

模拟酸雨和 Zn 对四季豆根与叶酶活性的影响

余苹中^{1,2}, 廖柏寒¹, 宋稳成³

(1. 湖南农业大学环境科学系, 湖南 长沙 410128; 2. 北京市农林科学院植保环保研究所, 北京 100089; 3. 农业部农药检定所, 北京 100026)

摘要: 采用盆栽方法, 研究了模拟酸雨和 Zn 复合污染对四季豆根、叶活性酶的影响。结果表明, 两种污染的复合使四季豆根、叶 MDA 含量大于这二者中任何一种的单一污染。相同酸雨下, MDA 的含量随着 Zn 浓度的增加而增加, 并且表现出显著的浓度-效应关系, MDA 含量的变化能较好地反映四季豆被酸雨和 Zn 污染的状况。当酸雨强度和 Zn 浓度增加时, 四季豆根、叶 SOD 活性呈下降的趋势; 但酸雨和 Zn 的胁迫, 使四季豆叶中 POD 的活性呈增加的趋势, 根系 POD 的活性则先增加后下降, 说明同一种作物不同的部分对酸雨和 Zn 的反应不同。

关键词: 模拟酸雨; Zn; 四季豆; 酶活性

中图分类号: S131.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2004)05-0917-04

Effects of Simulated Acid Rain and Zn on Protective Enzyme Activity in the Leaves and Roots of *Phaseolus vulgaris L*

YU Ping-zhong^{1,2}, LIAO Bo-han², SONG Wen-cheng³

(1. Institute of Agro-Environmental Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Institute for Plant Protection and Environment Protection, Academy of Beijing Agricultural Science, Beijing 100089, China; 3. Institute for the Control of Agrochemicals, Ministry of Agriculture, Beijing 100026, China)

Abstract: Effects of simulated acid rain and Zn on activity of enzyme in the leaves and roots of *Phaseolus vulgaris L* were studied. The contents of MDA in the roots and leaves of *Phaseolus vulgaris L* compound polluted by simulated acid rain and Zn were higher than that single polluted by either simulated acid rain or soil Zn. The contents of MDA increased with the increase of concentrations of soil Zn at the same pH value, showing a striking concentration-response relationship, which, therefore, can be reflected well *Phaseolus vulgaris L* polluted by simulated acid rain and Zn. The activity of SOD in the roots and leaves decreased with the decrease of pH value and the increase of the concentration of Zn, while the activity of POD increased in the leaves and increased first then decreased afterwards in the root system under the stress of simulated acid rain and Zn, which implied that different organs of plants showed varied responses to simulated acid rain and Zn.

Keywords: simulated acid rain; zincum; *Phaseolus vulgaris L*; activity of enzyme

Zn 是植物生长的一种必需元素, 但过量的 Zn 也将对植物产生毒害作用。迄今, 国内有关 Zn 作为污染因子影响植物生物学效应的研究报道很少。国外的一些研究则着重于植物对 Zn 的吸收、分配和累积方面^[1,2]。近年来, 许多学者从事酸雨或土壤重金属对陆生植物地上器官的急性伤害和微观伤害机理方面的

研究^[3-6], 对作物根系生理及酶活性方面的研究也较多^[7-10], 然而有关酸雨和重金属复合污染对作物根与叶酶活性的影响却尚未见报道。本试验以模拟酸雨和 Zn 作为胁迫因子, 研究在它们共同的作用下, 对四季豆生长过程中根、叶两部分中超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)和过氧化物酶(Peroxidase, POD)的活性以及丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量的影响, 为分析评价模拟酸雨和 Zn 的环境安全性, 探讨它们对细胞分子水平的毒性机理提供科学依据。

收稿日期: 2004-03-24

基金项目: 教育部科学技术研究重点项目([2000]156-00209); 科技部中法先进研究计划项目(PRAE00-04)

作者简介: 余苹中(1976—), 女, 硕士, 主要从事环境生物毒理学方向的研究。

1 材料与方法

1.1 材料和试验设计

试验材料为四季豆 (*Phaseolus vulgaris* L.), 由上海长征种子生产公司提供。处理方法为: 种子消毒, 在土壤中发芽生长, 长出 3 片真叶后, 选择均匀一致的幼苗, 移栽至塑料盆 (高 20 cm × 宽 25 cm) 中; 每盆装过 5 mm 筛孔的非重金属污染菜园土壤 5 kg, 统一施菜饼肥, 每盆 20 g, 盆中施入 ZnCl₂, 使盆中 Zn (以纯 Zn 计) 的浓度分别为 0、20、60、150、300 mg · kg⁻¹。根据

