

李朋欣,龙明华,乔双雨,等.多环芳烃胁迫菜心叶片上下表皮对其生理特性的影响[J].江苏农业科学,2019,47(9):175-178.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.09.039

多环芳烃胁迫菜心叶片上下表皮对其生理特性的影响

李朋欣¹,龙明华¹,乔双雨¹,唐璇¹,张会敏¹,梁勇生^{1,2}

(1.广西大学农学院,广西南宁 530004; 2.南宁市蔬菜研究所,广西南宁 530000)

摘要:以菜心为试验材料,设定对照(CK)与低、中、高 4 个不同的多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons,简称 PAHs)浓度:0.0(CK)、0.3、0.6、0.9 mg/L,分别胁迫菜心叶片上表皮(A₁处理)和下表皮(A₂处理),比较不同浓度的 PAHs 及胁迫部位对菜心生理特性的影响。结果表明,A₁、A₂处理均使菜心株高降低,且随着处理浓度的增加,株高逐渐降低,A₁处理比 A₂处理降低得更多。A₁处理在高浓度 PAHs 处理下的叶绿素含量达到最大值,A₂处理在低浓度 PAHs 处理下的叶绿素含量达到最大值。A₁、A₂处理的丙二醛(MDA)含量增加,且在中、高浓度下,A₂处理比 A₁处理的 MDA 含量增加得更多。A₁处理的可溶性蛋白含量有所增加,A₂处理的中、低浓度可溶性蛋白含量有所减少,但与对照组相比无明显差异。A₁、A₂处理的过氧化物酶(POD)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性均降低,且 A₂处理比 A₁处理的 APX 活性降低得更为明显,A₁、A₂处理的过氧化氢酶(CAT)活性均增高。由结果可知,在不同浓度的 PAHs 和不同胁迫部位处理下,菜心的株高均降低,叶表比叶背处理降低得更多;用 0.0~0.9 mg/L PAHs 处理叶表和叶背,对菜心叶片叶绿素含量均有促进作用。中、高浓度 PAHs 处理叶背比处理叶表的 MDA 含量增加得更多。PAHs 处理对菜心可溶性蛋白含量无明显影响。总体看出,在 PAHs 处理下,POD、APX 活性降低,CAT 活性提高,且处理叶背的 APX 活性降低得更为明显。

关键词:多环芳烃;菜心;上表皮;下表皮;生理特性

中图分类号: TQ450.1⁺2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)09-0175-04

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons,简称 PAHs)是一类分子中包含 2 个及 2 个以上苯环的碳氢化合物的总称,是有机物在没有充分燃烧的条件下产生的,它是当前自然环境与食品污染的罪魁祸首之一^[1-3]。1979 年美国环境保护局发布的 129 种优先监测的污染物中,就有 16 种是 PAHs^[4-7]。PAHs 在环境中难以降解,由于它们具有半挥发性、脂溶性特点,因而可以通过大气沉降作用经过植物叶片进入植物体内或者进入土壤中被植物根系吸收,并在植物体内迁移、代谢和积累,进而通过食物链危害人们的身体健康^[8]。疏水性较强且亨利系数 $>10^{-4}$ 的有机污染物易从土壤中挥发至空气中,进而通过叶面吸收进入植物体内^[9]。叶片对大气中 PAHs 的吸收主要是通过蜡状叶表面对大气沉降物中颗粒态 PAHs 的摄取或者叶片角质层和气孔对气态 PAHs 的吸收进行的^[10-11]。Howsam 等研究发现,植物叶片中的脂肪含量与叶表皮的蜡质对亲脂性 PAHs 的富集具有重要影响^[12]。

目前,国内外的研究多集中在 PAHs 的环境行为方面,关于 PAHs 对蔬菜影响的研究较少。菜心(*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *utilis* Tsen et Lee)在我国华南地区分布

