#### DOI: 10.20103/j.stxb.202210102870

黄俣轩,黄飞,胡志文,赵梓霖,王鹏,肖荣波.大气湿沉降油菜体内铅的形态累积及氧化胁迫效应.生态学报,2023,43(19):8066-8075. Huang Y X, Huang F, Hu Z W, Zhao Z L, Wang P, Xiao R B.Chemical speciation accumulation and oxidative stress of lead in *Brassica chinensis* L. under atmospheric wet deposition. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(19):8066-8075.

# 大气湿沉降油菜体内铅的形态累积及氧化胁迫效应

黄俣轩,黄 飞,胡志文,赵梓霖,王 鹏,肖荣波\*

广东工业大学环境科学与工程学院,广州 510006

摘要:大气沉降是叶菜类农作物可食部位重金属铅(Pb)累积的主要来源,但大气湿沉降下铅在油菜(Brassica chinensis L.)体内的形态累积特征及氧化胁迫效应,尚不十分清晰。通过模拟大气湿沉降铅胁迫,研究油菜体内重金属 Pb 的累积、亚细胞分布、化学形态特征及油菜抗氧化响应。结果表明,油菜可食部位 Pb 含量为 1.72—6.35 mg/kg,超出标准(GB 2762—2017)4.73—20.16 倍。Pb 大量分布在油菜茎和叶的细胞壁中(52.14%—86.99%),以草酸盐沉淀的形式存在(20.07%—59.27%),这可能会导致 Pb 在可食部位的大量累积(>95%)。细胞壁的固持作用和 Pb 主要以草酸盐和不溶性磷酸盐存在,可能是油菜重要的解毒耐性机制之一。湿沉降铅胁迫可以增加叶和茎的丙二醛(MDA)含量,造成细胞的氧化损伤,抑制叶绿素的合成。油菜可以通过提高抗氧化酶(SOD、POD、CAT)活性(7.73%—346.91%),增加抗氧化剂(AsA 和 GSH)和可溶性物质(可溶性糖、可溶性蛋白)含量(9.11%—279.59%),来有效应对湿沉降 Pb 胁迫。抗氧化酶在叶中变化最大,过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性分别上升 49.41%—91.62%和 123.42%—346.91%。抗氧化剂则在根中变化最显著,抗坏血酸(AsA)和谷胱甘肽(GSH)含量分别上升了 134.15%—182.93%和 238.78%—279.59%。可溶性糖、可溶性蛋白、POD、CAT 和 GSH 可能是油菜叶能缓解湿沉降 Pb 氧化胁迫的主要因素之一(P<0.05)。研究结果可加深对大气沉降下 Pb 在叶菜体内累积分布行为的理解,并为大气重金属胁迫地区农作物重金属风险评估提供一定的理论依据。

关键词:大气沉降;重金属;蔬菜;生理响应

# Chemical speciation accumulation and oxidative stress of lead in *Brassica* chinensis L. under atmospheric wet deposition

HUANG Yuxuan, HUANG Fei, HU Zhiwen, ZHAO Zilin, WANG Peng, XIAO Rongbo<sup>\*</sup> School of Environmental Science and Engineering, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China

Abstract: Atmospheric deposition is the main source of lead accumulation in the leafy vegetable crops, but the chemical speciation and oxidative stress of lead in *Brassica chinensis* L. under wet deposition have not been fully understood. In this study, the accumulation, subcellular distribution, chemical speciation of Pb and antioxidant response of *Brassica chinensis* L. by spraying different lead concentrations were investigated. The results indicated that the Pb concentrations in edible parts ranged from 1.72 to 6.35 mg/kg, which were in the range of 4.73-20.16 times above the standard (GB 2762-2017). Most of the Pb accumulated in the edible parts (>95%), while only a few (1.14%-3.11%) accumulated in the roots. The Pb in *Brassica chinensis* L was primarily distributed in the cell wall fraction, while the soluble fraction and organelle fraction accounted for a similar proportion. Oxalate and insoluble phosphate states were the main chemical speciation of Pb. The Pb concentrations in the leaves and stems cell wall accounted for 52.14%-86.99% of total accumulation, most of which were insoluble oxalate fractions, causing the high accumulation of Pb in the edible parts. The

收稿日期:2022-10-10; 网络出版日期:2023-05-19

基金项目:广东省重点领域研发计划项目(2019B110207001);广东省重点领域研发计划项目(2020B1111370001)

<sup>\*</sup> 通讯作者 Corresponding author.E-mail: ecoxiaorb@ 163.com

storage of large amounts of heavy metals in the cell wall, as well as the formation of less toxic oxalate and insoluble phosphate states, might be one of the important detoxification mechanisms of *Brassica chinensis* L. Wet deposition of Pb caused the oxidative cellular damage, increased malondialdehyde content in leaves and stems and inhibited chlorophyll synthesis, but it promoted the soluble sugars and soluble proteins. *Brassica chinensis* L. could effectively respond to wet deposition Pb stress by increasing the activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, peroxidase, catalase) (7.73%-346.91%), as well as increasing the content of antioxidant enzyme (superoxide dismutase, peroxidase, catalase) (7.73%-346.91%), as well as increasing the content of antioxidant enzyme activities had the biggest change in the leaves, increasing by 49.41%-91.62% and 123.42%-346.91% for peroxidase (POD) and catalase (CAT), respectively. While the most significant change of antioxidant occurred in the roots, accounting for 134.15%-182.93% and 238.78%-279.59% of total content for ascorbic acid (AsA) and glutathione (GSH), respectively. The possible main reason for *Brassica chinensis* L. leaves to alleviate oxidative stress were peroxidase, catalase, soluble sugars, soluble proteins and glutathione, because of the significant correlation between those and wet deposition Pb concentration (P < 0.05). These results could improve our understanding of the distribution behavior of Pb in the vegetables, and provide a theoretical basis for the environmental risk assessment of crops in atmospheric heavy metal stress areas.

