

Cd、Pb、Ni、As 单一污染对油麦菜叶绿素含量和抗氧化酶系统的影响

张小磊¹, 何宽², 符燕¹, 谷蕾¹, 段海静¹, 马建华¹

(1. 河南大学资源与环境研究所, 开封 475004; 2. 黄河水利职业技术学院测绘工程系, 开封 475004)

摘要: 研究了 Cd、Pb、Ni、As 单一污染对油麦菜叶绿素含量和抗氧化酶系统的影响, 结果表明油麦菜叶绿素含量低于对照, 并且随着 Cd、Pb、Ni、As 处理浓度的增加呈先升后降的趋势; 油麦菜抗氧化酶系统所受影响因重金属污染种类不同而不同, 其中 SOD 的活性随着 Cd、Pb 单一污染浓度的增加呈下降趋势, 而随着 As、Ni 污染浓度的增加呈先升后降的趋势; CAT 和 POD 的活性随着 As 污染浓度的增加呈上升趋势, 而随着 Cd、Pb、Ni 污染浓度的增加呈先升后降的趋势。

关键词: Cd、Pb、Ni、As; 单一污染; 油麦菜; 叶绿素; 抗氧化酶系统

中图分类号: X132

文献标识码: A

文章编号: 1004-1389(2006)05-0206-04

Effects of Cd, Pb, Ni, As Single Pollution on Chlorophyll Content and Antioxidant Enzyme Systems of Lettuce

ZHANG Xiao lei¹, HE Kuan², FU Yan¹, GU Lei¹, DUAN Hai jing¹ and MA Jian hua¹

(1. Institute of Natural Resources and Environment Science Research, He'nan University, Kaifeng 475004, China;

2. Department of Surveying and Mapping, Yellow River Conservancy Technical Institute, Kaifeng 475004, China)

Abstract: The paper mainly studied the effects of Cd, Pb, Ni and As single pollution on chlorophyll content and antioxidant enzyme systems of lettuce. The results showed that the content of chlorophyll in lettuce grown in the treatment soils was less than that of the control. With the increasing concentration of Cd, Pb, Ni and As, the content of chlorophyll increased first and decreased afterwards. The effects on antioxidant enzyme systems of lettuce in accordance with the category of heavy metals. With the increasing concentration of As and Ni, the activity of SOD increased first and decreased afterwards. But the activity of SOD decreased with the increasing concentration of Cd and Pb. The activity of CAT and POD increased with the increasing concentration of As, but that activity increased first and decreased afterwards with the increasing concentration of Cd, Pb and Ni.

Key words: Cd, Pb, Ni, As; Single pollution; Lettuce; Chlorophyll; Antioxidant enzyme system

植物在逆境如重金属污染^[1]、低温^[2]、盐害^[3]等条件下,体内会产生过量的对细胞膜结构和功能起破坏作用的活性氧自由基,使细胞内含物外渗,代谢紊乱,导致一系列有害的生理生化变化。SOD(超氧化物歧化酶)、POD(过氧化物酶)和CAT(过氧化氢酶)是植物体内的一类重要的抗氧化酶,在清除重金属等诱导产生的氧自由基和

过氧化物、抑制膜脂过氧化、保护细胞免遭伤害等方面起着重要作用^[4,5]。

油麦菜(Lettuce)是市场上常见的一种绿叶菜,是莴笋的一个变种。该菜营养价值高,含有丰富的碳水化合物、蛋白质、多种维生素、钙、磷等矿物质,并且不生虫,极抗病,属天然无公害“绿色”蔬菜。Cd、Pb、Ni、As 是一类主要的环境毒性因