较广,本试验拟研究不同浓度 PAHs 胁迫菜心叶片上表皮、下表皮对菜心生理特性的影响,分析上表皮、下表皮吸收 PAHs 量的不同而导致菜心生理特性的差异,以期评估菜心叶片上表皮、下表皮分别吸收 PAHs 后的生理特征响应变化提供一些基础数据,从而为菜心乃至蔬菜 PAHs 污染物的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

采用广州市爱普农农业科技有限公司研制的超纯种 501 柳叶油绿甜菜心品种为供试材料。选用广州大观农化科技有限公司生产的泥炭作为基质。营养液配方参考华南农业大学研究得出的叶菜类营养液配方^[13]。PAHs 混合液选用 16 种 PAHs 中的 5 种:萘(NAP)、菲(PHE)、荧蒽(FLA)、苯并(a)蒽(BaA)、苯并(a)芘(BaP)。10 mg/L PAHs 混合液的配制方法如下:用精确度为 0.1 mg 的电子天平分别称取 0.002 0 g 萘、菲、荧蒽、苯并(a)蒽、苯并(a)芘,加入丙酮进行充分溶解并定容至 1 L,将配制好的 PAHs 混合液装入棕色瓶中密封保存,并放入 4℃冰箱中保存备用,使用时稀释成 0.3、0.6、0.9 mg/L 浓度的溶液,以蒸馏水为对照。

1.2 试验方法

2017 年 2 月 22 日将超纯种 501 柳叶油绿甜菜心播种于广西大学农学院蔬菜基地的温室大棚中,采用穴盘育苗。待菜心幼苗长至 2 叶 1 心时,定植于上口直径 15 cm、下口直径 13 cm、高 16 cm 的塑料花盆中,每盆种 3 株,采用盆栽基质栽培,浇灌营养液。以后每 7 d 浇灌 1 次营养液,其他管理措施

收稿日期:2018-01-28

基金项目:国家自然科学基金(编号:31360479);广西自然科学基金(编号:2014GXNSFAA118100);国家现代农业产业技术体系广西大宗蔬菜创新团队建设项目(编号:nyeytxgxtld-03-10-1)。

作者简介:李朋欣(1991—),女,河北邢台人,硕士研究生,研究方向为设施栽培生理及遗传育种。E-mail:1762605512@qq.com。

通信作者:龙明华,博士,教授,主要从事蔬菜育种及农产品质量安全方面的研究工作。E-mail:longmhua@163.com。

与常规栽培措施相同。3 月 31 日用不同浓度的 PAHs 混合液分别对菜心叶片上表皮 (A_1 处理) 和下表皮 (A_2 处理) 进行涂抹处理。隔 2 d 处理 1 次, 共处理 3 次, 每个处理设 3 个重复。

1.3 指标测定

最后 1 次处理完成后, 第 3 天进行株高的测定。之后采集菜心的地上部分带回实验室, 用清水清洗叶片表面并用滤纸吸干表面的水分。根据所测定生理指标的需要, 分别称取叶片鲜样并用锡箔纸包好, 用液氮迅速冷却后, 置于 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。

叶绿素含量采用丙酮提取法^[14]测定, 可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 染色法^[14]测定, 丙二醛 (MDA) 含量采用硫代巴比妥酸 (TBA) 法^[15]测定, 过氧化物酶 (POD) 活性采用氧化愈创木酚法^[15]测定, 过氧化氢酶 (CAT) 活性采用紫外分光光度法^[15]测定, 抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性采用 Nakano 等的方法^[16]测定。每个处理重复测定 3 次。

