

## 锌对水花生生长及活性氧代谢的影响

黄永杰<sup>1,2</sup>, 杨集辉<sup>1</sup>, 杨红飞<sup>3</sup>, 王友保<sup>1</sup>, 周守标<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>安徽师范大学生命科学学院, 安徽芜湖 241000;

<sup>2</sup>生物环境与生态安全安徽省高校重点实验室, 安徽芜湖 241000; <sup>3</sup>安徽中医药专科学校, 安徽芜湖 241001)

**摘要:**采用Hoagland营养液加不同浓度梯度的锌培养水花生植株,研究了锌对水生花的生长特性和部分生理指标的影响。研究表明,低浓度锌(10 mg/L),水花生植株外伤症状为轻度伤害;当锌浓度<50 mg/L时,植物细胞内的SOD、POD、CAT酶活性均有所升高。而随着锌浓度增加,可造成植株生长缓慢、生物量下降;叶片色素下降;水花生体内活性氧清除系统中SOD、POD、CAT三种酶平衡被破坏,不能有效阻止O<sub>2</sub><sup>-</sup>和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的积累,细胞膜透性增大、MDA含量高度积累,从而影响植物的正常生长代谢,使之出现毒害症状。

**关键词:**水花生;生理生态指标;生长特性;锌

**中图分类号:**S555+.2;Q945.79 **文献标识码:**A

### Effects of Zn on the Growth and Scavenging System of Activated Oxygen of *Alternanthera philoxeroides*

Huang Yongjie<sup>1,2</sup>, Yang Jihui<sup>1</sup>, Yang Hongfei<sup>3</sup>, Wang Youbao<sup>1</sup>, Zhou Shoubiao<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>College of Life Sciences, Anhui Normal University, Wuhu Anhui 241000;

<sup>2</sup>Provincial Key Laboratory of Biotic Environment and Ecological Safety in Anhui, Wuhu Anhui 241000;

<sup>3</sup>Anhui College of Chinese Traditional Medicine, Wuhu Anhui 241001)

**Abstract:** The physiological and biochemical indexes of *Alternanthera philoxeroides* were investigated with different contents of Zn in Hoagland cultivation. When the pollution caused by Zn at the low concentration of Zn (10 mg/L), the plant external injury of *Alternanthera philoxeroides* was not significant. At the concentrations of Zn (<50 mg/L), the protection enzyme in cells such as SOD, POD and CAT increased. But with the Zn level increasing, the plants grew slowly, the biomass decreased, and the chlorophylls level decreased. Meanwhile the balance of these kinds of enzymes was destroyed in the active oxygen scavenging system. The accumulation of O<sub>2</sub><sup>-</sup> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> cannot be prevented effectively, the cell membrane permeability increased, the MDA content accumulated highly. Thus the growth of plant was affected, and toxic symptoms appeared.

**Key words:** *Alternanthera philoxeroides*, eco-physiological, growth characteristics, zinc

当今由于矿产开采与冶金业的迅猛发展,工业三废的大量排放导致主产区及其周边地区土壤、水域中重金属含量严重超标<sup>[1]</sup>。其中锌污染物在生态系统中造成的危害也很大,锌虽为人和动物机体必需微量元素,但同时又是一种重金属,过量摄入锌会影响动物和

人类的生殖、生长和发育。

水花生(*Alternanthera philoxeroides*)是一种野生杂草,又名空心莲子草、喜旱莲子草、革命草,具有一般野生杂草的特点,比如繁殖能力强、生物量大、抗逆性强、根系发达等。目前认为其是一种恶性杂草,在防除方

**基金项目:**安徽省重要生物资源保护与利用重点实验室基金和安徽师范大学青年教师科学基金(160-720772)资助。

**第一作者简介:**黄永杰,男,1971年出生,安徽省芜湖人,在读博士生,讲师。主要从事环境污染生态学和植物生态生理学研究;发表论文8篇。通信地址:241000 安徽省芜湖市 安徽师范大学生命科学学院, Tel: 0553-3869297, E-mail: yongjiehuang0108@163.com。

