

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

童贯和, 刘天骄, 黄 伟

(安徽淮南师范学院生物化学系, 淮南 232001)

摘要:以小麦为试材, 采用盆栽的方法研究了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。结果表明: 以黄棕壤为材料通过模拟酸雨的淋溶, 引起了土壤酸化和盐基流失。当模拟酸雨的 pH 值由 5.6 下降到 2.5 时, 土壤 pH 值由 6.06 下降到 3.41, 土壤中交换性盐基总量便从 56.5 mmol/kg 下降到 41.1 mmol/kg。将小麦幼苗栽培在该酸化土壤上, 并分别用 5 种不同 pH 值的模拟酸雨喷淋地上器官, 导致小麦幼苗体内的膜脂过氧化水平增高和保护酶的活性变化。其中模拟酸雨喷淋小麦幼苗对叶片中的膜脂过氧化水平及保护酶活性的影响大于酸化土壤对其产生的影响。而酸化土壤对小麦幼苗根系中的膜脂过氧化水平和保护酶活性的影响大于模拟酸雨喷淋对其产生的影响。同时, $\text{pH} \leq 3.0$ 的高强度酸雨以及由其产生的酸化土壤(T_4 、 T_5 土壤)对小麦幼苗的膜脂过氧化水平和保护酶的活性产生了严重的影响。

关键词:酸化土壤; 小麦幼苗; 丙二醛; 超氧化物歧化酶

文章编号: 1000-0933(2005)06-1509-08 中图分类号: S181, X503.231, X517, X53 文献标识码: A

Effect of simulated acid rain and its acidified soil on lipid peroxidation of wheat seedlings

TONG Guan-He, LIU Tian-Jiao, HUANG Wei (Department of Biology and Chemistry, Huai'nan Teacher's College, Huai'nan 232001). *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(6): 1509~1516.

Abstract: Acid rain can damage either plant leaves directly or plant roots indirectly resulting from soil acidification and release of base ions. The direct and indirect stress effect of acid rain results in the unbalance between the production and elimination of active oxygen in plant stems, which causes the lipid peroxidation of plant cell membrane, and damages the plants.

The effects of simulated acid rain and its acidified soil on the lipid peroxidation of wheat seedlings was quantified with a pot experiment. A yellow-brown soil was leached with simulated acid rain of varying pH values that were 5.6, 4.5, 3.5, 3.0 or 2.5. The proton release from the simulated rain acidified the yellow-brown soil, and released the base ions from the soil. With the pH value of simulated acid rain decreasing from 5.6 to 2.5, the pH value of the acid rain-leached-soil decreased from 6.1 to 3.4 and the total amount of exchange base ions decreased from 56.5 mmol/kg to 41.1 mmol/kg, respectively. Spraying the shoots of the wheat seedlings planted in such acidified soils with simulated acid rain of five different pH values increased lipid peroxidation in the wheat seedlings. With the increased acidity of the simulated acid rain and its acidified soil, the amount of malondialdehyde and relative permeability of membrane in the wheat seedlings increased. Significant increase in lipid peroxidation in the wheat seedlings was mainly due to a decrease in the capability of protective enzymes to eliminate base oxygenic ions. As a result of such stress effect of simulated acid rain and its acidified soil on wheat seedlings, the physiological activities of the superoxide dismutase and catalase in the wheat seedlings decreased, but that of peroxidase increased. The strong acid rain with pH 2.5 and the acidified soil leached with such acid rain decreased the biomass of wheat seedlings by 20.5%~33.5%, and had a severe effect on the wheat growth and development.

基金项目:安徽省教育厅自然科学基金资助项目(2003kj020zc)

收稿日期:2004-02-22; **修订日期:**2004-12-06

作者简介:童贯和(1960~), 男, 安徽寿县人, 副教授, 主要从事植物生理、生态教学与研究。E-mail: ghtong@hnnu.edu.cn

Foundation item: Fund item of natural science, the education department of Anhui Province(No. 2003kj020zc)

Received date: 2004-02-22; **Accepted date:** 2004-12-06

Biography: TONG Guan-He, Associate professor, mainly engaged in plant physiological and ecology. E-mail: ghtong@hnnu.edu.cn

In addition, the effect of spraying the wheat seedlings with simulated acid rain on the lipid peroxidation and activities of protective enzymes in wheat leaves was greater than that of wheat grown in the acidified soil. The latter, however, was greater than the former on the lipid peroxidation and activities of protective enzymes in the wheat roots.

Key words: acidified soil; wheat seedlings; malondialdehyde; superoxide dismutase

酸雨是目前人类面临的最引人注目的环境问题之一。酸雨可伤害植物叶片,对植物产生直接危害。酸雨也可造成土壤酸化,引起土壤盐基流失及某些毒性元素(铝、锰等)的释出和活化,伤害植物根系,对植物产生间接危害。酸雨对植物产生的直接危害和间接危害都会导致活性氧产生及清除失去平衡,造成活性氧对细胞的毒害作用,特别引起膜脂过氧化作用^[1]。近年来,许多专家学者深入研究了酸雨对植物茎叶的直接伤害,以及酸雨对植物茎叶细胞所产生的膜脂过氧化作用^[2~4]。但酸雨对植物根系的间接伤害以及对植物根系细胞的膜脂过氧化作用的研究较少^[5]。尤其是到目前为止,有关将农作物栽培于由酸雨致酸的土壤上,研究酸雨对农作物整株(地上器官和地下器官)所产生的伤害的报道更为少见。俞元春等^[6]和岑慧贤等^[7]以红壤、砖红壤等我国南方土壤为材料进行模拟酸雨淋溶实验,研究了酸雨对土壤酸化和盐基迁移的影响。但就土壤致酸后对植物生长发育所造成的危害还没有人作进一步的研究。本文选用安徽省具有代表性土壤——黄棕壤作材料,通过模拟酸雨淋洗土壤,研究了酸雨对该土壤介质平衡的破坏作用,并以小麦为试材,采用盆栽的方法,栽培小麦于模拟酸雨致酸的土壤上,研究小麦幼苗在处于酸雨胁迫的逆境条件下,茎叶和根系细胞的膜脂过氧化水平以及对细胞保护酶活性的影响。旨在探讨酸雨对作物苗期直接的和间接的致损伤作用,为环境污染对农作物的危害提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 模拟酸雨的配制

