

# 铅胁迫下德国鸢尾生长特征和分布的研究

朱旭东<sup>1,2</sup>, 田松青<sup>1</sup>, 原海燕<sup>2</sup>, 黄苏珍<sup>2</sup>

(1. 苏州农业职业技术学院, 江苏 苏州 215008; 2. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园), 江苏 南京 210014)

**摘要:**以德国鸢尾为试材, 采用液体培养方法研究了不同浓度铅胁迫对其分株苗生长的影响和分布等规律。结果表明: 随着  $Pb^{2+}$  浓度的升高, 植株的株高、新发不定芽数、存活叶片数、根长、根数、鲜重及干重均随  $Pb^{2+}$  浓度的增加呈下降的趋势。电镜超微结构显示铅主要富集在根中的细胞内外壁上, 引起根和叶细胞破坏, 铅影响德国鸢尾体内正常的物质代谢活动, 抑制了植物生长。

**关键词:**德国鸢尾; 铅(Pb); 生长; 分布

**中图分类号:**Q 945.78 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)09-0082-05

重金属污染是指由重金属或其化合物造成的环境污染, 我国耕地重金属污染面积在 16% 以上, 矿山开采、工业活动、农药使用和不断频发的污染事件都会增加环

境中重金属污染<sup>[1-2]</sup>。铅(Pb)是生物毒性最强的重金属元素之一, 由于用途广泛, 已成为污染范围较广的金属元素, 通过食物链在动物和人体内富集, 会损伤肠胃、毒害肾脏、损害神经、致铅性贫血、致高血压、致不孕不育症以及影响儿童智能发育, 对人类健康造成潜在的危害, 铅污染受到了越来越广泛的关注<sup>[3-7]</sup>。近期发生的上海康桥、广东仁化、陕西凤翔、安徽怀宁、云南鹤庆和江苏大丰儿童血铅超标事件社会反映强烈, 加快环境中铅污染的修复工作刻不容缓。植物修复是一种绿色廉价、被人们所广泛认可的有效的治理措施, 其核心技术在于利用极少数超富集植物来去除土壤或水体中的铅以达到修复和治理环境的目的<sup>[8-9]</sup>。目前国内外报道的

**第一作者简介:**朱旭东(1972-), 男, 博士研究生, 副教授, 现主要从事观赏植物逆境生理生态研究工作。E-mail: 13862130525@163.com.

**责任作者:**黄苏珍(1959-), 女, 博士生导师, 研究员, 现主要从事观赏植物种质资源研究工作。E-mail: hsz1959@163.com.

**基金项目:**江苏省教育厅 2012 年“青蓝工程”资助项目; 江苏省“农业三星工程”资助项目(SXGC[2013]088); 苏州市科技支撑计划资助项目(SNG201209)。

**收稿日期:**2014-01-14

## Effect of Drought Stress on Physiological Characteristics of Three Moss Species

GUO Chun-hui, SHA Wei, LI Xiao-kai

(Key Laboratory of Genetic Engineering, College of Life Science and Forestry, Qiqihar University, Qiqihar, Heilongjiang 161006)

**Abstract:** Taking three kinds of mosses including *Racomitrium japonicum* Dozy & Molke, *Grimmia piliifera* P. Beauv. and *Tortula ruralis* Gaertn as materials, three kinds of mosses were subjected to drought treatment by silica gel for three months of different time gradients, and the effect of drought stress on six physiological indexes of them including relative water content (RWC), malondialdehyde (MDA) content, POD activity, free proline (Pro) content, soluble protein (SP) content and soluble sugar (SS) content were studied. The results showed that the malondialdehyde content in the three mosses treated with silica drought stress was gradually decreased and then increased and reveals the same trend once again along with the relative water content reduced. POD activity of *Tortula ruralis* was lower than those of the other two mosses, and changes inconspicuously, while the POD activity of *Racomitrium japonicum* and *Grimmia piliifera* in different periods showed great changes. Among osmoregulation substances of the three moss species, the change of free proline content and soluble sugar (SS) content were inversely related, however, change of soluble protein (SP) content and POD activity was positively related. To some extent, the six physiological indexes indicated that the three mosses may have some special physiological mechanisms those were different from other plants.