**通讯作者:**周守标,男,1963年出生,安徽省和县人,博士,教授,博士生导师。从事植物生理生态学研究;发表论文140余篇,专著5部。通信地址:241000 安徽省芜湖市 安徽师范大学生命科学学院, Tel: 0553-3869297, E-mail: zhoushoubiao@vip.163.com。

**收稿日期:**2008-11-20, **修回日期:**2008-12-26。

面有很多研究<sup>[2-3]</sup>,但对其它方面研究较少。有学者认为利用外来杂草具有较强的入侵裸地并迅速形成植被覆盖的特点,对保持水土有重要意义<sup>[4]</sup>;有报道了铬对空心莲子草的生理生化指标的影响<sup>[5-6]</sup>;研究发现空心莲子草对锌的富集效果较好<sup>[7]</sup>,而锌对它的生理生化指标的影响研究在国内尚未见报道。大量研究表明,重金属胁迫对植物的生理和结构都会造成严重影响。笔者选取了对锌有较强耐性且根系发达的水花生为实验材料,对其生理生化指标进行了研究,以期了解锌对水花生的毒害机制,为进一步探讨杂草在保持矿业废弃地水土流失中的作用以及杂草作为重金属修复植物提供科学基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料与设计

1.1.1 供试植物 水花生采于安徽师范大学校园内,在同一繁殖系内选取植株高度、生物量大致相同的水花生,用自来水将其根部冲洗干净后置于大塑料盆中,用自来水预培养3天后,取长势良好的水花生,将其距枝端6~7 cm且节处含有较发达须根的茎叶处截断。

1.1.2 实验设计 实验以Hoagland营养液为稀释液,配成10、50、100、200 mg/L(以纯Zn计)的硫酸锌溶液。将截根后的供试植物用蒸馏水各洗数次,直至蒸馏水中检测不出锌离子后,以不同浓度锌溶液处理,每处理6~8株,每3天更换处理液,25℃/18℃,16 h/8 h下光照培养,光照强度9000 lx,14天后取样分析。实验设计3个重复。

### 1.2 测试指标及方法

1.2.1 植株外伤症状 用目测估计,将植株的外伤症状分为4级:正常生长(无伤害),目测不到伤害症状;轻度伤害,近中心部位失绿;中度伤害,中心部位及外围不同程度失绿;重度伤害,植株矮小,叶片失绿<sup>[8]</sup>。

1.2.2 叶片色素含量的测定 取鲜叶0.25 g,采用分光光度法<sup>[9]</sup>,用80%丙酮研磨提取后,于663、645 nm处测

定鲜重的吸光度,计算叶绿素a、叶绿素b含量(mg/g)。

1.2.3 植株生长状况的测定 测定最长根长、平均根长、平均根数、植株高度及茎叶、根干重和鲜重生物量。

1.2.4 茎叶细胞膜透性的测定 称取茎叶鲜重0.2 g,剪成1 cm长小段,加入装有20 ml双蒸水的三角瓶中,于电动振荡机上以400次/min的速度振荡1 h,过滤后用DDS-12型电导仪测电导率。

1.2.5 MDA水平的测定 称取茎叶鲜重0.2 g,采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定( $\mu\text{mol/g}$ )<sup>[10]</sup>。

1.2.6  $\text{O}_2$ 的产生速率 根据测得的 $\text{OD}_{530}$ ,查 $\text{NO}_2^-$ 标准曲线,将 $\text{OD}_{530}$ 换算成 $[\text{NO}_2^-]$ ,将 $[\text{NO}_2^-] \times 2$ 则得 $[\text{O}_2]$ ,再根据样品与盐酸羟胺反应的时间(min)以及样品中的蛋白质含量,则可求得 $\text{O}_2$ 的产生速率: $\text{O}_2$ ( $\mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{g})$ )<sup>[7]</sup>。

