

文章编号: 1003-7578(2013)01-125-05

# 水分和铅交互胁迫对侧柏幼苗抗氧化酶活性的影响<sup>\*</sup>

邹朋, 王进鑫, 张青, 初江涛, 周芙蓉

(西北农林科技大学资源环境学院, 农业部西北植物营养与农业环境重点实验室, 杨陵 712100)

**提 要:** 通过盆栽实验研究一年生侧柏(*Platycladus orientalis*)在不同水分处理(土壤相对含水率为40%、60%、80%、100%)及重金属铅五个胁迫水平(0、300、500、1000、2000mg·kg<sup>-1</sup>)交互作用下抗氧化酶活性(POD、SOD)和丙二醛(MDA)含量的变化。结果表明:在水分和铅的交互胁迫下,侧柏幼苗叶片POD、SOD活性均表现为先升后降的趋势,不同水分胁迫条件下侧柏幼苗叶片POD、SOD活性均在铅含量为500mg·kg<sup>-1</sup>时达到最大值,在铅含量<500mg·kg<sup>-1</sup>时,不同水分胁迫条件下侧柏幼苗叶片POD、SOD活性都随着铅胁迫的增大逐渐上升,在铅含量>500mg·kg<sup>-1</sup>时,不同水分胁迫条件下侧柏幼苗叶片POD、SOD活性都随着铅胁迫的增大逐渐下降。在水分和铅的交互胁迫下,侧柏幼苗叶片MDA含量逐渐升高,在铅含量<1000mg·kg<sup>-1</sup>时,不同水分胁迫条件下侧柏幼苗叶片MDA含量变化不明显,在铅含量>1000mg·kg<sup>-1</sup>时,不同水分胁迫条件下侧柏幼苗叶片MDA含量逐渐上升。适当的交互胁迫(铅含量500mg·kg<sup>-1</sup>,60%水分处理)有利于提高侧柏的抗逆性。

**关键词:** 干旱; 铅污染; 侧柏; 交互胁迫; 抗氧化酶活性

中图分类号: Q946

文献标识码: A

随着现代化工业的迅速发展及全球水资源的日益匮乏,污水灌溉等行为的日益加剧,干旱地区土壤重金属污染问题也日益严重<sup>[1]</sup>。重金属铅(Pb)是具有毒性的重金属元素之一,是植物非必需元素,由于冶炼活动和采矿使大量的铅进入地表生态系统,对土壤造成严重的污染,给生态环境安全造成严重的威胁<sup>[2,3]</sup>。对于铅污染的治理,尽管有多种方法,但植被恢复或植物修复技术则被认为是最具潜力的方法。因此,也成为目前环境生态学的热点问题之一<sup>[4]</sup>。然而,我国耐铅性植物研究主要集中在物种资源丰富气候环境适宜的南部矿区,并且以草本植物为主<sup>[5]</sup>,对气候比较干旱的北部矿区,尚未引起足够的重视。木本植物,因其具有生长迅速、生物量大、根系发达等特征,吸收积累的污染物不会在短时期内释放到环境中,而且大部分林木以生产木材和绿化为主要目的,不进入食物链而对人体产生危害。因此,其在重金属矿业废弃地植物修复或植被恢复中的作用,受到广泛的关注。目前相关的研究主要都是对铅胁迫或干旱胁迫进行单一的研究,或者是将铅与其他的重金属结合起来研究其复合效应,对北方矿区废弃地普遍存在的干旱和重金属污染交互胁迫问题的研究甚少。

侧柏属常绿乔木,在我国分布极广,北起内蒙古、吉林,南至广东、广西北部,人工栽培范围遍及全国。侧柏适应力强,抗旱、抗盐碱能力强,在贫瘠的土壤中仍可生长。因此,文中选择分布广而耐旱性强的木本植物侧柏为研究对象,通过测定侧柏幼苗在水和铅交互作用下抗氧化酶系统活性及MDA的含量变化,阐明侧柏幼苗对逆境的抗性和适应能力,为干旱地区重金属污染的毒理学评价以及矿区废弃地的生态恢复提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