**Key words:** silica gel drought stress; *Racomitrium japonicum*; *Grimmia piliifera*; *Tortula ruralis*; physiological characteristics

铅超积累植物有圆叶遏蓝菜(*Thlaspi rotundifolium*)、印度芥菜(*Brassica juncea*)、狭叶香蒲(*Typha angustifolia*)、东南景天(*Sedum alfredii*)、酸模(*Rumex acetosa*)等<sup>[10-11]</sup>,这些铅超积累植物直接应用于铅污染的土壤修复,不仅一些铅超积累植物本身存在的生物量小、观赏性差以及不能重复利用等不足,而且由于不同植物适生的地域性差异,现仅有少数的铅超积累植物种类远远不能满足实际植物修复应用需要广泛的植物生态型种类的需求。因此,利用丰富的植物资源,筛选具有超积累能力,且生物量大、生长快的植物对解决和修复重金属污染问题具有重要实践意义<sup>[12]</sup>。

鸢尾属(*Iris* L.)植物普遍具有观赏性好、适应性广、抗性强以及管理粗放等特性<sup>[13]</sup>。马蔺(*Iris lactea* var. *chinensis*)、黄菖蒲(*Iris pseudacorus*)、喜盐鸢尾(*Iris halophila*)的花菖蒲(*Iris ensata*)等鸢尾属植物具有一定富集重金属  $Pb^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$  和  $Cu^{2+}$  的能力,并对其耐性机理进行了初步研究和探讨<sup>[14-16]</sup>。德国鸢尾(*Iris germanica*)是耐性很强的观赏植物,观赏性与耐旱、耐寒性较强,并具有生长迅速、生物量较大和多年生反复收割利用的优点,作为吸收和富集修复重金属铅污染土壤方面的相关研究未见报道,其铅吸收、转运以及富集机制和生理响应机制仍尚未完全明确。

该试验通过营养液培养法,在不同  $Pb^{2+}$  处理浓度(200、400、800、1 000、1 200 mg/L)胁迫下,研究了德国鸢尾成年分株苗生长、生物量及  $Pb^{2+}$  分布等,探讨铅胁迫下德国鸢尾的铅耐性特性,以期为今后应用该植物进行重金属污染环境修复提供一定的科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为德国鸢尾(*Iris germanica* L.)品种‘印度首领’,植物材料栽培于江苏省中国科学院植物研究所鸢尾种质圃8年以上,分株苗均为无性繁殖群体当年分蘖的幼苗。

### 1.2 试验方法

试验于2011年3月在南京中山植物园温室进行。德国鸢尾分株苗从母株根茎分离处分离,选择健壮、长势、株高一致的分株苗置于20 L塑料周转箱(40株/箱)中培养。以50% Hoagland 营养液预培养,每周换1次营养液。预培养4周生根长达3 cm以上后,移栽于2 L塑料盆,换成10% Hoagland 营养液,  $Pb^{2+}$  浓度分别为0、200、400、600、800、1 000、1 200 mg/L,  $Pb^{2+}$  以  $Pb(NO_3)_2$  的形式加入。每处理3次重复,每3 d换1次营养液。于处理后4周取样测定各项指标。试验于南京中山植物园温室内进行,温度25/18℃、相对湿度(70±5)%,自然光照。

### 1.3 项目测定

#### 1.3.1 株高、根长等生长指标的测定 每个处理随机选

择9株苗,用直尺测定每株最长叶并取平均值为株高,最长根并取平均值为根长,统计每株新产生的不定芽数并取平均值为新发不定数,具有绿色未枯萎的叶片、包括新的叶片并取平均值为存活叶片数,已完全没有绿色的叶片并取平均值为枯死叶片数,每株一级根数并取平均值为根数。

1.3.2 根系、根状茎、叶的鲜重和干重的测定 将幼苗从营养液中取出,植株先用蒸馏水冲洗,再在20 mmol/L 乙二胺四乙酸二钠(EDTA- $Na_2$ )溶液中交换30 min,以去除根系表面粘附的金属离子。再用去离子水冲洗干净,吸水纸吸干表面水分,将叶片、根茎和根系分开,测定根系、根状茎、叶鲜物质量。将分开的植株各部分在105℃下杀青30 min,然后在60℃下烘干至恒重,测定根系、根状茎、叶干物质量。

