



梭鱼草叶片抗氧化酶、抗坏血酸-谷胱甘肽循环与乙二醛酶系统对铅胁迫的响应

辛建攀, 马思思, 田如男*

(南京林业大学 风景园林学院, 南京 210037)

摘 要: 为了探明梭鱼草叶片细胞应对 Pb^{2+} 胁迫的生理机制, 研究以液培法考察了不同浓度 Pb^{2+} 胁迫下梭鱼草叶片丙二醛(MDA)与叶绿素含量, 以及抗氧化酶活性、抗氧化剂含量和乙二醛酶系统的变化规律。结果表明, (1) 5.0 mg/L Pb^{2+} 胁迫第 14 天和第 21 天时, 梭鱼草叶片叶绿素含量, 过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)等抗氧化酶活性, 抗坏血酸(AsA)、脱氢抗坏血酸(DHA)、谷胱甘肽(GSH)、非蛋白巯基总肽(NPT)和植物螯合肽(PCs)等抗氧化剂含量没有发生明显变化; 第 21 天时叶片细胞中甲基乙二醛(MG)含量显著增加, 而 MDA 含量无明显增加。(2) 10.0 mg/L Pb^{2+} 处理至第 21 天时, 梭鱼草叶片 MDA、MG、GSH 及 NPT 含量及过氧化物酶(POD)活性明显增加, 而脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)、甲基乙二醛酶 II (Gly II) 活性呈相反变化趋势。(3) 在 15.0 mg/L Pb^{2+} 处理期间, 梭鱼草叶片 MDA 含量显著增加, 其 GSH、NPT、PCs 被诱导合成以螯合细胞中过量积累的 Pb^{2+} ; 同时叶片 POD、SOD、APX 活性和 AsA 含量显著增加。15.0 mg/L Pb^{2+} 处理第 21 天时, 乙二醛酶系统已经不能缓解高浓度 Pb^{2+} 胁迫诱发的羰基胁迫。可见, 梭鱼草叶片对 5.0 mg/L Pb^{2+} 具有良好的耐受性; 在较高浓度(≥ 10.0 mg/L) Pb^{2+} 胁迫下, 梭鱼草叶片细胞膜脂过氧化作用加剧, 此时其主要通过合成非蛋白巯基化合物、增加抗氧化酶活性及 AsA 含量来减缓氧化损伤; 本试验条件下梭鱼草叶片乙二醛酶系统没有表现出明显的解毒作用。

关键词: 铅胁迫; 梭鱼草; 抗氧化酶活性; 抗坏血酸-谷胱甘肽循环; 乙二醛酶系统

中图分类号: Q945.78 **文献标志码:** A

Response of Antioxidase, Ascorbate-Glutathione Cycle and Glyoxalase System in Leaves of *Pontederia cordata* to Lead Exposure

XIN Jianpan, MA Sisi, TIAN Ru'nan*

(College of Architecture Landscape, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: To identify the physiological mechanisms in leaves of *Pontederia cordata* to Pb^{2+} exposure, we adopted a hydroponic experiment to investigate variations in malonaldehyde (MDA) and chlorophyll contents, antioxidantase activity, antioxidant content, and glyoxalase system in the plant leaves with 0—15.0 mg/L Pb^{2+} concentration exposure. Results showed that, (1) no obvious variations in chlorophyll content, catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX) activities, ascorbic acid (AsA), dehydroascorbic acid (DHA), glutathione (GSH), non-protein thiol total peptide (NPT) and phytochelatins (PCs) contents were detected in the plant leaves with 5.0 mg/L Pb^{2+} exposure for 14 d and

收稿日期: 2023-03-21; 修改稿收到日期: 2023-09-04

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(30972408); 中国博士后科学基金项目(2020M671509)

作者简介: 辛建攀(1985—), 男, 博士, 讲师, 主要从事园林植物逆境生理与生态修复研究。E-mail: jianpanxin@njfu.edu.cn

* 通信作者: 田如男, 博士, 教授, 主要从事园林植物生理与生态修复、园林植物繁殖栽培与应用研究。E-mail: tianrunan@njfu.edu.cn

21 d; with 5.0 mg/L Pb^{2+} exposure for 21 d, a marked increase in methylglyoxal (MG) but not MDA content was noticed. (2) With 10.0 mg/L Pb^{2+} exposure for 21 d, MDA, MG, GSH, and NPT contents and meanwhile POD activity in the leaves markedly increased, and an opposite trend was demonstrated in monodehydroascorbate content and glyoxalase II (Gly II). (3) With the plants exposed with 15.0 mg/L Pb^{2+} , MDA content in the leaves significantly increased, and by this time GSH, NPT, PCs were synthesized to chelate excessive Pb^{2+} accumulated in the leaves. And meanwhile, POD, SOD, and APX activities and AsA content were also stimulated to alleviate oxidative damage induced by Pb^{2+} . Glyoxalase system cannot effectively cope with carbonyl stress induced by the treatment of 15.0 mg/L Pb^{2+} exposure for 21 d. The leaves of *P. cordata* exhibited a good tolerance to 5.0 mg/L Pb^{2+} exposure. The stimulated non-protein thiol compound synthesis, antioxidant activity and AsA content were employed to mitigate oxidative damage induced by Pb^{2+} concentrations no less than 10.0 mg/L. Glyoxalase system in leaves of *Pontederia cordata* did not represent a markedly detoxification as expected under the present experimental condition.

Key words: lead stress; *Pontederia cordata*; antioxidant activity; ascorbate-glutathione cycle; glyoxalase system

城镇化进程的不断加快、工农业废水及生活污水的不合理排放等人类活动导致水环境重金属污染问题日益突出。在面向生态文明建设的国家重大需求下,重金属污染环境绿色修复是环境治理与修复领域的技术前沿和重点发展方向^[1],而植物修复技术被认为是解决环境重金属污染问题的一种有前途的绿色技术。近年来,越来越多的观赏植物如芦竹(*Arundo donax*)^[2]、马蔺(*Iris lactea* var. *chinesis*)^[3]和美人蕉(*Canna indica*)^[4]已经成为修复植物材料的重要来源。观赏植物在重金属污染水体中生长,不但能够美化环境,而且还可以富集重金属,有利于实现“边修复、边美化”的双重目标。

梭鱼草(*Pontederia cordata*)是一种多年生大型湿地观赏植物,地下根状茎粗壮、根系发达、生物量大;顶生穗状花序,小花蓝紫色,具有较高的园林观赏价值。本课题组前期研究表明,该植物是一种重金属耐性植物,能够将多数重金属离子固定在根系,可作为重金属污染湿地修复的候选植物材料^[5-6]。与根系相比,植物叶片对重金属胁迫更为敏感^[7]。研究表明,重金属胁迫能够降低植物叶片面积与厚度,同时诱导叶片细胞中过量积累活性氧自由基(ROS),加剧膜质过氧化作用,妨碍叶绿素生物合成,使叶片出现褪绿、枯萎等毒害症状^[5-6,8-9],这会一定程度上降低湿地植物的园林观赏价值。同时,叶片生理代谢活动受阻也会妨碍湿地植物根系对金属离子的吸收和转运^[6]。因此,了解湿地植物叶片对重金属胁迫的耐性机制对于重金属污染水体的植物修复和景观重建具有重要意义。