根据安徽省酸雨污染特征及酸沉降水平^[8],主要考虑酸雨 pH 值和 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 Ca^{2+} 、 NH_4^+ 4 种离子。以硫酸根与硝酸根摩尔比 5 : 1 配成母液,另加入 Ca Cl_2 1.02 mg/L、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 5.35 mg/L,然后调节 pH 值分别为 5.6、4.5、3.5、3.0、2.5 的模拟酸雨,以 pH5.6 的模拟酸雨为对照。

1.2 模拟酸雨淋溶土壤

供试土壤采自安徽省淮南市郊由花岗岩坡积物发育而来的黄棕壤,土壤质地轻粘土,土壤基本理化性状见表 1。

表 1 土壤基本理化性状(0~30cm)

Table 1 Physical and chemical characteristic of soil													
pH 值	有机质	全氮	全磷	全钾	速效磷	交换性铝	交换性锰	阳离子交换量	交换性盐基(mmol/kg)				
pH value	O. M.	Total N	Total P	Total K	Available P	Exchange Al	Exchange Mn	CEC	Exchange base ions				
(H ₂ O)	(g/kg)	(g/kg)	(g/kg)	(g/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(CMOL ₍₊₎ /kg)	K ⁺	Na ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	总量(Total)
6.20	17.83	1.23	1.27	19.56	17.36	11.58	15.65	24.57	9.2	6.5	23.8	17.6	57.1

O. M. Organic matter; CEC Cation exchanged capacity

将土壤自然风干后过孔径为 3.0 mm 筛,以 1.3 g/cm³ 的容重装入直径 10 cm、高 35 cm 的硬质聚乙烯圆管内,管底铺玻璃纤维及慢速定量滤纸过滤,装土高度 30 cm。5 种处理的模拟酸雨淋溶量按 5000 mm 设计(约为淮南地区年均降雨量 941.4 mm 的 5 倍),20d 内每天淋溶土壤 1 次,每次淋溶量相当于 250 mm 的降雨量。由 5 种不同 pH 值的模拟酸雨淋溶土壤后形成 5 种不同的酸化土壤,分别依次编号为:T₁、T₂、T₃、T₄、T₅,其中以 T₁ 为对照。土壤淋溶完成后自然风干,过 2.0 mm 筛,装盆备用(每种处理装 20 盆,共装 100 盆)。同时对淋溶后的土壤进行理化性状分析,每种处理 3 次重复(见表 2)。

1.3 试材培养

挑选匀称的小麦(*Triticum aestivum*)品种博爱 7422(Fraternity 7422)的种子,用 1.0 g/L 的 HgCl₂ 消毒 10 min,蒸馏水冲洗干净后置于铺有滤纸的瓷盘上,然后放在 25℃ 的恒温箱内催芽,待种子萌发后播入盆钵中,每盆播 20 粒,当麦苗出现 1 叶 1 心时进行间苗,每盆留 10 苗。同时将每种酸化土壤所装的 20 盆,分别分成 5 组(共 25 组)。从小麦出苗后第 5 天起,用小型喷雾器不定期对小麦地上部分别喷淋 5 种不同的模拟酸雨,每次喷淋以叶片滴液为限,共喷淋 15 次,每次每盆 20 ml,小麦盆钵培养期间塑料薄膜遮挡自然降雨。当小麦长出第 5 片叶(4 叶 1 心)时收获麦苗,进行生理生化指标的测定。并将小麦幼苗于烘箱中烘干、称重。

1.4 测定方法

土壤淋溶后的 pH 用电位法测定(土液比为 1 : 2.5),速效磷用 0.5 mol/L NaHCO₃ 浸提,磷钼兰比色法测定,交换性锰、钾、钠、钙、镁用 pH 7.0 的 1 mol/L NH₄OAc 浸提,原子吸收分光光度计测定^[9]。交换性铝用 1 mol/L KCl 溶液浸提,用铝试剂(玫瑰三羧铵)比色法测定^[10]。

超氧化物歧化酶(SOD)活性按 Giannoplitis 等^[11]方法测定,以抑制 NBT 光化还原 50%的酶量为 1 个酶活单位。过氧化氢酶(CAT)活性和丙二醛(MDA)含量按林植芳等^[12]的方法测定,过氧化氢酶(CAT)活性以 240nm 处光密度每分钟改变 0.1 为一个酶活性单位。过氧化物酶(POD)活性按愈创木酚比色法^[13]测定,取鲜样 0.2g 酶液稀释 20~30 倍,酶活性以每克鲜重每分钟的消光度增值表示。细胞质膜相对透性(MRP)按照常规方法在室温下用 DDS-11A 型电导仪测定,并用其比值表示质膜的相对透性。

1.5 统计分析

采用 Duncan’s 新复极差测验和直线相关分析对实验数据进行统计分析^[14]。

2 结果与分析

2.1 模拟酸雨淋溶土壤对土壤理化性状的影响

由表 2 可见,随着模拟酸雨 pH 值的降低,被淋溶土壤的 pH 值也随之下降,当酸雨 pH ≤ 3.0 时,土壤 pH 也下降到 4.32 以下,已可对小麦幼苗的生长发育造成可见伤害^[15]。当土壤 pH 值由 6.06 下降到 3.41 时,交换性盐基总量便从 56.5 mmol/kg 下降到 41.1 mmol/kg,降幅为 27.26%。盐基的流失,会造成小麦幼苗对矿质养分的吸收困难,影响了小麦幼苗的生长发育。模拟酸雨淋溶土壤也可引起土壤中的有毒重金属离子溶出和活化,对植物的生长发育造成危害。然而一般认为^[16,17],在酸雨胁迫下,当土壤 pH<5.5 时,对植物的生长发育造成危害的重金属离子主要是 Al 和 Mn,其它金属离子的危害作用影响较小。从表 2 看,黄棕壤受酸雨淋溶后,土壤中的 Al 和 Mn 并未大量溶出。虽然交换性铝从原土的 11.58 mg/kg 增加到 35.08 mg/kg,交换性锰从 15.65 mg/kg 增加到 25.45 mg/kg,但均远没有达到对小麦幼苗产生毒害的水平^[18,19]。所以本试验中模拟酸雨淋溶土壤对小麦幼苗造成的伤害主要与土壤酸化和盐基流失有关,受 Al、Mn 等有毒金属离子的影响较小。另外,酸雨淋溶土壤对土壤中的速效磷含量的影响也不大。

