

氯盐融雪剂对大叶黄杨植物形态与生理的影响

李周园¹, 周骏辉², 刘一¹, 梁英梅¹

(1. 北京林业大学 环境科学与工程学院, 北京 100083; 2. 北京林业大学 生物科学与技术学院, 北京 100083)

摘要:为对化学融雪剂给城市绿化环境所造成的影响提供科学证据并进行深入认识, 分析并解决与之相关的园林树木管理养护问题, 研究对北方绿化常用材料大叶黄杨分批施用氯盐融雪剂, 连续观察、记录其形态变化特征并进行比对分析。结果表明: 氯盐融雪剂在一定浓度和时间的胁迫下, 初期大叶黄杨叶片沿中脉退色, 优先发生在成熟叶片上, 后期逐渐使植物全株干枯、脱水, 具有致死效应。测定叶片组织中 SOD、CAT、MDA、游离脯氨酸含量等表明, 氯盐融雪剂破坏植物机体内活性氧系统稳定, 同时激发了植物的抗逆保护机制, 在持续暴露下会对植株造成不可逆损伤, 且生理指标变化与形态学特征变化发生时间基本一致。

关键词:大叶黄杨; 氯盐融雪剂; 活性氧; 生理指标; 形态特征

中图分类号:S 792.115 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)10-0063-04

化学融雪剂以其融雪高效、廉价等优点, 在我国大规模地应用于冬季道路除雪作业。融雪剂使用量呈逐年递增趋势, 对城市道路、土壤等环境影响日益严重^[1-2]。融雪剂给绿化材料带来的危害也日益受到重视^[3-7]。大叶黄杨(*Euonymus japonicus*)为卫矛属常绿阔叶灌木, 叶具革质, 极耐修剪, 多用于带状绿篱、列植球株等景观用材, 具有较强耐寒、抗旱性, 是中国北方城市道路景观绿化广泛使用的重要园艺材料^[8], 化学融雪剂对其栽培环境污染及致弱、致死伤害问题尤为突出^[4-5, 9-10]。氯盐融雪剂进入土壤环境后, 造成生理干旱、单离子毒害及重金属胁迫等以盐渍化为主的综合逆境条件^[7]。该研究以大叶黄杨为供试植物, 在苗圃环境中进行模拟污染过程, 通过连续观察记录与详述其形态学特征变化, 旨在与冻害、病虫害等其它毁植造成的症状相区分、补充科学证据, 为制定防范治理措施打下基础。同时, 通过对大叶黄杨生理生化指标的测定, 反映植物机体组织细胞对逆境的响应与变化过程, 深入掌握毁植发生过程及毒害发生机制, 为确定融雪剂限用剂量及成分等提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试植物为 2 a 生大叶黄杨, 由北林科技公司提供,

选择茎部木质化、株高一致的健康植株, 分组栽植在试验苗圃。氯盐融雪剂由北京某化工公司提供, 氯化钠含量 $\geq 95\%$, 产品按北京市地方标准^[11]执行。

1.2 试验方法

根据融雪剂在北方城市道路的实际使用情况^[2, 7], 并查阅有关研究报告、标准^[4, 9, 11-12], 结合具体试验条件, 综合确定试验分组及融雪剂施用剂量、批次等。将 24 株试验材料随机分为甲、乙组, 甲组为空白对照组(CK), 乙组为试验组, 每组设 12 株重复。将氯盐融雪剂用蒸馏水配制成浓度为 200 g/L 溶液, 对乙组植物在植株根部浇灌, 每次每株浇灌 0.25 L, 每隔 3 d 浇灌 1 次, 在整个试验周期内共浇灌 8 次; 甲组则浇灌等体积的蒸馏水作为对照。对甲(CK)、乙组同步完成植物生理指标的测定。在未施用融雪剂溶液之前采集 1 次叶片, 进行生理指标的分析测试; 此后依上述处理方式分批处理试验组和对照组, 每隔 7 d 采样并测定生理指标, 直到出现致死效应。同时在试验全程, 连续考察乙组试验前后的植物形态特征变化。采样时分别对甲、乙组全部试验材料全株上下随机选择叶片进行采集, 经混合分别装入已编号的甲、乙 2 个自封袋内密封, 放入冰盒内带回实验室。洗净叶片表面, 剪除中脉, 剪碎, 4℃以下冷藏保存。测试前, 用 pH 7.8 的磷酸缓冲溶液研磨成组织匀浆, 离心, 冷藏保存待用, 48 h 内完成生理指标测试。

