

铅胁迫对冬凌草抗氧化酶系统和生长的影响

孔四新^{1,2}, 李海奎³, 王保民¹, 崔旭盛^{1,4}, 郭玉海^{1*}

1. 中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100193

2. 世纪神农(北京)国际生物技术公司, 北京 100073

3. 中国林业科学研究院资源信息研究所, 北京 100091

4. 石家庄以岭药业股份有限公司, 河北 石家庄 050035

摘要: 目的 研究不同质量浓度铅(Pb)胁迫对冬凌草 *Rabdosia rubescens* 不同器官抗氧化酶活性和生长的影响, 为 Pb 污染下的冬凌草生长调控提供依据。方法 Pb 质量浓度(0、135、270、540 mg/L)、胁迫时间(50 d)分株水培试验, 以超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、生长速率、生物量和 Pb 质量分数为指标, 用分光光度计测定抗氧化酶活性、等离子发射光谱仪测定植株 Pb 质量分数。结果 不同质量浓度 Pb 胁迫下, 冬凌草叶片和根系中的 SOD 活性均表现为先升后降, 但叶片中的 SOD 活性各组之间无显著性差异; 叶片中的 POD 活性在 135、270 mg/L Pb 胁迫下与对照之间无显著差异, 但在 540 mg/L 下则显著提高, 而根系的 POD 活性在各质量浓度 Pb 胁迫下均显著低于对照, 具体表现为先下降后又逐渐回升; 叶片 CAT 活性随 Pb 质量浓度的增加而显著提高, 而根系的 CAT 活性均随 Pb 质量浓度的增加而递减。中、低质量浓度 Pb 胁迫对冬凌草的生长无显著影响, 高质量浓度(540 mg/L)Pb 处理与对照组相比, 生物量和相对生长速率分别降低 33.33% 和 46.59%。结论 Pb 胁迫对冬凌草叶部和根部的抗氧化酶系统活性刺激反应有明显差异; 经拟合模型预测分析, 比对照相对生长速率降低 10% 的 Pb 临界质量浓度为 301.99 mg/L ($P < 0.01$)。冬凌草对 Pb 胁迫表现为较强的抗逆性。

关键词: Pb 胁迫; 冬凌草; 抗氧化酶; 相对生长速率; Pb 临界浓度; 超氧化物歧化酶; 过氧化物酶; 过氧化氢酶

中图分类号: R282.21

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2015)18-2788-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.18.021

Effects of Pb stress on antioxidase system and growth of *Rabdosia Rubescentis Folium*

KONG Si-xin^{1,2}, LI Hai-kui³, WANG Bao-min¹, CUI Xu-sheng^{1,4}, GUO Yu-hai¹

1. College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China

2. Shining-herb (Beijing) International Bio-Tech Co., Ltd., Beijing 100073, China

3. Research Institute of Forest Resource Information Techniques, China Academy of Forestry, Beijing 100091, China

4. Shijiazhuang Yiling Pharmaceutical Co., Ltd., Shijiazhuang 050035, China

Abstract: Objective To study the effect of different concentration of plumbum (Pb) stress on antioxidase activity in different organs of *Rabdosia Rubescentis Folium* (RRF, the aerial parts of *Rabdosia rubescens*) and their growth, and provide the basis for the growth regulation of *R. rubescens* under Pb pollution. **Methods** Ramets hydroponic test was performed with the concentration of Pb (0, 135, 270, and 540 mg/L) and the stress time (50 d), taking superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT), relative growth rate (RGR), biomass, and Pb mass fraction as indexes, the determination of antioxidant enzyme activity was performed with spectrophotometer, and plant's Pb mass fraction of plant with plasma emission spectrometer was carried out. **Results** Under Pb stress at different concentration (135—540 mg/L), SOD activity in the leaves and the roots of *R. rubescens* was increased first and then decreased, but no significant difference on SOD activity in the leaves at each level; POD activity in the leaves under Pb concentration (135—270 mg/L) was no significant difference compared with the control group, but was significantly increased at the concentration of 540 mg/L, while the POD activity in the roots under Pb stress at various concentration was significantly lower than that of the control group which gradually went up after declined; CAT activity in the leaves increased significantly with Pb concentration rising, and the activity in the