1.4 数据分析

试验数据采用 Excel 2003 进行计算并制图, 根据制作的折线图进行数据结果的分析。

2 结果与分析

2.1 PAHs 胁迫对菜心株高的影响

由图 1 可以看出, 随着 PAHs 处理浓度的增加, 菜心的株高逐渐降低, A_1 处理组的株高在不同 PAHs 浓度下分别比对照组 (CK) 下降了 5.36%、6.92%、7.59%, A_2 处理组的株高分别下降了 5.01%、5.16%、6.92%, 说明 PAHs 胁迫浓度越高, 对株高的抑制作用越强, A_1 处理组的株高比 A_2 处理组下降得更多, 说明用 PAHs 处理上表皮比处理下表皮对菜心株高的抑制作用更强。处理组与对照组相比株高均明显下降, 各处理组间无明显差异。

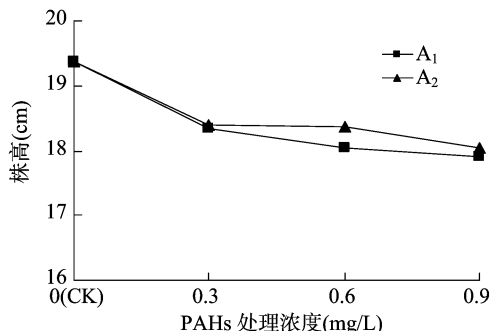


图1 不同 PAHs 处理浓度及胁迫部位对菜心株高的影响

2.2 PAHs 胁迫对菜心叶绿素含量的影响

由图 2、图 3、图 4 可以看出, 菜心叶片中的叶绿素 a 含量比叶绿素 b 含量高; 随着 PAHs 处理浓度的增加, A_1 处理组的叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素含量都有上升的趋势, 在用 0.9 mg/L PAHs 处理时, 叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素含量达到最大值, 分别比对照组升高了 55.07%、44.19%、52.05%, 并且在中浓度和高浓度处理之间无明显差异。 A_2 处理组的叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素含量都呈现先上升后下降的趋势, 在 0.9 mg/L PAHs 处理下, 叶绿素含量仍高于对照组, 在 0.3 mg/L PAHs 处理下, 叶绿素含量达到最大值, 分别比对照

组升高了 55.76%、79.63%、62.19%。以上结果说明, 用 0.3~0.9 mg/L PAHs 处理菜心叶片上表皮、下表皮, 对菜心叶片叶绿素的含量都有促进作用。