1.2.7 SOD活性的测定 称取茎叶鲜重0.2 g,利用其对氮蓝四唑(NBT)的光抑制作用,酶液在12000 r/min冷冻离心20 min,于560 nm处测定光密度 $\Delta\text{OD}_{560}$ ,进而算出SOD活性( $\text{U}/\text{g} \cdot \text{min}$ )<sup>[10]</sup>。

1.2.8 POD活性的测定 称取茎叶鲜重0.2 g,采用分光光度法,以每分钟光密度的变化值,即 $\Delta\text{OD}_{470}/(\text{min} \cdot \text{g})$ 表示酶活性单位<sup>[10]</sup>。

1.2.9 CAT活性的测定 称取茎叶鲜重0.2 g,采用过氧化氢分解量法测定(以滴定 $\text{KMnO}_4$ 毫升数计)<sup>[11]</sup>。

### 1.3 数据处理

采用SPSS 11.0 统计分析软件进行数据分析及差异显著性检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 锌处理对植株生长状况的影响

笔者研究表明,锌对水花生的形态结构的影响与培养基中锌的含量有关(表1)。水花生水培14天观测出对照组长势正常,低浓度锌(10 mg/L)对水花生植株生长造成轻度伤害,须根根尖发黑,随着锌处理浓度的升高,植株的外伤症状明显表现出来,须根表现为由根尖发黑到整个须根发黑甚至须根腐烂。

表1 不同锌处理对水花生生长的影响

项目	Zn 浓度/(mg/L)				
	0 (CK)	10	50	100	200
	正常生长	轻度伤害	轻度伤害	中度伤害	重度伤害
茎叶长/cm	26.3	24.6	22.8	16.5	12.1
茎叶鲜重/g	2.278	1.665	1.098	0.906	0.624
茎叶干重/g	0.526	0.386	0.254	0.210	0.143
平均根长/cm	3.6	1.4	0.6	0.15	0.1
根数	21	13	14	10	4
根鲜重/g	0.012	0.013	0.006	0.002	/
根干重/g	0.003	0.003	0.001	0.001	/

水花生的茎叶长、茎叶鲜重与干重,平均根长、根数、根鲜重与干重均随锌处理浓度增加而减少(表1),它们受锌毒害的影响与其植株外伤症状、叶绿素含量变化基本一致。随锌处理浓度的增加植株生物量含量持续降低( $R=-0.865^*$ ,  $^*:P<0.05$ ;  $^{**}:P<0.01$ ,下同)。

