

文章编号:1001-1498(2016)01-0147-07

## 盐肤木幼苗对铅胁迫的生理响应

施翔<sup>1</sup>, 王树凤<sup>1</sup>, 潘红伟<sup>1</sup>, 孙海菁<sup>1\*</sup>, 陈益泰<sup>1</sup>, 江泽平<sup>2</sup>

(1. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江省林木育种技术研究重点实验室, 浙江 杭州 311400;

2. 中国林业科学研究院林业研究所, 北京 100091)

关键词: Pb; 盐肤木; 生理响应; 根系形态; 根系分泌物

中图分类号: S792.99

文献标识码: A

### Physiological Responses of *Rhus chinensis* under Lead Stress

SHI Xiang<sup>1</sup>, WANG Shu-feng<sup>1</sup>, PAN Hong-wei<sup>1</sup>, SUN Hai-jing<sup>1</sup>, CHEN Yi-tai<sup>1</sup>, JIANG Ze-ping<sup>2</sup>

(1. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Key Laboratory of Tree Breeding of Zhejiang Province,

Hangzhou 311400, Zhejiang, China; 2. Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China)

**Abstract:** [Objective] A greenhouse pot experiment was conducted to evaluate the potential of *Rhus chinensis* Mill for phytoremediation of lead-contaminated soil. [Method] The response of container seedlings to Pb concentrations (0, 400 and 1 000 mg · kg<sup>-1</sup>) in the soil was studied. Seedling growth, chlorophyll, carotenoid, chlorophyll fluorescence, malondialdehyde (MDA), nutrient elements, Pb accumulation and translocation were assessed. [Result] The results showed that *R. chinensis* did not show visual symptoms of Pb toxicity. Compared to the control, the biomass increased slightly at low concentration (400 mg · kg<sup>-1</sup>). Under Pb stress conditions, the root elongation was restrained, while the radial growth of root was promoted and the fine root was developed better. No differences were observed in photosynthetic pigments, chlorophyll fluorescence, and MDA. During the experiment, only small quantity of Pb were uptake by *R. chinensis*, and most of the Pb absorbed by plants was retained in the roots. However, at the high concentration (1 000 mg · kg<sup>-1</sup>), *R. chinensis* transported metal to the shoots better, and the translocation factor (TF) value was 0.66. Under the Pb stress, oxalic acid of root exudates was increased significantly; while the root could be induced malic acid and citric acid, and the concentration increased with Pb concentration in soil. [Conclusion] *R. chinensis* was found to have Pb tolerance and phytoremediation potential in Pb-contaminated soils.

**Key words:** lead; *Rhus chinensis*; physiological response; root morphology; root exudate

矿产资源的不合理开采、农药化肥的大量使用、汽车尾气的排放等,使重金属大量进入土壤环境中,造成土壤污染,这已成为深受全球关注的环境问题之一<sup>[1]</sup>。过量积累在生物体中的重金属能够通过食物链传递给人或者动物,严重威胁着人类的健康<sup>[2]</sup>;其中,铅(Pb)作为一种广泛存在的潜在环境污染物质已经得到广泛关注。短期暴露于高浓度铅环

境下会导致人类脑和肾的损伤以及胃肠道不适,而长期暴露会影响人类中枢神经系统、血液、肝脏和生殖系统。因此,对铅污染土壤进行修复是一项十分迫切的环境治理课题。

植物修复因其费用低,且不破坏土壤结构,已成为具有发展前景的重金属污染土壤修复方法。铅是一种对植物有较大毒害效应的元素,植物对铅的响

收稿日期: 2015-04-09

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31300509); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(CAF-YBB2014QB016, R1SF2014004)

作者简介: 施翔(1981—),男,湖南长沙人,助理研究员,博士研究生,主要从事植物修复研究。

\* 通讯作者: 博士,副研究员,主要从事林木遗传育种研究。E-mail: sunhaijing@163.com

应以及响应过程与植物的基因型和生理特性有关。植物在 Pb 胁迫下会显现出中毒症状,如膜透性的改变、酶活性的扰乱、有丝分裂受阻、DNA 损伤以及其它生理过程的改变等<sup>[3-4]</sup>。随着现代分子生物学与生物技术的发展,研究者在植物对铅离子的吸收<sup>[5-6]</sup>、转运<sup>[7-8]</sup>、分布累积<sup>[9-10]</sup>和解毒机制<sup>[10-11]</sup>研究方面做了大量工作,其中,涉及的植物主要为农作物<sup>[5,12]</sup>和超富集植物<sup>[9-10,13]</sup>。超富集植物具有一定的局限性,很难实现实际应用价值。

