

文章编号:1003-8701(2011)03-0020-04

Cd、Pb 与酸雨复合污染对油菜种子萌发和幼苗保护酶活性的影响

鲁先文

(淮南师范学院生命科学系,安徽 淮南 232038)

摘要:采用沙基培养方法,研究不同浓度的 Pb、Cd 和 pH5.2 的酸雨混合液对其种子萌发、幼苗叶片叶绿素含量、幼苗保护酶活性等的影响。结果表明:Pb、Cd 溶液浓度在 100 mg/L 以内,随胁迫程度的增加,幼苗总重、全长、根重出现了下降。POD(过氧化物酶)、SOD(过氧化物歧化酶)活性先增加后下降,但都较对照组高,CAT(过氧化氢酶)活性一直增强。种子发芽率随重金属浓度的增加表现为低促进高抑制的现象,叶绿素 a、b 含量在 5 mg/L 浓度内呈上升趋势,大于 5 mg/L 时出现了减少,总体上呈波动变化。

关键词:油菜幼苗;重金属;模拟酸雨;叶绿素;抗氧化酶系统

中图分类号: S634.3

文献标识码: A

Effect of Cd and Pb and Simulated Acid Rain on Emergence and Activity of Cell Defense Enzymes of Rape seedlings

LU Xian-wen

(Department of life science Huainan Normal University, HuaiNan 232038, China)

Abstract: Using rape as materials, effect of simulated acid rain of pH5.2 and six different levels of Pb, Cd on the activity of cell defense enzymes system, leaf chlorophyll content, germination rate was studied. The results showed that when Pb and Cd was less than 100mg/L, total length of seedlings, weight of seedlings and weight of roots were decreased as stress increased. The activities of SOD, POD were increased at first and decreased later. However, their activities were higher than that of control. Activity of CAT was increased all time. Germination rate was increased when heavy metal elements were low, but decreased when heavy metal elements were higher. When the levels of Pb and Cd was less than 5mg/L, leaf chlorophyll content was increased, but it was decreased when the levels of Pb and Cd was more than 5mg/L. Chlorophyll a/b was also increased at first and decreased later.

Keywords: Rape seedlings; Heavy metal; Simulated acid rain; Chlorophyll; Defense enzymes system

近年来随着工业和交通的发展,以酸雨和重金属超标为特点的环境污染给农作物的生产带来了很大的危害。酸雨通过淋溶作用和沉降等一系列物理与化学过程与土壤中的重金属接触,影响着重金属的化学性质和活性,二者共同导致农作物生产条件进一步恶化^[1]。有关酸雨或重金属对植物生理生化的影响已有不少报道^[2-6],而实际中存在的往往是酸雨与多种金属离子的复合作用,但迄

今为止,有关复合污染对植物的影响却鲜有报道。结合江淮地区酸雨的特点(pH 平均值为 5.67)^[7],本试验采用在油菜种子萌发期就开始胁迫的方法研究 Cd、Pb 和酸雨对油菜发芽率、幼苗叶片叶绿素含量、幼苗保护酶活性的影响,探讨酸雨与 Pb、Cd 复合胁迫对植物毒害的机制,以期为酸雨和 Pb、Cd 复合污染对植物的毒性机理研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

油菜选用甘蓝型油菜,德油 5 号。选均匀饱满的子粒,蒸馏水浸种 3 h 后,于培养皿中滤纸法发

收稿日期:2011-01-14

基金项目:安徽省教育厅科研项目(KJ2007B341ZC、KJ2009B267Z)

作者简介:鲁先文(1970-),男,硕士,副教授,主要从事植物生理生态学教学与研究。

芽。种子萌发后采用沙基培养,不同浓度的处理液进行处理。试验设 8 个处理组,2 个对照组,每个处理设 3 次重复。

1.2 处理

模拟酸雨是根据安徽省江淮地区酸雨的主要成分按 SO_4^{2-} 和 NO_3^- 的摩尔比 (6:1) 配成的混合酸溶液^[7]。处理液用 1/2 浓度的 Hoagland 营养液配制,用模拟酸雨溶液调 pH 至 5.7。

