

DOI :10.3969/j.issn.1004-6933.2010.04.013

硫化物胁迫对马来眼子菜生理生化指标的影响

邢雅囡¹, 阮晓红^{1,2}

(1. 河海大学环境学院, 江苏 南京 210098 ; 2. 南京大学地球科学与工程学院, 江苏 南京 210093)

摘要 为研究水体中硫化物(S^{2-})对马来眼子菜的胁迫作用,通过静态模拟试验,分析了不同 S^{2-} 水平(0、0.05、0.1、0.2 和 0.3 mmol/L)培养下马来眼子菜叶绿素总量、丙二醛和 2 种抗氧化酶(过氧化氢酶、过氧化物酶)的活性变化。研究发现,当试验水体中 $c(S^{2-}) \leq 0.05$ mmol/L 时,马来眼子菜叶绿素总量随培养时间呈增加趋势,当 $c(S^{2-}) > 0.2$ mmol/L 时,植物生长会受到明显影响,叶绿素浓度下降,光合作用受到抑制;不同 S^{2-} 浓度组中马来眼子菜丙二醛浓度在暴露时均显示应激效应,膜质过氧化程度随水体 S^{2-} 浓度及其暴露时间的增加而加重。在 $c(S^{2-}) \leq 0.05$ mmol/L 时,2 种抗氧化酶的活性得以维持或提高,当 $c(S^{2-}) \geq 0.1$ mmol/L 时,马来眼子菜体内抗氧化酶活性下降,抗逆性降低,表现为剂量-负效应关系。

关键词 疏离子胁迫; 马来眼子菜; 叶绿素; 丙二醛; 抗氧化酶

中图分类号 X171.5 **文献标识码** A **文章编号** 1004-6933(2010)04-0046-03

Effects of sulfide (S^{2-}) on physiological and biochemical indicators of *potamogeton malaianus*

XING Ya-nan¹, RUAN Xiao-hong^{1,2}

(1. College of Environmental Science and Engineering, Hohai University, Nanjing 210098, China ; 2. School of Earth Science and Engineering, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Abstract : In order to study the effects of sulfide on the physiological and biochemical process of *potamogeton malaianus*, the effects of different concentrations of sulfide (0.0 mmol/L, 0.05 mmol/L, 0.1 mmol/L, 0.2 mmol/L, and 0.3 mmol/L) on the contents of total chlorophyll, malonaldehyde (MDA), and activities of two antioxidant enzymes (POD and CAT) in *potamogeton malaianus* were investigated using the static hydroponic method. The results showed that the content of total chlorophyll in *potamogeton malaianus* increased with training time when sulfide concentration was less than or equal to 0.05 mmol/L; the growth of the plant was apparently affected, the concentration of chlorophyll decreased, and photosynthesis of *potamogeton malaianus* was inhibited at all times when sulfide concentration was higher than 0.2 mmol/L; MDA content of *potamogeton malaianus* in exposure displayed stress effects, and the degree of cytoplasmic membrane peroxidization of *potamogeton malaianus* increased with the concentration of S^{2-} and the exposure time; activities of two types of antioxidant enzymes were maintained or increased when sulfide concentration was less than or equal to 0.05 mmol/L; and with higher sulfide concentration (≥ 0.1 mmol/L), the activities of antioxidant enzymes decreased, and there was a certain dose-negative response relationship between them.

Key words : effect of sulfide; *potamogeton malaianus*; chlorophyll; malonaldehyde; antioxidant enzymes

近 10 年来,随着城市经济的快速发展,我国长江以南地区尤其是苏南地区已形成‘南通—无锡—苏州—南京’酸雨中心带^[1-2],降水中 SO_4^{2-} 当量浓

度占阴离子浓度的 61.9%^[3]。酸沉降及大量含硫污水进入城市水体后沉积,并转化为硫化物,使得水体中 S^{2-} 浓度增高。硫化物是一种植物毒素, $\rho =$

基金项目 国家自然科学基金(40573051) 江苏省自然科学基金(BK2006169)

作者简介 邢雅囡(1979—),女,山东烟台人,博士研究生,研究方向为水环境保护和水生态系统修复。E-mail :xyn@hhu.edu.cn

通讯作者 阮晓红,女,教授。E-mail :ruanxh@nju.edu.cn

0.15 mg/m³ 的 S²⁻ 浓度可严重危害高等植物根系活性^[4-5],通过抑制作物根部生长,使根部发黑腐烂、作物枯萎,这也是导致酸性水体植物群落变化的重要因素^[6]。

