

# Pb<sup>2+</sup> 对桐花树幼苗氮代谢关键酶活性及膜脂过氧化的影响

李裕红<sup>1,2</sup>, 林顺德<sup>2</sup>, 应朝阳<sup>3</sup>

(1. 厦门大学环境科学研究中心, 福建 厦门 361005; 2. 泉州师范学院生物系, 福建 泉州 362000;  
3. 福建省农业科学院农业生态研究所, 福建 福州 350013)

**摘要:** 研究了 Pb<sup>2+</sup> 对桐花树幼苗氮代谢关键酶活性及膜脂过氧化的影响。结果表明: 0.1~2.0 mmol·L<sup>-1</sup> Pb<sup>2+</sup> 胁迫使营养液中培养的桐花树幼苗根、茎、叶的 NADH-GOGAT 活性降低, 丙二醛含量增加, 使根和茎的 GS 活性降低, 而叶的 GS 在 0.1~1.0 mmol·L<sup>-1</sup> Pb<sup>2+</sup> 胁迫下活性增加高于对照, 但受 2.0 mmol·L<sup>-1</sup> 较高浓度 Pb<sup>2+</sup> 抑制。无论是否有 Pb<sup>2+</sup> 胁迫, 叶的 GS 活性都高于茎和根, 而根的 NADH-GOGAT 活性始终高于茎和叶。根的 GS 和 NADH-GOGAT 活性受 Pb<sup>2+</sup> 胁迫抑制的程度明显大于茎、叶, Pb<sup>2+</sup> 对根的初级氮代谢影响最大。MDA 含量与 GS 和 NADH-GOGAT 活性呈负相关关系。

**关键词:** Pb<sup>2+</sup>; 桐花树; 氮代谢关键酶; 膜脂过氧化

中图分类号: Q 945.78; S 79

文献标识码: A

## Effects of Pb<sup>2+</sup> stress on nitrogen metabolism and membrane lipid peroxidation in *Aegiceras corniculatum* seedlings

LI Yuhong<sup>1,2</sup>, LIN Shunde<sup>2</sup>, YING Zhao-yang<sup>3</sup>

(1. Environment Research Center of Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005, China; 2. Biology Department of Quanzhou Normal College, Quanzhou, Fujian 362000, China; 3. Institute of Agricultural Ecology, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350013, China)

**Abstract:** The effect of Pb<sup>2+</sup> stress on nitrogen metabolism and membrane lipid peroxidation in *Aegiceras corniculatum* seedlings was investigated. The activities of NADH-GOGAT and GS, soluble protein, and MDA content in the roots, the stems and the leaves of *A. corniculatum* seedlings, which were cultivated for 30 days in nutrient solution containing Pb<sup>2+</sup>, were analyzed. The results showed that the NADH-GOGAT activities in *A. corniculatum* seedling roots, stems, and leaves decreased under Pb<sup>2+</sup> stress, while the contents of soluble proteins and MDA increased. The GS activities in the roots and stems decreased due to Pb<sup>2+</sup> treatments with concentrations ranging from 0.1 to 2.0 mmol·L<sup>-1</sup>. GS activities in the leaves increased and was higher than that of the control. However, the activity was inhibited by Pb<sup>2+</sup> at higher concentration of 2.0 mmol·L<sup>-1</sup>. Whether Pb<sup>2+</sup> was added to the nutrient solution or not, the GS activity in the leaves was higher than those in the roots and stems. The GOGAT activity in the roots was higher than those in the leaves and stems. GS and NADH-GOGAT in roots were more sensitive to Pb<sup>2+</sup> stress than those in stems and leaves. Thus, Pb<sup>2+</sup> had the most effect on primary nitrogen metabolism in the root. It was also suggested that there was a negative correlation between the MDA content and the NADH-GOGAT or GS activity.

**Key words:** Pb<sup>2+</sup>; *Aegiceras corniculatum*; key enzyme during N metabolism; membrane lipid peroxidation

红树林是热带、亚热带河口海岸潮间带的木本植物群落, 对维护生态平衡、保护环境起着特殊的作用。随着沿海城市开发力度的加大, 滨海湿地生态系统环境污染问题也日益严重。为降低湿地生态系统的污染危害, 国内外学者已逐渐注意到红树林在生物净化环境方面的独特功能, 目前已有许多关于红树植物对环境污染物的耐性及其吸收和净化方