为了缓解 ROS 引起的氧化损伤,植物进化出了一套抗氧化防御系统。其中,酶类抗氧化系统主要由超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过

氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)等组成。非酶类抗氧化系统主要有抗坏血酸(AsA)、类胡萝卜素(Car)、谷胱甘肽(GSH)及植物螯合肽(PCs)等。在重金属胁迫条件下,这些物质直接或间接参与植物叶片细胞中 ROS 的清除,并能够改善植物叶片细胞生理功能,从而增强植物叶片抗逆能力^[10-11]。甲基乙二醛(MG)是植物光合作用、糖酵解、脂质过氧化及蛋白质糖基化的副产物,具有细胞毒性,通过氧化胁迫以破坏细胞超微结构^[12-13]。乙二醛酶系统是植物体内重要的脱毒系统之一,主要由乙二醛酶 I (Gly I)和乙二醛酶 II (Gly II)组成,不但能够有效清除 MG,而且可以调控 GSH 再生,维持细胞氧化还原平衡,在植物适应重金属胁迫中具有关键作用^[14]。因此,本研究以梭鱼草为试验材料,分析铅(Pb^{2+})胁迫下梭鱼草叶片丙二醛含量、抗氧化酶活性、抗氧化剂含量及乙二醛酶系统活性的变化规律,以明确其叶片细胞应对 Pb^{2+} 胁迫的生理机制,从而为重金属污染湿地的“边修复、边美化”治理提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 供试材料与处理

试验在南京林业大学国家级园林实验教学示范中心温室内完成。于 5 月份选取长势一致、生长状况良好的梭鱼草植株(株高 40~50 cm),清洗干净后于 2 L 1/2 Hoagland 营养液的塑料桶中进行为期 7 d 的适应性培养,期间实时补充营养液至初始体积。待适应性培养结束后,将植株转移至 Pb^{2+} 浓度为 0(CK),5.0,10.0,15.0 mg/L 的 1/2 Hoagland 营养液中,每 5 d 对其进行更换。每一浓度水平各处理 12 株,重复 3 次。标记处理前为第 0 天,并于第

14,21 天时取叶片鲜样用于测定各项生理指标。

1.2 测定指标与方法

1.2.1 丙二醛和叶绿素含量

丙二醛(MDA)含量参照郝建军等^[15]的方法测定;叶绿素含量参照李合生^[16]的方法测定。

1.2.2 抗氧化酶活性

取 0.3 g 新鲜叶片于 50 mmol/L 预冷的磷酸缓冲液(PBS)(pH 7.8,含 1%的 PVP)中研磨成匀浆,在 4℃、12 000g 下离心 20 min,上清液即为待测酶液。超氧化物歧化酶(SOD)活性参照王晶英等^[17]的方法测定,过氧化氢酶(CAT)活性参照陈建军等^[18]的方法测定。

另取 0.3 g 新鲜叶片置于 50 mmol/L Tris-HCl [pH 7.0,含 20%(W/V)甘油、1.0 mmol/L 抗坏血酸(ASA)、1.0 mmol/L DTT、1.0 mmol/L 乙二胺四乙酸、1.0 mmol/L 还原型谷胱甘肽(GSH)、5.0 mmol/L MgCl₂]提取液中,冰浴研磨,以 4℃、10 000g 离心 20 min^[19],上清液即为待测酶液。抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的测定参照 Nakano 等^[20]的方法并略作修改;脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)活性的测定参照 Nakano 等^[15]的方法;谷胱甘肽还原酶(GR)活性的测定参照 Halliwell 等^[21]的方法。

1.2.3 非酶抗氧化剂含量

非蛋白巯基总肽(NPT)含量的测定参照 Rama 等^[22]的方法,GSH 含量的测定参照陈建勋和王晓

峰^[18]的方法,植物螯合肽(PCs)含量为 NPT 含量与 GSH 含量的差值^[23];AsA 含量的测定参照 Kampfenkel 等^[24]的方法,脱氢抗坏血酸(DHA)含量为总 AsA 含量与 AsA 含量的差值。

1.2.4 乙二醛酶系统活性

甲基乙二醛(MG)含量的测定参照 Wild 等^[25]的方法;乙二醛酶 I(GlyI)活性的测定参照 Hossain 等^[26]的方法;乙二醛酶 II (Gly II)活性的测定参照 Principato 等^[27]的方法。

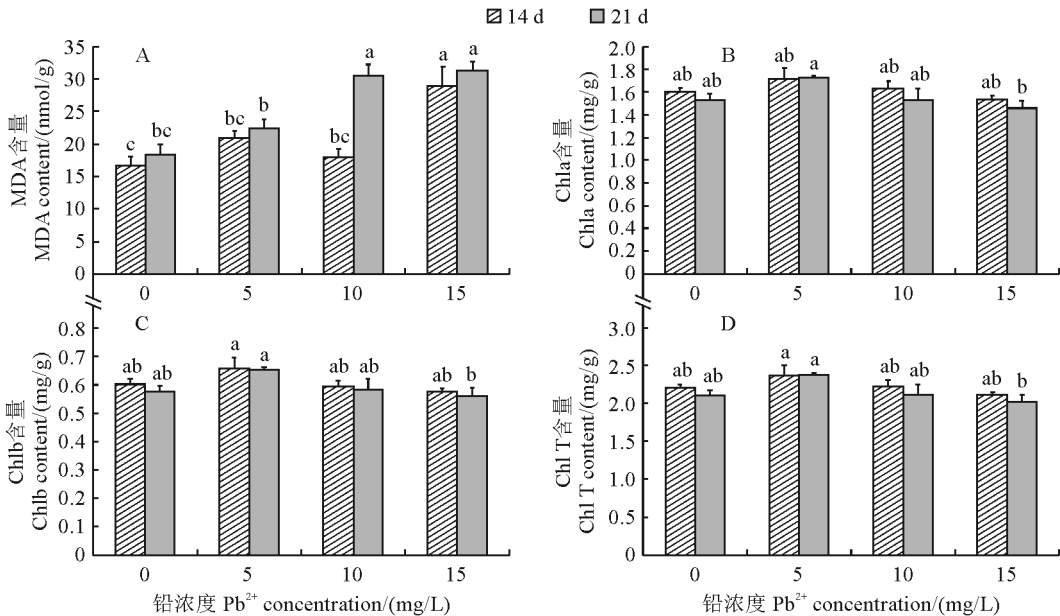
1.3 数据处理

使用 XLSX 2020 软件(WPS office,China)进行数据处理和制图;采用 SPSS 19.0 软件对数据进行方差分析,用 LSD 法和 Duncan 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 铅胁迫对梭鱼草叶片 MDA 和叶绿素含量的影响