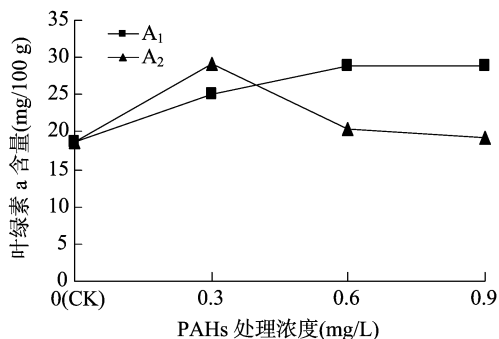


图2 不同 PAHs 处理浓度及胁迫部位对菜心叶绿素 a 含量的影响

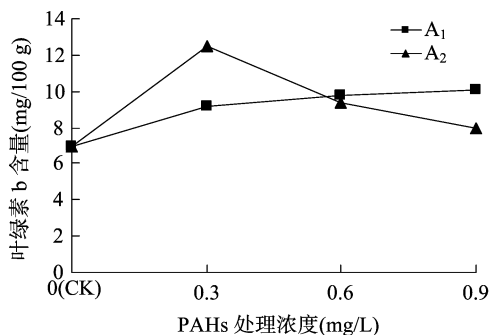


图3 不同 PAHs 处理浓度及胁迫部位对菜心叶绿素 b 含量的影响

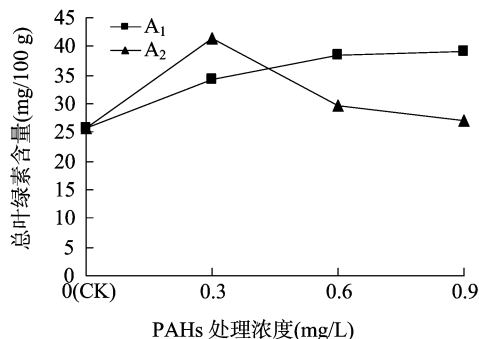


图4 不同 PAHs 处理浓度及胁迫部位对菜心总叶绿素含量的影响

2.3 PAHs 胁迫对菜心丙二醛含量的影响

丙二醛是膜脂过氧化作用最重要的产物之一, 其含量在一定程度上反映了膜系统的受损程度及植物的抗逆性。由图 5 可以看出, 与对照组相比, A_1 处理组的丙二醛含量增加, 且低浓度 PAHs 处理组明显高于对照组, 比对照组提高了 35.67%。随着 PAHs 浓度的增加, A_2 处理组的丙二醛含量逐渐增加, 高浓度 PAHs 处理组的丙二醛含量比对照组提高了 59.06%。以上结果表明, 在不同胁迫部位和不同 PAHs 浓度处理下, 菜心叶片的丙二醛含量都增加了, 可见用低浓度 PAHs 处理叶片上表皮和用高浓度 PAHs 处理叶片下表皮会对叶片的膜系统产生较大伤害。

2.4 PAHs 胁迫对菜心可溶性蛋白含量的影响

植物体内的可溶性蛋白大多是参与各种代谢活动的酶类, 其含量是反映植物总体代谢活动的重要指标之一。由图 6 可以看出, 与对照组相比, A_1 处理组的可溶性蛋白含量均

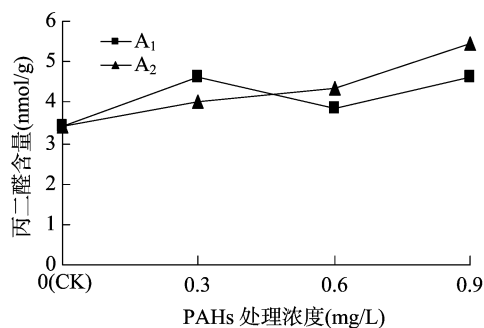


图5 不同 PAHs 处理浓度及胁迫部位对菜心丙二醛含量的影响

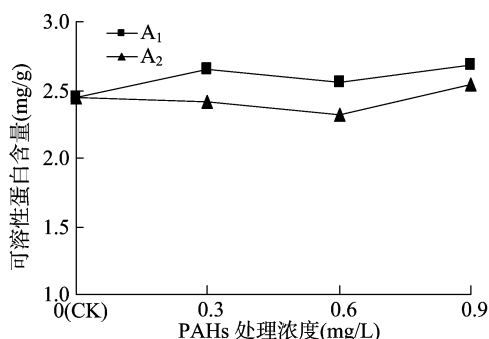


图6 不同 PAHs 处理浓度及胁迫部位对菜心可溶性蛋白含量的影响

有增加,低、高浓度 PAHs 处理的可溶性蛋白含量分别比对照组提高了 8.61%、9.84%。A₂ 处理组的低、中浓度 PAHs 处理的可溶性蛋白含量低于对照组,0.6 mg/L PAHs 组较对照下降了 5.32%。由以上结果可知,用 PAHs 处理菜心叶片上表皮,可以使菜心叶片的可溶性蛋白含量增加,从而使植物总体代谢活动增强。

2.5 PAHs 胁迫对菜心 POD 活性的影响

由图 7 可以看出,A₁、A₂ 处理组的 POD 活性与对照组相比都有所下降。当 A₁ 处理组的 PAHs 浓度分别为 0.3、0.6、0.9 mg/L 时,POD 活性分别比对照组下降了 46.17%、45.87%、50.18%,低、中浓度处理组之间差异不明显。A₂ 处理组中的 PAHs 浓度为 0.6 mg/L 处理组的 POD 活性最低,比对照组下降了 47.27%,而高浓度 PAHs 处理组的 POD 活性比对照组下降了 29.50%,说明用 PAHs 胁迫菜心叶片上表皮、下表皮后,均使菜心的 POD 活性降低。与其他处理组相比,用 0.9 mg/L PAHs 处理菜心叶片下表皮后,POD 活性有所提高。

