

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201411026

杨志娟,陈银萍,苏向楠,等. 外源 NO 对铅胁迫下三叶鬼针草幼苗活性氧代谢的影响[J]. 广西植物,2015,35(5):648—655

Yang ZJ, Chen YP, Su XN, et al. Effects of exogenous NO on reactive oxygen metabolism of *Bidens pilosa* seedlings under lead stress[J]. *Guihaia*, 2015, 35(5):648—655

外源 NO 对铅胁迫下三叶鬼针草幼苗活性氧代谢的影响

杨志娟, 陈银萍*, 苏向楠, 郑 怡, 蘧苗苗, 子 轩

(兰州交通大学 环境与市政工程学院, 兰州 730070)

摘 要: 铅(Pb)是已知毒性最强的重金属污染源之一,一氧化氮(NO)是一种普遍存在于生物界的信使分子,广泛参与植物对 Pb 胁迫的应答反应调控,而三叶鬼针草(*Bidens pilosa*)是修复 Pb 污染的重要种质资源。为了进一步探明 NO 在植物 Pb 胁迫响应中的作用及机理,增强三叶鬼针草对 Pb 污染土壤的耐性以及更好地应用于 Pb 污染土壤的修复。该研究以培养 60 d 的三叶鬼针草幼苗为材料,用不同浓度 NO 供体硝普钠(SNP)预处理,测定 600 $\mu\text{mol/L}$ 硝酸铅胁迫处理第 3 天三叶鬼针草叶、茎和根的膜质过氧化、抗氧化酶系统和渗透调节物质含量等指标,分析外源 NO 对铅胁迫下三叶鬼针草活性氧代谢的影响。结果表明:300 $\mu\text{mol/L}$ SNP 能显著降低铅胁迫下三叶鬼针草相对电导率(REC)、丙二醛(MDA)、过氧化氢(H_2O_2)含量以及超氧阴离子($\text{O}_2^{\cdot-}$)产生速率;能显著促进脯氨酸(Pro)、可溶性蛋白(SP)、类胡萝卜素(Car)的合成;和不同浓度 SNP 对三叶鬼针草叶、茎和根中抗氧化酶活性的影响较复杂,其中 200 $\mu\text{mol/L}$ SNP 能显著增强叶和茎中抗坏血酸氧化酶(APX)活性、茎中谷胱甘肽还原酶(GR)活性,300 $\mu\text{mol/L}$ SNP 能显著增强叶中过氧化物酶(POD)活性,1 000 $\mu\text{mol/L}$ SNP 能显著增强茎和根中过氧化氢酶(CAT)活性和叶中超氧化物歧化酶(SOD)活性。综上所述,适宜浓度 NO 可以通过启动抗氧化系统,增加渗透调节物质含量和调节抗氧化酶活性,从而有效保护三叶鬼针草膜系统稳定性,缓解 Pb 胁迫伤害。因此,适宜浓度 NO 可以增强三叶鬼针草对 Pb 污染土壤的耐性,其在三叶鬼针草修复 Pb 污染土壤中具有较好的应用价值。

关键词: 一氧化氮(NO); 三叶鬼针草; 膜质过氧化; 抗氧化酶系统; 渗透调节物质**中图分类号:** Q945.79 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2015)05-0648-08

Effects of exogenous NO on reactive oxygen metabolism of *Bidens pilosa* seedlings under lead stress

YANG Zhi-Juan, CHEN Yin-Ping*, SU Xiang-Nan,
ZHENG Yi, QU Miao-Miao, ZI-Xuan

(School of Environmental and Municipal Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Lead (Pb) is an important pollution source of heavy metals. Exogenous nitric oxide (NO) is a common signal molecule in biology regulating plant growth and it has been shown that it participate in all kinds of plant responses to Pb stress. *Bidens pilosa* is an ideal germplasm resource repairing soils contaminated by Pb. The effects of NO on the membrane lipid peroxidation, osmotic regulation substances, antioxidant enzyme activities and active oxygen metabolism in leaves, stems and roots of *B. pilosa* seedlings under Pb (600 $\mu\text{mol/L}$ lead nitrate) stress for 3 d were

收稿日期: 2014-12-19 修回日期: 2015-03-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(31260089, 31170413)

作者简介: 杨志娟(1990-),女,甘肃白银人,硕士研究生,主要研究方向为环境生态学, (E-mail)1343178358@qq.com。

*通讯作者: 陈银萍,博士,教授,主要研究方向为环境生态学, (E-mail)yinpch@mail.lzjtu.cn。

studied by determining relative electrical conductivity (REC), contents of malondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide (H_2O_2), superoxide anion ($O_2^- \cdot$) generating rate, contents of proline (Pro), soluble protein (SP), carotenoid (Car), activities of ascorbic acid peroxidase (APX), glutathione reductase (GR), peroxidase (POD), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) in the leaves, stems and roots of sixty-day-old seedlings of *B. pilosa* pretreated with different concentrations of sodium nitroprusside (SNP) as an exogenous NO donor to explore the role and mechanism of NO in plant under Pb stress, to enhance *B. pilosa* resistance to Pb and its better application in phytoremediation of Pb contaminated soil. The results indicated: 50–400 $\mu\text{mol/L}$ SNP remarkably reduced REC, contents of MDA, H_2O_2 and $O_2^- \cdot$ generating rate, while 500–1 000 $\mu\text{mol/L}$ SNP remarkably increased REC, contents of MDA, H_2O_2 and $O_2^- \cdot$ generating rate, of which protection of the membrane system stability 300 $\mu\text{mol/L}$ SNP treatment on *B. pilosa* seedlings under Pb stress was the most remarkable. Moreover 300 $\mu\text{mol/L}$ SNP significantly promoted the synthesis of Pro, SP and Car. The effects of SNP on activities of antioxidant enzymes in leaves, stems and roots of *B. pilosa* seedlings was complex. And 200 $\mu\text{mol/L}$ SNP significantly enhanced activities of APX in leaves and stems and GR in stems, 300 $\mu\text{mol/L}$ SNP significantly enhanced activities of POD in leaves, and 1 000 $\mu\text{mol/L}$ SNP significantly enhanced activities of CAT in stems and roots and SOD in leaves. It was shown that appropriate concentration of exogenous NO could increase the contents of osmotic regulation substances and regulate activities of antioxidant enzymes to effectively protect the membrane system stability and alleviate the harm of Pb stress on *B. pilosa* seedlings. Exogenous nitric oxide could reduce the harm of Pb stress on *B. pilosa* seedlings because that nitric oxide SNP produced could directly react with reactive oxygen species (ROS) *B. pilosa* seedlings produced under Pb stress to reduce the harm of the membrane system, NO also could indirectly adjust the antioxidant enzyme system to reduce the oxidative damage caused by Pb stress; moreover it was because that the SNP could ease Pb stress of *B. pilosa* seedlings by increasing contents of osmotic regulation substances which could regulate, protect and scavenge ROS and stimulate the growth of plant. But the effects of exogenous NO had two sides, namely the low concentration eased and the high damaged, of which mitigation effects of 300 $\mu\text{mol/L}$ SNP treatment on *B. pilosa* seedlings under Pb stress was the most remarkable. Those results suggested that appropriate concentration of NO could enhance *B. pilosa* resistance to Pb and NO had well prospect in phytoremediation of Pb contaminated soil with *B. pilosa* seedlings.