1.3.3 叶片、根尖的固定、制片与透射电镜超微结构观察  $Pb^{2+}$  处理后叶片、根尖的固定、制片及透射电镜观察等参考Sridhar等<sup>[17]</sup>的方法。收获取样的材料,用自来水和蒸馏水冲洗干净,吸干水分,剪取根尖长1.0 cm,中部叶片0.3 cm×0.3 cm大小,直接固定于含有2.5%戊二醛的50 mM 哌嗪(pH 6.8)试剂溶液中。之后将固定的材料在真空泵中减压,使固定液完全渗透到植物材料中,直至材料下沉。不同处理的叶片、根尖经清水清洗后经系列浓度的乙醇脱水包埋于Spurr's 树脂中,70℃下聚合8 h。POWTIME-XL 超薄切片机切片,收集切片于铜网中,在H-7650 透射电镜(TEM)下观察叶片、根尖细胞超微结构的变化和  $Pb^{2+}$  积累的部位并拍照。

### 1.4 数据分析

采用Excel 和 SPSS 软件对试验数据进行统计和方差分析(ANOVA),所有数据均为3次重复的平均值。

## 2 结果与分析

### 2.1 $Pb^{2+}$ 胁迫对德国鸢尾生长的影响

由图1可以看出,德国鸢尾株高、新发不定芽数、存活叶片数、根长及根数均随  $Pb^{2+}$  浓度的增加呈下降的趋势。株高随  $Pb^{2+}$  浓度的增加呈逐渐下降趋势,低浓度的铅对其影响不大,在1 200 mg/L  $Pb^{2+}$  胁迫下产生了显著性差异。 $Pb^{2+}$  胁迫对新发不定芽影响显著,200 mg/L  $Pb^{2+}$  使产生不定芽数下降了43.9%,浓度达到800 mg/L时就不再产生不定芽,完全抑制了植株的无性繁殖。德国鸢尾叶正常生长时由外到内枯萎更换,新叶由中心生长点发出。200 mg/L  $Pb^{2+}$  处理后存活叶片数下降25.0%,枯死叶片数比对照增加60.0%,仍有部分新叶发出,但对叶片枯萎有显著影响,在1 200 mg/L  $Pb^{2+}$  处理叶片枯萎程度最大,多数老叶黄化干枯,已明显表现出失绿症状,比对照增加80.0%,但植株仍能存活。所有  $Pb^{2+}$  处理对根的伸长产生显著影响,但不同浓度处理之间差异不大。根数随  $Pb^{2+}$  浓度的增加呈逐渐下降趋势,根系颜色逐渐变褐,低浓度的  $Pb^{2+}$  对其影响不大,并