面的报道<sup>[1-3]</sup>, 但对于污染物影响红树林大量元素营养代谢方面的研究还较少报道。

逆境对植物氮素代谢的影响是植物逆境生理研究的重要内容之一。谷氨酰胺合成酶 (glutamine synthetase, GS) 和谷氨酰胺 α-酮戊二酸氨基转移酶 (glutamine α-ketoglutarate aminotransferase, GOGAT, 简称谷氨酸合酶, glutamate

收稿日期: 2007-01-08 初稿; 2007-05-08 修改稿

作者简介: 李裕红 (1969-), 女, 博士后, 副教授, 从事污染生态学与分子毒理学方向研究 (E-mail: liyh@xmu.edu.cn)。

基金项目: 福建省青年科技人才创新项目 (2004J053); 福建教育厅资助项目 (JA02251); 泉州市科技局资助项目 (2003Z11)

© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

synthase) 耦联形成的循环反应是高等植物体内氮同化的主要途径<sup>[4]</sup>。本文研究红树植物桐花树 (*Aegiceras corniculatum*) 幼苗在不同浓度 Pb<sup>2+</sup> 处理下的氮代谢关键酶的变化, 旨在揭示重金属 Pb<sup>2+</sup> 对红树植物氮营养代谢的约束机制, 为维护红树林生态系统的健康发展提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验处理

桐花树幼苗采自福建省泉州洛阳屿头红树林区, 移取生长状况良好、大小相近的幼苗于室内暂养1周后作为试验材料; 设定5组 Pb<sup>2+</sup> 浓度梯度对试验材料进行培养, 使营养液中 Pb<sup>2+</sup> (Pb<sup>2+</sup> 试剂为 Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O, 浓度以纯金属离子计) 浓度为 0 mmol · L<sup>-1</sup> (CK)、0.1 mmol · L<sup>-1</sup>、0.5 mmol · L<sup>-1</sup>、1.0 mmol · L<sup>-1</sup>、2.0 mmol · L<sup>-1</sup>, 每盆8株, 1组3盆 (1盆为1个重复), 采用 1/10 的 Hoagland 营养液进行沙培, 培养 30 d 取样。

### 1.2 试验测定方法

1.2.1 酶液的提取 按文献[5]的方法进行, 从每处理组的3盆中随机剪取根、茎、叶材料, 各组称取桐花树幼苗根、茎、叶 1 g, 立即加 4 mL 抽提缓冲液冰浴快速研磨, 将研磨液移入离心管, 4℃ 离心 (13 000 r · min<sup>-1</sup>) 30 min, 上清液即为酶液, 将其置于 4℃ 保存备用。

1.2.2 GS 活性的测定 按文献[6]的方法进行。1个 GS 活性单位定义为每分钟于 37℃ 下产生 1 μmol 的 γ-谷氨酰异羟肟酸 (γ-glutamyl

hydroxamate) 所需的酶量。

1.2.3 NADH-GOGAT 活性的测定 NADH-GOGAT 活性测定按文献[7]的方法进行。NADH-GOGAT 酶活性单位定义为: 于 30℃ 下每分钟反应混合液减少 1 μmol NADH 为 1 个酶活性单位。

1.2.4 丙二醛 (MDA) 含量测定 根据硫代巴比妥酸定量反应法测定<sup>[8]</sup>, 单位为 μmol · g<sup>-1</sup> FW。每项指标测定至少重复 3 次, 取均值。

## 2 结果与分析

### 2.1 Pb<sup>2+</sup> 对桐花树幼苗根、茎、叶 GS 活性的影响

研究结果如图 1 所示, 无论 Pb<sup>2+</sup> 胁迫是否存在, 桐花树幼苗根、茎、叶的 GS 活性均表现出一致的器官特异性表达强度, 即叶的 GS 活性高于茎, 茎高于根。但根、茎、叶对 Pb<sup>2+</sup> 胁迫的响应趋势和程度是不同的。0.1~2.0 mmol · L<sup>-1</sup> Pb<sup>2+</sup> 胁迫使根和茎的 GS 活性降低, 在 0.5 mmol · L<sup>-1</sup> Pb<sup>2+</sup> 和 2.0 mmol · L<sup>-1</sup> Pb<sup>2+</sup> 下, 相对于无污染对照组 (CK), 根的 GS 活性分别被抑制 78.2% 和 86.9%。0.1~2.0 mmol · L<sup>-1</sup> Pb<sup>2+</sup> 使茎的 GS 活性被抑制 16.1%~41.9%, 随胁迫浓度的增加, 茎 GS 活性呈现“V”字型变化, 活性最低点在 0.5 mmol · L<sup>-1</sup> Pb<sup>2+</sup> 处, 在 1.0~2.0 mmol · L<sup>-1</sup> 较高浓度胁迫下, GS 活性略微回升。0.1~0.5 mmol · L<sup>-1</sup> Pb<sup>2+</sup> 处理使叶 GS 活性极显著升高 ( $P < 0.01$ ), 活性最高点为 0.1 mmol · L<sup>-1</sup> Pb<sup>2+</sup> 胁迫处理, 其活性比对照组高出 47.7%, 当 Pb<sup>2+</sup> 浓度达 2.0 mmol · L<sup>-1</sup> 时, 叶 GS 活性受抑制。