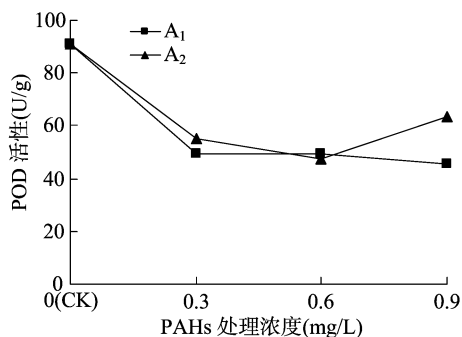


图7 不同 PAHs 处理浓度及胁迫部位对菜心 POD 活性的影响

2.6 PAHs 胁迫对菜心 CAT 活性的影响

由图 8 可以看出,A₁ 的低浓度、高浓度 PAHs 处理组的

CAT 活性均明显高于对照组,分别比对照组提高了 42.22%、34.41%,与对照组相比,中浓度 PAHs 处理组的 CAT 活性略微上升,但是差异不明显。A₂ 处理组的 CAT 活性先升高后下降,在 0.6 mg/L PAHs 处理下的 CAT 活性达到最大值,比对照组提高了 65.80%,且在此浓度下,A₁、A₂ 处理组间的 CAT 活性差异最明显。分析以上结果可知,用低浓度和高浓度 PAHs 胁迫菜心叶片上表面,可以使叶片的 CAT 活性增强;用 0.6 mg/L PAHs 胁迫菜心叶片下表面,对菜心 CAT 活性的促进作用最强。

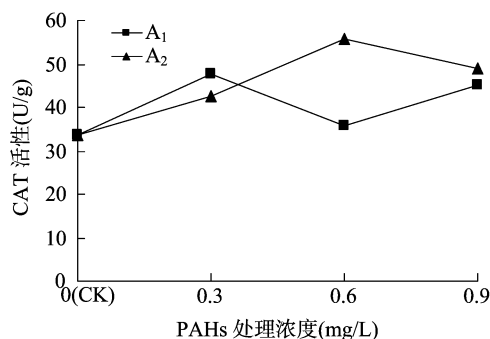


图8 不同 PAHs 处理浓度及胁迫部位对菜心 CAT 活性的影响

2.7 PAHs 胁迫对菜心 APX 活性的影响

由图 9 可以看出,A₁、A₂ 处理组的 APX 活性明显低于对照组,且 A₂ 处理组比 A₁ 处理组的 APX 活性下降得更多。A₁ 的中浓度 PAHs 处理的 APX 活性最低,比对照组降低了 49.30%,低、高浓度 PAHs 处理之间差异不明显。A₂ 处理组中,低浓度 PAHs 处理的 APX 活性最低,比对照组下降了 63.38%,随着处理浓度的增加,APX 活性有升高的趋势。

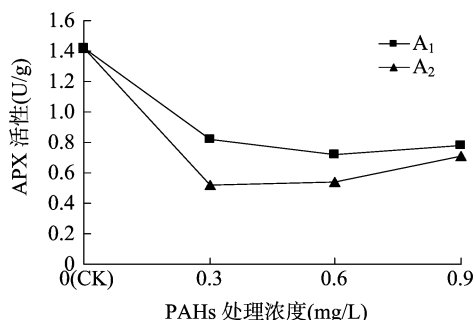


图9 不同 PAHs 处理浓度及胁迫部位对菜心抗坏血酸过氧化物酶活性的影响

3 结论与讨论

植物叶片的表皮可以分为上表皮和下表皮,植物叶片表皮由角质层覆盖,起着保护叶片和降低水分挥发损失的作用,一般上表皮具有比下表皮更厚的角质层。角质层由角质和覆盖于角质上的蜡质共同构成^[17]。植物的角质层在化学组成上主要是一些脂肪物质,这些囤积于叶片表面的脂肪物质是挥发半挥发性有机污染物进入植物体内的主要途径^[18]。由此可知,植物叶片上表皮含有的脂肪物质比下表皮的多,叶片上表皮吸收的挥发、半挥发性有机污染物比下表皮的多。植物叶片上也分布着较多的气孔,一般而言阳生植物叶片的下表皮上有较多的气孔,有机污染物也可以通过气孔途径进入植物体内^[17]。大多数挥发、半挥发性有机污染物主要通过角