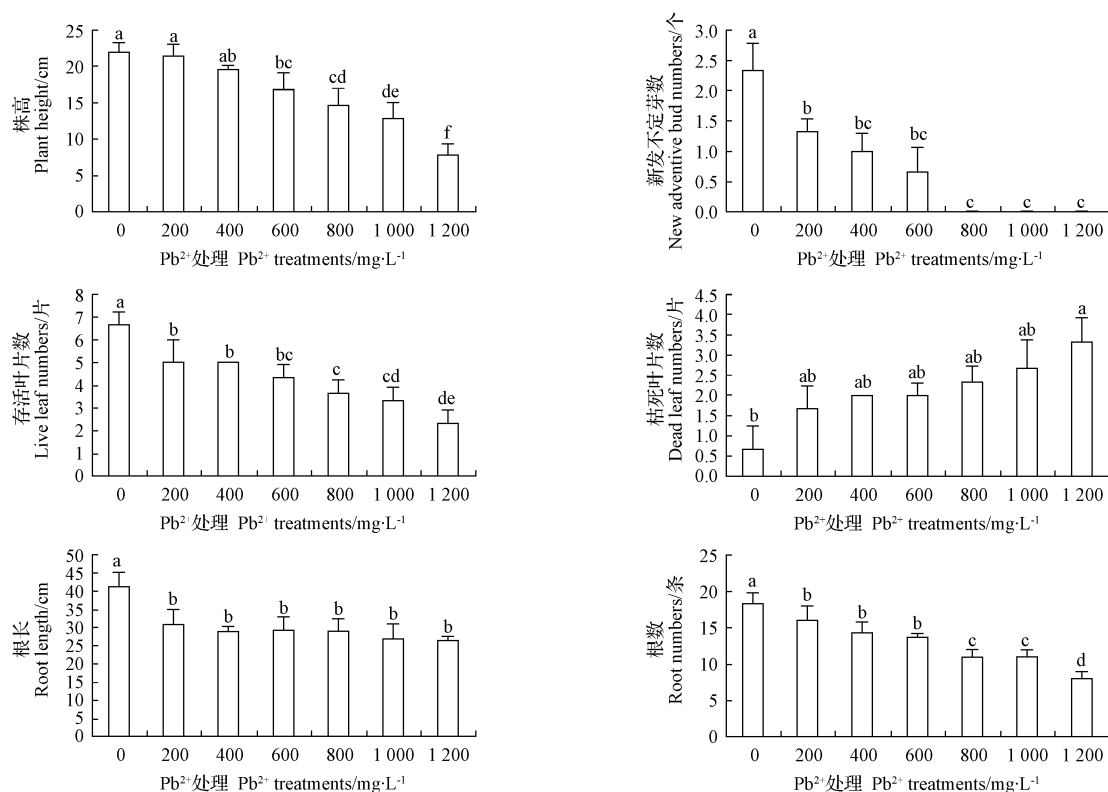


图1  $Pb^{2+}$  胁迫对德国鸢尾生长的影响

注:数据用邓肯多重比较,不同字母的数值表示它们之间有显著差异( $P < 0.05$ )。

Fig. 1 The effect of different  $Pb^{2+}$  treatments on growth of *Iris germanica* L.

Note: Different letters indicate significant difference  $P = 0.05$  level, according to Duncan's multiple range test.

有新根发生,在 800 mg/L 以上  $Pb^{2+}$  胁迫下产生了显著性差异,不再有新根发生,与产生不定芽相一致。

## 2.2 $Pb^{2+}$ 胁迫对德国鸢尾生物量的影响

由图2可以看出,不同浓度土壤  $Pb^{2+}$  胁迫对德国鸢尾叶片、根状茎和根系生物量的影响较大,都呈逐渐下降趋势,部分处理间差异表现显著( $P > 0.05$ )。根系最先接触到铅,对铅处理十分敏感,低浓度 200 mg/L  $Pb^{2+}$  处理使其鲜重和干重比对照各下降了 29.6%和 32.5%,并有新根发生,在 1000 mg/L 时鲜重和干重比对照各下降了 41.1%和 62.7%。同浓度土壤  $Pb^{2+}$  胁迫根状茎的鲜重影响不如对根系影响大,在最高浓度 1200 mg/L 时鲜重比对照只下降了 32.8%,但对根状茎的干物质积累影响较大,在最高浓度 1200 mg/L 时干重比对照下降了 58.5%,与地上部分叶片受损,光合作用等代谢减弱有关。叶片也对铅处理敏感,低浓度 200 mg/L  $Pb^{2+}$  和高浓度 1200 mg/L  $Pb^{2+}$  处理都产生显著影响,使其鲜重和干重比对照各下降了 25.0%和 15.2%、80.4%和 70.8%。总体上,说明重金属  $Pb^{2+}$  已抑制了植物体内正常的物质代谢活动,植物受到了伤害越来越严重。

