

刘英杰, 朱雪梅, 林立金, 等. 冬季农田杂草荠菜对铅的生理响应及积累特性研究[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(1): 29-36.

LIU Ying-jie, ZHU Xue-mei, LIN Li-jin, et al. Physiological responses and lead accumulation of the winter weed *Capsella bursa-pastoris* under lead stress[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(1): 29-36.

冬季农田杂草荠菜对铅的生理响应及积累特性研究

刘英杰^{1,2,5}, 朱雪梅¹, 林立金³, 杨远祥¹, 杨占彪¹, 邵继荣^{4*}

(1.四川农业大学环境学院, 成都 611130; 2.成都市环境监测中心站, 成都 610072; 3.四川农业大学果蔬研究所, 成都 611130; 4.四川农业大学生命科学学院, 四川 雅安 625014; 5.天府新区成都管委会经济发展局, 成都 610213)

摘要:为寻找新的铅超富集植物以弥补目前国内铅超富集植物的不足,通过盆栽试验,研究了荠菜[*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medic]在不同铅浓度(0、200、400、600、800、1000、1200、1400、1600 mg·kg⁻¹)处理下的生长、生理及对铅的积累特性。结果表明,在所有铅处理条件下,荠菜均能正常生长,且未出现任何中毒症状。荠菜的株高、根长、叶长、叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素(a+b)、地上部与根系生物量均随土壤铅浓度的增加呈现先升高后降低的趋势,且几乎所有铅处理组的生长状况明显优于对照组。荠菜的地上部铅含量和铅积累量、根系铅含量和铅积累量、植株铅积累总量、富集系数、转运系数则随土壤铅浓度的增加而升高。在土壤铅浓度为 1000 mg·kg⁻¹ 时,荠菜地上部、根系的铅含量分别为 1 036.14、1 201.37 mg·kg⁻¹,超过铅超富集植物临界值(1000 mg·kg⁻¹)。地上部富集系数在土壤铅浓度高于 600 mg·kg⁻¹ 时超过 1,但转运系数均小于 1。同时,荠菜的抗氧化酶活性(SOD、CAT)随土壤铅浓度的增加而升高,丙二醛(MDA)含量和活性氧自由基(H₂O₂、O₂⁻)含量则处于较为稳定状态。因此,荠菜不仅具有较强的铅富集能力与稳定的转运能力,而且具有较强的耐铅性,可作为一种新的铅富集植物应用于铅污染土壤修复。

关键词:荠菜;铅;富集特性;生理响应;植物修复

中图分类号:X171.5 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2016)01-0029-08 doi:10.11654/jaes.2016.01.004

Physiological responses and lead accumulation of the winter weed *Capsella bursa-pastoris* under lead stress

LIU Ying-jie^{1,2,5}, ZHU Xue-mei¹, LIN Li-jin³, YANG Yuan-xiang¹, YANG Zhan-biao¹, SHAO Ji-rong^{4*}

(1.College of Environmental Sciences, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 2.Chengdu Environmental Monitoring Center, Chengdu 610072, China; 3.Institute of Pomology and Olericulture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 4.College of Life Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China; 5.Tianfu New Area Chengdu Management Committee Economic Development Board, Chengdu 610213, China)

Abstract: A pot experiment was conducted to examine the growth, physiological responses and lead (Pb) accumulation of *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medic, a new Pb hyperaccumulator, under different Pb rates (0, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400, and 1600 mg·kg⁻¹). Results showed that *C. bursa-pastoris* grew normally and showed no toxic symptoms under all Pb treatments. With the increase of Pb concentrations in soil, plant height, root length, leaf length, chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll a+b and plant biomass all showed increases at low Pb but decreases at high Pb rates, with all higher in the treatments than in the control. Lead content in and Pb extraction by roots and shoots, and bioconcentration factor and translocation factor of *C. bursa-pastoris* all increased with increasing Pb concentrations in soil. The Pb content in shoots and roots of *C. bursa-pastoris* exceeded 1000 mg·kg⁻¹ at 1000 mg·kg⁻¹ of soil Pb, reaching 1 036.1 mg·kg⁻¹ and 1 201.4 mg·kg⁻¹, respectively. The shoot bioconcentration factor of *C. bursa-pastoris* was greater than 1 when soil Pb concentration was higher than 600 mg·kg⁻¹, but the translocation factor of *C. bursa-pastoris* was less than 1 under all Pb treatments. Activities of superoxide dismutase and catalase increased with increases in soil Cd concentration, but malondialdehyde and active oxygen radical content kept in a stable status. Therefore, *C. bursa-pastoris* is a Pb-accumulator with great accumulation ability, stable translocation and strong tolerance to Pb, which could be used to remediate Pb-contaminated farmland soil.

Keywords: *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medic; lead; accumulation; physiological response; phytoremediation

收稿日期:2015-06-24

作者简介:刘英杰(1988—),男,助理工程师,硕士,主要从事污染生态学研究。E-mail:756410218@qq.com

*通信作者:邵继荣 E-mail:shaojr007@163.com

重金属铅(Pb)不仅是最有毒性的重金属元素之一,也是植物的非必需元素。土壤遭受铅污染不仅会改变原有土壤结构、恶化土壤微生物生存环境,还会严重威胁农作物的产量与质量,甚至通过食物链危害人体健康^[1]。因此,对铅污染土壤进行生态修复显得十分迫切。植物修复作为一种费用低廉、不破坏土壤结构、不造成二次污染的绿色修复技术^[2],已成为国内外重金属污染治理研究的热点。