收稿日期: 2015-02-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31370634)

作者简介: 孔四新(1967—), 男, 博士研究生, 高级工程师, 研究方向为植物资源与生态学、药用植物栽培与生理。

Tel: 13701255851 E-mail: snherb@sina.com

*通信作者 郭玉海, 教授, 博士生导师。Tel: (010)62733853 E-mail: yhguo@cau.edu.cn

root decreased gradually with Pb concentration rising. No significant effect on the growth of *R. rubescens* at low and mid levels of Pb concentration (135 and 270 mg/L), but under high concentration (540 mg/L) of Pb treatment compared with the control group, the biomass and RGR decreased by 33.33% and 46.59%, respectively. **Conclusion** The stimulus response is different obviously for antioxidase activities between the leaves and roots of *R. rubescens*; Through fitting model predictive analysis, the critical Pb concentration is 301.99 mg/L, which decreases RGR by 10% compared with control group ($P < 0.01$). RRF shows a strong resistance to Pb stress.

Key words: Pb stress; *Rabdosia Rubescentis Folium*; antioxidase; relative growth rate; Pb critical concentration; superoxide dismutase; peroxidase; catalase

铅 (Pb) 是一种有毒的重金属元素, 自然界中的 Pb 多以 Pb^{2+} 存在。在 Pb 污染环境下, 不仅会阻滞植物生长, 而且 Pb 可以通过土壤和空气进入植物体, 在植物体内蓄积并进入食物链对人体造成伤害^[1-3], 全球生态环境不断恶化加大了重金属 Pb 污染风险。重金属胁迫作为影响植物生长的主要环境胁迫因素之一^[4-5], 它对植物的主要伤害途径之一是造成植物体内的过氧化胁迫, 通过损害细胞的膜系统抑制植物生长^[6-7]。目前 Pb 胁迫的研究对象主要集中在大宗农作物方面, 对于药用植物研究较少。冬凌草 *Rabdosia Rubescentis Folium* 为唇形科 (Labiatae) 香茶菜属 *Rabdosia* (Bl.) Hassk. 植物碎米桠 *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara 的干燥地上部分, 多年生草本或亚灌木, 是中国 20 世纪 70 年代在河南王屋山新发掘的天然抗癌植物^[8-9], 近年来的研究发现其中的冬凌草甲素 (oridonin) 对 M2 型白血病有特殊疗效^[10], 从而引起国际医学界广泛关注, 需求剧增。目前, 冬凌草资源匮乏, 亟待扩大人工栽培, 而在冬凌草引种区的 Pb 污染现象时有发生。据对冬凌草各引种区调查, 土壤中 Pb 在 30~600 mg/kg, 其中 18.5% 超标 (以国家土壤质量二级为标准, 按 pH 值不同, Pb 量上限规定为 250~350 mg/kg)。

研究证明, Pb 胁迫会导致植物体内产生大量氧自由基和过氧化物, 使得光合能力下降, 对植物的生长发育产生严重的毒害作用。环境胁迫下的植物抗氧化酶响应是近年来植物逆境生理学研究热点之一。研究 Pb 胁迫的生理生化响应及抗氧化系统适应机制对研究冬凌草逆境生理反应具有重要意义。

本实验采用 Pb^{2+} 刺激模拟环境胁迫, 考察冬凌草中抗氧化酶活性变化和生长变化, 揭示冬凌草在 Pb 胁迫下抗氧化酶系统中超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 和过氧化氢酶 (CAT) 的变化规律和机制, 并通过建立预测模型确定抑制冬凌草生长的 Pb 临界浓度, 为重金属 Pb 污染下的冬凌草生长调控提供依据。

