

## 汞胁迫对菹草无菌苗生理代谢的影响\*

贾 荣, 施国新\*\*, 乔绪强, 田秀丽, 徐 君, 徐小颖, 杨海燕  
(南京师范大学生命科学学院, 江苏省生物多样性与生物技术重点实验室, 南京 210046)

**摘 要:** 以菹草(*Potamogeton crispus* L.) 无菌苗为实验材料, 研究其在不同浓度汞( $Hg^{2+}$ ) 的胁迫下, 光合色素含量、叶绿体自发荧光强度、ATP 酶活性及相关矿质营养元素(Ca、Mg、Na、K、Fe) 的含量变化以及可溶性蛋白含量的变化, 以探讨 $Hg^{2+}$  胁迫对菹草无菌苗光合系统及相关生理指标变化的影响。研究表明: 随着 $Hg^{2+}$  浓度的增加, 各种光合色素的含量均呈现下降的趋势, 叶绿体自发荧光强度逐渐减弱; Na/K 逐渐增大,  $Na^+ K^+$ -ATP 酶活性逐渐降低,  $Ca^{2+} Mg^{2+}$ -ATP 酶活性呈先升后降趋势; 可溶性蛋白含量先升后降。结果表明, 菹草无菌苗在 $Hg^{2+}$  胁迫下, 光合及其它正常的生理过程遭到破坏, 功能紊乱。

**关键词:** 菹草无菌苗;  $Hg^{2+}$  胁迫; 光合系统; ATP 酶

### $Hg^{2+}$ stress on physiological metabolism in sterile seedlings of *Potamogeton crispus* L.

JIA Rong, SHI Guoxin, QIAO Xuqiang, TIAN Xiuli, XU Jun, XU Xiaoying & YANG Haiyan  
(*Jiangsu Key Lab of Biodiversity and Biotechnology, College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, P. R. China*)

**Abstract:** Sterile seedlings of *Potamogeton crispus* L. were cultured by tissue culture technique. They were exposed to 0, 5, 10, 15, 20  $\mu\text{mol/L}$   $Hg^{2+}$  respectively for 3 days and analyzed with reference to its toxic impact on total chlorophyll content, chlorophyll autofluorescence, the ATPase activity and mineral nutrition absorption under lab conditions. Results revealed that with increasing  $Hg^{2+}$  concentration, the intensity of chlorophyll autofluorescence and chlorophyll decreased gradually. The content of soluble protein increased under 5  $\mu\text{mol/L}$   $Hg^{2+}$  stress, and then followed by a decline in the present of higher concentration of  $Hg^{2+}$ , which was the same as the change of  $Ca^{2+} Mg^{2+}$ -ATPase activity.  $Na^+ K^+$ -ATPase also decreased with the rise of  $Hg^{2+}$  concentration. The absorption of Na, K, Ca, Mg was affected under  $Hg^{2+}$  stress. It was concluded that photo system and normal physiological metabolism were disordered.

**Keywords:** Sterile seedlings of *Potamogeton crispus* L.;  $Hg^{2+}$  stress; photo system; ATPase

重金属离子对植物毒害的影响作为环境污染的热点问题之一, 备受科研工作者的关注。汞作为一种重要的高毒性重金属污染物, 其对野外植物及愈伤组织的毒害研究国内已有一些报道。Ali 等<sup>[1]</sup>指出重金属 $Hg^{2+}$  胁迫下植物体内的活性氧代谢平衡遭到破坏, 膜脂过氧化程度加剧, 膜的结构和功能受到影响。Mor 等<sup>[2]</sup>和 Shi 等<sup>[3]</sup> 研究发现植物的细胞分裂、抗氧化酶系统、超微结构在 $Hg^{2+}$  胁迫后均遭到破坏; 康宜宁等<sup>[4]</sup> 以水生愈伤组织为材料研究 $Hg^{2+}$  毒害机制, 发现在不受外界条件影响的情况下,  $Hg^{2+}$  胁迫使得叶绿素含量显著下降, 自由基清除系统也遭到破坏。逆境胁迫下, 植物体内 ATP 酶活性也发生了很大的变化。徐呈祥等<sup>[5]</sup> 研究发现盐胁迫下芦荟叶同化组织中 ATPase 活性显著下降; 毛桂莲等<sup>[6]</sup> 对 NaCl 胁迫下枸杞愈伤组织中  $H^+$ -ATPase 活性变化研究发现, 轻度胁迫下, 由于盐诱导质膜  $H^+$ -ATPase 基因的表达, 酶活性上升, 随着胁迫的加重, 酶活性下降。但是重金属胁迫下 ATP 酶活性以及相关矿质元素的含量变化却鲜见研究报道。目前研究中采用的材料大都为自然生长的植物, 取材受季节的限制, 基于此, 本文以菹草(*Potamogeton crispus* L.) 无