植物修复的核心是利用超富集植物或富集植物对土壤中重金属的高富集特性来净化土壤环境,而该技术的关键则是筛选具有较高实际应用价值的超富集植物或富集植物。尽管在全球范围内开展的超富集植物与富集植物筛选工作取得了一定成果^[3],如 *Agrostis ovina*^[4]、*Thlaspi rotundifolium*^[5]、*Brassica juncea*^[6]和密毛白莲蒿^[7]等被界定为铅超富集植物,但在利用已知超富集植物与富集植物进行实际修复中却暴露出植物生长缓慢、植株矮小、对不同类型土壤适应能力差以及生物入侵等问题^[8-9],更值得注意的是以上植物大部分为夏季生长的植物,在冬季低温条件下生长的甚少^[10],这极大地限制了它们在实际应用中的修复范围和修复效率。为此,寻找适合农田土壤环境、生长快速、繁殖能力强、能够避免物种入侵问题,同时能够应用于冬季低温环境的新超富集植物与富集植物,已成为植物修复技术急需解决的问题。

农田杂草是一类生物量大、生长迅速、具有较强的抗逆境能力和争夺环境资源能力的植物类群^[11-12]。目前,国内学者从农田杂草中筛选出的铅富集植物仅有香根菜、裂叶荆芥、羽叶鬼针草等^[13],而铅超富集植物仅有金丝草^[14]。因此,从冬季农田杂草中筛选重金属超富集植物,不仅可以弥补现有冬季超富集植物的不足,而且可以就地取材,就地使用,避免了引种过程中存在的潜在问题。

荠菜 [*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medic] 是十字花科荠菜属一年生草本植物,适宜生长于温带地区冬季低温环境,广泛分布于全国各地,常见于田间、山坡。荠菜能耐受-5℃低温,但不耐22℃以上高温。3~4℃低温条件能促进解除荠菜种子的休眠,荠菜种子发芽后,在5~20℃较短日照条件下生长迅速。荠菜对土壤的选择不严,一般土质疏松、排水良好的土壤均可生长,但以肥沃、疏松、湿润的土壤条件为佳。

在前期初步研究中发现,荠菜能够在铅浓度约为100 mg·kg⁻¹的土壤中正常生长,且表现出较强的铅富集特性,可能是一种铅富集植物。本研究在此基础上

通过盆栽试验,研究荠菜在不同浓度铅处理下的生长状况、生理响应、铅富集能力,旨在为植物修复技术提供新的富集植物品种。

1 材料与方 法

1.1 材料来源

2012年1月,发现在前期铅污染试验中废弃的土壤中长出几种植物:荠菜、车前、通泉草、多茎鼠麴草。这些植物当中,荠菜长势最好,生物量较大,处于开花初期,而其他三种植物生物量小,长势一般。由于车前、通泉草和多茎鼠麴草的生物量太小,达不到重金属测定量,只对荠菜植株铅含量和土壤铅含量进行了测定。测定结果显示,土壤全铅平均含量100.25 mg·kg⁻¹,荠菜的地上部、根部铅含量分别为69.72、86.03 mg·kg⁻¹。荠菜表现出对铅较强的富集特性,初步判定可能是铅富集植物。

本次试验荠菜种子于2013年3月采集于四川农业大学雅安和温江校区试验农田。

1.2 盆栽试验

盆栽试验于2013年10—12月在四川农业大学温江校区实验大棚内进行。供试土壤为水稻土,土壤基本理化性质为:pH 6.29,全氮1.09 g·kg⁻¹,全磷1.2 g·kg⁻¹,全钾22 g·kg⁻¹,速效氮68.12 mg·kg⁻¹,速效磷16.22 mg·kg⁻¹,速效钾156.2 mg·kg⁻¹,铅全量16.08 mg·kg⁻¹。土样经风干、压碎、过5 mm筛,然后装入塑料盆中(盆直径20 cm,高20 cm),每盆装入2.0 kg土。土壤中以Pb(CH₃COO)₂·3H₂O溶液形式加入的铅质量浓度分别为0、200、400、600、800、1000、1200、1400、1600 mg·kg⁻¹,保持土壤田间持水量的80%,混匀并静置30 d。

挑选饱满荠菜种子,分别用0.1%NaClO浸泡消毒30 min,然后用蒸馏水冲洗干净,平铺于垫有滤纸的培养皿中,置于光照培养箱中催芽。选择长势一致、长出三片真叶的幼苗,移栽到经铅处理的盆中,每盆种植5株,每个处理重复3次。根据盆栽土壤缺水情况,不定期浇水保持土壤田间持水量80%,待植物生长45 d后整株收获。

1.3 研究方法

1.3.1 样品采集

将植株从盆中取出,先用自来水清洗,然后用去离子水反复冲洗,再将植物分为地上部与根系两部分。采集部分新鲜叶片,测定酶活性、叶绿素含量、丙二醛含量、活性氧自由基。将根浸泡在0.01 mol·L⁻¹

HCl 中 10 min,再用去离子水清洗。将植物各部分鲜样于 105 °C 下杀青 30 min,80 °C 下烘干至恒重,称重,粉碎,过 100 目尼龙筛备用。

1.3.2 分析方法

荠菜生长性状(株高、根长、叶长和生物量)采用常规方法测定。超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑(NBT)法^[15],过氧化氢酶(CAT)活性采用分光光度法^[16],叶绿素含量采用丙酮-乙醇浸提法^[17],丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸比色法^[18],超氧阴离子自由基(O₂⁻)含量采用羟胺法^[19],过氧化氢(H₂O₂)含量采用分光光度法^[16]测定。转运系数(TF)=地上部铅含量/根系铅含量^[20],富集系数(BCF)=地上部(根系)铅含量/土壤铅含量^[20]。植物样品铅含量采用 HNO₃-HClO₄ 消煮,ICAP 6300 型 ICP 光谱仪(Thermo Scientific, USA)测定^[21]。土壤样品铅含量采用 HNO₃-HF-HCl 消煮,ICAP 6300 型 ICP 光谱仪测定^[21]。