树木具有生物量大、根系发达的特点,将树木作为重金属污染土地修复树种的研究近 10 年来受到越来越多的重视<sup>[14]</sup>,多数研究主要集中在柳属(*Salix* L.)植物<sup>[15-16]</sup>、豆科(Leguminosae)植物<sup>[17]</sup>等。与超富集植物相比,木本植物对重金属的响应机制有很大差异<sup>[18]</sup>,同时铅的超富集植物和耐性植物还不够丰富<sup>[19]</sup>。盐肤木(*Rhus chinensis* Mill)为漆树科(Anacardiaceae)盐肤木属(*Rhus* (Tourm.) L. emend. Moench)落叶小乔木。由于盐肤木适应性强、生长快、耐干旱瘠薄、根蘖力强,是废弃地恢复的先锋植物。本项目组在前期的研究中发现盐肤木对铅有较好的耐性,并具有一定的吸收积累能力,这对于丰富耐铅植物的种类有重要意义。目前,关于盐肤木修复重金属污染土壤的研究报道不多,主要研究集中在矿区废弃地植物组织中重金属的含量和分布<sup>[20]</sup>,较少关注在 Pb 胁迫下其生理响应等问题。因此,本文以盐肤木容器幼苗为试验材料,采用土培法,观察其在不同浓度 Pb 胁迫下的生理响应,为进一步研究其吸收和解毒机制打下基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料与方法

试验在杭州市富阳区中国林科院亚热带林业研究所温室大棚进行。地处 30°057' N, 119°956' E, 海拔 90 m,亚热带季风气候,年平均气温 16.2℃,年降水量 1 452 mm。

盐肤木种子采集自富阳,种子自来水冲洗干净后,于 2013 年 3 月大棚播种育苗。基质为珍珠岩:泥炭 = 1:3,采用自动喷雾浇水,待幼苗出土后,适量喷洒营养液以供生长。2014 年 7 月中旬,选取生长一致的无纺布容器幼苗进行试验。试验采用盆栽法,每个圆形的塑料盆(直径 15 cm × 高 15 cm)盆底设置通气孔,通气孔周围覆盖包裹有尼龙纱布的细砾石和粗砂,以防止土粒塞满砂砾空隙。装土时分层压实,并使各盆的紧实度保持一致,装土量为每盆 3 kg。土体表面距盆口保持一定距离,以便浇水。供试红壤采集自富阳,取自表土层(0 ~ 30 cm),未被重金属污染且黏重。试验前将土壤风干和混匀,重金属铅(Pb)的浓度设计为 400(低浓度)、1 000 mg · kg<sup>-1</sup>(高浓度),由于土壤铅多在无机化合物中以二价态存在,极少数为四价态,所以,本试验均以 Pb(CH<sub>3</sub>COOH)<sub>2</sub> · 3H<sub>2</sub>O(分子量 379.33)的形式加入,以不加 Pb 作为对照,共计 3 个处理,每个处理 6 次重复,每个处理 18 株盐肤木幼苗。土壤熟化后测定其 Pb 浓度和土壤化学性质(表 1)。盆栽试验于 2014 年 7 月至 11 月进行。试验过程中,白天温度 25 ~ 35℃,晚间温度 15 ~ 20℃。

表 1 供试土壤的化学性质

处理浓度/(mg · kg <sup>-1</sup> )	有效铅/(mg · kg <sup>-1</sup> )	铅/(mg · kg <sup>-1</sup> )	总氮/(g · kg <sup>-1</sup> )	总磷/(g · kg <sup>-1</sup> )	总钾/(g · kg <sup>-1</sup> )	pH 值
0(对照)	9.68 ± 0.17	23.56 ± 6.47	0.57 ± 0.01	0.44 ± 0.02	10.40 ± 0.20	6.72 ± 0.13
400	250.70 ± 20.00	323.00 ± 13.00	0.64 ± 0.02	0.52 ± 0.03	9.46 ± 0.70	6.55 ± 0.08
1 000	643.00 ± 13.70	907.70 ± 19.60	0.63 ± 0.01	0.52 ± 0.03	9.20 ± 0.43	6.51 ± 0.07

### 1.2 生物量分析

盐肤木植株收获后,将其分为叶片、茎和根系 3 部分。根系用去离子水洗净,并用 5 mmol · L<sup>-1</sup> Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 浸泡。植物样品经 105℃ 杀青 30 min, 75℃ 烘干 3 d 后称其生物量。

耐性指数(TI) = 处理植物生物量/对照植物生物量。

### 1.3 元素分析

植物样品烘干粉碎后,称取 0.2 g,用 4 mL 65% HNO<sub>3</sub>和 1 mL 70% HClO<sub>4</sub> 混合液消解,重金属 Pb

含量用电感耦合等离子原子发射光谱仪 ICP-OES(I-RIS Intrepid II XSP,美国 Thermo 公司)测定;同时取植物样品,参照 Lowther<sup>[21]</sup>的方法用 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 法消煮,依照 Mukherjee 等<sup>[22]</sup>的方法测定各器官全磷含量,用全自动凯氏定氮仪测定全氮含量。

转移系数(TF) = 地上部分 Pb 积累浓度/地下部分 Pb 积累浓度

土壤经风干过筛后测定重金属含量、营养元素和 pH 值。土壤样品经 5 mL 65% HNO<sub>3</sub>和 70% HClO<sub>4</sub> 混合液(体积比 4:1)消解,用 ICP-OES 测定