\* 国家自然科学基金项目(30870139)资助。2011-11-16 收稿; 2012-03-06 收修改稿。贾荣, 女, 1987 年生, 硕士研究生; E-mail: jiarong\_jy@163.com.

\*\* 通信作者; E-mail: gxshi@nynu.edu.cn.

菌苗为材料,从  $\text{Hg}^{2+}$  胁迫着手研究了重金属污染对水生植物的光合、ATP 酶的活性等生理方面的毒害机制,为植物应对重金属逆境胁迫及筛选灵敏的分子生态毒理学指标提供参考和依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料培养

菹草(*Potamogeton crispus* L.), 眼子菜科(Potamogetonaceae)植物,别名虾藻、扎草,多年生草本沉水植物,根状茎,多分枝,侧枝短,主要生长在湖泊、池沼及河水中。菹草秋季发芽,越冬生长,早春生长较快,是特殊的冬、春季生活型植物,喜低温。生长迅速,生物量大,对水体重金属污染的修复具有重要意义,已被作为生物靶标研究水体重金属污染。本实验材料采自南京师范大学生命科学学院水生生物培育池。

菹草无菌苗培养方法:从培育池中选取生长健壮的菹草,切去所有的根和叶,自来水冲洗 1 h,取带侧芽的茎置于经紫外灭菌处理的超净工作台中,用 5% 的  $\text{H}_2\text{O}_2$  消毒 15 min,无菌水冲洗 3 次,用 10% 次氯酸钠消毒 30 s,再用无菌水冲洗 5 次。将消毒处理后的菹草茎剪成 5~8 mm 长,辨认形态学上端后,置于 MS 培养基(含 6-BA 2.0 mg/L, IBA 0.5 mg/L)诱导芽分化,10 d 左右茎间侧芽约 2 cm 长,转入 MS 继代培养基(含 IBA 2.0 mg/L, 6-BA 0.5 mg/L)继代培养 1 个月后,置于 1/10 的无菌 Hoagland 营养液中进行生根培养以得到完整的无菌苗,时长为 15 d。整个组培过程在培养室进行,培养温度为 25℃,每天光照 16 h,光照强度为 240~300  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。

### 1.2 实验设计

选取生长状况一致的菹草无菌苗置于含 0、5、10、15 和 20  $\mu\text{mol}/\text{L}$   $\text{HgCl}_2$  (以纯  $\text{Hg}^{2+}$  计)的 1/10 Hoagland 无菌营养液中,整个毒害实验都在全封闭培养箱中完成,条件同培养菹草无菌苗时一致。第 3 d 时,在相同的时间段内取出无菌苗,去离子水洗净、揩干,进行各项指标测定,实验重复 3 次。

### 1.3 实验方法

1.3.1 光合特征指标的测定 光合色素含量的测定采用 Lichtenthaler 的<sup>[7]</sup>方法,通过紫外-可见分光光度计测量分析。叶绿体自发荧光强度的测定参照谷巍等<sup>[8]</sup>的方法,将经过各浓度梯度  $\text{Hg}^{2+}$  胁迫的菹草无菌苗相同部位的叶片置于 NIKON A1 激光共聚焦显微系统下进行拍照观察、分析。激发波长 488 nm,发射波长 229 nm,孔径 8.0  $\mu\text{m}$ ,共振频率 7.8 Hz。

1.3.2 相关生理指标的测定 可溶性蛋白含量的测定,采用考马氏亮蓝 G-250 法<sup>[9]</sup>进行;  $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATP 酶、 $\text{Ca}^{2+} \text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶活性用南京建成生物工程研究所购买的 ATP 酶试剂盒测定。菹草体内矿质营养元素含量采用电感耦合等离子发射光谱仪(ICP-AES)(美国 Leeman 公司生产)测定。