Key Words: atmospheric deposition; heavy metal; vegetables; physiological response

在大气污染较为严重的地区,大气沉降被公认为是农作物重金属铅(Pb)的重要来源<sup>[1-3]</sup>,譬如,大白菜(Brassica rapa spp. Pekinensis)叶中 Pb 至少 80%来自大气沉降<sup>[4]</sup>。叶面吸收,作为大气沉降 Pb 进入植物的主要途径<sup>[5-7]</sup>,它对油菜(Brassica chinensis L.)可食部位 Pb 累积的贡献率可达 70%—99%<sup>[8]</sup>。因此,开展叶菜对大气中 Pb 的叶面吸收累积行为研究,可加深对大气沉降下 Pb 在叶菜体内累积分布行为的理解,同时对蔬菜食用安全具有一定的借鉴意义。

近年来,国内外学者针对在大气沉降影响下叶菜叶面吸收重金属 Pb 开展了大量研究。董俊文等<sup>[9]</sup>研究表明,大气干沉降颗粒物,对温室大棚内种植的菠菜、生菜等 6 种叶菜可食部位 Pb 累积的平均贡献率为 36.5%;孙洪欣等<sup>[10]</sup>发现,大气颗粒物对水培叶菜可食用部位 Pb 含量的贡献率达到 61.68%—97.96%;Gao 等<sup>[4,11]</sup>研究发现 PM<sub>2.5</sub>对大白菜叶 Pb 的累积贡献占比为 80%—100%,其中气孔吸收对叶 Pb 累积的贡献率为 74.5%。以上这些研究主要聚焦在大气颗粒物的干沉降,而对湿沉降的关注,则相对较少。此外,Xiong 等<sup>[12]</sup>发现 Pb 可由暴露于 PbO 颗粒的叶片迁移到嫩叶,即使只食用嫩叶也会造成严重的健康风险(非致癌风险危害商 HQ<sub>newleaves</sub>为 18.5);Natasa 等<sup>[13]</sup>研究表明,叶面施用纳米氧化铅会使菠菜过氧化氢酶和过氧化物酶活性 升高,存在较强非的致癌风险(HQ = 1.44)。这些说明大气沉降下叶菜类蔬菜重金属存在较强的健康风险。 实际上,在降雨充沛地区中,大气沉降往往以湿沉降为主,其中湿沉降 Pb 占大气 Pb 总沉降的 61.18%—88.73%<sup>[14]</sup>,而且湿沉降促进植物的叶面吸收,对人体造成的潜在风险可能更大<sup>[15—17]</sup>。但是,湿沉降下 Pb 在 叶菜体内的形态累积特征及叶菜氧化胁迫效应,尚不十分清晰。

本文选取油菜(Brassica chinensis L.)为研究对象,通过叶面喷洒不同浓度的 Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>溶液(pH=5)模拟 大气湿沉降 Pb 胁迫效应,探究油菜体内重金属 Pb 的累积、亚细胞分布、化学形态特征及油菜抗氧化响应,为 大气污染区域重金属防治与农作物食用安全提供理论依据。

#### 1 材料与方法

### 1.1 水培试验

根据文献报道<sup>[18-20]</sup>,本实验设置模拟大气湿沉降 Pb 沉降通量,分别为对照组(CK)0 mg m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>、低浓度 处理组(L)0.3 mg m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>和高浓度处理组(H)3 mg m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>,依次换算喷洒液 Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>浓度为 0、2.68 mg/L 和 26.8 mg/L(pH=5),对照组为稀 HNO<sub>3</sub>溶液(pH=5)。 将油菜种子浸种杀菌后置于有一层保持湿润的纱布的育苗盘中催芽。种子发芽三天加入 1/2 浓度霍格 兰营养液,一周后选取长势一致的幼苗移植到定植棉中,并以霍格兰全量营养液培养。出芽约 30 d,将油菜移 植于 500 mL 聚乙烯瓶(锡纸包裹),瓶盖挖开定植棉大小的孔洞放入定植棉,用塑料膜覆盖定植棉防止喷洒 液流入营养液。各处理组中设有 6 株油菜,保持适当距离分别放置在植物培养箱中(约 0.28 m<sup>2</sup>)。培养箱壁 装有细纱网,保证通风的同时,一定程度上减轻大气中 Pb 的影响。移植适应培养一周后,每 2 天向处理组喷 施相应浓度的 Pb 溶液模拟大气湿沉降 Pb(每次 100 mL,共喷洒 10 次)。在喷洒时用塑料膜对其余处理组覆 盖遮挡,以免相互影响。水培试验期间,定时供氧,每 5 天更换一次营养液。

1.2 植物样品采集与分析

1.2.1 植物样品采集

胁迫实验结束后立即采集植物样本,以自来水和纯水洗净、擦干。样品分根、茎、叶,部分于烘箱中105℃ 杀青1h,70℃烘至恒重后研磨过筛保存,记录鲜重干重。其余部分植物样品放入-80℃冰箱中保存,以测生 理生化指标和 Pb 化学形态、亚细胞分布。