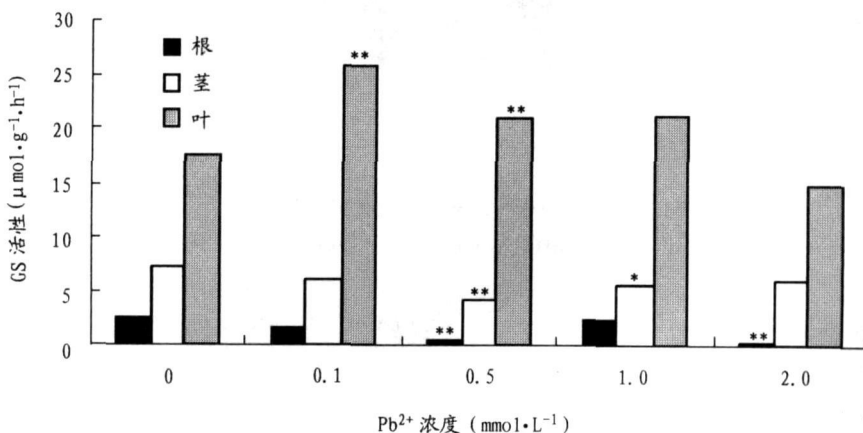


图1 Pb<sup>2+</sup> 对桐花树幼苗 GS 活性的影响

Fig 1 Effects of Pb<sup>2+</sup> on the GS activity in *Aegiceras corniculatum* seedlings

(注: \* 表示差异达显著水平,  $P < 0.05$ ; \*\* 表示差异达极显著水平,  $P < 0.01$ , 下同)

## 2.2 Pb<sup>2+</sup> 对桐花树幼苗 NADH-GOGAT 活性的影响

图 2 表明, 桐花树幼苗根、茎、叶的 NADH-GOGAT, 其器官特异性表达强度特点与 GS 相反, 无论是否用 Pb<sup>2+</sup> 处理, 根都保持高于茎、叶的 NADH-GOGAT 活性水平, 而茎的活性又高于叶。培养液中 Pb<sup>2+</sup> 胁迫浓度的改变对桐花树根、茎的 NADH-GOGAT 活性产生不同程度的影响, 0.1~

2.0 mmol·L<sup>-1</sup>Pb<sup>2+</sup> 胁迫使根的 NADH-GOGAT 活性极显著受到抑制, 与对照组相比, 活性被抑制了 32.6%~63.9%; 0.5~2.0 mmol·L<sup>-1</sup>Pb<sup>2+</sup> 胁迫使茎受到显著抑制, 被抑制 19.8%~49.1%, 2.0 mmol·L<sup>-1</sup>Pb<sup>2+</sup> 处理受抑制最强。0.1~2.0 mmol·L<sup>-1</sup>Pb<sup>2+</sup> 抑制桐花树幼苗叶的 NADH-GOGAT 活性, 但各处理间差异均未达到显著水平。

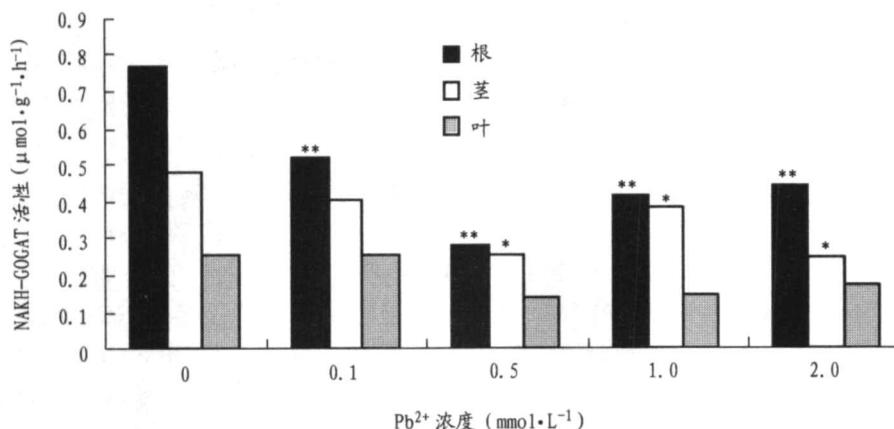


图 2 Pb<sup>2+</sup> 对桐花树幼苗 NADH-GOGAT 活性的影响

Fig 2 Effects of Pb<sup>2+</sup> on the NADH-GOGAT activity in *A. conrniculatum* seedlings

