

和华龙,黄 华,薛建辉. 模拟酸雨和富营养化复合胁迫对水葫芦抗氧化酶的影响[J]. 江苏农业科学,2015,43(11):430-432.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.11.134

模拟酸雨和富营养化复合胁迫 对水葫芦抗氧化酶的影响

和华龙¹,黄 华^{1,2},薛建辉¹

(1. 南京林业大学生物与环境学院,江苏南京 210037;2. 河南科技大学农学院,河南洛阳 471023)

摘要:以水葫芦为研究对象,利用水培法,探讨了模拟酸雨和富营养化复合胁迫对水葫芦叶片抗氧化酶的影响。结果表明,随着酸雨 pH 值的下降和富营养化水平的提高,水葫芦叶片的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性总体均呈下降趋势,而过氧化物酶(POD)活性呈上升趋势,并且 3 种酶活性的变化幅度越来越大。表明随着 pH 值的下降,酸雨对 SOD、CAT 活性均产生抑制作用,而对 POD 活性产生促进作用,并且会随着富营养化水平的提高作用增强。并对 3 种酶活性变化进行相关性分析,发现三者相关系数较大,说明 3 种酶之间有一定的协调作用。

关键词:模拟酸雨;富营养化;复合胁迫;水葫芦;抗氧化酶

中图分类号: Q945.78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)11-0430-03

中国是继欧美之后世界上出现的第三大酸雨区,酸雨面积约占国土面积的 40%^[1],而富营养化湖泊的比例更是高达 60%^[2]。酸雨和富营养化的危害日益严重,对我国的生态环境、经济发展和居民健康造成了巨大威胁^[3]。研究酸雨和富营养化复合胁迫对水生植物的影响,探索水生植物在富营养化条件下对酸雨的响应机制,从而选择合适的水生植物用于水环境修复,具有十分重要的意义。在逆境条件下,植物体内活性氧代谢失调,自由基大量积累,可导致膜系统损伤,进一步造成细胞的代谢功能丧失和死亡^[4-5]。植物体内存在一整套的抗氧化系统,它能使活性氧的产生和清除处于一种动态平衡的状态,从而维持植物的正常生长^[6-7]。其中,抗氧化酶发挥着重要作用,包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)^[8-9]。目前,国内外关于酸雨对植物影响的研究较多,但是酸雨和富营养化复合胁迫对植物抗氧化酶系统的影响则鲜见报道^[10]。本研究以水葫芦为对象,利用水培法,探讨了在富营养化条件下酸雨对水葫芦叶片抗氧化酶系统的影响,以期对富营养化水体的生态修复以及适宜水生植物的选择提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

水葫芦,学名凤眼蓝(*Eichhornia crassipes*),原产于南美洲亚马逊河流域,雨久花科凤眼蓝属,是一种漂浮性水生植物。水葫芦根系发达呈须状,叶柄膨大中空,叶子直立而光滑,

花为蓝色喇叭状。水葫芦适应性强,是净化水质的良好植物,但其繁殖迅速,难以根除,会导致生态环境恶化^[11]。试验在南京林业大学下蜀林场温室内进行,选取生长健康并且一致的水葫芦幼苗置于塑料周转箱(长 50 cm、宽 38 cm、高 30 cm),箱内盛 30 L 营养液。

1.2 方法

1.2.1 营养液营养水平设置 营养液采用 Hoagland 改良配方,以处理过的高纯水配制。水培 1 个月后,选取生长健康并且一致的水葫芦分为 3 组,再分别用不同营养水平的营养液培养。营养液设置低富营养化(N1)、中富营养化(N2)、高富营养化(N3)3 个水平,其中铁盐和微量元素的配方与 Hoagland 营养液一致。各营养液的成分和含量见表 1。

表 1 营养液成分和含量

营养水平	营养液成分(mg/L)				
	NH ₄ NO ₃	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	KNO ₃	KH ₂ PO ₄	MgSO ₄
N1	0.286	1.686	0.793	0.101	0.100
N2	0.857	6.744	3.606	0.483	0.300
N3	4.000	21.919	14.424	2.941	1.000