### 1.4 统计分析

通过 Excel 软件处理原始数据,求得平均值  $\pm$  标准差,并制图分析。采用 SPSS 13.0 统计软件将各指标作相关性和显著性分析,具体参照李春喜等的方法<sup>[10]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 $\text{Hg}^{2+}$ 对菹草无菌苗光合色素含量的影响

随着  $\text{Hg}^{2+}$  浓度的增加,各种光合色素的含量均呈现下降的趋势(表 1)。最高浓度(20  $\mu\text{mol}/\text{L}$ )时,叶绿素 a(Chl. a)、叶绿素 b(Chl. b)、总叶绿素(Chl)、类胡萝卜素(Car)的含量依次降为对照的 50.2%、49.5%、49.6%、49.6%。可见,Chl. a、Chl. b、Chl、Car 的含量下降趋势整体上保持一致。经相关性分析及显著性分析知,Chl. a、Chl. b、Chl、Car 与  $\text{Hg}^{2+}$  浓度均呈极显著负相关( $r_{\text{Chl. a}} = -0.9328$ ,  $r_{\text{Chl. b}} = -0.9398$ ,  $r_{\text{Chl}} = -0.9384$ ,  $r_{\text{Car}} = -0.9405$ ;  $P < 0.01$ ),且各浓度之间 Chl. a、Chl. b、Chl、Car 含量均表现为显著性差异。

### 2.2 汞胁迫下菹草无菌苗叶片叶绿体自发荧光强度的变化

菹草无菌苗叶片经波长 488 nm 光激发后,在激光共聚焦扫描显微成像系统下观察分析得到了蓝绿两种颜色的图像,蓝色的图像为叶绿体自发荧光图像<sup>[11]</sup>。图谱分析(图 1)可知,随着  $\text{Hg}^{2+}$  处理浓度的增大,叶绿体的自发荧光强度逐渐减弱,具体表现为:随着  $\text{Hg}^{2+}$  处理浓度的增大,最大荧光强度整体呈下降趋势,低强度的荧光出现的频率增大,高强度的荧光出现的频率减小,光谱范围变窄。

表 1 Hg<sup>2+</sup> 胁迫下菹草无菌苗光合色素的含量变化<sup>1)</sup>

Tab.1 Photosynthetic pigments contents in sterile seedlings of *P. crispus* under Hg<sup>2+</sup> stress

光合色素	Hg <sup>2+</sup> 浓度/(μmol/L)				
	0	5	10	15	20
Chl. a/(mg/g(FW))	7.65 ± 0.089 <sup>a</sup>	5.45 ± 0.044 <sup>b</sup>	5.06 ± 0.044 <sup>c</sup>	4.61 ± 0.055 <sup>d</sup>	3.84 ± 0.081 <sup>e***</sup>
Chl. b/(mg/g(FW))	15.16 ± 0.063 <sup>a</sup>	10.87 ± 0.090 <sup>b</sup>	10.15 ± 0.072 <sup>c</sup>	9.15 ± 0.024 <sup>d</sup>	7.50 ± 0.040 <sup>e***</sup>
Chl/(mg/g(FW))	22.84 ± 0.042 <sup>a</sup>	16.31 ± 0.134 <sup>b</sup>	15.21 ± 0.114 <sup>c</sup>	13.76 ± 0.070 <sup>d</sup>	11.32 ± 0.103 <sup>e***</sup>
Car/(mg/g(FW))	30.88 ± 0.366 <sup>a</sup>	21.89 ± 0.181 <sup>b</sup>	20.34 ± 0.174 <sup>c</sup>	18.53 ± 0.224 <sup>d</sup>	15.33 ± 0.398 <sup>e***</sup>