1.3 试验方法

1.3.1 发芽率的测定

在种子萌发后,逐日观察并记录萌发种子数,分别记录种子第 3 d 和第 6 d 种子发芽情况。其中发芽率按照以下公式测定:

$$\text{发芽率}(\%) = (\text{发芽种子数} / \text{供试种子数}) \times 100\%^{[8]}$$

1.3.2 叶绿素 a、b 含量测定

30 d 后分别取子叶以上第 3、4 片真叶测定叶绿素(Chl)含量,采用张义贤^[9]的方法将叶绿素提取液用 T6 型紫外可见分光光度计在 649 nm 和 665 nm 波长下测定吸光度(以 80%的丙酮为空白),所得的吸光度(A)值代入下列公式计算叶绿素的含量。

$$C_a = 13.95A_{665} - 6.88A_{649}$$

$$C_b = 24.96A_{649} - 7.32A_{665}$$

$$C_{a+b} = C_a + C_b$$

$$C_{a/b} = C_a / C_b$$

其中:C 为叶绿素浓度,以 mg/g 鲜重表示。

1.3.3 幼苗生物量的测定

长度用直尺测量,重量用 FA1604N 电子秤进行称量。

1.3.4 SOD、POD、CAT 活性变化测定

过氧化物酶(POD)活性测定用愈创木酚法^[10],超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用氯化硝基四氮唑蓝(NBT)法^[11],过氧化氢酶(CAT)活性测定用紫外吸收法^[12]。试验结果取 3 次试验的平均值。用 EXCEL 统计软件进行分析处理。

2 结果及分析

2.1 模拟酸雨和 Pb、Cd 对种子发芽率的影响及分析

由图 1 可知,油菜种子发芽率在低浓度处理时是随着 Pb、Cd 浓度的增加而增加的,当 Pb、Cd 浓度达到 15 mg/L 时其发芽率却随重金属浓度的增加而下降,在最高浓度 100 mg/L 其发芽率受到严重影响。而比较不同组的第 3 d 和第 6 d 发芽率的变化,可以发现在 5 mg/L Pb、Cd 的处理浓度

会加快种子发芽,在 15~45 mg/L 浓度范围内会推迟种子发芽时间,但对种子发芽率影响不大。

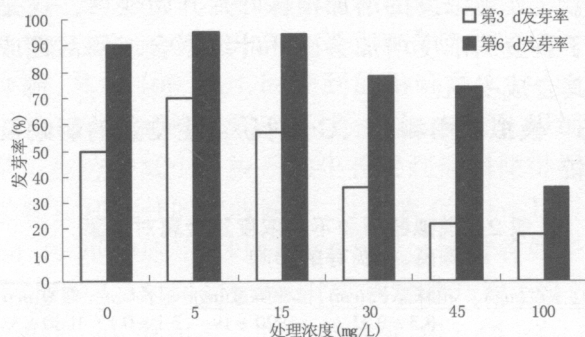


图 1 模拟酸雨和不同浓度重金属对油菜发芽率的影响

2.2 模拟酸雨和 Pb、Cd 对幼苗叶片叶绿素 a、b 含量影响分析

表 1 Pb、Cd 和酸雨复合污染对油菜幼苗叶绿素含量及其组成

酸雨 pH	重金属浓度 (mg/L)	叶绿素 a (mg/g)	叶绿素 b (mg/g)	叶绿素 a/b
5.7	0	3.255±0.013	1.125±0.023	2.795±0.005
	5	3.278±0.011	1.141±0.014	2.873±0.009
	15	3.265±0.020	1.123±0.013	2.907±0.006
	30	3.031±0.021	1.026±0.015	2.953±0.007
	45	2.754±0.016	0.958±0.024	2.874±0.008
对照(pH6.8)	100	2.137±0.022	0.884±0.021	2.418±0.010