金属含量<sup>[32]</sup>。采用  $H_2SO_4-H_2O_2$  消解,半微量凯氏定氮法测定全氮;采用 NaOH 熔融-钼锑抗混合试剂比色法测定土壤全磷;采用 NaOH 熔融-火焰光度计法测定土壤全钾<sup>[23]</sup>。pH 值用酸度计 PHS-3C(上海精密科学仪器有限公司)测定(土壤或矿砂/水 = 1:2.5)。

#### 1.4 光合色素和丙二醛(MDA)含量的测定

叶绿素含量采用丙酮法测定。擦净叶片表面污物,并剪成宽度小于 1 mm 细丝,称取 0.1 g 样品放入试管中。向试管中加入 10 mL 80% 丙酮混匀,试管置室温避光处浸泡 24 h。将叶绿素提取液置玻璃比色皿中,80% 丙酮作参比,用 TU-1810 型分光光度计(北京普析通用公司)分别在 470、645、663 nm 处测定吸光度。采用 Lichtenthaler 等<sup>[24]</sup>的公式分别计算叶绿素 a、叶绿素 b 及类胡萝卜素含量。

MDA 含量的测定参照 Aravind 等<sup>[25]</sup>的方法,叶片用液氮研磨成粉末,加入质量分数 0.5% 硫代巴比妥酸(溶解于质量分数 20% 三氯乙酸)提取液,在 95℃ 水中温浴 30 min,然后在冰上停止反应,10 000  $r \cdot \min^{-1}$  离心 10 min,取上清液分别在 532、600 nm 处测定吸光度。

#### 1.5 叶绿素荧光参数测定

每株选取 4 片成熟叶片,采用便携式脉冲调制叶绿素荧光仪 PAM-2500(德国 Walz 公司)测定叶绿素荧光参数。荧光参数通过 PAM-WIN 软件(德国 Walz 公司)获得。测定前暗适应 30 min。测定程序为:先照射检测光( $<0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ),测定暗适应后的叶片最小荧光( $F_0$ )、最大荧光( $F_m$ )。再测照射饱和和脉冲光( $400 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ),测定光下最大荧光  $F_m$  和实时荧光( $F_s$ )等指标,测定时调整叶片使其受光量尽量一致,以减少误差。

(1) PS II 最大光化学量子产量:

$$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$$

上式中: $F_v$  为可变荧光。

(2) 光化学淬灭系数( $qP$ ):

$$qP = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_0)$$

(3) 非光化学淬灭系数( $NPQ$ ):

$$NPQ = (F_m' - F_m)/F_m'$$

(4) PS II 有效光化学量子产量  $\Phi_{PSII}$ :

$$\Phi_{PSII} = (F_m' - F_s)/F_m'$$

#### 1.6 根系形态参数测定

所有盐肤木植株根系去离子水洗净后,用双光源扫描仪扫描。根系形态参数(根系长度、根系表面

积、根系体积、根系平均直径以及不同径级根系长度)通过图片用根系分析软件 WinRHIZO Pro 2005b(加拿大 Regent 公司)分析。不同径级根系长度比例 = 不同径级根系长度(cm)/根系总长度(cm)。

#### 1.7 根系分泌物收集和测定

植株根系依次用超纯水、去离子无菌水冲洗 3~5 次,然后分别放入盛有 200 mL  $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{CaCl}_2$ (无菌化处理)的 250 mL 烧杯(用锡箔纸包住遮光)中,进行根系分泌物的收集。4 h 后取出植物,用少量去离子无菌水冲洗根系,合并于根系分泌物中,重复 5 次,然后连续收集 24 h,将收集液定容至 250 mL。收集到的根系分泌物溶液经  $0.45 \mu\text{m}$  的滤膜抽滤,收集滤液 100 mL,放入 4℃ 冰箱备用。根系分泌物中低分子有机酸的测定参照乔冬梅<sup>[26]</sup>的方法进行。

#### 1.8 数据分析

试验数据采用统计软件 SPSS V19.0 进行方差分析和差异显著性分析(最小差异显著法)。

## 2 结果与分析

### 2.1 盐肤木幼苗生物量

不同浓度 Pb 胁迫下盐肤木幼苗的生物量见图 1。盐肤木在污染土壤中能生长正常,与对照相比,不同 Pb 处理组的盐肤木幼苗生物量的差异不显著,其中,在低浓度处理中,盐肤木幼苗根系和茎生物量分别比对照增加 11.7% 和 8.3%,而叶片生物量则减少 2.8%;在高浓度 Pb 处理组中,盐肤木幼苗根系、茎和叶片生物量分别比对照减少 0.20、0.16、0.28  $\text{g} \cdot \text{株}^{-1}$ ,其耐性指数为 0.88,低于低浓度处理组的 1.06。