Key words: nitric oxide(NO); *Bidens pilosa*; membrane lipid peroxidation; antioxidant enzyme system; osmotic regulation substances

随着全球人口快速膨胀、工农业生产迅速发展,致使大量重金属排放。重金属具有隐蔽性强、半衰期长、毒性大、难清除和易生物放大进入食物链危害人类健康等特点,因此重金属污染成为全球生态环境最大的威胁之一(Xu *et al.*, 2014)。铅(Pb)矿产资源开采、金属冶炼、燃料生产等使 Pb 通过多种途径进入土壤环境(张富运等, 2012)。这不仅降低了农作物的产量和品质,而且还通过食物链影响人类的健康(段德超等, 2014)。因此,探讨植物 Pb 胁迫的解毒机理对农业的可持续发展具有重要意义。

一氧化氮(NO)是一种新的植物生长调节信号分子,广泛参与植物各种生理过程的调节,尤其在植物生长发育(Xiong *et al.*, 2009)、其对于干旱胁迫(陈银萍等, 2010)、热胁迫(Song *et al.*, 2008)、盐胁迫(Zheng *et al.*, 2009)及强光胁迫(Xu *et al.*, 2010)等逆境响应中起着重要作用。NO 也参与植物对各种

重金属胁迫的信号应答。硝普钠(sodium nitroprusside, SNP, 一种外源 NO 供体)预处理能减轻 Cd、Pb 胁迫对羽扇豆(*Lupinus micranthus*)根生长的抑制作用(Kopyra *et al.*, 2003),能缓解 Cd 对水稻(*Oryza sativa*)(Prerna *et al.*, 2014)和 Mn 对甘菊(*Matricaria chamomilla*)的伤害(Jozef *et al.*, 2014),NO 可以很快地消除由胁迫引起的超氧阴离子以及脂质自由基,使能够对植物产生损害作用的 ROS 过程减缓,进而促使抗氧化系统迅速启动,缓解重金属胁迫对植物造成的危害,提高植物抗性。

三叶鬼针草(*Bidens pilosa*)是我国东北、华北、华东、西南等地区主要的农田杂草,其抗逆能力强,具有较强的争光、争水和争肥能力,已有研究结果表明其生物量大,根系发达,具有富集 Cd(魏树和等, 2008)和 Pb(谌金吾, 2013)的能力,是修复重金属污染土壤较理想的种质资源(孙约兵等, 2009)。目前,

对于三叶鬼针草的研究主要集中在各种环境因子对其种子萌发率(严文斌等,2012)、生长(潘玉梅等,2012)的影响以及其对 Cd、Pb 污染水体的修复潜能(谌金吾,2013)等方面。而关于外源 NO 对三叶鬼针草 Pb 胁迫的缓解作用及机制研究尚未见有报道。本研究以三叶鬼针草幼苗为研究材料,通过分析外源 NO 对 Pb 胁迫下三叶鬼针草幼苗叶、茎和根抗氧化系统和细胞膜损坏的影响,旨在分析外源 NO 在缓解 Pb 胁迫对三叶鬼针草幼苗生长损害的机理和作用,为探索重金属 Pb 胁迫下三叶鬼针草的损伤、诱发防卫机制及三叶鬼针草用于修复重金属污染土壤等方面提供一定的科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材料、试剂

三叶鬼针草种子购自泰山野菜种植基地。NO 供体 硝普钠(亚硝基铁氰化钠, Sodium nitroprusside, SNP, 购自 Sigma 公司), 现用现配, 通常 0.15 mmol/L SNP 可以产生小于 0.2 $\mu\text{mol/L}$ 的 NO(凌腾芳等,2006)。

1.2 实验设计

选取均匀、饱满的三叶鬼针草种子,将其浸泡在 1% KMnO_4 溶液中 10 min,用蒸馏水冲洗干净,取出种子晾干后播种以提高种子的发芽率和抗病性。将处理后的三叶鬼针草种子以混合土(蛭石和营养土 1:2)为栽培介质,种植于高度和口径分别为 15 cm 和 20 cm 的塑料花盆中,在室外小型温棚中培养,用 1/2 浓度的 Hoagland 营养液每天浇灌。培养 60 d 左右,待三叶鬼针草幼苗长出 6 片真叶后选择长势一致、状态良好的幼苗,将其全部小心地移植到塑料网杯中,于培养皿中用 1/2 浓度营养液培养 2~3 d,每天更换营养液。以含有 600 $\mu\text{mol/L}$ 的硝酸铅模拟 Pb 胁迫,以 Hoagland 营养液为基础培养液,分别添加 SNP 至最终浓度为 0、50、100、200、300、400、500、1 000 $\mu\text{mol/L}$,以浇 30 mL Hoagland 营养液为对照(CK),共 9 个处理(CK、0+Pb、50+Pb、100+Pb、200+Pb、300+Pb、400+Pb、500+Pb、1 000+Pb),每处理设 3 个重复。水培 3 d 后,分别取叶、茎和根测定相关指标。