叶绿素是光合作用的物质基础,其含量高低将直接影响光合作用的强弱及有机物质合成速率的高低。从表 1 中可以看出,Cd²⁺、Pb²⁺ 对油菜叶片中叶绿素含量和叶绿素 a/b 值均有影响。低浓度的 (5 mg/L)Cd²⁺、Pb²⁺ 可增加叶片叶绿素的含量,可能由于开始的重金属污染使叶绿素合成酶产生了一定的抗性^[13,14]。随着各处理浓度的增加,叶绿素含量开始下降,对于叶绿素 a/b 值而言,其随 Cd²⁺、Pb²⁺ 混合液处理浓度的增加皆呈有规律的上升趋势,而高浓度 (45 mg/L 和 100 mg/L) 时则均引起叶绿素 a/b 值下降。叶绿素 b 是集光色素,叶绿素 a 既是集光色素又是参与光反应的中心色素,因而其含量的高低对光合作用影响更大。a/b 值变化的大小表明了叶绿素 a、b 的含量相对变化大小。低浓度胁迫时,叶绿素 a 表现出较强的耐性,而随着胁迫浓度的增加,叶绿体 a 的含量迅速下降,导致 a/b 值降低。由表 1 还可以发现,随铅、镉胁迫浓度的升高,油菜幼苗叶片叶绿素 a、叶绿素 b 含量及叶绿素总量均呈缓慢下降趋势,但差异并不显著;但高浓度则影响较大:100 mg/L 浓度处理时叶绿素 a、叶绿素 b 含量、叶绿素总量分别比对照下降了 34.4%、21.5%和 31%。然而叶绿素 a/b 随铅、镉浓度升高变化不明显,可

能是由于高浓度重金属对两种叶绿素的影响都比较大。从幼苗外部形态上来看,在相同生长期随着重金属处理浓度的增加植株叶片开始变黄,这是由于重金属浓度增加会破坏叶绿素合成酶活性或使其合成受阻。

2.3 模拟酸雨和 Pb、Cd 对幼苗生物量的影响及分析

表 2 模拟酸雨和不同浓度重金属对油菜株高、根长等的影响

处理浓度(mg/L)	植株总长 (cm)	植株鲜重(mg)	根长(cm)	根重(mg)
0	8.3± 0.11	1920± 19	3.1± 0.13	1080± 33
5	7.1± 0.13	1773± 15	2.8± 0.15	1022± 27
15	6.7± 0.15	1658± 20	2.5± 0.17	906± 15
30	5.1± 0.14	1307± 24	2.1± 0.23	652± 32
45	4.2± 0.10	1008± 31	1.6± 0.21	535± 24
100	3.3± 0.17	507± 17	0.6± 0.22	234± 30

从表 2 中可以看出,油菜的总长、根长和总重等都受到了影响,这首先是由于重金属和酸雨的复合污染对油菜的光合作用起到一定的抑制作用,对其生物合成量的影响是随着浓度的增加而愈加明显。叶片受伤害时植物生长缓慢,植株矮小,根系受到抑制,造成生长障碍,产量降低^[15]。由于重金属制造了大量的自由基,使得叶片中叶绿素成为自由基攻击的靶分子,造成叶绿素结构破坏,叶片失绿,进而影响其光合进程^[1]。研究表明,Pb、Cd 对植物根系生长的影响是显著的,Pb、Cd 能使得油菜所需矿物质和水分不能及时送达所需部位,这也是造成油菜幼苗生长缓慢的原因^[16]。

2.4 模拟酸雨和 Pb、Cd 对幼苗叶片抗氧化酶活性的影响及分析

2.4.1 模拟酸雨和不同重金属浓度对油菜叶片

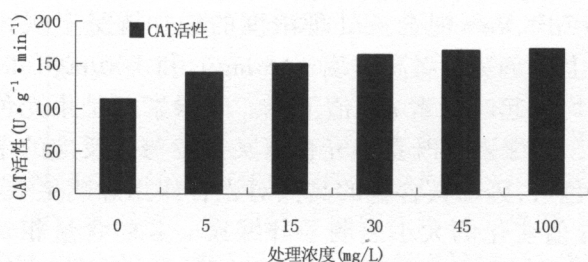


图 2 不同重金属浓度和模拟酸雨对油菜叶片 CAT 酶活性关系

CAT 的影响及分析

植物体内 CAT 的作用,是把植物体 SOD 歧化产生的 H_2O_2 进一步还为 H_2O 和 O_2 ,以解除活性氧对植物的危害,可以说 CAT 活性升高是植物清除体内 H_2O_2 毒害的一种主动应激反应。由图 2 可知,在酸雨胁迫下,随着石英砂中施加 Cd、Pb