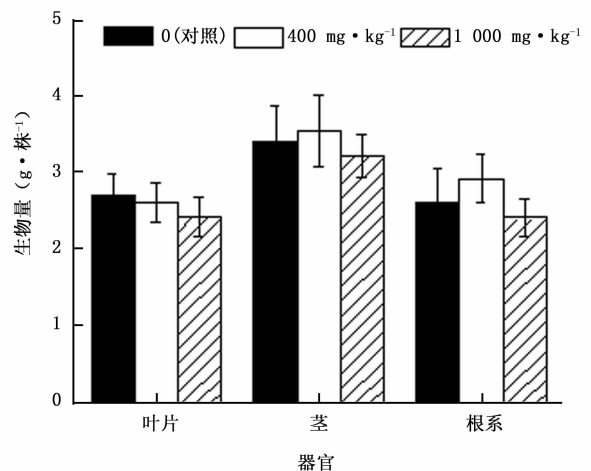


图1 不同浓度 Pb 胁迫下盐肤木幼苗各器官的平均生物量

## 2.2 盐肤木幼苗根系形态参数

Pb胁迫下,盐肤木幼苗根系能穿透无纺布接触到污染土壤,但主要集中在无纺布附近,对照盐肤木幼苗根系则充满整个容器。Pb胁迫下,盐肤木幼苗根系长度较对照都有一定程度减少,低浓度和高浓度处理下根系长度分别减少21.24%和30.91%。根系表面积随着Pb浓度的增加而减少,其中,低浓度处理组减少8.40%,高浓度处理组减少16.65%。根尖数也表现出与根系长度相似的趋势。根系平均直径和根系体积则表现出与根系长度相反的趋势,即参数值随着Pb浓度增加而增加。与对照相比,低浓度处理组下,根系平均直径和根系体积分别增加7.46%和7.50%;高浓度处理组2个参数则分别增

加8.30%和8.77%。方差分析表明:不同径级根系长度在不同浓度Pb胁迫下的差异不显著。Pb胁迫下,对照组盐肤木幼苗在0~2 mm径级的根系长度比例为32.34%,高于2个Pb处理组的27.68%和28.51%;在2~4、4~10 mm 2个径级3个处理组的根系长度比例没有显著差异( $p < 0.05$ )。其中,2~4 mm径级3个处理组的根系长度比例分别为15.4%、14.8%和15.1%,4~10 mm径级3个处理组的根系长度比例分别为24.8%、24.3%和23.3%。盐肤木幼苗在>10 mm径级的根系长度比例则是Pb处理组高于对照,其根系长度比例分别为33.30%和33.13%。

表2 不同Pb浓度处理下盐肤木幼苗根系形态参数

处理浓度/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	根系长度 /cm	根系表面 积/ $\text{cm}^2$	根系平均 直径/mm	根系体积/ $\text{cm}^3$	根尖/个	不同径级根系长度/cm				
						0~1 mm	1~2 mm	2~4 mm	4~10 mm	>10 mm
0(对照)	838 ± 419	2 487 ± 922	24.1 ± 6.75	627 ± 176	1 237 ± 642	155.5 ± 84.5	115.5 ± 62.3	128.9 ± 78.4	207.6 ± 130.8	230.6 ± 78.6
400	660 ± 479	2 278 ± 1 347	25.9 ± 13.50	674 ± 355	894 ± 331	104.9 ± 43.0	77.8 ± 31.5	97.5 ± 37.1	160.2 ± 117.4	219.8 ± 123.9
1 000	579 ± 195	2 073 ± 743	26.1 ± 14.60	682 ± 385	809 ± 488	90.2 ± 51.2	74.9 ± 29.1	87.2 ± 38.2	134.8 ± 40.1	191.8 ± 52.6

## 2.3 光合色素和MDA含量

方差分析表明:盐肤木幼苗叶绿素a、叶绿素b和总叶绿素含量在不同处理组中均没有显著差异。由表3可知:Pb胁迫下,叶绿素a、叶绿素b及总叶绿素含量均较对照有一定程度的增加,但叶绿素a/叶绿素b的比值在不同处理下没有显著差异。盐肤木幼苗

的类胡萝卜素含量随着Pb浓度的增加而减少( $p < 0.05$ ),其中,高浓度Pb胁迫下类胡萝卜素含量由对照的 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 降低到 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。各处理组盐肤木幼苗MDA含量的差异不显著,其中,低浓度Pb胁迫下比对照增加24%,为 $117.2 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

表3 不同Pb浓度处理下盐肤木幼苗光合色素和MDA含量

处理浓度/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	叶绿素 a/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	叶绿素 b/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	总叶绿素/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	类胡萝卜素/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	叶绿素 a		MDA/ ( $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ )
					叶绿素 a	叶绿素 b	
0(对照)	1.96 ± 0.26	0.84 ± 0.12	2.80 ± 0.38	0.30 ± 0.03a	2.32 ± 0.01		94.5 ± 15.2
400	2.05 ± 0.12	0.86 ± 0.05	2.92 ± 0.16	0.29 ± 0.03 ab	2.34 ± 0.04		117.2 ± 14.5
1 000	1.99 ± 0.35	0.85 ± 0.12	2.83 ± 0.47	0.25 ± 0.01 b	2.32 ± 0.79		92.3 ± 7.6

