

铅与酸雨复合污染对水稻幼苗期保护酶系统的影响

杨静, 高甜甜, 张莉, 蔡蓉凤, 许雁, 金璘* (苏州科技学院化生学院, 江苏苏州 215009)

摘要 [目的]研究酸雨和铅复合污染对水稻幼苗期保护酶系统的影响,为酸雨和铅复合污染对植物的毒性机理研究提供科学依据。[方法]以苏香梗3号水稻幼苗为试材,采用模拟联合污染方法,共设4个处理,即对照(CK)、酸雨组、铅组、铅+酸雨组,研究了铅及酸雨复合胁迫对水稻幼苗的危害。[结果]酸雨(pH=3)与铅的复合胁迫使水稻生长受到明显抑制,导致幼苗保护酶系统中SOD、POD升高后快速降低,CAT活性持续减弱。[结论]复合污染严重影响了水稻保护酶系统的正常功能,且复合污染的危害远大于单一污染之和。
关键词 铅;酸雨;水稻

中图分类号 S181 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2016)18-034-03

Effects of Lead and Acid Rain Combined Pollution on Protective Enzyme System in Rice Seedling Period

YANG Jing, GAO Tian-tian, ZHANG Li, JIN Jin* et al (School of Chemistry and Biological Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou, Jiangsu 215009)

Abstract [Objective] To research the effects of lead and acid rain combined pollution on protective enzyme system in rice seedling period, and to provide scientific basis for the research on toxic mechanism of lead and acid rain combined pollution to toxicity. [Method] With Suxiangeng 3 rice seedling as the materials, simulation combined pollution method was adopted. There were in all four treatments, including control (CK), acid rain group, lead group, and lead + acid rain group. Damage of lead and acid rain combined stress on rice seedling was explored. [Result] Combined stress of acid rain (pH=3) and lead significantly restricted the growth of rice. Thus, the SOD and POD firstly enhanced and then rapidly decreased in seedling protective enzyme system. CAT activity continually weakened. [Conclusion] Combined pollution seriously affects the normal function of protective enzyme system of rice, and combined pollution is far more hazardous than the sum of single pollution.

Key words Lead; Acid rain; Rice

我国遭受酸雨危害的农作物播种面积大约为 1 288.7 万 hm^2 , 经济损失达 42.6 亿元^[1], 酸雨已成为制约我国农林业生产和社会经济发展的重要因素之一。酸雨会直接导致植物的枯萎和死亡, 研究表明^[2-4], 水的 pH 在 3 以下时, 大豆、小麦等植物叶片表面会出现坏死的斑点, 叶片的气孔受到损伤, 进而影响其光合作用和分泌作用, 甚至会使植物死亡。酸雨进入土壤后, 可降低土壤的 pH, 加速金属离子(如 Zn、Pb、Cd、Cu 等)的溶出, 使农作物遭受酸雨和重金属的复合胁迫, 从而造成农作物减产。铅是植物的非必需元素, 对植物具有毒害作用。植物的保护酶系统是植物遭受胁迫时最重要的反应系统, 它与植物的抗逆能力密切相关。目前, 选择保护酶系统的变化来评价铅和酸雨的复合胁迫研究鲜见报道。笔者以水稻为材料, 研究了酸雨与铅复合胁迫的毒害机制, 以期为酸雨和铅复合污染对植物的毒性机理研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试品种 供试水稻品种为苏香梗 3 号, 由苏州农业科学研究院提供。

