

SO₂ 衍生物对油菜毒性的研究

桑楠¹, 孟紫强², 王爱英¹

(1. 山西大学环境与资源学院, 山西 太原 030006; 2. 山西大学生命科学系, 山西 太原 030006)

摘要: 通过考察 SO₂ 衍生物—亚硫酸钠和亚硫酸氢钠 (二者分子比为 3 比 1) 作用前后油菜叶片叶绿素含量, 细胞膜脂质过氧化水平和细胞膜透性, 以及 SOD、POD 酶活性的变化, 研究了 SO₂ 衍生物对油菜的毒性。试验结果表明, SO₂ 衍生物会造成油菜叶片叶绿素含量的下降, 但不影响叶绿素 a/b 的比值; 另外, SO₂ 衍生物可增加油菜叶片细胞膜脂质过氧化产物丙二醛 (MDA) 的含量, 造成细胞膜透性增大; 结果还表明, 低浓度 SO₂ 衍生物 (0.5 和 1 mmol · L⁻¹) 对油菜叶片适应逆境胁迫的重要保护酶 SOD 和 POD 活性均没有显著影响, 随着浓度的增加 (5、10、20、50 和 100 mmol · L⁻¹), 叶片 SOD 酶的活性不可逆地下降, 表明其丧失了抗氧化损伤的能力; 但高浓度 SO₂ 衍生物对 POD 活性的影响却不相同: 当 SO₂ 衍生物的浓度在一定范围内 (5、10 和 20 mmol · L⁻¹) 时, 叶片的 POD 活性升高, 油菜自身表现出积极的保护作用, 浓度再增加 (50 和 100 mmol · L⁻¹) 则会使叶片的 POD 活性下降, 说明此时细胞的保护机制已不能发挥作用。

关键词: SO₂ 衍生物; 油菜; 叶片; 叶绿素; 丙二醛; 细胞膜透性; 保护酶

中图分类号: X503.231 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0267(2002)05-0410-03

Phyto – Toxicity of SO₂ Derivatives on Rape

SANG Nan¹, MENG Zi-qiang², WANG Ai – ying¹

(1. College of Environment and Resource, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 2. Department of Life Sciences, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: Effects of SO₂ derivatives on contents of chlorophyll, the membrane lipid peroxidation and its permeability, and the activity of SOD and POD in rape leaf were studied in order to probe into phyto – toxicity of SO₂ derivatives on rape. The results indicated that SO₂ derivatives could decrease the contents of chlorophyll, but did not affect the ratio of chlorophyll and chlorophyll. In addition, SO₂ derivatives could increase the contents of MDA in cell membrane of leaf and its permeability. The results also showed that the activities of SOD and POD were not affected by SO₂ derivatives at the concentrations of 0.5 and 1 mmol · L⁻¹, and with increase of concentration (5, 10, 20, 50 and 100 mmol · L⁻¹), the activity of SOD was decreased irreversibly. However, the effects of high concentration SO₂ derivatives on the activity of POD were different: when the concentrations were 5, 10 and 20 mmol · L⁻¹, the activity of POD was increased; while the concentrations were 50 and 100 mmol · L⁻¹, the activity of POD was decreased.

Keywords: SO₂ derivatives; rape; leaf; chlorophyll; MDA; membrane permeability; protective enzymes

二氧化硫 (SO₂) 被吸收进入生物体后, 首先转化成为它的代谢衍生物—亚硫酸钠和亚硫酸氢钠 (二者分子比为 3 比 1), 其对生物的危害主要是通过这衍生物对组织、细胞和生物大分子的作用而实现的^[1]。流行病学调查发现, SO₂ 污染可引起多种呼吸系统疾病, 甚至与肺癌的发生有关^[2]。动物研究表明, SO₂ 及其衍生物是细胞染色体断裂剂和基因毒性因子, 可造成哺乳动物细胞的遗传损伤^[1-5]。然而, 由于 SO₂ 是常见的全球性大气环境污染物质, 其对植物的危害问题, 已引起人们的高度重视。因此, 不少学者从不同角度以不同的生物测试系统研究了 SO₂ 对植物的毒性

作用^[6-7], 以期从各方面加以论证, 在学术界达到共识, 并使公众和有关部门正确理解 SO₂ 的危害性。但有关 SO₂ 对油菜毒性的研究尚未见报道。为此, 本文根据 SO₂ 衍生物—亚硫酸钠和亚硫酸氢钠在体液中中性条件下二者分子比为 3 比 1 的实际情况, 模拟 SO₂ 污染状态, 研究了其对油菜叶片叶绿素含量, 细胞膜脂质过氧化水平和细胞膜透性, 以及 SOD、POD 酶活性的影响, 旨在为探讨 SO₂ 对植物的毒性作用机制提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料处理

