

阴离子型表面活性剂(LAS)对水生植物生理生化特性的影响

刘红玉¹, 周朴华², 杨仁斌¹, 廖柏寒¹, 鲁双庆³, 余革中¹

(1. 湖南农业大学环境科学系, 湖南 长沙 410128, E – mail: hongyululu@ 263. net; 2. 湖南农业大学生物技术系;
3. 湖南农业大学水产系)

摘 要: 采用室内培养实验方法,以植物的生长量、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性变化作为观测指标,研究了直链烷基苯磺酸钠(LAS)对稀脉浮萍 (*Lemna paucicostata* L.)、满江红 (*Azolla imbricata* (Roxb.) Nakai)、水网藻 (*Hydrodictyon* sp.) 生理生化特性的影响。结果表明,当 LAS 浓度超过 1 mg · L⁻¹ 时,稀脉浮萍的生长受到严重抑制,在 10、100 mg · L⁻¹ 下,出现负增长。CAT、POD 活性变化与细胞受伤程度直接相关,可作为植物分子生态毒理学指标。LAS 浓度在 0—10 mg · L⁻¹ 范围内,随着浓度升高,酶活性增加,清除细胞中由于 LAS 产生的过氧化物伤害;当浓度超过 10 mg · L⁻¹ 时,植物受到明显损伤,甚至死亡。同时发现,CAT、POD 活性水平与植物的类群直接相关,被子植物稀脉浮萍的酶活性比蕨类植物满江红的高,藻类植物水网藻酶活性最低。

关键词: 水生植物;表面活性剂;过氧化氢酶;过氧化物酶

中图分类号: X503. 23 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000 – 0267(2001)05 – 0341 – 04

Effect of Anionic Surfactant Linear Alkylbenzene Sulfonate (LAS) on Physiological and Biochemical Characteristics of Aquatic Plants.

LIU Hong-yu¹, ZHOU Pu-hua², YANG Ren-bin¹, LIAO Bo-han¹, LU Shuang-qing³, YU Ping-zhong¹

(1. Department of Environmental Science, Hunan Agricultural University, Changsha, 410128 China

E – mail: hongyululu@ 263. net; 2. Department of Biotechnology; 3. Department of Fishery, Hunan Agricultural University)

Abstract: Effects of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) on physiological and biochemical characteristics of *Lemna paucicostata* L., *Azolla imbricata* (Roxb.) Nakai and *Hydrodictyon* sp. was studied by several test indices: biomass increase, catalase (CAT) activity and peroxides (POD) activity. The results showed that the biomass increase of *Lemna paucicostata* was seriously inhibited when concentration of LAS exceeded 1 mg · L⁻¹, and it was a negative number at concentrations of 10 and 100 mg · L⁻¹. The changes of activities for CAT and POD directly related to injured degree of plant cells, which may be used as an index for plant molecular ecotoxicology. The activities of CAT and POD increased with the concentrations of LAS in a rang of 0—10 mg · L⁻¹. Peroxides could be cleared away. However, when the concentration of LAS exceeded 10 mg · L⁻¹, the injury on the plants was obvious, even to death. In the meantime, the level of CAT and POD activities of plants responded to the level of their evolution. Both CAT and POD activities of angiospermae *Lemna paucicostata* L. were much higher than that of pteridophyta *Azolla imbricata*, in which the enzyme activities of algae *Hydrodictyon* sp. were the lowest.

Keywords: aquatic plant; surfactant; catalase; peroxides

表面活性剂是一类非常重要的精细化工产品,几乎渗透了所有的工业领域,而且它的应用范围还在继续拓展^[1],消耗量也日趋增大。由于它们随着生活污水和工业废水的排放而进入环境,常造成水体污染并出现泡沫横飞的景象。对于表面活性剂的污染,国内

收稿日期: 2000 – 10 – 25

作者简介: 刘红玉(1965—),女,湖南农业大学环境科学系博士生,讲师,主要从事环境生物学、生态毒理学、生物监测等方面的教学与科研工作。

外广大学者给予了高度重视^[2-5],但对水生植物的毒害机制,对生物多样性的影响方面的研究报道却十分缺乏。过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)是植物体内的保护酶^[6],能清除细胞中活性氧代谢产生的过氧化物,维持细胞的正常功能^[7]。本文以直链烷基苯磺酸钠(LAS)为对象,以植物的生长量、活性变化作为观测指标,研究了阴离子表面活性剂对水生植物损伤的生理生化机制,为正确评价表面活性剂对水生植