表 2 模拟酸雨淋溶土壤后土壤的某些理化性状					
Table 2 Some physiochemical properties of the soil after it is leached by simulated acid rain					
处理 Treatment	模拟酸雨 pH 值 pH value of simulated acid rain	致酸土壤 pH 值 pH value of acidified soil(H ₂ O)	速效磷 Available P (mg/kg)	交换性铝 Exchange Al (mg/kg)	交换性锰 Exchange Mn (mg/kg)
T ₁	5.6	6.06±0.05aA	16.53±0.24cB	12.23±0.32dD	11.21±0.31cC
T ₂	4.5	5.70±0.19bA	17.75±0.26aA	12.75±0.57dCD	8.10±0.65dD
T ₃	3.5	5.14±0.14cB	18.31±0.23aA	13.87±0.20cC	10.63±0.17cC
T ₄	3.0	4.32±0.23dC	18.27±0.15aA	22.44±0.43bB	19.61±0.46bB
T ₅	2.5	3.41±0.11eD	15.88±0.12dC	35.08±0.94aA	25.45±0.56aA
处理 Treatment	交换性盐基(mmol/kg)Exchange base ions				
	K ⁺	Na ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	总量(Total)
T ₁	11.3±0.1aA	5.7±0.1bB	22.6±0.8aA	16.9±0.3aA	56.5±0.8aA
T ₂	7.5±0.4bB	6.8±0.1aA	19.9±0.7bB	16.2±0.5aA	50.4±1.4bB
T ₃	7.3±0.2bBC	5.6±0.3bBC	18.1±0.4cC	14.5±0.2bB	45.5±0.5cC
T ₄	6.7±0.1cCD	5.3±0.0cC	17.1±0.3cC	13.8±0.4bBC	42.9±0.5dCD
T ₅	6.5±0.3cD	4.4±0.2dD	17.2±0.4cC	13.0±0.5cC	41.1±1.2eD

表中数据为均值±标准差,大、小写字母分别为 $p=0.01$ 和 $p=0.05$ 水平上的差异显著性,具相同字母表示无显著差异,不同字母表示具有显著差异;下同 Values represent means ±standard error in the table,Letters in capital and normal forms represent significant difference at $p=0.01$ and $p=0.05$,means with the same letters are not significant;the same below

2.2 模拟酸雨及其酸化土壤对小麦幼苗生物量的影响

由表 3 可见,小麦幼苗的生物量随酸雨的 pH 值下降先增加后减少,其中 pH 4.5 的酸雨处理比对照(pH 5.6 的酸雨处理)增加且差异极显著。表明酸雨中的 NH₄⁺ 和 NO₃⁻ 等离子促进了小麦幼苗的生长。但用 pH<4.5 的酸雨处理小麦幼苗时生物量显著降低,当酸雨的 pH 值下降到 2.5 时,5 种酸化土壤上的小麦幼苗生物量与对照相比降幅达 20.46%~33.58%,差异极显著。由表 3 还可看出,小麦幼苗的生物量随酸化土壤的强度增加而下降,对照(T₁ 处理)与各酸化土壤处理间差异逐渐增大,尤其是 T₅ 处理的小麦幼苗生物量比对照减小了 24.79%~37.47%,差异达极显著水平。以上实验结果显示模拟酸雨及其酸化土壤对小麦幼苗的生长发育产生了严重的伤害作用。

2.3 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

2.3.1 模拟酸雨及其酸化土壤对小麦幼苗叶片膜脂过氧化水平的影响 丙二醛(MDA)是膜脂氧化的主要产物,其含量多少代表了细胞膜脂过氧化水平,而细胞质膜相对透性(MRP)的大小则表示生物膜结构受破坏的程度。

表 3 模拟酸雨及其酸化土壤对小麦幼苗生物量(g/株)的影响

Table 3 The effect of simulated acid rain and its acidified soil on biomass (g/plant) of the wheat seedlings					
处 理	模拟酸雨的 pH 值 pH value of simulated acid rain				
Treatment	5. 6 (CK)	4. 5	3. 5	3. 0	2. 5
T ₁ (CK)	0. 7096±0. 0265bcBC	0. 7833±0. 0411aA	0. 6675±0. 0180defCD	0. 6204±0. 0136ghEFG	0. 5573±0. 0222ijHIJK
T ₂	0. 6711±0. 0342deCD	0. 7400±0. 0247bAB	0. 6332±0. 0321fgDEF	0. 5850±0. 0142hiFGHI	0. 5338±0. 0189jkKL
T ₃	0. 6195±0. 0180ghEFG	0. 6856±0. 0364cdC	0. 5920±0. 0228hiEFGH	0. 5365±0. 0231jJKL	0. 4736±0. 0171lmM
T ₄	0. 5827±0. 0303iGHIJ	0. 6381±0. 0251efgDE	0. 5411±0. 0135jIJKL	0. 4994±0. 0116kILM	0. 4280±0. 0107noN
T ₅	0. 5247±0. 0196jkKL	0. 5891±0. 0261hiFGH	0. 4592±0. 020mnMN	0. 4220±0. 020oN	0. 3485±0. 0107pO

表 4 模拟酸雨及其酸化土壤对小麦幼苗叶片中丙二醛含量(nmol/g FW)的影响

Table 4 The effect of simulated acid rain and its acidified soil on MDA content (nmol/g FW) of the wheat leaves					
处 理	模拟酸雨的 pH 值 pH value of simulated acid rain				
Treatment	5. 6 (CK)	4. 5	3. 5	3. 0	2. 5
T ₁ (CK)	17. 49±0. 37 pO	18. 13±0. 31 nopMNO	18. 73±0. 65 mnoLMNO	20. 92±0. 28 hijGHIJ	24. 85±0. 61 dDE
T ₂	17. 86±0. 40 opNO	18. 50±0. 96 mnopLMNO	19. 17±0. 27 lmnKLMN	21. 47±1. 34 fghFGH	25. 63±0. 15 dCD
T ₃	18. 56±0. 91 mnopLMNO	19. 20±0. 35 lmnKLMN	19. 96±0. 82 jklIJKL	22. 42±0. 71 fF	26. 87±1. 32 cC
T ₄	19. 58±0. 18 klmJKLM	20. 21±0. 59 ijkIHIJK	21. 10±0. 27 ghiFGHI	23. 78±0. 38 eE	28. 63±1. 06 bB
T ₅	20. 34±0. 72 ijkHIJK	20. 97±0. 03 hijGHIJ	22. 04±0. 68 fgFG	24. 82±0. 45 dDE	30. 06±1. 00 aA

由表 4、5 看出,小麦叶片中的 MDA 含量和 MRP 各以对照为最低并随着酸雨的酸度增强而增大,对照与各处理间差异逐渐增加。表明酸雨处理引起了小麦叶片的膜脂过氧化加剧,对叶片细胞产生了伤害,而且酸雨的酸度越强,伤害越严重。当酸雨的 pH 值下降到 2.5 时,5 种酸化土壤上的小麦幼苗分别与对照相比,叶片中的 MDA 含量增幅达 42.08%~47.79%,MRP 增幅达 81.05%~87.96%,差异均达极显著水平。