\* 收稿日期: 2011-12-12; 修回日期: 2012-2-26。

基金项目: 国家自然科学基金项目(31170579); 高等学校博士学科点专项科研基金课题(20110204110009)资助。

作者简介: 邹朋(1987-),男,辽宁营口人,硕士研究生,主要从事生态环境工程研究。E-mail: zploveyl@126.com

通讯作者: 王进鑫(1962-),男,甘肃镇原人,教授,博士生导师,主要从事干旱区人工林生态系统水分运移调控与生态恢复理论研究。E-mail: jwang118@126.com

(1) 供试植物。为一年生侧柏(*Platycladus orientalis*) ,为了减少苗木基础生长所引起的系统误差 ,起苗前对圃地苗木进行了调查、逐一标记 ,起苗后精心挑选 ,基本确保了苗高、地径与长势的一致性。

(2) 供试土壤。为杨凌壤土 ,质地粘壤 ,田间持水量 22.3% ,土壤铅的背景值<sup>[6]</sup>为  $16.3 \pm 2.96 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  ,土壤有机质含量  $13.70 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  ,全氮含量为  $0.73 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  ,速效磷含量为  $35.91 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  ,速效钾含量为  $96.52 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  ;风干土过筛 ,除去石砾、结核及林草根系 ,充分混匀备用;在实验前向土壤中加入 99% 的分析纯  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  ,充分混匀后让其钝化 2 个月 ,备用;试验期间栽培基质保持自然肥力 ,不施肥。

### 1.2 方法

试验地在温暖带半湿润气候区的陕西杨凌西北农林科技大学主校区内 ,采用旱棚人工控水的方法进行试验布设。试验设置 5 个重金属铅胁迫水平 (0 ,300 ,500 ,1000 ,2000  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) ;土壤相对含水率上限 100%、下限 40% ,分设 4 个水平 ,分别为 40% (重度水分胁迫) 、60% (轻度水分胁迫) 、80% (轻微水分胁迫) 、100% (充分供水)<sup>[7-9]</sup> (表 1) ;采用随机区组实验设计 ,共 20 个处理。塑料栽培容器高 30cm、口径 27cm ,按 0~30cm 平均土壤密度  $1.15 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$  装土 ,保持各容器干土重相同。每盆栽植侧柏 2 株 ,每一处理重复 4 次。土壤相对含水率采用称重法控制 ,3d 称量一次 ,以便及时调整每日补充灌水量。为保持各处理土壤水分相对稳定 ,除每天补充灌水上 ,土壤表面用小砂石覆盖 (厚约 2cm) 。

表 1 实验处理与处理代码表

Tab. 1 Experimental treatment and code

Pb 含量 ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	供水率 (%)			
	100(CK)	80(T1)	60(T2)	40(T3)
0(CK)	CK	T1	T2	T3
300(A)	A	AT1	AT2	AT3
500(B)	B	BT1	BT2	BT3
1000(C)	C	CT1	CT2	CT3
2000(D)	D	DT1	DT2	DT3

### 1.3 测定项目及方法

酶液的制备<sup>[10]</sup>:取 0.5 克新鲜叶片于预冷的研钵中 ,先加入冷磷酸缓冲液 (pH = 7.8) 5mL 及少量石英砂 ,冰浴研磨至匀浆 ,并用  $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的冷磷酸缓冲液 (pH = 7.8) 5mL 冲洗 ,转移至离心管中;  $10000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 15 min ,取上层清液测定各种酶活性。

超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑(NBT)比色法测定;SOD活性以抑制NBT光氧化还原50%的酶量为1个活性单位,用  $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$  为单位表示<sup>[11]</sup>;过氧化物酶(POD)采用愈创木酚法测定,用  $\Delta A_{470}$  表示 POD 活性<sup>[11]</sup>;丙二醛(MDA)采用硫代巴比妥酸比色法<sup>[11]</sup>。