## 2.2 锌对叶片叶绿素含量的影响

叶绿素含量是反映植物叶片光合作用的重要生理指标,叶绿素含量高低在一定程度上反映了光合作用的水平,叶绿素含量低,光合作用弱,会导致植物鲜重

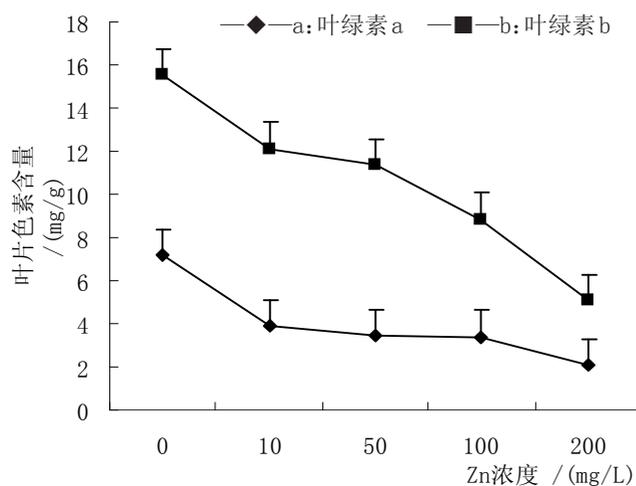


图1 锌处理对水花生叶片色素含量的影响

降低。试验研究可见,不同浓度的锌对水花生的叶绿素含量影响明显,随锌处理浓度的增加叶绿素含量持续降低(图1)。可能是锌被吸收进入植株细胞后不断积累,从而导致叶绿体的结构和功能受影响,降低光合速率。当锌浓度达到200 mg/L时,叶绿素a和叶绿素b分别是对照组的28.5%、32.8% ( $R=-0.762^*$ 、 $-0.960^{**}$ )。水花生叶片色素对锌毒害的敏感程度表现为:叶绿素a>叶绿素b。

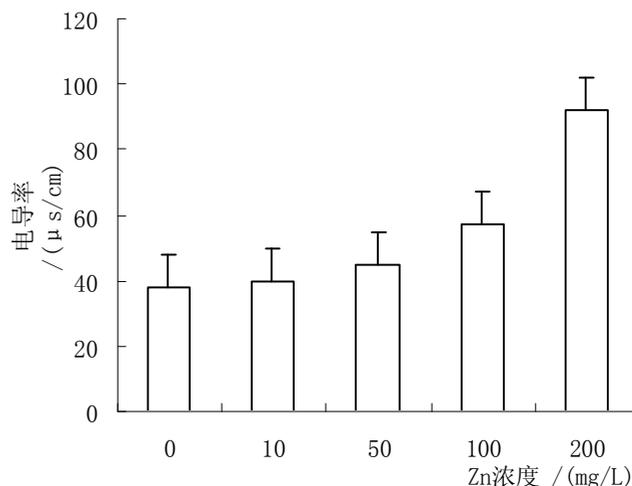


图2 锌对水花生茎叶电导率的影响

## 2.3 锌对茎叶细胞膜透性的影响

细胞膜是选择透过性膜,它能调节和控制细胞内外物质的运输和交换,其透性是评定植物对污染物反应的指标之一。研究可知,水花生茎叶外渗液电导率随锌处理浓度增加而增加(图2),其相关系数R为0.985\*\*,为显著正相关性。当植株体受到毒害时,在结构上表现为细胞膜结构发生了严重破坏,这可能是因为锌进入植株后,锌与细胞膜蛋白的-SH或磷酸分子层的磷酸脂类物质反应,造成膜蛋白的磷脂结构变化,致使细胞膜结构改变,膜系统遭受破坏,透性增大,使细胞内一些可溶性物质外渗,从而电导率增大<sup>[12]</sup>。

## 2.4 锌对MDA水平的影响

MDA(丙二醛)是生物膜系统脂质过氧化物的产物之一,是一种重要的逆境生理指标其含量反映着细胞活性氧引起膜脂过氧化,导致植物细胞伤害的程度<sup>[13]</sup>。其形成速率一定程度的反映机体内清除自由基能力的大小和活性氧代谢的水平。试验结果表明,在不同锌处理浓度下,水花生体内MDA含量表现为:随着锌处理浓度的增加,植株体内的MDA含量呈现增加趋势(图3),即随着锌处理浓度的升高,水花生