1.2.2 油菜的 Pb 含量、亚细胞分布和化学形态

油菜各部分 Pb 的总量用植物干样测定, Pb 的化学形态和亚细胞分布采用植物鲜样测定。参考 Liu 等<sup>[21]</sup>的方法,将油菜中的 Pb 分为细胞壁组分、细胞器组分和可溶性组分。油菜体内 Pb 的化学形态参照化学 试剂逐步提取法<sup>[22]</sup>,将化学形态分别分为乙醇提取态、水提取态、氯化钠提取态、醋酸提取态、盐酸提取态和 残渣态。所有提取样品在 70 ℃下蒸干至恒重,用混合酸 HNO<sub>3</sub>和 HClO<sub>4</sub>(4:1)消解,采用电感耦合等离子体质 谱仪(ICP-MS, ICAP RQ, Thermo Fisher Scientific, USA)测定各样品 Pb 含量。

# 1.2.3 可食部位 Pb 含量计算

蔬菜 Pb 含量常以鲜重表示,故通过水分系数换算<sup>[23]</sup>,具体如下:

$$C_{i(\text{FW})} = \frac{C_{i(\text{DW})} \times m_{i(\text{DW})}}{m_{i(\text{FW})}}$$
(1)

$$W_i = \frac{m_{i(FW)}}{m_{P+(FW)} + m_{\Xi(FW)}}$$
(2)

$$C_e = \sum C_{i(\mathrm{FW})} \times W_i \tag{3}$$

累积量<sub>i</sub> = 
$$C_{i(FW)} \times m_{i(FW)}$$
 (4)

式中, $C_i$ 、 $m_i$ 、 $W_i$ 分别为*i*器官的 Pb 含量、质量、在可食部位的质量权重; $C_e$ 为油菜可食用部位 Pb 含量;下标 DW、FW 分别代表以干重计和以鲜重计;累积量<sub>i</sub>为*i*器官的 Pb 累积量。

## 1.2.4 植物生理生化指标测定

用分光光度法测定植物叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素和类胡萝卜素。参考李合生等<sup>[24]</sup>的实验方法,采用 硫代巴比妥酸法测定丙二醛(MDA)含量;考马斯亮蓝 G250 显色法测定可溶性蛋白含量;氮蓝四唑光化还原 法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性;愈创木酚氧化法测定过氧化物酶(POD)活性;紫外吸收法测定过氧化氢酶(CAT)活性。选用生物试剂盒法(购自南京建成生物工程研究所有限公司)测定 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、可溶性糖、抗坏血酸(AsA)、谷胱甘肽(CSH)含量<sup>[20]</sup>。

#### 1.3 数据分析

所有数据用 SPSS 进行统计分析,使用单因素方差分析(one-way ANOVA)和邓肯分析(Duncan)分析不同 处理组间的差异。用 Origin 2018 制图以及对大气湿沉降 Pb 浓度和生理生化指标进行 Spearman 相关性分析。

#### 2 结果与分析

# 2.1 油菜各器官 Pb 含量及累积分布

相比对照组(CK),低浓度处理组(L)和高浓度处理组(H)中叶、茎、根的 Pb 含量均显著提高(图1)。

H 组叶和茎的 Pb 含量分别为 7.16 mg/kg 和 4.17 mg/kg,显著高于 L 组的叶(2.78 mg/kg)和茎(0.55 mg/kg), 但两组根中 Pb 含量并没有显著性差异。CK 组油菜各器官 Pb 含量大小排序为根≈叶>茎,L 组为叶>根>茎, 而 H 组为叶>茎>根。CK、L 和 H 组油菜可食部位 Pb 平均含量,依次为 0.11、1.72、6.35 mg/kg,其中,L 和 H 组油菜可食用部位 Pb 含量,分别超出《食品安全国家标准食品中污染物限量》(GB 2762—2017)中新鲜蔬菜 Pb 含量限值(0.3 mg/kg)的 4.73、20.16 倍。此外,L 和 H 组叶 Pb 的平均累积量为 13.70 μg/株和 27.36 μg/株,分别占油菜 Pb 累积总量的 85.43%和 69.67%;在L 和 H 组茎中平均累积量为 1.84 μg/株(11.46%)、11.47 μg/株(29.19%);只有少部分 Pb 在根中累积,分别为 0.50 μg/株(3.11%)和 0.48 μg/株(1.14%)(图 1)。







2.2 大气湿沉降 Pb 胁迫下油菜 Pb 亚细胞分布与化学形态

油菜根、茎、叶中的 Pb 主要分布在细胞壁组分中(27.12%—86.99%),其次是可溶性组分(6.96%—44.29%),细胞器组分占比相对较少(6.05%—42.24%)(图 2),这说明细胞壁是油菜体内 Pb 主要的结合位点。在叶中,胁迫组中细胞器和可溶性组分 Pb 占比对照组分别减少了 2.64%—6.32%和 18.60%—23.42%,相应地细胞壁 Pb 占比例增加了 24.24%—29.73%。不同地,在茎中 L 和 H 组的亚细胞分布变化相差较大,其中,细胞器组分 Pb 占比分别比对照组减少了 23.09%和 35.09%,可溶性组分 Pb 占比分别减少了 1.93%和 22.59%,而细胞壁组分 Pb 占比,却分别增加了 25.02%和 57.68%。相对而言,在根中 Pb 的亚细胞分布变化最小,其可溶性组分和细胞壁组分占比相近,分别为 25.54%—44.29%和 43.32%—67.03%。