1 材料与方法

1 材料

样品在 2013 年 9 月选用于世纪神农 (北京) 国际生物技术公司北京顺义冬凌草试验基地, 经笔者鉴定为碎米桠 *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara 分根繁殖的健康苗, 高度和长势一致。植株 Pb 质量分数为 1.9 mg/kg (以干质量计)。乙酸铅 $[Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O]$ 分析纯, 购于汕头市西陇化工厂有限公司。

2 方法

2.1 实验设计

采用分析纯 $[Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O]$ 与 1/2 Hoagland 营养液配制的溶液为培养液对冬凌草进行处理, 溶液质量浓度以 Pb 计分别为 135、270、540 mg/L, 以 1/2 Hoagland 营养液为对照。共 4 个处理, 每个处理设 3 次重复。

2.2 处理和培养方法

实验于 2013 年 9~11 月在光照培养室内培养。采用分株繁殖水培法: 将生长状况一致的冬凌草活体植株从试验基地挖出后, 用清水反复洗净泥土, 根部和地上部修剪一致, 最后用去离子水清洗。移至含 1 L 培养液的培养盘中, 每盘 7 株。每 3 天向培养盘中补充蒸发去的溶液, 以保持溶液浓度恒定。每 2 周更换一次培养液。每日连续光照 14 h, 昼夜温度分别为 25 °C 和 20 °C, 相对湿度 65%~75%。

Pb 质量浓度 0、135、270、540 mg/L、胁迫时间根据冬凌草采收期间隔生长时间 1~2 个月^[8]定为 50 d, 分株水培试验, 以 SOD、POD、CAT、相对生长速率、生物量 (单株干质量) 和 Pb 质量分数为指标, 用分光光度计测定抗氧化酶活性、等离子发射光谱仪测定 Pb 质量分数。采用不同质量浓度 Pb 胁迫水培冬凌草后, 观察其外伤和生长变化。第 50 天测定株高、生物量、叶片含水量、叶片及根部抗氧化酶活性及冬凌草中的 Pb 质量分数。取样后每个处理留 2 株继续观察 7 d。

2.3 抗氧化酶活性测定

水培 50 d, 从每个处理中分别采第 2 层鲜叶和

鲜根, 采用分光光度计测定抗氧化酶活性。

2.3.1 酶液制备 称取新鲜植物叶片 0.5 g 置于研钵中, 加入 5 mL 4 °C 下预冷浓度为 50 mmol/L, pH 7.0 磷酸缓冲液和少量石英砂研磨成匀浆后, 转入 10 mL 离心管中, 在 4 °C 冰箱中静置 10 min, 于 15 000 r/min 下冷冻离心 25 min, 上清液即为过氧化物酶粗提液。4 °C 下保存备用。

2.3.2 SOD 活力测定 氮蓝四唑 (NBT) 光化还原法测定, CAT 活性的测定按 KMnO_4 滴定法测定, POD 活性用愈创木酚法测定, 以上各指标测定参考文献方法^[11-13]。

2.4 Pb 的测定

以实验结束当天的冬凌草植株为材料测定植株的 Pb 质量分数, 按文献方法^[14]测定。采用微波消解仪。将各处理的植株分别用去离子水反复冲洗, 然后用滤纸吸取表面水分, 烘至恒质量, 研碎取样品。每个处理各取 0.3 g 样品加入消解罐的内衬杯中。加入 10 mL HNO_3 , 密封置于消解仪中, 静置过夜, 24 h 后消解。消解条件: 5 min 内消解罐室温加热至 130 °C, 接着在 5 min 内由 130 °C 提高到 175~180 °C, 并保持 20 min。经

