

# Fe<sup>2+</sup> 对紫背浮萍生长和生理生化特性的影响

徐晓晖<sup>1</sup>, 林海芳<sup>2</sup>, 邹克琴<sup>1</sup>

(1. 中国计量学院 生命科学学院, 浙江 杭州 310018; 2. 中国计量学院 现代科技学院, 浙江 杭州 310018)

**摘要:**通过水培试验研究了不同浓度 Fe<sup>2+</sup> 处理下对紫背浮萍生长、光合色素含量、Fv/Fm 值、过氧化物酶(POD)活性和丙二醛(MDA)含量的影响。结果表明:Fe<sup>2+</sup> 在 0.2~10 mg/L 浓度范围内,紫萍的生长、Fv/Fm、可溶性蛋白和 MDA 含量没有受到明显影响,光合色素含量和 POD 活性有所升高,表现出较强的抗性;Fe<sup>2+</sup> 浓度超过 20 mg/L 时开始对紫萍构成胁迫,使紫萍的生长抑制,光合色素含量、Fv/Fm、可溶性蛋白含量、POD 活性下降,MDA 含量升高,产生明显的毒性效应。

**关键词:**Fe<sup>2+</sup>; 紫背浮萍; 生理生化特性

**中图分类号:**Q 945.3;S 181 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)11-0015-04

紫背浮萍(*Spirodela polyrrhiza*)简称紫萍,为我国浮萍科中最大型的浮水植物,根 5~11 条,聚生于叶状体腹面中央,根长 3~5 cm,叶状体扁平,倒卵形至圆形,生于水田、水塘、湖湾及水沟等静水水面上,广泛分布于我国南北各地。紫萍全草入药,药理试验表明,紫萍具有利尿、抗菌、解热和强心作用<sup>[1]</sup>。其分离物中含有浮萍多糖<sup>[2]</sup>以及芹菜素、木犀草素等多种黄酮类化合物<sup>[1]</sup>,具有较高药用价值;另外紫萍的蛋白质含量也很高。由于紫萍还具有旺盛的生长能力,近年来受到国内外众多学者的关注,如澳大利亚、美国、荷兰等国家用它提供优质价廉的饲料蛋白质和处理废水。人工种植的紫萍可含有高达 45% 的蛋白质,5% 的纤维素,并且不含有毒生物碱,是一种很有前景的饲料蛋白质源<sup>[3]</sup>。我国很多地区也开展了紫萍的人工培植,部分地区还用污水进行培植,可以起到紫萍开发和污水治理的综合作用。采用紫萍治理污水,不但效率高,而且会带来较高的经济效益,已成为当今污染修复治理研究的一个新热点<sup>[4-5]</sup>。但是紫萍对一些重金属污染相对敏感,所以在紫萍培植和治理污染水体时,应先掌握重金属对其生长和生理生化的影响。

铁是植物必需的微量元素,但是过量的铁会引发 Fenton 反应,产生大量活性氧引起细胞氧化性损伤,即铁中毒<sup>[6]</sup>。我国铁矿资源丰富,在酸性土壤条件下,会释放大量的可溶性 Fe<sup>2+</sup>,另外随着工业的发展,采矿、冶

炼、加工等生产活动使水体铁污染日趋严重,导致植物易受到铁的毒害。目前国内关于铁对紫萍的毒性作用的研究尚鲜有报道。

现以紫萍为试材,通过测定不同浓度下铁对紫萍生长、光合色素含量、叶绿素荧光参数 Fv/Fm 以及抗氧化系统的影响,研究铁水平的升高对紫萍产生的生理毒性效应,为紫萍的人工培植、铁污染水体的生物监测和生态修复提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验用紫萍种源取自浙江杭州西溪国家湿地公园。取回的紫萍用自来水清洗后放在聚乙烯塑料箱中进行温室扩大繁殖,使其适应室内的生长条件。培养条件为:温度 26℃,光照强度 4 000 lx,光照时间 16 h/d。培养液为 1/10 浓度的 Hoagland 培养液<sup>[7]</sup>,每 4 d 更换 1 次,3 周后可用于试验。