1.3.3 数据处理

采用 SPSS 13.0 统计分析软件对数据进行统计分析,并利用最小显著性差异检验(LSD)法进行差异显著性检验,用 Origin 8.1 软件作图。

2 结果与分析

2.1 铅处理对荠菜生长的影响

经试验观察发现,在各水平铅处理下(200~1600 mg·kg⁻¹)荠菜均正常生长,无明显中毒症状。试验结果表明,荠菜的株高、根长、叶长、地上部生物量和根系生物量均表现为随铅处理浓度的增加呈先升高后降低的趋势(表 1)。在铅处理浓度为 800 mg·kg⁻¹ 时,荠菜的株高、根长、叶长和地上部生物量、根系生物量均达到最大值,分别为 51.2、19.8、13.9 cm 和 0.88、0.28 g·株⁻¹,且几乎所有铅处理组的株高、根长、叶长、地上

部生物量和根系生物量(除 1600 mg·kg⁻¹ 处理组的地上部生物量外)均显著大于对照组($P<0.05$),增幅分别达 53.8%、39.9%、12.1%、22.2%、75%。综上所述,铅处理下荠菜的生长响应表现出低促高抑的规律,总体上呈促进作用。在铅处理浓度为 800 mg·kg⁻¹ 时,荠菜的生长状况最佳。这表明荠菜对铅具有较高的耐性。

2.2 铅处理对荠菜逆境生理的影响

2.2.1 对荠菜叶绿素含量的影响

从表 2 可知,不同水平铅处理荠菜叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素(a+b)含量总体上呈现先升高后降低的趋势。低浓度(200~400 mg·kg⁻¹)铅处理时,叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素(a+b)含量较对照有所增加但未达显著水平($P>0.05$);中浓度(600~1000 mg·kg⁻¹)铅处理时,叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素(a+b)含量迅速上升,在处理浓度为 1000 mg·kg⁻¹ 时达到峰值,分别是对照的 1.38、1.13、1.32 倍,均显著高于对照($P<0.05$);高浓度(1200~1600 mg·kg⁻¹)铅处理时,叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素(a+b)含量急剧下降,且随处理浓度的升高,下降幅度增大,但与对照相比未达显著水平($P>0.05$)。这表明在铅处理下,荠菜叶绿素的合成表现出较强的浓度效应,呈现出低促高抑的规律,在中浓度(600~1000 mg·kg⁻¹)时效果最佳。同时,根据叶绿素 a/b 值变化趋势可知,各处理组(除 200~400 mg·kg⁻¹ 铅处理组外)叶绿素 a/b 值显著高于对照组,表明铅能刺激荠菜叶片的光合作用,提升叶片的光合速率。

2.2.2 对荠菜叶片 MDA 与活性氧自由基含量的影响

MDA 是脂过氧化反应的最终分解产物之一,其含量的高低间接表明植物体内的活性氧水平和细胞的受损程度。通常 MDA 含量越高,表明植物体内活性氧水平越高,膜脂过氧化受损越严重。本研究发现,荠菜叶片 MDA 含量总体上随着铅处理浓度的升高

表 1 铅处理对荠菜生长的影响

Table 1 Effects of lead treatments on growth of *C. bursa-pastoris*

Pb 处理水平/mg·kg ⁻¹	株高/cm	根长/cm	叶长/cm	地上部生物量/g·株 ⁻¹	根系生物量/g·株 ⁻¹
0	30.01±1.50e	12.01±0.61e	11.01±0.51e	0.64±0.01c	0.12±0.04h
200	40.61±2.01d	15.40±0.71d	11.30±0.51de	0.64±0.02c	0.18±0.05f
400	44.91±2.20c	16.12±0.82cd	11.61±0.60cde	0.82±0.06a	0.24±0.06c
600	48.62±2.40abc	17.73±0.80b	12.81±0.62ab	0.87±0.02a	0.26±0.07b
800	51.21±2.50a	19.81±0.91a	13.91±0.71a	0.88±0.03a	0.28±0.07a
1000	49.02±2.40ab	17.21±0.81bc	12.42±0.60bcd	0.83±0.06a	0.24±0.06c
1200	48.30±2.41abc	16.41±0.30bcd	12.70±0.61bc	0.72±0.02b	0.22±0.05d
1400	45.91±2.20bc	15.31±0.31d	12.20±0.71bcd	0.67±0.02bc	0.20±0.05e
1600	40.40±2.00d	16.30±0.30cd	11.70±0.60cde	0.52±0.02d	0.15±0.03g

注:数据为平均值±标准差,n=3;同一列不同小写字母代表 5%水平差异显著($P<0.05$)。下同。

表 2 铅处理对荠菜叶绿素含量的影响

Table 2 Effects of lead treatments on chlorophyll content of *C.bursa-pastoris*

Pb 处理水平/mg·kg ⁻¹	叶绿素 a/mg·g ⁻¹	叶绿素 b/mg·g ⁻¹	叶绿素(a+b)/mg·g ⁻¹	叶绿素 a/b
0	1.46±0.075c	0.47±0.025cde	1.94±0.10de	3.08±0.155c
200	1.48±0.070c	0.48±0.020cde	1.96±0.10de	3.08±0.150c
400	1.56±0.080c	0.51±0.030bc	2.07±0.10cd	3.05±0.150c
600	1.73±0.085b	0.49±0.020bcd	2.23±0.11bc	3.54±0.175b
800	1.99±0.100a	0.50±0.025bc	2.49±0.12a	3.98±0.200a
1000	2.03±0.105a	0.54±0.025a	2.57±0.12a	3.76±0.195a
1200	2.00±0.100a	0.51±0.045b	2.51±0.13a	3.94±0.175b
1400	1.80±0.090b	0.46±0.020de	2.26±0.11b	3.91±0.195a
1600	1.44±0.070c	0.44±0.020e	1.88±0.09e	3.27±0.165bc