各处理组中油菜的 Pb 主要以盐酸提取态存在(18.33%—59.27%),其次为乙醇提取态(8.13%—28.53%)和醋酸提取态(8.10%—25.57%),水提取态(4.90%—19.87%)和氯化钠提取态(7.80%—22.23%)相 对较少,残渣态最少(1.60%—9.40%)。相比 CK,胁迫组叶中 Pb 化学形态变化趋势一致,茎中 L 和 H 组 Pb 化学形态变化则差异较大,而根中 Pb 各化学形态占比差异相对较小(图 2)。

与对照组相比,叶中乙醇提取态和水提取态 Pb 占比之和略微下降了 2.67%—5.97%,氯化钠提取态和醋酸提取态占比分别下降了 3.50%—4.40% 和 13.90%—14.50%,而盐酸提取态占比则上升了 17.03%—26.53%。在茎中,L和H组乙醇提取态和水提取态 Pb 占比之和,分别比对照组下降了 2.23%和 22.73%;L组盐酸提取态占比略微减小了 0.53%,H组却增加了 38.07%。根中各形态占比差异较小,其中乙醇提取态和盐酸提取态 Pb 占比相对较大,分别为 16.33%—27.77%和 18.33—30.03%。

2.3 大气湿沉降 Pb 对油菜的氧化胁迫

H组油菜的叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素和类胡萝卜素含量分别比对照组下降了 30.82%、30.64%、 30.77%和 28.63%(图 3),说明高浓度的大气湿沉降 Pb 胁迫抑制了油菜叶绿素的合成,但 L 组与对照组的油





图 2 不同处理下油菜叶、茎、根 Pb 亚细胞分布及化学形态

Fig.2 Subcellular distribution and chemical forms of Pb in leaves, stems, roots of Brassica chinensis L. under different treatments

菜叶绿体色素含量没有显著性差异。与对照组相比,除L组中茎下降了6.86%以外,其它胁迫组各器官可溶 性糖含量均有所上升(10.64%—77.47%),其中L和H组叶可溶性糖含量,分别比对照组增加了58.04%和 77.47%,具有显著性差异(图3),这表明 Pb 胁迫促进了油菜可溶性糖的合成。类似地,油菜各器官的可溶性 蛋白含量增加了 9.11%—74.91%,其中 H 组叶显著大于对照组(图 3)。

相对于对照组,L组叶H,O,含量增加了3.62%而H组叶下降了8.72%;H组根H,O,含量上升了38.75%, 变化最大,但是胁迫组叶、茎、根的 H,O,含量均没有显著性差异(图 3)。叶中丙二醛(MDA)含量(11.93— 13.10 nmol/g)均大于对照组;H组茎 MDA 平均含量为4.43 nmol/g,显著大于对照组(1.96 nmol/g);在根中没 有显著性差异,整体呈随大气胁迫浓度上升而下降的趋势(图3);说明大气湿沉降 Pb 胁迫对油菜叶和茎细胞 一定程度上造成了氧化损伤,但对根的影响相对较小。

2.4 大气湿沉降 Pb 对油菜抗氧化系统的影响

相比 CK, 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性分别上升了 23.51%— 106.47%、7.73%—91.62%、23.84%—346.91%,抗坏血酸(AsA)和谷胱甘肽(GSH)含量分别增加了16.86%— 182.93%和 22.86%—279.59%(图4),表明大气湿沉降 Pb 可以激活油菜抗氧化酶活性和促进抗氧化剂的合 成。具体来讲,叶与根中抗氧化酶活性变化相似,油菜叶中活性变化最大,SOD、POD 和 CAT 分别上升了 84.62%-106.47%、49.41%-91.62%和123.42%-346.91%。茎抗氧化酶活性变化最小, SOD活性减少了 9.68%-17.11%,除了 H 组茎 CAT 活性略微降低 1.88%,其余 POD 和 CAT 活性增加了 7.73%-51.12% (图 4)。抗氧化剂含量在根中变化最大,根部 AsA 和 GSH 含量分别增加了 134.15%—182.93%和 238.78%— 279.59%,然而茎 AsA 含量降低 39.41%—48.77%(图 4)。

3 讨论

#### 3.1 湿沉降 Pb 的吸收和亚细胞分布

植物气孔可以直接吸收含铅颗粒物<sup>[25]</sup>,这对大白菜叶中 Pb 的贡献率可达 74.5%<sup>[11]</sup>。湿沉降使叶面湿 度增加,可能会在叶表和气孔壁上形成水性薄膜,而重金属溶质则有可能通过水膜扩散进入气孔<sup>[25-26]</sup>。相对 于植物气孔,角质层是保护植物组织免受外界侵害的物理性屏障[27],重金属一般情况下难以通过角质层进入 到植物体内。但是,湿沉降能使角质层吸水膨胀,拓宽亲水通道形成水孔,进而有利于重金属溶质渗透进入植 物体内[28-29]。因此,湿沉降有利于重金属溶质通过气孔和角质层的亲水途径进入植物,促进植物的叶面吸 收。针对这一方面,Schreck<sup>[30]</sup>等研究发现,生菜(Lactuca sativa L.)的 Pb 累积量与降雨有正相关,Bondada<sup>[31]</sup>

100

43 卷



图 3 大气湿沉降胁迫对油菜叶绿体色素(叶)、可溶性糖、可溶性蛋白、过氧化氢、丙二醛的影响

Fig.3 Influence of atmospheric moisture deposition stress on chloroplast pigments (leaves), soluble sugars, soluble proteins, hydrogen peroxide and malondialdehyde in *Brassica chinensis* L.