1.3 测定方法

REC、 H_2O_2 的含量和 O_2^- 产生速率按李玲等(2009)的方法测定,MDA、Pro、Car 和 SP 含量按李

合生等(2003)的方法测定,SOD、CAT、POD、APX 和 GR 活性按李忠光等(2002)的方法测定。

1.4 数据统计分析

采用 STATISTIC 和 EXCEL 软件进行数据处理和制图。不同处理组间的比较用单因素方差分析,多重比较用 Duncan 法。

2 结果与分析

2.1 外源 NO 对 Pb 胁迫下三叶鬼针草膜质过氧化的影响

Pb 胁迫下三叶鬼针草幼苗 REC 显著升高($P < 0.001$),叶、茎和根 REC 分别比对照升高了 18.33%、62.73%和 78.39%。50 $\mu\text{mol/L}$ SNP 使三叶鬼针草幼苗 REC 极显著降低($P < 0.001$),与 Pb 胁迫而未施 SNP 处理相比,叶、茎和根 REC 分别降低了 12.96%、18.37%和 30.14%,其余处理随 SNP 浓度升高,三叶鬼针草幼苗 REC 不断升高,其中 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 处理使 REC 升高最显著($P < 0.001$),与 Pb 胁迫而未施 SNP 处理相比,叶、茎和根 REC 分别增加了 35.59%、148.42%和 76.92%(图 1:A)。

Pb 胁迫下,三叶鬼针草幼苗 MDA 含量显著增加($P < 0.001$),叶、茎和根 MDA 含量分别比对照增加了 16.58%、155.50%和 26.48%($P < 0.001$)。低浓度 SNP 使三叶鬼针草幼苗 MDA 含量显著降低,其中 300 $\mu\text{mol/L}$ SNP 使 MDA 含量降低极为显著($P < 0.001$),与 Pb 胁迫而未施 SNP 处理相比,叶、茎和根 MDA 含量分别降低了 13.34%、39.34%和 65.61%。500~1 000 $\mu\text{mol/L}$ SNP 使 MDA 含量升高,其中 1 000 $\mu\text{mol/L}$ SNP 使 MDA 含量升高最显著($P < 0.001$),与 Pb 胁迫而未施 SNP 处理相比,叶升高了 16.71%,茎和根分别降低了 8.45%和 55.24%(图 1:B)。

Pb 胁迫下,三叶鬼针草幼苗 O_2^- 产生速率显著升高($P < 0.001$),叶、茎和根 O_2^- 产生速率分别比对照升高 63.47%、93.42%和 1.56%。经不同浓度 SNP 处理后,Pb 胁迫下三叶鬼针草 O_2^- 产生速率均有所降低,其中 300 $\mu\text{mol/L}$ SNP 使 O_2^- 产生速率降低最显著($P < 0.001$),与 Pb 胁迫而未施 SNP 处理相比,叶、茎和根 O_2^- 产生速率分别降低了 59.69%、27.64%和 64.11%(图 1:C)。

Pb 胁迫下,三叶鬼针草幼苗 H_2O_2 含量显著升

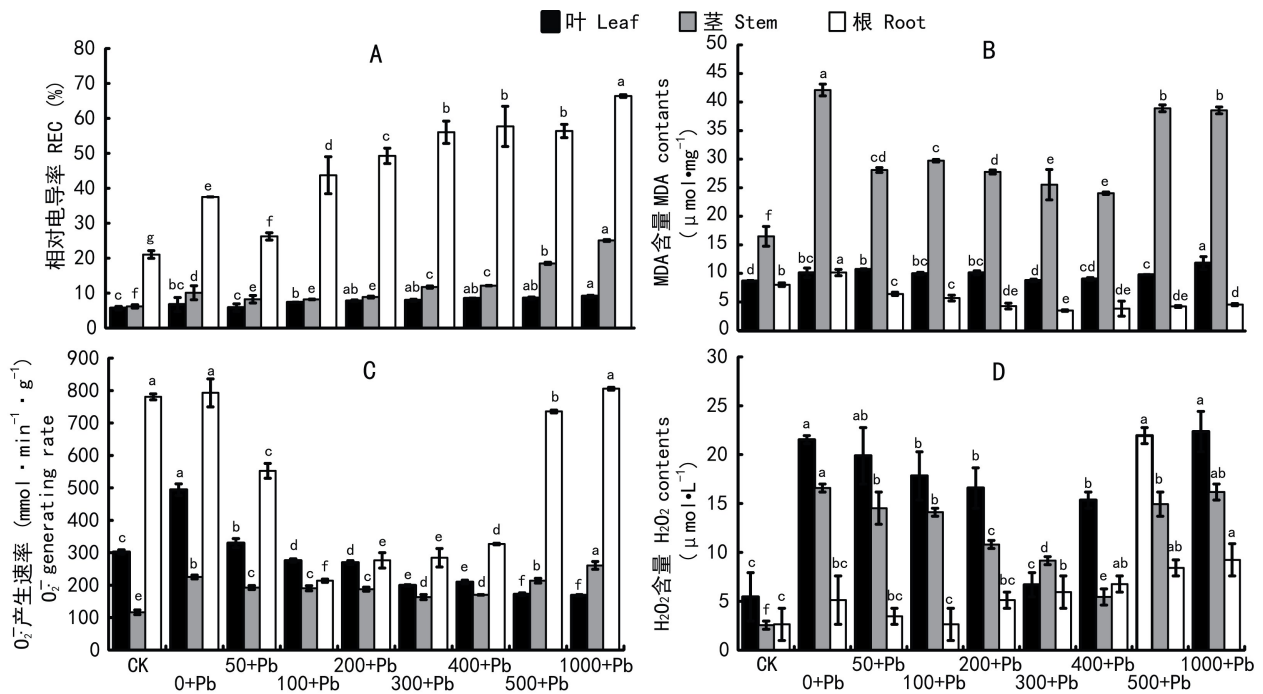


图 1 外源 NO 对铅胁迫下三叶鬼针草幼苗 REC(A)、MDA 含量(B)、产生速率(C)和 H_2O_2 含量(D)的影响 不同小写字母表示差异显著($P < 0.001$)。下同。

Fig. 1 Effects of NO on REC(A), MDA contents(B), generating rate(C) and H_2O_2 contents (D) in the *Bidens pilosa* seedlings under Pb stress Different small letters mean significant differences($P < 0.001$). The same below.

