

# 氟化物危害佛手的生理生化表现

徐丽珊<sup>1</sup>, 申秀英<sup>1</sup>, 许晓路<sup>2</sup>, 蒋德安<sup>3</sup>

(1. 浙江师范大学化学与生命科学学院, 浙江 金华 321004; 2. 绍兴文理学院, 浙江 绍兴 312000; 3. 浙江大学生命科学学院, 浙江 杭州 310029)

**摘要:**采用人工 HF 熏气法,研究 HF 对金华佛手(*Citrus medica* var. *sarcodactylis* Swingle)叶中丙二醛(MDA)含量、电导率、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)及纤维素酶活性、乙烯释放速率的影响。结果表明, HF 熏气使佛手叶中 MDA 含量、电导率持续上升, SOD 活性先大幅度下降后稍有回升, POD、纤维素酶活性持续上升, 乙烯释放速率先上升后下降。

**关键词:**氟化物;佛手;生理生化

**中图分类号:**X503. 231      **文献标识码:**A      **文章编号:**1672 – 2043(2004)04 – 0653 – 04

## Physiological and Biochemical Manifestation of the Fingered Citron Polluted – Fluoride

XU Li-shan<sup>1</sup>, SHEN Xiu-ying<sup>1</sup>, XU Xiao-lu<sup>2</sup>, JIANG De-an<sup>3</sup>

(1. College of Chemistry and Life Science, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China; 2. Shaoxing College of Art and Science, Shaoxing 312000, China; 3. College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

**Abstract:** Using the method of artificial fumigation with hydrogen fluoride (HF), the effects of fluoride on fingered citron were researched. Some physiological and biochemical characters were determined, including the electric conductivity, malondiadehyde (MDA) content, superoxide dismutase (SOD) activity, peroxidase(POD) activity, cellulase activity, the rate of ethylene production in the leaves of the fingered citron (*Citrus medica* var. *sarcodactylis* Swingle). The results showed that in the treated leaf with HF fumigation, electric conductivity and MDA content increased, POD and cellulase activities increased, SOD activity decreased at beginning and increased thereafter, while, the rate of ethylene release went up at first, and decreased at last.

**Keywords:** hydrogen fluoride; fingered citron; physiological and biochemical characters

HF 对植物的毒性远大于 SO<sub>2</sub>。HF 等氟化物进入植物体内严重影响了植物的各种生理过程,对植物产生了很大的危害。叶子过早脱落是植物发生氟害时较常见的症状。已有研究表明<sup>[1,2]</sup>:氟化氢使植物叶片异常脱落,植物光合作用大幅度降低,树体营养积累严重不足,引起树木衰败甚至死亡。

佛手(*Citrus medica* var. *sarcodactylis* Swingle)为芸香科柑桔属,具有很高的观赏价值和药用价值,金华佛手是金华地区重要的经济特产。已有研究表明,金华地区为大气氟污染较严重的地区<sup>[3]</sup>,近年来大气

氟污染严重影响到金华佛手的生长、发育。因此,研究氟化物污染条件下佛手叶片生理生化表现,对提出合理抗氟措施是十分必要的。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为盆栽 2 年生佛手,购自金华森禾种业有限公司。佛手长势一致,无病虫害,常规管理。

### 1.2 试验方法

采用流动式熏气装置(熏气室长 2.5 m,宽 1 m,高 1.5 m),对佛手进行 HF 熏气试验,见图 1。每日处理 8 h(8:30—16:30),并分别于 9:30、12:30 和 15:30 左右测定熏气室中 HF 浓度并保持其稳定(约 0.5 mg · m<sup>-3</sup>),连续处理 5 d,以不熏 HF 的为对照,观察佛手叶片的伤害症状,测定叶片中 MDA 含量、电导率、

收稿日期: 2003 – 12 – 17

基金项目: 浙江省自然科学基金(301467)

作者简介: 徐丽珊(1966—),女,浙江师范大学化学与生命科学学院副教授,硕士,植物生理生化专业。

E – mail: xls@mail. zjnu. net. cn

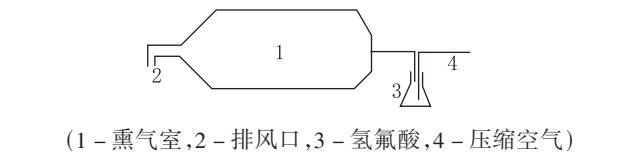


图 1 流动式熏气装置示意图

Figure 1 Experimental apparatus diagram of flowing fumigation

SOD、POD 及纤维素酶活性、乙烯释放速率。

HF 处理浓度用 CD-1 大气采样仪采样, 氟离子选择电极法测定<sup>[4]</sup>。叶片中氟含量取叶片烘干, 用氟离子选择电极法测定<sup>[4]</sup>。电导率用自顶端起第 5 张完全展开叶, 参考《现代植物生理学实验指南》所提供的方法<sup>[5]</sup>测定。MDA 含量选取自顶部第 3 张完全展开叶, 采用硫代巴比妥酸(TBA)比色法<sup>[5]</sup>测定。POD 活性选取自顶部第 4 张完全展开叶, 参考张志良的方法测定<sup>[6]</sup>。SOD 活性选取自顶部第 3 张完全展开叶, 采用氮蓝四唑法<sup>[7]</sup>测定。佛手叶片乙烯释放速率采用气相色谱法<sup>[5]</sup>测定。佛手叶纤维素酶活力取 10 个叶枕离区, 参考孟范平的方法测定<sup>[8]</sup>。

