

doi:10.7668/hbxb.2014.S1.037

铅胁迫对芋生理特性的影响

张素君¹, 邹日^{1,2}, 柏新富², 李锡香¹, 王海平¹, 宋江萍¹, 邱杨¹, 沈镒¹

(1. 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081; 2. 鲁东大学生命科学院, 山东烟台 264025)

摘要:为了研究 Pb 在芋主要产品器官中的富集及生理响应规律,以芋主栽品种 8520 为试材,采用土壤盆栽方式进行不同浓度 Pb²⁺ 胁迫处理,分析芋不同器官 Pb 累积量的差异及生理指标的变化规律。结果表明:不同器官中 Pb 的累积量与土壤中 Pb²⁺ 的浓度呈极显著正相关。芋植株中较易富集 Pb 的器官是球茎,其次为叶片和叶柄。低浓度 Pb²⁺ 胁迫(100 mg/kg)诱导芋不同器官中的 3 种抗氧化酶活性(SOD、POD 和 CAT)升高,随着胁迫浓度逐渐提高到 2 000 mg/kg,除叶片和叶柄的 POD 和 CAT 活性仍呈上升趋势外,其他酶活性开始波动下降。球茎、叶柄和叶片的 Pro 含量和 MDA 含量随着胁迫浓度的提高呈现先上升后下降的趋势,大多在 Pb²⁺ 浓度为 1 000 mg/kg 时达到最大值。

关键词:芋;铅胁迫;SOD;POD;CAT;MDA;Pro

中图分类号:S143.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2014)增刊-0193-04

Effect of Pb²⁺ Stress on Physiological Characteristics in Taro

ZHANG Su-jun¹, ZOU Ri^{1,2}, BAI Xin-fu², LI Xi-xiang¹, WANG Hai-ping¹,
SONG Jiang-ping¹, QIU Yang¹, SHEN Di¹

(1. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China;

2. Life Science College of Ludong University, Yantai 264025, China)

Abstract: In order to study Pb absorption law and physiological index variation trend in main product organs of taro, taking the taro variety 8520 as test materials, plants grown in soils through pot experiment were treated with different concentrations of Pb²⁺, and the differences of Pb accumulation, changes of some physiological indexes in different organs of taro were analyzed. The results showed that a highly significant positive correlation was observed between the Pb accumulation in different organs and the Pb²⁺ concentration in soil, and bulbs were easier to absorb Pb followed by leaves and petioles in taro. Compared with control, the activity of three antioxidant enzymes (SOD, POD and CAT) increased under low Pb²⁺ concentration (100 mg/kg) treatment, then the activity of POD and CAT in leaves and petioles were still on the rise, but other enzyme activities showed the trend of decline as the concentration of Pb²⁺ gradually increased to 2 000 mg/kg. The proline and MDA content of three organs (bulbs, petioles and leaves) expressed a downward trend after the first rise with increasing Pb²⁺ concentration, and mostly reached the maximum when the Pb²⁺ concentration was 1 000 mg/kg.

Key words: Taro; Pb stress; SOD; POD; CAT; MDA; Pro

随着工业化生产的飞速发展,全球污染日益加重,蔬菜产品也受到不同程度的危害,其中重金属污染是影响蔬菜生长和人类身体健康的重要因素之一^[1]。铅(Pb)是“五毒”重金属元素之一,外源 Pb 主要通过植物的根系和叶片等器官进入植物体内。由于 Pb 不是植物生长的必需元素,也不参与细胞

的生理代谢过程,若在体内累积过量,会严重抑制植株生长,降低细胞分裂速率,诱发染色体畸变,酶活性降低,从而引起植物光合作用、呼吸作用、核酸代谢等一系列生理生化过程紊乱,严重时导致植株死亡^[2-4]。