由表 4、5 还看出,酸化土壤也可促进小麦幼苗叶片中的 MDA 含量和 MRP 的增加,且随酸化土壤的酸度增强而增大,对照与各酸化土壤处理间的差异逐渐增大。当酸化土壤为 T₅ 时,5 种不同酸雨处理下的小麦幼苗分别与对照相比,叶片中的 MDA 含量升幅可达 15.67%~20.97%,MRP 升幅可达 30.93%~35.92%,差异亦均达极显著水平。表明酸化土壤可通过小麦幼苗的根系对地上器官产生膜脂过氧化作用,间接伤害叶片细胞,但伤害强度与酸雨处理小麦幼苗相比要小的多。

表 5 模拟酸雨及其酸化土壤对小麦幼苗叶片细胞质膜相对透性(%)的影响

Table 5 The effect of simulated acid rain and its acidified soil on relative permeability of membrane (%) of the wheat leaves					
处 理	模拟酸雨的 pH 值 pH value of simulated acid rain				
Treatment	5. 6 (CK)	4. 5	3. 5	3. 0	2. 5
T ₁ (CK)	8. 18±0. 48 oM	8. 45±0. 34 noLM	9. 34±0. 72 lmJKL	11. 26±0. 62 hiGH	14. 81±0. 69 eD
T ₂	8. 62±0. 19 mnoLM	9. 26±0. 50 lmnJKLM	9. 89±0. 21 jklIJK	11. 93±0. 24 ghFG	15. 76±0. 11 dD
T ₃	9. 13±0. 54 lmnKLM	9. 74±0. 13 klIJK	10. 53±1. 07 ijkHI	12. 71±0. 59 gEF	16. 85±1. 29 cC
T ₄	9. 76±0. 17 klIJK	10. 33±0. 29 jkHIJ	11. 31±0. 30 hiGH	13. 66±0. 27 fE	18. 18±0. 33 bB
T ₅	10. 71±0. 40 ijHI	11. 22±0. 26 hiGH	12. 47±0. 59 gF	15. 07±0. 66 deD	20. 13±0. 58 aA

2.3.2 模拟酸雨及其酸化土壤对小麦幼苗根系膜脂过氧化水平的影响 由表 6、表 7 可看出,生长在 5 种酸化土壤上的小麦幼苗,根系中的 MDA 含量和 MRP 各以对照为最低,并随酸化土壤的酸度增强而增加,各酸化土壤处理间差异逐渐增大。当酸化土壤为 T₅ 时,5 种不同酸雨处理下的小麦幼苗分别与对照相比,根系中 MDA 含量增加了 33.77%~36.75%,MRP 增加了 118.22%~127.23%,差异均达极显著水平。表明高强度酸雨所形成的酸化土壤对根系细胞的膜脂过氧化作用以及由此而引发的对细胞的伤害作用均很大。

表 6 模拟酸雨及其酸化土壤对小麦幼苗根系中丙二醛含量(nmol/g FW)的影响

Table 6 The effect of simulated acid rain and its acidified soil on MDA content (nmol/g FW) of the wheat root system					
处 理	模拟酸雨的 pH 值 pH value of simulated acid rain				
Treatment	5. 6 (CK)	4. 5	3. 5	3. 0	2. 5
T ₁ (CK)	13. 74±0. 23 mnLM	13. 58±0. 32 nM	13. 99±0. 23 lmnKLM	14. 46±0. 47 jklIJKL	15. 04±0. 30 hijHI
T ₂	14. 06±0. 15 lmnJKLM	13. 89±0. 24 lmnLM	14. 33±0. 17 klmIJKL	14. 82±0. 57 jkHIJK	15. 45±0. 17 hiGH
T ₃	14. 78±0. 44 jkHIJK	14. 86±0. 23 ijkHIJ	15. 09±0. 35 hijHI	15. 62±0. 27 ghFGH	16. 31±0. 19 fEF
T ₄	16. 06±0. 13 fgFG	16. 15±0. 15 fgFG	16. 41±0. 45 fEF	17. 00±0. 28 eE	17. 78±0. 32 dD
T ₅	18. 38±0. 97 cCD	18. 57±0. 69 cC	18. 79±0. 19 cBC	19. 49±0. 27 bB	20. 42±0. 68 aA

表 7 模拟酸雨及其酸化土壤对小麦幼苗根系细胞质膜相对透性(%)的影响

Table 7 The effect of simulated acid rain and its acidified soil on relative permeability of membrane (%) of the wheat root system					
处 理	模拟酸雨的 pH 值 pH value of simulated acid rain				
Treatment	5.6 (CK)	4.5	3.5	3.0	2.5
T ₁ (CK)	19.13±0.89 nM	19.27±0.26 nLM	20.21±0.96 mnKLM	21.80±0.33 mJKL	23.81±1.03 kIJ
T ₂	20.74±0.44 mnKLM	20.77±0.36 mnKLM	21.95±0.76 lmJK	23.78±1.26 kIJ	26.09±1.14 ijHI
T ₃	23.90±0.73 kIJ	24.15±0.43 kIJ	25.34±0.20 jkHI	27.58±0.42 iH	30.39±2.02 hG
T ₄	31.11±0.51 hFG	31.56±0.92 ghFG	33.03±0.35 gF	36.09±0.34 fE	39.92±0.37 eD
T ₅	41.79±1.57 dD	42.05±1.70 dD	44.44±2.09 cC	48.73±3.88 bB	54.10±1.21 aA

由表 6、7 可见,酸雨处理对小麦幼苗根系中的 MDA 含量和 MRP 有影响。根系中的 MDA 含量和 MRP 随酸雨处理的 pH 值降低而升高,但升幅不大,对照与各酸雨处理间差异较小。当酸雨的 pH 值下降到 2.5 时,5 种酸化土壤上的小麦幼苗与对照相比根系中的 MDA 含量上升了 9.46%~11.10%,MRP 上升了 24.46%~29.37%,差异显著或极显著。表明酸雨处理对根细胞的膜脂过氧化作用和间接伤害作用与酸化土壤相比要小得多。