高($P < 0.001$),叶、茎和根中 H_2O_2 含量分别比对照升高 295.45%、548.38%和 93.75%。低浓度 SNP 使 Pb 胁迫下三叶鬼针草 H_2O_2 含量极显著降低($P < 0.001$),其中 300 $\mu\text{mol/L}$ SNP 使 H_2O_2 含量降低最显著($P < 0.001$),较 Pb 胁迫而未施 SNP 处理叶和茎中 H_2O_2 含量分别降低了 68.96%和 44.77%,100 $\mu\text{mol/L}$ SNP 使根中 H_2O_2 含量较 Pb 胁迫而未施 SNP 处理降低 48.38%;高浓度 SNP 使 H_2O_2 含量显著增加,其中 1 000 $\mu\text{mol/L}$ SNP 使 H_2O_2 含量增加极显著($P < 0.001$),叶和根 H_2O_2 含量较 Pb 胁迫而未施 SNP 处理分别增加了 3.83%和 80.64%,茎 H_2O_2 含量降低了 2.48%(图 1:D)。

2.2 外源 NO 对 Pb 胁迫下三叶鬼针草抗氧化酶系统的影响

Pb 胁迫下,三叶鬼针草幼苗中 CAT 活性显著升高($P < 0.001$),叶、茎和根中 CAT 活性分别比对照升高了 38.88%、7.14%和 1.25%。Pb 胁迫下,50 和 100 $\mu\text{mol/L}$ SNP 使三叶鬼针草茎中 CAT 活性显著降低($P < 0.001$),其余 SNP 处理使茎中 CAT 活性极显著升高($P < 0.001$),200、300、400、500、1 000 $\mu\text{mol/L}$ SNP 分别比 Pb 胁迫而未施 SNP 处

理升高了 30.00%、40.00%、50.50%、50.00%和 53.33%;50 $\mu\text{mol/L}$ SNP 使根中 CAT 活性显著降低($P < 0.001$),其余 SNP 处理使根中 CAT 活性极显著升高($P < 0.001$),100、200、300、400、500、1 000 $\mu\text{mol/L}$ SNP 分别比 Pb 胁迫而未施 SNP 处理升高了 7.40%、8.64%、14.81%、18.51%、25.92%和 33.33%;叶中 CAT 活性随 SNP 浓度增大呈先降后升的趋势,其中 500 和 1 000 $\mu\text{mol/L}$ SNP 使叶中 CAT 活性显著升高($P < 0.001$),较 Pb 胁迫而未施 SNP 处理升高了 4.00%和 7.20%($P < 0.001$)(图 2:A)。

Pb 胁迫下,三叶鬼针草幼苗 APX 活性显著升高($P < 0.001$),叶、茎和根中 APX 活性分别比对照增加了 5.22%、17.54%和 177.64%。低浓度 SNP 使三叶鬼针草叶和茎中 APX 活性显著升高,其中 200 $\mu\text{mol/L}$ SNP 使叶和茎中 APX 活性极显著升高($P < 0.001$),较 Pb 胁迫而未施 SNP 处理分别升高了 35.68%和 236.82%;根中 APX 活性随 SNP 浓度的升高呈先降后升的趋势;400~1 000 $\mu\text{mol/L}$ SNP 使三叶鬼针草叶中 APX 活性较 Pb 胁迫而未施 SNP 处理极显著降低($P < 0.001$),茎和根中 APX 活性极显著升高($P < 0.001$),其中 1 000 $\mu\text{mol/L}$

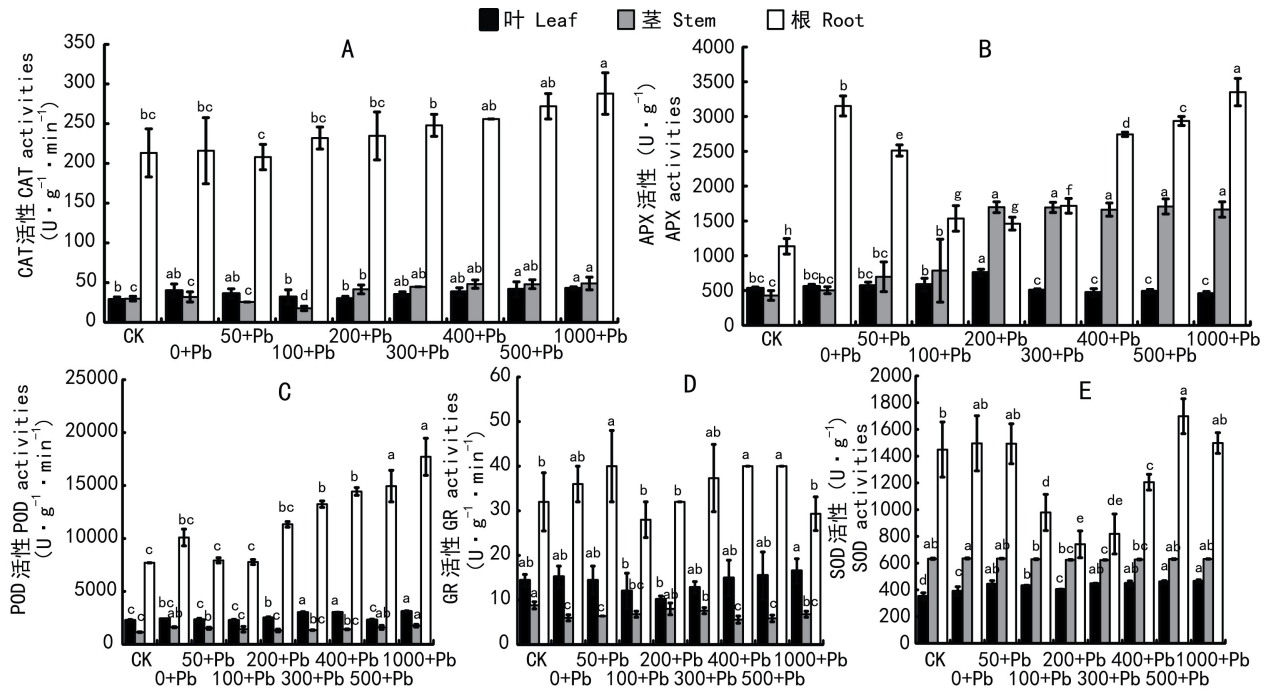


图2 外源NO对铅胁迫下三叶鬼针草幼苗GR(A)、POD(B)、APX(C)、CAT(D)和SOD(E)活性的影响
Fig. 2 Effects of NO on activities of GR (A), POD (B), APX (C), CAT (D) and SOD (E)
in the *Bidens pilosa* seedlings under Pb stress