40 min 冷却后转入 50 mL 量瓶, 加入去离子水定容。同时做空白对照。Pb 质量分数采用等离子发射光谱仪 ICP-AES 测得。

2.5 数据处理

采用 SOD、POD、CAT 酶活性值分别对冬凌草叶片和根系的抗氧化酶系统变化进行描述, 用株高相对生长速率、生物量对冬凌草的生长进行描述^[7-10]。

$$\text{相对生长速率 (RGR)} = 1/Q \times dQ/dt$$

Q 为株高原有量, dQ/dt 为单位时间增量

$$\text{叶片含水量} = (M_1 - M_2)/M_1$$

M_1 为新鲜叶片质量, M_2 为烘至恒定质量后质量

利用 Excel 2010 对实验数据进行初步计算, 采用 SPSS 软件进行单因素方差分析, Duncan 法进行多重比较 ($\alpha=0.05$), 采用 Origin 8.6 软件制图。

3 结果与分析

3.1 Pb 胁迫对冬凌草抗氧化酶系统的影响

3.1.1 Pb 胁迫对冬凌草叶片抗氧化酶系统的影响 根据实验设计方案, 得到冬凌草叶片抗氧化酶系统中 SOD、POD、CAT 酶活性值, 见表 1。

表 1 不同质量浓度 Pb 胁迫下冬凌草叶片 SOD、POD、CAT 酶活性变化

Table 1 SOD, POD, and CAT enzyme activity in leaves of *R. rubescens* under Pb stress at different concentration

Pb/(mg·L ⁻¹)	SOD/(U·g ⁻¹)	POD/(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	CAT/(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)
0	194.03 ± 22.23 a	14.21 ± 2.57 b	20.74 ± 2.51 d
135	218.23 ± 36.30 a	85.46 ± 4.44 b	115.25 ± 7.47 c
270	234.03 ± 16.67 a	44.93 ± 2.30 b	175.16 ± 15.28 b
540	215.67 ± 22.10 a	224.53 ± 77.62 a	486.83 ± 14.73 a

同一指标不同字母者表示差异显著 ($P<0.05$), 下同

Different letters in same index meant significant difference at 0.05 level, same as below

表 1 数据表明, 在本实验中, 不同质量浓度 Pb 胁迫 (135~540 mg/L) 下, 冬凌草叶片中 SOD 活性虽表现为先升后降, 但各组之间无显著性差异; 冬凌草叶片的 POD 活性在 135~270 mg/L Pb 胁迫下与对照之间无显著差异, 但在 540 mg/L Pb 胁迫下则显著提高, 为对照组的 15.8 倍; 各组冬凌草叶片的 CAT 活性均随 Pb 质量浓度的增加而显著提高 ($P<0.05$), 分别是对照的 5.55、8.45、23.47 倍。

不同质量浓度 Pb 胁迫对冬凌草叶片 SOD 酶活性虽呈现轻微的激活效应, 但与对照相比无显著差异。POD 活性随着 Pb 质量浓度的上升先升高后下

降, CAT 活性随着 Pb 质量浓度的上升而升高, 二者均在 540 mg/L 浓度 Pb 胁迫下急剧升高, 这说明 Pb 胁迫对冬凌草叶片的 POD 和 CAT 活性均有刺激效应, 叶片主要通过 POD 和 CAT 的协同作用防止过氧化胁迫。

3.1.2 Pb 胁迫对冬凌草根系抗氧化系统的影响 冬凌草根系抗氧化酶系统中 SOD、POD、CAT 酶活性测定结果见表 2。

由表 2 看到, 在本实验中, Pb 胁迫下冬凌草根系 SOD 活性呈现先升高后降低的趋势。低质量浓度 Pb 胁迫 (135 mg/L) 下, 根系 SOD 活性显著高于对照, 比对照高 63.86%, 而随着 Pb 质量浓度的增加, SOD

活性回落, 中、高质量浓度 Pb (270~540 mg/L) 胁迫下 SOD 活性均高于对照组, 但与对照组相比无显著性差异; 冬凌草根系的 POD 活性在不同质量浓度 Pb 胁迫下均显著低于对照组, 但表现为先下降后又逐渐回升。

表 2 不同质量浓度 Pb 胁迫下冬凌草根系 SOD、POD、CAT 酶活性变化

Table 2 SOD, POD, and CAT enzyme activity in roots of *R. rubescens* under Pb stress at different concentration