2.4 模拟酸雨及其酸化土壤对小麦幼苗保护酶活性的影响

2.4.1 模拟酸雨及其酸化土壤对小麦幼苗叶片中保护酶活性的影响 SOD、CAT 和 POD 等协同作用构成了生物体的保护酶系统,以清除氧自由基在植物体内过多积累对生物膜造成的伤害^[20]。由图 1 可看出:酸雨处理影响了小麦幼苗叶片中保护酶的活性,影响强度随酸雨的 pH 下降而增大。随着酸雨的酸度增加叶片中 3 种保护酶的变化趋势为:SOD 活性先升高(pH4.5 的酸雨处理)后快速降低,CAT 活性先缓慢下降而后迅速下降,POD 活性则是先缓慢上升后急剧上升;3 种酶的活性与模拟酸雨的 pH 值之间的相关系数分别为: $r_{SOD}=0.9048^*\sim0.9105^*$ 、 $r_{CAT}=0.9128^*\sim0.9142^*$ 、 $r_{POD}=-0.8708^*\sim-0.8872^*$ 。当酸雨的 pH 值下降到 2.5 时,5 种酸化土壤上的小麦幼苗分别与对照(pH5.6 的酸雨处理)相比,叶片中的 SOD 活性下降了 47.28%~51.50%,CAT 活性下降了 63.24%~65.89%,POD 活性上升了 97.65%~107.37%,均达极显著差异。

由图 1 还可看出,酸化土壤也可间接影响小麦幼苗叶片中 3 种保护酶的活性,但影响力度较小。随着酸化土壤酸度的增强,叶片中 SOD 和 CAT 活性下降,POD 活性增加,当酸化土壤为 T₅ 时,5 种不同酸雨处理下的小麦幼苗分别与对照(T₁ 处理)相比,叶片中的 SOD 活性降低了 7.79%~15.67%,CAT 活性降低了 12.58%~18.65%,POD 活性上升了 19.83%~26.10%。表明酸化土壤通过根系对地上器官的 3 种酶活性产生了间接影响,降低了保护酶清除活性氧的能力,但降幅有限。

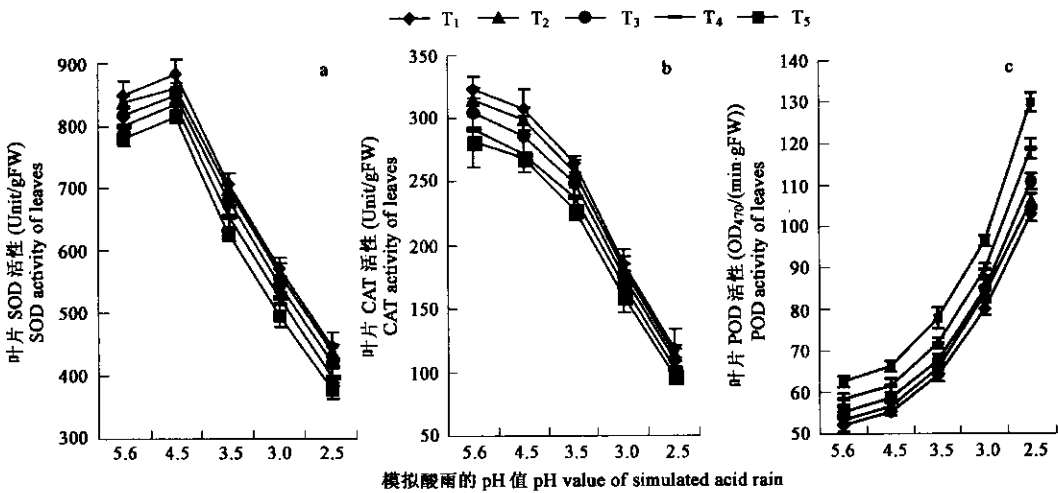


图 1 模拟酸雨及其酸化土壤对小麦幼苗叶片中保护酶活性的影响

Fig. 1 The effect of simulated acid rain and its acidified soil on protective enzymes activity of the wheat leaves

2.4.2 模拟酸雨及其酸化土壤对小麦幼苗根系中保护酶活性的影响 由图 2 看出,酸化土壤对小麦幼苗根系保护酶活性的影响较大。随着酸化土壤的酸度不断增强,5 种不同酸雨处理下的小麦幼苗根系中的 SOD 和 CAT 活性逐渐降低,POD 活性逐渐升高,且酸化土壤的酸度越强,3 种酶的活性变幅越大。相关分析表明,3 种酶的活性与酸化土壤的 pH 值之间达极显著水平($r_{SOD}=0.9967^{**}\sim0.9993^{**}$ 、 $r_{CAT}=0.9986^{**}\sim0.9995^{**}$ 、 $r_{POD}=-0.9773^{**}\sim-0.9788^{**}$)。当酸化土壤为 T₅ 时,5 种不同酸雨处理下的小麦幼苗分别与对照(T₁ 处理)相比,根系中的 SOD 活性降幅达 38.37%~41.11%,CAT 活性降幅达 46.32%

~51.65%, POD 活性的升幅达 78.79%~84.92%, 差异均达极显著水平。

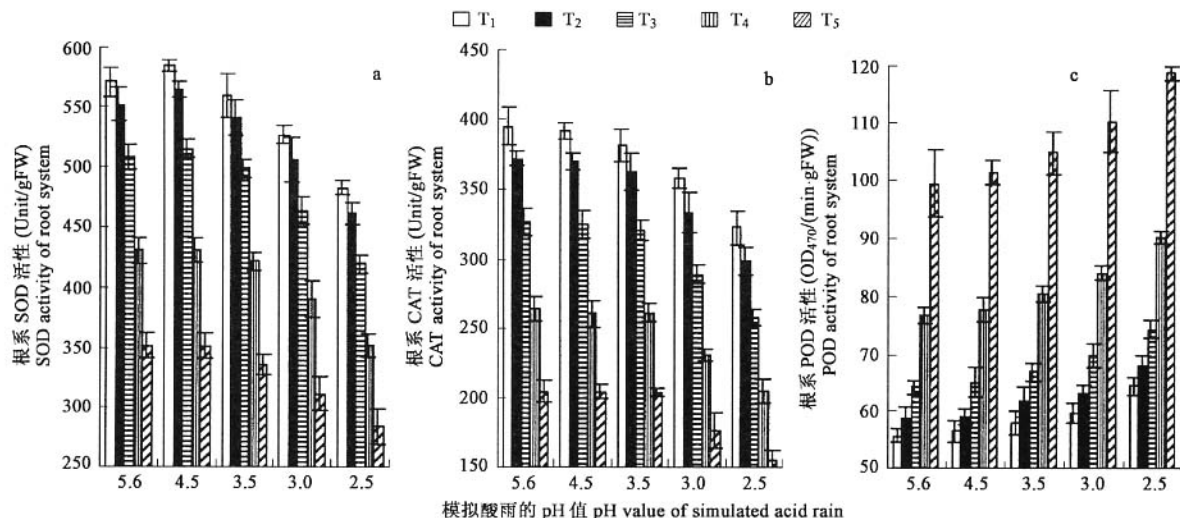


图 2 模拟酸雨及其酸化土壤对小麦幼苗根系中保护酶活性的影响

Fig. 2 The effect of simulated acid rain and its acidified soil on protective enzymes activity of the wheat root system