表 1 模拟酸雨溶液 pH 值及离子浓度 (μmol · L⁻¹)

Table 1 The pH values and ion concentrations of simulated acid rain (μmol · L⁻¹)

酸雨代号	pH	SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻	Ca ²⁺	NH ₄ ⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺
AR0	5.6	0	0	0	0	0	0	0
AR1	4.5	53.75	13.87	34.93	38.34	3.29	4.86	9.13
AR2	3.5	107.50	27.74	69.86	76.67	6.58	9.72	18.26
AR3	3.0	215.00	55.48	139.72	153.34	13.16	19.44	36.52

1.2 测试指标及方法

MDA 含量采用南京建成生物工程研究所研制的丙二醛含量测定试剂盒 (硫代巴比萘酸法)^[12] 测定, SOD 活性采用南京建成生物工程研究所研制的超氧化物歧化酶活性测定试剂盒 (黄嘌呤氧化酶法)^[13] 测定, POD 活性根据波钦诺克方法^[14] 测定。酶的相对值为各处理下酶活性除以对照酶活性。

2 结果与分析

2.1 模拟酸雨和 Zn 对四季豆根、叶 MDA 含量的影响

表 2 显示, 四季豆根、叶 MDA 含量随着 Zn 浓度的增加以及酸雨 pH 值的下降而呈增加的趋势。当 Zn 的浓度为 300 mg · kg⁻¹ 时, 没有酸雨污染的情况下, 四季豆根、叶 MDA 含量分别为空白对照的 295%、391%, 而 AR3 的酸雨下, 四季豆根、叶 MDA 含量分别为空白对照的 121%、210%。这说明 Zn 或者酸雨的单一污染使四季豆根、叶膜脂过氧化加剧。当 Zn 浓度为 300 mg · kg⁻¹ 时, AR3 的酸雨下, 四季豆根、叶

长沙地区酸沉降水平^[11] 配制模拟酸雨 (表 1): AR2 (pH3.5) 的化学组成与目前长沙地区酸雨组成相近; AR0 (pH5.6) 为蒸馏水, 用以对照; AR1 (pH4.5) 的离子浓度为 AR2 的一半, 表示未来酸雨改善的情况; AR3 (pH3.0) 的离子浓度为 AR2 的 1 倍, 表示未来酸雨加重的情况。四季豆移栽入盆, 每盆 10 株, 移栽 4 d 后开始喷洒模拟酸雨, 每 3 d 喷洒一次, 每次 242 mL · 盆⁻¹ (根据长沙地区年降雨量约为 1 500 mm, 且 40% 被蒸发掉计算而得), 30 d 后, 分别取植株根、叶部分测定, 数据为 4 次重复试验的平均值。

MDA 含量分别为对照的 566%、913%, 这又说明酸雨和 Zn 对四季豆根、叶 MDA 的影响大于二者中任何一种的单一污染, 酸雨增加了四季豆根、叶的膜脂过氧化。

本试验中, 在模拟酸雨的胁迫下, 四季豆根、叶 MDA 含量与 Zn 处理浓度呈正相关。以四季豆根、叶 MDA 含量为因变量 (y), Zn 的处理浓度为自变量 (x), 求得 AR3 的酸雨胁迫下, 四季豆叶中 MDA 含量与 Zn 浓度的回归方程为 $y = 0.0032x + 2.7042$, 相关系数 $r = 0.997$, 叶中 MDA 含量随着 Zn 浓度的增加而增加, 呈极显著相关 ($r > r_{0.01}$); 根系中 MDA 含量与 Zn 浓度的回归方程为 $y = 0.0083x + 0.7498$, $r = 0.996$, 呈极显著相关 ($r > r_{0.01}$)。研究表明^[15], 在长期的进化过程中, 植物亦相应地产生了多种抵抗重金属毒害的机制, 但是当细胞内重金属离子使这种防御体系达到饱和后, 在细胞中游离的重金属离子就会通过不同的途径干扰和破坏细胞的正常代谢过程, 大量的活性氧自由基引发膜中不饱和脂肪酸产生过氧

表 2 模拟酸雨和 Zn 对四季豆叶、根 MDA 含量的影响

Table 2 Effects of simulated acid rain and Zn on contents of MDA in the leaves and roots of *Phaseolus vulgaris* L.