* 收稿日期: 2006 03 07 修回日期: 2006 04 10

基金项目: 教育部人文社科基地、河南大学黄河文明与可持续发展研究中心项目(Yrcsd A 02)资助。

作者简介: 张小磊(1981-),男,河南漯河人,硕士研究生,研究方向: 土壤环境质量。E-mail: skyxlzhang@126.com

子,对植物有明显的毒害与诱变作用。目前,尚有关油麦菜对各种重金属的响应以及重金属对油麦菜的叶绿素含量和抗氧化酶系统影响的研究。因此,本文以油麦菜为材料,探讨 Cd、Pb、Ni、As 对叶绿素和抗氧化酶系统的影响,为重金属对油麦菜的毒害机理和油麦菜对重金属的耐性机制提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试土壤采自开封市东郊农田,经室内分析知,该土壤 pH 7.9,有机质含量 19.67 g/kg, Cd、Pb、Ni、As 的含量分别为 0.076 mg/kg、19.36

mg/kg、21.65 mg/kg 和 8.42 mg/kg。供试油麦菜由河南省农科院品种资源处提供。

1.2 材料培养及处理

将土壤风干,过 5 mm 筛,于陶瓷盆(高 20 cm×宽 30 cm)中分别加入分析纯 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ 和 Na_2HAsO_4 制成不同处理水平的 Cd、Pb、Ni 和 As 元素的单一污染土壤,污染物浓度设计见表 2,再于每盆中施入菜枯 20 g,每盆装土 5 kg(干土计)。加入蒸馏水平衡 7 d 后于每盆中移栽 3 株长势一致的油麦菜。处理 45 d 后取植株相同叶位的叶片,用蒸馏水洗净,揩干,用来测定各项生理指标。

表 1 盆栽试验处理元素种类和处理水平

Table 1 Elements and levels in the test of pot cultivation / ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

处理水平 Treatment levels	元素种类 Element category			
	Cd	Pb	Ni	As
1	0	0	0	0
2	0.3	50	30	10
3	1.0	100	60	30
4	10	350	120	40
5	20	500	200	80
土壤环境质量标准 Soil environmental quality standard	二级 Second grade ≤ 0.3	≤ 350	≤ 60	水田 Paddy field ≤ 20 旱地 Dry land ≤ 25
GB15618 95	三级 Third grade ≤ 1.0	≤ 500	≤ 200	水田 Paddy field ≤ 30 旱地 Dry land ≤ 40

1.3 测定方法

叶绿素含量的测定用分光光度法^[6] ($\text{mg/g} \cdot \text{FW}$); SOD、CAT、POD 酶液的制备过程为取材于预冷研钵中,加入 pH 值为 7.8 的磷酸缓冲液(0.05 mol/L),冰浴下研磨成匀浆,10 000 r/min,低温离心 20 min,上清液即为所需要的酶液;SOD 活性的测定用化学比色法,按照从南京建成生物工程研究所购买的试剂盒的顺序测定 ($\text{NU/g} \cdot \text{FW}$); CAT 活性的测定用分光光度法,按照从南京建成生物工程研究所购买的试剂盒的顺序测定 ($\text{U/g} \cdot \text{FW}$); POD 活性的测定用愈创木酚法^[7] ($\Delta_{470} \text{ nm/min} \cdot \text{g} \cdot \text{FW}$)。

2 结果与分析

2.1 Cd、Pb、Ni、As 单一污染对油麦菜叶绿素含量的影响

由图 1 可以看出, Cd、Pb、Ni、As 单一污染对油麦菜叶绿素含量影响明显,随各处理浓度的增加,叶绿素含量呈现出先升后降的趋势,且其值低于对照。

Pb、Ni 单一污染时,油麦菜叶绿素含量最大

值均出现在处理水平 3(Pb 的浓度在土壤环境质量二级标准内, Ni 为土壤环境质量二级标准的最大值),分别为对照的 87.28%和 81.07%; Cd、As 单一污染时,其含量最大值均出现在处理水平 4(Cd 的浓度为土壤环境质量三级标准的 10 倍, As 为土壤环境质量三级标准的最大值),分别为对照的 95.05%和 89.52%。

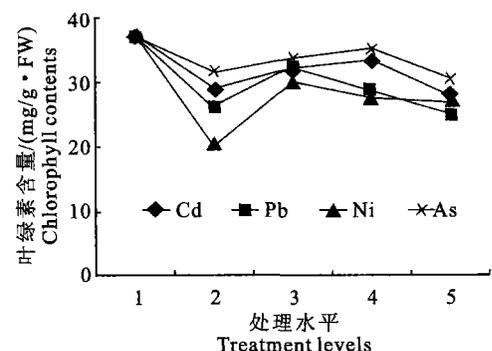


图 1 Cd、Pb、Ni、As 单一污染对油麦菜叶绿素含量的影响

Fig. 1 Effects of Cd, Pb, Ni and As single pollution on chlorophyll contents in lettuce
叶绿素作为植物进行光合作用的主要色素,