而增加(表 3)。低浓度(200~400 mg·kg⁻¹)铅处理时,MDA 含量虽有小幅升高,但较对照无显著性差异($P>0.05$),表明该阶段荠菜叶片细胞膜未遭受明显的伤害;中浓度(600~1000 mg·kg⁻¹)铅处理时,MDA 含量显著高于对照($P<0.05$),是对照的 2.87~3.02 倍,且各处理组间无显著差异($P>0.05$),表明该阶段荠菜叶片细胞膜虽已遭受明显伤害,但依靠植物体内各种抗氧化机制,有效降低了氧化伤害;高浓度(1200~1600 mg·kg⁻¹)铅处理时,MDA 含量显著升高($P<0.05$),表明氧化胁迫加剧,细胞膜受损加重。

植物体内活性氧自由基的水平直接表明植物遭受过氧化胁迫的程度。荠菜叶片 O₂⁻和 H₂O₂ 含量的变化规律总体上与 MDA 含量变化规律相似(表 3)。低浓度(200~400 mg·kg⁻¹)铅处理时,与对照相比,O₂⁻和 H₂O₂ 含量虽显著升高,但各铅处理组间无显著性差异($P>0.05$),表明低浓度铅虽能诱发荠菜叶片 O₂⁻和 H₂O₂ 的大量产生,但植物体内的活性氧清除系统随即启动,有效地清除过量的活性氧。综合来看,低浓度(200~400 mg·kg⁻¹)铅处理时,荠菜叶片并未遭受过氧

表 3 铅处理对叶片 MDA、H₂O₂、O₂⁻含量的影响Table 3 Effects of lead treatments on MDA, H₂O₂ and O₂⁻ content in leaves of *C.bursa-pastoris*

Pb 处理水平/ mg·kg ⁻¹	MDA 含量/ μmol·g ⁻¹	H ₂ O ₂ 含量/ μmol·g ⁻¹	O ₂ ⁻ 含量/ μg·g ⁻¹
0	23.81±1.19d	6.10±0.31e	0.91±0.05g
200	25.70±1.53d	8.64±0.41d	2.26±0.13f
400	28.73±1.94d	9.50±0.70d	3.41±0.22f
600	72.16±4.16c	11.53±0.71c	10.14±0.68e
800	70.13±2.95c	13.92±0.70b	10.36±0.78e
1000	68.95±3.35c	14.10±0.71b	21.69±0.88d
1200	83.03±4.15b	16.17±0.77a	25.82±1.06c
1400	95.03±4.15a	16.60±0.77a	27.82±1.06b
1600	100.03±4.15a	17.09±0.77a	30.82±1.06a

化胁迫,植物体内仍保持着活性氧的动态平衡。

2.2.3 对荠菜叶片 SOD 与 CAT 活性的影响

本研究显示,荠菜叶片 SOD、CAT 活性均随处理浓度的升高呈现先升高后降低的趋势(图 1)。低、中浓度(200~1000 mg·kg⁻¹)处理下,SOD、CAT 活性显著升高,分别在 1000、800 mg·kg⁻¹ 时达到峰值。高浓度(1200~1600 mg·kg⁻¹)处理下,SOD、CAT 活性均显著降低,在 1600 mg·kg⁻¹ 时降至最低,但二者的活性仍高于对照。由此可见,这两种酶在保护植物免受氧化损害的过程中具有重要作用。

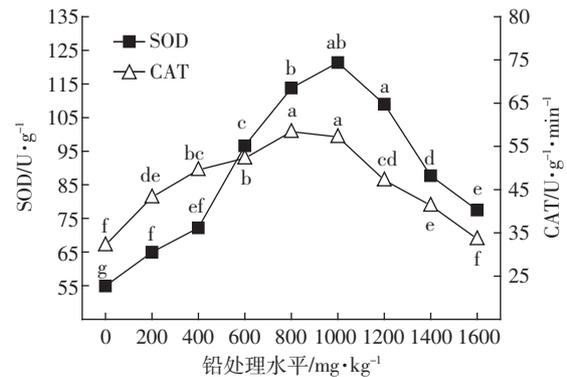


图 1 铅处理对荠菜叶片 SOD、CAT 活性的影响

Figure 1 Effects of lead treatments on activities of SOD and CAT in leaves of *C.bursa-pastoris*

2.3 荠菜对铅的富集特性

研究显示,荠菜地上部和根系的铅含量均随着处理浓度的升高而增加(表 4),各处理组均显著高于对照($P<0.05$),且处理间(除 1400~1600 mg·kg⁻¹ 处理的根系铅含量外)差异显著。当铅处理浓度为 1000 mg·kg⁻¹ 时,荠菜地上部、根系的铅含量分别达到 1 036.14、1 201.37 mg·kg⁻¹,是对照的 34.4、33.74 倍,高于铅超富集植物的临界值。当铅处理浓度为 1600 mg·kg⁻¹ 时,荠菜地上部、根系的铅含量达到峰值,分别为

表4 荠菜对铅的富集特性

Table 4 Accumulation characteristics of lead in *C. bursa-pastoris*

Pb 处理水平/ mg·kg ⁻¹	地上部铅含量/ mg·kg ⁻¹	根系铅含量/ mg·kg ⁻¹	地上部铅积累量/ mg·盆 ⁻¹	根系铅积累量/ mg·盆 ⁻¹	铅积累总量/ mg·盆 ⁻¹	地上部 富集系数	根系 富集系数	转运 系数
0	30.12±1.51i	35.61±1.78h	0.10±0.01f	0.02±0.01d	0.12±0.01e	--	--	0.85
200	115.24±5.76h	180.23±9.01g	0.37±0.03f	0.16±0.05d	0.53±0.08e	0.58	0.90	0.64
400	336.30±16.8g	430.23±21.51f	1.38±0.17e	0.52±0.15cd	1.90±0.32d	0.84	1.08	0.78
600	527.21±26.36f	717.79±35.89e	2.30±0.17d	0.94±0.30bc	3.24±0.47c	0.88	1.20	0.73
800	820.56±41.03e	900.03±45.00d	3.61±0.30c	1.27±0.38ab	4.89±0.68b	1.03	1.13	0.91
1000	1 036.14±51.81d	1 201.37±60.06c	4.31±0.53b	1.45±0.43ab	5.76±0.96ab	1.04	1.20	0.86
1200	1 263.63±63.18c	1 439.36±71.97b	4.55±0.35ab	1.59±0.44a	6.15±0.79a	1.05	1.20	0.88
1400	1 503.78±75.18b	1 731.89±86.59a	5.04±0.40a	1.74±0.51a	6.88±0.92a	1.07	1.24	0.87
1600	1 783.95±89.20a	1 801.64±90.08a	4.64±0.41ab	1.36±0.33ab	6.00±0.75a	1.11	1.13	0.99