1) 光合色素含量采用鲜重计;不同字母表示两者差异达到显著水平(P<0.05);\*表示P<0.05,\*\*表示P<0.01,下同。

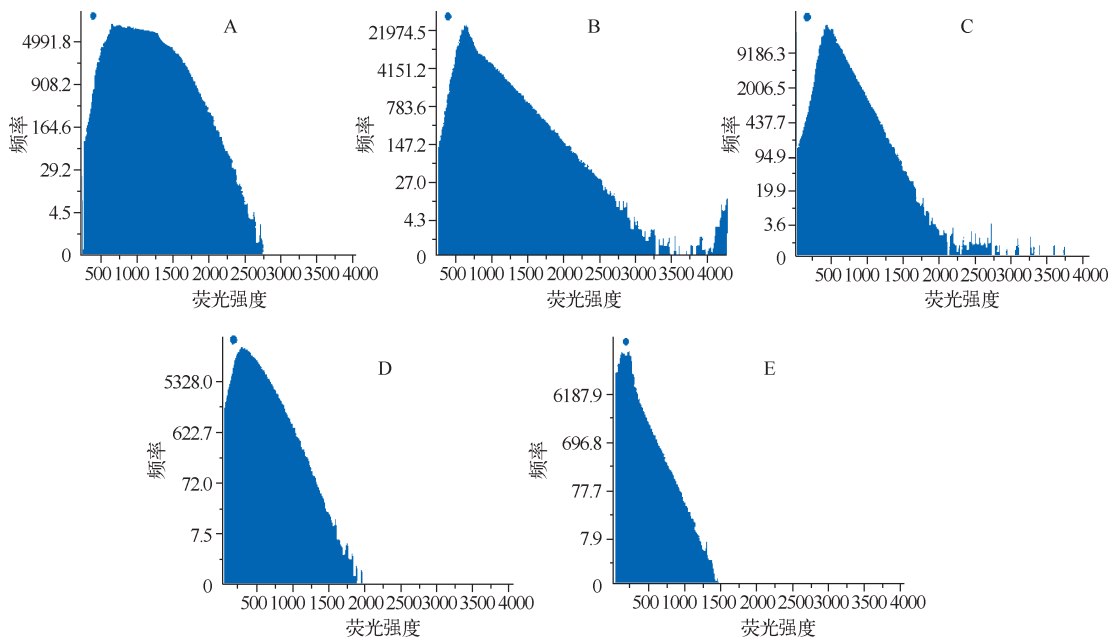


图 1 Hg<sup>2+</sup> 胁迫下菹草无菌苗叶绿体自发荧光强度的变化:(A)0 μmol/L Hg<sup>2+</sup>; (B)5 μmol/L Hg<sup>2+</sup>; (C)10 μmol/L Hg<sup>2+</sup>; (D)15 μmol/L Hg<sup>2+</sup>; (E)20 μmol/L Hg<sup>2+</sup>

Fig.1 The change of chlorophyll autofluorescence intensity in sterile seedlings of *P. crispus* under Hg<sup>2+</sup> stress

2.3 Hg<sup>2+</sup> 胁迫下菹草无菌苗可溶性蛋白含量的变化

菹草无菌苗受 Hg<sup>2+</sup> 胁迫影响,可溶性蛋白含量随着 Hg<sup>2+</sup> 处理浓度的增大呈现先上升后下降的趋势(图 2)。5 μmol/L Hg<sup>2+</sup> 胁迫时,可溶性蛋白含量最高,为对照的 1.14 倍;而后随着处理浓度的增大,可溶性蛋白含量逐渐降低。相关性分析及显著性分析可知,菹草苗可溶性蛋白含量与 Hg<sup>2+</sup> 的浓度呈显著负相关( $r_{\text{可溶性蛋白}} = -0.8930, P < 0.05$ ),各浓度之间均呈现显著性差异。

2.4 Hg<sup>2+</sup> 胁迫下菹草无菌苗 Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup>-ATP 酶, Ca<sup>2+</sup> Mg<sup>2+</sup>-ATP 酶活性的变化

Hg<sup>2+</sup> 胁迫后,菹草无菌苗 Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup>-ATP 酶(Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup>-ATPase)、Ca<sup>2+</sup> Mg<sup>2+</sup>-ATP 酶(Ca<sup>2+</sup> Mg<sup>2+</sup>-ATPase)活性的

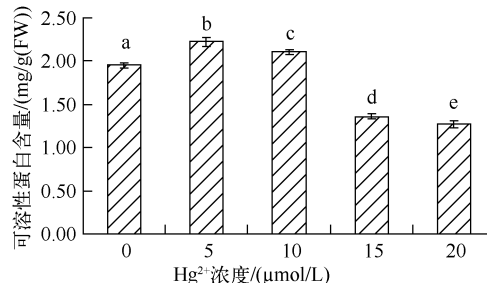


图 2 Hg<sup>2+</sup> 胁迫下可溶性蛋白含量的变化

Fig.2 Effect of soluble protein content in sterile seedlings of *P. crispus* under Hg<sup>2+</sup> stress