### 1.4 数据处理

采用 Microsoft Excel 软件对所测的 4 个重复数据取平均值 ,再进行作图 ,并运用 SPSS17.0 软件中的 Duncan 法进行差异显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 水分和铅胁迫对侧柏幼苗叶片 POD 活性的影响

过氧化物酶(POD)是植物体内一种常见的氧化还原酶,参与植物体内多种生理代谢,达到清除过氧化物的作用,从而使需氧生物体免受  $\text{H}_2\text{O}_2$  的毒害<sup>[12]</sup>,它在植物抗性中发挥重要的作用。研究表明(图 1)在相同铅胁迫条件时,随着水分胁迫的加剧,侧柏幼苗叶片 POD 活性整体呈升高趋势。在相同水分胁迫条件时,随着铅胁迫的增大,侧柏幼苗叶片 POD 活性整体呈先升后降的趋势。随着水分胁迫程度的加剧和铅胁迫的增大,侧柏幼苗叶片 POD 活性整体呈先升后降的趋势。不同水分胁迫的侧柏幼苗叶片 POD 活性都在土壤铅含量  $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (B) 时达到最大,且显著高于对照 ( $P < 0.05$ ) ,POD 活性在 BT3 时达到最大值,为对照处理的 2.15 倍。POD 活性在 D 时达到最小值,为对照的 0.64 倍。

### 2.2 水分和铅胁迫对侧柏幼苗叶片 SOD 活性的影响

超氧化物歧化酶(SOD)是植物体内清除和减少活性氧自由基的保护酶<sup>[13]</sup>。植物受到环境胁迫后活性氧代谢失去平衡造成体内活性氧增加,从而诱导 SOD 活性增加。研究表明(图 2)在相同铅胁迫条件时,随水分胁迫条件的加剧,侧柏幼苗叶片 SOD 活性整体呈上升趋势。在相同水分胁迫条件时,随着铅胁迫的增大,侧柏幼苗叶片 SOD 活性呈先升后降的趋势。随着水分胁迫程度的加剧和铅胁迫的增大,侧柏幼苗叶片 SOD 活性变化整体呈先升后降的趋势,且显著高于对照 ( $P < 0.05$ )。在土壤铅含量小于  $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (B) 时,不同水分胁迫的侧柏幼苗叶片 SOD 活性逐渐上升,在 BT3 时达到最大值,且为对照处理的 1.

91 倍。在土壤铅含量  $500\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (B) ~  $2000\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (D) 时,不同水分胁迫的侧柏幼苗叶片 SOD 活性呈逐渐降低趋势。

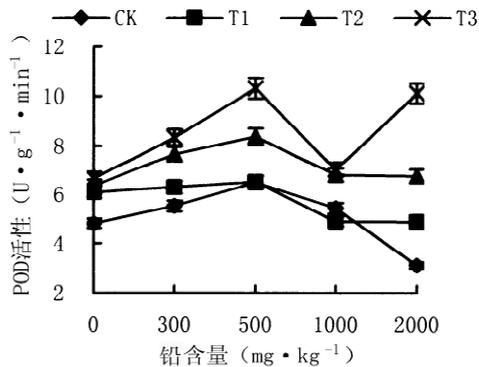


图 1 交互胁迫对侧柏幼苗叶片 POD 活性的影响

Fig. 1 Effects of interactive stress on POD activity in the leaves of *Platycladus orientalis*

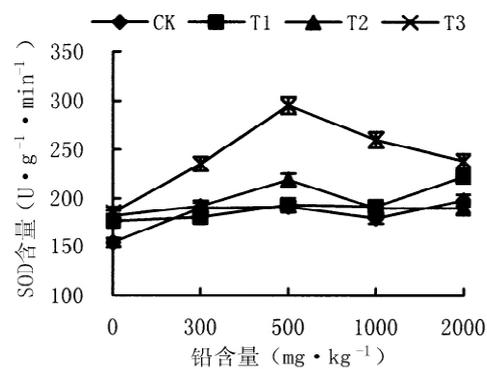


图 2 交互胁迫对侧柏幼苗叶片 SOD 活性的影响

Fig. 2 Effects of interactive stress on SOD activity in the leaves of *Platycladus orientalis*