1.3 形态与生理指标测试方法

供试植物形态学特征观察包括植株幼芽、叶片、枝条和其木质化茎。其中叶片形态包括叶柄、叶脉、叶缘等, 枝条及茎部形态包括表皮颜色、皮孔等, 并通过目视、触摸等方法判断其颜色、质地等反映形态健康水平的特征^[13]。当供试植株叶片 2/3 变黄, 枝条萎缩严重、

第一作者简介:李周园(1990-), 男, 在读本科, 研究方向为环境科学。E-mail: zhouyuan_li2009@gmail.com。

责任作者:梁英梅(1966-), 女, 博士, 副教授, 现主要从事微生物修复研究工作。E-mail: liangym812@126.com。

基金项目:北京林业大学大学生科研创新资助项目(101305)。

收稿日期:2011-03-11

木质化茎出现中空、脆化时,记录该个体死亡。根据氯盐融雪剂环境下植物逆境生理特点,选择植物活性氧(ROS)代谢系统中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和膜质过氧化产物丙二醛(MDA)^[14],以及游离脯氨酸(Proline)^[15]作为分析测试的植物生理指标。SOD活力采用黄嘌呤氧化酶法测定^[16]。单位:U/mg prot。其中,U被定义为1个SOD活力单位,即1mg组织蛋白在1mL反应液中SOD抑制率达50%时所对应SOD的量。CAT活力采用钼酸铵法测定^[17]。单位:U/mg prot。其中,U被定义为1个CAT活力单位,即1mg组织蛋白每秒分解1 μ mol的过氧化氢时所对应SOD的量。MDA含量采用硫代巴比妥氨酸法测定^[15]。单位:nmol/mg prot。游离脯氨酸采用磺基水杨酸法测定。单位: μ g/mL。植物组织蛋白含量采用考马斯亮蓝方法^[17]测定。单位:mg/mL。上述SOD、CAT活力、MDA和植物组织蛋白含量均使用南京建成试剂盒完成测试分析。

表 1

融雪剂对大叶黄杨个体致死效应

阶段	时间/d	整体评价	顶芽、叶片症状	枝条、茎症状
第1阶段	0~12	未出现形态上不良效应	顶芽光洁、长势好;成熟叶片颜色翠绿,光洁具革质层,叶片有弹性,叶柄与茎向上方向呈锐角	枝条形态饱满、皮孔清晰、颜色呈绿色、具革质;主干挺立饱满、有韧性
第2阶段	13~19	逐渐出现亚致死效应	顶芽长势弱;成熟叶片叶尖1/3及沿各路叶脉泛黄、叶片丧失弹性;叶表面革质变薄、叶柄基部向下呈萎蔫状	枝条形态出现萎蔫,颜色变暗;茎部出现萎蔫收缩症状,韧性差
第3阶段	20~30	逐渐出现致死效应	无顶芽;全株2/3及以上叶片完全枯黄、脱落	枝条严重萎蔫、完全干枯呈黄褐色;茎部完全干枯、中空

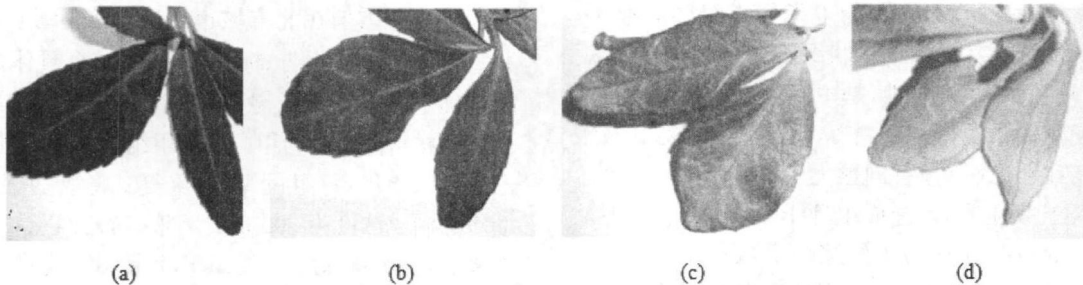


图 1 不同污染胁迫阶段植物叶片形态典型症状

注:(a)污染前;(b)污染初期;(c)出现个体亚致死效应;(d)出现个体致死效应。

2.2 融雪剂对活性氧系统及生理调节物质影响

2.2.1 超氧化物歧化酶(SOD)活力 由图2可知,未施融雪剂的甲组大叶黄杨,其SOD含量则稳定在232 U/mg prot及以下水平。在施用氯盐融雪剂7d后,乙组SOD含量明显上升,14d有所回落,此后逐步上升至893 U/mg prot。