变化分析可知,  $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPase}$  活性随着  $\text{Hg}^{2+}$  浓度的增大呈现逐渐下降的趋势(图 3a),  $20 \mu\text{mol/L}$   $\text{Hg}^{2+}$  胁迫时, 酶活性降为对照的 9.06%.  $\text{Ca}^{2+} \text{Mg}^{2+} \text{-ATPase}$  活性的变化趋势与可溶性蛋白含量变化相似, 也是随着  $\text{Hg}^{2+}$  浓度增大呈先升后降趋势(图 3b),  $5 \mu\text{mol/L}$   $\text{Hg}^{2+}$  胁迫时活性最高, 为对照的 1.69 倍. 相关性分析及显著性分析可知, 菹草无菌苗体内  $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPase}$  活性与  $\text{Hg}^{2+}$  浓度呈显著负相关 ( $r_{\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPase}} = -0.8166$ ,  $P < 0.05$ ), 不同  $\text{Hg}^{2+}$  胁迫下,  $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPase}$  活性亦表现为显著性差异.

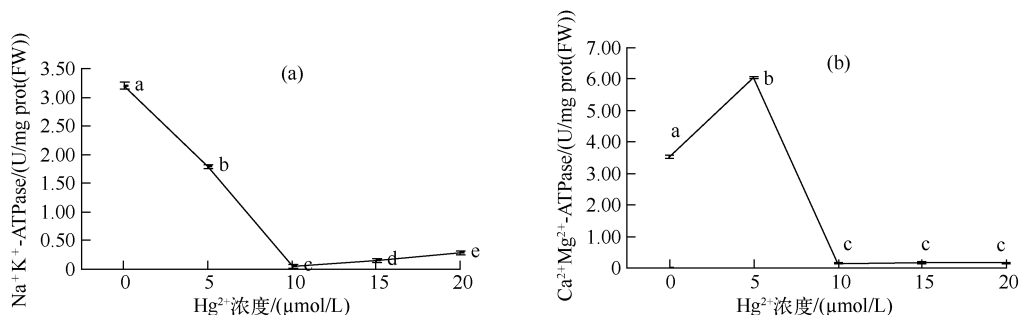


图 3  $\text{Hg}^{2+}$  胁迫对  $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPase}$  (a) 和  $\text{Ca}^{2+} \text{Mg}^{2+} \text{-ATPase}$  (b) 的影响

Fig. 3 Effect of  $\text{Hg}^{2+}$  stress on  $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPase}$  activity (a) and  $\text{Ca}^{2+} \text{Mg}^{2+} \text{-ATPase}$  activity (b)

## 2.5 $\text{Hg}^{2+}$ 胁迫对菹草无菌苗矿质营养元素吸收的影响

本实验结合叶绿素、 $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+} \text{Mg}^{2+} \text{-ATPase}$  等变化, 对菹草无菌苗 Ca、Mg、K、Na、Fe 元素含量的变化进行分析. 结果表明,  $\text{Hg}^{2+}$  胁迫抑制 Ca、Mg、Fe 元素的吸收; 低浓度 ( $5 \mu\text{mol/L}$ ) 时促进 Na、K 元素的吸收, 高浓度时则表现为抑制作用(表 2). 相关性分析表明, Mg 和 Fe 含量的变化与  $\text{Hg}^{2+}$  浓度之间分别达到显著和极显著负相关 ( $r_{\text{Mg}} = -0.8893$ ,  $P < 0.05$ ;  $r_{\text{Fe}} = -0.9469$ ,  $P < 0.01$ ). K、Na 元素含量在  $\text{Hg}^{2+}$  浓度为  $5 \mu\text{mol/L}$  时均高于对照, 而后随着  $\text{Hg}^{2+}$  浓度的增大逐渐下降, 与  $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPase}$  活性的变化趋势保持一致. Na/K 比值随着  $\text{Hg}^{2+}$  浓度的增高逐渐增大. Na、K 元素含量的变化与  $\text{Hg}^{2+}$  浓度之间呈现显著负相关 ( $r_{\text{K}} = -0.8587$ ,  $r_{\text{Na}} = -0.8011$ ;  $P < 0.05$ ), 且各浓度  $\text{Hg}^{2+}$  胁迫下与对照之间 Ca、Mg、K、Na、Fe 元素含量的变化呈现显著差异.