图 1,A 显示,在胁迫处理第 14 天时,与对照(0 mg/L Pb²⁺)相比,梭鱼草叶片 MDA 含量在 5.0、10.0 mg/L Pb²⁺ 处理下均无显著变化,仅在 15.0 mg/L Pb²⁺ 处理下显著增加 73.78%;在处理第 21 天时,与对照相比,梭鱼草叶片 MDA 含量在 5.0 mg/L Pb²⁺ 处理下也无显著变化,在 10.0、15.0 mg/L Pb²⁺ 处理下分别显著增加 65.65%和 69.64%。然而,第 21 天梭鱼草叶片 MDA 含量仅在 10 mg/L Pb²⁺ 处理下显著高于第 14 天。



不同小写字母表示处理浓度及时间之间在 0.05 水平有显著差异。下同。

图 1 不同浓度 Pb²⁺ 处理下梭鱼草叶片 MDA 和叶绿素含量的变化

The different normal letters indicate significant difference among treatment concentration and days at 0.05 level. The same as below.

Fig.1 Variations in MDA and chlorophyll contents in leaves of *P. cordata* exposed to various Pb²⁺ concentrations

同时,如图 1,B-D 所示,梭鱼草叶片叶绿素 a (Chl a)、叶绿素 b(Chl b)和总叶绿素(Chl T)含量在胁迫处理第 14 天和第 21 天时均随着 Pb²⁺ 胁迫浓度的增加先升后降,并均在 5.0 mg/L Pb²⁺ 处理时达到最大值。其中,在处理第 14 天时,叶绿素含量在各胁迫处理间及其与同期对照间均无显著差异;在处理第 21 天时,Chl a、Chl b 和 Chl T 含量在各胁迫处理下仍与同期对照无显著差异,但在 15.0 mg/L Pb²⁺ 处理下均显著低于 5.0 mg/L Pb²⁺ 处理。另外,在相同浓度 Pb²⁺ 处理下,叶绿素含量在第 14 天与第 21 天之间均无显著差异。以上结果说明,梭鱼草叶片对 5 mg/L Pb²⁺ 处理具有较强的耐受性,而当 Pb²⁺ 浓度继续增加时,梭鱼草叶片会表

现出明显的毒害作用。

2.2 铅胁迫对梭鱼草叶片抗氧化酶活性的影响

首先,图 2,A、D、F 显示,在第 14 天时,与对照相比,梭鱼草叶片 CAT、APX 和 DHAR 活性在各浓度铅胁迫处理下均无显著变化;在处理第 21 天时,与对照相比,梭鱼草叶片 CAT 和 APX 活性在 5.0,10.0 mg/L Pb²⁺ 处理下仍无显著变化,CAT 活性在 15.0 mg/L Pb²⁺ 处理下显著下降 31.75%,而其 APX 活性此时显著增加 1.19 倍;叶片 DHAR 活性在各浓度铅胁迫处理下均比对照显著下降。在相同浓度 Pb²⁺ 处理下,叶片 CAT、APX 活性在第 14 天与第 21 天之间均无显著差异,而其 DHAR 活性在处理第 21 天比第 14 天显著下降 31.15%~62.29%。

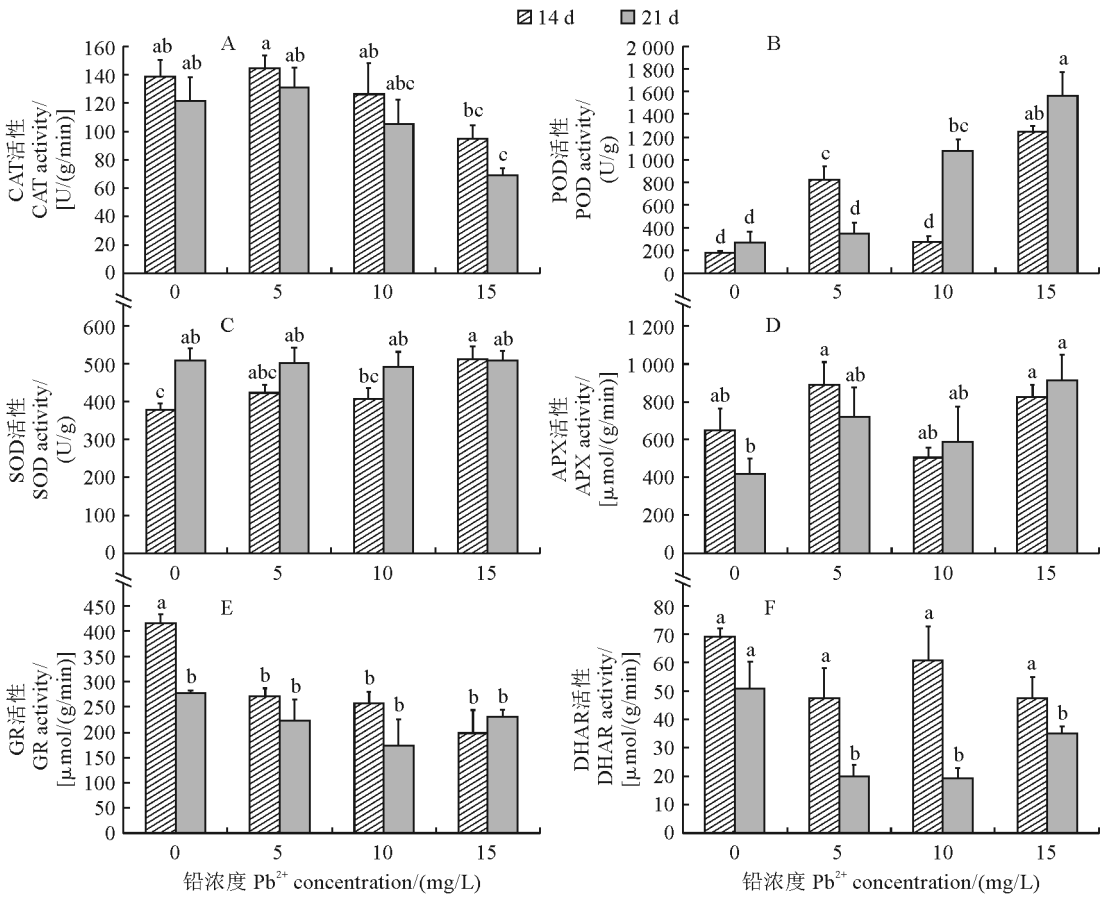


图 2 不同浓度 Pb²⁺ 处理下梭鱼草叶片抗氧化酶活性的变化

Fig. 2 Variations of antioxidant enzyme activities in leaves of *P. cordata* exposed to various Pb²⁺ concentrations