由图 2 还可见,随着酸雨的酸度增加,5 种酸化土壤上的小麦幼苗根系中的 SOD 和 CAT 活性逐渐降低,POD 活性逐渐增加,但它们的变动幅度均较小。即使用 pH2.5 的酸雨处理,5 种酸化土壤上的小麦幼苗分别与对照(pH5.6 的酸雨处理)相比,也仅使根系中的 SOD 活性下降了 15.32%~19.09%,CAT 活性下降了 18.10%~23.75%,POD 活性上升了 15.76%~19.39%,表明酸雨处理小麦幼苗对根系中 3 种保护酶活性的影响比酸化土壤对其产生的影响要弱得多。

3 讨论

植物在正常情况下的酶促反应、线粒体呼吸链的电子传递、叶绿体照光时的光化学反应和一些低分子有机物的自动氧化反应,都会产生 O_2^- 和 H_2O_2 等活性氧,但它们很快被植物体内的 SOD、CAT 和 POD 等保护酶所清除,或被抗坏血酸(AsA)、谷胱甘肽(GSH)和维生素 E(VE)等化合物所抑制,使活性氧的产生和清除处于动态平衡之中。而当植物处于逆境胁迫下这种平衡会被破坏,植物体内的活性氧生产能力大于清除能力,活性氧积累,引起植物细胞膜脂过氧化,植物细胞受到伤害生物膜透性增加,影响植物的生长发育。本实验结果表明,小麦幼苗在模拟酸雨及其酸化土壤的逆境胁迫下,叶片和根系细胞中的 MDA 含量随胁迫强度的增强而增加(表 4、表 6),说明酸雨及其酸化土壤的胁迫引起了小麦幼苗的膜脂过氧化加剧。而 MRP 和 MDA 含量的一致性变化趋势($r = 0.9299^{**}$)表明了酸雨及其酸化土壤对小麦幼苗的伤害作用主要是由膜脂过氧化引起的,尤其是在 $pH \leq 3.0$ 的高强度酸雨以及由其产生的酸化土壤(T_4 、 T_5 土壤)的胁迫下,这种膜脂过氧化所引起的膜损伤更严重(表 4~表 7)。通过对在酸雨及其酸化土壤胁迫下的小麦幼苗体内的 SOD、CAT 和 POD 活性的影响结果(图 1、图 2)以及 3 种保护酶活性与 MDA 含量之间的相关程度($r_{SOD} = -0.9465^{**}$ 、 $r_{CAT} = -0.9813^{**}$ 、 $r_{POD} = 0.9944^{**}$)分析判断,造成小麦幼苗体内膜脂过氧化加剧的主要原因是由于 SOD 和 CAT 清除活性氧的能力降低,导致了活性氧的积累。这与严重玲等^[4]在小麦上和束良佐等^[21]在玉米幼苗上喷淋模拟酸雨所得的结果是一致的。

SOD 是 O_2^- 主要的清除剂,它可以将 O_2^- 歧化为 H_2O_2 与 O_2 ,控制细胞的膜脂过氧化,所以 SOD 处于抵御活性氧伤害的“第一道防线”^[22]。在本实验中,小麦幼苗体内的 SOD 受酸雨及其酸化土壤的影响活性下降(图 1a、图 2a),表明该酶歧化 O_2^- 的能力降低,导致 O_2^- 的积累。有报告指出^[23,24]MDA、ABA 和乙烯含量的增加均可引起 SOD 活性下降。而小麦幼苗在酸雨及其酸化土壤的胁迫下可以引起体内 MDA 含量大幅上升,但是否也能引起 ABA 和乙烯含量的增加^[25,26]尚无直接的证据。另外,也有人推测^[3]酸雨使 SOD 活性下降的原因可能是因为植物细胞“吸收”了酸雨中的 H^+ 导致细胞质中 pH 下降,因而改变了酶的带电性质和底物电离情况并破坏了酶的结构缘故。CAT 广泛分布于植物组织中,是细胞内 H_2O_2 的重要清除剂。实验表明,在酸雨及其酸化土壤胁迫下,小麦幼苗体内的 CAT 活性降低(图 1b、图 2b),导致清除 H_2O_2 的能力下降,造成 H_2O_2 积累。但值得注意的是,POD 作为一种保护酶,其活性的持续增强(图 1c、图 2c)似乎并未起到有效缓解活性氧对小麦幼苗的伤害作用,这可能与该酶生理功能的多样性有关^[27,28]。 O_2^- 和 H_2O_2 的积累能驱动 Fenton 反应($Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + \cdot OH$)和通过 Haber-Weiss 反应($O_2^- + H_2O_2 \rightarrow O_2 + OH^- + \cdot OH$)产生攻击能力更强的羟自由基($\cdot OH$), $\cdot OH$ 是启动膜脂过氧化的直接因

子^[29],可引起膜脂过氧化产物 MDA 含量的增加(表 4、表 6)。而 MDA 具有很强的细胞毒性^[30],对生物膜和细胞中的许多生物功能分子如蛋白质,核酸和酶等均有很强的破坏作用,并参与破坏生物膜的结构与功能^[30,31],引起 MRP 大幅上升(表 5、表 7),最终造成小麦幼苗的生长发育不良。

本实验结果表明,酸雨及其酸化土壤的胁迫作用影响了小麦幼苗的生长发育,造成植株的生物量降低(表 3)。究其原因可以认为:其一,是因为小麦幼苗在逆境条件下的膜脂过氧化作用造成了对植物细胞的损伤,同时由于活性氧的积累和 POD 活性的大幅上升导致 IAA 大量氧化分解^[4,24],降低了小麦幼苗的生长速率。其二,是因为在酸雨及其酸化土壤的胁迫下,一方面可能由于叶片中 O₂ 的积累和 POD 活性的升高直接引发叶绿素的破坏^[4,32],而 MDA 含量的增加也会使 RuBP 羧化酶和 PEP 羧化酶等催化暗反应的酶活性受到抑制^[30],造成小麦幼苗光合速率下降。另一方面,由于根系发育不良以及 MDA 含量增加,导致根系活力下降^[5],影响了根系对水分和矿质元素的吸收。其三,是由于酸雨淋溶土壤造成盐基流失,导致植株体内矿质营养缺乏而使小麦幼苗生长缓慢。