### 1.2 试验方法

由于 Fe<sup>3+</sup> 不易溶于水,水体铁污染主要是 Fe<sup>2+</sup> 造成的,所以该试验的铁源采用 FeSO<sub>4</sub>。在不含铁盐的 1/10 Hoagland 培养液基础上,添加 FeSO<sub>4</sub> 配制不同浓度处理液,使 Fe<sup>2+</sup> 的终浓度分别为 0.2、10、20、50、100、150 mg/L, pH 6.0。由于铁为植物必需元素,为防止出现缺铁症状,所以用 0.2 mg/L 的培养液作为对照。取长势相近、有 3~4 个叶状体的紫萍用滤纸吸干,称取 2 g,记录数据后,放入 17 cm×13 cm×6 cm 的培养盆中,分别加入 1 000 mL 各浓度的培养液,2 d 换液 1 次,培养条件同 1.1,培养 4 d 后记录紫萍生长的变化,并测定相关的理化指标。各浓度做 6 次重复试验,其中 3 次重复用于生物量测定,3 次重复用于其余指标测定。

**第一作者简介:**徐晓晖(1973-),男,硕士,讲师,现主要从事生物技术和植物抗逆性等研究工作。

**基金项目:**浙江省自然科学基金资助项目(Y507691)。

**收稿日期:**2012-03-16

## 1.3 项目测定

1.3.1 紫萍生物量的测定 紫萍收获后,用去离子水冲洗3~4次,滤纸吸干后测定生物量,以鲜重计,单位:g。生物量变化系数=终鲜重/初鲜重。

1.3.2 光合色素含量的测定 参照邹琦<sup>[8]</sup>的方法,用96%的酒精研磨紫萍后,用比色法分别测定叶绿素a、叶绿素b和类胡萝卜素的含量,采用鲜重计量,单位:mg/g。

1.3.3 叶绿素荧光参数Fv/Fm的测定 紫萍处理后,分别测定Fv/Fm值。测定采用荧光检测系统(Hansatech),按照仪器使用说明书进行操作,测定之前样品预先黑暗处理10 min。

1.3.4 酶液的制备 称取0.5 g浮萍,加入50 mmol/L磷酸缓冲液(pH 7.8),研磨,4℃下15 000 r/min离心15 min,上清液定容至5 mL,取部分上清液经适当稀释后用于可溶性蛋白、POD和MDA测定。

1.3.5 可溶性蛋白含量测定 采用考马斯亮蓝蛋白染色法<sup>[9]</sup>,单位:mg/g。

1.3.6 过氧化物酶(POD)活性的测定 采用愈创木酚法<sup>[10]</sup>,以470 nm波长OD增加0.01为1个酶的活力单位(U),酶活性以1 min内1 mg可溶性蛋白的酶活表示,单位:U/mg。

1.3.7 丙二醛(MDA)含量的测定 采用硫代巴比妥酸(TBA)法<sup>[10]</sup>,单位:μmol/g。

## 1.4 数据分析

采用Excel 2003和SPSS 19.0软件进行数据处理,并采用Duncan法进行差异显著性分析。

## 2 结果与分析

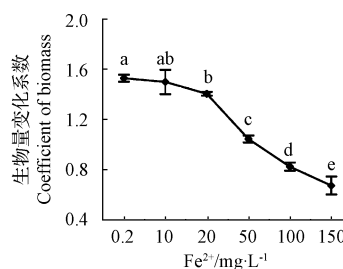
2.1 Fe<sup>2+</sup>对紫萍生长的影响

植物的生长是植物最基本的生命活动,特别是对于像紫萍这样具有快速生长增殖能力的植物,对生长的抑制是生命活动被抑制的显著标志,生长常是进行生物监测和评价的重要指标<sup>[11]</sup>。表1和图1结果表明,培养液中铁水平的升高对紫萍的生长有显著抑制作用,但在Fe<sup>2+</sup>浓度小于10 mg/L时,紫萍仍能较好的生长;在Fe<sup>2+</sup>浓度20 mg/L时,紫萍生长开始受到抑制,新生叶状体较小;在Fe<sup>2+</sup>浓度50 mg/L时,紫萍生长受到明显抑制,生长停滞,出现变黄、叶背面紫色消退、脱根、株叶分离现象;在Fe<sup>2+</sup>浓度高于100 mg/L时紫萍鲜重显示出负增长,表现为叶状体变褐、变黑、坏死,说明紫萍对Fe<sup>2+</sup>有一定的耐受性,能在低浓度(<10 mg/L)的铁污染水体中生长,但高浓度的Fe<sup>2+</sup>会造成毒害。造成这种现象的原因可能是在低浓度Fe<sup>2+</sup>处理的时候,Fe<sup>2+</sup>被紫萍吸收,以螯合态形式存在,与抗氧化酶系统共同协同防御,降低了氧化损伤。但高于防御阈值后,破坏了生