其次,图 2,B,C 显示,在胁迫处理第 14 天时,梭鱼草叶片 POD 和 SOD 活性均比对照不同程度提高,并均在 15.0 mg/L Pb²⁺ 处理时达到最大值,且与对照和其他处理差异显著,但在 5.0,10.0 mg/L Pb²⁺ 处理之间均无显著差异。在胁迫处理第 21 天时,梭鱼草叶片 POD 和 SOD 活性均随处理浓度增

加呈逐渐上升趋势,并在 15.0 mg/L Pb²⁺ 处理下达到最大值;SOD 活性在各处理及对照间均无显著差异,叶片 POD 活性在 5.0 mg/L Pb²⁺ 处理下与对照无显著差异,在 10.0,15.0 mg/L Pb²⁺ 处理下比对照分别显著增加 3.03,4.85 倍。在相同浓度 Pb²⁺ 处理下,各浓度处理 SOD 活性在第 14 天与第 21 天

之间均无显著差异(对照除外);与第 14 天相比,第 21 天的 POD 活性在 5.0 mg/L Pb²⁺ 处理下显著下降 58.01%,而在 10 mg/L Pb²⁺ 处理显著增加 2.94 倍,在其余处理下无显著差异。

此外,图 2,E 显示,在胁迫处理第 14 天时,梭鱼草叶片 GR 活性随着胁迫浓度呈下降趋势,并在 15.0 mg/L Pb²⁺ 处理下达到最小值,而在 5.0,10.0,15.0 mg/L 3 个 Pb²⁺ 处理之间均无显著差异,但三者均比对照显著降低;在胁迫处理第 21 天时,各浓度 Pb²⁺ 处理下梭鱼草叶片 GR 活性均与对照相比无显著差异。在相同浓度 Pb²⁺ 处理下,梭鱼草叶片 GR 活性在第 14 天与第 21 天之间无显著差异(对照除外)。以上结果说明,高浓度(15.0 mg/L)Pb²⁺ 处理下,POD、SOD、APX 在缓解梭鱼草叶片细胞氧化损伤中发挥了重要作用。

2.3 铅胁迫对梭鱼草叶片抗氧化物质含量的影响

首先,图 3,A、E 显示,随着铅胁迫浓度的增加,梭鱼草叶片 AsA 和 PCs 含量均呈逐渐上升趋势,并均在 15.0 mg/L Pb²⁺ 处理下达到最大值。其中,在胁迫处理第 14 天和第 21 天时,叶片 AsA 和 PCs 含量在 5.0,10.0 mg/L Pb²⁺ 处理下均与对照之间均无显著差异,AsA 含量在 15.0 mg/L Pb²⁺ 处理下分别比对照显著增加 145.81%和 161.00%,PCs 含量则分别显著增加 135.08%和 456.13%;在相同浓度 Pb²⁺ 处理下,AsA 含量在处理第 14 天与第 21 天之间均无显著差异,PCs 含量在 15.0 mg/L Pb²⁺ 处理第 21 天时比第 14 天显著增加 62.21%,在其余浓度处理下两时期间无显著差异。

同时,从图 3,C、D 来看,在处理第 14 天时,叶片 GSH 和 NPT 含量在 5.0,10.0 mg/L Pb²⁺ 处理下与对照之间均无显著差异,在 15.0 mg/L Pb²⁺ 处理下分别比对照显著增加 73.89%、92.48%;在胁迫处理第 21 天时,梭鱼草叶片 GSH、NPT 含量在 5.0 mg/L Pb²⁺ 处理下仍与对照之间均无显著差异,在 10.0,15.0mg/L Pb²⁺ 处理下均比对照显著增加;在相同浓度 Pb²⁺ 处理下,第 21 天叶片 GSH、NPT 含量仅在 15.0 mg/L Pb²⁺ 处理时比第 14 天显著增加,增幅分别为 32.51%和 43.53%。

另外,由图 3,B 可知,在胁迫处理第 14 天时,梭鱼草叶片 DHA 含量随着 Pb²⁺ 浓度的增加先降后升,并在 10.0 mg/L Pb²⁺ 处理下达到最小值,但各胁迫浓度间均无显著差异,且仅 10.0 mg/L Pb²⁺ 处理与对照有显著差异,降幅为 33.68%;在胁迫处理第 21 天时,梭鱼草叶片 DHA 含量随着胁迫浓度

增加呈逐渐下降趋势,但各浓度处理均与对照之间均无显著差异;在相同浓度 Pb²⁺ 处理下,梭鱼草叶片 DHA 含量在第 14 天与第 21 天之间均无显著差异。以上结果说明,梭鱼草叶片 AsA 和非蛋白巯基在其应对高浓度 Pb²⁺ 胁迫中发挥了重要的解毒作用。