沉水植物是淡水生态系统中关键的生态类群,是生态系统物种和功能多样性的基础。因此,沉水植被的重建与恢复已成为研究热点。研究不同 S²⁻ 浓度下沉水植物的生理生化变化对于认识沉水植物在酸性水体中衰退的机理、寻找沉水植物中耐酸化的先锋植物具有重要意义。马来眼子菜(*potamogeton malaianus*)是太湖沉水植物优势种之一,对水域的富营养化有较强适应能力^[7-9]。笔者针对河网区重污染河道疏素浓度高、高等水生植物绝迹的现象,通过研究水体中不同 S²⁻ 浓度对马来眼子菜中的叶绿素、丙二醛、保护酶活性等生理生化指标的影响,探讨其对 S²⁻ 污染的耐受性,以期对沉水植物修复及水质改善提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

试剂 硫化钠(Na₂S·9H₂O,分析纯,江苏永华精细化学品有限公司生产)。

马来眼子菜采自太湖,预培养 30 d 后,选择一定量长势良好、生长基本一致、株高在 50 cm 左右的植物个体,清水洗净后植于 70 L 塑料桶内(上桶直径 49 cm,下桶直径 37 cm,高度 55 cm),施药前适应性培养 30 d。

1.2 试验设计及样品采集

a. 试验共设置 5 个浓度组,分别为 CK(对照组, c = 0 mmol/L)、A(c = 0.05 mmol/L)、B(c = 0.10 mmol/L)、C(c = 0.20 mmol/L)和 D(c = 0.30 mmol/L),各组设 3 个重复。

b. 自然条件下培养,试验期水温 20 ~ 25℃,定期补充营养液。为减少水体中 S²⁻ 的挥发及模拟自然水体的溶氧环境,试验过程中塑料桶口用透明薄膜密封,薄膜上扎少许小孔。

c. 分别在试验初始及施药后 3、5、10 和 15 d 采样,分别采集各处理组植物茎叶混合样品 3 份,每份约 2 g,准确称重后用液氮冷冻,置于超低温冰箱中保存,待测生理生化指标。

1.3 试验方法

实验测定的生理生化指标包括 叶绿素总量、丙二醛(MDA)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性,分别采用丙酮乙醇混合提取法^[10]、硫代巴比妥酸显色法^[10]、紫外吸收法^[11]和愈创木酚法进行测定^[12]。由于重复之间差异不显著,故试验

结果取各组测定结果均值。

抑制率 η 和诱导率 S' 采用以下公式计算:

$$\eta = (1 - A/A_{CK}) \times 100\%$$

$$S' = (A/A_{CK} - 1) \times 100\%$$

式中: A 为处理组 POD 或 CAT 的活性; A_{CK} 为对照组 POD 或 CAT 的活性。

2 结果与分析

2.1 S²⁻ 对马来眼子菜叶绿素总量的影响

植物叶片叶绿素浓度与光合速率、营养状况等密切相关,叶绿素浓度可以表征植物生长状况,试验期间马来眼子菜供试样中叶绿素总量变化见图 1。

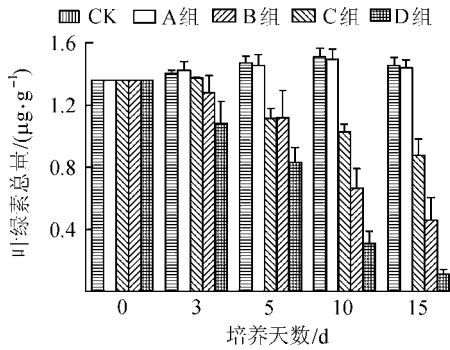


图 1 S²⁻ 对马来眼子菜内叶绿素总量的影响

由图 1 可知,随培养时间延续,CK 组、A 组马来眼子菜供试体中叶绿素总量呈上升趋势,仅第 15 d 有所下降,但仍高于初始值;A 组叶绿素总量除第 5 d 外,叶绿素总量均比 CK 组低,说明即使在低浓度条件下,长时间的暴露也会影响马来眼子菜体内叶绿素的浓度;B、C 和 D 组中马来眼子菜内叶绿素总量随培养时间延续呈下降趋势,第 10 d, D 组中的叶绿素总量骤降至 0.306 7 μg/g,为初始叶绿素总量的 22.54%,至第 15 d,供试体内叶绿素总量仅为对照组的 8.04%,表明此时马来眼子菜供试体受到 S²⁻ 胁迫,植物体的光合作用完全被抑制。