物的影响提供科学依据,同时也将丰富分子生态毒理学内容。

1 材料和方法

1.1 实验材料

稀脉浮萍 (*Lemna paucicostata* L.)、满江红 (*Azolla imbricata* (Roxb.) Nakai)、水网藻 (*Hydrodictyon* sp.) 均采自未受污染的较清洁池塘和水沟中,经洗净、挑选后,置经曝气过的自来水中预培养 2 d,进行实验。阴离子型表面活性剂:采用直链烷基苯磺酸钠 (LAS),化学纯。

1.2 实验方法

1.2.1 培养条件:稀脉浮萍、满江红采用玻璃缸,加 Sachs 完全培养液 6 500 mL;水绵采用 500 mL 玻璃瓶,加 Benecke's 藻类培养液 400 mL^[8],自然光照下,(20±2)℃ 的温度下进行室内培养实验。LAS 试验浓度设计为 0、0.1、1.0、10.0、50.0、100 mg·L⁻¹,同时设有一个平行组。

1.2.2 LAS 对植物生长的影响:在上述培养条件下,每缸加经清洗、吸去表面水分的稀脉浮萍 6 g,培养 5 d,称鲜重,减去初始重量,即得生长量。

1.2.3 CAT 活性测定:采用硫代硫酸钠滴定法^[9]。CAT 活性单位定义为:在 20℃ 条件下,1 min 内 1 g 材料分解过氧化氢的微摩尔数。将各浓度下植物的 CAT 活性值除以对照组的 CAT 值,即得该浓度下植物 POD 比活性。

1.2.4 POD 活性测定:采用愈创木酚法^[9]。POD 活性单位定义为:20℃ 下,1 g 分析物质所含酶在 1 min 内氧化愈创木酚的微摩尔数。将各浓度下植物的 POD 活性除以对照组,即得该浓度下植物 POD 比活性。

2 结果与讨论

2.1 LAS 对水生植物过氧化氢酶活性的影响

图 1 可见,在 LAS 浓度为 0.1、1.0 mg·L⁻¹ 时,稀脉浮萍 CAT 酶活性与对照十分接近;说明损伤程度低;在 LAS 为 10 mg·L⁻¹ 时,稀脉浮萍在 24 h 内出现应急反应,CAT 活性在第 1 d 比较高,但随着时间的延长,毒害加剧,细胞受损,酶活性很快下降,以后有所恢复;在 100 mg·L⁻¹ 的高浓度 LAS 胁迫下,细胞严重受损,CAT 活性非常低,第 3 d 后,稀脉浮萍已基本死亡,组织解体,因此停止了 CAT 活性测定。

在 LAS 胁迫下,满江红和水网藻也表现出相同的变化趋势(见图 2、3)。LAS 浓度为 0.1、1 mg·L⁻¹ 时,CAT 酶的比活性在 1 上下波动,植物的生理活动基本正常;LAS 浓度为 10.0 mg·L⁻¹ 时,对满江红 CAT 比活性无影响,而水网藻的 CAT 比活性则明显高于正常状态;当 LAS 浓度为 50.0 mg·L⁻¹ 时,CAT 比活性急剧下降,在水网藻中表现得更为明显,水网藻细胞膜受到伤害,细胞的结构和功能受到破坏(另文发表),植物的生长被抑制,并很快死亡。而稀脉浮萍、满

图 2 不同浓度(mg·L⁻¹)下满江红 CAT 比活性随时间的变化
Figure 2 Variation of CAT activities of *Azolla imbricata* (Roxb.) with time under various concentrations of linear alkylbenzene sulfonate (LAS)

图 1 不同 LAS 浓度(mg·L⁻¹)下稀脉浮萍
CAT 活性随时间的变化曲线

Figure 1 Changeable curve of CAT activities of *Lemna paucicostata* L. with time under various concentrations of linear alkylbenzene sulfonate (LAS)

图 3 不同浓度(mg·L⁻¹)下水网藻 CAT 比活性随时间的变化
Figure 3 Variation of CAT activities of *Hydrodictyon* sp. with time under various concentrations of linear alkylbenzene sulfonate (LAS)