含量的高低能够反映光合作用水平的强弱。严重玲^[8]等认为,叶绿素含量的减少是衡量叶片衰老的重要指标。Stobart A K^[9]等认为,重金属影响氨基酮戊酸以及抑制原叶绿素酸酯还原酶的合成是叶绿素含量下降的原因。本试验中油麦菜叶绿素含量在 Cd、Pb、Ni、As 单一污染条件下减小,可能是由于重金属被植物吸收后,细胞内的重金属离子作用与叶绿素合成的原叶绿素酯还原酶、氨基乙酰丙酸合成酶、胆色素原脱氨酶等的肽链富含 SH 的部分结合,抑制酶的活性从而阻碍了叶绿素的合成^[10]。由实验结果易知,As 污染对油麦菜叶绿素含量影响最小,这说明油麦菜对 As 的抗性有可能强于其他几种重金属。

2.2 Cd、Pb、Ni、As 单一污染对油麦菜 SOD 活性的影响

从图 2 可以看出, Cd、Pb 单一污染时随着浓度的增加,油麦菜 SOD 活性呈下降趋势,其最大值均出现在处理水平 2,分别为对照的 110.87% 和 98.83%; As、Ni 单一污染时随着浓度的增加, SOD 活性呈先升后降的趋势,其最大值均出现在处理水平 3,分别为对照的 103.32% 和 96.68%。

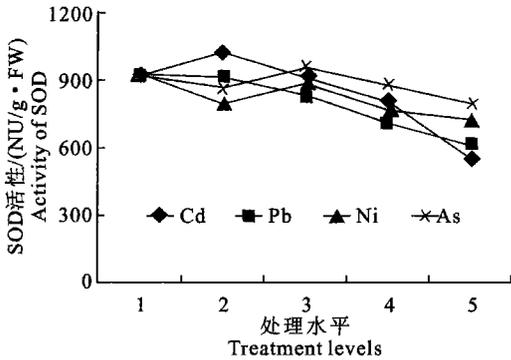


图 2 Cd、Pb、Ni、As 单一污染对油麦菜 SOD 活性的影响

Fig. 2 Effects of Cd, Pb, Ni and As single pollution on activity of SOD in lettuce

重金属毒害细胞的原因之一是引起膜脂过氧化作用的加强^[11]。SOD 是一种重要的活性氧防御酶,在消除超氧化物自由基、减轻脂质过氧化作用和膜伤害方面起重要作用^[12]。正常植物细胞的叶绿体和线粒体在光合作用和呼吸作用过程中会产生自由基(O_2^- 和 $\cdot OH$)^[13],SOD 能清除超氧化物的阴离子自由基(O_2^-),并产生歧化产物 H_2O_2 。因此 SOD 在一定程度上支配着植物体内的 O_2^- 和 H_2O_2 的浓度。作为一种诱导酶,在逆

境条件下,植物体内 O_2^- 含量一定程度的增加能诱导酶活性的上升,保持植物体清除自由基的正常功能,SOD 活性的提高是相应于 O_2^- 含量增加的应急解毒措施,是使细胞免受毒害的调节反应^[14]。本实验中, Cd、As 单一处理在低浓度时提高了油麦菜 SOD 活性,这表明油麦菜对 Cd、As 的抗性相对较强。但是随着重金属浓度的增加,细胞内活性物质受到损害,SOD 活性也随之下降。

2.3 Cd、Pb、Ni、As 单一污染对油麦菜 CAT 活性的影响

从图 3 可以看出, Cd、Pb、Ni、As 单一污染对油麦菜 CAT 活性的影响差别较大。随着 Cd、Pb、Ni 单一处理浓度的增加,油麦菜 CAT 活性呈先升后降的趋势,其中 Cd 和 Pb 处理最大值均出现在水平 4,分别为对照的 129.79% 和 104.57%, Ni 处理则出现在水平 3,为对照的 115.41%;随着 As 处理浓度的增加,CAT 活性呈上升趋势,最大值出现在水平 5,为对照的 137.04%。