综上,各浓度组中马来眼子菜的叶绿素总量随试验水体 S²⁻ 浓度的增加而降低,当试验水体中 c(S²⁻) ≤ 0.05 mmol/L 时,植物体光合作用可正常进行,当试验水体中 c(S²⁻) > 0.2 mmol/L 时,供试体受到 S²⁻ 胁迫,光合作用被抑制。以上变化规律说明马来眼子菜的光合作用受到 S²⁻ 的抑制,抑制程度与试验水体中 S²⁻ 浓度有关。

2.2 S²⁻ 对马来眼子菜 MDA 的影响

MDA 是膜脂过氧化作用的主要产物之一,其质量比可用以表示细胞膜脂过氧化程度和植物对逆境条件反应的强弱。试验期间马来眼子菜供试体内 MDA 质量比变化见图 2。

由图 2 可知,随培养时间延续,CK 组中马来眼

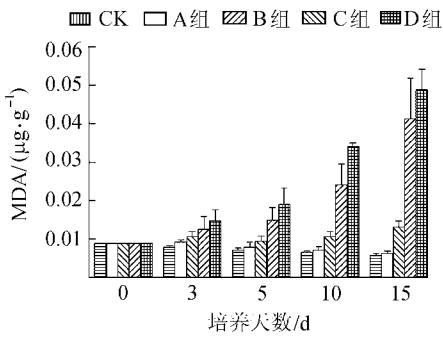


图2 S^{2-} 对马来眼子菜内MDA的影响

子菜供试体内MDA质量比变化趋势表现为下降特征;A组中供试体内MDA质量比的变化规律与空白组具有相似性,仅在第3d有升高,整体呈下降趋势,但均高于CK组,说明试验初期马来眼子菜对 S^{2-} 产生应激反应,随时间的延续逐渐适应,表明供试体对0.05 mmol/L浓度内 S^{2-} 具有一定的耐受性;B组中供试体内MDA质量比随培养时间延续的变化规律整体呈上升趋势,仅在第5d有降低;C和D组中供试体MDA质量比呈上升趋势,第15d时MDA质量比分别为CK组的7.13倍和8.44倍,说明马来眼子菜供试体受到严重损伤。

综上,各组MDA均高于对照组,说明马来眼子菜受到 S^{2-} 的损伤,其损伤程度随 S^{2-} 浓度的增加而加重,除A组外,受试供体在含有 S^{2-} 水体中暴露时间越长,伤害越严重。

2.3 不同浓度 S^{2-} 对马来眼子菜POD活性的影响
正常情况下,作为保护酶系统的重要组成部分,POD能维持体内活性氧产生和清除的动态平衡,从而防止自由基的毒害。而逆境条件则往往使植物细胞中活性氧产生增多或清除能力减弱,在这种情况下,活性氧清除能力的高低也就成为植物抗逆境能力大小和能否在逆境中生存的关键。试验期间的马来眼子菜供试体内POD活性变化及诱导率(抑制率)计算分别见图3、表1。

由图3可知,CK组与A组马来眼子菜内的POD活性变化均呈上升趋势,但试验期间A组活性均高

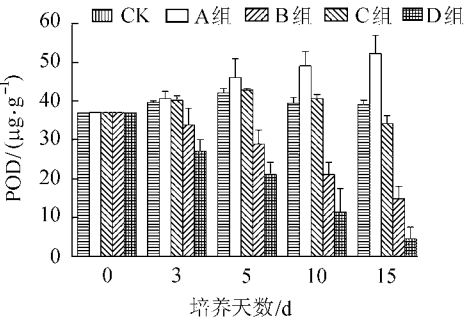


图3 S^{2-} 对马来眼子菜内POD活性的影响

表1 试验期间马来眼子菜内POD诱导率(抑制率)计算成果

培养时间/d	A组	B组	C组	D组
3	2.25*	1.12*	14.84	31.81
5	8.93*	1.65*	31.03	49.61
10	24.07*	2.63*	46.26	70.58
15	33.60*	12.17	61.75	87.87