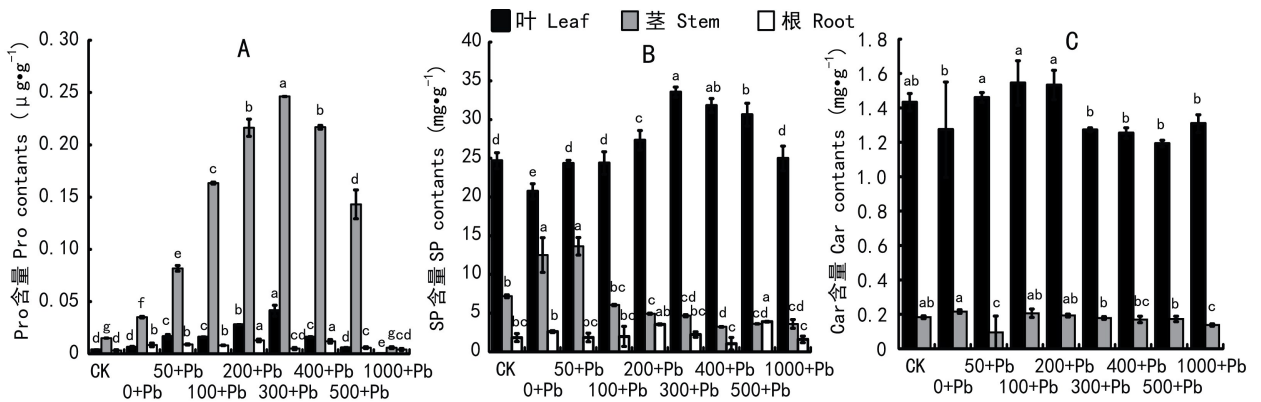


图3 外源NO对铅胁迫下三叶鬼针草幼苗Pro(A)、SP(B)和Car(C)含量的影响
Fig. 3 Effects of NO on Pro(A), SP (B) and Car (C) contents in the *Bidens pilosa* seedlings under Pb stress

SNP使茎和根中APX活性显著升高($P < 0.001$),较Pb胁迫而未施SNP处理分别升高了230.15%和6.34%(图2:B)。

Pb胁迫下,三叶鬼针草幼苗叶、茎和根POD活性分别比对照升高了6.74%,40.59%和30.94%($P < 0.001$)。Pb胁迫下,三叶鬼针草幼苗叶中POD活性随SNP浓度的增大呈先升后降的趋势,其中300 $\mu\text{mol/L}$ SNP使叶中POD活性显著升高($P < 0.001$),较Pb胁迫而未施SNP处理升高了24.40%,茎和根中POD活性随SNP浓度的增大呈

现先降后升的趋势(图2:C)。

Pb胁迫下,三叶鬼针草幼苗叶和根中GR活性升高,分别比对照增加了5.55%和12.50%,茎中GR活性显著降低($P < 0.001$),比对照降低1.81%。经不同浓度SNP处理后,叶中GR活性随SNP浓度升高呈先降后升的趋势($P > 0.05$);茎中GR活性随SNP浓度升高呈先升后降的趋势,其中200 $\mu\text{mol/L}$ SNP使茎中GR活性极显著升高($P < 0.001$),较Pb胁迫而未施SNP处理升高了33.33%;50、300、400、500 $\mu\text{mol/L}$ SNP使根中GR

活性极显著升高 ($P < 0.001$), 较 Pb 胁迫而未施 SNP 处理分别升高了 11.11%、3.71%、11.11% 和 11.11% (图 2:D)。

Pb 胁迫下, 三叶鬼针草幼苗 SOD 活性显著升高 ($P < 0.001$), 叶、茎和根中分别比对照升高了 10.81%、0.34% 和 3.23%。Pb 胁迫下, 50、100、200、300、400、500 和 1 000 $\mu\text{mol/L}$ SNP 使叶中 SOD 活性较 Pb 胁迫而未施 SNP 处理分别升高了 13.70%、10.66%、3.55%、14.43%、15.06%、17.99% 和 19.45%; 茎和根中 SOD 活性随 SNP 浓度增大呈现先降后升的趋势, 其中 500 和 1 000 $\mu\text{mol/L}$ SNP 使根中的 SOD 活性极显著升高 ($P < 0.001$), 较 Pb 胁迫而未施 SNP 处理分别升高了 13.56% 和 0.14% (图 2:E)。

2.3 外源 NO 对 Pb 胁迫下三叶鬼针草渗透调节物质的影响

Pb 胁迫下, 三叶鬼针草叶中 Pro、SP 和 Car 含量均略有降低, 根和茎中略有升高。经不同浓度 SNP 处理后, 随 SNP 浓度增大呈先升后降的趋势, 其中 300 $\mu\text{mol/L}$ SNP 使 Pro 含量极显著升高 ($P < 0.001$), 与 Pb 胁迫而未施 SNP 处理相比, 叶和茎中 Pro 含量分别增加 569.40% 和 601.59% (图 3:A)。低浓度 SNP 使叶和根中 SP 含量显著升高 ($P < 0.001$), 其中 200 $\mu\text{mol/L}$ SNP 使根中 SP 含量较 Pb 胁迫而未施 SNP 处理升高了 35.38% ($P < 0.001$), 300 $\mu\text{mol/L}$ SNP 使叶中 SP 含量较 Pb 胁迫而未施 SNP 处理增加了 61.75% ($P < 0.001$), 400~1 000 $\mu\text{mol/L}$ SNP 均使 Pb 胁迫下三叶鬼针草幼苗 SP 含量显著降低 ($P < 0.001$) (图 3:B); 50、100、200 $\mu\text{mol/L}$ SNP 分别使三叶鬼针草叶中 Car 含量较 Pb 胁迫而未施 SNP 处理升高了 14.63%、21.31%、20.33% ($P < 0.001$) (图 3:C)。