Pb/(mg·L ⁻¹)	SOD/(U·g ⁻¹)	POD/(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	CAT/(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)
0	116.97±21.45 b	84.32±8.96 a	348.78±23.90 a
135	191.67±12.98 a	16.09±9.75 c	170.90±61.46 b
270	139.67±2.70 b	36.07±2.13 b	97.26±0.39 c
540	131.00±28.20 b	55.96±2.89 b	67.09±5.31 d

表 3 冬凌草在不同质量浓度 Pb 胁迫条件下的富集量、叶片含水量、相对生长速率和生物量比较

Table 3 Pb mass, water content of leaves, growth rate, and biomass of RRF under Pb stress at different concentration

Pb/(mg·L ⁻¹)	植株 Pb/(mg·kg ⁻¹)	叶片含水量/%	相对生长速率/(mm·cm ⁻¹ ·d ⁻¹)	生物量单株干质量/g
0	1.41±0.09 d	80.33±0.06 c	0.176±0.00 a	2.343±0.06 a
135	512.81±209.63 c	80.63±0.07 a	0.177±0.01 a	2.371±0.35 a
270	796.40±79.76 b	80.53±0.04 b	0.177±0.00 a	2.370±0.10 a
540	1 172.03±217.61 a	75.86±0.03 d	0.094±0.00 b	1.562±0.07 b

3.2.1 不同质量浓度 Pb 对冬凌草 Pb 富集量、叶片含水量的影响 从表 3 可见, 冬凌草植株中 Pb 质量分数随水培液中 Pb 质量浓度的升高而显著增加, 各处理间的叶片含水率差异显著 ($P<0.05$)。高质量浓度 Pb 胁迫下, 冬凌草生长后期受到明显抑制, 并出现萎蔫, 第 55 天枯萎。高质量浓度 Pb 胁迫下冬凌草水分代谢明显紊乱, 吸收水分能力明显减弱, 主要是由于植株中 Pb 富集浓度过高, 减弱植株吸收水分能力, 抑制冬凌草的正常生理代谢, 最终导致萎蔫。

3.2.2 不同质量浓度 Pb 对冬凌草生物量和相对生长速率的影响 在轻度和中度 Pb 胁迫 (135 和 270 mg/L) 条件下, 冬凌草生物量和相对生长速率与对照之间差异不显著, 高质量浓度 Pb 胁迫 (540 mg/L) 处理对冬凌草生长具有明显的抑制作用 ($P<0.05$), 与其余各处理之间差异显著。540 mg/L Pb 处理与对照组相比, 生物量和相对生长速率分别降低 33.33% 和 46.59%。冬凌草叶片含水量、相对生长速率和抗氧化酶活性均在 Pb 质量浓度 540 mg/L 时同步发生显著变化。

3.3 不同质量浓度 Pb 处理和 Pb 生物富集与冬凌草生长的关系

3.3.1 不同质量浓度 Pb 和相对生长速率的关系

低质量浓度 Pb 胁迫 (135 mg/L) 下根系的 POD 活性比对照降低 80.92%, 在中、高质量浓度 Pb (270 mg/L 和 540 mg/L) 之间无显著差异; 而 CAT 活性均随 Pb 质量浓度的增加而递减, 各浓度间差异显著 ($P<0.05$)。表明 Pb 胁迫对冬凌草根系的 SOD 活性具有促进作用, 而对 POD 和 CAT 活性表现为抑制作用, 根系主要通过 SOD 防止过氧化胁迫。Pb 胁迫下, 作为防御体系的冬凌草根系的 POD 和 CAT 活性分别比对照降低 33.63%~80.92% 和 51.0%~80.76%。