清除自由基能力和活性氧代谢水平降低,两者呈显著的正相关性,其相关系数为 $R=0.468^*$ 。

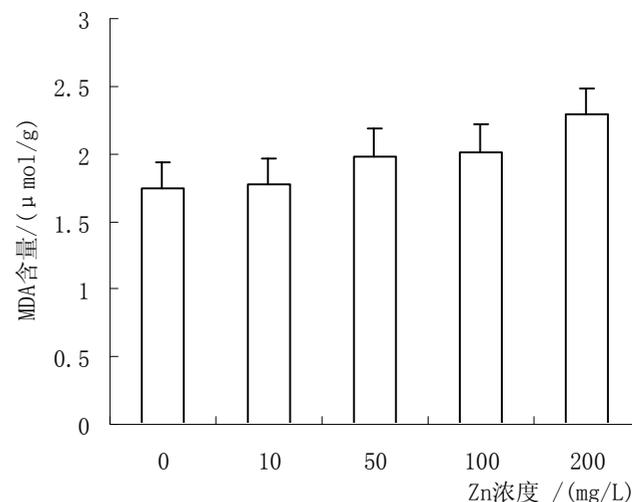


图3 锌处理对水花生MDA水平的影响

## 2.5 锌对O<sub>2</sub>产生速率的影响

活性氧是生物正常代谢中的产物,在植物的生长过程中活性氧的产生和清除处于低水平平衡状态时,不会对植物造成伤害。但是在逆境胁迫下,活性氧代

谢系统的平衡会受到影响,植物体内的活性氧大量生成。活性氧的升高能启动膜脂过氧化或膜脂脱脂作用,从而破坏膜结构<sup>[14]</sup>。试验处理发现,水花生茎叶 $O_2$ 产生速率随锌处理浓度增加而递增(图4),呈极显著正相关性,相关系数 $R$ 分别为0.994\*\*。实验结果表明: $O_2$ 产生速率随锌浓度增加而递增的现象与MDA含量随锌浓度的增加而积累基本是一致的。也说明MDA是脂质过氧化的产物,其形成速率一定程度的反映机体内清除自由基能力的大小和活性氧代谢水平。

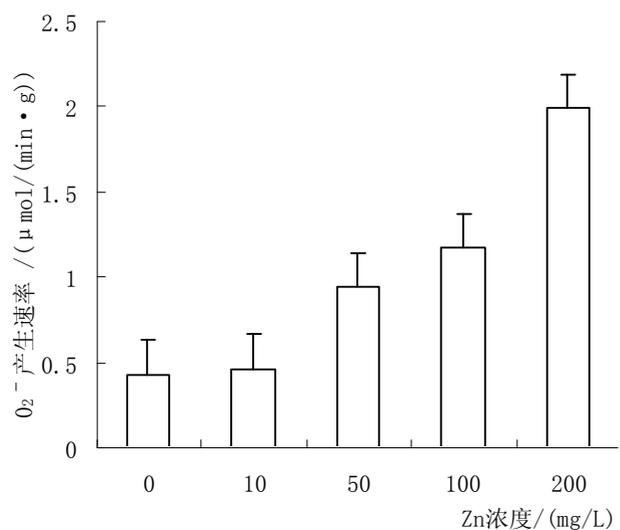


图4 锌处理对水花生茎叶 $O_2$ 产生速率的影响

由图5可见,POD、SOD、CAT的活性在锌低处理浓度时出现一定程度的升高,这是生物体的保护性反应,能有效地清除毒害所产生的活性氧。但在锌高处理浓度毒害下,植株受害严重,超过了防御反应的限度,酶的结构或合成可能受到影响,在试验中证明存在此种酶的细胞器(叶绿体、线粒体等)的结构受到了破坏从而酶活性降低。试验中水花生经不同浓度重金属锌处理后,其体内活性氧系统遭到破坏,茎叶内SOD、POD、CAT活性随锌处理浓度的增高先增高再递减(图5),当锌浓度为10 mg/L时CAT的活性达到最高,锌浓度为50 mg/L时SOD、POD活性最高。但总体呈下降趋势,与对照组相比分别下降了9.52%、37.04%、22.54%,分别呈显著负相关性,相关系数 $R$ 分别为-0.422、-0.792\*、-0.772\*。这可能与酶自身的特性和对外界刺激的敏感性有关<sup>[5-7]</sup>。

### 3 讨论

低浓度锌(10 mg/L)污染造成水花生植株轻度伤害,随着锌浓度增加,可造成植株重度伤害,生物量下降,叶色素含量下降。笔者研究与许多研究结果相似,即微量的重金属污染对植物生长并无显著影响<sup>[8,19]</sup>。