质层被吸收进入植物叶片中,通过气孔吸收的量微不足道^[19-20]。Barber等研究发现,角质层较难穿透,且气孔密度较高时,气孔的吸收途径相对重要;而当角质层极易穿透时,气孔的作用几乎为零^[21]。

本研究分析了用不同浓度 PAHs 胁迫菜心叶片上下表皮对菜心生理特性的影响。结果表明,PAHs 胁迫对菜心株高有一定的抑制作用,随着浓度的增加,菜心株高逐渐降低。处理叶片上表皮比处理叶片下表皮对菜心株高的降低作用更大,可能是由于菜心叶片上表皮比下表皮含更多的脂肪,吸收的 PAHs 较多,因而对株高的抑制作用更强。用高浓度 PAHs 处理叶片上表皮和用低浓度 PAHs 处理叶片下表皮对菜心叶片叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素含量均有明显的促进作用,当处理叶片下表皮的 PAHs 浓度在 0.3 mg/L 以上时,叶绿素含量有下降趋势,而叶片上表皮处理组的叶绿素含量仍然升高,说明在一定的 PAHs 浓度范围内,处理上表皮比处理下表皮使菜心叶片叶绿素含量增加得更多。

用不同浓度 PAHs 处理菜心叶片上表皮和下表皮,均使菜心叶片内的 MDA 含量增加,导致叶片膜脂过氧化,并且用 PAHs 处理菜心叶片下表皮时,随着处理浓度的增加,膜脂过氧化增强,膜受损的程度增强。可溶性蛋白具有较强的亲水胶体性质,能够影响细胞的保水力,植物可以通过可溶性蛋白的主动积累来降低渗透势,进行渗透调节^[22]。在菜心叶片上表皮、下表皮分别受到 PAHs 胁迫后,处理叶片上表皮的菜心可溶性蛋白含量有所增加,处理下表皮的则相反。可能由于上表皮细胞受到胁迫后,细胞渗透势增强,可溶性蛋白含量增加而降低了其渗透势。

当植物处于逆境条件时,会导致活性氧在体内的过量积累,从而对植物造成伤害。而植物体为了保护自身免受活性氧的伤害,形成了内源保护系统,包括植物细胞膜的酶保护系统、非酶抗氧化剂^[23]。本研究表明,菜心叶片上表皮、下表皮受到 PAHs 胁迫后,叶片中的 POD、APX 活性均降低,并且处理下表皮比处理上表皮后 APX 活性降低得更明显,原因可能是在逆境环境下,菜心叶片中的 POD、APX 作用于 PAHs 胁迫产生的 H₂O₂,将其转化为其他活性较低的物质,从而使植株能够正常生长,且下表皮受到 PAHs 胁迫后,APX 发挥保护机体的作用更加明显。用 PAHs 处理菜心叶片上表皮和下表皮均使 CAT 活性提高,且处理下表皮的 CAT 活性先升高后降低,说明用 0.0~0.6 mg/L PAHs 处理菜心下表皮对 CAT 的活性有一定的促进作用,而高浓度 PAHs 使 CAT 蛋白受到了破坏或产生了抑制作用。

参考文献:

- [1] 申进朝,多克辛,王伟,等. 土壤中 16 种多环芳烃测定的准确控制指标研究[J]. 环境科学与技术,2012,35(12):142-145.
- [2] 李春丽,李杰,明红. 三重四极杆气质联用法(TSQ8000)测定食品包装材料中 16 种多环芳烃[J]. 中国食品,2013(7):74-77.
- [3] 张朝青,邢雁,余雷. 高效液相色谱法测定水源中苯并芘的方法研究[J]. 广东化工,2014,41(8):151-152,146.
- [4] Baran S, Bielińska J E, Oleszczuk P. Enzymatic activity in an airfield soil polluted with polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. Geoderma, 2004,118(3):221-232.