量增加,油菜叶片的 CAT 活性均随之升高,100 mg/L 浓度处理时达到最大。因而 CAT 活性增加可以明显反映污染程度的加重。这也说明 CAT 在 pH5.2 酸雨和浓度为 100 mg/L Cd、Pb 复合胁迫下其活性不会受到抑制而是在增加,这就很好的解释了为什么油菜抗氧化系统对 H_2O_2 为代表物的氧化剂较强的清除能力。实验未设置更大浓度的复合重金属污染,但根据周希琴^[15]的研究,在重金属 Pb、Cd 200 mg/L 浓度以后 CAT 活性明显受到抑制。

2.4.2 模拟酸雨和 Pb、Cd 对油菜叶片 SOD 的影响及分析

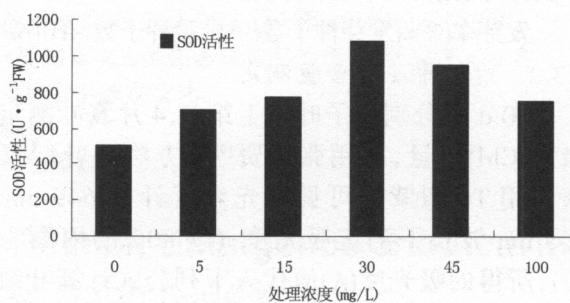


图 3 不同重金属浓度和模拟酸雨对油菜叶片 SOD 酶活性关系

SOD 在植物体内是清除 O^{2-} 的有效酶,可将其转变为氧化作用相对较弱的 H_2O_2 。低浓度时,油菜体内具有的活性氧清除酶系统和具抗逆性特征的生理活动被诱导而加快,SOD 在此诱导下,其活性逐渐增加,用以清除重金属胁迫导致其体内所产生的 O^{2-} ,但是当重金属浓度达到 30 mg/L 而继续增加时,油菜体内 O^{2-} 的增加超过了 SOD 正常的歧化能力极限以至 SOD 活性缓慢下降。而后对组织细胞多种功能膜及酶系统产生破坏。

2.4.3 模拟酸雨和 Pb、Cd 对幼苗叶片 POD 的影响及分析

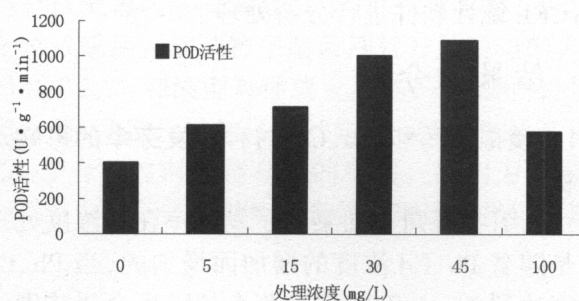


图 4 不同重金属浓度和模拟酸雨对油菜叶片 POD 酶活性关系

过氧化物酶(POD)广泛存在于植物体内不同

组织中和器官中,它作为活性较高的适应性酶类具有双重性作用:一方面,POD 可在逆境或衰老初期表达,可清除 H_2O_2 ,表现为保护效应,为细胞活性氧保护酶系统的成员之一;另一方面,POD 也可在逆境或衰老后期表达,参与活性氧的生成、叶绿素的降解,并能引发膜脂过氧化作用,表现为伤害效应,是植物体衰老到一定阶段的产物,甚至可作为衰老指标。一般认为其主要作用在于后者^[17]。本试验对 8 叶期的油菜叶片 POD 在逆境下活性变化进行测定,研究可以发现 POD 的活性在酸雨和重金属浓度增加的情况下 45 mg/L 范围内是增加的,这主要是由于外界胁迫刺激作用使得其活性增强,另外就是早期的胁迫使其产生了一定适应。但过高的浓度可以明显的抑制其活性,这是由于过高的重金属浓度明显的破坏了酶的空间结构,使得部分酶失活变性。