表 2  $\text{Hg}^{2+}$  胁迫对菹草无菌苗营养元素吸收的影响

Tab. 2 Effect of nutrient contents in sterile seedlings of *P. crispus* under  $\text{Hg}^{2+}$  stress

营养元素/ ( $\mu\text{g/g}$ (FW))	$\text{Hg}^{2+}$ 浓度/( $\mu\text{mol/L}$ )				
	0	5	10	15	20
Ca	2220 $\pm$ 35.35 <sup>a</sup>	1564 $\pm$ 30.35 <sup>b</sup>	1508 $\pm$ 12.06 <sup>b</sup>	1689 $\pm$ 11.14 <sup>c</sup>	1313 $\pm$ 88.12 <sup>d</sup>
Mg	447 $\pm$ 22.27 <sup>a</sup>	301 $\pm$ 7.57 <sup>b</sup>	256 $\pm$ 6.66 <sup>c</sup>	227 $\pm$ 30.92 <sup>c</sup>	224 $\pm$ 24.58 <sup>c*</sup>
K	4002 $\pm$ 13.00 <sup>a</sup>	4359 $\pm$ 59.30 <sup>b</sup>	232 $\pm$ 3.06 <sup>c</sup>	142 $\pm$ 3.06 <sup>c</sup>	134 $\pm$ 10.26 <sup>c*</sup>
Na	113.0 $\pm$ 6.93 <sup>a</sup>	146.0 $\pm$ 6.24 <sup>b</sup>	10.9 $\pm$ 2.00 <sup>c</sup>	14.1 $\pm$ 1.05 <sup>c</sup>	15.1 $\pm$ 1.85 <sup>d*</sup>
Fe	45.6 $\pm$ 2.12 <sup>a</sup>	44.4 $\pm$ 1.14 <sup>a</sup>	35.3 $\pm$ 1.22 <sup>c</sup>	31.1 $\pm$ 0.45 <sup>c</sup>	14.0 $\pm$ 0.26 <sup>d**</sup>

## 3 讨论

叶绿体作为光合作用的主要场所, 许多生物反应需要酶的参与. 因此, 叶绿体也是细胞生物化学活动的中心之一<sup>[12]</sup>, 叶绿体内光合特征指数的变化为重金属毒害植物的一个重要特征. 谷巍等<sup>[8]</sup>以野外鱼草为材料研究发现汞、镉、铜导致其光合系统损伤. 徐勤松等<sup>[13]</sup>研究发现 Cu、Zn 富集的黑藻叶片自发荧光强度逐渐减弱. 本实验结果表明, 植物受  $\text{Hg}^{2+}$  污染后, 叶片褪绿, 光合色素含量随  $\text{Hg}^{2+}$  浓度的增大而下降(表 1), 叶绿体自发荧光强度也逐渐减弱(图 1), 与前人研究结果一致. 可见, 重金属抑制植物的光合作用, 可能的原

因主要为:一方面是重金属胁迫抑制原叶绿素酸酯还原酶( pro-tochlophyllide reductase)和氨基-r-酮戊酸( aminolaevulinic acid)这两种叶绿素形成所必需的相关酶的合成<sup>[14]</sup>;另一方面可能与植物体内 Fe 含量的变化有关,叶绿体中某些叶绿素-蛋白复合体的合成需要 Fe<sup>[12]</sup>. 本实验中 Fe 含量随着 Hg<sup>2+</sup> 浓度的增大逐渐降低(表 2), Fe 的降低导致叶绿素-蛋白复合体的合成受阻,叶绿素含量降低,叶片失绿. 实验中菹草叶片自发荧光来源于叶绿体<sup>[15-16]</sup>,叶绿体自发荧光的强弱是光系统 II (PS II)活性的表现<sup>[17-18]</sup>. 荧光强度的变化同叶绿素分子的排列、结构状态和 PS II 反应中心活性状态直接相关. 由此可知,植物在受重金属胁迫后,叶绿体中光合色素的形成及其结合状态均受到影响,PS II 活性减弱,从而影响植物正常的光合作用,能量代谢发生紊乱,离子转运及矿质营养元素的吸收等正常的生命活动也受到影响.