江红的反应没有这么强烈,说明稀脉浮萍、满江红对 LAS 的抗性比水网藻强。

可以证实,正常状态下,CAT 酶能清除细胞中由于代谢活动产生的过氧化物,使过氧化物维持在较低水平^[6]。当植物受到 LAS 胁迫时,细胞膜上会产生过量的超氧自由基,形成大量的 H₂O₂,由此诱导细胞产生大量的 CAT 酶,清除过量的 H₂O₂,使植物生长维持正常。但当 LAS 浓度超过一定值时(50.0 mg · L⁻¹),细胞膜上的超氧自由基数量太高,超出了植物本身的保护酶系统能清除的水平,结果使藻在 4 h 内就基本死亡。

2.2 LAS 对水生生物过氧化物酶活性的影响

表 1 显示,当 LAS 浓度小于 1.0 mg · L⁻¹ 时,诱导 POD 酶产生,活性有些增加,与细胞中的其它保护酶一起,清除细胞中的过氧化物,维持细胞的正常生理机能。但当 LAS 浓度为 10 mg · L⁻¹ 时,稀脉浮萍和满江红的抗性有差异。在稀脉浮萍中,酶的活性较高,清除自由基,维持平衡;而在满江红,酶活性已急剧降低,说明细胞的正常生理功能已经受到破坏,这一点在满江红受伤症状上得到了证实:根变灰白,植株浮力下降。LAS 浓度等于 50 mg · L⁻¹ 时,POD 活性很低,细胞受到严重破坏。水网藻的 POD 酶活性非常低,接近于 0,故未标出。

2.3 相同 LAS 浓度下不同植物过氧化氢酶、过氧化

物酶活性比较

不同植物,在环境污染物胁迫下,保护酶系统活性水平有明显的差异。图 4、5 显示,在 LAS 为 0、10 mg · L⁻¹ 时,植物 CAT、POD 酶的活性水平沿着浮萍、满江红、水网藻的顺序而显著下降(水网藻的 POD 酶活性太低而无法测出,因此未在图中标明),而它们在进化水平上也是沿着稀脉浮萍(被子植物门)、满江红(蕨类植物门)、水网藻(绿藻门)的顺序而逐渐降低。因此发现,在所研究的 3 种植物中,进化水平越高等,其生理功能发育得越完整,保护酶系统也越完备,抵抗环境污染的能力就越大。这一规律是否有普遍意义,有待进一步证实。

2.4 LAS 对水生生物生长的影响

选定稀脉浮萍为对象,测定了 LAS 对水生生物生长的影响。LAS 对水生生物生长的影响与 LAS 的浓度有很大的关系(图 6)。当 LAS 浓度小于 1 mg · L⁻¹ 时,LAS 的抑制作用较小,曲线比较平坦,略有下降;但当 LAS 浓度大于 1 mg · L⁻¹ 时,LAS 就显著抑制稀脉浮萍的生长,生长量显著下降。培养 5 d 时,在 LAS 10、100 mg · L⁻¹ 浓度下,稀脉浮萍出现了负增长,100 mg · L⁻¹ 浓度下稀脉浮萍已基本死亡。

在环境污染物的毒理学检测中,常将实验生物的死亡作为观测指标^[11],因此在亚致死程度下,无法判断受伤程度。细胞 CAT、POD 活性变化,是一种比较

表 1 不同 LAS 浓度胁迫下,稀脉浮萍、满江红 POD 活性随时间的变化

Table 1 Change of POD activities of *Lemna paucicostata* L. and *Azolla imbricata* (Roxb.) under the stress of various concentrations of LAS

培养时间 /d	稀脉浮萍					满江红				
	0	0.1	1.0	10	100/mg · L ⁻¹	0	0.1	1.0	10	50/mg · L ⁻¹
1	155.17	177.94	183.00	239.51	120.60	93.37	100.76	97.83	69.58	51.44
2	116.38	140.23	178.20	156.30	82.01	63.85	75.90	99.51	22.77	43.68
3	280.83	315.41	304.44	291.79	150.11	90.13	96.14	93.61	37.11	30.36
4	263.96	246.25	259.75	251.31	死亡	69.15	79.27	88.55	68.31	41.59
5	226.01	231.07	246.25	240.35	死亡	10.12	46.82	36.26	44.09	死亡