1 783.95、1 801.64 mg·kg⁻¹, 是对照的 59.23、50.59 倍,是铅超富集植物临界值的 1.78、1.8 倍。这表明荠菜对铅的吸收和累积具有一定的潜力,初步达到了铅超富集植物标准。

富集系数是评价植物吸收富集重金属效率的一个重要指标,超富集植物的富集系数应大于 1。本研究发现,荠菜地上部、根系的富集系数均随处理浓度的升高而增加,地上部富集系数在铅处理浓度≥800 mg·kg⁻¹ 时大于 1,根系富集系数在铅处理浓度≥400 mg·kg⁻¹ 时大于 1。这表明荠菜对铅有较强的富集能力,且随处理浓度的升高而增强。

重金属迁移系数表明了植物从根系向地上部转运重金属的能力。荠菜的转运系数虽均小于铅超富集植物的评价阈值 1,但在中、高浓度(800~1600 mg·kg⁻¹) 时,荠菜的转运系数平均为 0.902,十分接近于 1,表明荠菜具有一定的铅转移能力。

综合来看,荠菜虽不能被界定为铅超富集植物,但其表现出的较强的富集能力和稳定的转移能力,使其具有修复铅污染土壤的潜力,可作为铅富集植物。

3 讨论

3.1 铅处理对荠菜生长发育的影响

铅是一种植物非必需元素,对植物有潜在和直接的危害作用^[22],抑制植物的生长^[23]。植物受铅的毒害症状表现为根系萎缩、叶片褪绿变褐甚至枯烂、生物量下降等。但也有研究表明,低、中浓度铅处理反而会刺激植物的生长^[24]。王红旗等^[25]发现 100 mg·L⁻¹ 铅处理能促进羽叶鬼针草的生长,表现为株高、生物量较对照有所增加,Belimov 等^[26]发现 100 mg·L⁻¹ 铅处理能促进印度芥菜根系的生长,生物量与对照相比有所增加。本研究显示,铅处理对荠菜的生长起到低促高抑

的作用。这与铅富集植物东南景天^[27]的表现类似。当铅浓度≤800 mg·kg⁻¹ 时,荠菜生长受到的促进作用明显,且在 800 mg·kg⁻¹ 时株高、根长、叶长、地上部和根系生物量均达到峰值。当铅浓度>800 mg·kg⁻¹ 时,荠菜的生长虽受到抑制,但几乎所有生长指标(除 1600 mg·kg⁻¹ 处理组的地上部生物量外)仍高于对照组。植物在中、高浓度处理下生长受抑制可能是在高浓度胁迫下,植物需要通过消耗其有效能量来保持细胞的正常功能,从而造成生长效率降低。总体而言,铅处理对荠菜的生长发育起到促进作用。

耐性临界值是表示植物在保持正常生长状态下修复潜力的关键数据,耐性临界值高的植物其体内能够吸收大量重金属。耐性临界值分为上限和下限。下限以生物量减少 10% 为标准,上限以生物量减少 20% 为标准。根据上述标准判定,荠菜在铅最高处理浓度下(1600 mg·kg⁻¹) 仍未达到耐性临界值的上限。这表明荠菜具有较强的耐铅性,且荠菜对铅的耐性临界值不低于 1600 mg·kg⁻¹。一般来说,自然条件下铅污染土壤浓度往往低于 1600 mg·kg⁻¹,同时自然条件下荠菜的生长并不会受盆栽试验的限制而能更好的生长,因此荠菜在自然条件下能够表现出更高的耐铅性,具有修复铅污染土壤的潜力。

3.2 铅处理对荠菜逆境生理的影响

研究表明,重金属会抑制植物光和系统中的电子传递和卡尔文循环的再生阶段,使植物长势减弱,生物量减少^[28]。叶绿素则是卡尔文循环的重要组成部分,其含量的增减与光合作用的强弱以及物质合成速率的高低息息相关^[29]。因此,植物叶绿素含量的增减不仅能直接反应光合作用水平的强弱,还能间接表明植株是否遭受重金属的毒害。有研究报道,铅处理下植物的叶绿素含量会下降。例如,袁红艳等^[30]发现费

菜在铅处理 22 d 后,其叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素均随处理浓度的增加而显著降低。但对于铅超富集植物或富集植物而言,适量的铅对植物叶绿素含量并无显著影响或能刺激叶绿素含量的增加。孟晓霞等^[21]发现鱼腥草在铅浓度 $<400\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,其叶绿素含量与对照相比无显著变化;龙巍等^[32]发现西南山梗菜在 $300\sim 4000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 铅处理下,其叶绿素含量均高于对照,并在 $4000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时达到最大值。本研究显示,低、中浓度处理时,荠菜的叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素总量总体上呈增长趋势,且三者均在 $1000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时达到峰值。这表明低、中浓度处理可能没有破坏植物体内叶绿体的结构,减缓叶绿素的合成过程,反而可能刺激了合成叶绿素的关键酶活性(叶绿素酸酯还原酶)和物质含量(氨基-r-酮戊酸)^[33],致使植物的叶绿素含量增加。以上结果从植物生长代谢层面揭示了荠菜正常生长于铅胁迫环境的原因,表明荠菜本身具有较高的耐铅性。