实验结果证明,模拟酸雨及其酸化土壤对小麦幼苗的直接伤害大于间接伤害。酸雨处理对叶片的伤害大于对根系的伤害,而酸化土壤对根系的伤害大于对叶片的伤害。模拟酸雨及其酸化土壤对小麦幼苗的这种相似的伤害特征表明它们对植物产生伤害的主要原因可能是过多的 H⁺,因为酸雨及其酸化土壤中过多的 H⁺进入细胞质后,不仅能够引起细胞质中 pH 下降^[2,3],酶活性降低或酶钝化乃至酶构象变化^[33];而且也能够导致细胞体解以及细胞的亚显微结构遭到破坏^[3]。当过多的 H⁺对某一器官或组织产生直接伤害后,才由受到直接伤害的器官或组织诱发其它器官生产间接伤害。然而,在酸雨及其酸化土壤对植物的伤害中,除了过多的 H⁺外,酸化土壤的盐基流失对小麦幼苗伤害作用的贡献究竟有多大,目前尚难确定。李延等^[34]报道了缺 Mg 龙眼叶片 O₂⁻ 净产生速率提高, H₂O₂ 含量增加;周青等^[2]认为 Ca 能缓解酸雨对甜瓜幼苗的伤害,使 CAT 活性上升 MDA 含量下降;也有报告认为^[35]钾元素缺乏和过量均能影响油菜叶片中 POD、CAT 和 SOD 3 种酶的活性,导致清除活性氧自由基的能力降低。所有这些均说明了矿质元素在提高植物抵抗不良环境能力方面具有重要作用。当然,其它因素(如:有毒金属离子的释出和活化、在致酸条件下土壤微生物的活动性等)也会对小麦幼苗的生长发育和生理活动产生影响,虽然这些因素对幼苗期的小麦伤害程度较小,但随着小麦的生长发育这些因素是否会转化成主要限制因素尚需作进一步研究。

References:

- [1] Scandalios J G. Oxygen stress and superoxide dismutase. *Plant Physiol.*, 1993, **101**:7~12.
- [2] Zhou Q, Huang X H, Wang D Y, *et al.* Effect of calcicum on seedling harmed by acid rain. *Acta Phytoecol Sin.*, 1999, (2):186~190.
- [3] Qiu D L, Liu X H, Wang X P. Injury effects of simulated acid rain on chloroplasts of longan leaves. *Chin. J. Appl. Environ. Biol.*, 2002, **8**(2):154~158.
- [4] Yan C L, Hong Y T, Lin P, *et al.* The effect of rare earth elements on physiological and biochemical properties of wheat under acid rain stress. *Science and Technology Information*, 2000, **10**(1):80~84.
- [5] Huang X H, Zhou Q, Zhang X W. The stress effect of acid rain on root growth in plant. *Agro-environ Prot.*, 2000, **19**(4):234~235.
- [6] Yu Y C, Ding A F, Hu J, *et al.* Effects of simulated acid rain on soil acidification and base ions transplant. *J. Nanjing For. Univ.*, 2001, **25**(2):39~42.
- [7] Cen H X, Wang S G, Qiu R L, *et al.* Effect of simulating acid rain on cation release of some soils. *Environ. Poll. Control.*, 2001, **23**(1):13~15.
- [8] Tan M Z, Yan W J. Analysis of characteristics of acid rain pollution in anhui province. *Res. Environ. Sci.*, 2001, **14**(5):13~16.
- [9] Nanjing Agricultural College. *Soil Agrochemistry Analysis*. Beijing: Agricultural Press, 1980. 71~142.
- [10] Shao Z C, He Q, Wang W J. Forms of aluminum in red soils. *Acta. Pedol. Sin.*, 1998, **35**(1):38~48.
- [11] Giannopolitic C N and Ries S K. Superoxide dismutase I. Occurrence in Higher Plants. *Plant Physiology*, 1977, **59**:309~314.
- [12] Lin Z F, Li S S, Lin G Z, *et al.* Superoxide dismutase activity and lipid peroxidation in relation to senescence of rice leaves. *Acta Bot. Sin.*, 1984, **26**(6):605~615.
- [13] Zhang Z L, Qu W J. *Experimental guide of plant physiology*. Beijing: Higher Education Press, 2003. 123~124.
- [14] Nanjing Agricultural College. *Field Experimentation and Statistical Methods*. Beijing: Agricultural Press, 1981. 20~22, 90~94, 208~211.
- [15] Feng Z W. Ecological Effects and control strategies of acid deposition on ecosystems in China. *Yunan Environ. Sci.*, 2000, **19**(Sup):1~6.
- [16] Huang C Y. *Soil Science*(Textbook series for 21st century). Beijing: Chinese Agricultural Press, 2000. 189, 286~288.
- [17] Foy C D. *Soil acidity and liming monograph*. 2nd edition. Maryland: A. S. A., 1984. 57~97.
- [18] Qin R J, Chen F X. The aluminum toxicity of some crop seedlings in red soil of southern hunan. *Plant Nutr. Fertil. Sci.*, 1999, **5**(1):50~55.
- [19] Zang X P. Manganese toxicity of soil and manganese toxicity of plant. *Chin. J. Soil Sci.*, 1999, **30**(3):139~143.
- [20] Fridovich I. Superoxide dismutase. *Annu. Rev. Biochem.*, 1975, **44**:147~159.
- [21] Shu L Z, Sun W S. Effect of Ca²⁺ pretreatment on the harm of maize seedlings by acid rain. *Chin. Environ. Sci.*, 2001, **21**(2):185~

188.