3 讨论

铅、镉是植物非必需元素,但植物可通过根系和叶片等器官吸收。研究表明^[17-24],铅、镉胁迫会破坏叶片的叶绿素结构,降低叶绿素含量,叶片发黄,叶绿素严重缺乏。还可以减少根系对水分和养分的吸收,抑制根系生长,造成植物生理障碍而降低进入植物体的速率,会改变细胞膜透性,对叶绿体、线粒体、细胞核等亚显微结构都有一定程度的破坏。同时降低酶活性,引起植物光合作用、呼吸作用、核酸代谢、细胞分裂等一系列生理生化过程的紊乱。酸雨会破坏叶片表皮组织(如角质层),损伤植物细胞膜,影响种子的形成和萌发以及细胞对物质的选择性吸收,抑制和干扰植物正常的代谢过程(如光合、呼吸作用和水分吸收)。酸雨胁迫下,植物的叶绿素含量下降,光合作用在可见伤害发生前已经明显受到抑制。叶绿素受到破坏可能是由于酸雨使叶汁酸化后, Mg^{2+} 从叶绿素中脱去而形成脱镁叶绿素^[23]。在植物内氧自由基的产生和清除是 2 个相反的过程,只有当这 2 个过程达到平衡时,体内的氧自由基才能保持在较低的水平,细胞才不受其毒害。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)是植物适应多种逆境胁迫的重要酶类,统称为抗氧化保护酶。有研究表明,Pb、Cd 对植物的毒害可能是通过产生 H_2O_2 的方式造成的,即在重金属的胁迫下植物体内积累 H_2O_2 , H_2O_2 的过量积累又会使植物体内的抗氧化酶系统和非酶系统发生紊乱,导致植物对重金属的抗性机制不再起作用,植物表现出

毒害症状或死亡^[25-26]。

本研究表明:酸雨和不同浓度 Pb、Cd 的共同作用对油菜种子发芽率的影响为低浓度促进高浓度抑制。随浓度的升高油菜生物合成量明显受到抑制,其中 100 mg/L 时受到的影响最大,可能是由于叶绿素结构遭到破坏,影响光合作用。根细胞的有丝分裂减少,根系的生长受到抑制使得根部矿物质和水分的吸收减少,叶绿素在 5 mg/L 内的 Cd、Pb 可增加叶片叶绿素的含量,随着各处理浓度的增加及时间的延续,叶绿素含量开始下降。就叶绿素 a/b 值而言,其随低浓度 (0~45 mg/L) 的 Cd、Pb 处理增加及时间的延续皆呈有规律的上升趋势,而高浓度时则引起叶绿素 a/b 值下降。对 3 种保护性酶的活性影响则表现不一:CAT 呈一直上升的趋势,这表明其活性受外界环境的影响变化最小,而 POD 和 SOD 两种酶都表现为现小幅上升后下降,在下降浓度上,表现为 SOD 更敏感,下降趋势大,这主要是因为该酶为金属性酶其中的金属被重金属所代替,进而影响其活性。

参考文献:

- [1] 何翠屏. 环境中重金属污染及其对植物生长发育的影响[J]. 青海草业, 2004, 13(2): 26-29.
- [2] PAN J W, ZHENG K, YE D, et al. Aluminum-induced ultra-weak luminescence changes and sister-chromatid exchanges in root tip cells of barley[J]. Plant Sci., 2004, 167: 1391-1399.
- [3] 马引利, 余小平. Effects and DNA damage of Al^{3+} and Cd^{2+} in wheat seedlings [J]. 西北植物学报, 2006, 26(4): 729-739.
- [4] 李 珊, 程 舟, 杨晓伶, 等. Physiological response of *Trichosanthes kirilowii* seedlings to Cd and Zn combined pollution in soil [J]. 西北植物学报, 2007, 27(6): 1191-1196.
- [5] CHAOU I A, MAZHOUDI S, GHORBAL M H, et al. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean[J]. Plant Sci., 1997, 127: 139-147.
- [6] CHO U H, PARK J O. Mercury-induced oxidative stress in tomato seedlings[J]. Plant Sci., 2000, 156: 1-9.
- [7] 檀满枝, 阎伍玖. 安徽省酸雨污染特征分析[J]. 环境科学研究, 2001, 14(5): 13-16.
- [8] 宋玉芳, 许华夏, 任丽萍, 等. 土壤重金属污染对白菜种子发芽与根伸长抑制的生态毒性效应[J]. 环境科学, 2002, 23(1): 103-107.
- [9] 张义贤. 汞、镉、铅胁迫对油菜的毒害效应[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2004, 27(4): 410-413.
- [10] 张志良. 植物生理学实验指导(第二版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990: 154-155.
- [11] CHO U H, PARK J O. Mercury-induced oxidative stress in tomato seedlings [J]. Plant Sci., 2000, 156: 1-9.
- [12] VITORIA A P, L E A P J, AZEVEDO R A. Antioxidant enzymes responses to cadmium in radish tissues [J]. Phytochemistry, 2001, 57: 701-710.