Zn 处理浓度 /mg · kg ⁻¹	根				叶			
	AR0	AR1	AR2	AR3	AR0	AR1	AR2	AR3
0	0.56	0.59	0.63	0.68	1.33	1.82	2.50	2.79
20	0.61	0.65	0.71	0.92	1.22	1.67	2.69	2.91
60	0.83	0.90	0.98	1.24	2.41	2.71	3.50	4.82
150	1.26	1.68	1.85	2.14	3.23	4.11	5.26	7.84
300	1.65	2.35	2.85	3.17	5.20	7.28	8.96	12.14

化反应,破坏膜的结果和功能。本试验中,Zn 浓度越高,MDA 的积累越多,二者呈密切的正相关。植物 MDA 含量的变化很好地反映了环境污染的状况。

2.2 模拟酸雨和 Zn 对四季豆根、叶 SOD 比活性的影响

图 1(左)显示,模拟酸雨和 Zn 胁迫下四季豆根系 SOD 比活性呈下降趋势。当 Zn 浓度大于 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,AR1、AR2 的酸雨下,SOD 比活性大于 AR0 时 SOD 的比活性,此时四季豆根系氧化应急保护植物免受活性氧的伤害,但当 Zn 浓度大于 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,AR1、AR2 的酸雨下,SOD 比活性小于 1,植物细胞受到伤害。从图 1 可以明显看出,在 Zn 的污染下,AR3 的胁迫使四季豆根系 SOD 活性下降比 AR1 和 AR2 大,说明 AR3 对四季豆的伤害大于 AR1 和 AR2。

图 1(右)显示,当酸雨强度为 AR1、AR2 时,Zn 污染下,四季豆叶中 SOD 比活性在 1 上下波动;当 Zn 浓度小于 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,SOD 比活性变化不大;当 Zn 浓度大于 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,SOD 比活性下降,并且小于 1,此时植物细胞受到伤害;而当酸雨强度为 AR3 时,SOD 比活性随着 Zn 浓度的增加而下降,其值小于 1,四季豆的生理活动受到严重破坏。

在生物系统的进化过程中,细胞内形成了防御活性氧毒害的保护机制。SOD 酶的主要功能是清除 $\text{O}_2^- \cdot$,当环境污染物进入植物体内后,自由基的产生

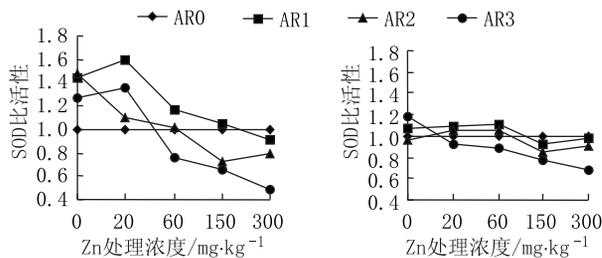


图 1 模拟酸雨和 Zn 对四季豆根(左)、叶(右) SOD 比活性的影响

Figure 1 Effects of simulated acid rain and Zn on relative activities of SOD in the roots(left)and leaves (right) of *Phaseolus vulgaris* L.

已经超出了保护酶的清除范围,因而对植物产生毒害作用。近 20 a 来,越来越多的事实^[16,17]证明环境引起的自由基的累积与膜伤害有密切的关系,自由基伤害植物的机理之一,就在于它能够启动膜脂过氧化或膜脂脱脂作用,从而破坏膜结构。本试验中,在酸雨作用下,当 Zn 浓度小于 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,四季豆根、叶 SOD 活性比对照高,其原因可能是 Zn 与酸雨进入植物体内诱发 $\text{O}_2^- \cdot$ 生成,SOD 活性提高是相应于 $\text{O}_2^- \cdot$ 增加的一种应急解毒措施,从而使细胞免受酸雨和 Zn 的毒害作用。这与该 Zn 浓度下,四季豆根、叶 MDA 含量变化不大是一致的。但当 Zn 浓度增加时,四季豆受到严重损伤,活性氧的累积已经超出了 SOD 的清除范围,SOD 活性下降,而 MDA 含量迅速上升。

2.3 模拟酸雨和 Zn 对四季豆根、叶 POD 活性的影响

模拟酸雨和 Zn 胁迫对四季豆根、叶 POD 活性的影响见表 3。四季豆根系中 POD 活性随着 Zn 浓度的增加先升高后下降,当 Zn 浓度为 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,POD 活性达到最大值,叶中 POD 活性则随着 Zn 浓度的增加而升高。相同 Zn 浓度处理时,AR1 的酸雨下,四季豆根系 POD 活性达到最大值,以后随着 pH 值的下降 POD 活性下降,叶中 POD 活性则随着 pH 值的下降一直下降。这说明同一种作物不同的部分对酸雨和 Zn 的抗性不同。

从表 3 可以看出,四季豆根系中 POD 活性的最大值出现在 Zn 浓度为 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、AR1 的酸雨胁迫下,这可能是 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 Zn 以及 AR1 的酸雨对植物 POD 活性的影响是一个阈值。