上述试验重复 3 次, 每个处理 3 盆, 试验数据用平均数 ± 标准偏差表示, 用学生氏 - t 检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 HF 对佛手叶的伤害症状

HF 熏气第 1 d 佛手外观无明显的变化, 第 2 d 熏气 5 h 后部分嫩叶出现可见伤害。老叶伤害较嫩叶轻; 熏气 5 d 后落叶率在 70% 左右, 伤害症状见表 1。

表 1 HF 熏气对佛手叶的伤害症状

Table 1 The injury symptoms of the fingered citron treated with HF fumigation

| 熏气时间/d | 伤害症状                    |
|--------|-------------------------|
| 1      | 无可见伤害症状                 |
| 2      | 新叶开始失水、失绿               |
| 3      | 新叶出现萎蔫状                 |
| 4      | 叶缘、叶尖变褐, 易脱落            |
| 5      | 萎蔫状叶片数增加, 变褐面积增加, 落叶率增加 |

### 2.2 氟化物在叶片中的积累

从图 2 可以看出, HF 熏气后, 佛手叶片中含氟量极显著提高, 且随着熏气时间的延长, 叶片中氟积累量越来越高; 在同一熏气时间下, 老叶的氟积累量明显高于嫩叶, 说明老叶对氟的吸收速率在熏气后明显大于嫩叶。

### 2.3 熏气后佛手叶片电导率、MDA 含量、SOD 和 POD 活性的变化

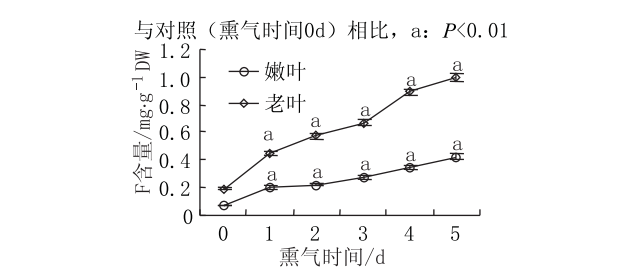


图 2 HF 熏气对佛手叶片氟化物含量的影响

Figure 2 Effect of HF fumigation on fluoride content in leaves of fingered citron

如表 2 所示, HF 熏气后佛手叶电导率持续上升, 熏气第 1 d, 电导率上升幅度较小, 熏气至 2 d 时急剧上升, 3 d 后趋于平缓, 变化幅度较小, 也就是说, 电导率升高经历了由慢到快再慢的过程。熏气 5 d 后电导率是对照的 2.6 倍, 表明该时细胞质膜已受到较严重的破坏。熏气后佛手叶 MDA 持续上升, 在熏气第 1 d, MDA 上升幅度较大, 熏气 1 d 后趋于平缓, 变化幅度较小, 即 MDA 升高经历了由快到慢的过程。熏气 1 d 后, SOD 活性即急剧下降为对照的 66.2%, 说明 HF 熏气后植物叶片 SOD 酶活性受到强烈抑制, 其后下降速度趋缓, 第 3 d 下降至对照的 56.8%, 第 4、5 d 稍有上升, 但仍极显著低于对照水平。熏气后佛手叶片 POD 酶活性持续上升, 变化幅度很大, 至第 5 d 时其活性升至对照的 2.8 倍。

### 2.4 熏气后佛手叶片乙烯释放速率的变化

从图 3 可见, 佛手不熏 HF 时, 叶片的乙烯释放量很小, 约为  $5 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ , HF 熏气 1 d 后增至  $15 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ , 2 d 后急剧增加, 至第 3 d 达到最高峰值  $456 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ , 之后又急剧下降, 至第 4 d 时降至  $90 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ , 以后趋于平缓, 至第 5 d 时为  $78 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 。

