

# 蚕豆叶片 SOD 活性监测大气 SO<sub>2</sub> 污染的可行性研究\*

陈小勇 宋永昌

(华东师范大学环境科学系, 上海 200062)

**摘要** 本文从实验室熏气和野外大气暴露两方面对利用蚕豆叶片 SOD 活性评价和监测大气 SO<sub>2</sub> 污染的可行性进行了研究。低浓度 SO<sub>2</sub> (0.1312、0.2601 mg·m<sup>-3</sup>) 处理, 引起叶片 SOD 活性升高, 一定时间后, SOD 活性趋于稳定, 且 0.2601 mg·m<sup>-3</sup> SO<sub>2</sub> 处理时, SOD 活性较高, 表现出 SOD 活性增量与 SO<sub>2</sub> 浓度相关, 为利用 SOD 活性监测和评价 SO<sub>2</sub> 污染提供了可能性。大气暴露试验结果表明 SOD 活性与大气硫酸盐化速率存在极显著的相关性。利用 SOD 活性和大气硫酸盐化速率分别对大气 SO<sub>2</sub> 污染程度进行了评价; 结果基本一致, 并根据 SOD 活性估测了大气硫酸盐化速率, 符合程度较高, 置信分析表明估测结果可信。以上结果表明, 利用蚕豆叶片 SOD 活性监测和评价大气 SO<sub>2</sub> 污染是可行的。

**关键词** SO<sub>2</sub>; SOD; 生物监测; 蚕豆

二氧化硫是目前我国主要的大气污染物, 关于其对植物的危害已有较清楚的认识(刘荣坤等, 1991; Koziol, et al., 1984; Schulte-Hostede, et al., 1988)。我国虽然已建立了比较完善的 SO<sub>2</sub> 理化监测网络, 但是生物监测较少进行, 且其中多是利用植物叶片含硫量进行监测和评价的(陈春焕等, 1987; 颜丽英等, 1983), 而利用植物生理生化指标进行大气 SO<sub>2</sub> 污染的生物监测开展得很少(刘荣坤等, 1987, 1991)。实际上, 植物体内许多生理生化指标对 SO<sub>2</sub> 很敏感, 完全可能用于大气 SO<sub>2</sub> 的监测和评价中(Jager, 1982)。

超氧化物歧化酶(SOD)是植物体内重要的自由基清除酶, 低浓度 SO<sub>2</sub> 能诱导植物叶片 SOD 活性上升(Tanaka, et al., 1980), 且这种由 SO<sub>2</sub> 诱导的 SOD 活性升高与植物对 SO<sub>2</sub> 的敏感性有关(邹晓燕等, 1989), 并可能用于大气 SO<sub>2</sub> 污染的生物监测(Tanaka, et al., 1980), 因此, 对利用高等植物叶片 SOD 活性作为大气 SO<sub>2</sub> 污染生物监测指标的可行性值得研究(Tager, 1982)。为此, 本文以蚕豆为材料, 对利用 SOD 活性监测和评价大气 SO<sub>2</sub> 污染程度的可行性进行研究。

## 1 材料与方 法

### 1.1 植物材料

蚕豆(*Vicia faba*), 品种为“云南白皮”, 盆栽的花盆直径为 17cm, 高 12cm。以株高 40—45cm、长势一致的植株供试验用。一般管理条件。

### 1.2 SO<sub>2</sub> 熏气

本文于 1992 年 9 月收到, 1992 年 12 月收到修改稿。

\* 实验得到本系 92 届毕业生成海霞同学的协助, 谨此致谢!

采用动态熏气装置进行处理,SO<sub>2</sub>由液化SO<sub>2</sub>钢瓶经减压、计量、稀释后产生,熏气箱内SO<sub>2</sub>浓度采用四氯汞钾-盐酸副玫瑰苯胺法(环境监测分析方法编写组,1986)测定。熏气前1天将蚕豆移入熏气箱内适应,每次熏气前开机稳定1小时,熏气从8:00—16:00,每次处理8小时,连续处理10天,SO<sub>2</sub>浓度分别为0.2601、0.1312mg·m<sup>-3</sup>和对照(0.0165mg·m<sup>-3</sup>)。

### 1.3 大气暴露实验

选取8个具代表性的样点,采用植物计的形式进行大气暴露,每个样点上放置4株蚕豆,同时采用碱片法测定大气硫酸盐化速率以代表大气SO<sub>2</sub>污染程度。暴露21天后回收蚕豆植株,进行指标测试。