(下转第 26 页)

繁殖种子的纯度。

6.3 开花期

在拔节期、孕穗期,应对生长快的亲本进行控制,生长慢的促进其生长,如发现父本偏早,应提早对母本进行拔蓼,即母本带 1~2 片苞叶去雄,并结合母本剪苞叶;父本偏晚的,应采取剪母本花丝等方法,并结合人工辅助授粉等措施以达到保证种子纯度,提高制种产量的目的^[2]。

6.4 母本去雄

要坚持及时、完全、彻底、准确的原则,即在母本雄穗散粉前将雄穗及早拔除,母本雄穗连同其分枝必须要完全彻底的拔除,同时注意避免拔掉

父本的雄穗。母本散粉株不能高于全部母本植株比例的 5%。

6.5 父本管理

在拔节期,要特别注意加强对父本的肥水管理,促进雄穗分化,增加花粉量。在母本花丝全部萎蔫后,将父本全部割除。

参考文献:

- [1] 柯永培,张 彪,袁继超,等. 深粒高产、优质、多抗、紧凑型玉米杂交种正红 6 号的选育研究 [J]. 四川大学学报, 2005,42 (2) :412-416 .
- [2] 孟昭东,郭庆法,汪黎明,等. 超高产中早熟玉米杂交种选育探讨[J]. 玉米科学,2000,8(2) :26-29 .

(上接第 23 页)

- [13] 周 青,曾庆玲,黄晓华. 汞、镉、铅对水稻、小麦和油菜种子萌发的影响[J]. 环境科学,2005,26(1):181-184 .
- [14] 任安芝,高玉宝. 铅、镉、铬单一和复合污染对青菜种子萌发的生态学效应[J]. 生态学杂志,2000,19(1):19-22 .
- [15] 何振立. 污染及有益元素的土壤化学平衡[M]. 北京:中国环境科学出版社,1998,15(6) :77-86 .
- [16] 吴燕玉,余国营,王 新,等. Cd,Pb,Cu,Zn,As 复合污染对水稻的影响[J]. 农业环境保护,1998,17(2) :49-54 .
- [17] 秦天才,吴玉树,王焕校,等. 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 .
- [18] 周希琴,莫灿坤. 植物重金属胁迫及其抗氧化系统[J]. 新疆教育学院学报,2003,19(2):103-108 .
- [19] Zhang JX, Kirkham M B. Drought-stress-induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat species[J]. Plant Cell Physiol, 1994, 35(5):785-791 .

- [20] 秦天才,吴玉树,王焕校. 镉、铅及其相互作用对小白菜生理生化特性的影响[J]. 生态学报,1994,14(1):46-49 .
- [21] 何翠屏,王慧忠. 植物根系对镉毒害的防御及其代谢 [J]. 重庆环境科学,2003,25(11):51-52,67 .
- [22] 杨世勇,王 方,谢建春. 重金属对植物的毒害及植物的耐性机制 [J]. 安徽师范大学学报 (自然科学版),2004,27(1) :71-74,90 .
- [23] 黎华寿,聂呈荣,胡永刚. 模拟酸雨对杂交稻、常规稻、野生稻影响的研究[J]. 环境科学学报,2004,23(2):284-287 .
- [24] 李 兵. 土壤中重金属的污染和危害 [J]. 金属世界,2005 (5) :25-26 .
- [25] 徐勤松,施国新,郝怀庆. Cd、Cr(VI)单一及复合污染对苜蓿叶绿素含量和抗氧化酶系统的影响 [J]. 广西植物,2001,21 (1):87-90 .
- [26] 张守文,呼世斌,肖 璇,等. 油菜对 Pb 污染土壤的修复效应研究[J]. 西北植物学报,2009,29(1):22-27 .