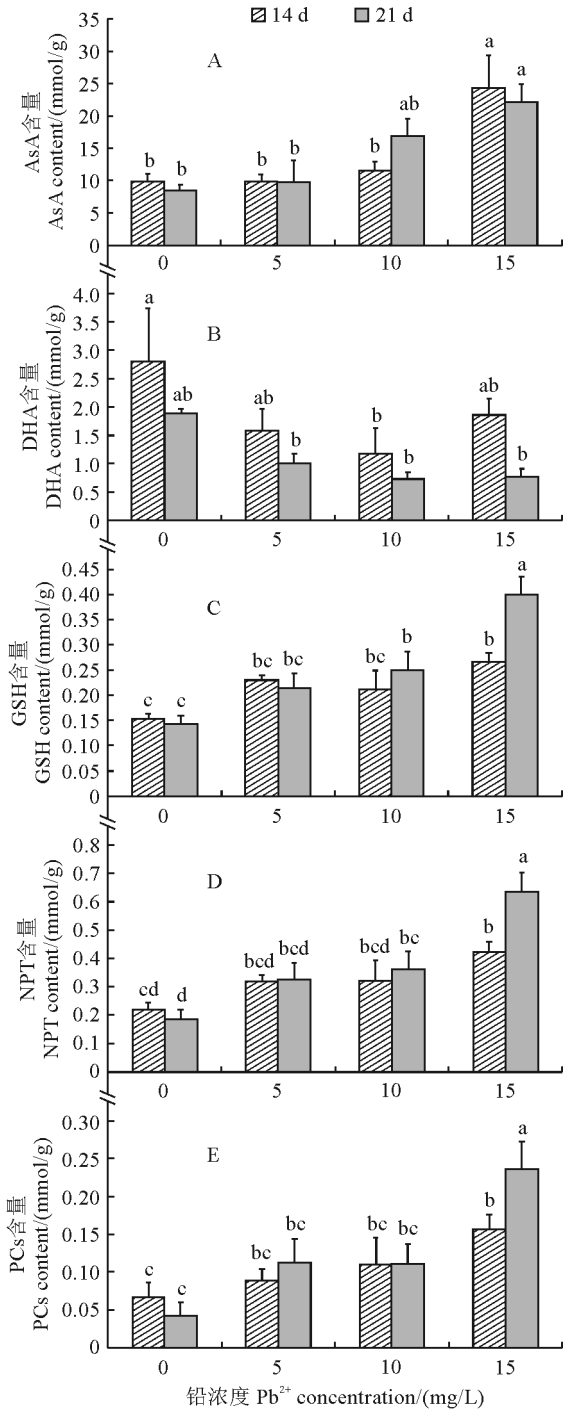


图 3 不同浓度 Pb²⁺ 处理下梭鱼草叶片抗氧化物质含量的变化

Fig. 3 Variations of antioxidants contents in leaves of *P. cordata* exposed to various Pb²⁺ concentrations

2.4 铅胁迫对梭鱼草叶片 MG 含量及 Gly I、Gly II 活性的影响

首先,图 4,A 显示,在胁迫处理第 14 天时,梭鱼草叶片 MG 含量在 5.0、10.0、15.0 mg/L Pb²⁺ 处理下均与对照无显著差异;在胁迫处理第 21 天时,梭鱼草叶片 MG 含量随着胁迫浓度增加呈逐渐上升趋势,并在 15.0 mg/L Pb²⁺ 处理下达到最大值,各处理比对照显著增加 31.41%~71.73%;在相同浓度 Pb²⁺ 处理下,各浓度 Pb²⁺ 处理第 21 天时叶片 MG 含量均比第 14 天显著增加,增幅在 74.99%~78.07%之间。

其次,从图 4,B 可知,在胁迫处理第 14 天和第 21 天时,与对照相比,梭鱼草叶片 GlyI 活性在 5.0、10.0 mg/L Pb²⁺ 处理下均无显著变化,在 15.0 mg/L Pb²⁺ 处理下分别比对照显著增加 135.38%和 117.91%;在相同浓度 Pb²⁺ 处理下,GlyI 活性在第 14 天与第 21 天之间均无显著差异。

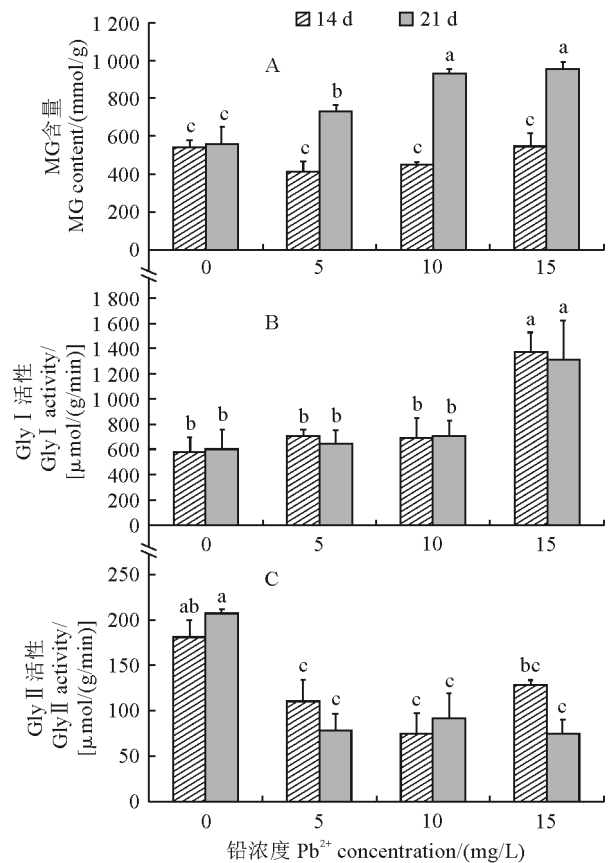


图 4 不同浓度 Pb²⁺ 处理下梭鱼草叶片 MG(A)含量及 Gly I (B)和 Gly II (C)活性的变化

Fig. 4 Variations of MG (A) contents and GlyI (B), GlyII (C) activities in leaves of *P. cordata* exposed to various Pb²⁺ concentrations

另外,从图 4,C 来看,在胁迫处理第 14 天时,梭鱼草叶片 Gly II 活性先降后升,在 5.0、10.0 mg/L Pb²⁺ 处理下分别比对照显著降低 38.91%和 58.82%,在 15.0 mg/L Pb²⁺ 处理下与对照无显著差异;在胁迫处理第 21 天时,各浓度 Pb²⁺ 处理下梭鱼草叶片 Gly II 活性均显著低于对照,但各浓度 Pb²⁺ 处理之间均无显著差异;在相同浓度 Pb²⁺ 处理下,Gly II 活性在第 14 天与第 21 天之间均无显著差异。以上结果说明,梭鱼草叶片乙二醛酶系统无法缓解高浓度 Pb²⁺ 胁迫诱发的羧基胁迫。

3 讨论

本研究中,在 5.0 mg/L Pb²⁺ 处理第 14 天和第 21 天时,梭鱼草叶片 MDA、叶绿素和非酶抗氧化剂含量及抗氧化酶活性均无显著变化,在较低浓度重金属处理下的玉蝉花 (*Iris ensata*)^[23] 和鱼腥草 (*Houttuynia cordata*)^[29] 上也得到了相似结果。此时,梭鱼草植株可以正常生长,且叶片形态基本正常,意味着梭鱼草叶片细胞中 Pb²⁺ 并未过量积累。这可能是因为多数 Pb²⁺ 被固定在根系,抑制了 Pb²⁺ 由根系向叶片的转运^[30]。同时,也有研究认为,当介质中 Pb²⁺ 浓度较低时,多数 Pb²⁺ 被固定于叶片细胞壁和液泡中,这将有利的降低细胞器中自由态 Pb²⁺ 浓度,从而避免 Pb²⁺ 胁迫诱导的 ROS 过量积累^[31]。