3.2 Pb 胁迫对冬凌草生长的影响

对冬凌草植株中的 Pb 质量分数、叶片含水量、相对生长速率和生物量进行了测定, 结果见表 3。

冬凌草相对生长速率和 Pb 质量浓度的多项式 $Y=0.1738-5\times10^{-7}X^2+1\times10^{-4}X$ 之间存在良好的拟合关系 ($R^2=0.9874$, $P<0.01$), 见图 1。经过检验, 3 个参数达到极显著水平 (P 值均小于 0.01), 说明模型具有使用性。利用拟合的模型逆函数计算, 获得比对照生长速率降低 10% 的 Pb 临界质量分数为 301.99 mg/kg。

3.3.2 冬凌草植株中 Pb 富集与相对生长速率的关系 从拟合模型 (图 2) 看到, 相对生长速率和冬凌草 Pb 质量分数 (富集量) 的多项式 $Y=0.1744-1\times10^{-8}X^3-3\times10^{-7}X^2+2\times10^{-4}X$ 之间存在较好的拟

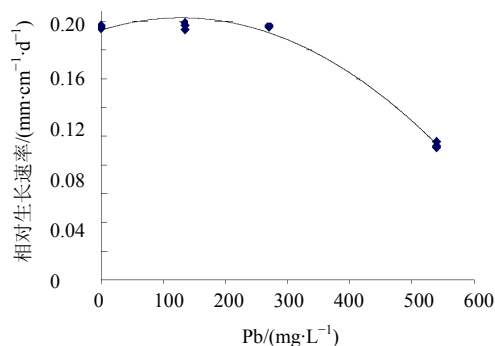


图 1 水培冬凌草株高相对生长速率-Pb 质量浓度关系图

Fig. 1 Relationship curve of RRF RGR - Pb concentration

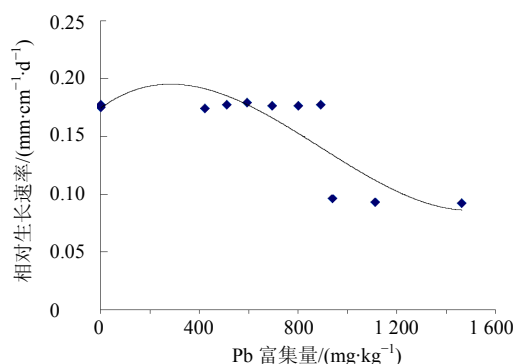


图 2 水培冬凌草株高相对生长速率-Pb 富集量关系曲线图

Fig. 2 Relationship curve of hydroponic RRF RGR - Pb mass content

合关系 ($R^2=0.7282$, $P<0.01$), 经检验, 各参数达到极显著水平 (P 值均小于 0.01), 说明模型具有实用性。利用拟合的模型逆函数计算, 获得比对照相对生长速率降低 10% 的冬凌草 Pb 质量分数 (富集量) 为 749.32 mg/kg。

4 讨论

植物在逆境胁迫下, 体内会产生大量活性氧, 这类物质在植物体内如不能及时清除, 将会对植物的生长发育产生严重的毒害作用, 过氧化胁迫是重金属污染对植物的主要伤害途径之一^[6-7]。一般情况下, 植物为了维持正常的生长, 通过抗氧化酶系统和抗氧化剂对活性氧进行清除, 植物体内的活性氧产生和清除会处于一个平衡状态, 不会导致植物细胞的伤害; 当植物遭受环境逆境胁迫时, 其体内的相关生理指标会发生相应的变化, 其中抗氧化系统是决定植物对环境胁迫抗性的关键因素^[6]。植物体内的抗氧化酶系统对氧自由基和过氧化物起对抗和清除作用。SOD 是植物抗氧化的第一道防线, 能清除细胞中多余的超氧阴离子; POD 是植物中普遍存在的一种氧化还原酶类, 参与植物体内的许多生理生化过程, 主要用以消除自由基、延缓衰老; CAT 的活性变化反映植物受到逆境胁迫的程度; CAT 和 POD 可使 H_2O_2 歧化成水和氧分子。通过这 3 种酶的作用, 有效控制植物体内活性氧的积累, 使得生物自由基维持在一个低水平, 从而防止自由基毒害和酶的活性受抑制^[15-17]。本实验研究发现, 随着 Pb 胁迫质量浓度的增加, 叶片和根系的 SOD 活性均呈现先升高后降低的效应, 这点反应了冬凌草对 Pb 胁迫从适应性反应到抑制性反应的过程, 与前人的研究结论基本一致^[14,18-23]; 叶片中