注:表中同列相同字母表示在 $p < 0.05$ 水平上差异不显著,下同。

## 2.4 叶绿素荧光动力学参数

方差分析表明:盐肤木幼苗叶绿素荧光动力学参数在不同Pb浓度处理下的差异不显著。初始荧

光 $F_0$ 、最大荧光 $F_m$ 及实时荧光 $F_s$ 值在Pb胁迫下较对照有一定增加, $F_v/F_m$ 值则有一定程度的减少。

表4 不同Pb浓度处理下盐肤木幼苗叶绿素荧光动力学参数

处理浓度/( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	$F_0$	$F_m$	$F_v/F_m$	$F_s$	$\Phi_{PSII}$	$qP$	$NPQ$
0(对照)	227 ± 15	1 308 ± 49	0.826 ± 0.014	258 ± 19	0.769 ± 0.024	0.965 ± 0.018	0.174 ± 0.087
400	236 ± 22	1 329 ± 54	0.822 ± 0.018	268 ± 25	0.761 ± 0.030	0.964 ± 0.023	0.186 ± 0.077
1 000	236 ± 19	1 332 ± 30	0.823 ± 0.014	263 ± 18	0.770 ± 0.011	0.971 ± 0.006	0.168 ± 0.031

## 2.5 Pb胁迫对营养元素吸收的影响

Pb胁迫下,盐肤木幼苗各器官中的N浓度较对照有所增加(图2)。叶片中N浓度随着Pb浓度的增加而增加,特别是高浓度Pb胁迫下,叶片N浓度

较对照增加29.9% ( $p < 0.05$ )。高浓度Pb处理组盐肤木幼苗茎N浓度显著高于其它处理组,为 $10.53 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  ( $p < 0.05$ )。各处理组盐肤木幼苗根系N浓度的差异不显著。

与N相似,盐肤木幼苗各器官中的P和K浓度较对照也有所增加(低浓度处理组根系中K浓度除

外),但各处理茎和根系中K浓度的差异不显著。

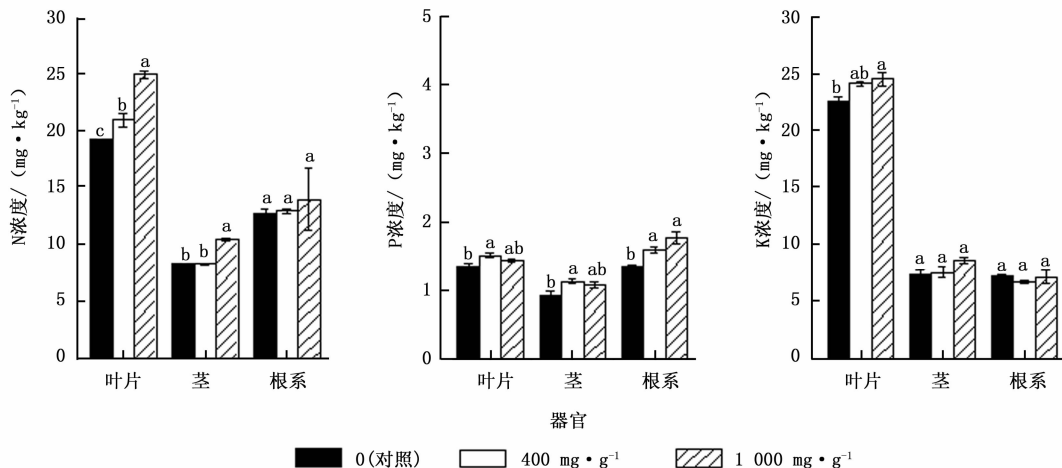


图2 不同Pb浓度处理下盐肤木幼苗各器官中营养元素浓度

### 2.6 盐肤木幼苗中Pb浓度

由图3可知:盐肤木幼苗叶片和茎中Pb浓度随着Pb处理浓度的增加而增加( $p < 0.05$ ),其中,高浓度Pb处理组叶片和茎Pb的浓度分别为17.0、13.5 mg · kg<sup>-1</sup>。低浓度Pb处理组根系的Pb浓度显著高于其它处理组,为38.4 mg · kg<sup>-1</sup>。分析表明:低浓度Pb处理下,盐肤木幼苗对Pb的转移能力较低,其转移系数TF值仅为0.13,而高浓度处理组的TF值较高,为0.66。

### 2.7 根系低分子有机酸浓度

不同浓度Pb胁迫下,盐肤木幼苗根系分泌的低分子有机酸为甲酸、丁二酸(表5),其中,甲酸浓度随着土壤Pb浓度的增加而减小,而丁二酸浓度则随着土壤Pb浓度的增加而增大。同时,在根系分泌物中还检测出丙二酸和草酸,其中,草酸浓度在高浓度