### 1.4 SOD的提取及活性测定

称取0.5g叶片,加入少量的磷酸缓冲液(0.05mol·l<sup>-1</sup>,pH 7.8),在冰浴上研成匀浆,8000xg离20分钟(4℃),上清液即为粗酶液。活性的测定参照(王爱国等,1987)的方法进行,利用SOD抑制氮蓝四唑(NBT)在光照下的还原作用,以抑制NBT光化还原50%为1个酶活性单位。

### 1.5 大气硫酸盐化速率的测定

参照《环境监测分析方法》编写组(1986)的方法采用碱片法进行。每个样点上悬挂5张碱片,共40片,21天后收回,回收率95%。硫酸盐含量采用比浊法测定。

## 2 实验结果

### 2.1 蚕豆植株不同部位叶片SOD活性

处在不同发育和衰老期的蚕豆叶片内SOD活性会发生变化,为确定取样部位,在具10个复叶的植株上,从上至下取第1,3,5,7和10叶位的叶片,分别测定了其中的SOD活性,结果见图1。

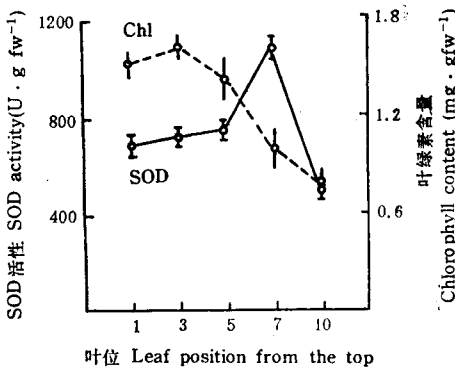


图1 蚕豆叶片内SOD活性

Fig.1 The SOD activity in leaves of broadbean

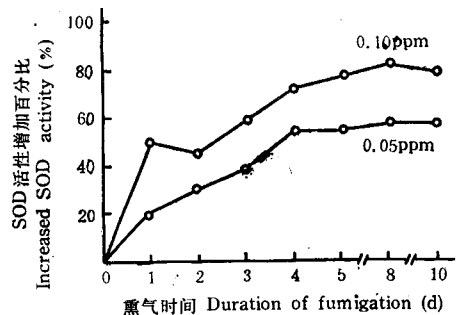


图2 SO<sub>2</sub>熏气对SOD活性的影响

Fig.2 Effects of SO<sub>2</sub> fumigation on SOD activity

从上至下,蚕豆叶片处在不同的发育和衰老期,以叶绿素含量作为衰老指标,叶位 5

以上的叶片叶绿素含量较高,以下叶片中含量降低较多。同时 SOD 活性也发生一些变化,叶位 5 及以上叶片中 SOD 活性变化比较小,叶位 7 叶片中 SOD 活性升高较多,而叶位 10 的叶片中 SOD 活性剧烈下降,表明在叶片的衰老过程中, SOD 活性变化较大。以上现象表明,测定 SOD 活性时,取样宜集中在上部叶片,并且应尽量取相同叶位的叶片。

## 2.2 SO<sub>2</sub>熏气对蚕豆叶片 SOD 活性的影响

不同浓度的 SO<sub>2</sub> 处理蚕豆,叶片中 SOD 活性的变化情况见图 2。0.1312 mg·m<sup>-3</sup>SO<sub>2</sub> 处理时,初始几天 SOD 活性上升,第 4 天起 SOD 活性趋于稳定,0.2601 mg·m<sup>-3</sup>SO<sub>2</sub> 处理时,也有类似现象,第 5 天后 SOD 活性的变化也比较小,但活性较 0.1312 mg·m<sup>-3</sup> 处理时要高。结果表明,低浓度 SO<sub>2</sub> 能引起 SOD 活性升高,与 Tanaka 等(1980)和邹晓燕等(1989)的结果一致。经过一定时间后,蚕豆叶片 SOD 活性的增量基本上不变,并且相对较高浓度 SO<sub>2</sub> 引起的 SOD 活性增量较大,这是植物对 SO<sub>2</sub> 的一种适应性反应。由于存在这种现象,为利用 SOD 活性评价和监测大气 SO<sub>2</sub> 污染提供了可能性。