MDA:丙二醛

等结果表明,植物叶片的 As 吸收量在湿度较大的时间段比湿度较小时多 18%。类似地,本研究中油菜也可能主要通过气孔和角质层的亲水途径吸收湿沉降 Pb,然而气孔和角质层对湿沉降 Pb 吸收的相对贡献,仍需进一步研究。

湿沉降 Pb 通过气孔扩散或者角质层渗透进入叶片后,可能会被细胞壁固持。植物细胞壁含有的大量果 胶酸、多糖、蛋白质以及亲金属离子的配位基团(羟基、羧基、醛基、氨基酸等),容易与重金属离子结合,阻止 重金属跨膜进入原生质体<sup>[32-33]</sup>。因此,细胞壁是重金属进入植物细胞的第一道屏障,对于维持细胞的正常生 理代谢起到关键作用。本研究中油菜叶和茎 Pb 的细胞壁组分的占比最高,说明细胞壁的固持作用是油菜可 食部位主要的耐受与解毒的机制之一。相似地,朱光旭等<sup>[22]</sup>的研究中,三种菊科植物野艾蒿、胜红蓟和野茼 蒿各器官中 Pb 主要分布在细胞壁(49.6%—71.1%)。值得注意的是,细胞壁并不能完全阻隔重金属,部分重 SOD活性

CAT活性

GSH含量

0

CK L

Η

叶 Leaf

CK L

Η

茎 Stem

CK L



图 4 大气湿沉降对油菜超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶、抗坏血酸、谷胱甘肽的影响

**Fig.4** Influence of wet deposition on superoxide dismutase, peroxidase, catalase, ascorbic acid and glutathione in *Brassica chinensis* L. SOD: 超氧化物歧化酶; POD: 过氧化物酶; CAT: 过氧化氢酶; AsA: 抗坏血酸; GSH: 谷胱甘肽

Η

根 Root

金属离子仍可进入原生质体,原生质体中重金属会被转运到液泡中,与液泡中含有的糖类、有机酸、氨基酸等 多种物质络合,减轻对细胞器的毒害<sup>[34]</sup>。譬如,谢倚慧等<sup>[35]</sup>研究发现,马缨丹中的 Pb 主要储存于可溶性组 分(44.2%—66.7%),减少细胞器组分 Pb 含量。类似地,本研究发现 Pb 在油菜根中的可溶性组分占比最高 可达 44.29%,说明液泡区隔化对油菜根缓解 Pb 毒害也有一定作用。

3.2 湿沉降 Pb 在油菜体内的化学形态分析

重金属化学形态与其迁移能力和生物毒性密切相关。乙醇提取态(主要提取无机盐和氨基酸盐等)和水 提取态重金属(主要提取水溶性有机酸盐等)具有最强的生物毒性和迁移能力,氯化钠提取态(主要提蛋白质 和果胶酸盐)的生物毒性和迁移能力次之,醋酸提取态(主要提取不溶性磷酸盐)和盐酸提取态(主要提取草 酸盐)的毒性和迁移能力最弱<sup>[34,36]</sup>。研究<sup>[21]</sup>发现,苋菜体内的 Pb 主要以盐酸提取态(26%—67%)和醋酸提 取态的形式存在,与本研究结果相似。这表明湿沉降 Pb 通过叶面吸收进入油菜,其中大部分可能与草酸盐 和不溶性磷酸盐结合,形成毒性和迁移能力较弱的沉淀,从而减轻 Pb 对油菜的毒害作用。

随着 Pb 胁迫浓度的增高,马缨丹、茶树和刺槐体内的高活性的乙醇提取态和水提取态 Pb 占比减小,醋酸提取态和盐酸提取态占比增加<sup>[34-35,37]</sup>,这说明植物能将体内的 Pb 由强迁移能力的形态,向低毒性或弱迁移能力的形态转变,生成不溶性磷酸 Pb 和草酸 Pb 沉淀,从而限制 Pb 在植物体内的移动<sup>[34]</sup>。当叶菜叶面吸收大气湿沉降 Pb 时,植物 Pb 化学形态的转变有利于减轻 Pb 对茎和叶的毒害,但是也限制了 Pb 在植物体内的迁移转运,可能导致了本研究超过 95%的 Pb 在油菜可食部位大量累积。值得注意的是,H 与 L 组油菜茎中 Pb 化学形态占比差异较大,H 组茎中高活性的乙醇提取态和水提取态占比之和比 L 组茎小 20.50%; L H 组茎弱迁移能力的的盐酸提取态占比为 58.67%,比 L 组茎的盐酸提取态占比要大 38.60%,这些说明 H 组茎 中 Pb 的迁移能力可能较弱,Pb 被茎所截留难以向根系转运。

3.3 湿沉降 Pb 诱导的氧化胁迫效应

Natasha 等<sup>[13]</sup>研究表明,在低剂量叶面铅处理后(Pb-10mg/株),对菠菜叶绿体色素没有显著影响,而在高剂量处理后(Pb-50 mg/株),其叶绿体色素含量与对照组(Pb-0mg/株)相比降低了 7%—38%,与本研究结果相似。Pb 能引起叶绿体类囊体结构和功能的破坏,使光系统 I(PSI)、光系统 II(PSII)间的电子传递受阻,影响叶绿素合成中必需的叶绿素酸酯还原酶活性和氨基-r-酮戊酸的合成,取代 Mg 作为叶绿素的中心元素,从而抑制叶绿素的合成,导致光合速率下降<sup>[38-39]</sup>。此外,Pb 胁迫会使植物产生过量的活性氧(如 O<sub>2</sub><sup>-</sup>、·OH 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、)从而诱导植物的氧化应激反应<sup>[40]</sup>。过量的活性氧可以与蛋白质、色素、核酸、脂质发生反应,引起酶失活、膜损伤和脂质过氧化,而 MDA 作为植物细胞膜脂质过氧化的标志性产物,是反映生物体过氧化强度和膜系统损害强度的重要指标<sup>[41-42]</sup>。相关性分析表明,湿沉降 Pb 浓度与叶和茎 MDA 含量呈极显著正相关(P<0.01),与根 MDA 含量没有强相关性(图 5),说明 Pb 一定程度上造成了叶和茎的细胞损伤,对根的影响较为有限。