1.1.1 溶液配制

收稿日期: 2001-11-05

作者简介: 桑楠 (1973—), 女, 理学硕士, 山西大学环境与资源学院教师, 现在职攻读山西大学环境科学专业博士研究生。

SO₂ 衍生物采用亚硫酸钠和亚硫酸氢钠混合液(3: 1, mol/mol), 用双蒸水配制。

1. 1. 2 材料处理

装有 4 cm 厚石英沙的大搪瓷盘加蒸馏水至石英沙湿润, 将油菜种子用 0. 1% 的 HgCl₂ 消毒后播种于石英沙中, 重复 15 次, 置玻璃室中室温培养, 播后第 7 d 加入培养液^[8], 以后每星期更换培养液一次, 培养 50 d 后, 对照组用双蒸水喷洒和浇灌, SO₂ 处理组用亚硫酸钠-亚硫酸氢钠混合液(3: 1, mol/mol)喷洒和浇灌, 各组浓度分别为 0. 5、1、5、10、20、50、100 mmol · L⁻¹, 每隔 12 h 进行一次, 5 d 后取叶片进行测定。

1. 2 测定方法

叶绿素含量的测定采用分光光度法^[8]; 丙二醛(MDA)的测定采用林植芳的方法^[9]; 细胞膜透性的测定用电导仪法^[10]; 超氧化物歧化酶活性(SOD)用氯化硝基四氮唑蓝光化还原法测定^[11]; 过氧化物酶活性(POD)的测定用愈创木酚法^[12]。

2 结果与讨论

2. 1 SO₂ 衍生物对油菜叶片叶绿素含量的影响

用 SO₂ 衍生物处理油菜 5 d 后, 测定对照组和不同浓度 SO₂ 处理组油菜叶片的叶绿素含量, 结果见表 1。由表 1 可见, 低浓度 SO₂ 衍生物(0. 5、1 和 5 mmol · L⁻¹)对叶片叶绿素含量影响不大, 随着 SO₂ 衍生物处理浓度的增加, 叶片的叶绿素含量下降, 浓度为 10 和 20 mmol · L⁻¹ 时, 叶片叶绿素含量与对照组有显著性差异 ($P < 0.05$); 浓度达到 50 和 100 mmol · L⁻¹ 时, 叶片叶绿素含量与对照组有极显著的差异 ($P < 0.01$)。叶绿素含量的下降与 SO₂ 衍生物对叶绿体结构破坏并阻碍叶绿素合成有关, 说明大气 SO₂ 污染能降低油菜的光能利用。由表 1 还可看出, SO₂ 衍生物处理前后, 叶片叶绿素 a/b 的比值没有显著性变化。

表 1 SO₂ 衍生物对油菜叶片叶绿素含量的影响
Table 1 Effect of SO₂ derivatives on the contents of chlorophyll in rape leaf

SO ₂ 衍生物浓度 /mmol · L ⁻¹	叶绿素含量/mg · g ⁻¹ · FW	
	总叶绿素	叶绿素 a/b
0	1. 589 ± 0. 01	3. 16
0. 5	1. 566 ± 0. 02	3. 19
1	1. 527 ± 0. 02	3. 25
5	1. 462 ± 0. 01	3. 57
10	1. 128 ± 0. 05*	3. 33
20	0. 531 ± 0. 01*	2. 83
50	0. 326 ± 0. 02**	3. 11
100	0. 125 ± 0. 01**	2. 91

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

2. 2 SO₂ 衍生物对油菜叶片细胞膜脂质过氧化水平(MDA 含量)及细胞膜透性的影响

从图 1、2 可以看出, 0. 5 mmol · L⁻¹ SO₂ 衍生物对油菜叶片细胞膜 MDA 含量及细胞膜透性的影响不大。当 SO₂ 衍生物浓度为 1 mmol · L⁻¹ 时, 与对照组相比, MDA 含量增加, 电导率升高, 且此效应随着 SO₂ 衍生物处理浓度的增加(1、5、10、20、50、100 mmol · L⁻¹)而加强, 呈现出明确的剂量-效应关系。经回归分析, 其回归方程分别为