重金属胁迫下离子转运及矿质营养元素的吸收除与光合作用有关外,ATP 酶活性的变化也是重要的影响因素. ATP 酶作为植物生长发育过程中重要的代谢酶之一,在水解 ATP 释放能量,供代谢反应、离子转运和营养物质的吸收、为物质运输和糖分积累提供驱动力方面起重要的作用<sup>[19-20]</sup>. Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup>-ATPase、Ca<sup>2+</sup> Mg<sup>2+</sup>-ATPase 作为运输动力,植物在受逆境胁迫时,其活性必受到影响. 范玲玲等<sup>[21]</sup> 研究指出星星草在低浓度的 NaHCO<sub>3</sub> 胁迫下 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性升高,高浓度时减小. 本实验中 Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup>-ATPase 活性随着 Hg<sup>2+</sup> 浓度的升高逐渐降低(图 3),Na/K 比值逐渐增大. 可见,重金属胁迫导致 Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup>-ATPase 活性的降低,K 的吸收及 Na 的泵出所需的能量不足,故植物体内 Na/K 比值逐渐增大. Ca<sup>2+</sup> Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活性变化与 Ca、Mg 元素含量的变化亦呈现类似的相关性. 由此可知,重金属胁迫与别的逆境胁迫一样,亦导致植物 ATPase 活性变化,进而影响植物体内离子的转运.

可溶性蛋白含量是衡量植物受重金属胁迫的一个重要指标. 植物在逆境或衰老过程中蛋白质的合成速度减缓,蛋白质的含量有所下降<sup>[22]</sup>. 本实验测得植物体内可溶性蛋白含量(图 2)在低浓度时升高,而后随着毒害浓度的增大逐渐降低. 可溶性蛋白含量在 20 μmol/L Hg 胁迫下降为对照的 70%,这是由于重金属胁迫影响氨基酸的形成<sup>[23]</sup>:一是重金属胁迫加剧了原有蛋白质的分解;二是抑制了新蛋白质的合成<sup>[24]</sup>,由于分解大于合成从而导致蛋白质含量的降低. 这与汪栋等<sup>[25]</sup> 以野外菹草为材料在低浓度时测得结果略有差别,可能是由于菹草在不受外界因素影响的情况下,低浓度时抗氧化酶、ATPase 等参与代谢的酶的活性增大,抗逆性增强,从而对胁迫产生应答;高浓度时各种酶活性都开始降低,生理代谢机制发生紊乱,进而导致植物体死亡.

本实验研究证实 Hg<sup>2+</sup> 胁迫处理导致菹草无菌苗光合作用减弱,矿质营养元素吸收受到影响及 ATPase 活性发生改变,植物正常的生理代谢机制紊乱,最终导致植物死亡. 其中 Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup>-ATPase、Ca<sup>2+</sup> Mg<sup>2+</sup>-ATPase 活性变化结果与其他逆境胁迫结果类似. 因此,可以把 ATPase 活性作为水生植物应对重金属污染的生态指标,深入探究相关 ATPase 基因,了解 ATPase 相关代谢机制,为灵敏检测水质污染找到新的途径.

致谢:感谢施国新老师对实验的悉心指导、分析测试中心杨红晓老师、激光共聚焦扫描显微镜室张超英老师的帮助以及实验室成员们的协助.