Fig.5 Spearman correlation analysis of atmospheric wet deposition with physiological and biochemical indicators of *Brassica chinensis* L. leaves, stems and roots.

\*表示在 0.05 水平上显著相关, \*\*表示在 0.01 水平上显著相关

与本研究相似地,大气 Pb 胁迫下的苋菜可溶性糖和可溶性蛋白含量分别增加了 17%—45%和 34%— 166%<sup>[21]</sup>。可溶性糖可以通过去除活性氧来防止细胞膜和蛋白质被氧化,维持植物细胞渗透平衡<sup>[43—44]</sup>。植 物能合成如氨基酸、植物固定蛋白、金属结合蛋白和抗氧化酶等蛋白质物质,来减轻 Pb 对植物造成的氧化损 伤<sup>[45]</sup>。大量研究表明<sup>[43,46—47]</sup>,SOD 能将超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)歧化为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和 O<sub>2</sub>,增加 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量,是植物抗氧化 系统的第一道防线;CAT 通常存在于叶绿体和线粒体中,可以将 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>分解为 H<sub>2</sub>O 和 O<sub>2</sub>;而 POD 可以通过催 化反应减少多余的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,三者能有效地清除植物体内多余的活性氧。AsA 和 CSH 是植物细胞中重要的氧化 还原因子,可以通过消除活性氧来调节植物的氧化应激反应,维持氧化还原平衡<sup>[48]</sup>。增加 AsA 和 GSH 的含量可以促进植物细胞 AsA-GSH 循环,加速 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的消除<sup>[20]</sup>。另外,GSH 在植物螯合素(PCs)的合成中也起着 重要的作用,GSH 和 PCs 能与重金属螯合来缓解重金属的胁迫<sup>[26]</sup>。

湿沉降 Pb 浓度与油菜叶 Pb 和可溶性蛋白含量以及 POD、CAT 活性呈极显著正相关(P<0.01);与可溶性糖和 GSH 显著正相关(P<0.05);与 AsA 含量和 SOD 活性也有一定程度的正相关性(图 5),说明油菜叶能 通过增加可溶性物质(可溶性糖、可溶性蛋白)、抗氧化剂含量(AsA、GSH)和抗氧化酶活性(SOD、POD、CAT) 来应对大气湿沉降 Pb 胁迫。湿沉降 Pb 浓度与茎中 Pb 和 GSH 含量呈极显著正相关(P<0.01),与 POD 活性 显著正相关(P<0.05)(图 5);湿沉降 Pb 浓度与根中 Pb、可溶性糖含量极显著正相关(P<0.01),与可溶性蛋 白和 AsA 含量显著正相关(P<0.05)(图 5);表明 GSH、POD 和可溶性糖、可溶性蛋白、AsA 可能分别是茎和根 缓解湿沉降 Pb 氧化胁迫的主要因素之一。

# 4 结论

(1)大气湿沉降 Pb 胁迫后,超过 95%的 Pb 在油菜可食部位累积,只有少部分可以迁移到根系中 (1.14%—3.11%),其中可食部位 Pb 含量超出食品安全国家标准限值(GB 2762—2017)4.73—20.16 倍。

(2)Pb 主要分布在油菜茎叶细胞壁中(52.14%—86.99%),以盐酸提取态(20.07%—59.27%)存在,可能限制了 Pb 的迁移,从而导致进入油菜的湿沉降 Pb 被可食部位固持。细胞壁的固持作用和 Pb 主要以盐酸提取态存在,有可能是油菜可食部位应对湿沉降 Pb 胁迫的重要耐性机制之一。

(3)湿沉降 Pb 增加了油菜叶和茎的 MDA 含量,造成细胞氧化损伤,抑制叶绿素的合成,但促进了可溶性 糖和可溶性蛋白的合成。油菜能通过激活抗氧化酶(SOD、POD、CAT)和增加抗氧化剂(AsA、GSH)含量来应 对湿沉降 Pb 诱导的氧化胁迫,其中叶片中抗氧化酶活性变化最大(84.62%—346.91%),而根部抗氧化剂含 量相对增加最多(134.15%—279.59%)。