1.2.2 模拟酸雨处理水平设置 酸雨母液采用 1 mol/L 硫酸与 2 mol/L 硝酸等体积混合而成,以处理过的高纯水配制。模拟酸雨设置 3 个水平,分别为 pH 值 7.0、4.0、2.0。模拟酸雨处理采用喷雾法,用喷雾器向水葫芦叶片喷洒酸雨。在叶面喷洒酸雨量为 20 mm(相当于中雨),喷洒时间为 30 min。喷洒酸雨时须缓慢,以叶片不滴液为标准,同时为防止污染营养液,喷后更换营养液。每组水葫芦样品喷洒模拟酸雨 3 次,隔 1 d 喷 1 次,处理完成后的第 2 天,随机选取新鲜叶片进行生理指标测定。

1.2.3 生理指标测定 参考李合生的方法^[12],分别测定水葫芦叶片的 SOD、CAT、POD 活性。SOD 活性以抑制氮蓝四唑(NBT)光化还原 50% 为 1 个酶活性单位(U/g),CAT 活性以 D_{240 nm} 每分钟减少 0.1 为 1 个酶活性单位[U/(g·min)],POD 活性以 D_{470 nm} 每分钟增加 0.01 为 1 个酶活性单位

收稿日期:2015-05-11

基金项目:江苏省高校自然科学研究重大项目(编号:12KJA180003);江苏省高校生物学优势学科建设工程(编号:2014-PAPD)。

作者简介:和华龙(1989—),男,河南周口人,硕士研究生,主要从事植物生理学研究。E-mail: hualonghe@foxmail.com。

通信作者:薛建辉,教授,博士生导师,主要从事森林生态学研究。

Tel: (025)85427220; E-mail: jhxue@njfu.edu.cn。

[U/(g·min)]。每组水葫芦样品测定 3 个重复,每个重复均取自不同的样品。

1.3 数据分析

利用 Excel 和 SPSS 软件进行数据处理和分析。

2 结果与分析

2.1 复合胁迫对 SOD 活性的影响

从图 1 可见,模拟酸雨处理后,SOD 活性在 pH 值 4.0 水平下高于 pH 值 7.0 水平,在 pH 值 2.0 水平下低于 pH 值 7.0 水平。同时 SOD 活性在 N2 水平下低于 N1 水平,在 N3 水平下低于 N2 水平。且 SOD 活性从 N2 水平至 N3 水平下降的幅度要大于从 N1 水平至 N2 水平下降的幅度。由此可见,同等营养水平下,随着 pH 值的下降,SOD 活性先上升后下降,总体呈下降趋势。同时,同等酸雨水平下,随着营养水平的提高,SOD 活性呈下降趋势,并且下降幅度越来越大。表明酸雨胁迫和富营养化胁迫对水葫芦叶片 SOD 活性均有一定的抑制作用,而且富营养化胁迫扩大了酸雨胁迫的不利影响。

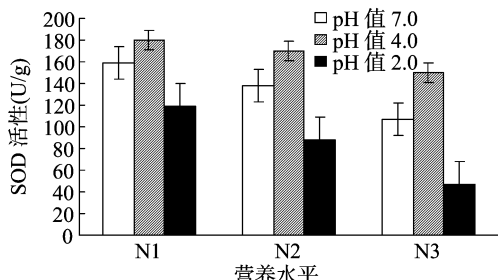


图1 复合胁迫对 SOD 活性的影响

2.2 复合胁迫对 CAT 活性的影响

从图 2 可见,模拟酸雨处理后,CAT 活性在 pH 值 4.0 水平下高于 pH 值 7.0 水平,在 pH 值 2.0 水平下低于 pH 值 7.0 水平。同时 CAT 活性在 N2 水平下低于 N1 水平,在 N3 水平下低于 N2 水平。且 CAT 活性从 N2 水平至 N3 水平下降的幅度要大于从 N1 水平至 N2 水平下降的幅度。由此可见,同等营养水平下,随着 pH 值的下降,CAT 活性先上升后下降,总体呈下降趋势。同时,同等酸雨水平下,随着富营养化水平的提高,CAT 活性呈下降趋势,并且下降幅度越来越大。表明酸雨胁迫和富营养化胁迫对水葫芦叶片 CAT 活性均有一定的抑制作用,而且富营养化胁迫扩大了酸雨胁迫的不利影响。