理平衡,直接造成生长缓慢,叶状体失绿变褐,植株鲜重降低,甚至死亡。

表1 Fe<sup>2+</sup>处理4 d后紫萍的生长状况Table 1 Visual appearance of *Spirodela polyrhiza* after 4 days Fe<sup>2+</sup> treatment

Fe <sup>2+</sup> /mg·L <sup>-1</sup>	生长状况 Growth status
0.2	生长旺盛、长势良好
10	生长旺盛、叶状体颜色较深
20	叶状体颜色微黄、新生叶较小
50	叶状体泛黄、叶背紫色消退、有株叶分离现象
100	脱根、叶状体变褐变黑、坏死
150	脱根、叶状体变黑、坏死

图1 Fe<sup>2+</sup>对紫萍生长的影响

注:不同小写字母表示不同Fe<sup>2+</sup>处理浓度间差异显著( $P < 0.05$ )。下同。

Fig. 1 Effect of Fe<sup>2+</sup> on growth of *Spirodela polyrhiza*

Note: The different little letters show significant different at 0.05 level. The same below.

2.2 Fe<sup>2+</sup>对紫萍光合色素含量的影响

由图2可知,在Fe<sup>2+</sup>处理下,紫萍叶绿体中的叶绿素a、叶绿素b和类胡萝卜素含量发生了很大的变化。总体而言,光合色素含量呈先升后降趋势。分别对不同Fe<sup>2+</sup>处理浓度下的同一色素含量进行多重比较显示,低浓度(10 mg/L)的Fe<sup>2+</sup>可以使紫萍的叶绿素a和叶绿素b的含量显著增加( $P < 0.05$ ),类胡萝卜素含量变化不显著( $P > 0.05$ )。但在高浓度(>50 mg/L)的Fe<sup>2+</sup>胁迫下,叶绿素含量急剧下降,当Fe<sup>2+</sup>浓度为150 mg/L时,叶绿素a、叶绿素b和类胡萝卜素分别比对照(0.2 mg/L)降低了57.4%、48.1%和33.5%,均具有显著性差异( $P < 0.05$ )。相对而言Fe<sup>2+</sup>对类胡萝卜素含量影响不明显。

叶绿素含量减少是衡量叶片衰老的重要生理指标<sup>[12]</sup>。试验也说明了低浓度的铁对紫萍生长无害,铁是植物叶绿体的重要成分,植物叶片中铁的含量与叶绿素的含量直接相关<sup>[13]</sup>,但超出一定的浓度范围后,将导致植物叶绿素含量急剧下降。已有研究表明叶绿素含量降低的原因主要是重金属离子作用于叶绿素生物合成途径中几种酶的肽链中富含-SH的部分,抑制了酶的活性从而阻碍了叶绿素的合成<sup>[14]</sup>。所以叶绿素可以反映紫萍受铁毒害的程度。

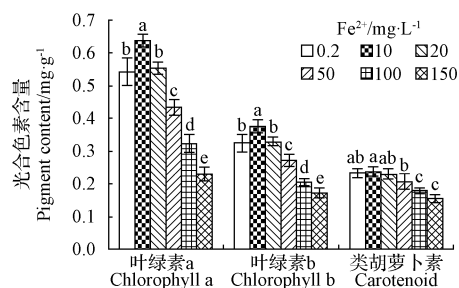
图2  $\text{Fe}^{2+}$  对紫萍光合色素含量的影响

Fig. 2 Effect of  $\text{Fe}^{2+}$  on the content of photosynthetic pigment of *Spirodela polyrhiza*