3 讨论

Pb 是已知毒性最强的重金属污染物之一, 具有极强的累积性和不可逆性。刘延盛等 (2007) 发现 Pb 胁迫诱导豌豆幼苗体内活性氧积累, 从而对叶绿体和线粒体等细胞器结构造成破坏, 最终影响植物的光合作用和呼吸作用等正常进行; Pb 胁迫使高羊茅根部 MDA 含量、质膜透性和铅含量均升高 (张远斌等, 2009)。本研究中 Pb 胁迫导致三叶鬼针草幼苗叶、茎和根的 REC、MDA、 H_2O_2 含量和 O_2^- 产生

速率显著升高, 造成幼苗严重膜脂过氧化损伤。王全辉等 (2012) 报道 50~200 $\mu\text{mol/L}$ SNP 处理能明显降低铜、铅、镉胁迫下黑麦草中 H_2O_2 、MDA 含量和 O_2^- 产生速率。本研究中 50~400 $\mu\text{mol/L}$ SNP 使三叶鬼针草幼苗叶、茎和根 REC、MDA、 H_2O_2 含量和 O_2^- 产生速率显著降低, 而 500~1 000 $\mu\text{mol/L}$ SNP 说明适宜浓度 SNP 在 Pb 胁迫三叶鬼针草幼苗的过程中能显著缓解细胞膜的损伤, 特别是 300 $\mu\text{mol/L}$ SNP 处理时对三叶鬼针草幼苗细胞膜的保护效果最为显著。

抗氧化酶系统是植物抵抗胁迫氧化防御的关键组成部分, 本研究中 Pb 胁迫下, 三叶鬼针草幼苗中 SOD、CAT、APX、GR、POD 活性显著升高, 这可能与抗氧化酶参与 Pb 胁迫的抵抗有关。NO 可以调节抗氧化酶系统来缓解氧化损伤 (Suna *et al.*, 2007), 魏学玲等 (2011) 报道 25 和 100 $\mu\text{mol/L}$ SNP 诱导 Pb 胁迫下小麦幼苗叶中 CAT 活性增强。本研究中不同浓度 SNP 对三叶鬼针草叶、茎和根中各种抗氧化酶活性的影响不尽相同, 其中 100 $\mu\text{mol/L}$ SNP 使三叶鬼针草幼苗根中 POD 活性显著降低, 而 300 $\mu\text{mol/L}$ SNP 显著增强叶中 POD 活性; 200 $\mu\text{mol/L}$ SNP 显著增强叶和茎中 APX 活性、茎中 GR 活性, 而使根中 APX 活性、茎和根中 SOD 活性, 叶中 CAT 活性和茎中 POD 活性显著降低; 1 000 $\mu\text{mol/L}$ SNP 处理能显著增强三叶鬼针草茎和根中 CAT 活性和叶中 SOD 活性, 这种差异可能与植物的器官及酶的种类有关。Boveris *et al.* (2000) 报道 NO 在各种胁迫反应中作为抗氧化剂和活性氧中间体 (ROS) 相互作用调节超氧化物的形成, 抑制脂类的过氧化, NO 也可以间接促进抗氧化酶活性来抑制膜质过氧化程度。本研究表明, 各种酶类的降低可能与 NO 作为抗氧化剂可直接与 ROS 反应清除活性氧有关, 适宜浓度的 SNP 产生的 NO 与 ROS 反应使活性氧浓度降低, 而抗氧化酶和 ROS 是相互作用的, 一方面 ROS 的增加可以诱导抗氧化酶活性, 另一方面抗氧化酶活性的增加也可以降低 ROS 含量从而达到一个动态平衡 (赵宝泉等, 2010)。本研究还表明, 本实验中高浓度 SNP 促进相应酶类的活性, 可能随 SNP 浓度的升高, 产生过多的 NO 与 ROS 反应产生毒性更强的氧化物如过氧化亚硝酸 (ONOO^-), 对细胞膜的损伤程度更大, 从而激发了抗氧化酶系统。

100 $\mu\text{mol/L}$ SNP 处理明显缓解了 Pb 胁迫对

玉米幼苗生长的抑制作用,促进了幼苗 Pro 和 SP 含量的积累(王芳等,2014)。本研究中,适宜浓度 SNP 处理使 Pb 胁迫下三叶鬼针草 Pro、SP 和 Car 含量显著升高,其中 300 $\mu\text{mol/L}$ SNP 对 Pro、SP 合成的促进作用最显著,而 Pro 有调节细胞质的渗透势,保护蛋白质分子,增加蛋白质分子的水合度,维持光合活性,作为活性氧的清除剂等作用,SP 含量升高有助于提高植物对逆境的抵抗力。同时,适宜浓度的 SNP 处理对 Pb 胁迫下三叶鬼针草叶和茎中 Car 合成有积极的促进作用,而 Car 在光合作用过程中具有过剩激发能的耗散和活性氧的清除功能,能够保护其细胞器免受伤害(陈银萍等,2010)。

综上所述,外源 NO 对 Pb 胁迫有一定缓解作用,可降低三叶鬼针草膜质过氧化损伤,提高渗透调节物质含量,调节抗氧化酶系统。一方面 SNP 通过自身产生的 NO 直接与 Pb 胁迫产生的 ROS 反应,降低三叶鬼针草细胞膜伤害,NO 也可间接调节抗氧化酶系统降低 Pb 胁迫造成的氧化损伤;另一方面 SNP 通过提高渗透调节物质含量来缓解 Pb 对三叶鬼针草的胁迫作用,因为植物积累的渗透调节物质行使其调节、保护、清除活性氧和促进生长等功能。但 SNP 的效应具有两面性,即低浓度缓解高浓度伤害,其中 300 $\mu\text{mol/L}$ SNP 处理对 Pb 胁迫下三叶鬼针草的缓解效应最为显著。因此适宜浓度的外源 NO 能增加三叶鬼针草对重金属 Pb 污染土壤的耐性,使三叶鬼针草能更好地修复 Pb 污染的土壤。