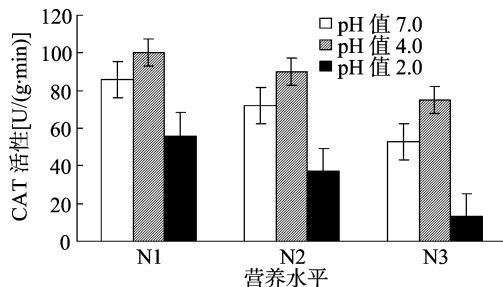


图2 复合胁迫对 CAT 活性的影响

2.3 复合胁迫对 POD 活性的影响

从图 3 可见,模拟酸雨处理后,POD 活性在 pH 值 4.0 水平下高于 pH 值 7.0 水平,在 pH 值 2.0 水平下高于 pH 值 4.0

水平。同时 POD 活性在 N2 水平下高于 N1 水平,在 N3 水平下高于 N2 水平。且 POD 活性从 N2 水平至 N3 水平升高的幅度要大于从 N1 水平至 N2 水平升高的幅度。由此可见,随着 pH 值的下降和富营养化水平的提高,POD 活性均呈上升趋势,并且上升幅度越来越大。表明酸雨胁迫和富营养化胁迫对水葫芦叶片 POD 活性均有一定的促进作用,而且富营养化胁迫扩大了酸雨胁迫的不利影响。

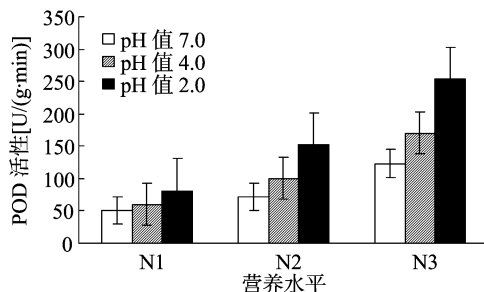


图3 复合胁迫对 POD 活性的影响

2.4 SOD、CAT 与 POD 活性变化的相关性分析

从表 2 可以看出,对 SOD、CAT 与 POD 3 种酶活性的变化进行相关性分析,分析结果相关系数较大。其中,SOD 与 CAT 活性呈极显著正相关,SOD 与 POD 活性呈不显著负相关,CAT 与 POD 活性呈显著负相关。表明 SOD、CAT 与 POD 之间存在一定的协调作用。

表 2 SOD、CAT、SOD 活性变化的相关系数

指标	SOD	CAT	POD
SOD	1.000		
CAT	0.997	1.000	
POD	-0.773	-0.790	1.000

3 讨论

研究结果表明,酸雨会导致植物体内超氧阴离子自由基($O_2^- \cdot$)等活性氧大量积累,对蛋白质、糖脂和核酸等维持生物功能的大分子结构造成破坏,特别是膜结构中的蛋白质,造成细胞膜脂质过氧化,膜透性增加,大量营养离子外渗,从而影响了植物正常的生理代谢^[13-14]。酸雨对许多植物产生伤害的临界点在 pH 值 3.5,对植物生长和生物量影响的临界点在 pH 值 3.0 至 pH 值 2.0 之间^[15],本试验结果与之相符。

SOD 主要存在于细胞质和线粒体中,可以催化 $O_2^- \cdot$ 发生歧化反应,生成 H_2O_2 和 O_2 ^[16]。SOD 作为一种诱导酶,其活性受底物 $O_2^- \cdot$ 浓度的影响^[17]。本试验中随着酸雨 pH 值的下降,SOD 活性先上升后下降,总体呈下降趋势。表明酸雨处理后,水葫芦叶片中 $O_2^- \cdot$ 产生增多,促进了 SOD 活性的增强;但随着 pH 值进一步下降,SOD 活性逐渐受到抑制^[18]。