芋(*Colocasia esculenta* L. Schott)为天南星科

收稿日期:2014-10-09

基金项目:公益性行业(农业)专项子项目:山东出口专用芋头安全生产技术研究项目(200903017-09-01);农业部园艺作物生物学与种质创制重点实验室项目

作者简介:张素君(1987-),女,河北石家庄人,硕士,主要从事棉花分子设计育种研究。

通讯作者:沈镒(1970-),女,北京人,副研究员,博士,主要从事蔬菜遗传资源研究。

(Araceae)多年生宿根性草本植物,其球茎在许多国家是人们主食淀粉的来源之一,球茎、叶柄甚至花还可作蔬菜食用。芋在我国栽培历史悠久,在华北地区主要分布在山东省胶东半岛,是重要的出口创汇蔬菜,其球茎的质地细腻,品质极佳,深受消费者欢迎^[5-6]。近年来,随着种植面积的扩大和出口量的增加,日本等国对我国生产的芋球茎的重金属和农药残留量等标准也日渐提高,逐步限制了山东芋的出口量。迄今为止,在芋属植物重金属胁迫方面鲜有报道,本研究以山东出口芋主栽品种 8520 为试材,探讨了 Pb 胁迫后芋不同器官的 Pb 累积以及对生理特性的影响,为分析 Pb 在芋主要产品器官中的富集规律及生理响应提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试材料芋为山东胶东半岛地区主栽品种 8520,种芋购于山东省威海乳山徐家镇。将种芋用浸水毛巾包裹,放置于生化培养箱 28℃ 发芽,定期补水。约 10 d 后待种芋发芽的芽长至 4 cm 左右播种于 10 cm × 10 cm 的苗钵中育苗,待幼苗长至 2~3 片叶时移栽至添加重金属 Pb 的花盆中,盆高 30 cm,上底和下底直径分别为 40,36 cm,放置于中国农业科学院蔬菜花卉研究所的日光温室中。移栽后根据天气状况,每盆等量浇水、施肥,正常种植管理。

1.2 Pb 胁迫试验

Pb 胁迫试验所用试剂采用分析纯硝酸铅。将硝酸铅配成 100 mg/mL 的母液,分别取母液 0 (CK),4.5,13.5,22.5,45,90 mL,分别加入适量蒸馏水使其每盆土壤中最后溶液的添加量均为 500 mL,添加浓度分别为 0,100,300,500,1 000,2 000 mg/kg。移栽前 10 d 按不同浓度在花盆中加入硝酸铅。每处理 3 个重复,每重复 3 株。

1.3 样品采集

在球茎采收期,将植株连根取出、洗净,在蒸馏水中浸泡 15 min,以除去表面的金属离子。将芋样本分球茎、叶柄、叶片三部分取样。球茎削皮后切片,叶柄切段,随机取样,用去离子水洗净后装入自封袋内,放入 -80℃ 冰箱保存。

1.4 测定方法

土壤和芋不同器官的 Pb 含量分别参照 GB/T 17141-1997^[7] 和 GB/T 5009.12-2003^[8] 测定。超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) 活性测定采用氮蓝四唑 (Nitroblue tetrazolium, NBT) 比色法。过氧化物酶 (Peroxidase, POD) 活性采用愈创木酚显色

法测定。过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 活性的测定采用紫外吸收法。丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 含量采用硫代巴比妥酸法测定。脯氨酸 (Proline, Pro) 含量采用茚三酮比色法测定^[9-10]。

1.5 数据分析

用 Microsoft Excel 2003 进行平均数和标准差的计算,用 SPSS 11.5 软件进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 土壤中 Pb 的残留量

对芋盆栽植株进行不同浓度的 Pb^{2+} 胁迫,在球茎采收后,分别测定盆栽土壤中的 Pb 残留量,结果显示,随着 Pb^{2+} 胁迫浓度的升高,土壤中 Pb 的残留量也随之增高 (图 1),两指标之间的相关系数为 0.99,达到极显著水平,表明土壤中的 Pb 含量主要来自添加的 Pb^{2+} 溶液,且在芋的整个生长发育时期基本没有流失。