三叶鬼针草属于入侵性植物(徐海根等,2004),在三叶鬼针草用于修复 Pb 污染的土壤时,要加强对三叶鬼针草入侵性的控制,避免造成生态危害。谌金吾(2013)报道三叶鬼针草生命周期一般为 180 d,利用它修复重金属污染土壤的最佳采收时期应在植物从营养生长向生殖生长过渡时期,即 90~120 d 内。因此合理控制收获时间对控制三叶鬼针草的生态入侵性和避免其枯枝落叶对土壤造成二次污染十分重要。

参考文献:

Boveris AD, Galatro A, Puntarulo S. 2000. Effect of nitric oxide and plant antioxidants on microsomal content of lipid radicals [J]. *Biol Res*, **33**(2): 159-165

Chen YP(陈银萍), Tao L(陶玲), Yang L(杨莉), et al. 2010. Effects of nitric oxide on seed germination and physiological reaction of maize seedlings under water stress (一氧化氮对水分胁迫下种子玉米种子萌发及幼苗生理特性的影响)[J]. *Guihaia*(广西植物), **30**(5): 672-677

Chen JW(谌金吾). 2013. Study on response and potential phyto-remediation of *Bidens pilosa* L. in Cadmium and Lead stress (三叶鬼针草 (*Bidens pilosa* L.)对重金属 Cd、Pb 胁迫的响应与修复潜能研究)[D]. Chongqing(重庆): Southwest University (西南大学)

Duan DC(段德超), Yu MG(于明革), Shi JY(施积炎). 2014. Research advance uptake, translocation, accumulation and detoxification of Pb in plant(植物对铅的吸收,转运,累积和解毒机制研究进展)[J]. *Chin J Appl Ecol*(应用生态学报), **25**(1): 287-296

Jozef K, Bořivoj K, Petr B, et al. 2015. Nitric oxide donor modulates cadmium-induced physiological and metabolic changes in the green alga *Coccomyxa subellipsoidea* [J]. *Algal Res*, **8**: 45-52

Kopyra M, Gwóź'dz EA. 2003. Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus* [J]. *Plant Physiol Biochem*, **41**: 1 011-1 017

Prerna S, Kavita S. 2014. Evidences for reduced metal-uptake and membrane injury upon application of nitric oxide donor in cadmium stressed rice seedlings [J]. *Plant Physiol Biochem*, **83**: 180-184

Li L(李玲), Li NH(李娘辉), Jiang SM(蒋素梅), et al. 2009. The Guidance of Plant Physiology Module Experiments(植物生理学模块实验指导)[M]. Beijing(北京): Science Press(科学出版社): 78-86

Li HS(李合生), Sun Q(孙群), Zhao SJ(赵世杰), et al. 2003. The experiment principle and technique on plant physiology and biochemistry(植物生理生化实验原理和技术)[M]. Beijing(北京): Higher Education Press(高等教育出版社): 182-183, 260-261

Li ZK(李忠光), Li JH(李江鸿), Du CK(杜朝坤), et al. 2002. Simultaneous determination of five kinds of plants antioxidant enzymes in single extraction system(在单一提取系统中同时测定五种植物抗氧化酶)[J]. *J Yunnan Norm Univ*(云南师范大学学报), **22**(6): 44-48

Ling TF(凌腾芳), Xuan W(宣伟), Fan YR(樊颖瑞), et al. 2005. Effect of exogenous glucose, fructose and NO donor (SNP) on rice seed germination under salt stress(外源葡萄糖、果糖和 NO 供体(SNP)对盐胁迫下水稻种子萌发的影响)[J]. *J Plant Physiol Mol Biol*(植物生理与分子生物学学报), **31**(2): 205-212

Liu YS(刘延盛), Lu JM(鲁家米), Zhou XY(周晓阳), et al. 2007. Cellular damage and accumulation of Pb polluted pismusativum L.: implication for phytoremediation (Pb 在豌豆幼苗细胞中的超微结构分布与毒性研究)[J]. *Chin J Appl Environ Biol*(应用与环境生物学报), **13**(5): 647-651

Pan YM(潘玉梅), Liu MC(刘明超), Tang JC(唐赛春), et al. 2012. Effect of light intensity on the growth characteristics of *Bidens pilosa* (光强对三叶鬼针草生长特征的影响)[J]. *Guihaia*(广西植物), **32**(1): 77-82

Song LL, Ding W, Shen J, et al. 2008. Nitric oxide mediates abscisic acid induced thermotolerance in the calluses from two ecotypes of reed under heat stress [J]. *Plant Sci*, **175**: 826-832

Suna BT, Jing Y, Chen KM, et al. 2007. Protective effect of nitric oxide on iron deficiency-induced oxidative stress in maize (*Zea mays*) [J]. *J Plant Physiol*, **164**: 536-543

Sun YB(孙约兵), Zhou QX(周启星), Wang L(王林), et al. 2009. Characteristics of cadmium tolerance and bioaccumulation of *Bidens pilosa* L. seedlings(三叶鬼针草幼苗对 Pb 污染的耐