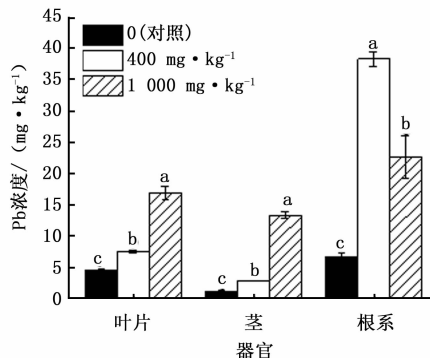


图3 不同Pb浓度处理下盐肤木幼苗各器官中Pb浓度

Pb处理中有显著增加( $p < 0.05$ )。Pb胁迫会诱导盐肤木幼苗根系产生苹果酸和柠檬酸,且浓度随着Pb浓度的增加而增加,特别是高浓度Pb胁迫下柠檬酸浓度显著增加( $p < 0.05$ )。

表5 不同Pb浓度处理下盐肤木幼苗根系低分子有机酸浓度

处理浓度/(mg · kg <sup>-1</sup> )	有机酸浓度/(μg · mL <sup>-1</sup> )					
	草酸	苹果酸	丙二酸	甲酸	柠檬酸	丁二酸
0(对照)	2.42 ± 0.80 b	-	0.89 ± 0.52	43.5 ± 10.80 a	-	25.2 ± 4.88 b
400	3.19 ± 1.68 b	0.77 ± 0.17	0.67 ± 0.17	26.1 ± 8.38 b	0.88 ± 0.31 b	30.6 ± 10.90 b
1 000	7.23 ± 2.65 a	1.11 ± 0.19	1.00 ± 0.64	18.4 ± 2.66 b	2.82 ± 1.01 a	49.3 ± 0.89 a

注:-表示没有检测出。

## 3 结论与讨论

植物修复技术中理想的植物应该生长快,具有较大生物量,有发达根系,能在贫瘠土壤中生长,对过量重金属有较好的耐性,并且在可收获部分能积累大量重金属<sup>[27-28]</sup>。本研究表明:1年生盐肤木容器幼苗能在不同Pb浓度污染土壤中生长,其中,在

低浓度Pb胁迫下,其生物量较对照有一定程度的增加。研究表明,在高浓度重金属胁迫下植物会因生长混乱导致生物量下降<sup>[17]</sup>。在本研究中,盐肤木幼苗在高浓度Pb胁迫下也同样出现生物量下降现象。在项目组前期矿区修复试验中发现,少量客土会提高植物存活率,且植物生长也较正常,因此,本试验中因容器中有少量营养基质也可能间接增加了盐肤

木幼苗对 Pb 的耐性。有研究表明,在重度污染区生长的树木之所以在地上部分没有表现出毒性症状,是因为木本植物根系在污染土壤中会采取避性机制,即根系向较少污染的土壤斑块分配,尽量减少重金属对根系的损伤<sup>[29]</sup>。木本植物根系对重金属的避性机制主要有 2 个方面:形态构型的适应和细胞非原生质体障碍对重金属的限制吸收<sup>[30]</sup>。大量研究表明,重金属胁迫下根系形态变化是植物根系对重金属适应的重要方式,木本植物根系在重金属胁迫下的适应方式与超积累植物不同,树木根系大多倾向于避开污染环境。本研究中对红壤中的盐肤木幼苗根系遍布整个土壤,而污染土壤中栽培的盐肤木幼苗根系仅局限在容器范围,只有少量细根在污染土壤中,表明盐肤木幼苗通过减少根系与污染物的接触范围,以降低污染物对根系的伤害。同时本研究表明,盐肤木根系在 Pb 胁迫下伸长受到抑制,而径向生长受到促进,根系变粗,并促进细根发育,在一定程度上弥补了根系吸收范围缩小,使得根系在有限的接触范围内能更加有效吸收营养物质,这与 Wang 等<sup>[31]</sup>的研究结果相似。盐肤木幼苗在 Pb 胁迫下表现出良好的耐性,其根系形态构型变化可能是其地上部分没有明显毒害症状的原因之一。

尽管有关 Pb 胁迫对植物生理指标影响的研究已经很多,但目前关于 Pb 胁迫下盐肤木生理指标的变化仍不清楚。叶绿素是植物进行光合作用的功能色素,其含量的高低和分配与植物光合功能关系密切。本研究中,盐肤木幼苗叶绿素含量在 Pb 胁迫下较对照有一定程度增加,与生物量的表现一致,表明在 Pb 胁迫下并没有破坏叶绿素酶系统及阻碍叶绿素的合成。盐肤木叶绿素 a/叶绿素 b 的比值为 2.32 ~ 2.34,差异不显著,表明其并没有受到光抑制<sup>[15]</sup>。类胡萝卜素的下降表明重金属胁迫下捕光色素复合体有受伤害的趋势,这与 qP 值的变化一致。作为光抑制和 PS II 复合体受伤的指标  $F_v/F_m$ <sup>[32]</sup>,反映了植物潜在的最大光合能力。当植物受到胁迫时, $F_v/F_m$  会显著下降。试验结果表明,与对照相比,不同浓度 Pb 胁迫下盐肤木幼苗叶片  $F_v/F_m$  值的差异很小,说明在重金属胁迫下,盐肤木幼苗叶片并没有发生光抑制或者 PS II 复合体受损害,这与叶绿素含量的表现一致。光化学淬灭系数(qP)反映 PS II 原初电子受体 QA 的氧化还原状态,较低的 qP,反映 PS II 中开放的反应中心比例和参与 CO<sub>2</sub> 固定的电子减少<sup>[33]</sup>。以往的研究表明,重金属胁迫导