作为一种非营养型金属离子,Pb²⁺ 在植物细胞中过量积累会诱发细胞膜中不饱和脂肪酸的脂质过氧化,导致 MDA 大量积累。MDA 是表征逆境条件下植物受害程度的重要指标,其含量高低反映了细胞膜脂的过氧化程度。在本研究中,15.0 mg/L Pb²⁺ 处理使梭鱼草叶片 MDA 含量显著增加,与重金属胁迫下卷毛委陵菜 (*Potentilla sericea*)^[32] 和多年生黑麦草 (*Lolium perenne*)^[33] 叶片中 MDA 含量的变化规律相一致,表明此时梭鱼草叶片细胞脂膜结构与功能已受到较严重破坏,从而会妨碍其正常的生理代谢活动。另外,有研究表明,重金属胁迫诱导的膜脂过氧化作用会降低植物叶绿素含量^[34],这在本研究中也到了证明。本研究发现,15.0 mg/L Pb²⁺ 处理第 21 天时梭鱼草叶片 Chl a 含量显著下降。相似结果在重金属胁迫下的烟草 (*Nicotiana tabacum*)^[35] 和草地早熟禾 (*Poa pratensis*)^[36] 等多种植物中也有报道。这可能是因为 Pb²⁺ 一方面能够取代叶绿体中 Mg²⁺、Mn²⁺ 等离子,从而抑制叶绿素生物合成过程^[37];另一方面 Pb²⁺ 能直接诱导

光合色素降解,破坏叶绿体结构^[38]。

植物体内的抗氧化系统(酶类抗氧化系统与非酶类抗氧化系统)在清除逆境胁迫诱发的 ROS 过程中发挥着重要作用。其中,酶类抗氧化系统主要由 SOD、POD、CAT、APX、GR 及 DHAR 等多种酶组成,可以有效清除细胞 ROS,从而减缓膜脂过氧化作用。在本研究中,15.0 mg/L Pb²⁺ 处理第 14 天时梭鱼草叶片 POD、SOD 活性显著上升,在茄子 (*Solanum melongena*)^[39] 中也有相似的结果报道,这有利于清除细胞中过量 H₂O₂,从而减缓细胞氧化损伤。非酶类抗氧化系统主要包括 GSH、PCs、NPT、AsA 及 DHA 等抗氧化物质。其中,GSH 是植物细胞内低分子量巯基化合物,不但可作为一种自由基清除剂,直接与 O₂⁻、OH· 及 H₂O₂ 发生化学反应^[40],而且可以作为 PCs 合成底物,螯合重金属离子,从而保护酶、蛋白质及膜系统的功能^[41]。在本研究中,10.0 mg/L Pb²⁺ 处理第 21 天时或 15.0 mg/L Pb²⁺ 处理能诱导梭鱼草叶片 GSH 含量显著增加。这种结果在重金属胁迫下的旱柳 (*Salix matsudana*)^[42] 中也报道,这可能意味着此时梭鱼草叶片细胞 Pb²⁺ 的过量积累。PCs 与 NPT 可以与植物细胞内重金属离子结合形成无毒的小分子复合物,然后被运往胞外或者液泡,从而完成重金属离子的解毒作用。在本研究中,经 15.0 mg/L Pb²⁺ 处理第 14 天或第 21 天时,梭鱼草叶片 PCs 与 NPT 含量明显增加,与金属胁迫下马蔺 (*Iris lactea* var. *chinensis*)^[43] 和秋华柳 (*Salix variegata*)^[44] 叶片巯基化合物含量的变化规律相一致,表明巯基化合物被诱导合成以降低细胞中自由态 Pb²⁺ 浓度。因此,在 15.0 mg/L Pb²⁺ 处理下,非蛋白巯基肽含量的增加是梭鱼草叶片完成 Pb²⁺ 解毒作用的重要机制。另外,AsA 是一种水溶性抗氧化剂,可直接清除 O₂⁻、OH· 及 H₂O₂^[45]。在逆境胁迫条件下,AsA 能够有效调节植物细胞抗氧化能力,维持细胞

氧化还原状态。DHA 是 AsA 的氧化形式,在植物细胞内大量积累不利于缓解膜质过氧化作用。本研究中,在 15.0 mg/L Pb²⁺ 处理下,梭鱼草叶片 AsA 含量比同期对照组显著增加,而 DHA 含量显著下降,这有利于 DHA 转化为 AsA,维持叶片细胞较多的 AsA 库源,从而使其维持较高的抗氧化能力。

乙二醛酶系统主要由 Gly I、Gly II 组成,两者共同催化 MG 解毒。MG 是一种细胞毒性化合物,重金属胁迫能够诱发细胞 MG 过量积累,产生羰基胁迫,从而导致蛋白质和核酸等生物大分子受损,加速脂质过氧化作用^[46]。研究表明,植物在逆境条件下可以通过上调 Gly I、Gly II 活性以提高 MG 的解毒能力^[47]。本研究中,不同浓度 Pb²⁺ 处理第 21 天时,梭鱼草叶片细胞 MG 含量明显增加,这与重金属胁迫下番茄的表现^[48] 相似,这意味着此时梭鱼草叶片细胞遭受了过量 Pb²⁺ 诱发的氧化胁迫,可由 MDA 含量的增加得到印证;同时,虽然 15.0 mg/L Pb²⁺ 处理至第 21 天时 Gly I 活性显著增加,但是 Gly II 活性却明显下降。这种结果在重金属胁迫下的菜心 (*Brassica parachinensis*)^[49] 上也得到了证实,表明乙二醛酶系统此时已经不能有效减缓羰基胁迫诱导的脂质过氧化作用。

4 结 论

在低浓度(5.0 mg/L)Pb²⁺ 处理下,梭鱼草表现出良好的铅胁迫耐受性,叶片细胞未发生明显膜脂过氧化,叶绿素含量与抗氧化系统活性相对稳定。在较高浓度 Pb²⁺ 胁迫处理下,梭鱼草叶片细胞抗氧化酶(POD、SOD、APX)活性被激活,抗氧化剂(AsA)与非蛋白巯基化合物(GSH、PCs 和 NPT)大量合成以螯合细胞中过量 Pb²⁺,在减缓叶片细胞氧化损伤中发挥了重要的解毒作用,而此时 Gly I 与 Gly II 活性无法协调以完成对 MG 的解毒作用。

参考文献:

[1] 周启星,唐景春,魏树和. 环境绿色修复的地球化学基础与相关理论探讨[J]. 生态与农村环境学报, 2020, **36**(1): 1-10.
ZHOU Q X, TANG J C, WEI S H. Discussion on geochemical bases and relevant theories of environmental green remediation[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2020, **36**(1): 1-10.

[2] SABEEN M, MAHMOOD Q, IRSHAD M, *et al.* Cadmium phytoremediation by *Arundo donax* L. from contaminated soil and water[J]. *BioMed Research International*, 2013, **2013**: 324-330.

[3] LIU J N, XIN X, ZHOU Q X. Phytoremediation of contaminated soils using ornamental plants[J]. *Environmental Reviews*, 2018, **26**(1): 43-54.

[4] CULE N, LUCIC A, NESIC M, *et al.* Accumulation of chromium and nickel by *Canna indica* and decorative macrophytes grown in floating treatment wetland[J]. *Fresenius Environmental Bulletin*, 2021, **30**(6): 7 881-7 890.