1.2 模拟酸雨的制备 配制 pH 3.0 的酸雨母液, 其中硫酸根和硝酸根的体积比为 4.7:1.0。用母液调制 pH 3.0 的酸雨。

1.3 试验设计 将水稻幼苗用 0.1% HgCl_2 消毒 10 min 后

用蒸馏水清洗干净, 置于光照箱萌发、培养, 温度 (25 ± 1) $^\circ\text{C}$, 光强 2 000 lx。共设 4 个处理, 酸雨组: 待苗长至 3 cm 时移入盛有 Hoagland 营养液塑杯中培养, 每杯 5 株, 3 d 更换 1 次营养液, 光周期为 10 h:14 h(光:暗比), 30 d 后待用; 用配制好的酸雨均匀地喷洒在水稻幼苗叶片上, 滴液为限(为增加附着力, 喷洒液中加入 1~2 滴吐温-80); 铅组: 在根部溶液中加入硝酸铅, 浓度为 40 mg/L; 酸雨+铅组: 叶面喷施酸雨的同时在根部溶液中加入硝酸铅, 使铅浓度达到 40 mg/L; 对照组(CK): 喷等量的蒸馏水, 滴液为限, 然后更换为等量的 Hoagland 营养液。

1.4 测定指标及方法 分别在第 1、3、5 天测定水稻幼苗的 POD、CAT、SOD 活性。测定方法参照文献[5]。

1.5 数据统计 运用统计软件 SPSS 11.0 进行数据处理。

2 结果与分析

2.1 铅和酸雨复合胁迫对水稻幼苗 POD 活性的影响 由表 1 可知, 随着胁迫天数的增加, CK 的 POD 活性呈现逐渐升高的趋势, 而其他 3 组则呈现先升后降的趋势。胁迫第 1 天, 4 个处理的 POD 活性差别较小, 未达到差异显著水平, 说明胁迫对水稻幼苗造成的影响尚未显现。胁迫第 3 天, 酸雨组、铅组、铅+酸雨组的 POD 活性均出现了不同程度的升高, 酸雨组和铅+酸雨组与 CK 相比达差异极显著水平, 铅组与 CK 相比达差异显著水平; 从相对值来看, 酸雨组、铅组、铅+酸雨组分别较 CK 高出 14.34、8.92、45.27 个百分点, 显示铅对 POD 的刺激作用没有酸雨显著。同时, 酸雨和铅的复合胁迫对水稻的影响远远大于单一胁迫的几何相加, 说明在植物内部铅和酸雨不是分别起作用, 而是协同作用。第 5 天, 单一胁迫和复合胁迫组的 POD 活性均大幅降低, 分别较 CK 降低了 7.99、4.80、15.83 个百分点。这说明铅和酸雨的胁迫可诱导水稻幼苗产生更多过氧化物, 水稻初期应激反应

基金项目 江苏省教育厅“高等学校大学生实践创新训练”(2014058); 苏州市科技计划项目(SYN201413)。

作者简介 杨静(1991-), 女, 甘肃两当人, 本科生, 专业: 生物技术。
* 通讯作者, 副教授, 硕士生导师, 从事植物生理和环境生理研究。

收稿日期 2016-05-06

表 1 铅和酸雨胁迫对水稻幼苗 POD 活性的影响

处理 Treatment	第 1 天 The 1st day		第 3 天 The 3rd day		第 5 天 The 5th day	
	POD 活性 POD activity U/(min·g)	相对值 Relative value//%	POD 活性 POD activity U/(min·g)	相对值 Relative value//%	POD 活性 POD activity U/(min·g)	相对值 Relative value//%
CK	10.880 ± 1.795	100.00	11.412 ± 0.991	100.00	12.156 ± 1.139	100.00
酸雨组 Acid rain group	11.200 ± 1.173	103.19	12.701 ± 0.587 **	114.34	11.184 ± 0.839 *	92.01
铅组 Lead group	11.090 ± 1.231	102.39	12.322 ± 0.331 *	108.92	11.548 ± 1.201	95.20
铅 + 酸雨组 Lead + acid rain group	11.970 ± 1.852 *	110.94	16.578 ± 1.113 **	145.27	10.232 ± 1.458 **	84.17

注: * 表示在 0.05 水平差异显著, ** 表示在 0.01 水平差异显著。

Note: * indicated significant differences at 0.05 level; and ** indicated significant differences at 0.01 level.