### 2.3 $\text{Fe}^{2+}$ 对紫萍叶绿素荧光参数 $F_v/F_m$ 的影响

$F_v/F_m$  值代表了光合系统 II(PSII)中最大光化学通量,反映 PSII 反应中心原初光能转化效率。在荧光分析中, $F_v/F_m$  是最常使用的参数。在正常生理状态下, $F_v/F_m$  变化较小,但植物受到胁迫后, $F_v/F_m$  将下降,因此,它也是植物生长环境良好与否的一个重要参数,并可在较短的时间内显示出植物受到的胁迫对光合作用的伤害。

由图 3 可知,紫萍在培养液  $\text{Fe}^{2+}$  浓度升高时,在 0.2~10 mg/L 范围内, $F_v/F_m$  值基本不变,说明植物的调节机制发挥了作用。但是随着  $\text{Fe}^{2+}$  处理浓度的增加, $F_v/F_m$  变得敏感,数值大幅下降;在高浓度(>100 mg/L)  $\text{Fe}^{2+}$  处理时  $F_v/F_m$  值已下降到很低的水平直至仪器不能检出,此时紫萍叶片失绿变褐,这可能是叶绿素已失活造成的,同时 PS II 已经遭到破坏,发生了光抑制的现象。

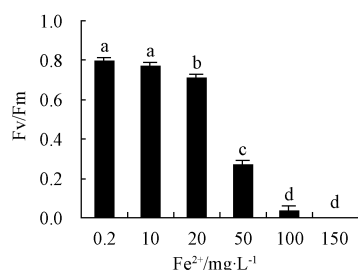
图3  $\text{Fe}^{2+}$  对浮萍叶片叶绿素荧光参数  $F_v/F_m$  的影响

Fig. 3 Effect of  $\text{Fe}^{2+}$  on chlorophyll fluorescence parameter  $F_v/F_m$  in leaves of *Spirodela polyrhiza*

### 2.4 $\text{Fe}^{2+}$ 对紫萍可溶性蛋白含量的影响

由图 4 可知,培养 4 d 后紫萍在  $\text{Fe}^{2+}$  胁迫下,其可溶性蛋白含量明显的降低。在低  $\text{Fe}^{2+}$  浓度(<10 mg/L) 培养条件下,紫萍可溶性蛋白的含量基本无太大的变化。铁是植物生长必需的微量元素之一,低浓度铁对植物生长有利,所以不会造成其合成能力的降低。而高浓度(>20 mg/L)的  $\text{Fe}^{2+}$  却可以使紫萍的可溶性蛋白含量急剧降低,150 mg/L 的  $\text{Fe}^{2+}$  处理 4 d 后,可溶性蛋白含量仅为对照的 21.6%。植物体内的可溶性蛋白质大多

数是参与各种代谢的酶类,测其含量是了解植物体总代谢的一个重要指标,从而了解植物是否受到胁迫。该试验结果说明高浓度的  $\text{Fe}^{2+}$  对植物体的蛋白质合成起破坏作用,从而影响了紫萍的正常代谢。

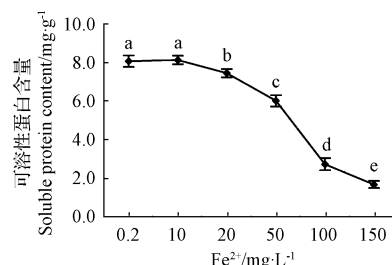
图4  $\text{Fe}^{2+}$  对紫萍可溶性蛋白含量的影响

Fig. 4 Effect of  $\text{Fe}^{2+}$  on the content of soluble protein of *Spirodela polyrhiza*

### 2.5 $\text{Fe}^{2+}$ 对紫萍过氧化物酶(POD)活性的影响

由图 5 可知,试验 4 d 后  $\text{Fe}^{2+}$  浓度小于 20 mg/L 时,紫萍 POD 活性随  $\text{Fe}^{2+}$  浓度的增加而增加,在浓度大于 20 mg/L 时其 POD 活性随  $\text{Fe}^{2+}$  浓度的增加而降低,整体呈低促高抑趋势。