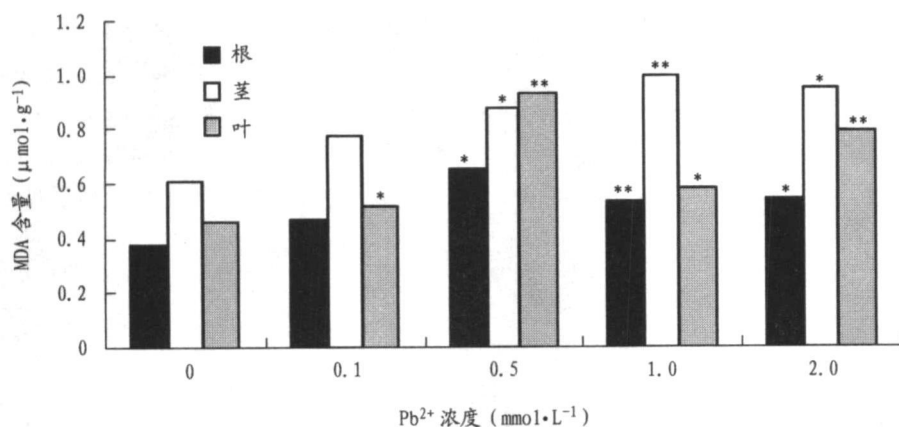


图 3 Pb<sup>2+</sup> 对桐花树幼苗 MDA 含量的影响

Fig 3 Effects of Pb<sup>2+</sup> on MDA content in *A. conrniculatum* seedlings

## 2.3 Pb<sup>2+</sup> 对桐花树幼苗丙二醛 (MDA) 含量的影响

MDA 是细胞膜脂过氧化的标志性产物, 其与蛋白质结合, 引起蛋白质分子内和分子间的交联及生物膜中结构蛋白和酶的聚合和交联, 使它们的结构功能和催化功能发生变化受到破坏, 从而影响植物各种生理代谢。通常 MDA 含量的多少可表明细胞膜受损伤程度的大小。试验结果 (图 3) 表明,

在 0.1~2.0 mmol·L<sup>-1</sup>Pb<sup>2+</sup> 胁迫下, 桐花树根、茎、叶的 MDA 含量增高, 说明细胞膜脂过氧化程度加速。0.1 mmol·L<sup>-1</sup>Pb<sup>2+</sup> 胁迫对根、茎 MDA 含量的升高还未达到显著性影响, 当 Pb<sup>2+</sup> 浓度达 0.5 mmol·L<sup>-1</sup>时, 根、茎的 MDA 含量均显著增高。0.1~2.0 mmol·L<sup>-1</sup>Pb<sup>2+</sup> 对桐花树叶的 MDA 含量产生显著影响, 0.5 mmol·L<sup>-1</sup>Pb<sup>2+</sup> 使桐花树叶 MDA 含量增高 2.03 倍。分析桐花树幼苗根、

茎、叶中丙二醛含量与 GS、NADH-GOGAT 活性的相关关系, MDA 含量与 GS 及 NADH-GOGAT 活性都存在负相关关系。即通常 MDA 含量高, GS、NADH-GOGAT 活性则低。

### 3 结论与讨论

GS 与 GOGAT 在桐花树的根茎叶中均有分布, 无论有无  $Pb^{2+}$  污染存在, 桐花树幼苗根、茎、叶的 GS 活性大于 NADH-GOGAT 活性, GS 活性由高到低排序为: 叶 > 茎 > 根; 而 NADH-GOGAT 活性由高到低为: 根 > 茎 > 叶。0.1~2.0  $mmol \cdot L^{-1} Pb^{2+}$  胁迫使根和茎的 GS 活性降低, 而叶的 GS 在 0.1~1.0  $mmol \cdot L^{-1} Pb^{2+}$  胁迫下活性增强, 但其活性受较高浓度  $Pb^{2+}$  抑制。桐花树幼苗根、茎、叶 GOGAT 活性均受  $Pb^{2+}$  抑制而降低, 其中根的 GS 与 GOGAT 受  $Pb^{2+}$  抑制程度最大, 可见  $Pb^{2+}$  处理对桐花树幼苗根的初级氮代谢影响最大。 $Pb^{2+}$  胁迫使根、茎、叶的 MDA 含量增加, 其含量与 GS 和 NADH-GOGAT 活性存在一定负相关关系。