- [22] Bowler C, Montagu Van, Inzc D. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1992, **43**:83~116.
- [23] Wu Z T, Zhang G Y. Effects of abscisic acid, cytokinin and malonaldehyde on superoxide dismutase activity. *Plant Physiol Commun*, 1990 (4):30~32.
- [24] Li L L, Yang Q H, Li W. Changes of IAA, ABA and MDA contents and activities of SOD and POD in the course of abscission of young cotton bolls. *Acta Phytophysiol Sin.*, 2001, **27**(3):215~220.
- [25] Qiu D L, Liu X H, Guo S Z. Effects of simulated acid rain on cellulase activity and contents of endogenous hormone in young fruit of longan. *Chin. J. Appl. Environ. Biol.*, 2004, **10**(1):35~38.
- [26] Lu J L, Li S Y, Huang S B, *et al.* Effects of simulated acid rain on grape leaves and pollens. *Chin. J. Appl. Environ. Biol.*, 1999, **5**(5):459~464.
- [27] Wang A G. Activate oxygen metabolism of plant. In: Yu S W, Tang Z C eds. *Plant physiology and molecular biology*. Beijing: Science Press, 2001. 366~389.
- [28] Wang C Y, Ma Y X, Zhou S M, *et al.* Effects of waterlogging on the metabolism of active oxygen and the physiological activities of wheat root systems. *Acta Agronomica Sin.*, 1996, **22**(6):712~719.
- [29] Song C P. *Biology of plant senescence*. Beijing: Beijing University Press, 2001. 30~57.
- [30] Chen S Y. Injury of membrane lipid peroxidation to plant cell. *Plant Physiol. Commun.*, 1991, **27**(2):84~94.
- [31] Fridovich I. The Biology of oxygen radicals. *Science*, 1978, **201**:875~880.
- [32] Wu Z T. Relationship between superoxide radical and destruction of chlorophyll during leaf senescence. *Plant Physiol. Commun.*, 1991, **27**(4):277~279.
- [33] Zhou Q, Huang X H. Injury mechanism of acid rain on plant and its rare earths control. *J. Chin. Rare. Earth. Soc.*, 2002, **20**(spec. Issue):177~180.
- [34] Li Y, Liu X H. Effects of magnesium deficiency on senescence of dimocarpus longana leaves. *Chin. J. Appl. Ecol.*, 2002, **13**(3):311~314.
- [35] Lu J W, Chen F, Liu D B, *et al.* Effect of potash application on some enzyme content in rapeseed leaf. *Chin. J. Oil. Crop. Sci.*, 2002, **24**(1):61~62.

参考文献:

- [2] 周青, 黄晓华, 王东燕, 等. 钙对酸雨伤害甜瓜幼苗的影响. 植物生态学报, 1999, (2):186~190.
- [3] 邱栋梁, 刘星辉, 王湘平. 模拟酸雨对龙眼叶绿体的伤害效应. 应用与环境生物学报, 2002, **8**(2):154~158.
- [4] 严重玲, 洪业汤, 林鹏, 等. 酸雨胁迫下稀土元素对小麦生理生化响应的作用. 自然科学进展, 2000, **10**(1):80~84.
- [5] 黄晓华, 周青, 张学伟. 酸雨对植物根系生长的胁迫效应. 农业环境保护, 2000, **19**(4):234~235.
- [6] 俞元春, 丁爱芳, 胡筋, 等. 模拟酸雨对土壤酸化和盐基迁移的影响. 南京林业大学学报, 2001, **25**(2):39~42.
- [7] 岑慧贤, 王树功, 仇荣亮, 等. 模拟酸雨对土壤盐基离子的淋溶释放影响. 环境污染与防治, 2001, **23**(1):13~15.
- [8] 檀满枝, 阎伍玖. 安徽省酸雨污染特征分析. 环境科学研究, 2001, **14**(5):13~16.
- [9] 南京农学院. 土壤农化分析. 北京: 农业出版社, 1980. 71~142.
- [10] 邵宗臣, 何群, 王维君. 红壤中铝的形态. 土壤学报, 1998, **35**(1):38~48.
- [12] 林植芳, 李双顺, 林桂珠, 等. 水稻叶片衰老超氧化物歧化酶活性及脂质过氧化作用的关系. 植物学报, 1984, **26**(6):605~615.
- [13] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 2003. 123~124.
- [14] 南京农学院. 田间试验和统计方法. 北京: 农业出版社, 1981. 20~22, 90~94, 208~211.
- [15] 冯宗炜. 中国酸雨的生态影响和防治对策. 云南环境科学, 2000, **19**(增刊):1~6.
- [16] 黄昌勇. 土壤学(面向 21 世纪课程教材). 北京: 中国农业出版社, 2000. 189, 286~288.
- [18] 秦瑞君, 陈福兴. 湘南红壤作物苗期铝中毒的研究. 植物营养与肥料学报, 1999, **5**(1):50~55.
- [19] 臧小平. 土壤锰毒与植物锰的毒害. 土壤通报, 1999, **30**(3):139~143.
- [21] 束良佐, 孙五三. Ca^{2+} 浸种对酸雨伤害玉米幼苗的影响. 中国环境科学, 2001, **21**(2):185~188.
- [23] 伍泽堂, 张刚元. 脱落酸、细胞分裂素和丙二醛对超氧化物歧化酶活性的影响. 植物生理学通讯, 1990, (4):30~32.
- [24] 李伶俐, 杨青华, 李文. 棉花幼铃脱落过程中 IAA、ABA、MDA 含量及 SOD、POD 活性的变化. 植物生理学报, 2001, **27**(3):215~220.
- [25] 邱栋梁, 刘星辉, 郭素枝. 模拟酸雨对龙眼幼果纤维素酶活性和内源激素含量的影响. 应用与环境生物学报, 2004, **10**(1):35~38.
- [26] 吕均良, 李三玉, 黄寿波, 等. 模拟酸雨对葡萄叶片和花粉的影响. 应用与环境生物学报, 1999, **5**(5):459~464.
- [27] 王爱国. 植物的氧化代谢. 见: 余叔文, 汤章城主编. 植物生理与分子生物学. 北京: 科学出版社, 2001. 366~389.
- [28] 王晨阳, 马元喜, 周苏玫, 等. 土壤渍水对小麦根系活性氧代谢及生理活性的影响. 作物学报, 1996, **22**(6):712~719.
- [29] 宋纯鹏. 植物衰老生物学. 北京: 北京大学出版社, 2001. 30~57.
- [30] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害. 植物生理学通讯, 1991, **27**(2):84~90.
- [32] 伍泽堂. 超氧自由基与叶片衰老时叶绿素破坏的关系. 植物生理学通讯, 1991, **27**(4):277~279.
- [33] 周青, 黄晓华. 植物酸致损伤机理与稀土调控研究. 中国稀土学报, 2002, **20**(专辑):177~180.
- [34] 李延, 刘星辉. 缺镁胁迫对龙眼叶片衰老的影响. 应用生态学报, 2002, **13**(3):311~314.
- [35] 鲁剑巍, 陈防, 刘冬碧, 等. 钾素水平对油菜酶活性的影响. 中国油料作物学报, 2002, **24**(1):61~62.