- [5] Blasco M, Domeño C, Nerín C. Use of lichens as pollution biomonitors in remote areas: comparison of PAHs extracted from lichens and atmospheric particles sampled in and around the Somport Tunnel (Pyrenees) [J]. Environmental Science & Technology, 2006, 40(20):6384-6391.
- [6] 孙治军,马丽,张民,等. 山东主要果园土壤的粘土矿物组成及其吸附特性[J]. 水土保持学报,2007,21(3):57-60.
- [7] Oleszczuk P, Baran S. Polycyclic aromatic hydrocarbons content in shoots and leaves of willow (*Salix viminalis*) cultivated on the sewage sludge-amended soil[J]. Water Air and Soil Pollution, 2005, 168(1/2/3/4):91-111.
- [8] 殷婧,夏忠欢,周彦池,等. 临汾市售蔬菜中多环芳烃污染特征及致癌风险分析[J]. 生态毒理学报,2016,11(3):265-271.
- [9] Ryan J A, Bell R M, Davidson J M, et al. Plant uptake of non-ionic organic chemicals from soils[J]. Chemosphere, 1988, 17(1):2299-2323.
- [10] Paterson S, Mackay D, Tam D, et al. Uptake of organic chemicals by plants: a review of processes, correlation and models [J]. Chemosphere, 1990, 21(3):297-331.
- [11] Lehndorff E, Schwark L. Biomonitoring of air quality in the Cologne conurbation using pine needles as a passive sampler - Part II: polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) [J]. Atmospheric Environment, 2004, 38(23):3793-3808.
- [12] Howsam M, Jones K C, Ineson P. PAHs associated with leaves of three deciduous tree species. I - Concentrations and profiles[J]. Environmental Pollution, 2000, 108(3):413-424.
- [13] 刘士哲. 现代实用无土栽培技术[M]. 北京:中国农业出版社, 2001:176.
- [14] 张志良,瞿伟菁,李小芳. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2009:69.
- [15] 路文静,李奕松. 植物生理学实验教程[M]. 北京:中国林业出版社,2012.
- [16] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts [J]. Plants and Cell Physiology, 1981, 22(5):867-880.
- [17] Kipoulou A M, Manoli E, Samara C. Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in an industrial area [J]. Environmental Pollution, 1999, 106(3):369-380.
- [18] 杨振亚. 植物吸收积累多环芳烃的过程、机理及预测模型[D]. 杭州:浙江大学,2006.
- [19] Riederer M. Estimating partitioning and transport of organic chemicals in the foliage/atmosphere system: discussion of a fugacity-based model [J]. Environ Sci Technol, 1990, 24(2):829-837.
- [20] McLachlan M S, Welsch-Pauch K, Tolls J. Field validation of a model of the uptake of gaseous SOC in *Lolium multiflorum* (rye grass) [J]. Environ Sci Technol, 1995, 29(5):1998-2004.
- [21] Barber J L, Kurt P B, Thomas G O, et al. Investigation into the importance of the stomatal pathway in the exchange of PCBs between air and plants [J]. Environ Sci Technol, 2002, 36(2):4282-4287.
- [22] 汪月霞,索标,赵会杰,等. Na₂CO₃ 胁迫对芦荟幼苗叶片叶绿体保护酶和渗透调节物质的影响[J]. 西北植物学报,2010,30(11):2184-2190.
- [23] 潘瑞炽. 植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社,1958:182.