### 2.3 水分和铅胁迫对侧柏幼苗叶片 MDA 含量的影响

不良环境和衰老都会伤害植物细胞膜系统,引起膜脂过氧化反应,丙二醛(MDA)是逆境胁迫下生物膜发生膜脂过氧化作用的主要产物之一<sup>[14]</sup>,其含量的高低是膜脂过氧化程度和植物对逆境条件反应强弱的重要标志<sup>[15]</sup>,MDA 积累越多表明组织的保护能力越弱。研究表明(图 3)随着水分胁迫的加剧和铅胁迫的增大,侧柏幼苗叶片 MDA 含量变化呈升高的趋势。在相同铅胁迫的条件下,随着水分胁迫的加剧侧柏幼苗叶片 MDA 含量变化不明显,但整体呈上升趋势。在充足水分条件(CK)时,随着铅胁迫的增大,侧柏幼苗叶片 MDA 含量呈逐渐升高趋势,在轻微水分胁迫(T1)时和轻度水分胁迫(T2)时,随着铅胁迫的增大,侧柏幼苗叶片 MDA 含量呈先升高后下降然后再升高的趋势,在重度水分胁迫(T3)时,随着铅胁迫的增大,侧柏幼苗叶片 MDA 含量呈现先降后升趋势。在土壤铅含量小于  $1000\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (C) 时,不同水分胁迫的侧柏幼苗叶片 MDA 含量变化趋势不明显,与对照差异不显著( $P > 0.05$ ),在 BT2 时侧柏幼苗叶片 MDA 含量最小,为处理对照的 1.25 倍。在土壤铅含量大于  $1000\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (C) 时,不同水分胁迫条件下的侧柏幼苗叶片 MDA 含量都逐渐增加,且在 DT3 时达到最大值,与对照达到极显著差异( $P < 0.01$ ),为对照处理的 3.23 倍。

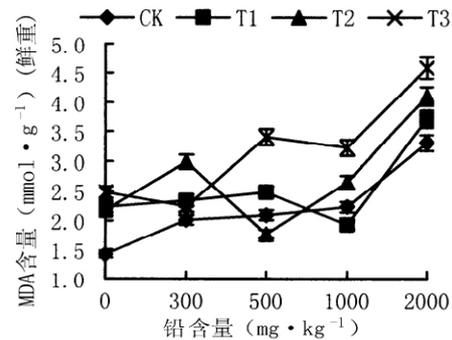


图 3 交互胁迫对侧柏幼苗叶片 MDA 活性的影响

Fig. 3 Effects of interactive stress on MDA activity in the leaves of *Platycladus orientalis*

## 3 讨论

文中研究在水分和铅的交互胁迫下,侧柏幼苗叶片 POD、SOD 活性均呈先升后降的趋势,符合一般植物的应激性规律<sup>[16]</sup>。房娟等<sup>[17]</sup>研究 Pb 胁迫对苏柳 172 和垂柳生理特性的影响,结果表明,两种柳树叶片 POD、SOD 活性均随着铅浓度的增大呈先升后降的趋势。张尧等<sup>[18]</sup>研究黑麦草幼苗对镉耐性能力表明,随着 Cd 浓度增加,黑麦草幼苗叶片 POD、SOD 活性先升高后降低。何冰等<sup>[19]</sup>研究铅胁迫对杨梅生理特性的影响发现,杨梅叶片 POD、SOD 活性在  $2\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  低铅胁迫处理下随着处理时间的延长呈先上升后下降的趋势,在  $6\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  高铅胁迫处理下杨梅叶片 POD、SOD 活性随着处理时间的延长呈下降的趋势。文中试验表明,在土壤铅含量小于  $500\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (B) 时,不同水分胁迫的侧柏幼苗叶片 POD、SOD 活性都逐渐升高,表明在土壤铅含量低于  $500\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (B) 和不同水分胁迫条件下,侧柏幼苗体内活性氧清除系统和抗性特征活动被诱导而激活,抵御不良环境,从而清除自由基保护植物生长。但是随着铅胁迫增大和水分胁迫程度的加剧,侧柏幼苗体内的活性氧迅速增加超过了正常的歧化能力的极限而破坏抗氧化酶系统,抑制叶片内 POD、SOD 的活性,并使之下降,清除  $\text{O}_2^-$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{OH}^\cdot$  的能力下降,导致活性氧和自由基在体内不断积累,使侧柏正常生长代谢受到严重影响。