#### 参考文献(References):

- [1] 王鸿钰, 俞炳琨, 李阳, 胡昌飞, 王文全. 降尘对乌鲁木齐市地产萝卜中 Pb 含量的影响. 干旱区资源与环境, 2021, 35(10): 128-134.
- [2] Feng W L, Guo Z H, Xiao X Y, Peng C, Shi L, Ran H Z, Xu W X. Atmospheric deposition as a source of cadmium and lead to soil-rice system and associated risk assessment. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 180: 160-167.
- [3] Ma C, Liu F Y, Hu B, Wei M B, Zhao J H, Zhang K, Zhang H Z. Direct evidence of lead contamination in wheat tissues from atmospheric deposition based on atmospheric deposition exposure contrast tests. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 185: 109688.
- [4] Gao P P, Xue P Y, Dong J W, Zhang X M, Sun H X, Geng L P, Luo S X, Zhao J J, Liu W J. Contribution of PM<sub>2.5</sub>-Pb in atmospheric fallout to Pb accumulation in Chinese cabbage leaves via stomata. Journal of Hazardous Materials, 2021, 407: 124356.
- [5] El Hayek E, El Samrani A, Lartiges B, Kazpard V, Aigouy T. Lead bioaccumulation in Opuntia ficus-indica following foliar or root exposure to lead-bearing apatite. Environmental Pollution, 2017, 220: 779-787.
- [6] Uzu G, Sobanska S, Sarret G, Muñoz M, Dumat C. Foliar lead uptake by lettuce exposed to atmospheric fallouts. Environmental Science & Technology, 2010, 44(3): 1036-1042.
- [7] Shahid M, Dumat C, Khalid S, Schreck E, Xiong T T, Niazi N K. Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: a comparison of foliar and root metal uptake. Journal of Hazardous Materials, 2017, 325: 36-58.
- [8] Liu H L, Zhou J, Li M, Xia R Z, Wang X Z, Zhou J. Dynamic behaviors of newly deposited atmospheric heavy metals in the soil-pak choi system. Environmental Science & Technology, 2022, 56(17): 12734-12744.
- [9] 董俊文,高培培,孙洪欣,周昶,张香玉,薛培英,刘文菊.设施叶菜类蔬菜重金属镉、铅和砷累积特征及健康风险评价.环境科学, 2022,43(1):481-489.
- [10] 孙洪欣,赵纪舒,付洁,刘文菊,王雪君,高志岭,杨铮铮.大气颗粒物对水芹和白菜可食部位铅镉砷累积的影响.环境科学学报,2017, 37(9):3568-3575.
- [11] Gao P P, Zhang X M, Xue P Y, Dong J W, Dong Y, Zhao Q L, Geng L P, Lu Y, Zhao J J, Liu W J. Mechanism of Pb accumulation in Chinese cabbage leaves: Stomata and trichomes regulate foliar uptake of Pb in atmospheric PM<sub>2.5</sub>. Environmental Pollution, 2022, 293; 118585.
- [12] Xiong T T, Zhang T, Dumat C, Sobanska S, Dappe V, Shahid M, Xian Y H, Li X T, Li S S. Airborne foliar transfer of particular metals in Lactuca sativa L.: translocation, phytotoxicity, and bioaccessibility. Environmental Science and Pollution Research, 2019, 26(20): 20064-20078.
- [13] Natasha, Shahid M, Farooq A B U, Rabbani F, Khalid S, Dumat C. Risk assessment and biophysiochemical responses of spinach to foliar application of lead oxide nanoparticles: a multivariate analysis. Chemosphere, 2020, 245: 125605.
- [14] Ye L M, Huang M J, Zhong B Q, Wang X M, Tu Q L, Sun H R, Wang C, Wu L L, Chang M. Wet and dry deposition fluxes of heavy metals in Pearl River Delta Region (China): characteristics, ecological risk assessment, and source apportionment. Journal of Environmental Sciences,

2018, 70: 106-123.