以提高 POD 活性,并清除过量的过氧化物,酶活性提高幅度与水稻体内过氧化物的产生量成正比,但这种应激反应在时间和反应幅度上有限,随着胁迫时间的延长和胁迫程度的加深,生成的过氧化物开始破坏细胞膜系统,表现为 POD 活性逐渐下降。

2.2 铅和酸雨复合胁迫对水稻幼苗 SOD 活性的影响 由表 2 可知,胁迫第 1 天时,酸雨组与铅 + 酸雨组的 SOD 活性相对于 CK 均有所增加,分别增加了 23.20 和 30.00 个百分点,铅胁迫组与 CK 基本持平。第 3 天时,酸雨组、铅组与铅

+ 酸雨组的 SOD 活性相对于 CK 大幅增加,分别增加了 26.01、19.65 和 62.81 个百分点,进一步显示酸雨对水稻幼苗的胁迫大于铅的胁迫。

胁迫第 5 天,3 个胁迫组的 SOD 酶活性均低于 CK,酸雨组与铅 + 酸雨组的 SOD 活性相对于 CK 降低了 8.75 和 18.82 个百分点。这说明在胁迫初期活性氧开始增加,植物的应激反应被激活,SOD 酶活性提高以清除产生的活性氧,但随着胁迫时间的延长和程度的加深,活性氧的产生量超出了酶清除的上限,活性氧转而破坏酶的结构,降低酶活性。

表 2 铅和酸雨胁迫对水稻幼苗 SOD 活性的影响

Table 2 Effects of lead and acid rainfall stress on the SOD activity of rice seedlings

处理 Treatment	第 1 天 The 1st day		第 3 天 The 3rd day		第 5 天 The 5th day	
	SOD 活性 SOD activity U/g	相对值 Relative value//%	SOD 活性 SOD activity U/g	相对值 Relative value//%	SOD 活性 SOD activity U/g	相对值 Relative value//%
CK	5.00 ± 0.070	100.00	5.19 ± 0.103	100.00	5.26 ± 0.032	100.00
酸雨组 Acid rain group	6.16 ± 0.017 **	123.20	6.54 ± 0.312 **	126.01	5.01 ± 0.118	95.24
铅组 Lead group	5.05 ± 0.121	101.12	6.21 ± 0.038 **	119.65	4.80 ± 0.275 *	91.25
铅 + 酸雨组 Lead + acid rain group	6.50 ± 0.178 **	130.00	8.45 ± 0.135 **	162.81	4.27 ± 0.108 **	81.18

注: * 表示在 0.05 水平差异显著, ** 表示在 0.01 水平差异显著。

Note: * indicated significant differences at 0.05 level; and ** indicated significant differences at 0.01 level.

2.3 铅和酸雨复合胁迫对水稻幼苗 CAT 活性的影响 由表 3 可知,随着胁迫天数的延长,各处理的 CAT 活性随之降低,第 1、3、5 天酸雨组的酶活性分别是 CK 的 83.76%、80.03%、76.66%,铅组分别是 CK 的 87.40%、83.23%、

80.22%,铅 + 酸雨组分别是 CK 的 58.20%、56.43%、50.15%。这说明铅和酸雨的胁迫对 CAT 的影响发生得早,且随着时间的延长,对酶活性的抑制加深,双重胁迫的影响大于单一胁迫的几何相加。

表 3 酸雨和铅对水稻幼苗 CAT 活性的影响

Table 3 Effects of lead and acid rainfall stress on the CAT activity of rice seedlings

处理 Treatment	第 1 天 The 1st day		第 3 天 The 3rd day		第 5 天 The 5th day	
	CAT 活性 CAT activity U/(min·g)	相对值 Relative value//%	CAT 活性 CAT activity U/(min·g)	相对值 Relative value//%	CAT 活性 CAT activity U/(min·g)	相对值 Relative value//%
CK	6.67 ± 0.756	100.00	6.17 ± 0.347	100.00	5.86 ± 0.253	100.00
酸雨组 Acid rain group	5.32 ± 0.702 **	83.76	4.94 ± 0.678 **	80.03	4.45 ± 0.239 **	76.66
铅组 Lead group	5.83 ± 0.521 *	87.40	5.12 ± 0.874 **	83.23	4.68 ± 0.453 **	80.22
铅 + 酸雨组 Lead + acid rain group	3.88 ± 0.324 **	58.20	3.45 ± 0.259 **	56.43	2.93 ± 0.386 **	50.15