[5] 马思思,辛建攀,陈宜栋,等. 铜对梭鱼草叶片保护酶活性、

抗氧化物质及非蛋白巯基肽含量的影响[J]. 草业科学, 2020, **37**(3): 459-468.

MA S S, XIN J P, CHEN Y D, *et al.* Effects of copper on antioxidant enzyme activities, antioxidant and non-protein thiol content in *Pontederia cordata*'s leaves[J]. *Pratacultural Science*, 2020, **37**(3): 459-468.

[6] XIN J P, MA S S, LI Y, *et al.* *Pontederia cordata*, an ornamental aquatic macrophyte with great potential in phytoremediation of heavy-metal-contaminated wetlands[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, **203**: 111 024.

[7] XU X H, YANG B S, QIN G H, *et al.* Growth, accumulation, and antioxidative responses of two *Salix* genotypes exposed to cadmium and lead in hydroponic culture[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, **26**(19): 19 770-19 784.

[8] ADIL M F, SEHAR S, HAN Z G, *et al.* Zinc alleviates cadmium toxicity by modulating photosynthesis, ROS homeostasis, and cation flux kinetics in rice[J]. *Environmental Pollution*, 2020, **265**: 114 979.

[9] ŠIROVÁ K, VACULÍK M. Toxic effects of cadmium on growth of *Aloe ferox* Mill. [J]. *South African Journal of Botany*, 2022, **147**: 1 181-1 187.

[10] HU R, SUN K, SU X, *et al.* Physiological responses and tolerance mechanisms to Pb in two xerophils: *Salsola passerina* Bunge and *Chenopodium album* L. [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, **205-206**: 131-138.

[11] USMAN K, ABU-DIEYEH M H, ZOUARI N, *et al.* Lead (Pb) bioaccumulation and antioxidative responses in *Tetraena qataranse*[J]. *Scientific Reports*, 2020, **10**: 17 070.

[12] 王 月, 周志豪, 叶芯妤, 等. 甲基乙二醛: 植物中一种新的信号分子[J]. 植物生理学报, 2018, **54**(1): 10-18.

WANG Y, ZHOU Z H, YE X Y, *et al.* Methylglyoxal: A new signaling molecule in plants [J]. *Plant Physiology Journal*, 2018, **54**(1): 10-18.

[13] AL MAHMUD J, HASANUZZAMAN M, NAHAR K, *et al.* Insights into citric acid-induced cadmium tolerance and phytoremediation in *Brassica juncea* L.: Coordinated functions of metal chelation, antioxidant defense and glyoxalase systems[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, **147**: 990-1 001.

[14] 叶芯妤, 邱雪梅, 王 月, 等. 乙二醛酶系统及其在植物响应和适应环境胁迫中的作用[J]. 植物生理学报, 2019, **55**(4): 401-410.

YE X Y, QIU X M, WANG Y, *et al.* Glyoxalase system and its role in response and adaptation of plants to environmental stress [J]. *Plant Physiology Journal*, 2019, **55**(4): 401-410.

[15] 郝建军, 康宗利, 于洋. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 159.

[16] 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: 134-137.

[17] 王晶英, 敖 红, 张 杰, 等. 植物生理生化实验技术与原理[M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2003: 136.

[18] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2015: 76-77.

[19] 李忠光, 李江鸿, 杜朝昆, 等. 在单一提取系统中同时测定 5 种植物抗氧化酶[J]. 云南师范大学学报(自然科学版), 2002, **22**(6): 44-48.

LI Z G, LI J H, DU C K, *et al.* Simultaneous measurement of five antioxidant enzyme activities using a single extraction system[J]. *Journal of Yunnan Normal University* (Natural Sciences Edition), 2002, **22**(6): 44-48.

[20] NAKANO Y, ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1981, **22**(5): 867-880.

[21] HALLIWELL B, FOYER C H. Properties and physiological function of a glutathione reductase purified from spinach leaves by affinity chromatography[J]. *Planta*, 1978, **139**(1): 9-17.

[22] RAMA DEVI S, PRASAD M N V. Copper toxicity in *Ceratophyllum demersum* L. (Coontail), a free floating macrophyte: Response of antioxidant enzymes and antioxidants [J]. *Plant Science*, 1998, **138**(2): 157-165.

[23] ALFADUL S M S, AL-FREDAN M A A. Effects of Cd, Cu, Pb, and Zn combinations on *Phragmites australis* metabolism, metal accumulation and distribution[J]. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 2013, **38**(1): 11-19.

[24] KAMPFENKEL K, VANMONTAGU M, INZE D. Extraction and determination of ascorbate and dehydroascorbate from plant tissue[J]. *Analytical Biochemistry*, 1995, **225**(1): 165-167.

[25] WILD R, OOI L, SRIKANTH V, *et al.* A quick, convenient and economical method for the reliable determination of methylglyoxal in millimolar concentrations: The *N*-acetyl-l-cysteine assay[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012, **403**(9): 2 577-2 581.

[26] HOSSAIN M A, HOSSAIN M Z, FUJITA M. Stress-induced changes of methylglyoxal level and glyoxalase I activity in pumpkin seedlings and cDNA cloning of glyoxalase I gene [J]. *Australian Journal of Crop Science*, 2009, **3**(2): 53.

[27] PRINCIPATO G B, ROSI G, TALESA V, *et al.* Purification and characterization of two forms of glyoxalase II from the liver and brain of Wistar rats[J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1987, **911**(3): 349-355.

[28] 薄 伟, 王 松, 康红梅, 等. 铅胁迫对玉蝉花生长及生理生化的影响[J]. 森林与环境学报, 2021, **41**(4): 373-381.

BO W, WANG S, KANG H M, *et al.* Effects of lead stress on the growth and physio-biochemistry of *Iris ensata* [J]. *Journal of Forest and Environment*, 2021, **41**(4): 373-381.

[29] 吴正卓, 刘桂华, 范成五, 等. 镉胁迫下不同生态型鱼腥草生长及生理特性的响应[J]. 西南农业学报, 2022, **35**(2): 359-365.

WU Z Z, LIU G H, FAN C W, *et al.* Effects of cadmium stress on growth and physiological characteristics of different ecotype *Houttuynia cordata* Thunbs [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2022, **35**(2): 359-365.

[30] XIN J P, ZHANG Y, TIAN R N. Tolerance mechanism of *Triarrhena sacchariflora* (Maxim.) Nakai. seedlings to lead and cadmium: Translocation, subcellular distribution, chemical forms and variations in leaf ultrastructure[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, **165**: 611-621.