## 2.3 $Pb^{2+}$ 在德国鸢尾根尖和叶片亚细胞结构中的分布和对其影响

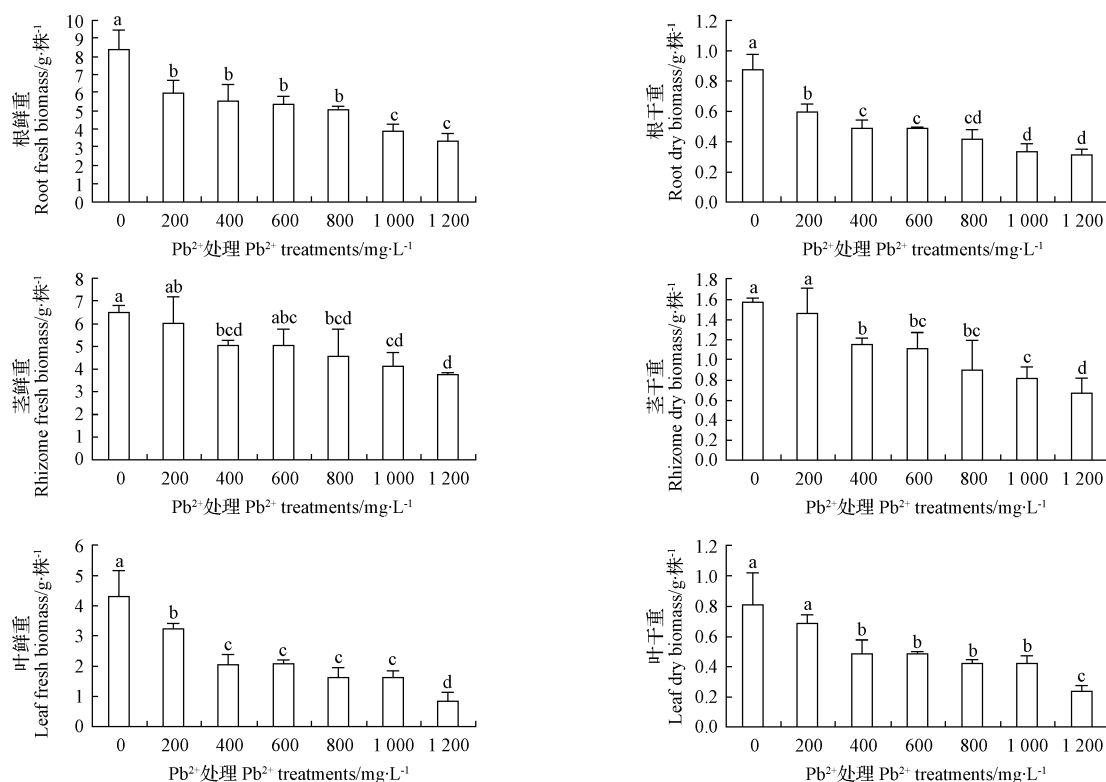
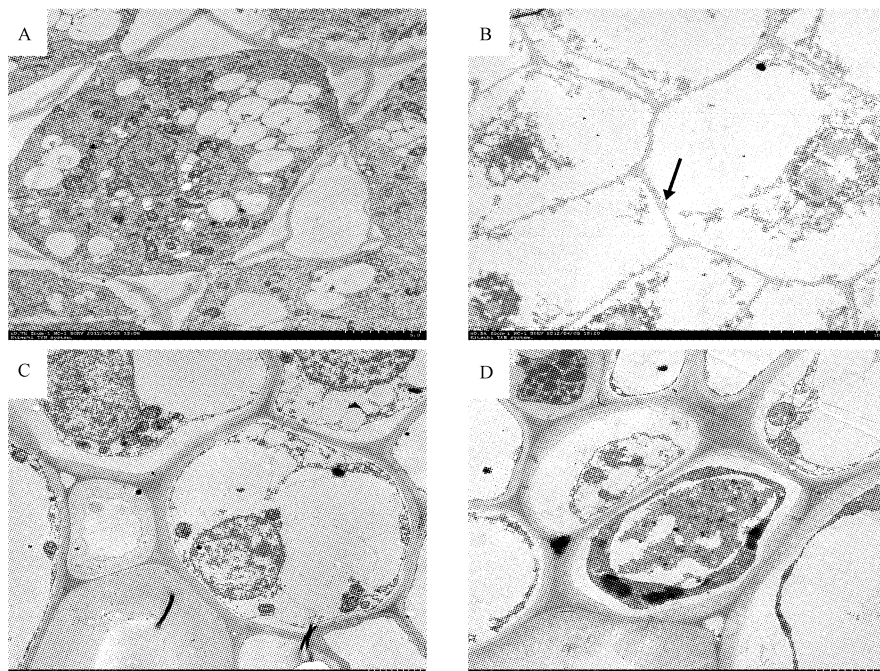
对德国鸢尾根尖超微结构的观察发现,没有经过铅处理的细胞其结构正常(图3-A),在细胞壁、胞间隙和液

泡中没有黑色铅颗粒的存在。经过 800 mg/L  $Pb^{2+}$  处理的根尖细胞(图3-B)发生畸形,细胞膜破损,部分原生质已经不存在,为死细胞,细胞核不完整,线粒体等细胞器失去原有形态,细胞间隙和细胞壁内分布大小不等的黑色颗粒。对德国鸢尾叶片超微结构的观察发现,没有经过铅处理的细胞其结构正常(图3-C),在细胞壁、胞间隙和液泡等中没有铅颗粒分布。经过 800 mg/L  $Pb^{2+}$  处理的叶片细胞(图3-D)发生质壁分离,细胞核破损。导致叶绿体内类囊体排列紊乱、膨大,基粒排列方向改变,基粒和基质片层界限模糊不清,被膜破损或消失,甚至解体,细胞间隙和细胞壁内也没有黑色颗粒。