$y = 5. 629 8x + 17. 129 (r = 0. 973 4)$ 和

$y = 0. 637 1x + 3. 0129 (r = 0. 972 5)$ 。

浓度为 10 mmol · L⁻¹ 时, MDA 含量增加 95. 55%, 电导率升高 44. 44%; 当浓度达到 100 mmol · L⁻¹ 时, MDA 含量增加 138. 46%, 电导率升高 99. 53%。这说明 0. 5 mmol · L⁻¹ SO₂ 衍生物对油菜叶片细胞膜几乎无损伤作用, 而当 SO₂ 衍生物浓度为 1、5、10、20、50 和 100 mmol · L⁻¹ 时, 可引起叶片细胞膜脂质过氧化水平升高和细胞膜透性增大。

植物细胞膜系统是植物细胞和外界环境进行物质交换和信息交流的界面和屏障, 其稳定性是细胞进行正常生理功能的基础。细胞膜透性是评定植物对污染物反应的方法之一, 细胞外渗液的电导率与污染物浓度呈正相关^[13]。细胞膜透性的增大是由膜损伤引起的, 而膜损伤是由细胞脂质过氧化作用造成的^[10]。研究表明, SO₂ 衍生物可增加油菜叶片细胞膜脂质过氧

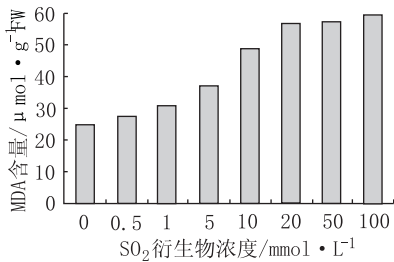


图 1 SO₂ 衍生物对油菜叶片细胞膜 MDA 含量的影响
Figure 1 Effect of SO₂ derivatives on contents of MDA of cell membrane in rape leaf

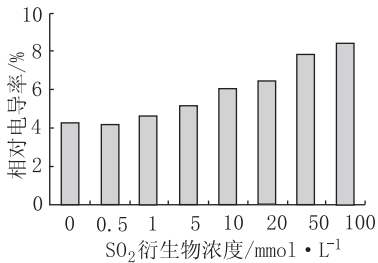


图 2 SO₂ 衍生物对油菜叶片细胞膜透性的影响
Figure 2 Effect of SO₂ derivatives on permeability of cell membrane in rape leaf

化产物 MDA 的含量,导致脂质过氧化水平升高,进而引起细胞膜损伤,造成细胞膜透性增大,这可能是 SO₂ 衍生物对油菜产生毒害作用的重要途径之一。

2.3 SO₂ 衍生物对油菜叶片 SOD 和 POD 活性的影响

从图 3 可以看出,0.5 和 1 mmol · L⁻¹ 的 SO₂ 衍生物对油菜叶片的 SOD 活性没有显著影响;当浓度为 5 mmol · L⁻¹ 时,可使叶片的 SOD 活性显著下降,且此效应随着 SO₂ 衍生物处理浓度的增加(5、10、20、50 和 100 mmol · L⁻¹)而加强,浓度达到 100 mmol · L⁻¹ 时,SOD 活性仅为对照的 16.44%。这说明低浓度 SO₂ 衍生物对油菜叶片的 SOD 活性没有显著影响,而高浓度 SO₂ 衍生物可造成叶片 SOD 活性不可逆的下降。SOD 是植物的抗氧化酶,其活性的降低标志着植物自身抗氧化能力的下降。由此可见,SO₂ 衍生物不仅可造成油菜叶片细胞膜的脂质过氧化损伤,还会对油菜叶片的抗氧化体系造成不可逆的破坏,使其丧失抗氧化损伤的能力。

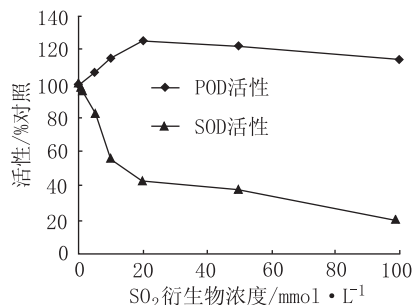


图 3 SO₂ 衍生物对油菜叶片 SOD 和 POD 活性的影响

Figure 3 Effect of SO₂ derivatives on activities of SOD and POD in rape leaf

从图 3 还可以看出,SO₂ 衍生物浓度为 0.5 和 1 mmol · L⁻¹ 时,对油菜叶片的 POD 活性没有显著影响;当浓度为 5、10 和 20 mmol · L⁻¹ 时,随着 SO₂ 衍生物浓度的增加,叶片的 POD 活性升高;浓度再增加时(50 和 100 mmol · L⁻¹),POD 活性则呈现出下降趋势。POD 是植物抵抗不良环境的保护酶,其活性的变化反应了植物细胞自身的保护机制能否发挥作用。我们的结果表明,SO₂ 衍生物浓度在一定范围内时(5、10 和 20 mmol · L⁻¹),叶片的 POD 活性升高,油菜自身表现出积极的保护作用,以减轻 SO₂ 衍生物的毒效应;但高浓度 SO₂ 衍生物(50 和 100 mmol · L⁻¹)会使叶片的 POD 活性下降,说明此时细胞的保护机制已不能发挥作用。