- [15] Liu H L, Zhou J, Li M, Obrist D, Wang X Z, Zhou J. Chemical speciation of trace metals in atmospheric deposition and impacts on soil geochemistry and vegetable bioaccumulation near a large copper smelter in China. Journal of Hazardous Materials, 2021, 413: 125346.
- [16] Liu H L, Zhou J, Li M, Hu Y M, Liu X L, Zhou J. Study of the bioavailability of heavy metals from atmospheric deposition on the soil-pakchoi (*Brassica chinensis* L.) system. Journal of Hazardous Materials, 2019, 362: 9-16.
- [17] Zhou J, Du B Y, Liu H L, Cui H B, Zhang W T, Fan X T, Cui J, Zhou J. The bioavailability and contribution of the newly deposited heavy metals (copper and lead) from atmosphere to rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Hazardous Materials, 2020, 384: 121285.
- [18] 杨子鹏. 燃煤电厂周边环境中重金属时空分布特征及环境风险评估[D]. 广州: 广东工业大学, 2019.
- [19] Peng H, Chen Y L, Weng L P, Ma J, Ma Y L, Li Y T, Islam M S. Comparisons of heavy metal input inventory in agricultural soils in North and South China: a review. Science of the Total Environment, 2019, 660: 776-786.
- [20] 刘楚藩,肖荣波,黄飞,戴伟杰,高中原,徐美丽,温小情.土壤与大气双重胁迫下苋菜幼苗对铅的累积与生理响应.生态学报,2020, 40(24):9174-9183.
- [21] Liu C F, Xiao R B, Huang F, Yang X J, Dai W J, Xu M L. Physiological responses and health risks of edible amaranth under simultaneous stresses of lead from soils and atmosphere. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 223: 112543.
- [22] 朱光旭,肖化云,郭庆军,张忠义,杨曦,孔静.铅锌尾矿污染区 3 种菊科植物体内重金属的亚细胞分布和化学形态特征.环境科学, 2017,38(7):3054-3060.
- [23] 陈志良,黄玲,周存宇,钟松雄,王欣,戴玉,蒋晓璐.广州市蔬菜中重金属污染特征研究与评价.环境科学,2017,38(1):389-398.
- [24] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版, 2000.
- [25] Schreck E, Foucault Y, Sarret G, Sobanska S, Cécillon L, Castrec-Rouelle M, Uzu G, Dumat C. Metal and metalloid foliar uptake by various plant species exposed to atmospheric industrial fallout; mechanisms involved for lead. Science of the Total Environment, 2012, 427/428; 253-262.
- [26] Eichert T, Kurtz A, Steiner U, Goldbach H E. Size exclusion limits and lateral heterogeneity of the stomatal foliar uptake pathway for aqueous solutes and water-suspended nanoparticles. Physiologia Plantarum, 2008, 134(1): 151-160.
- [27] Fernández V, Bahamonde H A, Javier Peguero-Pina J, Gil-Pelegrín E, Sancho-Knapik D, Gil L, Goldbach H E, Eichert T. Physico-chemical properties of plant cuticles and their functional and ecological significance. Journal of Experimental Botany, 2017, 68(19): 5293-5306.
- [28] Bhanot V, Fadanavis S V, Panwar J. Revisiting the architecture, biosynthesis and functional aspects of the plant cuticle: there is more scope. Environmental and Experimental Botany, 2021, 183: 104364.
- [29] Fernández V, Gil-Pelegrín E, Eichert T. Foliar water and solute absorption: an update. The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology, 2021, 105(4): 870-883.
- [30] Schreck E, Bonnard R, Laplanche C, Leveque T, Foucault Y, Dumat C. DECA: a new model for assessing the foliar uptake of atmospheric lead by vegetation, using *Lactuca sativa* as an example. Journal of Environmental Management, 2012, 112: 233-239.
- [31] Bondada B R, Tu S X, Ma L Q. Absorption of foliar-applied arsenic by the arsenic hyperaccumulating fern (*Pteris vittata* L.). Science of the Total Environment, 2004, 332(1/2/3): 61-70.
- [32] 王梦,段德超,徐辰,于明革,施积炎.茶树根细胞壁不同组分对铅的吸附性能及其功能团的傅里叶红外光谱学研究.生态学报,2015, 35(6):1743-1751.
- [33] 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.应用生态学报, 2014, 25(1): 287-296.
- [34] Huang L, Zhang H Q, Song Y Y, Yang Y R, Chen H, Tang M. Subcellular compartmentalization and chemical forms of lead participate in lead tolerance of *Robinia pseudoacacia* L. with *Funneliformis mosseae*. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 517.
- [35] 谢倚慧,张明华,熊瑞,李婷,蒲玉琳,徐小逊,李云,张世熔,贾永霞.马缨丹在镉、铅、锌复合胁迫下的耐性和解毒机制.生态与农村 环境学报,2021,37(9):1209-1217.
- [36] 李影, 褚磊. 节节草(Hippochaete ramosissimum)对 Cu 的吸收和积累. 生态学报, 2008, 28(04): 1565-1572.
- [37] 徐劼, 于明革, 陈英旭, 傅晓萍, 段德超. 铅在茶树体内的分布及化学形态特征. 应用生态学报, 2011, 22(4): 891-896.
- [38] Zulfiqar U, Farooq M, Hussain S, Maqsood M, Hussain M, Ishfaq M, Ahmad M, Anjum M Z. Lead toxicity in plants: impacts and remediation. Journal of Environmental Management, 2019, 250: 109557.
- [39] 肖志华,张义贤,张喜文,李萍.外源铅、铜胁迫对不同基因型谷子幼苗生理生态特性的影响.生态学报,2012,32(3):889-897.
- [40] 尚誉, 桑楠. 煤矸石堆积区周边土壤重金属污染特征与植物毒性. 环境科学, 2022, 43(7): 3773-3780.
- [41] Maleki M, Ghorbanpour M, Kariman K. Physiological and antioxidative responses of medicinal plants exposed to heavy metals stress. Plant Gene, 2017, 11: 247-254.
- [42] Venkatachalam P, Jayalakshmi N, Geetha N, Sahi S V, Sharma N C, Rene E R, Sarkar S K, Favas P J C. Accumulation efficiency, genotoxicity and antioxidant defense mechanisms in medicinal plant Acalypha indica L. under lead stress. Chemosphere, 2017, 171: 544-553.
- [43] Abdelkrim S, Jebara S H, Jebara M. Antioxidant systems responses and the compatible solutes as contributing factors to lead accumulation and tolerance in *Lathyrus sativus* inoculated by plant growth promoting rhizobacteria. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 166: 427-436.
- [44] 李晶,徐玉玲,黎桂英,冯巩俐,蒋晓煜,司廉邦,杨颖丽.兰州市交通道路主要乔灌木植物叶片重金属积累及生理特性的分析.生态环境学报,2019,28(5):999-1006.
- [45] 韩张雄,和文祥,王曦婕,熊英. 钼作用下油菜对镉胁迫的生理生化响应及其对镉吸收的特征. 环境科学学报, 2020, 40(9): 3463-3472.
- [46] Kumar A, Prasad M N V. Plant-lead interactions: transport, toxicity, tolerance, and detoxification mechanisms. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 166: 401-418.
- [47] 王悟敏, 匡雪韶, 胡佳瑶, 刘文胜. 锰胁迫对盐肤木种子萌发、幼苗生长及理化特性的影响. 生态学报, 2022, 42(9): 3706-3715.
- [48] 刘梅,李祖然,张光群,王吉秀,祖艳群.野生小花南芥体内 AsA-GSH 循环对土壤 Cd、Pb 胁迫的响应.农业资源与环境学报,2021,38 (4):558-569.