当植物遭受逆境条件时,植物体内就会产生大量的活性氧。活性氧升高可以通过破坏脂类、核酸和蛋白质等来扰乱细胞正常的代谢。POD 是一种植物体内抗自由基损伤的保护酶,它可利用  $\text{H}_2\text{O}_2$  来催化由重金属胁迫而产生的一些对植物有害的过氧化物的氧化和分解,从而清除自由基,使细胞免受损伤。Van Assche F 等<sup>[15]</sup> 研究发现植物对重金属的响应时它们组织中 POD 活性明显升高,说明 POD 在清除重金属产生的自由基以及提高植物的耐性能力上可能存在十分重要的作用。紫萍在低铁胁迫下,可通过提高 POD 的活性来清除体内过多的活性氧。当  $\text{Fe}^{2+}$  浓度大于 50 mg/L,紫萍 POD 活性急剧降低,说明此浓度的铁胁迫已超出了紫萍本身的抗氧化调节能力。POD 活性降低通常是植物受到严重过氧化损伤的标志<sup>[16]</sup>。

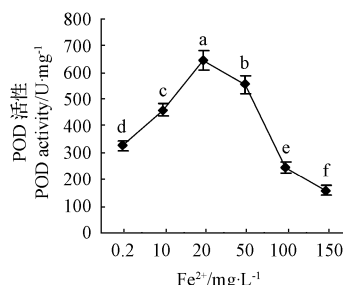
图5  $\text{Fe}^{2+}$  对 POD 活性的影响

Fig. 5 Effects of  $\text{Fe}^{2+}$  on POD activity of *Spirodela polyrhiza*

### 2.6 $\text{Fe}^{2+}$ 对紫萍 MDA 含量的影响

由图 6 可知,试验 4 d 后随着培养液中  $\text{Fe}^{2+}$  浓度的增加,紫萍 MDA 的含量明显提高。MDA 是常用的膜脂

过氧化指标,是植物器官在衰老或逆境条件下,发生膜脂过氧化的产物之一,其含量的高低表示细胞膜脂过氧化程度和植物对逆境条件耐受的强弱<sup>[17]</sup>。在 10 mg/L  $\text{Fe}^{2+}$  浓度下,紫萍 MDA 含量的升高并不明显;当  $\text{Fe}^{2+}$  浓度超过 20 mg/L 时,紫萍 MDA 的含量显著升高( $P < 0.05$ ),说明在高铁胁迫下紫萍膜脂已经发生了严重的过氧化损伤,培养条件已经不能适合紫萍的生长。

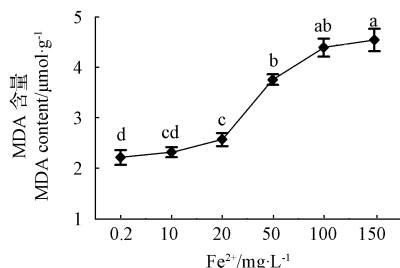


图6  $\text{Fe}^{2+}$  对紫萍 MDA 含量的影响

Fig. 6 Effects of  $\text{Fe}^{2+}$  on the content of MDA of *Spirodela polyrrhiza*

### 3 结论

紫萍对  $\text{Fe}^{2+}$  有一定的耐受性,耐受范围为 0~10 mg/L。在 0~10 mg/L  $\text{Fe}^{2+}$  浓度范围内,紫萍的生长、光合色素含量、 $F_v/F_m$ 、可溶性蛋白、抗氧化系统没有受到负面影响,低浓度(<10 mg/L)的  $\text{Fe}^{2+}$  还能提高紫萍的色素含量; $\text{Fe}^{2+}$  浓度超过 20 mg/L 时开始对紫萍构成胁迫,高浓度(>50 mg/L)的  $\text{Fe}^{2+}$  可以使紫萍的生理生化指标紊乱,细胞内抗氧化系统破坏,产生明显的毒性作用。紫萍的  $F_v/F_m$  值、POD 活性、可溶性蛋白及 MDA 含量对环境变化较为敏感,可以作为紫萍受铁污染胁迫的生化监测指标。