活性氧是植物体内正常代谢产物,主要产生于叶绿体和线粒体。正常情况下,植物细胞内活性氧的产生与清除处于动态平衡,而一旦植物遭受逆境胁迫该平衡势必被打破,使活性氧自由基迅速积累^[34]。过量的活性氧自由基将引起膜脂氧化的链式反应,产生大量的膜脂过氧化产物,严重损伤细胞膜的结构和功能。因此,及时地清除过量活性氧,迅速地缓解氧化胁迫对细胞膜的损伤,是植物耐逆境胁迫的关键所在。多数研究显示,铅能诱发植物体内活性氧与 MDA 的大量产生和积累^[35-36]。张兆金等^[37]发现土荆芥在铅处理($50\sim 450\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)15 d 后,MDA 含量显著升高。本研究显示,低浓度处理对荠菜叶片 MDA 含量影响有限,与对照相比无显著性差异。同时, O_2^- 与 H_2O_2 含量在相同浓度处理时,各处理间差异也不显著。这表明低浓度($200\sim 400\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)铅处理时,植物体内的活性氧总体水平不高,并未形成积累之势,对细胞膜的伤害作用较小。而中浓度处理时, O_2^- 与 H_2O_2 含量不断增加,表明在该阶段植物受到的氧化胁迫加剧,活性氧大量产生并已形成积累。但 MDA 含量在该阶段却呈小幅降低的趋势,且各处理间差异不显著。这表明虽然铅浓度的升高刺激了植物体内活性氧的大量产生和积累,但植物依靠自身的抗氧化保护系统,有效地抵抗了因过量活性氧积累而造成的过氧化胁迫,减轻了活性氧对细胞膜的伤害作用,减缓了膜脂过氧化反应。高浓度处理时,植物遭受的过氧化胁迫进一步加剧,然而 H_2O_2 含量在该阶段各处理间差异不显著,则

又表明荠菜的抗氧化保护系统即使在高氧化胁迫下仍能保持高效的清除能力。综合而言,荠菜在低、中浓度铅处理时表现出很好的抗氧化胁迫能力,保持了细胞的正常功能,为植物的生长发育提供了有效保障,同时证明荠菜能够正常生长于低、中浓度铅胁迫的环境中,表现出较高的耐铅性。

荠菜之所以在低、中浓度处理下受到的氧化胁迫程度较低,是因为荠菜抗氧化酶的积极响应,而抗氧化酶的积极响应恰好是植物在逆境胁迫下的内在应激和调节机制^[38]。SOD 和 CAT 在植物体内组成了一个有效的活性氧清除系统,能够有效地清除活性氧自由基^[8,39]。这两种酶的抗氧化能力直接决定植物对逆境胁迫的响应程度^[40]。SOD 与 CAT 的酶活性变化规律总体相似,均为在低、中浓度铅处理时迅速升高,表现出一定的协同作用。结合 O_2^- 、 H_2O_2 、MDA 含量在该浓度阶段的变化可以看出,这两种酶在降低细胞内 O_2^- 、 H_2O_2 、MDA 含量、维持细胞氧化平衡过程中起到了重要作用。从酶功能上看,SOD 是唯一能将 O_2^- 转变成 H_2O_2 的酶,它构成了植物清除活性氧自由基的第一道防线;CAT 可以在无底物的情况下直接催化 H_2O_2 向 H_2O 转化,这构成了第二道防线。两种酶功能的不同,表明了刺激两者活性上升的原因各不相同。前者可能是因为活性氧自由基的产生和积累激活了更多的 SOD^[41],也可能是因为编码 SOD 的基因表达增强,进而产生了更多的 SOD^[28];而后者可能与 CAT 在清除 H_2O_2 时不需要电子供体且反应速度快相关。

综合上述逆境生理指标可以发现,荠菜自身具有良好的抵御低、中浓度铅胁迫的能力,为植物在铅胁迫环境中正常生长提供了先决条件。

3.3 荠菜对铅的富集能力

植物吸收、积累和转运重金属的能力不仅作为判断该种植物是否为超富集植物或富集植物的重要标准,也直接表明了该种植物能否用于修复重金属污染土壤。目前对铅超富集植物的界定主要采用 Baker 和 Brooks 提出的标准:一是植物地上部分铅含量大于 $1000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$;二是植物的富集系数与转运系数均大于 1。由于能满足上述要求的铅超富集植物并不多,国外发现的有 *Agrostis ovina*^[4]、*Thiaspia rotundifolium*^[5]、*Brassica jouncea*^[6],国内有密毛白莲蒿^[7]等,多数植物被界定为铅耐性植物。本研究显示,荠菜地上部、根系铅含量与铅处理浓度呈一次线性变化,具有显著的正相关性($P<0.05$),表明荠菜对铅的吸收与土壤中铅浓度密切相关。这与多数铅超富集植物或富集植物表现相

似^[14]。在铅处理浓度 $\geq 1000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,荠菜地上部铅含量为 $1\ 036.14 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,达到了铅超富集植物的临界值($1000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)。同时,在不同铅处理条件下,荠菜没有表现出明显中毒症状,其根系及地上部富集系数几乎都大于1,但转运系数均小于1。这说明荠菜地上部与根系均能吸收大量的铅,但根系吸收能力强于地上部。究其原因,可能是因为植物根系对吸收进入体内的铅具有吸持、钝化或沉淀作用,使根系所吸收的铅很难向地上部运输^[32]。按照铅超富集植物的定义,荠菜没有达到铅超富集植物的标准,因此不是铅超富集植物,而是铅富集植物。与其他铅超富集植物如柳叶箬、金丝草^[42]相比,荠菜地上部铅含量相对较低,但其地上部铅提取量明显大于根系铅提取量,铅积累量最大值达到了 $6.88 \text{ mg}\cdot\text{盆}^{-1}$ (土壤铅含量为 $1400 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),显示出较强的修复力,能够用于铅污染土壤的修复。