## 3 讨论

不同鸢尾属植物对  $Pb^{2+}$  耐受能力不同,Han 等<sup>[16]</sup> 水培研究表明供试 6 种鸢尾属植物中花菖蒲、喜盐鸢尾和马蔺对  $Pb^{2+}$  的积累和耐受能力相对较强,其中在 4 mmol/L  $Pb^{2+}$  浓度胁迫下,喜盐鸢尾、花菖蒲和马蔺 3 种鸢尾表现出较强的耐受和富集能力。花菖蒲、喜盐鸢尾和马蔺等鸢尾试验材料都是种子萌发的播种苗,生物量小,而该次试验的德国鸢尾为成年分株苗,生物量大,特别是具有粗状的根状茎,积累了一定的营养,它对植株生长发育、繁殖、逆境抗性等方面起着十分重要的作用。在营养液培养条件下,随着处理的  $Pb^{2+}$  浓度的升



图2 Pb<sup>2+</sup>胁迫对德国鸢尾生物量的影响Fig. 2 The effect of different Pb<sup>2+</sup> treatments on biomass of *Iris germanica* L.图3 Pb<sup>2+</sup>胁迫下德国鸢尾根尖和叶片的超微结构

注:A. 未经铅处理(CK)的根尖细胞的超微结构,标尺每格为5 μm;B. 为800 mg/L Pb<sup>2+</sup>处理的根尖分生组织细胞,黑色箭头所指为Pb<sup>2+</sup>颗粒紧附于细胞壁上,标尺每格为1 μm;C. 未经铅处理(CK)的叶片细胞的超微结构,标尺每格为2 μm;D. 为800 mg/L Pb<sup>2+</sup>处理的叶片组织细胞,标尺每格为2 μm。

Fig. 3 Transmission electron micrographs of root and leaf cells of *Iris germanica* L. under Pb<sup>2+</sup> treatments

Note: A. Root cells grown in 1/10 Hoagland nutrient solution without Pb<sup>2+</sup> (CK), scale marker represents 5 μm; B. Root cells grown in 1/10 Hoagland nutrient solution composed of 800 mg/L Pb<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> deposits on the inner surface of cell walls (indicated with black arrowhead), scale marker represents 1 μm; C. Leaf cells grown in 1/10 Hoagland nutrient solution without Pb<sup>2+</sup> (CK), scale marker represents 2 μm; D. Leaf cells grown in 1/10 Hoagland nutrient solution composed of 800 mg/L Pb<sup>2+</sup>, scale marker represents 2 μm.

高,德国鸢尾植株的株高、新发不定芽数、存活叶片数、根长、根数、鲜重及干重均随  $Pb^{2+}$  浓度的增加呈下降的趋势。 $Pb^{2+}$  影响德国鸢尾体内正常的物质代谢活动,抑制了植物的生长,但仍存活,表现较强的耐性。

富集植物吸收的  $Pb^{2+}$  在体内的分布有 2 种情况:一是大部分累积在根部;另一种是把根系吸收的  $Pb^{2+}$  大部分运输到地上部。重金属在植株内的运输影响植物对重金属的吸收与耐性,在植物体内各部位的分布以及植物体内物质的结合形态等。大量的报道<sup>[18-20]</sup> 说  $Pb^{2+}$  进入植物体内后绝大部分累积在根部,例如该试验中的富集植物德国鸢尾  $Pb^{2+}$  通过测定和亚显微结构观察说明主要富集在根部,运输到地上部的仅是一小部分,其原因是有待于铅转运机理的研究。