致植物 qP 下降<sup>[15-32]</sup>,本试验中,盐肤木幼苗的 qP 呈现上升趋势,但不显著,反映 QA 氧化状态的增加,可能是因为在重金属胁迫下放氧复合体或捕光色素复合体有受到伤害的趋势,QA 接受电子能力减弱,致使 QA 的还原程度和还原速率也随之下降<sup>[34]</sup>。非光化学淬灭(NPQ)反映了 PS II 反应中心对天线色素吸收过量光能后的热耗散能力,同时也能反映光合系统的损伤程度。盐肤木幼苗 NPQ 值在低浓度 Pb 胁迫下有上升趋势,表明光保护机制起到了一定的作用,这也与生物量的结果相一致。

一般认为膜是重金属伤害位点,MDA 值大小表示植物对逆境条件反应的强弱。本研究中,低浓度 Pb 胁迫下,MDA 值较对照有少量增加,而高浓度下 MDA 值与对照值相似,表明在本试验环境下,盐肤木幼苗并没有出现严重的膜脂过氧化,表现出对 Pb 有较好的耐性。

Pb 的生物有效性较低,因此大部分树木根系对 Pb 的富集有限且所吸收的 Pb 大部分被局限于根系组织,只有较少一部分向地上部组织运输并积累。本研究表明,盐肤木幼苗对 Pb 的吸收积累也遵循类似规律:根系 > 叶片 > 茎,且随着土壤中 Pb 浓度的增加植株组织中积累的浓度也显著增加(根系除外)。通过对根系分泌物中低分子有机酸分析可知,Pb 胁迫会诱导产生苹果酸和柠檬酸,且浓度随着 Pb 浓度的增加而增加,特别是高浓度 Pb 胁迫下柠檬酸浓度显著增加;同时在高浓度 Pb 胁迫下,草酸浓度也显著增加。以往的研究表明,草酸、柠檬酸、苹果酸等在重金属螯合、营养元素溶解以及根际酸化方面有重要作用<sup>[4]</sup>。这表明在高浓度 Pb 胁迫下盐肤木幼苗根系分泌物中的柠檬酸可能促进 Pb 从根系向地上部分的转运,从而使其有较高的 Pb 转移能力,同时也可能是 Pb 处理组植株组织中营养元素浓度较高的原因。在前期的矿区试验中,盐肤木同样具有较好的 Pb 转移能力,因此,可通过地上枝叶的反复收割和处理在污染土壤修复中发挥作用。

## 参考文献:

- [1] Soodan R K, Pakade Y B, Nagpal A, *et al.* Analytical techniques for estimation of heavy metals in soil ecosystem: A tabulated review [J]. *Talanta*, 2014, 125: 405 - 410.
- [2] Bolan N, Kunhikrishnan A, Thangarajan R, *et al.* Remediation of heavy metal(loid)s contaminated soils; To mobilize or to immobilize? [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2014, 266:141 - 166.
- [3] Sharma P, Dubey R S. Lead toxicity in plants[J]. *Brazilian Journal*