### 2.6 锌对SOD、POD、CAT活性的影响

POD、SOD、CAT等是植物体内抗氧化酶系统中几种主要保护酶。POD、SOD、CAT共同组成植物体内一个有效的活性氧清除系统,三者协调一致的共同作用,能有效清除植物体内的自由基和过氧化物<sup>[15-17]</sup>。在一定范围内,SOD、POD和CAT共同作用能把 $O_2$ 和 $H_2O_2$ 转化成 $H_2O$ 和 $O_2$ ,并起到减少具毒性和高活性的-OH的形成,从而有效阻止 $O_2$ 和 $H_2O_2$ 的积累,限制这些自由基对膜脂过氧化的启动<sup>[18]</sup>。

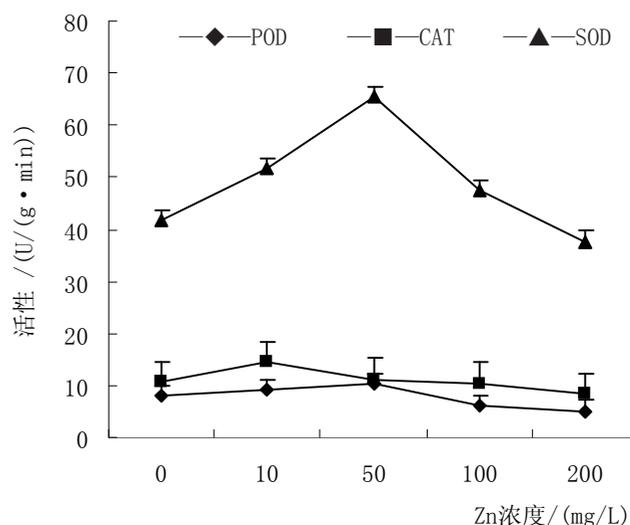


图5 Zn处理对水花生SOD、POD、CAT活性的影响

这和受重金属元素影响植株根尖细胞有丝分裂,造成细胞分裂速度减慢,以致生物量减少的报道一致<sup>[20]</sup>。究其原因可能是因为溶液中锌毒害通过影响酶促生理活动,进而对植物的光合、呼吸代谢功能产生不良影响,从而使水花生生长不良。

活性氧对许多生物功能分子有破坏作用,包括引起膜的过氧化作用。SOD、POD、CAT共同组成了植物体内一个有效的活性氧清除酶系统,三者协调一致的共同作用,能有效清除植物体内的自由基和过氧化物。SOD是含金属辅基的酶,它催化 $O_2$ 形成 $H_2O_2$ ;POD和CAT是清除 $H_2O_2$ 的重要保护酶,能将 $H_2O_2$ 分解为 $O_2$ 和 $H_2O$ ,从而使机体免受 $H_2O_2$ 的毒害作用,这几种保护酶的活性与植物的抗逆性密切相关<sup>[21]</sup>。SOD活性变化与 $O_2$ 产生速率变化是对应的。当SOD活性升高时, $O_2$ 产生速率增高不明显;当SOD活性下降时, $O_2$ 产生速率显著增大。研究中,锌浓度为50 mg/L时,植物细胞内保护酶SOD、POD活性达到最高;当锌浓度为10 mg/L时,植物细胞内保护酶CAT的活性就达到最高,说明水花生植株CAT的活性对锌处理最为敏感。而随着锌浓度的增加,细胞内的保护酶

SOD、POD、CAT活性均降低且出现比例失调,使植物体内活性氧的产生和清除系统失衡,促进活性氧的产生,致使水花生生理代谢紊乱,细胞透性增大,导致细胞内酶及原代谢作用区域受到破坏,加速组织、细胞衰老,引起叶片色素含量下降,生长减缓,生物量下降。导致植株重度伤害,从而加速了植物的衰老和死亡。