### 2.5 熏气后佛手叶片纤维素酶活性的变化

结果如图 4 所示。HF 熏气后纤维素酶活性持续上升, 但上升趋势较缓, 熏气 1 d 后仅比对照上升了

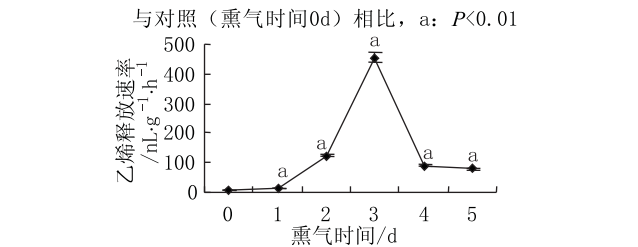


图 3 HF 熏气对佛手叶片乙烯释放速率的影响

Figure 3 Effect of HF fumigation on the rate of ethylene release from the leaves in fingered citron

表 2 HF 熏气对佛手叶片电导率、MDA 含量、SOD 和 POD 活性的影响

| 项目                                          | 熏气时间           |                          |                             |                             |                             |                             |
|---------------------------------------------|----------------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                                             | 对照             | 1 d                      | 2 d                         | 3 d                         | 4 d                         | 5 d                         |
| 电导率/%                                       | 8.7 ± 0.36     | 10.0 ± 0.34 <sup>A</sup> | 19.0 ± 0.91 <sup>a</sup>    | 21.2 ± 1.12 <sup>a</sup>    | 21.2 ± 1.09 <sup>a</sup>    | 22.6 ± 1.08 <sup>a</sup>    |
| MDA/nmol · g <sup>-1</sup>                  | 7.8 ± 0.31     | 12.0 ± 0.60 <sup>a</sup> | 11.4 ± 0.41 <sup>a</sup>    | 12.1 ± 0.31 <sup>a</sup>    | 12.2 ± 0.50 <sup>a</sup>    | 12.4 ± 0.40 <sup>a</sup>    |
| SOD/U · h <sup>-1</sup> · g <sup>-1</sup>   | 12 698 ± 832   | 8 404 ± 345 <sup>a</sup> | 7 725 ± 273 <sup>a</sup>    | 7 215 ± 233 <sup>a</sup>    | 8 809 ± 280 <sup>a</sup>    | 9 177 ± 325 <sup>a</sup>    |
| POD/U · min <sup>-1</sup> · g <sup>-1</sup> | 18 240 ± 1 740 | 21 280 ± 1 670           | 28 960 ± 1 670 <sup>a</sup> | 34 080 ± 1 880 <sup>a</sup> | 42 400 ± 1 800 <sup>a</sup> | 51 360 ± 1 860 <sup>a</sup> |

注:与对照相比,A:  $P < 0.05$ ,a:  $P < 0.01$ 。

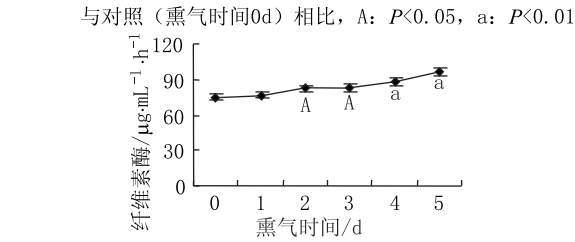


图 4 HF 熏气对佛手叶片纤维素酶活性的影响

Figure 4 Effect of HF fumigation on cellulase activity of leaves in fingered citron

1.80  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ , 但熏气 2 d 后上升幅度略有加大,至熏气 5d 后升至对照的 1.285 倍,达到统计上的极显著水平。

3 讨论

植物体受到逆境胁迫时会产生大量的活性氧自由基( $\text{O}_2^-$ 、 $\text{OH} \cdot$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 等),从而对植物的细胞造成伤害,此时植物体会启动抗氧化系统中的酶如 SOD 和 POD 等,试图清除或削弱自由基的毒害作用。SOD 能清除 $\text{O}_2^-$ ,同时产生  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,而 POD 能有效移走  $\text{H}_2\text{O}_2$  [9]。

Tandy 等报道 [10],低程度的逆境胁迫,植物体 SOD 活性发生先升高后下降的变化,而本实验中,HF ( $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )熏气 5 d 内佛手叶 SOD 活性先急剧下降后略有回升,表明 SOD 对 HF 极为敏感。SOD 活性的回升,可能是佛手对 HF 具有一定的适应保护能力所致。有学者研究后指出 SOD 对氟远较 POD 敏感 [11],本试验结果也证明了这一点,同样浓度 HF 熏气 5 d 内,佛手叶 POD 活性一直处于上升状态。其机理可能是 HF 通过抑制 SOD 活性,使植物体清除 $\text{O}_2^-$ 能力下降,造成 $\text{O}_2^-$ 大量积累。而 $\text{O}_2^-$ 与  $\text{H}_2\text{O}_2$  反应生成氧化性和破坏性更强的羟自由基( $\text{OH} \cdot$ ),POD 具有清除叶绿体中  $\text{H}_2\text{O}_2$  和少量 $\text{O}_2^-$  的能力,SOD 活性的下降刺激了 POD 活性的上升。许多研究认为 [12,13],只有几种抗氧化酶协调一致,才能使生物体内活性氧自由基维持在较低水平,使植物进行正常的生长和代谢。