- of Plant Physiology, 2005, 17(1): 35–52.
- [4] 段德超,于明革,施积炎. 植物对铅的吸收、转运、累积和解毒机制研究进展[J]. 应用生态学报, 2014, 25(1): 287–296.
- [5] Uzu G, Sobanska S, Aliouane Y, et al. Study of lead phytoavailability for atmospheric industrial micronic and sub-micronic particles in relation with lead speciation [J]. Environmental Pollution, 2009, 157(4): 1178–1185.
- [6] Punamiya P, Datta R, Sarkar D, et al. Symbiotic role of *Glomus mosseae* in phytoextraction of lead in vetiver grass [*Chrysopogon zizanioides* (L.)] [J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 177(1–3): 465–474.
- [7] Wang H H, Shan X Q, Wen B, et al. Effect of indole-3-acetic acid on lead accumulation in maize (*Zea mays* L.) seedlings and the relevant antioxidant response [J]. Environmental and Experimental Botany, 2007, 61(3): 246–253.
- [8] Wojas S, Ruszczyńska A, Bulska E, et al.  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent plant response to  $\text{Pb}^{2+}$  is regulated by *LCT1* [J]. Environmental Pollution, 2007, 147(3): 584–592.
- [9] Sahi S V, Bryant N L, Sharma N C, et al. Characterization of a lead hyperaccumulator shrub, *Sesbania drummondii* [J]. Environmental Science & Technology, 2002, 36(21): 4676–4680.
- [10] Tian S K, Lu L L, Yang X E, et al. Spatial imaging and speciation of lead in the accumulator plant *Sedum alfredii* by microscopically focused synchrotron X-ray investigation [J]. Environmental Science & Technology, 2010, 44(15): 5920–5926.
- [11] Meyers D E R, Auchterlonie G J, Webb R I, et al. Uptake and localisation of lead in the root system of *Brassica juncea* [J]. Environmental Pollution, 2008, 153(2): 323–332.
- [12] Kopittke P M, Asher C J, Kopittke R A, et al. Toxic effects of  $\text{Pb}^{2+}$  on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*) [J]. Environmental Pollution, 2007, 150(2): 280–287.
- [13] Tang Y T, Qiu R L, Zeng X W, et al. Lead, zinc cadmium accumulation and growth simulation in *Arabidopsis paniculata* Franch [J]. Environmental and Experimental Botany, 2009, 66(1): 126–134.
- [14] Strycharz S, Newman L. Use of native plants for remediation of trichloroethylene; I. Deciduous trees [J]. International Journal of Phytoremediation, 2009, 11(2): 150–170.
- [15] Baccio D D, Castagna A, Tognetti R, et al. Early responses to cadmium of two poplar clones that differ in stress tolerance [J]. Journal of Plant Physiology, 2014, 171(18): 1693–1705.
- [16] Evlard A, Sergeant K, Printz B, et al. A multiple-level study of metal tolerance in *Salix fragilis* and *Salix aurita* clones [J]. Journal of Proteomics, 2014, 101: 113–129.
- [17] de Souza S C R, de Andrade S A L, de Souza L A, et al. Lead tolerance and phytoremediation potential of Brazilian leguminous tree species at the seedling stage [J]. Journal of Environmental Management, 2012, 110: 299–307.
- [18] Rascio N, Navari-Izzo F. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? [J]. Plant Science, 2011, 180(2): 169–181.
- [19] Bhargava A, Carmona F F, Bhargava M, et al. Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals [J]. Journal of Environmental Management, 2012, 105: 103–120.
- [20] Shu W S, Ye Z H, Zhang Z Q, et al. Natural colonization of plants on five lead/zinc mine tailings in southern China [J]. Restoration Ecology, 2005, 13(1): 49–60.
- [21] Lowther J R. Use of a single sulphuric acid-hydrogen peroxide digest for the analysis of *Pinus radiata* needles [J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 1980, 11(2): 175–188.
- [22] Mukherjee S K, Asanuma S. Possible role of cellular phosphate pool and subsequent accumulation of inorganic phosphate on the aluminum tolerance in *Bradyrhizobium japonicum* [J]. Soil Biology & Biochemistry, 1998, 30(12): 1511–1516.
- [23] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 46–109
- [24] Lichtenthaler F W, Cuny E, Weprek S. Eine einfache und leistungsfähige synthese acylierter glycosylbromide aus hydroxyglycal-estern [J]. Angewandte Chemie, 1983, 95(11): 906–908
- [25] Aravind P, Prasad M N V. Zinc alleviates cadmium-induced oxidative stress in *Ceratophyllum demersum* L.: a free floating freshwater macrophyte [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2003, 41(4): 391–397.
- [26] 乔冬梅. 基于黑麦草根分泌有机酸的铅污染修复机理研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2010.
- [27] Pérez-Esteban J, Escolástico C, Ruiz-Fernández J, et al. Bioavailability and extraction of heavy metals from contaminated soil by *Atriplex halimus* [J]. Environmental and Experimental Botany, 2013, 88: 53–59.
- [28] Pottier M, García de la Torre VS, Victor C, et al. Genotypic variations in the dynamics of metal concentrations in poplar leaves: A field study with a perspective on phytoremediation [J]. Environmental Pollution, 2015, 199: 72–83.
- [29] Keller C, Hammer D, Kayser A, et al. Root development and heavy metal phytoextraction efficiency: comparison of different plant species in the field [J]. Plant and Soil, 2003, 249(1): 67–81.
- [30] 王树凤. 柳树对重金属铅、镉响应的基因型差异及其耐性机制研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [31] Wang S F, Shi X, Sun H J, et al. Variations in metal tolerance and accumulation in three hydroponically cultivated varieties of *Salix integra* treated with lead [J]. PLoS One, 2014, 9(9): e108568
- [32] Kumar A, Prasad M N V. Lead-induced toxicity and interference in chlorophyll fluorescence in *Talinum triangulare* grown hydroponically [J]. Photosynthetica, 2015, 53(1): 66–71.
- [33] 胡筑兵, 陈亚华, 王桂萍, 等. 铜胁迫对玉米幼苗生长、叶绿素荧光参数和抗氧化酶 [J]. 植物学通报, 2006, 23(2): 129–137.
- [34] 万雪琴, 张帆, 夏新莉, 等. 镉处理对杨树光合作用及叶绿素荧光参数的影响 [J]. 林业科学, 2008, 44(6): 73–78.