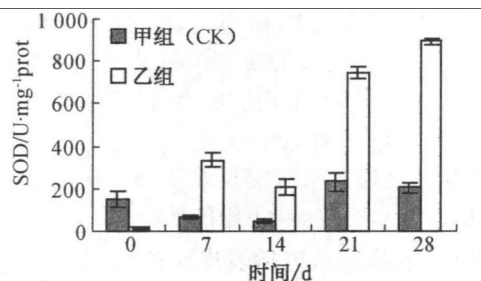


图 2 融雪剂污染下大叶黄杨 SOD 含量变化

1.4 数据处理

试验所得数据通过 SPSS 13.0 处理,结果在显著性水平为 0.05 下,进行统计学分析。

2 结果与分析

2.1 融雪剂对大叶黄杨形态建成影响

观察氯盐融雪剂处理栽培土壤环境后大叶黄杨的典型症状动态变化,归纳记录典型的形态动态变化过程及其污染物作用下其个体亚致死、致死全程(表1),并对形态变化典型症状拍照(图1)。从表1和图1可看出,在融雪剂的污染胁迫下大叶黄杨在处理13d之后开始出现叶泛黄变薄、枝条开始萎蔫等亚致死效应;处理20d后致死效应逐渐加重,最终无顶芽,全株2/3及以上叶片完全枯黄、脱落,枝条严重萎蔫、完全干枯呈黄褐色;茎部完全干枯、中空。而在观测期内,甲组12株空白对照植物长势良好,全株形态健康。

2.2.2 过氧化氢酶(CAT)活力 由图3可知,空白对照甲组CAT含量在11 U/mg prot上下小幅波动,以测定时间为因素进行方差分析检验,无显著差异($P>0.05$)。乙组CAT含量则在7d时翻倍上升,此后大幅下降,21d时又达到次高峰,各次测定结果之间呈显著差异($P<0.05$)。

2.2.3 丙二醛(MDA)含量 由图4可知,在连续施用氯盐融雪剂过程中,供试乙组MDA含量分3个阶梯式上升的阶段。7~14d后,乙组MDA水平上升至12 nmol/mg prot水平,此后继续上升,21~28d时达至65 nmol/mg prot水平。空白对照甲组MDA含量则5 nmol/mg prot水平上小幅涨落。

2.2.4 游离脯氨酸含量 由图5可知,甲组稳定在接近0.0 μ g/mL水平;经融雪剂处理后,乙组植株游离脯氨酸含量,随处理时间增加而持续增加,呈单调上升趋势。

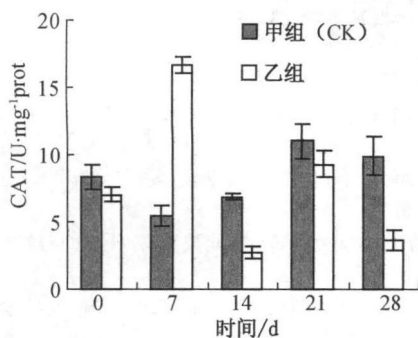


图3 融雪剂污染下大叶黄杨 CAT 含量变化

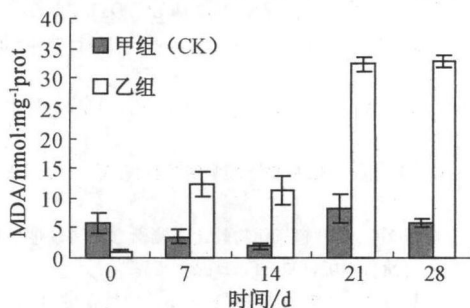


图4 融雪剂污染下大叶黄杨 MDA 含量变化

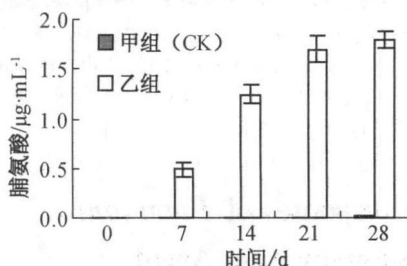


图5 融雪剂污染下大叶黄杨游离脯氨酸含量变化

势,远高于甲组含量。

2.3 不同生理指标间的相关性分析

对经融雪剂处理后的各项生理指标进行相关性分析,结果表明,在氯盐融雪剂毒害作用下,SOD与MDA含量呈极显著正相关(表2)。SOD和MDA含量均与游离脯氨酸含量呈显著正相关,在上述剂量下30d的试验观测周期内,二者与融雪剂积累剂量(以每次施用浓度与时间乘积计)呈显著正相关。游离脯氨酸与融雪剂积累剂量呈极显著正相关。CAT含量与各指标及融雪剂积累剂量均无显著相关性。