[31] 杨素勤, 程海宽, 景鑫鑫, 等. 不同铅吸收特性小麦 Pb 的亚细胞分布和化学提取态[J]. 中国农业科学, 2015, **48**(14):

- 2 848-2 856.
- YANG S Q, CHENG H K, JING X X, *et al.* Subcellular distribution and chemical-extraction of lead in wheat with different characteristics of lead absorption[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, **48**(14): 2 848-2 856.
- [32] 吴建慧, 兰 风, 张 静, 等. 重金属铅对绢毛委陵菜生理特性和叶片超微结构的影响[J]. 草业科学, 2017, **34**(7): 1 383-1 389.
- WU J H, LAN F, ZHANG J, *et al.* Effect of Pb stress on ultrastructure and physiological characteristics of *Potentilla sericea* [J]. *Pratacultural Science*, 2017, **34**(7): 1 383-1 389.
- [33] 赵利清, 彭向永, 刘俊祥, 等. GSH 对铅胁迫下多年生黑麦草幼苗抗氧化系统的调控[J]. 草地学报, 2020, **28**(6): 1 527-1 534.
- ZHAO L Q, PENG X Y, LIU J X, *et al.* Effects of glutathione(GSH) on antioxidant defense system of *Lolium perenne* seedlings under lead stress[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2020, **28**(6): 1 527-1 534.
- [34] ZHENG WY, WANG YX, ZHENG YF, *et al.* Effects of cadmium and lead stress on growth and photosynthetic physiology of *Populus yunnanensis* seedlings [J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2021, **37**(10): 1 331-1 340.
- [35] SOMASHEKARAIH B V, PADMAJA K, PRASAD A R K. Phytotoxicity of cadmium ions on germinating seedlings of mung bean (*Phaseolus vulgaris*): Involvement of lipid peroxides in chlorophyll degradation[J]. *Physiologia Plantarum*, 1992, **85**(1): 85-89.
- [36] 朱诗苗, 宋杭霖, 张丽, 等. 铅胁迫对烟草生长及生理生化指标的影响[J]. 植物生理学报, 2018, **54**(3): 465-472.
- ZHU S M, SONG H L, ZHANG L, *et al.* Effect of lead stress on growth and physio-biochemical indices of tobacco [J]. *Plant Physiology Journal*, 2018, **54**(3): 465-472.
- [37] 张金青, 陈金龙, 李 凡, 等. 草地早熟禾种子萌发和幼苗生长对铅胁迫的适应性[J]. 草地学报, 2020, **28**(1): 130-140.
- ZHANG J Q, CHEN J L, LI F, *et al.* Responses of seed germination and seedling growth of *Poa pratensis* to lead stress[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2020, **28**(1): 130-140.
- [38] KHAN M M, ISLAM E, IREM S, *et al.* Pb-induced phytotoxicity in Para grass (*Brachiaria mutica*) and Castorbean (*Ricinus communis* L.): Antioxidant and ultrastructural studies[J]. *Chemosphere*, 2018, **200**: 257-265.
- [39] 王马勃, 巢建国, 谷 巍, 等. 铅胁迫下茅苍术生理指标、光合参数及生物量的变化[J]. 南方农业学报, 2019, **50**(1): 32-39.
- WANG M B, CHAO J G, GU W, *et al.* Changes of physiological indexes, photosynthetic parameters and biomass of *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. under lead stress [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2019, **50**(1): 32-39.
- [40] FAROOQ M A, ALI S, HAMEED A, *et al.* Cadmium stress in cotton seedlings: Physiological, photosynthesis and oxidative damages alleviated by glycinebetaine[J]. *South African Journal of Botany*, 2016, **104**: 61-68.
- [41] DEVÓZ P P, DOS REIS M B, GOMES W R, *et al.* Adaptive epigenetic response of glutathione (GSH)-related genes against lead (Pb)-induced toxicity, in individuals chronically exposed to the metal[J]. *Chemosphere*, 2021, **269**: 128 758.
- [42] 杨卫东, 李廷强, 丁哲利, 等. 旱柳幼苗抗坏血酸-谷胱甘肽循环及谷胱甘肽代谢对镉胁迫的响应[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2014, **40**(5): 551-558.
- YANG W D, LI T Q, DING Z L, *et al.* Responses of ascorbate-glutathione cycle and glutathione metabolism to cadmium stress in *Salix matsudana* Koidz seedlings[J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 2014, **40**(5): 551-558.
- [43] 刘灿玉, 王 允, 张 逸, 等. 铅胁迫对姜叶片活性氧代谢的影响[J]. 园艺学报, 2015, **42**(11): 2 215-2 222.
- LIU C Y, WANG Y, ZHANG Y, *et al.* Effects of Pb stress on reactive oxygen metabolism in ginger leaves [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2015, **42**(11): 2 215-2 222.
- [44] 刘 媛, 王妮娅, 张 雯, 等. 镉胁迫对秋华柳植物螯合肽含量的影响[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2017, **43**(3): 298-306.
- LIU Y, WANG N Y, ZHANG W, *et al.* Effect of cadmium stress on the content of phytochelatins in *Salix variegata* [J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 2017, **43**(3): 298-306.
- [45] 孙惠莉, 吕金印, 贾少磊. 硫对镉胁迫下小白菜叶片 AsA-GSH 循环和植物络合素含量的影响[J]. 农业环境科学学报, 2013, **32**(7): 1 294-1 301.
- SUN H L, LÜ J Y, JIA S L. Effects of sulfur on ascorbate-glutathione cycle and the content of phytochelatins in the leaves of pakchoi (*Brassica chinensis* L.) under cadmium stress[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, **32**(7): 1 294-1 301.
- [46] 叶芯好, 邱雪梅, 王 月, 等. 乙二醛酶系统及其在植物响应和适应环境胁迫中的作用[J]. 植物生理学报, 2019, **55**(4): 401-410.
- YE X Y, QIU X M, WANG Y, *et al.* Glyoxalase system and its role in response and adaptation of plants to environmental stress [J]. *Plant Physiology Journal*, 2019, **55**(4): 401-410.
- [47] BHUYAN M H M B, HASANUZZAMAN M, AL MAHMUD J, *et al.* Explicating physiological and biochemical responses of wheat cultivars under acidity stress: Insight into the antioxidant defense and glyoxalase systems[J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2019, **25**(4): 865-879.
- [48] JAN S, NOMAN A, KAYA C, *et al.* 24-epibrassinolide alleviates the injurious effects of Cr(VI) toxicity in tomato plants: Insights into growth, physio-biochemical attributes, antioxidant activity and regulation of ascorbate-glutathione and glyoxalase cycles[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2020, **39**(4): 1 587-1 604.
- [49] KAMRAN M, WANG D, ALHAITHLOUL H A S, *et al.* Jasmonic acid-mediated enhanced regulation of oxidative, glyoxalase defense system and reduced chromium uptake contributes to alleviation of chromium (VI) toxicity in choysum (*Brassica parachinensis* L.) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, **208**: 111 758.