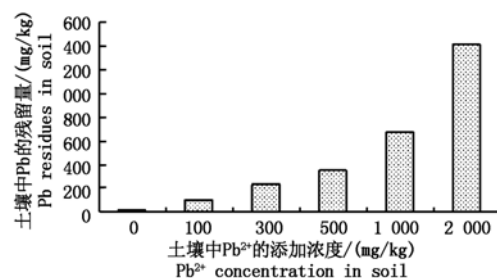


图 1 胁迫处理后土壤中 Pb 的残留量

Fig. 1 Pb residues in soil under different concentration of Pb stress

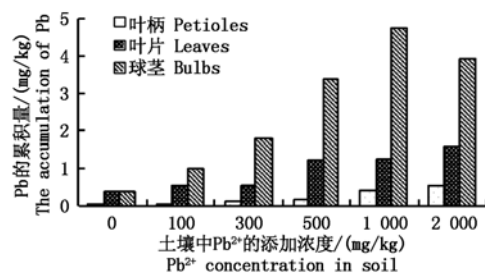


图 2 芋 3 种器官 Pb 的累积量

Fig. 2 The accumulation of Pb in 3 organs of taro

2.2 芋不同器官 Pb 累积量的变化

分别测定芋球茎、叶片和叶柄的 Pb 累积量,并分析与胁迫浓度间的关系,结果显示,随着土壤中 Pb^{2+} 胁迫浓度的升高,芋 3 种不同器官中的 Pb 含量基本呈现上升趋势,但其增幅有明显差异,以球茎中 Pb 累积量的增幅最大,且在胁迫浓度 1 000 mg/kg 时达到最高 (图 2)。当 Pb^{2+} 的胁迫浓度由 100 mg/kg 增加到 1 000 mg/kg 时,球茎中 Pb 含量从 0.99 mg/kg 增高至 4.73 mg/kg,升高了 3.78 倍。在同一胁迫浓度下,芋不同器官的 Pb 含量从高到低的顺序为:球

茎>叶片>叶柄,表明芋球茎从土壤中对 Pb 的累积量大,叶片次之,叶柄最小。

2.3 Pb 胁迫对芋不同器官 3 种酶活性的影响

在不同浓度的 Pb^{2+} 胁迫下,分别测定芋球茎、叶片和叶柄的 3 种酶活性,结果见图 3~5。方差分析结果显示,在不同 Pb^{2+} 胁迫浓度下,同一器官 SOD、POD 和 CAT 活性的差异均达到显著水平。从图中数据也可以看出,3 种酶活性在不同器官中的变化趋势不同,但基本高于对照。随着土壤中 Pb^{2+} 胁迫浓度的增加,芋叶柄及叶片中的 POD 和 CAT 活性呈现整体上升的趋势,而 SOD 活性和球茎的 POD 及 CAT 活性均表现为波动升降。当 Pb^{2+} 胁迫浓度为 100 mg/kg 时,芋叶柄和叶片中的 SOD 活性达到最大值。在胁迫浓度提高至 300 mg/kg 时,球茎中的 SOD 和 CAT 活性达到最高,而球茎中的 POD 活性最高值出现在 Pb^{2+} 胁迫浓度增加至 500 mg/kg。以上结果表明,芋不同器官的酶活性对 Pb 胁迫的生理响应不同,叶片和叶柄相近,与球茎相差较大。低浓度 Pb^{2+} 胁迫诱导芋不同器官 3 种酶活性提高,高浓度胁迫时仅叶片和叶柄的 POD 和 CAT 活性升高,其他酶活性均下降。

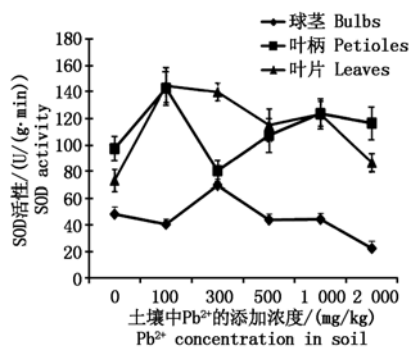


图 3 Pb 胁迫下芋 3 种器官的 SOD 活性

Fig. 3 SOD activity of 3 organs in taro under Pb stress

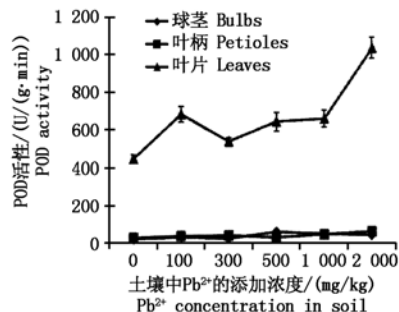


图 4 Pb 胁迫下芋 3 种器官的 POD 活性

Fig. 4 POD activity of 3 organs in taro under Pb stress

2.4 Pb 胁迫对芋不同器官 MDA 和 Pro 含量的影响

植物体内的 Pro 是重要的渗透调节物质,MDA 含量可在一定程度上反映出植物细胞膜脂过氧化程度,这 2 种物质的含量变化都是植物对逆境胁迫的

一种适应性反应。在本试验中,随着土壤中 Pb^{2+} 胁迫浓度的增加,芋球茎中的 Pro 含量呈现整体上升趋势,叶柄和叶片中的 MDA 和 Pro 含量及球茎中的 MDA 含量均呈现先上升后下降再上升再下降的趋势(图 6~7)。当 Pb^{2+} 浓度为 1 000 mg/kg 时,球茎、叶片中 MDA 的含量达到最大值,分别比对照增加了 94.19%,122.76%。不同浓度 Pb^{2+} 胁迫处理下的芋叶柄中 MDA 含量显著高于对照,且在浓度为 500 mg/kg 时达到最大值。