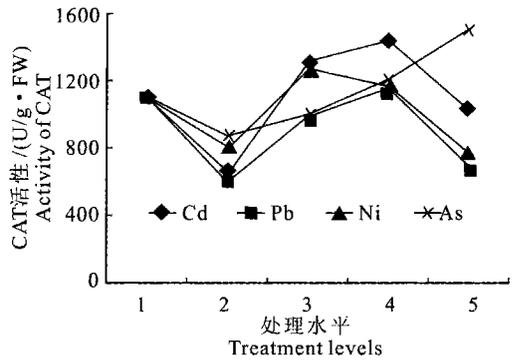


图 3 Cd、Pb、Ni、As 单一污染对油麦菜 CAT 活性的影响

Fig. 3 Effects of Cd, Pb, Ni and As single pollution on activity of CAT in lettuce

CAT 是抗氧化酶系统的重要组成部分,它是一种含 Fe 的血蛋白酶类,能催化 H_2O_2 分解成水和氧,因此与植物代谢强度及抗逆境能力密切相关。有研究表明逆境条件下,CAT 活性的下降可以导致 H_2O_2 的累积^[15],而 CAT 活性的提高则能有效的清除 H_2O_2 ,SOD 和 CAT 的共同作用能把体内具潜在危害的 O_2^- 和 H_2O_2 转化为无害的 H_2O 和 O_2 ,并且能减少具毒性、高活性的 $\cdot OH$ 的形成^[16],从而阻止由 H_2O_2 和 $\cdot OH$ 导致的氧伤害,使植物得以健康生长。本试验中,在低浓度

时油麦菜 CAT 活性随重金属浓度的增加而升高,从而使各重金属单一污染时的 CAT 活性最大值均高于对照。但随重金属浓度的进一步增大,植物体内有了更多 H_2O_2 ,超出了 CAT 酶的消除能力,CAT 活性下降。值得注意的是 As 处理时,油麦菜 CAT 活性随其浓度的增加而上升,说明 As 处理时油麦菜体内的 CAT 酶能催化 H_2O_2 分解,使其免受伤害。

2.4 Cd、Pb、Ni、As 单一污染对油麦菜 POD 活性的影响

由图 4 可以看出,Cd、Pb、Ni、As 单一污染对油麦菜 POD 活性的影响呈现出两种趋势: Cd、Pb、Ni 处理时随其浓度的增加,油麦菜 POD 活性呈先升后降的趋势,其中 Cd 处理时 POD 活性最大值出现在水平 4,为对照的 148.82%,Pb、Ni 处理时最大值均出现在水平 3,分别为对照的 107.59%和 131.23%;As 处理时随其浓度的增加,油麦菜 POD 活性呈上升趋势,最大值出现在水平 5,为对照的 167.75%。

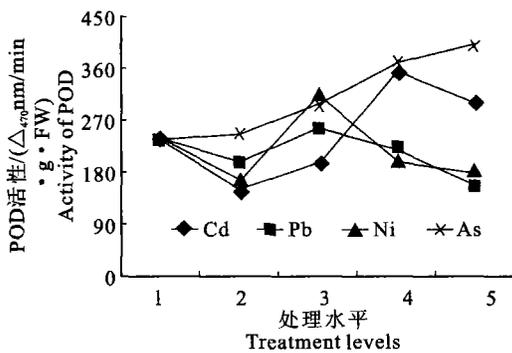


图 4 Cd、Pb、Ni、As 单一污染对油麦菜 POD 活性的影响

Fig. 4 Effects of Cd Pb, Ni and As single pollution on activity of POD in lettuce

POD 是一种含 Fe 的金属蛋白质,是植物体内常见的氧化还原酶,催化过氧化氢类的反应,广泛参与植物的物质和能量代谢,在植物的呼吸代谢和抗性生理中起重要作用。POD 活性的维持和提高是植物耐受重金属胁迫的物质基础之一^[17]。POD 和 CAT 共同作用催化 H_2O_2 形成 H_2O ,从而有效的阻止 O_2^- 和 H_2O_2 在植物体内的积累。SOD、CAT、POD 协同作用,排除这些自由基对植物细胞膜结构潜在氧伤害的可能性。在逆境条件下,POD 活性和同工酶都会发生明显变化,对环境因子比较敏感。本试验中,重金属胁迫下油麦菜体内的过氧化物增加,引起 POD 活性上