注: * 表示在 0.05 水平差异显著, ** 表示在 0.01 水平差异显著。

Note: * indicated significant differences at 0.05 level; and ** indicated significant differences at 0.01 level.

3 结论与讨论

(1) Fridovich^[6] 自由基学说认为, 不良环境下植物体内存在膜保护系统, 能够清除体内多余的自由基, 其活性氧、自由代谢是一个动态变化过程。这一保护系统实际上是一个抗氧化系统, 它是由多种酶和还原型物质组成, 其中 SOD、POD、CAT 是主要的抗氧化酶。SOD 作为超氧自由基清除剂, 与植物的抗逆性高低有相关性, 在逆境初期, SOD 活性增加以提高植物的适应能力, 随着逆境程度的增加, SOD 活性呈先上升后下降, 这与笔者研究得出的结论一致, 也与 Macarlane 等^[7] 的研究结果一致。至于酸雨的影响大于铅的影响, 原因可能与取材有关, 酸雨的直接喷施短期内对植物造成的伤害比根部溶液中添加重金属铅的危害更直接。

(2) POD 是一种适应性酶, 其在植物体内的活性较高, 与植物的生长发育状况、体内代谢快慢、对外界环境的适应能力密切相关^[8-9]。铅的酸雨胁迫可以诱导水稻组织中 POD 活性升高, 这是水稻对污染胁迫的响应。由于植物在遭受污染胁迫时, 产生了大量有害的过氧化物, POD 利用 H_2O_2 对这些过氧化物进行分解来维持自身的正常代谢, 导致了 POD 活性的增加。当胁迫超过植物的承受极限时, 植物的酶系统就会遭受破坏。该研究中, 胁迫前 3 d POD 的活性逐渐升高, 且复合胁迫升高最明显, 达到了对照的 145%; 第 5 天活性快速下降, 说明其胁迫超出了植物的承受范围, 开始破坏其功能。POD 也与 SOD 显示出相同的变化趋势, 酸雨的影响大于铅, 复合胁迫大于单一胁迫之和。

(3) CAT 是一种含铁的蛋白酶, 能将 SOD 的反应产物 H_2O_2 分解成 H_2O , 以达到清除体内多余的 H_2O_2 , 阻遏 Haber-Wess 反应产生更强毒性的 $\cdot OH$, 也避免了 H_2O_2 对植物组织的伤害。该研究表明, 铅和酸雨的胁迫从初期就抑制了 CAT 活性, 且随着胁迫时间的延长, 酶活性被抑制的程度加

(上接第 27 页)

高可促进其营养生长, 同时也可促进其营养生长向生殖生长转化。花生生育期间气候比较适宜, 叶斑病和锈病发生普遍较轻, 至后期各处理均未发生倒伏。

3 结论与讨论

(1) 花生产量随密度增加而增加, 但达到一定密度后再增加密度反而会减产^[4]。泰花 9 号种植密度为 113 370 ~ 179 205 穴/ hm^2 时, 随密度的增加产量呈先上升后下降的趋势, 在种植密度为 163 440 穴/ hm^2 时产量最高, 这表明种植密度在 163 440 穴/ hm^2 时, 花生群体生产力已达到最大值, 继续增加密度会导致通风透光能力下降, 产量反而降低; 密度低于 163 440 穴/ hm^2 时, 植株不能充分利用光能积累更多的干物质, 产量同样不高。因此, 在江苏及周边生态条件相近地区示范应用泰花 9 号时应根据当地实际情况确定适宜密度。