3 小结

两种污染的复合使四季豆根、叶 MDA 含量大于这二者中任何一种的单一污染。四季豆叶中 MDA 含量明显比根系中 MDA 含量增加快,说明酸雨和 Zn 胁迫使四季豆叶的膜脂化程度大于根系。相同酸雨下,MDA 含量随着 Zn 浓度的增加而增加,并且呈密切的正相关。MDA 含量的增加较好地反映了四季豆被酸

表 3 模拟酸雨和 Zn 对四季豆根、叶 POD 活性的影响($\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)

Table 3 Effects of simulated acid rain and Zn on activities of POD in the roots and leaves of *Phaseolus vulgaris* L. ($\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)

Zn 处理浓度 / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	根				叶			
	AR0	AR1	AR2	AR3	AR0	AR1	AR2	AR3
0	408.72	487.35	432.33	408.61	274.98	206.19	183.69	153.70
20	749.76	974.69	551.17	517.34	299.91	348.64	239.92	209.93
60	652.29	749.76	442.36	344.89	404.87	389.88	224.93	258.67
150	637.30	667.29	434.86	277.41	453.61	401.12	329.90	273.66
300	569.82	572.82	423.62	266.17	509.84	412.37	359.89	329.90

雨和 Zn 污染的状况。在酸雨和 Zn 的胁迫下,四季豆根、叶 SOD 活性呈下降的趋势,但叶中 POD 的活性呈增加的趋势,根系 POD 活性则先增加后下降,说明同一种作物的不同部分对酸雨和 Zn 复合作用的抗性不同。

参考文献:

- [1] Erickson W P. Tests for bioequivalence of control media and test media in studies of toxicity[J]. *Environ Toxicol Chem*, 1995, 14: 1247 - 1256.
- [2] Newman M C. Time - to - event analyses of ecotoxicology data[J]. *Ecotoxicology*, 1996, 5: 187 - 196.
- [3] 崔喜艳,陈展宇,王思远,等. 土壤 pH 值对烤烟叶片内超氧化物歧化酶活性及丙二醛含量的影响[J]. *吉林农业大学学报*, 2001, 23(3): 13 - 14.
- [4] 李荣春. Cd、Pb 及其复合污染对烤烟叶片生理生化及细胞亚显微结构的影响[J]. *植物生理学报*, 2000, 24(2): 238 - 242.
- [5] 任安芝,高玉葆,刘 爽. 青菜幼苗内几种保护酶的活性对 Pb、Cd、Cr 胁迫的反应研究[J]. *应用生态学报*, 2002, 13(4): 510 - 512.
- [6] 孔祥生,张妙霞,郭秀璞. Cd²⁺ 毒害对玉米幼苗细胞膜透性及保护酶活性的影响[J]. *农业环境保护*, 1999, 18(3): 133 - 134.
- [7] 秦天才,吴玉树,王焕校. 镉、铅及其相互作用对小白菜根系生理生态效应的研究[J]. *生态学报*, 1998, 18(3): 320 - 325.
- [8] 黄晓华,周 青,张学伟. 酸雨对植物根系生长的胁迫效应[J]. *农业环境保护*, 2000, 19(4): 234 - 235, 247.
- [9] 许泽宏,罗 英,王 熠,等. 模拟酸雨对蚕豆根生长发育的影响[J]. *四川师范大学学报*, 2000, 23(6): 637 - 639.
- [10] 童贯和. 人工模拟酸雨致酸土壤对莴苣的硝酸还原酶活性和根系活力的影响[J]. *安庆师范学院学报*, 2002, 8(1): 88 - 90.
- [11] 吴甫成,吴君维,王晓燕,等. 湖南酸雨污染特征[J]. *环境科学学报*, 2000, 20(6): 807 - 809.
- [12] Bewley R D. Physiological aspects of desiccation tolerance[J]. *Rev Plant Physiol*, 1979, 20: 195 - 238.
- [13] 马文丽,金小弟,王转花. 镉处理对乌麦种子萌发幼苗生长及抗氧化酶的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2004, 23(1): 55 - 59.
- [14] X. H 波钦诺克著. 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.
- [15] 赵博生,毕红伟. 重金属对植物细胞的毒害作用研究进展[J]. *淄博学院学报*, 1999, 1(1): 86 - 88.
- [16] 王宝山. 生物自由基与植物膜伤害[J]. *植物生理学通讯*, 1988, 24(2): 12 - 16.
- [17] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J]. *植物生理学通讯*, 1991, 27(2): 84 - 90.