注:*为诱导率,其余为抑制率。

于CK组活性;B组中,供试体内POD活性随着培养时间的延续呈现先增加后降低的趋势;C和D组中,供试体内POD活性均随着培养时间的延续而降低。至试验结束,D组中POD活性值降为初始值的11.99%。

由表1可知,A组中马来眼子菜内POD活性均表现为诱导,且诱导率随培养时间的延续而增加,说明此浓度范围内马来眼子菜受到水体中 S^{2-} 胁迫,并通过调整某些生理生化过程增加其抗逆性,POD活性的升高,在一定程度上减轻自由基对膜的伤害,反映为图1中试验期间此组中供试体内叶绿素总量都表现为增加。B组中马来眼子菜内的POD活性前10d出现诱导,10d后POD活性表现为抑制。C和D组,供试体内POD活性在试验期间均为抑制,且抑制率随暴露时间和水体中 S^{2-} 浓度的增加而增加,表明此浓度范围下供试植物体内酶系统功能紊乱,引起细胞膜结构损伤,与图1中试验期间相应的浓度组叶绿素总量都表现为减少趋势相吻合。

2.4 不同浓度 S^{2-} 对马来眼子菜CAT活性的影响
CAT能够清除细胞内过多的 H_2O_2 ,使细胞内 H_2O_2 维持在一个正常水平,保护细胞膜结构,CAT活性与植物的代谢强度及抗病能力有关。试验期间的马来眼子菜供试体内CAT活性变化及诱导率(抑制率)计算结果分别见图4和表2。

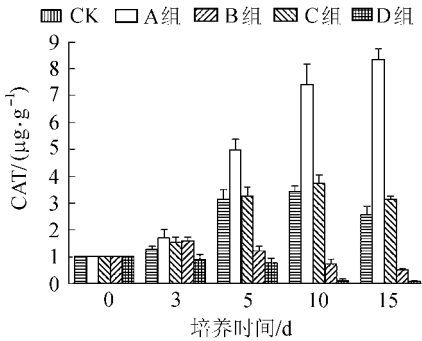


图4 S^{2-} 对马来眼子菜内CAT活性的影响

表2 试验期间马来眼子菜CAT诱导率(抑制率)计算结果

培养时间/d	A组	B组	C组	D组
3	32.92*	20.20*	24.69*	26.93
5	56.74*	3.11*	59.69	74.30
10	115.26*	9.47*	77.47	96.11
15	217.07*	20.92*	79.98	96.16

注:*为诱导率,其余为抑制率。

(下转第88页)

热点,并将在实务中得以运用,从而为实现水资源的良性循环和社会的可持续发展作出贡献。

参考文献：

[1] 刘维瑞.论环境监督机制[J].云南环境科学.1994(1) 1-4.
[2] 黄世芬.上市公司社会责任审计研究[D].乌鲁木齐:新疆财经大学,2007.
[3] 陈晓景.流域水污染防治监督管理机制浅论[J].人民黄河,2006(4) 39-41.

[4] 中国经济时报.环境保护总局回应《环境保护法》修改呼声已刻不容缓[EB/OL]. [2007-03-12]. http://www.zxd.org.cn/news_view.asp?newsid=78.
[5] 浙江省审计学会课题组.太湖流域水污染综合治理环境审计实证研究[J].审计研究,2004,1 57-62.
[6] 国家发展和改革委员会.太湖流域水环境综合治理总体方案[EB/OL]. [2008-06-17]. <http://www.chinaenvironment.com>.

(收稿日期 2009-01-16 编辑 高渭文)

(上接第 48 页)

由图 4 可知,CK、A 和 B 组马来眼子菜内的 CAT 活性变化规律均呈上升趋势,但试验期间各浓度组供试体内 CAT 活性均高于 CK 组;C 和 D 组中马来眼子菜的 CAT 活性呈现上升—降低波动特征,前 3 d 表现为上升,3 d 后 CAT 活性降低,至 15 d 植物体内 CAT 活性分别降为 $w = 0.51 \mu\text{g/g}$ 和 $w = 0.09 \mu\text{g/g}$ 。

由表 2 可知,A 和 B 组马来眼子菜内的 CAT 活性均被诱导,A 组供试植物体的 CAT 活性随暴露时间的增加而增加,而 B 组供试植物体的 CAT 活性随暴露时间的增加呈现增加—降低—增加的波动特征。C 和 D 组中马来眼子菜的 CAT 活性(除第 3 d 的 C 组外)均表现为抑制,且抑制率随着暴露时间和 S^{2-} 浓度的增加而增大,呈现出明显的剂量-效应关系。