随着锌污染浓度的升高,水花生的根部受到的伤害较茎叶部分尤为严重,符合排斥机制(Exclusion)<sup>[22-23]</sup>。对水花生体内活性氧清除系统破坏的同时,造成了MDA大量积累,细胞膜透性增大,致使细胞内酶及原代谢作用区域受到破坏,引起叶色素显著下降,生物量也明显降低,水花生茎叶电导率的明显升高也证实了这一点。

### 参考文献

- [1] 高翔云,汤志云,李建和,等.国内土壤环境污染现状与防治措施[J].江苏环境科技,2006,19:52-55.
- [2] 沈国军,徐正浩,俞谷松.空心莲子草的分布、危害与防除对策[J].植物保护,2005,31(3):14-18.
- [3] 王秀红,沈健英,陆贻通.上海地区空心莲子草的危害调查及其化学防除[J].上海交通大学学报:农业科学版,2005,23(2):176-180.
- [4] 强胜,曹学章.外来杂草在我国的危害性及其管理对策[J].生物多样性,2001,9,188-195.
- [5] 周红卫,施国新,徐勤松,等. $\text{Cr}^{6+}$ 和 $\text{Cr}^{3+}$ 对水花生几种生理生化指标的影响比较[J].农村生态环境,2002,18(4):35-40.
- [6] 周红卫,施国新,杜开和,等. $\text{Cd}^{2+}$ 污染对水花生生理生化及超微结构的影响[J].应用生态学报,2003,14(9):1581-1584.
- [7] 顾超,李蕾,何池全.喜旱莲子草及鸭趾草对重金属的富集实验研究[J].上海大学学报(自然科学版),2004,10,626-629.
- [8] 秦天才.镉铅单一和复合污染对小白菜抗坏血酸含量的影响[J].生态学杂志,1997,16(3):31-34.
- [9] 张志良.植物生理实验指导[M].北京:北京高等教育出版社,1990.
- [10] 陈建勋.植物生理实验指导[M].广州:华南理工大学出版社,2002.
- [11] 山东农学院.植物生理实验指导[M].济南:山东科学与技术出版社,1980.
- [12] 王友保,刘登义.Cu, As及其复合污染对小麦生理生态指标的影响[J].应用生态学报,2001,12(5):773-776.
- [13] 周瑞莲,赵哈林.高寒山区草本植物的保护酶系统及其在低温生长中的作用[J].西北植物学报,2002,22(3):566-573.
- [14] Godzik B. Heavy metals content in plants from zinc dumps and reference area[J]. Pol Rot Stu,1993,5: 113-132.
- [15] Chis B,et al. Superoxide dismutase and stress tolerance[J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1992,42(1):83-116.
- [16] 徐勤松,施国新,杜开和.镉胁迫对水车前叶片抗氧化酶系统和亚显微结构的影响[J].农村生态环境,2001,17(2):30-34.
- [17] 马成仓.Hg对油菜叶细胞膜的损伤及细胞的自身保护作用[J].应用生态学报,1998,9(3):323-326.
- [18] 严重玲,洪业汤,付舜珍,等.Cd,Pb胁迫对烟草叶片中活性氧清除系统的影响[J].生态学报,1997,17(5):488-492.
- [19] 崔玮,谢宗平,马嘉琦,等.镍锌离子对高羊茅幼苗生理特性的影响[J].农业环境科学学报,2004,23(6):1093-1096.
- [20] 陈桂珠.重金属对黄瓜籽苗发育影响的研究[J].植物学通报,1990,7(1):240-243.
- [21] 吴晓霞,高红明,张彪,等.低浓度 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 胁迫下星星草幼苗保护酶活性与活性氧之间的关系[J].草业学报,2004,13(6):87-91.
- [22] 刘杰,熊治廷,李天煜.两个不同来源的齿果酸模种群对铜吸收与抗性差异[J].农业环境科学学报,2003,22(3):271-273.
- [23] Baker A J M. Accumulators and excluders strategies in the response of plant s to heavy metals[J].Journal of Plant Nutrition, 1981,8: 643-645.