#### 4 参考文献

- [ 1 ] Ali MB, Vajpayee P, Tripathi RD *et al.* Mercury bioaccumulation induces oxidative stress and toxicity to submerged macrophyte *Potamogeton crispus* L. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2000, **65**(5): 573-582.
- [ 2 ] Mor IR, Gokani SJ, Chanda SV. Effect of mercury toxicity on hypocotyl elongation and cell wall loosening in *Phaseolus* seedlings. *J of Plant Nutr*, 2002, **25**(4): 843-860.
- [ 3 ] Shi GX, Xu QS, Xie KB *et al.* Physiology and ultrastructure of *Azolla imbricate* as affected by Hg<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup> toxicity. *Acta Botanica Sinica*, 2003, **45**(4): 437-444.
- [ 4 ] 康宜宁,吴婷婷,施国新等. 汞对水花生愈伤组织生理及超微结构的毒性效应. *环境科学学报*, 2010, **30**(12): 2506-2511.
- [ 5 ] 徐呈祥,刘友良,於丙军等. 盐胁迫下芦荟叶同化组织细胞中 ATP 酶活性超微结构定位及 Si 的作用. *园艺学报*, 2008, **35**(11): 1661-1666.
- [ 6 ] 毛桂莲,许 兴,米海莉等. NaCl 胁迫下枸杞愈伤组织活性氧产生与质膜 H<sup>+</sup>-ATPase 活性的关系. *干旱地区农业研究*, 2003, **21**(3): 110-113.

- [ 7 ] Lichtenthaler HK. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Method Enzymol*, 1987, **148**: 350-382.
- [ 8 ] 谷 巍, 施国新, 巢建国等. 汞、镉、铜污染对鱼草细胞膜系统的毒害作用. *应用生态学报*, 2008, **19**(5): 1138-1143.
- [ 9 ] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochem*, 1976, **72**(1): 248-254.
- [ 10 ] 李春喜, 姜丽娜, 邵 云等. 生物统计学: 第3版. 北京: 科学出版社, 2005: 199-201.
- [ 11 ] 刘向东. 利用激光扫描共聚焦显微镜研究植物细胞发育形态学变化. *激光生物学报*, 2007, **16**(2): 173-178.
- [ 12 ] 潘瑞炽. 植物生理学: 第5版. 北京: 高等教育出版社, 2004: 32.
- [ 13 ] 徐勤松, 施国新, 许丙军等. Cu, Zn 在黑藻叶片中的富集及其毒理学分析. *水生生物学报*, 2007, **31**(1): 1-7.
- [ 14 ] Stobart AK, Griffiths WT, Ameen-Bukhari I *et al.* The effect of  $Cd^{2+}$  on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley. *Physiol Plantarum*, 1985, **63**: 293-298.
- [ 15 ] 余叔文, 汤章城. 植物生理与分子生物学: 第2版. 北京: 科学出版社, 1999: 194-196.
- [ 16 ] Paddock SW. Confocal microscopy methods and protocols. Totowa New Jersey: Humana Press, 1999: 103-130.
- [ 17 ] Krause GH, Weis E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1991, **42**: 313-349.
- [ 18 ] 谷 巍, 施国新, 张超英等.  $Hg^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$  污染对菹草光合系统及保护酶系统的毒害作用. *植物生理及分子生物学报*, 2002, **28**(1): 69-74.
- [ 19 ] Bentwood BJ, Cronshaw J. Cytochemical localization of adenosine triphosphatase in the phloem of *Pisum sativum* and its relation to the function of transfer cells. *Planta*, 1978, **140**(2): 111-120.
- [ 20 ] 赫 磊, 王 晔, 李 丹等. 不同类型甜菜品种根中  $Mg^{2+}$ -ATP 酶活性和产质量的关系. *中国糖料*, 2009, **3**: 3-8.
- [ 21 ] 范玲玲, 陈 刚, 陈义芳等.  $NaHCO_3$  胁迫下星星草根中  $Ca^{2+}$  与  $Ca^{2+}$ -ATPase 的超微细胞化学定位. *植物学报*, 2010, **45**(3): 337-344.
- [ 22 ] 冯晓英, 胡章平, 乙 引.  $Ca^{2+}$  胁迫下伞花木和华山松脯氨酸及可溶性蛋白质含量的变化. *贵州农业科学*, 2010, **38**(9): 169-170.
- [ 23 ] Spalding BP. Effect of divalent metal chlorides on respiration and extractable enzymatic activities of Douglas-fir needle litter. *J Environ Qual*, 1979, **8**: 105-109.
- [ 24 ] 秦天才, 吴玉树, 王焕校等. Cd、Pb 及其相互作用对小白菜根系生理生态效应的研究. *生态学报*, 1998, **18**(3): 320-325.
- [ 25 ] 计汪栋, 施国新, 张 慧等. 菹草对  $Hg^{2+}$  胁迫的生理和结构应答反应. *生态学报*, 2007, **27**(7): 2856-2863.