19]的研究结果一致。低浓度 ($\leq 400\text{ }\mu\text{mol/L}$) Pb 具有促进植物细胞内抗氧化酶系统活性的作用,使 SOD、POD、CAT 活性升高,清除过多的活性氧,增强植物的抗逆性,使植株体内的活性氧自由基维持在正常生长和代谢的水平,减少重金属胁迫的伤害;当 Pb^{2+} 浓度超过双穗雀稗的耐受范围时,植物体就会受到严重的伤害,其保护酶系统相应损伤,双穗雀稗细胞内活性氧的产生和清除系统失衡,加速双穗雀稗植株的衰老。

双穗雀稗通过地下部和地上部富集 Pb,转运系数均小于 1,与李廷真等^[20]对 Cu 在狗牙根中的迁移富集情况研究结果较相似。Pb 胁迫双穗雀稗时,随着水体中 Pb 浓度的升高,迁移富集量增大,迁移富集量与水体中 Pb 浓度表现为明显的线性正相关,但不是重金属 Pb 超积累植物。地下部和地上部可富集大量的 Pb,能明显降低水体中的 Pb。因此,双穗雀稗既是消落带植被重建的优良物种^[8],也能较好修复水体中的 Pb 污染。

参考文献:

[1] McBride M B. Environmental chemistry of soils[M]. New York:Oxford Univemity Press,1994.

[2] 张英,周长民. 重金属铅污染对人体的危害[J]. 辽宁化工,2007,36(6):395-397.

[3] 张艳敏,刘海,魏世强,等. 三峡库区消落带不同垂直

高程土壤重金属污染调查与评价[J]. 中国农学通报, 2011,27(8):317-322.

[4] 刘小阳,徐礼生. 铅递进胁迫对大蒜叶片生理特性的影响[J]. 河南农业科学,2010(3):75-77,82.

[5] 张正洁,李东红,许增贵. 我国铅污染现状、原因及对策[J]. 环境保护科学,2005,31(4):41-42,47.

[6] 覃勇荣,覃艳花,严军,等. EDTA 对桑树和任豆幼苗吸收重金属 Pb 的影响[J]. 南方农业学报,2011,42(2):168-172.

[7] 谭淑端,朱明勇,张克荣,等. 水淹对双穗雀稗抗氧化酶活性及碳水化合物含量的影响[J]. 草业学报, 2013,22(1):217-224.

[8] 谭淑端,张守君,张克荣,等. 长期深淹对三峡库区三种草本植物的恢复生长及光合特性的影响[J]. 武汉植物学研究,2009,27(4):391-396.

[9] 伍欢,王进鑫,张青,等. 水分和铅双重胁迫对紫穗槐苗木叶片抗氧化酶活性的影响[J]. 水土保持通报, 2014,34(1):65-69.

[10] 李妍. 铅镉胁迫对小麦幼苗抗氧化酶活性及丙二醛含量的影响[J]. 麦类作物学报,2009,29(3):514-517

[11] 郝建军. 植物生理学试验技术[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,2004.

[12] Aebi H, Bergmeyer H U. Methods of enzymatic analysis [M]. New York and London: Bergstr. (Germany) and Academic Press,1983.

[13] 李合生. 植物生理生化实验技术与方法[M]. 北京: 高等教育出版社,2000.

[14] McCord J M, Fridovich I. Superoxide dismutase: An enzymatic function for erythrocuprein (hemocuprein) [J]. J Biol Chem,1969,244(22):6049-6055.

[15] 常云霞,陈璨,阮先乐,等. Hg^{2+} 、 Pb^{2+} 对野生型绿豆种子萌发、幼苗生长及抗氧化酶活性的影响[J]. 河南农业科学,2012,41(7):37-41.

[16] 王夔. 生命科学中的微量元素(上卷)[M]. 北京:中国计量出版社,1991:140-141.

[17] 雷冬梅,段昌群,张红叶. 矿区废弃地先锋植物齿果酸模在 Pb、Zn 污染下抗氧化酶系统的变化[J]. 生态学报,2009,29(10):5417-5423.

[18] 杨金凤,卜玉山,郭小燕,等. 土壤外源镉、铅污染对油菜生长的影响研究[J]. 陕西农业科学,2005(3):25-28.

[19] 余顺慧,来守军,王绍恒,等. 铜胁迫对三峡库区消落带适生植物狗牙根生理特性和铜积累的影响[J]. 西南大学学报:自然科学版,2013,38(11):58-63.

[20] 李廷真,付川,余顺慧,等. Cu^{2+} 胁迫下三峡库区消落带的狗牙根生长状况及其铜富积效应[J]. 贵州农业科学,2013,41(7):184-186.