在植物的生长发育过程中, 氮素的同化是一个十分重要的生理过程。无机氮必须同化为谷氨酰胺和谷氨酸等有机氮才能为植物体所吸收和利用。其中由 GS 与 GOGAT 构成的谷氨酸合酶循环是植物氮素同化的主要途径, 高等植物体内 95% 以上的  $NH_4^+$  通过 GS/GOGAT 循环同化<sup>[9]</sup>, GS 和 GOGAT 的活性与植物体氮代谢能力密切相关。桐花树 GS 与 GOGAT 对 1~2  $mmol \cdot L^{-1} Pb^{2+}$  胁迫 30 d 的响应特点不尽相同, 这可能与不同器官中 GS/GOGAT 循环的作用不尽相同有关。本试验结果与林清华等<sup>[10]</sup> 研究 NaCl 对水稻谷氨酰胺合酶和谷氨酸脱氢酶的胁迫作用结果相似, 桐花树和水稻一样表现为叶的 GS 活性远大于 NADH-GDH, 而根的 NADH-GDH 活性能保持在较高的水平。研究结果说明桐花根和叶的 GS/GOGAT 循环的作用有区别, 并推测桐花树叶和根的  $NH_4^+$  同化途径有所不同。因为在绿色组织中, GS/GOGAT 循环的主

要作用是同化光呼吸产生的  $NH_4^+$  以及硝酸盐在叶中还原产生的  $NH_4^+$ , 在根中则是同化吸收到体内的  $NH_4^+$  以及硝酸盐被吸收后在根中还原产生的  $NH_4^+$ <sup>[9]</sup>。在各营养器官中,  $Pb^{2+}$  处理对桐花树幼苗根的初级氮代谢影响最大,  $Pb^{2+}$  胁迫使根同化  $NH_4^+$  的能力减弱最为明显, 因此可能导致  $NH_4^+$  在根部的积累, 氮浓度过高会对植物产生毒害, 氮必需同化为体内的有机含氮化合物, 才能避免对植物的危害。因此, 从氮素代谢的角度看,  $Pb^{2+}$  处理可能为植物带来氮毒害。

### 参考文献:

- [1] 郑逢中, 林鹏, 郑文教. 红树植物秋茄幼苗对 Cd 耐性的研究 [J]. 生态学报, 1994, 14: 407-413.
- [2] 陈荣华, 林鹏. 红树幼苗对汞的吸收和净化 [J]. 环境科学学报, 1989, 9: 218-224.
- [3] WALSHGE, AINSWORTHKA, RIGBYR. Resistance of red mangrove (*Rhizophora mangle* L.) seedlings to lead, cadmium and mercury [J]. Biotropica, 1979, 11: 22-77.
- [4] LAM H M, COSCHIGANO K T, OLIVERIRA I C, et al. The Molecular Genetics of Nitrogen Assimilation Into Amino Acids in Higher Plants [J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Biol, 1996, 47: 569-593.
- [5] ZHANG C F, PENG S B, PENG X X, et al. Response of glutamine synthetase isoforms to nitrogen sources in rice (*Oryza sativa* L.) roots [J]. Plant Sci, 1997, 125: 163-170.
- [6] RHODES D, RENDO G A, STEWART G R. The Control of Glutamine Synthetase Level in Lemna Minor L [J]. Planta, 1975, 125: 201-211.
- [7] LIN C C, KAO C H. Disturbed ammonium assimilation is associated with growth inhibition of roots in rice seedlings caused by NaCl [J]. Plant Growth Regul., 1996, 18: 233-238.
- [8] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 84-185.
- [9] 莫良玉, 吴良欢, 陶勤南. 高等植物 GS/GOGAT 循环研究进展 [J]. 植物营养与肥料学报, 2001, 7 (2): 223-231.
- [10] 林清华, 李常健, 彭进, 等. NaCl 对水稻谷氨酰胺合酶和谷氨酸脱氢酶的胁迫作用 [J]. 武汉植物学研究, 2000, 18 (3): 206-210.

(责任编辑: 刘新永)