表2 分段分析植物生理指标
及融雪剂积累剂量的相关性

	CAT	SOD	MDA	脯氨酸
SOD	-0.224			
MDA	-0.288	0.987**		
脯氨酸	-0.551	0.865*	0.911*	
融雪剂积累剂量	-0.496	0.929*	0.939*	0.973**

注: *表示显著性水平为0.05; **表示显著性水平为0.01。

一方面,在胁迫条件下,植物细胞会产生并累积大量ROS,ROS会攻击生物分子,造成膜系统过氧化,蛋白

质、遗传物质及其它细胞结构与功能的损伤。另一方面,ROS在低浓度水平上,在植物代谢中也具有如通过诱导基因表达提高抗氧化酶活性等积极意义^[14]。ROS主要包括超氧阴离子(O_2^-)、羟基自由基($\cdot OH$)、过氧化氢(H_2O_2)等,其中 O_2^- 被认为是各类活性氧的初始来源^[18]。

SOD活力大小被用来反映供试植物清除ROS能力的高低。试验结果表明,氯盐融雪剂对大叶黄杨造成的胁迫使之启动了抗氧化系统,酶活水平大幅上升。CAT活力的测试结果则显示其呈早期升高,而中后期下降至中低水平。SOD与融雪剂积累剂量或持续时间成正比的结果说明,SOD活力与融雪剂给大叶黄杨植株造成胁迫程度的严重程度,在试验周期内,呈正相关。SOD和CAT都是抗氧化酶系统中一种重要的酶。SOD能有效地催化 O_2^- 的歧化反应,生成 H_2O_2 进而参与后续由CAT参与的催化转化反应,生成水和氧分子,减轻或消除ROS造成的植物膜系统过氧化,从而起到保护植物机体的作用^[14,18]。其中,CAT对胁迫很敏感,在污染发生早期即迅速失活,该种现象被认为对于 H_2O_2 作为信号分子需要增加一定浓度水平的一种适应^[18]。故判断CAT在试验处理条件下,在持续至第7天后,机体内CAT逐步已进入失活状态。

MDA是植物生物膜系统ROS过氧化作用的脂类分解产物,间接反映了胁迫作用下机体损伤的严重程度^[18]。MDA含量在乙组中大幅提高的结果说明,氯盐融雪剂确实破坏了ROS的代谢平衡,ROS超过一定负荷,发生了氧化胁迫^[14]。而MDA与SOD呈正比的相关性则说明,二者在ROS的代谢机制上存在必然联系;在试验周期内,大叶黄杨对ROS的清除能力与ROS造成的机体损伤程度变化基本同步。

游离脯氨酸是反映植物逆境生理变化的重要指标^[18],是植物细胞组织的渗透调节剂与保护剂,不仅可以降低细胞内水势作用,还能有效保护和稳定各种酶系,其本身亦属于非酶类抗氧化剂^[14],且由于脯氨酸在高浓度下也不会对细胞质产生毒害^[18],随融雪剂污染胁迫加重,故该物质在细胞内继续合成与积累,呈单调递增趋势。另外,污染发生早期,ROS在低浓度水平时,ROS可以参与细胞壁中富含羟基脯氨酸的糖蛋白交联过程,有利于提高机体抗性^[14]。

3 结论与讨论

氯盐融雪剂进入土壤环境后,给大叶黄杨造成了生理干旱、单离子毒害及重金属等生理胁迫,植物组织细胞中ROS的产生与清除平衡遭到破坏。ROS水平提高已造成膜质严重过氧化伤害,同时也诱导机体内SOD等抗氧化酶活性的同步提高。CAT活性在胁迫发生早期有显著提升,但中后期转入较低水平。游离脯氨酸含量在污染物毒害作用全程与其积累成正比。

上述生理指标变化同时植物整体生长发育也会受

融雪剂胁迫的危害,反映到形态建成上,典型症状主要是大叶黄杨的成熟叶片首先出现沿叶脉退色,表面革质及叶片弹性变化等,氯盐融雪剂对植物发生作用,是一个量变到质变的渐变过程,最终将产生致死效应。