CAT 主要存在于过氧化氢体中,可将 H_2O_2 迅速分解为 H_2O 和 O_2 ^[19]。CAT 和 SOD 协同作用,可清除植物体内过量的 $O_2^- \cdot$ 和 H_2O_2 ^[20]。本试验中,随着酸雨 pH 值的下降,CAT 活性先上升后下降,总体呈下降趋势。表明酸雨处理后,水葫芦叶片中由 SOD 催化产生的 H_2O_2 增多,促进了 CAT 活性增强;但随着 pH 值进一步下降,CAT 活性逐渐受到抑制^[21]。

POD 广泛存在于植物体内,可以将 H_2O_2 分解为 H_2O 和

$O_2^{[22]}$ 。POD 作为活性较高的适应性酶,能够反映植物生长发育的特点、体内代谢状况以及对外界环境的适应性,是植物衰老到一定阶段的产物,甚至可以作为衰老指标^[23]。本试验中随着酸雨 pH 值的下降,POD 活性呈上升趋势。表明酸雨处理后,水葫芦叶片中 H_2O_2 的产生增多,促进了 POD 活性的增强,POD 在初期表现为保护效应。但随着 pH 值进一步下降,POD 参与了活性氧的生成和叶绿素的降解,并引发脂质过氧化,虽然活性继续增强,但是表现为伤害效应^[24]。

目前有关富营养化对植物造成伤害的机理的研究较少。一般认为,富营养化造成浮游生物和细菌大量繁殖,导致水体透明度降低,下层水体植物的光合作用受到影响^[25]。此外,藻类死亡后不断沉积,腐烂分解,释放有毒物质,同时消耗大量溶解氧,致使需氧生物难以生存^[26]。最后,随着富营养化程度的增加,水体不断恶化,水生环境失去平衡^[27]。

本试验中,随着富营养化水平的提高,SOD、CAT 活性均呈下降趋势,POD 活性呈上升趋势,并且三者的变化幅度越来越大。表明富营养化胁迫抑制了 SOD、CAT 活性,促进了 POD 活性,而且富营养化胁迫扩大了酸雨胁迫的不利影响^[28]。

对 SOD、CAT 与 POD 这 3 种酶活性的变化进行相关性分析,SOD 与 CAT 活性呈极显著正相关,CAT 与 POD 活性呈显著负相关。表明酸雨处理后,水葫芦叶片中 O_2^- 增多,首先 SOD 将 O_2^- 分解为 H_2O_2 和 O_2 ,然后 CAT 将 H_2O_2 继续分解为 H_2O 和 O_2 。SOD 与 CAT 协调作用,共同清除了水葫芦叶片中过量的活性氧。但是当 pH 值进一步下降时,SOD 与 CAT 活性受到抑制,而 POD 参与到活性氧的生成中,活性继续上升。

综上所述,由于抗氧化酶的作用,水葫芦对于 pH 值较高的酸雨有一定的耐受性,而对 pH 值较低的酸雨则会受到伤害。此外,酸雨还会影响水葫芦对营养元素的吸收,加剧水体的富营养化进程,而富营养化又会扩大酸雨的不利影响。水葫芦抵抗酸雨胁迫的临界 pH 值尚不确定。酸雨和富营养化复合胁迫对水葫芦抗氧化酶的影响可以通过抗氧化酶活性的变化来分析,但其具体生物学机制有待进一步研究阐明。

参考文献:

- [1] 张新民,柴发合,王淑兰,等. 中国酸雨研究现状[J]. 环境科学研究,2010,23(5):527-532.
- [2] 史 丹. 我国湖泊富营养化问题及防治对策[J]. 资源开发与市场,2005,21(1):17-18,27.
- [3] 孙崇基. 酸雨[M]. 北京:中国环境科学出版社,2001:2-16.
- [4] Shvetsova T, Mwesiwa J, Labady A, et al. Soybean electrophysiology: effects of acid rain[J]. Plant Science, 2002, 162(5):723-731.
- [5] Alscher R G, Donahue J L, Cramer C L. Reactive oxygen species and antioxidants: relationships in green cells[J]. Plant Physiology, 1997, 100(3):224-233.
- [6] Sgherri C L, Loggini B, Puliga S, et al. Antioxidant system in *Sporobolus stapfianus*: changes in response to desiccation and rehydration[J]. Phytochemistry, 1994, 35(3):561-565.
- [7] Seel W, Hendry G. Effects of desiccation on some activated oxygen processing enzymes and antioxidants in mosses [J]. Journal of Experimental Botany, 1992, 43(1):1031-1037.
- [8] Smeets K, Cuypers A, Lambrechts A, et al. Induction of oxidative