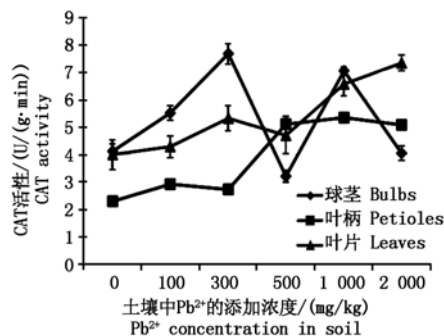


图 5 Pb 胁迫下芋 3 种器官的 CAT 活性

Fig. 5 CAT activity of 3 organs in taro under Pb stress

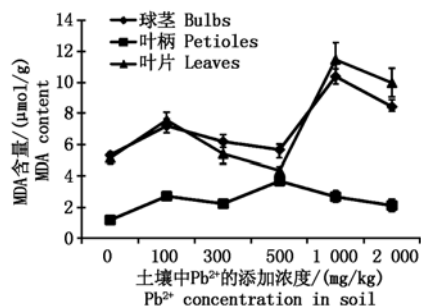


图 6 Pb 胁迫下芋 3 种器官的 MDA 含量

Fig. 6 MDA content of 3 organs in taro under Pb stress

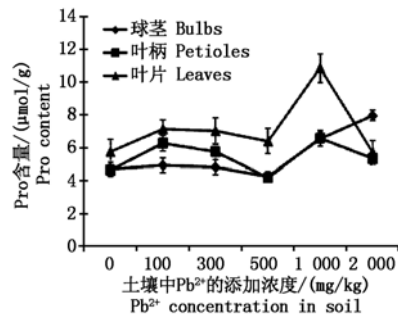


图 7 Pb 胁迫下芋 3 种器官的 Pro 含量

Fig. 7 Proline content of 3 organs in taro under Pb stress

不同浓度 Pb^{2+} 胁迫下的 3 种器官的 Pro 含量都呈现显著差异(图 7)。芋球茎中 Pro 含量在低浓度胁迫(100~500 mg/kg)时与对照组差异不显著,在高浓度 Pb^{2+} 胁迫下呈现显著增加。当 Pb^{2+} 浓度为 1 000 mg/kg 时,芋叶柄、叶片中 Pro 的含量达到最大值,相比对照增幅分别为 42.52%,89.02%,呈现显著的增加。不同器官间,以叶片 Pro 含量较高,在 Pb 含量为 1 000 mg/kg 时,分别比球茎和叶柄高出

66.41%, 65.14%。

3 讨论

不同器官对重金属的富集能力不同,一般在根中富集量较多。胡欢等^[11]测定了种植在 Pb 10 倍和 Pb 100 倍土壤中的裂叶喜林芋各部位中 Pb 的含量,表明根中含 Pb 量分别约为茎和叶中的 2 倍,在豇豆和小麦中不同部位的重金属含量测定表明,Pb 在根中的含量是其他器官的 3 倍以上^[12-13]。段德超等^[14]认为,可能由于 Pb 在根组织水平和亚细胞水平的差异化分布和累积,造成了大多数 Pb 向地上部分转运受限。本研究发现,芋不同器官对 Pb 的累积能力存在显著差异,表现为球茎 > 叶片 > 叶柄,这可能是由于球茎位于地下导致的。

植物在正常生长情况下,体内的活性氧代谢保持平衡,当遭受重金属如 Pb 胁迫时,其体内活性氧代谢失调,活性氧水平上升,引起膜脂过氧化,生成 MDA,同时植物体内大量累积 Pro,通过增加 Pro 含量,调节渗透压,保持胞质溶胶与环境的渗透平衡,防止水分散失,从而在一定程度上增强了植物对胁迫逆境的适应性^[9]。宋勤飞等^[15]的研究表明,随着 Pb 胁迫程度的增加,番茄叶片内 MDA 含量明显升高,且与 Pb^{2+} 浓度呈现显著正相关。在小白菜中,有研究表明:低浓度的 Pb^{2+} 就能促进植物体内的 Pro 含量明显增加,Pro 含量随着 Pb^{2+} 胁迫浓度的增加呈现先上升后下降的趋势^[16-17]。本研究中,随着外界 Pb^{2+} 胁迫浓度的升高,芋的球茎、叶片、叶柄中 MDA 和 Pro 的含量均基本呈现先上升后下降的趋势,可能与重金属胁迫下芋不同器官的细胞膜受损情况及抗氧化酶清除活性氧的能力有关。