深, 第 3 天 SOD 活性却处于上升阶段, 势必会产生大量的 H_2O_2 。缺少了 CAT 对 H_2O_2 的分解作用, 积累的 H_2O_2 将通过 Haber - Wess 反应产生更强毒性的 $\cdot OH$, 加速了对植物的破坏作用。

(4) 综上所述, 水稻幼苗遭受重金属铅和酸雨胁迫时, 作为植物的内源保护酶系统 (SOD、CAT、POD) 能够在胁迫初期清除体内过剩的活性氧, 维持活性氧代谢平衡, 从而保护膜结构, 使水稻在短期表现出一定的抗性, 维持植物的正常代谢, 但只能维持一段时间, 随着胁迫时间的加长, 胁迫超出承受极限时, SOD、POD 和 CAT 活性下降或被破坏, 细胞的正常代谢被破坏。这说明植物在逆境胁迫下, 形态与生理上产生一系列保护性代偿反应, 以适应渐变或骤变的环境, 但当胁迫强度超越植物的适应能力时, 损伤随之发生, 也说明铅和酸雨胁迫在植物体内有着复杂的关系, 这种关系是今后的研究重点。

参考文献

- [1] 刘小京, 刘孟雨. 盐生植物利用与区域农业可持续发展 [M]. 北京: 气象出版社, 2002: 1 - 9.
- [2] 黄晓华, 陆天虹, 周青, 等. 酸雨伤害植物机理与稀土调控研究 [J]. 中国生态农业学报, 2004, 12(3): 116 - 118.
- [3] 宋国菡, 萧月芳. 酸雨对环境的影响及防治对策 [J]. 农业环境保护, 1998, 17(3): 141 - 143.
- [4] 邹海明, 邹长明, 林平, 等. 土壤中酸可提取态重金属释放特征研究 [J]. 农业资源与环境科学, 2006, 22(3): 404 - 406.
- [5] 李合生. 植物生理生化原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [6] FRIDOVICH H L. Free radical in biology: Vol 1 [M]. New York: Academic Press, 1976: 239.
- [7] MACARLANE G R, BURCHETT M D. Cellular distribution of copper, lead and zinc in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh [J]. Aquatic botany, 2000, 68: 45 - 59.
- [8] 严重玲, 洪业汤, 付舜珍, 等. Cd、Pb 胁迫对烟草叶片中活性氧清除系统的影响 [J]. 生态学报, 1997, 17(5): 488 - 492.
- [9] 任安芝, 高玉葆, 刘爽. 青菜幼苗体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.

(2) 在磷、钾、钙等营养充分补足的条件下, 随着氮素用量的增加, 花生荚果产量逐步提高, 在达到一定氮素水平后荚果产量逐步下降^[5]。随施肥量的增加, 泰花 9 号产量也是呈先上升后下降的趋势, 在施用复合肥 450.0 kg/ hm^2 + 尿素 75.0 kg/ hm^2 时花生产量达到最大值。试验结果表明, 泰花 9 号需肥水平中等, 在江苏及周边生态条件相近地区示范应用时应结合当地土壤肥力水平确定适宜的施肥水平。

参考文献

- [1] 马寅斐, 何东平, 王文亮, 等. 我国花生产业的现状分析 [J]. 农产品加工 (学刊), 2011(7): 122 - 124.
- [2] 杨冬静, 王晓军, 张祖明. 江苏花生生产现状、存在问题及对策 [J]. 花生学报, 2012(4): 18 - 21.
- [3] 谢吉先, 季益芳, 刘军民, 等. 花生大面积高产十项技术措施 [J]. 花生科技, 2000(3): 33 - 36.
- [4] 高建玲, 杜绍印, 马秀娟, 等. 花生高产栽培适宜种植密度初探 [J]. 耕作与科学, 2012(1): 33 - 38.
- [5] 谢吉先, 季益芳, 刘军民, 等. 氮肥用量对花生生育及产量的影响 [J]. 花生科技, 2000(2): 14 - 17.