的 SOD 活性在各组之间差异不显著, 而 POD 活性随着 Pb 质量浓度的上升先提高后下降, CAT 活性随之上升, 二者均在 540 mg/L Pb 条件下急剧升高, 这不仅反映出冬凌草对 Pb 具有较强的抗逆性, 而且说明 Pb 胁迫对冬凌草叶片的 POD 和 CAT 活性均有显著刺激效应, 叶片主要通过 POD 和 CAT 的协同作用防止过氧化胁迫。

本研究表明, Pb 胁迫对冬凌草根系的 SOD 活性具有促进作用, 而对 POD 和 CAT 活性表现为抑制作用, 根系主要通过 SOD 防止过氧化胁迫。在一定的 Pb 胁迫的环境中, 随着 Pb 胁迫质量浓度的增加, 作为防御体系的冬凌草根系 POD 和 CAT 活性显著减弱, 而在轻度和中度 Pb 胁迫 (135 和 270 mg/L) 下, 冬凌草生物量和相对生长速率均未受到显著影响, 只有高质量浓度 Pb 胁迫 (540 mg/L) 对冬凌草生长有显著抑制作用, 表明冬凌草有较强的抗逆性。冬凌草叶片主要通过 POD 和 CAT 的协同作用防止过氧化胁迫, 根系主要通过 SOD 防止过氧化胁迫, 3 种抗氧化酶的协同效应在 Pb 胁迫下冬凌草的同器官中表现不突出, 这与前人对香根草、黄芪、番茄等对 Pb 胁迫反应的研究结论不完全一致^[20-23], 这与不同植物的基因有关, 也与本实验 Pb 胁迫时间不同有关, 前人研究设置的 Pb 胁迫时间多在 1~12 d^[20-23], 反映早期的胁迫效应; 而本研究设置的 Pb 胁迫时间为 50 d, 反映的是较长时间 Pb 胁迫的结果。Pb 胁迫对冬凌草的根和叶片的抗氧化酶体系影响的差异较大, 可能是由于直接接触 Pb 与吸收运输进而富集 Pb 对抗氧化酶体系的影响差异导致。根最早且直接接触 Pb, 根部 SOD 作为植物抗氧化的第一道防线, 刺激效应比叶片较为突出。根部 POD 和 CAT 活性显著降低, 而没有反映其在胁迫下的刺激效应和转折点, 可能与根部直接接触 Pb 和较长时间富集胁迫有关。由于本研究未测定不同胁迫时间 POD 和 CAT 活性, 因而本实验没有很好反映 POD 和 CAT 活性的动态变化。

在本实验中, 高质量浓度 Pb 胁迫下, 冬凌草植株 Pb 富集浓度过高, 吸水能力减弱, 叶片含水量降低, 不仅直接抑制植物生长, 而且还会通过减弱光合能力, 降低光合效率来影响植株生长发育。冬凌草叶片含水率、生长速率和抗氧化酶活性均在 Pb 质量浓度 540 mg/L 时同步发生了显著变化, 对冬凌草的生长表现为显著抑制效应 ($P<0.05$)。经拟合的模型预测分析, 比对照相对生长速率降低