植物可通过限制重金属离子跨膜运输,降低体内的重金属离子浓度^[3]。植物体内存在 Pb 离子专一运输基因,这些基因的表达可以影响植物体内的 Pb 分布情况^[18],在拟南芥中和烟草中发现 Pb 处理下超表达 *NtCBP4* 和 *AtATM3* 基因可以增加地上部重金属的含量^[19-20]。今后深入研究根茎类作物中 Pb 的吸收、转运、累积和解毒规律,更加注重降低产品器官中的含 Pb 量,对农产品食用安全具有重要的意义。

参考文献:

- [1] 邹日,沈 镒,柏新富,等. 重金属对蔬菜的生理影响及其富集规律研究进展[J]. 中国蔬菜,2011(4):1-6.
- [2] 张义贤,付亚萍,肖志华,等. 铅胁迫对不同基因型谷子幼苗生理特性及基因组 DNA 多态性的影响[J]. 农

业环境科学学报,2013,32(3):478-484.

- [3] 杨刚,伍 钧,唐 亚. 铅胁迫下植物抗性机制的研究进展[J]. 生态学杂志,2005,24(12):1507-1512.
- [4] 杨世勇,王 方,谢建春. 重金属对植物的毒害及植物的耐性机制[J]. 安徽师范大学学报:自然科学版,2004,27(1):71-74.
- [5] 沈 镒,朱德蔚,李锡香,等. 云南芋种质资源遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 园艺学报,2005,32(3):449-453.
- [6] 沈 镒,李 颖,蒋小满,等. 山东芋头生产和加工现状与存在的主要问题[J]. 长江蔬菜,2011(16):10-12.
- [7] GB/T 17141-1997 土壤质量铅、镉的测定 石墨炉原子吸收分光光度法[S].
- [8] GB/T 5009.12-2003 食品中铅的测定[S].
- [9] 王 忠. 植物生理学[M]. 北京:中国农业出版社,2000.
- [10] 邹 琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社,2000.
- [11] 胡 欢,张文静,阮晓峰,等. 裂叶喜林芋修复镉、铅金属污染土壤的可行性研究[J]. 复旦学报,2010,49(1):112-115.
- [12] 邵 云,姜丽娜,李向力,等. 五种重金属在小麦植株不同器官中的分布特征[J]. 生态环境,2005,14(2):204-207.
- [13] 朱 云,杨中艺. 生长在铅锌矿废水污灌区的长豇豆组织中 Pb、Zn、Cd 含量的品种间差异[J]. 生态学报,2007,27(4):1376-1385.
- [14] 段德超,于明革,施积炎. 植物对铅的吸收、转运、累积和解毒机制研究进展[J]. 应用生态学报,2014,25(1):287-296.
- [15] 宋勤飞,樊卫国. 铅胁迫对番茄生长及叶片生理指标的影响[J]. 山地农业生物学报,2004,23(2):134-138.
- [16] 秦天才,吴玉树,王焕校. 镉、铅及其相互作用对小白菜生理生化特性的影响[J]. 生态学报,1994,14(1):46-50.
- [17] 任安芝,高玉葆,刘 爽. 铬、镉、铅胁迫对青菜叶片几种生理生化指标的影响[J]. 应用与环境生物学报,2000,6(2):112-116.
- [18] 黄化刚,李廷轩,杨肖娥,等. 植物对铅胁迫的耐性及其解毒机制研究进展. 应用生态学报,2009,20(3):696-704.
- [19] Kim D Y, Bovet L, Kushnir S, et al. AtATM3 is involved in heavy metal resistance in Arabidopsis[J]. Plant Physiology, 2006, 140:922-932.
- [20] Sunkar R, Kaplan B, Bouche N, et al. Expression of a truncated tobacco N tCBP4 channel in transgenic plants and disruption of the homologous Arabidopsis CNGC1 gene confer Pb^{2+} tolerance [J]. The Plant Journal, 2000, 24:533-542.