紫萍适合在  $\text{Fe}^{2+}$  浓度 10 mg/L 以下的水体中生长或人工培植。

## Effects of $\text{Fe}^{2+}$ on the Growth and Physio-chemical Characters of *Spirodela polyrrhiza*

XU Xiao-hui<sup>1</sup>, LIN Hai-fang<sup>2</sup>, ZOU Ke-qin<sup>1</sup>

(1. College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou, Zhejiang 310018; 2. College of Modern Science and Technology, China Jiliang University, Hangzhou, Zhejiang 310018)

**Abstract:** The effect of  $\text{Fe}^{2+}$  on the growth, the content of photosynthetic pigment,  $F_v/F_m$ , the activity of peroxide (POD), the content of MDA of *Spirodela polyrrhiza* were studied in a solution culture system. The results showed that when the concentration of  $\text{Fe}^{2+}$  was from 0.2 mg/L to 10 mg/L,  $\text{Fe}^{2+}$  had limited effect on the growth,  $F_v/F_m$ , the content of soluble protein and MDA of *Spirodela polyrrhiza*, but could increase the content of pigment and the activity of peroxide (POD). When the concentration of  $\text{Fe}^{2+}$  was more than 20 mg/L, the growth was inhibited, the content of pigment,  $F_v/F_m$ , the activity of peroxide (POD) was decreased, and the content of MDA was increased significantly. These showed that the apparent toxic effect of  $\text{Fe}^{2+}$ .

**Key words:**  $\text{Fe}^{2+}$ ; *Spirodela polyrrhiza*; physio-chemical characters

### 参考文献

- [1] 凌云,何板作,鲍燕燕,等.浮萍的化学成分研究[J].中草药,1999,30(2):88-90.
- [2] Golovchenko V V, Ovodova R G, Shashkov A S, et al. Structural studies of the pectic polysaccharide from duckweed *Lemna minor* L[J]. Phytochemistry, 2002, 60: 89-97.
- [3] 孔春林,陈宇.开发浮萍作饲料[J].广东饲料,2006,15(1):40-41.
- [4] 种云霄,胡洪营,钱易.大型水生植物在水污染治理中的应用研究进展[J].环境污染治理技术与设备,2003,4(2):36-40.
- [5] 侯文华,宋关玲,汪群慧.浮萍在水体污染治理中的应用[J].环境科学研究,2004,17(S):70-73.
- [6] Outten F W, Theil E C. Iron-based redox switches in biology[J]. Antioxid Redox Signal, 2009, 11(5):1029-1046.
- [7] Hoagland D R, Arnon D I. The water culture method for growing plants without soil[C]. Circular California Agricultural Experimental Station, 1938, 347: 1-39.
- [8] 邹琦.植物生理学实验指导[M].北京:中国农业出版社,2000:72-75.
- [9] Bradford M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical biochemistry, 1976, 72: 248-254.
- [10] 陈建勋,王晓峰.植物生理学实验指导[M].广州:华南理工大学出版社,2002:120-121,124.
- [11] 李红敬,谢素霞,李天煜. Cu 对紫背浮萍的影响[J]. 广西植物, 2003, 23(4): 362-366.
- [12] 夏卓英,张明强,王良峰.不同浓度 Pb(II)对稀脉萍和紫萍的毒性效应[J].环境科学与技术,2009,32(6):123-129.
- [13] 王静,丛日晨,毛秀红.不同 Fe 处理对油松幼苗叶绿素的影响[J].山东林业科技,2010(1):1-4.
- [14] Somashekarish B V, Padmaja K, Prasad R K. Phytotoxicity of Cadmium ions on germination seedling of mung bean: Involvement of lipid peroxides in chlorophyll degradation[J]. Physiology Plant, 1992, 85: 85-89.
- [15] Van Assche F, Clijsters H. Effects of metal on enzyme activity in plants[J]. Plant Cell and Environment, 1990, 13: 195-206.
- [16] 马文丽,金小弟,王转花.镉处理对燕麦种子萌发幼苗生长及抗氧化酶的影响[J].农业环境科学学报,2004,23(1):55-59.
- [17] 李志辉,董晓辉,童方平.矿区构树叶片保护酶与丙二醛的四季变化及抗逆性[J].中南林业科技大学学报,2010,30(5):106-109.