## 2.3 利用蚕豆叶片 SOD 活性评价大气 SO<sub>2</sub> 污染状况

为了解这个方法在实际应用中是否可行,对蚕豆进行了大气暴露试验,根据测定结果,分别对各样点大气 SO<sub>2</sub> 污染状况进行了评价和预测。

评价方法参照刘荣坤等(1991)的方法进行,分别对 SOD 活性和大气硫酸盐化速率采用两种方法划分为 4 个等级,划分标准见表 1。

表 1 污染等级的划分标准  
Table 1 The criteria of pollution degree

划分方法 Division method	统计法 Statistical method		污染指数法 Pollution index method	
	硫酸盐化速率 RS	SOD 活性 SA	硫酸盐化速率 RS	SOD 活性 SA
I. 相对清洁 Relative cleanliness	<0.2508	<760.0	<1.50	<1.00
II. 一般污染 General pollution	0.2509—0.4226	760.1—987.8	1.51—2.00	1.01—1.30
III. 重污染 Serious pollution	0.4227—0.5944	987.9—1215.6	2.01—2.50	1.31—1.60
IV. 严重污染 Very serious pollution	>0.5944	>1215.6	>2.50	>1.60
划分条件 Division condition	硫酸盐化速率 RS(mgSO <sub>3</sub> ·100cm <sup>-2</sup> ·d <sup>-1</sup> ) $\bar{x}$ = 0.2508, $s$ = 0.1718 SOD 活性 SOD activity(U·gfw <sup>-1</sup> ) $\bar{x}$ = 760.0, $s$ = 227.7			

在相对洁净区测定了蚕豆叶片 SOD 活性,共 15 个样本,平均活性为 725.8U·gfw<sup>-1</sup>,标准差为 16.654U·gfw<sup>-1</sup>,认  $\mu = \bar{x} + t_{0.05} \cdot S = 760.0U \cdot gfw^{-1}$  作为蚕豆叶片 SOD 活性的本底值,经计算,相应的大气硫酸盐化速率为 0.2508mgSO<sub>3</sub>·100cm<sup>-2</sup>·d<sup>-1</sup>。

根据表 1 的划分标准,对上海市 8 个样点 11—12 月 SO<sub>2</sub> 污染状况进行了评价,结果见表 2。对两个指标分别采用统计法和污染指数法进行评价的结果基本上一致,说明两种评价方法都是可以采用的。SOD 活性的评价结果与碱片法的评价结果也很相符,并且 SOD 活性两种评价方法的结果更为一致,说明利用蚕豆叶片 SOD 活性评价大气 SO<sub>2</sub> 污染状况是可行的。

表2 二氧化硫污染评价结果  
Table 2 Assessment of sulfur dioxide pollution

样 点 Sample sites	硫酸盐化速率 RS ( $\text{mgSO}_3 \cdot 100\text{cm}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ )	SOD 活性 SA ( $\text{U} \cdot \text{gfw}^{-1}$ )	污染等级 Pollution degree			
			碱片法 By RS		SOD活性 By SA	
			$x \pm S$	IP	$x \pm S$	IP
1	0.6402	1331.40	IV	IV	IV	IV
2	0.4291	988.10	III	II	III	III
3	0.0835	647.82	I	I	I	I
4	0.3738	900.24	II	II	II	II
5	0.3283	722.12	II	I	I	I
6	0.3090	827.52	II	I	II	II
7	0.5076	1074.90	III	III	III	III
8	0.5489	1150.10	III	III	III	III

#### 2.4 利用 SOD 活性预测大气硫酸盐化速率

大气暴露试验后,对测得的 SOD 活性( $x$ )与大气硫酸盐化速率( $y$ )进行回归分析,得到如下线性回归方程:

$$y = -0.2816 + 0.0007x \quad r = 0.9511 \quad p < 0.01 \quad (1)$$

根据线性回归方程(1),我们可以利用 SOD 活性预测大气硫酸盐化速率,并与实测值进行比较,结果见表 3。

表3 利用 SOD 活性估测大气硫酸盐化速率  
Table 3 The rate of sulfatization in air estimated by SOD activity

样 点 Sample sites	大气硫酸盐化速率 ( $\text{mgSO}_3 \cdot 100\text{cm}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ ) Rate of sulfatization		绝对误差 $E$	相对误差 $RE$ (%)
	实 测 值 Detected value	SOD 预测值 By SOD activity		
1	0.6402	0.6722	0.0320	4.99
2	0.4291	0.4261	-0.0030	-0.70
3	0.0835	0.1821	0.0986	118.08
4	0.3738	0.3631	-0.0107	-2.86
5	0.3283	0.2354	-0.0920	-28.30
6	0.3090	0.3110	0.0020	0.60
7	0.5076	0.4883	-0.0193	-3.80
8	0.5489	0.5422	-0.0067	-1.22