### 参考文献

- [1] Thapa G, Sadhukhan A, Panda S K, et al. Molecular mechanistic model of plant heavy metal tolerance[J]. *Biomaterials*, 2012, 25: 489-505.
- [2] Alloway B J. *Heavy Metals in Soils*[M]. London: Blackie Academic and Professional, 1995: 206-223, 368.
- [3] 韦友欢, 黄秋婵. 铅对人体健康的危害效应及其防治途径[J]. *微量元素与健康研究*, 2008, 25: 62-64.
- [4] 顾继光, 林秋奇, 胡韧, 等. 矿区重金属在土壤-作物系统迁移行为的研究——以辽宁省青城子铅锌矿为例[J]. *农业环境科学学报*, 2005, 24(4): 634-637.
- [5] Cao X, Ma L Q, Chen M, et al. Lead transformation and distribution in the soils of shooting ranges in Florida, USA[J]. *Sci Total Environ*, 2003, 307: 179-189.
- [6] 刘红侠, 韩宝平. 徐州市北郊土壤重金属污染演化特征研究[J]. *农业环境科学学报*, 2004, 23(6): 1177-1181.
- [7] Shahidi Bonjar G H. Potential hazards of gasoline additives in altering soil environment in favor of harmful microorganisms[J]. *Int J Environ Res*, 2007, 1(1): 1-4.
- [8] Kavamura V N, Esposito E. Biotechnological strategies applied to the decontamination of soils polluted with heavy metals[J]. *Biotechnology Advances*, 2010, 28(1): 61-69.
- [9] Zhuang X, Chen J, Shim H, et al. New advances in plant growth-promoting rhizobacteria for bioremediation [J]. *Environment International*, 2007, 33(3): 406-413.
- [10] 何冰, 杨肖娥, 倪吾钟. 一种新的铅富集植物——富集生态型东南景天[J]. *植物学报*, 2002, 44(11): 1365-1370.
- [11] Chehregani A, Noori M, Yazdi H L. Phytoremediation of heavy-metal-polluted soils: screening for new accumulator plants in Angouran mine (Iran) and evaluation of removal ability [J]. *Ecotoxicology Environment Safety*, 2009, 72(5): 1349-1353.
- [12] 毛海立, 王震, 龙成梅, 等. 重金属铅超富集植物的研究进展[J]. *黔南民族师范学院学报*, 2011(3): 52-54.
- [13] 黄苏珍, 韩玉林, 谢明云, 等. 中国鸢尾属观赏植物资源的研究与利用[J]. *中国野生植物资源*, 2003, 22(1): 4-7.
- [14] 原海燕, 黄苏珍, 郭智, 等. 锌对镉胁迫下马蔺生长、Cd 积累及生理抗性影响[J]. *应用生态学报*, 2007, 18(9): 2111-2116.
- [15] Han Y L, Huang S Z, Gu J G, et al. Cadmium tolerance and accumulation by two species of *Iris* L. [J]. *Ecotoxicology*, 2007(16): 557-563.
- [16] Han Y L, Huang S Z, Gu J G, et al. Tolerance and accumulation of lead by species of *Iris* L. [J]. *Ecotoxicology*, 2008(17): 853-859.
- [17] Sridhar B B M, Diehl S V, Han F X, et al. Anatomical changes due to uptake and accumulation of Zn and Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*) [J]. *Environ and Exp Bot*, 2005, 54: 131-141.
- [18] Baker A J M, Walker P L. *Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants*[M]. *Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects*, 1990: 155-177.
- [19] 徐勤松, 施国新, 王学, 等. 铅( $Pb^{2+}$ )在凤眼莲 (*Eichhornia crassipes* Solms) 体细胞中分布的电镜观察[J]. *南京师大学报(自然科学版)*, 2006, 29(3): 81-85.
- [20] 江行玉, 赵可夫. 铅污染下芦苇体内铅的分布和铅胁迫相关蛋白[J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2002, 28(3): 169-174.

## Study on Growth and Distribution of *Iris germanica* L. Under Lead Stress

ZHU Xu-dong<sup>1,2</sup>, TIAN Song-qing<sup>1</sup>, YUAN Hai-yan<sup>2</sup>, HUANG Su-zhen<sup>2</sup>

(1. Suzhou Polytechnical Institute of Agriculture, Suzhou, Jiangsu 215008; 2. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences (Nanjing Botanical Garden Mem. Sun Yat-san), Nanjing, Jiangsu 210014)

**Abstract:** Taking *Iris germanica* L. as material, the growth, lead (Pb) accumulation, tolerance and distribution of *Iris germanica* L. seedlings under Pb stress were investigated by nutrient solution culture method. The results showed that the ramet seedling height, new adventive bud number, live leaf number, root length, root number, fresh biomass and dry biomass of *Iris germanica* L. were all decreased with an increase of  $Pb^{2+}$  under single  $Pb^{2+}$  stress. Electron microscopic results showed that  $Pb^{2+}$  deposited on the inner surface of cell walls and seriously destroyed the anatomical structure of root tip and leaf. In brief,  $Pb^{2+}$  treatments affected metabolic activity of *Iris germanica* L. and inhibited growth of roots, rhizomes and leaves.

**Key words:** *Iris germanica* L.; lead(Pb); growth; distribution