4 结论

(1)铅处理条件下,随土壤铅浓度的增大,荠菜地上部、根系的铅含量均呈增加趋势,地上部铅含量达到铅超富集植物的临界值,地上部、根系富集系数大于1,但转运系数小于1,是一种新的铅富集植物。

(2)铅处理条件下,荠菜能正常生长,未出现任何中毒症状。同时,荠菜作为一种冬季农田杂草,不仅具有很强的耐寒性,而且生长迅速,适应能力强,全国各地分布广泛。本次研究材料均属于当地农田自生植物,这就有效地避免了因引种带来的生物入侵问题。因此,荠菜作为一种针对冬季铅污染农田的修复材料,具有现实利用价值。

(3)低浓度铅处理时,荠菜体内未形成明显的氧化胁迫,抗氧化酶(SOD、CAT)活性较高。然而,中、高浓度铅处理对荠菜造成了明显的氧化伤害,使其抗氧化酶活性不断下降,表明浓度的变化是引发荠菜氧化损伤的一个关键因素,且浓度越高,氧化伤害越强。

参考文献:

[1] 陈兴兰, 杨成波. 土壤重金属污染、生态效应及植物修复技术[J]. 农业环境与发展, 2010, 27(3): 58-62.
CHEN Xing-lan, YANG Cheng-bo. Soil heavy metal pollution, ecological effect and phytoremediation technology[J]. *Agro-Environment & Development*, 2010, 27(3): 58-62.

[2] McGrath S, Zhao J, Lombi E. Phytoremediation of metals, metalloids and radionuclides[J]. *Advances in Agronomy*, 2002, 75: 1-56.

[3] Maestri E, Marmiroli M, Visioli G. Metal tolerance and hyperaccumulation: Costs and trade-offs between traits and environment[J]. *Environ-*

mental and Experimental Botany, 2010, 68(1): 1-13.

[4] Nanda Kumar P, Dushenkov S, Salt D. Crop Brassicas and phytoremediation: A novel environmental technology[J]. *Cruciferae News Eucarpia*, 1994, 16: 18-19.

[5] Reeves R, Brooks R. Hyperaccumulation of lead and zinc by two metallophytes from mining areas of Central Europe[J]. *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological*, 1983, 31(4): 277-285.

[6] Reeves R, Baker A, Brooks R. Abnormal accumulation of trace metals by plants[R]. Southborough: International Business Communications, 1996: 1-10.

[7] 罗于洋, 赵磊, 王树森. 铅超富集植物密毛白莲蒿对铅的富集特性研究[J]. 西北林学院学报, 2010, 25(5): 37-40.
LUO Yu-yang, ZHAO Lei, WANG Shu-sen. Absorption characteristics of *Artemisia sacrorum* var. *messerschmidtiana* to lead[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2010, 25(5): 37-40.

[8] Ensley B D, Raskin I. Phytoremediation of toxic metals: Using plants to clean up the environment[M]. New York: John Wiley & Sons, 2000: 13-23.

[9] Wu L, Li H, Luo Y. Nutrients can enhance phytoremediation of copper-polluted soil by Indian mustard[J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 2004, 26(2): 331-335.

[10] 林立金, 宁博, 廖明安. 冬季农田杂草繁缕对镉的积累特性研究[J]. 生态环境学报, 2014, 23(4): 673-678.
LIN Li-jin, NING Bo, LIAO Ming-an. Cadmium accumulation characteristics of winter farmland weed *Stellaria media*[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2014, 23(4): 673-678.

[11] 赵立新. 杂草对重金属的生物积累特性的研究[J]. 环境保护科学, 2005, 30(5): 43-45.
ZHAO Li-xin. Study on the bioaccumulation character of weeds for heavy metals in polluted soil[J]. *Environmental Protection Science*, 2005, 30(5): 43-45.

[12] 魏树和, 周启星, 刘睿. 重金属污染土壤修复中杂草资源的利用[J]. 自然资源学报, 2005, 20(3): 432-440.
WEI Shu-he, ZHOU Qi-xing, LIU Rui. Utilization of weed resources in heavy metal soil remediation[J]. *Journal of Natural Resources*, 2005, 20(3): 432-440.

[13] 聂俊华, 刘秀梅, 王庆任. Pb(铅)富集植物品种的筛选[J]. 农业工程学报, 2004, 20(4): 255-258.
NIE Jun-hua, LIU Xiu-mei, WANG Qing-ren. Screening of lead accumulators[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2004, 20(4): 255-258.

[14] 吴双桃, 吴晓芙, 胡曰利. 铅锌冶炼厂土壤污染及重金属富集植物的研究[J]. 生态环境, 2004, 13(2): 156-157, 160.
WU Shuang-tao, WU Xiao-fu, HU Yue-li. Study on lead and zinc soil pollution and heavy metal accumulator[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2004, 13(2): 156-157, 160.

[15] 杨居荣, 黄翌. 植物对重金属耐性机理[J]. 生态学杂志, 1994, 13(6): 20-26.
YANG Ju-rong, HUANG Yi. Mechanism of heavy metal tolerance of plants[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 1994, 13(6): 20-26.