从预测结果来看,除样点 3 外,其余各点的预测值与实测值之间误差较小。样点 3 是清洁对照点,大气硫酸盐化速率很低,并且 SOD 活性低于本底值,因此,造成了一些误差。总体来看,利用蚕豆叶片 SOD 活性预测大气硫酸盐化速率是可行的。

#### 2.5 利用 SOD 活性预测大气硫酸盐化速率的置信图

为了确定利用蚕豆叶片 SOD 活性预测大气硫酸盐化速率的置信程度,我们按统计法作了 95% 置信图(菲诗松等,1981)。

由回归方程(1)预测实际观察值应满足：

$$\hat{y}_0 - \delta < y_0 < \hat{y}_0 + \delta$$

$$\text{其中： } \delta = \sqrt{F_{\alpha}(1, N - 2) \cdot \sigma^2 \left[ 1 + \frac{1}{N} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{\sum (x_{\alpha} - \bar{x})^2} \right]}$$

根据上述条件，利用 SOD 活性预测大气硫酸盐化速率的 95% 置信区见图 3，图中 L、L' 分别是 95% 置信区的上、下限，图中直线的方程见式 (1)。图 3 表明，各样点均在 95% 置信区间内，说明利用蚕豆叶片 SOD 活性预测的大气硫酸盐化速率是可信的。

### 3 讨论

利用高等植物监测和评价 SO<sub>2</sub> 污染程度一直是生物监测的重要内容。由于许多地区 SO<sub>2</sub> 污染尚未达到使植物产生可见伤害的程度，但已经使植物生理过程发生了变化，造成不可见伤害，因此，有必要开展以植物生理生化指标监测和评价大气 SO<sub>2</sub> 污染程度的工作。

叶片含硫量增加是植物对大气 SO<sub>2</sub> 污染的特异性反应，虽然与大气 SO<sub>2</sub> 浓度之间存在一定的相关性，但是，由于营养条件的不同，常会发生大气 SO<sub>2</sub> 浓度高而叶片含硫量低的现象(张西萍等，1988)。K<sup>+</sup> 参加量与大气 SO<sub>2</sub> 浓度也有一定的相关性，但是制约因素较多，且因监测材料的种类、叶龄和叶片部位等而异(刘荣坤等，1991)。SOD 对 SO<sub>2</sub> 很敏感，低浓度 SO<sub>2</sub> 即能诱导蚕豆叶片内 SOD 活性升高(图 2)，大气暴露试验表明蚕豆叶片 SOD 活性与大气硫酸盐化速率存在显著的线性关系 (p < 0.01)，相关系数达 0.95。同时，在局部范围内利用 SOD 活性评价和监测大气 SO<sub>2</sub> 污染程度与实测值吻合较好，说明利用蚕豆叶片 SOD 活性监测和评价大气 SO<sub>2</sub> 污染程度是可行的，具有推广应用的可能性。

作为植物体内一种自由基清除酶，SOD 活性除受大气 SO<sub>2</sub> 的影响外，还与植物的营养、年龄、气象因素以及其它污染物质有关，因此，必须对植物材料和操作进行标准化和规范化。本文以蚕豆为材料，采用主动监测的方法进行大气 SO<sub>2</sub> 污染的监测和评价，各样点上蚕豆植株的营养、年龄等因子基本上一致，影响 SOD 活性来自于大气中的污染物质，克服了被动监测影响因子多的缺点，各样点之间的可比性较强，因而结果较理想，但进一步的标准化和规范化尚待完善。由于 SOD 活性与 SO<sub>2</sub> 污染的特异性不是很强，因此，此法最好是在以 SO<sub>2</sub> 污染为主的地区进行，如能结合理化监测手段，则将更全面、准确地对大气 SO<sub>2</sub> 污染状况进行综合评价。