图 4 LAS 0—10.0 mg · L⁻¹ 的浓度下,植物经 3 d 培养 CAT 活性比较

Figure 4 Comparison of CAT activities of the plants with incubation of 3 days at the LAS concentrations of 0—10 mg · L⁻¹

图 5 LAS 0—50.0 mg · L⁻¹ 浓度下,培养 3 d 的植物 POD 活性比较

Figure 5 Comparison of POD activities of the plants with incubation of 3 days at the LAS concentrations of 0—50 mg · L⁻¹

图6 稀脉浮萍生长量随LAS浓度的变化

Figure 6 Variation of the biomass for *Lemna paucicostata* L. with the concentrations of LAS

理想的分子生态毒理学指标,可在短时间内较灵敏地指示植物受伤程度。在LAS浓度为 $0\text{--}10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内,植物形态基本正常,未见可见伤害症状,但细胞CAT、POD活性在培养的第1 d就呈现升高趋势(图1—5,表1),5 d后,植物的生长量为负增长(图6)。笔者推断, $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的LAS浓度,对水生植物已经产生了较大的影响,但由于植物本身的保护酶系统的作用,将这种影响程度降低,没有导致细胞结构的严重损坏。但生理机能已经受损,光合作用速率下降,使净生产量为负值,生物量降低。超过此浓度,则膜上的过氧化物积累过多,结构严重破坏,细胞内容物外逸,细胞解体,死亡。

3 小结

3.1 表面活性剂对水生生物生长的影响与表面活性剂的浓度存在剂量—效应关系。当LAS浓度小于 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,对稀脉浮萍生长的抑制作用较小,但超过此浓度,抑制作用急剧增加,植物可能出现负增长,细胞的组织结构受到损伤。严重时,细胞乃至整个植株死亡。

3.2 在阴离子型表面活性剂污染下,水生植物CAT、POD活性变化与LAS浓度存在着剂量—效应关系。

当LAS浓度为 $0\text{--}10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,诱导CAT、POD活性升高,清除细胞中由于表面活性剂伤害产生的超氧自由基,维持细胞的正常生理功能。但若LAS浓度太高($10.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),产生的过氧化物太多,则会超出保护酶消除过氧化物的能力范围,使细胞受到伤害,甚至死亡。细胞CAT、POD的活性变化,在亚致死浓度下,可在短时间内较灵敏地指示植物受伤程度,因此是一种比较理想的分子生态毒理学指标。

3.3 植物保护酶活性水平与植物的类群有关。被子植物稀脉浮萍比低级的蕨类植物满江红的CAT、POD酶活性水平高,而作为低等植物的藻类水网藻,酶的活性水平最低,水网藻的POD酶活性基本为0。

参考文献:

- [1] 刘红玉,周朴华,杨仁斌.表面活性剂促进疏水性有机污染物的生物降解[J].环境科学进展,1999,12(增刊):19-23.
- [2] 栾升,倪晋山.表面活性剂和 Ca^{2+} 对大麦根质膜透性的作用[J].植物生理学报,1987,13(2):168-173.
- [3] 罗立新,孙铁珩.Cd和表面活性剂复合污染对小麦叶片若干生理性状的影响[J].应用生态学报,1998,9(1):95-100.
- [4] 官景渠,李济生.表面活性剂在环境中的生物降解[J].环境科学,1994,15(2):81-85.
- [5] Michael A Lewis. Chronic and sub-lethal toxicities of surfactants to aquatic animals: a review and risk assessment[J]. Wat Res, 1991, 25(1): 101-113.
- [6] 张福锁,等.环境胁迫与植物营养[M].北京:北京农业大学出版社,1993.
- [7] 李晶,阎秀峰,祖元刚.低温胁迫下红松幼苗活性氧的产生及保护酶的变化[J].植物学报,2000,42(2):148-152.
- [8] R C 麦克林, W R 艾文梅库克著.杨作民,黄河译.植物技术手册[M].北京:科学出版社,1958.
- [9] X H 波钦诺克.径家海,丁钟荣译.植物生物化学分析方法[M].北京:科学出版社,1981.
- [10] 国家环保局.急性毒性试验.环境监测技术规范,第四册,生物监测部分,1986.