植物细胞在逆境胁迫下积累的活性氧自由基会对植物的细胞造成伤害,过剩的活性氧使细胞质膜的不饱和脂肪酸发生过氧化 [14],产生 MDA,而质膜的过氧化会使膜的完整性受破坏,造成质膜选择透性下降,细胞内电解质渗漏。相对电导率是体现质膜透性的一个指标,其值大小与质膜透性成正相关,HF 处理后该值显著提高,表明质膜损害严重 [15],MDA 和电导率的增加,表明 HF 熏气使质膜过氧化加剧。

试验结果还显示,HF( $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )熏气后,佛手叶片乙烯产生量大幅度上升,纤维素酶活性也呈上升趋势。由于乙烯形成酶(EFE)必须有 $\text{O}_2^-$  作为激活剂 [9],可以推测乙烯产生量的大幅度上升是由过剩的活性氧引起的。孟范平等 [16]用乙烯抑制剂  $\text{CoCl}_2$  研究后发现,氟化物对纤维素酶的刺激作用是通过提高乙烯的产量而实现的。离区纤维素酶活性提高导致叶片脱落 [17]。

大气氟污染引起金华佛手叶片异常脱落是因为佛手在氟胁迫下,影响了抗氧化酶活性,使活性氧自由基在佛手体内积累,大量活性氧对细胞膜脂质的过氧化,进而造成细胞质膜系统的损伤,导致细胞的功能逐渐减弱,加速细胞衰老或死亡;膜脂过氧化产生较多的 $\text{O}_2^-$  刺激了乙烯的生成,而乙烯则诱导了纤维素酶的大量合成,最终导致叶片的异常脱落。异常脱叶也是植物体的一种保护效应,以起到减少接触面积的作用。

另外,试验结果还显示,氟害佛手叶片的 SOD 活性先急剧下降后上升、POD 活性的持续上升、电导率和 MDA 含量的先急剧上升后趋于平缓以及乙烯产生量先上升后下降,都表明佛手对 HF 有一定的适应性。

参考文献:

[1] 超山梅林衰败原因联合调查组. 氟污染是超山梅林衰败的根本原因[J]. 农业环境保护,1992,12(2):72-76.

[2] 徐丽珊,申秀英,许晓路,等. 氟化物对金华佛手碳代谢和花粉的影响[J]. 农业环境科学学报,2003,22(4):474-476.

- [3] 许晓路,申秀英. 金华地区氟污染成因危害及对策( I)[J]. 农业环境保护,1998,17(1):11-14
- [4] 申秀英,许晓路. 氟化物对桑叶碳代谢某些影响的研究[J]. 农业环境保护,1992,11(6):243-248.
- [5] 中国科学院上海植物生理研究所,上海市植物生理协会. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京:科学出版社,1999. 302-306.
- [6] 张志良. 现代植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,1990. 88-91.
- [7] 朱广廉. 植物生理学实验[M]. 北京:北京大学出版社,1990. 242-244.
- [8] 孟范平,吴方正. HF 对梅树超氧化物歧化酶和纤维素酶活性的影响[J]. 生态学杂志,1997,16(5):28-31.
- [9] 林文洁,陈丽晖. 植物体中的自由基[J]. 海南大学学报自然科学版,1998,16(4):370-375.
- [10] Tandy NE, RT Di Giulio and CJ Richardson. Assay and electrophoresis of superoxide dismutase from red spruce (*Picea rubens* Sarg. ), loblolly pine (*Pinus taeda* L. ), and scotch pine (*Pinus sylvestris* L. )[J]. *Plant Physiol*, 1989, 90: 742-748.
- [11] 孟范平,李桂芳,吴方正. 氟化氢对植物抗氧化酶活性的影响[J]. 环境导报,1997,19(4):361-363.
- [12] Fridovich I. The biology of oxygen radicals[J]. *Science*, 1978, 201: 875-880.
- [13] 孔祥瑞. 自由基及其分子生物学研究进展[J]. 生物科学动态, 1984,4:11-18.
- [14] 陈少裕. 膜脂过氧化对细胞的伤害[J]. 植物生理学通讯,1991, 27(2):84-90.
- [15] 勾晓华,王勋陵,陈发虎. 氟化氢熏气对植物的伤害研究[J]. 兰州大学学报(自然科学版),1999,35(2):141-145.
- [16] 孟范平,李桂芳,吴方正. 氟害大豆超氧化物歧化酶活性与叶绿素含量及叶片脱落的关系[J]. 农村生态环境,2002,18(2):34-38.
- [17] 刘超,吴方正,傅柳松. 梅树早期落叶及预防研究[J]. 生态学杂志,1994,13(2):27-29.