随着水分胁迫的加剧和铅胁迫的增大,侧柏幼苗叶片 MDA 含量逐渐增加,在土壤铅含量小于  $1000\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (C) 时,不同水分胁迫的侧柏幼苗细胞内各种保护机制可以使 MDA 的含量维持在一定水平,在土壤铅含量  $500\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  和 60% 水分胁迫下达到最小值,说明在该交互胁迫下侧柏幼苗叶片 MDA 积累量较少,侧柏幼苗体内活性氧的产生与清除处于平衡状态,但是在土壤铅含量大于  $1000\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (C) 时,侧柏幼苗叶片 MDA 含量逐渐增加,在土壤铅含量  $2000\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  和 40% 水分胁迫下,侧柏幼苗叶片 MDA 含量明显增加,与对照的差异达到了极显著水平,说明由于水分胁迫、铅胁迫的增加,使植物体内代谢失调,自由基的含量逐渐积累,不能被及时清除,造成细胞膜脂严重氧化,细胞受到伤害,影响植株的正常代谢。

## 4 结论

(1) 随着水分胁迫的加剧和铅胁迫的增大,侧柏幼苗叶片 POD、SOD 活性均呈先升后降的趋势,在土壤铅含量  $500\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (B) 时达到最大值。

(2) 随着水分胁迫的加剧和铅胁迫的增大,侧柏幼苗叶片 MDA 含量变化呈升高的趋势,其中在  $2000\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  铅处理和 40% 水分胁迫下,MDA 含量达到最大值,与对照达到极显著差异。

(3) 在水分和铅交互胁迫下,侧柏幼苗叶片抗氧化酶(POD、SOD)活性的变化以及丙二醛(MDA)含量的变化都表明了侧柏幼苗对水分和铅交互胁迫有一定的耐受性,适当的交互胁迫(土壤铅含量  $500\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 60% 水分处理)有利于提高侧柏的抗逆性。