3 结 论

a. 水体 S^{2-} 对马来眼子菜叶绿素合成产生抑制,且抑制程度与 S^{2-} 浓度有关。当 $c(\text{S}^{2-}) \leq 0.05 \text{ mmol/L}$ 时,马来眼子菜叶绿素总量随培养时间呈增加趋势,光合作用可正常进行;当 $c(\text{S}^{2-}) > 0.2 \text{ mmol/L}$ 时,叶绿素总量随试验水体 S^{2-} 浓度的增加而降低。

b. 在 S^{2-} 浓度为 0.05 mmol/L 、 0.1 mmol/L 、 0.2 mmol/L 和 0.3 mmol/L 的各试验水体中,马来眼子菜供试体内 MDA 质量比均低于对照组,说明供试植物体受到 S^{2-} 的损伤,且损伤程度随水体 S^{2-} 浓度及其暴露时间的增加而加重。

c. 马来眼子菜体内的抗氧化酶系统对 S^{2-} 胁迫作出了敏感响应。马来眼子菜供试体内的 POD、CAT 活性变化规律具有相似性。试验期间 $c = 0.05 \text{ mmol/L}$ 的 A 组活性均高于空白组活性;当水体中 $c(\text{S}^{2-}) \leq 0.05 \text{ mmol/L}$ 时,试验期间马来眼子菜内 POD、CAT 活性均升高,表现出明显的诱导作用;当水体中 $c(\text{S}^{2-})$ 为 0.1 mmol/L 和 0.2 mmol/L 时,POD、CAT 活性先诱导后抑制,说明高浓度和长时间暴露条件下,POD 及 CAT 走向了负响应,马来眼子菜的抗逆性降低。

d. 试验结果表明,马来眼子菜对 S^{2-} 具有一定的耐受性,当试验水体 $c(\text{S}^{2-}) \leq 0.05 \text{ mmol/L}$ 时,供试植物体可通过调整生理生化过程而继续生长;当 $c(\text{S}^{2-}) \geq 0.2 \text{ mmol/L}$ 时,马来眼子菜损伤严重,无法维持正常生长。

参考文献：

[1] 张林波,曹洪法,沈英娃,等.苏、浙、皖、闽、湘、鄂、赣 7 省酸沉降农业危害[J].中国环境科学,1997,17(6) 489-491.
[2] 姜勇,沈红军.江苏省酸雨形势与污染状况分析[J].江苏环境科技,2006,19(1) 55-56.
[3] 范元中.江苏省酸雨污染十五年趋势分析[J].环境科学与技术,2005,28(6) 53-54.
[4] 董红霞.环境废水中硫化物的电化学方法测定与治理[D].西安:西安理工大学,2005.
[5] CALLEJA M L, MARBA N, DUARTE C M. The relationship between seagrass (*Posidonia oceanica*) decline and sulfide porewater concentration in carbonate sediments[J]. Coastal and Shelf Science, 2007, 73 583-588.
[6] LAMERS L P M, TOMASSEN H B M, ROELOFS J G M. Sulphate induced eutrophication and phytotoxicity in freshwater wetlands[J]. Environ Sci Technol, 1998, 32 : 199-205.
[7] 蒲云海,李伟.中国竹叶眼子菜的生态学研究[J].武汉植物学研究,1999,17(S1) 55-72.
[8] 王斌,周莉平,李伟.不同水质条件下菹草的净化作用及其生理反应初步研究[J].武汉植物学研究,2002,20(2) : 150-152.
[9] CHEN H D. Productive of eleven species of submerged macrophytes [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1988, 19(6) 525-531.
[10] 潘慧云,李小路,徐小花,等.烯效唑对沉水植物伊乐藻 (*Elodea nuttallii*) 生长及抗氧化酶活性的影响[J].生态学报,2008,28(12) 61-64.
[11] 潘慧云,李小路,徐小花,等.甲磺隆对沉水植物伊乐藻的生理生态效应研究[J].环境科学,2008,29(7) : 1844-1848.
[12] 谷巍,施国新,张超英,等. Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 和 Cu^{2+} 对菹草光合系统及保护酶系统的毒害作用[J].植物生理与分子生物学报,2002,28(1) 69-74.

(收稿日期 2010-04-09 编辑 高渭文)