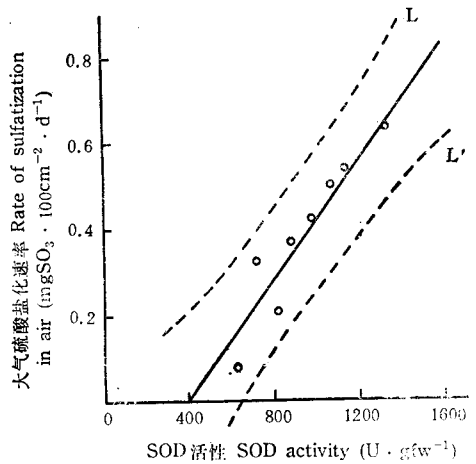


图 3 大气硫酸盐化速率估算值及 95% 置信域  
Fig.3 Estimated values of rate of sulfatization in air and its 95% confidence interval

## 参 考 文 献

- 王爱国等,1983: 大豆种子超氧化物歧化酶的研究,植物生理学报,9:77—84。
- 刘荣坤,1987: 植物叶K<sup>+</sup>渗出量变化规律及其在大气质量评价中的应用,植物生态学与地植物学学报,11:1—11。
- 刘荣坤、李珍珍,1991: 植物叶片K<sup>+</sup>渗出量的应用, I. 利用叶片K<sup>+</sup>渗出量和含硫量监测大气二氧化硫污染的比较研究,环境科学学报,11:336—342。
- 余叔文等,1981: 大气污染伤害植物症状图谱,上海科学技术出版社。
- 陈春焕、颜丽英,1987: 应用植物含硫量预测广州市大气中的二氧化硫浓度,环境污染与防治,9:10—14。
- 邹晓燕等,1989: 植物对二氧化硫的敏感性与其超氧化物歧化酶活性的关系,中国环境科学,9:427—432。
- 蒯诗松等,1981: 回归分析及其试验设计,华东师范大学出版社。
- 张西萍等,1988: 监测大气二氧化硫树种的筛选及其应用,中国环境科学,8:17—22。
- 环境监测分析方法编写组,1986: 环境监测分析方法,中国环境科学出版社。
- 颜丽英、朱天乳,1983: 利用植物评价广州市大气二氧化硫的污染,植物生态学与地植物学丛刊,7:265—272。
- Jager, H.-J., 1982: Biochemical indication of an effect of air pollution on plants. in L. Steubing & H.-J. Jager (eds), Monitoring of air pollutants by plants. pp99—107. Dr W. Junk Publishers, The Hague.
- Koziol, M. J. & F. R. Whatley, 1984: Gaseous pollutants and plant metabolism. Butterworths, London.
- Schulte-Hostede, S., N. M. Darrall, L. W. Blank & A. R. Wellburn, 1988: Air pollution and plant metabolism. Elsevier Applied Science, London.
- Tanaka, K. & K. Sugahara, 1980: Role of superoxide dismutase in defense against SO<sub>2</sub> toxicity and an increase in superoxide dismutase activity with SO<sub>2</sub> fumigation. Plant & Cell Physiol. 21: 601—611.

## STUDIES ON THE FEASIBILITY OF SOD ACTIVITY AS BIOINDICATORS OF SO<sub>2</sub> POLLUTION

Chen Xiao-yong      Song Yong-chang

(Department of Environmental Sciences, East China Normal University, Shanghai 200062)

### Abstract

Fumigation and ambient exposing experiments were conducted to evaluate the feasibility of using SOD activity in the leaves of broadbean (*Vicia faba*) as bioindicators of SO<sub>2</sub> pollution. Fumigation experiments were conducted in dynamic fumigation systems with SO<sub>2</sub> concentrations of 0.1312 and 0.2601 mg·m<sup>-3</sup>, respectively. The SO<sub>2</sub> fumigated leaves had higher SOD activities than the control, and higher concentration (0.2601 mg·m<sup>-3</sup>) of SO<sub>2</sub> caused greater increase in SOD activity than lower concentration (0.1312 mg·m<sup>-3</sup>). The SOD activity in SO<sub>2</sub> fumigated leaves increased gradually at the beginning and reached a relatively stable stage after several days of treatment.

Ambient exposing experiments were conducted with the form of plant-meter in 8 sites for 21 days. The SOD activity correlated significantly with the rate of sulfatization (RS) in the air at the level of  $p < 0.01$ . The degrees of SO<sub>2</sub> pollution at sample sites were evaluated with SOD activity and RS respectively. RSs were also estimated by SOD activity, and then compared with the actually detected values. The 95% confidence interval was also made. All of our results suggest that it is feasible to use SOD activity in the broadbean leaves as bioindicators for SO<sub>2</sub> pollution.

**Key words** Sulfur dioxide; Superoxide dismutase; bioindicators; *Vicia faba*