## 参考文献

- [1] 钟楠,王进鑫,马惠芳,等. 水分和镉交互胁迫对刺槐幼苗抗氧化酶活性的影响[J]. 西北林学院学报, 2010, 25(6): 5-9.
- [2] 廖琴,王胜利,南忠仁. 干旱区绿洲土壤中 Cd、Pb、Zn、Ni 的吸收积累及形态分布实验研究[J]. 干旱地区农业研究, 2010, 28(5): 108-113.
- [3] 易治伍,王灵,钱翌,等. 乌鲁木齐市农田土壤重金属含量及评价[J]. 干旱区资源与环境, 2009, 23(2): 150-154.
- [4] 陈红琳,张世熔,李婷,等. 汉源铅锌矿区植物对 Pb 和 Zn 的积累及耐性研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(2): 505-509.
- [5] 王英辉,伍乃东. 铅污染土壤的植物修复技术研究[J]. 中国土壤与肥料, 2007(5): 6-10.
- [6] 夏增禄,李森照. 土壤元素背景值及其研究方法[M]. 北京: 气象出版社, 1987: 320.
- [7] Hisao T C. Plant responses to water stress[J]. Ann. Rev. Plant Physiology, 1973, 24: 519-570.
- [8] 余新晓,张建军,朱金兆. 黄土地区防护林生态系统土壤水分条件的分析与评价[J]. 林业科学, 1996, 32(4): 289-296.
- [9] 中华人民共和国水利部. 中华人民共和国水利行业标准(SL 424-2008): 中华人民共和国水利行业标准: 旱情等级标准[S]. 北京: 中国水利水电出版社, 2009.
- [10] 陈丽娜,唐明灯,艾绍英,等. Pb 胁迫条件下 3 种叶菜的生长和生理响应及其抗性差异[J]. 植物资源与环境学报, 2010, 19(4): 78-83.
- [11] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安: 世界图书出版社, 2000.
- [12] Chance B, Maehly A C. Assay of Catalase and Peroxidase[M]. Methods Enzymol, 1955, 2: 764-775.
- [13] 庞欣,王东红,彭安. 铅胁迫对小麦幼苗抗氧化酶活性的影响[J]. 环境科学, 2001, 22(5): 108-111.
- [14] 孙国荣,彭永臻,阎秀峰,等. 干旱胁迫对白桦实生苗保护酶活性及膜质过氧化作用的影响[J]. 林业科学, 2003, 39(1): 165-167.
- [15] 霍红,张勇,陈年来,等. 干旱胁迫下五种荒漠灌木苗期的生理响应和抗旱评价[J]. 干旱区资源与环境, 2011, 25(1): 185-189.
- [16] 刘璐璐,柴明良,徐晓薇,等.  $\gamma$  射线辐照对春兰根状茎生长及抗氧化酶活性的影响[J]. 核农学报, 2008, 22(1): 23-27.
- [17] 房娟,陈光才,楼崇,等. Pb 胁迫对柳树根系形态和生理特性的影响[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(15): 8951-8953, 8989.
- [18] 张尧,田正贵,曹翠玲,等. 黑麦草幼苗对镉耐性能力及吸收积累和细胞分布特点研究[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(11): 2080-2086.
- [19] 何冰,何计兴,何新华,等. 铅胁迫对杨梅生理特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(6): 1263-1268.

## Effects of interactive stress of drought and lead on antioxidant enzyme activity of *Platycladus orientalis* seedlings

ZOU Peng , WANG Jinxin , ZHANG Qing , CHU Jiangtao , ZHOU Furong

( College of Resources and Environment , Northwest A&F University , Yangling , Shaanxi 712100 , Key Laboratory of Plant Nutrition and the Agri - environment in Northwest China , Ministry of Agriculture , Yangling , Shaanxi 712100 , P. R. China)

**Abstract:** This research is aimed at exploring the theory of the changes of antioxidant enzyme system activity and MDA content in one year seedlings of *Platycladus orientalis* treated by different levels of water ( 40% , 60% , 80% , and 100% ) and lead ( 0 , 300 , 500 , 1 000 , and 2 000mg • kg<sup>-1</sup> ) and cultivated in pots. The results showed that POD , SOD activities of *Platycladus orientalis* seedlings increased at first and then decreased under interactive stress , POD , SOD activities of *Platycladus orientalis* seedlings treated by different levels of water reach maximum in the lead content of 500mg • kg<sup>-1</sup> , under lead less than 500mg • kg<sup>-1</sup> , POD , SOD activities of *Platycladus orientalis* seedlings increased in different water stress conditions , under lead more than 500mg • kg<sup>-1</sup> , POD , SOD activities of *Platycladus orientalis* seedlings decreased in different water stress conditions. MDA content of *Platycladus orientalis* seedlings increased gradually under interactive stress , under lead less than 1000mg • kg<sup>-1</sup> , MDA content of *Platycladus orientalis* seedlings showed no obvious change in different water stress conditions , under lead more than 1000mg • kg<sup>-1</sup> , MDA content of *Platycladus orientalis* seedlings increased gradually under interactive stress. *Platycladus orientalis* showed stronger resistance in the interaction stress of drought and lead ( 500mg • kg<sup>-1</sup> lead stress and 60% water stress) .

**Key words:** drought; lead pollution; *Platycladus orientalis*; interaction stress; antioxidant enzyme activity