- stress and antioxidative mechanisms in *Phaseolus vulgaris* after Cd application[J]. Plant Physiology, 2005, 43(5):437-444.
- [9] Kang H M, Saltveit M E. Antioxidant enzymes and DPPH - radical scavenging activity in chilled and heat - shocked rice (*Oryza sativa* L.) seedlings radicles [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(3):513-518.
- [10] Dehayes D H, Schaberg P G, Gary J. Acid rain impacts on calcium nutrition and forest health[J]. Bioscience, 1999, 49(10):789-800.
- [11] 张志勇, 刘海琴, 严少华, 等. 水葫芦去除不同富营养化水体中氮、磷能力的比较[J]. 江苏农业学报, 2009, 25(5):1039-1046.
- [12] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2000:164-200.
- [13] 童贯和, 刘天骄, 黄 伟. 模拟酸雨及其酸化土壤对小麦幼苗膜脂过氧化水平的影响[J]. 生态学报, 2005, 25(6):1509-1516.
- [14] 李志国, 翁忙玲, 姜 武, 等. 模拟酸雨对木兰科树种叶片抗氧化系统的影响[J]. 生态环境, 2007, 16(3):779-784.
- [15] 余春珠, 温达志, 彭长连. 三种木本植物对酸雨的敏感性和抗性[J]. 生态环境, 2005, 14(1):86-90.
- [16] Kacharava N, Badridze G. Antioxidant response of some Georgian wheat species to simulated acid rain[J]. Austral J Bio Sci, 2013, 7(6):770-776.
- [17] Koricheva J, Roy S, Vranjic J A, et al. Antioxidant responses to simulated acid rain and heavy metal deposition in birch seedlings[J]. Environmental Pollution, 1997, 95(2):249-258.
- [18] 袁远爽, 肖 娟, 胡 艳. 模拟酸雨对白藜叶片抗氧化酶活性及叶绿素荧光参数的影响[J]. 植物生理学报, 2014, 50(6):758-764.
- [19] Velikova V, Yordanov I, Edreva A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain - treated bean plants: protective role of exogenous polyamines[J]. Plant Science, 2000, 151(1):59-66.
- [20] Jiang Y, Huang B. Effects of calcium on antioxidant activities and water relations associated with heat tolerance in two cool - season grasses [J]. Journal of Experimental Botany, 2001, 52(355):341-349.
- [21] 王建华, 徐 同. 模拟酸雨对棉花子叶圆片膜保护酶活性的影响[J]. 生态学报, 2003, 13(3):228-234.
- [22] Wang L H, Huang X H, Zhou Q. Response of peroxidase and catalase to acid rain stress during seed germination of rice, wheat, and rape[J]. Frontiers of Environmental Science & Engineering in China, 2008, 2(3):364-369.
- [23] Chaitanya K V, Sundar D, Masilamani S, et al. Variation in heat stress - induced antioxidant enzyme activities among three mulberry cultivars[J]. Plant Growth Regulation, 2002, 36(2):175-180.
- [24] 邱 琳, 王 娜, 周 青. 镉对酸雨胁迫下高粱种子萌发及 POD 活性和 MDA 含量的影响[J]. 中国生态农业学报, 2009, 17(2):343-347.
- [25] Scheffer M, van Nes E H. Shallow lakes theory revisited: various alternative regimes driven by climate, nutrients, depth and lake size [J]. Hydrobiologia, 2007, 584(1):455-466.
- [26] Sondergard M, Jesenn J, Jeppesen E. Seasonal response of nutrients to reduced phosphorus loading in 12 Danish lakes[J]. Freshwater Biology, 2005, 50(2):1605-1615.
- [27] Bachmann R W, Hoyer M V, Canfield D E. Evaluation of recent limnological changes at Lake Apopka[J]. Hydrobiologia, 2001, 448(1/2/3):19-26.
- [28] Moss B. The art and science of lake restoration[J]. Hydrobiologia, 2007, 581(1):15-24.