SOD 和 POD 均为植物适应逆境胁迫的重要保护酶^[14],但 SO₂ 衍生物对其活性的影响却不相同,这说明 SO₂ 衍生物对植物体内酶系统的影响是复杂的,其机理有待进一步研究。

3 结论

(1)低浓度 SO₂ 衍生物(0.5、1 和 5 mmol · L⁻¹)对油菜叶片叶绿素含量影响不大,随着 SO₂ 衍生物处理浓度的增加,叶片叶绿素含量下降,浓度为 10 mmol · L⁻¹ 以及更高时,叶片叶绿素含量与对照组有显著性差异。但是,SO₂ 衍生物处理前后,叶片叶绿素 a/b 的比值没有显著性变化。

(2)0.5 mmol · L⁻¹ SO₂ 衍生物对油菜叶片细胞膜 MDA 含量及细胞膜透性的影响不大,随着 SO₂ 衍生物处理浓度的增加,叶片细胞膜 MDA 含量增加,脂质过氧化水平升高,引起细胞膜结构损伤,使细胞膜透性增大。

(3)低浓度 SO₂ 衍生物(0.5 和 1 mmol · L⁻¹)对油菜叶片的 SOD 活性没有显著影响,而高浓度 SO₂ 衍生物会造成叶片 SOD 活性不可逆的下降。

(4)低浓度 SO₂ 衍生物(0.5 和 1 mmol · L⁻¹)对油菜叶片的 POD 活性没有显著影响,当 SO₂ 衍生物浓度在一定范围内时(5、10 和 20 mmol · L⁻¹),叶片的 POD 活性升高,浓度再增加(50 和 100 mmol · L⁻¹)则会造成叶片 POD 活性的下降。

参考文献:

- [1] Meng Z Q, Zhang L Z. Cytogenetic damage induced in human lymphocytes by sodium bisulfite[J]. *Mutat Res*, 1992, 298: 63 - 69.
- [2] 孟紫强,张连珍,等. 硫酸厂工人外周血淋巴细胞染色体畸变的研究[J]. *中国环境科学*, 1990, 10(5):360 - 363.
- [3] 孟紫强,桑 楠,等. 二氧化硫体内衍生物诱发中国仓鼠肺细胞微核的效应[J]. *环境与健康杂志*, 2001, 18(1):7 - 10.
- [4] 孟紫强,桑 楠,等. 二氧化硫体内衍生物诱发 CHL 细胞染色体畸变效应[J]. *中国环境科学*, 2000, 20(1):8 - 12.
- [5] Meng Z Q, Zhang B. Polymerase chain reaction - based deletion screening of bisulfite (sulfur dioxide) - enhanced gpt mutants in CHO - AS52 cells[J]. *Mutat Res*, 1999, 425: 81 - 85.
- [6] 仪慧兰,孟紫强. SO₂ 衍生物对大蒜根尖细胞遗传损伤作用的研究[J]. *环境科学学报*, 2001, 21(4):486 - 490.
- [7] 钱永常,余叔文. 二氧化硫对作物游离氨基酸浓度的作用[J]. *环境科学学报*, 1992, 12(3):325 - 332.
- [8] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,1987. 45, 154, 259, 260.
- [9] 林植芳,李双顺,等. 水稻叶片的衰老与超氧化物歧化酶活性及脂质过氧化作用的关系[J]. *植物学报*, 1984, 26(6):605 - 615.
- [10] 朱广廉,钟海文,等. 植物生理学实验[M]. 北京:北京大学出版社,1990. 245, 252.
- [11] Giannopolitis CN, et al. Superoxide dismutase II. Purification and quantitative relationship with water - soluble protein in seedlings[J]. *Plant Physiol*, 1977, 59: 315 - 318.
- [12] 波钦诺克. 植物生物化学分析方法[M]. 北京:科学出版社,1981.
- [13] 王焕校. 污染生态学基础[M]. 昆明:云南大学出版社,1985. 109.
- [14] Fridovich I. The biology of oxygen radicals. The superoxide radical is an agent of oxygen toxicity: superoxide dismutase provide an important defence[J]. *Science*, 1978, 201: 875 - 880.