[16] 李玲, 李娘辉, 蒋素梅. 植物生理学模块实验指导[M]. 北京: 科学出版社, 2009: 45-50.
LI Ling, LI Niang-hui, JIANG Su-mei. Plant physiology experiment

- module[M]. Beijing: Science Press, 2009: 45–50.
- [17] Wellburn A R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution[J]. *Journal of Plant Physiology*, 1994, 144(3): 307–313.
- [18] 李合生, 孙群, 赵世杰. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 35–40.
LI He-sheng, SUN Qun, ZHAO Shi-jie. Experimental principle and technology of plant physiology and Biochemistry[M]. Beijing: Higher Education Press, 2004: 35–40.
- [19] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧物自由基与羟胺反应的定量关系[J]. 植物生理学通讯, 1990, 26(6): 55–57.
WANG Ai-guo, LUO Guang-hua. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants[J]. *Plant Physiology Communications*, 1990, 26(6): 55–57.
- [20] Zhang X F, Xia H P, Li Z A. Identification of a new potential Cd-hyperaccumulator *Solanum photeinocarpum* by soil seed bank-metal concentration gradient method[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 189(1): 414–419.
- [21] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 31–40.
BAO Shi-dan. Soil agro-chemical analysis[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 31–40.
- [22] Książek M, Woźny A, Młodzianowski F. Effect of Pb(NO₃)₂ on poplar tissue culture and the ultrastructural localization of lead in culture cells[J]. *Forest Ecology and Management*, 1984, 8(2): 95–105.
- [23] Pongrac P, Zhao F, Razinger J. Physiological responses to Cd and Zn in two Cd/Zn hyperaccumulating *Thlaspi species*[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2009, 66(3): 479–486.
- [24] Ye H B, Yang X E, He B. Growth response and metal accumulation of *Sedum alfredii* to Cd/Zn complex-polluted ion levels[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2002, 45(9): 1030–1036.
- [25] 王红旗, 李华, 陆泗进. 羽叶鬼针草对 Pb 的吸收特性及修复潜力[J]. 环境科学, 2006, 26(6): 143–147.
WANG Hong-qi, LI Hua, LU Si-jin. *Bidens maximowicziana*'s adsorption ability and remediation potential to lead in soils[J]. *Environmental Science*, 2006, 26(6): 143–147.
- [26] Belimov A, Hontzeas N, Safronova V. Cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.)[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37(2): 241–250.
- [27] He B, Yang X E, Ni W Z. *Sedum alfredii*: A new lead-accumulating ecotype[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2001, 44(11): 1365–1370.
- [28] Baker A, Brooks R. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements: A review of their distribution, ecology and phytochemistry[J]. *Biorecovery*, 1989, 1(2): 81–126.
- [29] 尹永强, 胡建斌, 邓明军. 植物叶片抗氧化系统及其对逆境胁迫的响应研究进展[J]. 中国农学通报, 2007, 23(1): 105–110.
YIN Yong-qiang, HU Jian-bin, DENG Ming-jun. Latest development of antioxidant system and responses to stress in plant leaves[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2007, 23(1): 105–110.
- [30] 袁红艳, 刘嘉琦, 陆小平. 铅胁迫对费菜叶绿素含量及抗氧化酶活性的影响[J]. 安徽农业科学, 2010, 23: 12445–12447.
YUAN Hong-yan, LIU Jia-qi, LU Xiao-ping. Effect of lead stress on the content of chlorophyll and the activity of antioxidant enzyme of *Sedum aizoon* L.[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2010, 23: 12445–12447.
- [31] 孟晓霞. 鱼腥草对铅的吸收特性及耐性研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2005: 38–40.
MENG Xiao-xia. Lead tolerance and accumulation in *Houttuynia cordata* Thunb[D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2005: 38–40.
- [32] 龙巍. 西南山梗菜对 Pb 的累积特性及耐性研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2009: 23–31.
LONG Wei. Study on accumulation characteristics and tolerance of *Lobelia sequinii* Lévl. et Vant to lead[D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2009: 23–31.
- [33] Zengin F K, Munzuroglu O. Toxic effects of cadmium (Cd²⁺) on metabolism of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings[J]. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science*, 2006, 56(3): 224–229.
- [34] Chaparzadeh N, D'Amico M L, Khavari-Nejad R A. Antioxidative responses of *Calendula officinalis* under salinity conditions[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2004, 42(9): 695–701.
- [35] Liu D, Islam E, Li T Q. Comparison of synthetic chelators and low molecular weight organic acids in enhancing phytoextraction of heavy metals by two ecotypes of *Sedum alfredii* Hance[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 153(1): 114–122.
- [36] Gupta D, Nicoloso F, Schetinger M. Lead induced responses of *Pfaffia glomerata*, an economically important Brazilian medicinal plant, under in vitro culture conditions[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2011, 86(3): 272–277.
- [37] 张兆金. 土荆芥对铅胁迫的生理响应及其对铅污染土壤的修复[D]. 南京: 南京林业大学, 2006: 23–31.
ZHANG Zhao-jin. Heavy metal accumulation and physiological responses of *Chenopodium ambrosioides* L. under lead stress[D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2006: 23–31.
- [38] Sharma N C, Sahi S V, Jain J C. *Sesbania drummondii* cell cultures: ICP-MS determination of the accumulation of Pb and Cu[J]. *Micro-Chemical Journal*, 2005, 81(1): 163–169.
- [39] Kubota H, Takenaka C. Field Note: *Arabis gemmifera* is a hyperaccumulator of Cd and Zn[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2003, 5(3): 197–201.
- [40] 刘鹏, 杨玉爱. 钼、硼对大豆叶片膜脂过氧化及体内保护系统的影响[J]. 植物学报: 英文版, 2000, 42(5): 461–466.
LIU Peng, YANG Yu-ai. Effects of molybdenum and boron on membrane lipid peroxidation and endogenous protective systems of soybean leaves[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2000, 42(5): 461–466.
- [41] Shen Z G, Liu Y L. Progress in the study on the plants that hyperaccumulate heavy metal[J]. *Plant Physiology Communications*, 1998, 34: 133–139.
- [42] 侯晓龙, 常青山, 刘国峰. Pb 超富集植物金丝草、柳叶箬[J]. 环境工程学报, 2012, 6(3): 989–994.
HOU Xiao-long, CHANG Qing-shan, LIU Guo-feng. Two lead-hyperaccumulator: *Pogonatherum crinitum* and *Lsache globosa*[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2012, 6(3): 989–994.