- 性及其吸收积累特征研究[J]. *Chin J Environ Sci* (环境科学), **30**(10): 3 028—3 035
- Wei SH(魏树和), Yang CHJ(杨传杰), Zhou QX(周启星), et al. 2008. Hyperaccumulative characteristics of 7 widely distributing weed species in composite family especially *Bidens pilosa* to heavy metals(三叶鬼针草等 7 种常见菊科杂草植物对重金属的超富集特征)[J]. *Chin J Environ Sci* (环境科学), **29**(10): 2 912—2 918
- Wang QH(王全辉). 2012. Effects of exogenous nitric oxide and salicylic acid on physiological characteristics of ryegrass under copper, lead and cadmium stress(外源一氧化氮与水杨酸对铜、Pb、镉胁迫下黑麦草生理特性的影响)[D]. Tai'an(泰山): Shandong Agricultural University(山东农业大学)
- Wei XL(魏学玲), Shi RX(史如霞), Jia LY(贾凌云), et al. 2011. Effects of nitric oxide on seed germination and physiological characteristics of wheat seedlings under lead stress(外源一氧化氮对 Pb 胁迫下小麦种子萌发及幼苗生理特性的影响)[J]. *Bull Bot Res* (植物研究), **31**(1): 34—39
- Wang F(王芳), Zhan CY(张晓燕), Cao TJ(曹廷俊), et al. 2014. Mitigative effects of exogenous nitric oxide on Pb²⁺ stress in maize seedlings(外源一氧化氮对 Pb 胁迫下玉米的缓解作用)[J]. *Agric Res Arid Areas* (干旱地区农业研究), **32**(4): 24—30
- Xu XH, Zhao YC, Zhao XT, et al. 2014. Sources of heavy metal pollution in agricultural soils of a rapidly industrializing area in the Yangtze Delta of China[J]. *Ecotoxicol Environ Safety*, **108**: 161—167
- Xu YF, Sun XL, Jin JW, et al. 2010. Protective effect of nitric oxide on light-induced oxidative damage in leaves of tall fescue [J]. *J Plant Physiol*, **167**: 512—518
- Xu HG(徐海根), Qiang SH(强胜). 2004. Invasive Species Cataloging in China(中国外来入侵物种编目)[M]. Beijing(北京): Science China Press (中国环境科学出版社): 407—409
- Xiong J, Lu H, Lu K, et al. 2009. Cadmium decreases crown root number by decreasing endogenous nitric oxide, which is indispensable for crown root primordia initiation in rice seedlings [J]. *Planta*, **230**: 599—610
- Yan WB(严文斌), Quan GM(全国明), Zhang JE(章家恩), et al. 2013. Effects of environmental factors on seed germination of *Bidens pilosa* and *Bidens bipinnata*(环境因子对三叶鬼针草与鬼针草种子萌发的影响)[J]. *Ecol Environ Sci* (生态环境学报), **22**(7): 1 129—1 135
- Zheng CF, Jiang D, Liu FL, et al. 2009. Exogenous nitric oxide improves seed germination in wheat against mitochondrial oxidative damage induced by high salinity. *Environ[J]. Exp Bot*, **67**: 222—227
- Zhang FY(张富运), Chen YH(陈永华), Wu XF(吴晓芙), et al. 2012. Research advances on screening of hyperaccumulator and tolerant plant species of Pb-Zn (铅锌超富集植物及耐性植物筛选研究进展)[J]. *J Cent S Univ For & Technol* (中南林业科技大学学报), **32**(12): 92—96
- Zhao BQ(赵宝泉), Wan Y(万宇), Yang SH(杨世湖), et al. 2010. Effects of exogenous nitric oxide donor SNP on membrane lipid peroxidation and activity of antioxidant enzyme in rice seedlings under Cd stress(外源 NO 供体硝普钠(SNP)对重金属 Cd 胁迫下水稻幼苗膜脂过氧化及抗氧化酶的影响)[J]. *Jiangsu J Agric Sci* (江苏农业学报), **26**(3): 468—475
- Zhang YB(张远斌), Liu AR(刘爱荣), Zhang XP(张雪平), et al. 2009. Effect of exogenous NO on the growth and inorganic ion content of *Festuca arundinacea* seedlings under Pb²⁺ stress(外源一氧化氮对 Pb 胁迫下高羊茅生长和无机离子含量的影响)[J]. *Guihaia* (广西植物), **29**(3): 360—365

(上接第 696 页 Continue from page 696)

- Rodriguez de Soffillo DV, Hadley M, Sotillo JE. 2002. Chlorogenic acid modifies plasma and liver concentrations of: cholesterol, triacylglycerol, and minerals in (fa/fa) Zucker rats[J]. *J Nutr Biochem*, **13**(12): 717—726
- Tang JJ(唐建军), Chen X(陈欣), Zhi SSH(志水胜好). 2002. The influences of culture conditions on the callus induction, tissue culture and regulation of secondary metabolism of *Eucommia ulmoides* (培养条件对杜仲愈伤组织形成及次生代谢过程的影响)[J]. *J Zhejiang Univ: Eng Sci Ed* (浙江大学学报·工学版), **36**(2): 13—198
- Wan GX(万贵香), Ma L(马琳), Zhang J(张坚). 2012. Effect on different concentrations of exogenous hormones on baicalin in *Scutellaria baicalensis* callus(不同浓度的外源激素对黄芩愈伤组织的生物量和黄芩苷含量的影响)[J]. *Chin J Chin Mat Med* (中国中药杂志), **37**(24): 3 799—3 802
- Wang J(王娟), Gao WY(高文远), Yin SS(尹双双), et al. 2012. Research progress in medicinal plant cell suspension culture(药用植物细胞悬浮培养的研究进展)[J]. *Chin J Chin Mat Med* (中国中药杂志), **37**(24): 3 680—3 683
- Wu L. 2007. Effect of chlorogenic acid on antioxidant activity of *Flos Lonicerae* extracts[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, **6** 748(9): 673—679
- Xu JW(徐建伟), Zhao XJ(赵小俊), Wang XY(王雪艳), et al. 2011. Research progress of evaluation, breeding and application on the commonly used Chinese medicinal herbs of honeysuckle (常用中药材金银花的评价、育种和应用研究进展)[J]. *Sci Tech Innov Her* (科技创新导报), **1**: 17
- Yang DJ(杨大坚), Zhong GY(钟国跃), Li LY(李隆云), et al. 2011. The present situation and market analysis of the extracts from honeysuckle (金银花提取物的现状及市场分析) [OL]. <http://www.zgcqxs.net/default/comshow-810-23081.shtml>, 5, 29
- Yu SL(于生兰), Zhang L(张龙), Sun L(孙玲). 2002. *Flos Lonicerae*'s research progress(金银花的研究进展)[J]. *Lishizhen Med Mat Med Res* (时珍国医国药), **13**(8): 498—500
- Zhang GH(张广辉), Chen CQ(陈春秋), Li JY(李竞芸), et al. 2002. Advances of production of secondary metabolites in vitro culture in *Ginkgo biloba* (银杏离体培养生产次生代谢物研究进展)[J]. *J Beijing For Univ* (北京林业大学学报), **24**(4): 130—133
- Zhao J, Zhu WH, Hu Q, et al. 2001. Enhanced indole alkaloid production in suspension compact callus clusters of *Catharanthus roseus*: impacts of plant growth regulators and sucrose[J]. *Plant Growth Regul*, **33**(1): 33—41