10%的Pb临界浓度为301.99 mg/L, Pb生物富集是导致抗氧化酶活性变化和抑制生长的重要原因。2个模型经检验, 拟合度良好, 具有普遍使用意义。

抗氧化酶系统只是冬凌草适应和抵抗逆境的一方面, 在研究其抗氧化酶系统活性变化及其与Pb富集规律、生长指标变化关系的同时, 还应该考察其光合作用、有效成分含量变化等, 才能更加准确的分析抗氧化酶活性变化的机理。本试验研究首次探讨了冬凌草在Pb胁迫下的不同器官的抗氧化酶系统的活性变化、冬凌草对Pb的耐受程度以及Pb对冬凌草生长的影响程度, 可为对冬凌草的抗Pb生理机制研究和生长调控提供依据。由于Pb胁迫对冬凌草生长、生理方面的影响是多方面的而又复杂的, 不同胁迫时期抗氧化酶活性的动态变化及其与有效成分积累之间的关系等, 有待今后进一步研究探讨。

参考文献

- [1] 张从, 夏立江. 污染土壤生物修复技术 [M]. 北京: 环境科学出版社, 2000.
- [2] 顾继海, 林秋奇, 胡韧, 等. 土壤-植物系统中重金属的治理途径及其研究进展 [J]. 土壤通报, 2005, 34(1): 30-34.
- [3] 鲍桐, 廉梅花, 孙丽娜, 等. 重金属污染土壤植物修复研究进展 [J]. 生态环境, 2008, 17(2): 858-856.
- [4] Shen Z G, Li X D, Wang C C, *et al.* Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species [J]. *J Environ Qua*, 2002, 31(6): 1893-1900.
- [5] John R, Ahmad P, Gadgil K, *et al.* Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L. [J]. *Plant Soil Environ*, 2008, 54(11): 262-270.
- [6] 江行玉, 赵可夫. 植物重金属伤害及其抗性机理 [J]. 应用与环境生物学报, 2001(7): 92-99.
- [7] Xiong Y, Zhang Z Y, Yang Q S. Effect of lead stress on growth characteristics and physiological indexes of *Alternanthera philoxeroides* [J]. *Agric Sci Technol*, 2011, 12(3): 347-349.
- [8] 孔四新. 冬凌草 [M]. 郑州: 黄河水利出版社, 1997.
- [9] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [10] Zhen T, Wu C F, Liu P, *et al.* Targeting of AML1-ETO int (8;21) leukemia by oridonin generates a tumor suppressor-like protein [J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4(127): 127-138.
- [11] 邹琦. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [12] 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.
- [13] 张蜀秋. 植物生理学实验技术教程 [M]. 北京: 科学出版社, 2011.
- [14] 浅田浩二, 林洁. 生物体内的活性氧清除系统——抗氧化酶 [J]. 日本医学介绍, 1994, 15(7): 293-294.
- [15] Foyer C H, Descourvoeres P, Kunert K J. Protection against oxygen radicals: An important defense mechanism studied in transgenic plants [J]. *Plant Cell Environ*, 1994, 17: 507-523.
- [16] 郑荣梁. 生物学自由基 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1992.
- [17] David J S, Nenad B, van Huystee R B, *et al.* The crystal structure of peanut peroxidase [J]. *Structure*, 1996, 4(2): 311-321.
- [18] 李春香, 王玲玲, 荆俊杰, 等. 微波消解/ICP-AES法同时测定中药中Cd、Hg、Pb含量 [J]. 药物分析杂志, 2009, 29(3): 433-436.
- [19] 夏建国, 兰海霞, 吴德勇. 铅胁迫对茶树生长及叶片生理指标的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(1): 43-48.
- [20] 谢传俊, 杨集辉, 周守标, 等. 铅递进胁迫对假俭草和结缕草生理特性的影响 [J]. 草业学报, 2008, 17(4): 65-70.
- [21] 林杰, 柯金炼, 魏道军. 铅胁迫对香根草叶片膜系统及抗氧化系统的影响 [J]. 福建农业学报, 2009, 24(3): 254-257.
- [22] 余国营, 吴燕玉, 王新, 等. 香根草铅胁迫及其综合评价研究 [J]. 应用生态学报, 1995, 6(4): 433-439.
- [23] 张永志, 赵首萍, 徐明飞, 等. Pb胁迫对番茄幼苗抗氧化酶系统的影响 [J]. 浙江农业科学, 2009(3): 452-456.