升。但随着重金属浓度的进一步增加,油麦菜体内过氧化物积累过量,超出了 POD 的消除能力,导致 POD 活性下降,进而对油麦菜造成伤害。由图 3 和图 4 可知,As 对油麦菜 POD 活性的影响和 CAT 类似,当 As 浓度增加时,油麦菜体内产生一个较强的抗氧化酶系统,保护植株细胞,使其能正常生长。

3 小结

3.1 Cd、Pb、Ni、As 单一污染不同程度的减少了油麦菜叶绿素含量。在重金属污染程度较低时,对植株叶绿素合成有一定的刺激作用,但超出一定的浓度范围后,叶绿素合成受到抑制,其含量呈下降趋势。

3.2 Cd、Pb、Ni、As 单一污染时,油麦菜对各重金属表现出不同的抗性,以受 As 影响为最小。其中 SOD 的活性随着 Cd、Pb 单一污染浓度的增加呈下降趋势,而随着 As、Ni 污染浓度的增加呈先升后降的趋势;CAT 和 POD 的活性随着 As 污染浓度的增加呈上升趋势,而随着 Cd、Pb、Ni 污染浓度的增加呈先升后降的趋势。

3.3 油麦菜 SOD、CAT 和 POD 活性在受同种重金属污染时,三者的活性比例失调,表现为其峰值出现在不同的处理水平,这能导致植物体内活性氧的产生和清除失衡,使植物的生理代谢紊乱,加速植物的衰老和死亡。

参考文献:

- [1] 丁海东,万延慧,齐乃敏,等. 重金属(Cd²⁺、Zn²⁺)胁迫对番茄幼苗抗氧化酶系统的影响[J]. 上海农业学报, 2004, 20(4): 79~82.
- [2] 金忠民,沙伟,谭大海. 低温胁迫对蓝萼香茶菜幼苗保护酶系统的影响[J]. 高师理科学刊, 2004, 24(2): 54~56.
- [3] 夏天翔,刘兆普,王景艳. 盐分和水分胁迫对菊芋幼苗离子吸收及叶片酶活性的影响[J]. 西北植物学报, 2004, 24(7): 1241~1245.
- [4] 江行玉,赵可夫. 植物重金属伤害及其抗性机理[J]. 应用与环境生物学报, 2001, 7(1): 92~99.
- [5] Van Assche F, Clijsters H. Effects of metal on enzyme activity in plant [J]. Plant Cell Environ, 1990, 13: 195~206.
- [6] 华东师范大学生物系植物生理教研组. 植物生理学实验指导[M]. 北京:人民教育出版社, 1980. 88~90.
- [7] 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.

(下转第 213 页)

碱胁迫^[7]等危害途径。如何降低硬水对一品红的抑制效果需要进一步研究, 选择盐分指数低的肥料以降低盐害、采用合理的水肥管理措施降低根区盐分积累等都是值得试验的方法。

参考文献:

- [1] Tang S X, Wang R J. A study on nutrient solution preparation with hard water[J]. Soilless Culture, 1989, 5(2): 51~60.
- [2] Zieslin N, Abolitz M. Leakage of phenolic compounds from plant root; effects of pH, Ca²⁺ and NaCl[J]. Sci Hort, 1994, 58: 303~314.
- [3] Munns R. Comparative physiology of salt and water stress[J]. Plant Cell and Environment, 2002, 25: 239~250.
- [4] 刘志媛, 朱祝军, 钱亚榕, 等. 等渗 Ca(NO₃)₂ 和 NaCl 对番茄幼苗生长的影响[J]. 园艺学报, 2001, 28: 31~35.
- [5] Cerda A, Martinez V. Nitrogen fertilization under saline conditions in tomato and cucumber plants[J]. J Hort Sci, 1988, 93: 451~458.
- [6] Jeong B R, Lee C W. Growth suppression and raised tissue Cl⁻ contents in NH₄⁺ fed marigold, petunia and salvia[J]. J Amer Soc Hort Sci., 1992, 117: 762~768.
- [7] Bie Z. Effects of sodium sulfate and sodium bicarbonate on the growth, gas exchange and mineral composition of lettuce[J]. Sci Hort, 2004, 99: 215~224.
- [8] Argo W R, Biernbaum J A. The effect of lime irrigation water source and water soluble fertilizer on root zone pH, electrical conductivity and macronutrient management of container root media with impatiens[J]. J Amer Soc Hort Sci, 1996, 121: 442~452.
- [9] Argo W R, Biernbaum J A. The effect of root media on root zone pH, calcium and magnesium management in containers with impatiens[J]. J Amer Soc Hort Sci, 1997, 122: 275~284.
- [10] Raviv M, Wallach R, Silber A. Substrates and analysis [A]. Savvas D, Passam H ed. Hydroponic production of vegetables and ornamentals[C]. Athens, Greece: Embryo Publications, 2002. 25~101.
- [11] Wright R D. The pour through nutrient extraction procedure[J]. Hort Sci., 1986, 21: 227~229.
- [12] 孙兆法, 翟晓灵, 于道功, 等. 采穗对一品红母本苗盆花品质的影响[J]. 西北农业学报, 2005, 14(1): 125~128.
- [13] Frick J, Mitchell C A. Stabilization of pH in solid matrix hydroponic systems[J]. Hort Sci., 1993, 28: 981~984.
- [14] Vetanovetz R P, Peterson J C. The fate urea in a sphagnum peat medium affected by lime source and rate[J]. J Amer Soc Hort Sci, 1990, 115: 386~389.
- [15] Nelson P V. Developing root zone management strategies to minimize water and fertilizer waste[J]. Acta Hort., 1990, 272: 175~184.
- [16] 潘静娴, 黄丹枫, 王世平, 等. 育苗基质 pH 对甜瓜穴盘苗营养特性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2002, 8: 251~253.
- [17] 郭培国, 陈建军, 李荣华. pH 值对烤烟根系活力及烤后烟叶化学成分的影响[J]. 中国农业科学, 2000, 33(1): 39~45.
- [18] 陈建军, 陈建勋, 吕永华. 根际 pH 值对烟草无机营养吸收的影响[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32: 341~344.
- [19] Kang J G, van Iersel M W. Nutrition solution concentration affects shoot: root ratio, leaf area ratio and growth of subirrigated salvia[J]. Hort Sci., 2004, 39: 49~54.
- [8] 严重玲, 李瑞智, 钟章成. 模拟酸雨对绿豆、玉米生理生态特性的影响[J]. 应用生态学报, 1996(增刊): 124~131.
- [9] Stobart A K, Griffiths W T, Ameen Bukhari I, et al. The effect of Cd²⁺ on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley[J]. Plant Physiol, 1985, 63: 293~298.
- [10] Shi G X, Du K H, Xie K B, et al. Ultra structural study of leaf cell damaged from Hg²⁺ and Cd²⁺ pollution in Hydrilla verticillata[J]. Acta Bot Sin, 2000, 42: 373~378.
- [11] 宋松泉, 简伟军, 傅家瑞. Cd²⁺ 对玉米种子活力的影响及 Ca²⁺ 的拮抗作用[J]. 应用与环境生物学报, 1997, 3(1): 1~5.
- [12] 刘鸿先, 曾韶西, 王以柔, 等. 低温对不同耐寒力的黄瓜幼苗子叶各细胞器中超氧化物歧化酶(SOD)的影响[J]. 植物生理学报, 1985, 11(1): 48~57.
- [13] Elstner E F. Oxygen activation and oxygen toxicity[J]. Plant physiol, 1982. (33): 73~96.
- [14] 罗广华, 王爱国, 邵从本, 等. 高浓度氧对种子萌发和幼苗生长的伤害[J]. 植物生理学报, 1987, 13(2): 161~167.
- [15] Kellogg E W, Fridovich I. Superoxide, hydrogen peroxide and single oxygen in lipid peroxidation by a xanthine oxidase system[J]. J. Biol. Chem., 1975, 250: 8812~8817.
- [16] Scandalios J G. Oxygen stress and superoxide dismutase[J]. Plant physiol, 1993, 101: 7~12.
- [17] 杨居荣, 贺建群, 张国祥, 等. 不同耐性作物中几种酶活性对 Cd 胁迫的反应[J]. 中国环境科学, 1996, 16(2): 113~117.

(上接第 209 页)