在发生时间一致性上,融雪剂对植物形态方面的影响迟于植物生理生化情况,如 CAT 酶活性等指标。在该试验处理条件下,7 d 是判断 CAT 进入失活阶段的关键时间,在 12~13 d 前后,形态水平开始发生明显受害特征。

研究过程与结论为深入认识冬季融雪剂毁植发生机制与过程补充了定量证据,为详细确定施用剂量、融雪剂材料成分及配比、清除污雪时间等^[19] 保护防范措施、决策提供科学依据,从而减轻融雪剂污染对城市绿化材料的伤害,提高冬季城市绿化的养护管理水平^[20]。

参考文献

- [1] 严霞,李法云,刘桐武,等. 化学融雪剂对生态环境的影响[J]. 生态学杂志,2008,27(12):2209-2214.
- [2] 文静,郭妮,陈芥,等. 撒 3 万吨融雪剂超前两年总和[N]. 京华时报,2010-01-04(A04).
- [3] 吴丰,关畅,万清林. 融雪剂对植物的影响及对策[J]. 哈尔滨师范大学学报(自然科学版),2010,26(1):98-101.
- [4] 丛日晨,李芳,古润泽. 融雪剂对城市园林植物伤害机理的研究[J]. 中国园林,2005,12:60-64.
- [5] 吴际友,侯伯鑫,王旭军,等. 化冰盐对灾后长沙城市森林植物的危害[J]. 中国城市林业,2008,6(2):6-9.

- [6] 文静. 市政回应融雪剂毁绿报道[N]. 京华时报,2010-01-27(A12).
- [7] 代琳琳,赵晓明. 融雪剂的环境污染与控制对策[J]. 安全与环境工程,2004,11(4):29-31.
- [8] 熊佑清,李崇涛,刘晓辉. 大叶黄杨的抗寒性及其应用研究[J]. 中国园林,2004,20(4):36-38.
- [9] 聂亚芳. 融雪剂对城市绿化危害的调查与分析[J]. 河北林业科技,2010(2):27-29.
- [10] 张十月. 枯萎大叶黄杨将大规模更换[N]. 北京晨报,2010-05-08(A05).
- [11] DB11/T-161-2002,融雪剂[S]. 北京:北京市质量技术监督局,2002:1-4.
- [12] 余海英,孔亚平,张科利,等. 融雪剂在路域土壤中的累积、扩散及其对土壤性质的影响[J]. 水土保持学报,2009,23(6):182-185.
- [13] Gorsuch J W. Plants for Toxicity Assessment[M]. Philadelphia, PA: ASTM,1990:66-67.
- [14] 鲁振强. 植物活性氧解毒机理及其应用[M]. 哈尔滨:黑龙江大学出版社,2007.
- [15] 张以顺,黄霞,陈云凤. 植物生理学实验教程[M]. 北京:高等教育出版社,2009:120-131.
- [16] 邹国林,胡文玉. 几种超氧化物歧化酶测定方法灵敏度的研究[J]. 武汉大学学报:自然科学版,1997,43(2):233-237.
- [17] 张金凤. 盐胁迫下 8 个经济林树种苗木反应特性的研究[D]. 泰安:山东农业大学,2004:15-17.
- [18] 简令成,王红. 逆境植物细胞生物学[M]. 北京:科学出版社,2009.
- [19] 王萍. 今冬融雪剂首次限量投放[N]. 北京晨报,2010-10-28(A12).
- [20] 高飞,车少臣,王建红. 城市园林绿化次生灾害预警分析与危机管理体系的探讨——对 2009 年底和 2010 年初北京大雪冰冻天气的思考[J]. 北京园林,2010(1):50-53.

Studies on Morphological and Physiological Responses of *Euonymus japonicus* Stressed from the Chloride Snow-melting Agent

LI Zhou-yuan¹, ZHOU Jun-hui², LIU Yi¹, LIANG Ying-mei¹

(1. College of Environmental Science and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083; 2. College of Biological Science and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083)

Abstract: To recognize, analysis and to solve the problems that snow-melting agent pollution brought to urban greenery, the *Euonymus japonicus*, the important plant materials for the landscape construction in northern cities in China, were used in the research experiments, and tested under the chloride snow-melting agent. With the method of morphological observation and physiological indices measurement, including SOD, MDA, CAT and free L-proline, the descriptions and the effects for the plants were presented. The results of the morphological part demonstrated that in the early stage of the pollution stress, the agent led to the leaves of the shrubs fading in green along their medveins, occurring to the mature foliage at first; and the stress condition caused the plants to die gradually at length. As the results in the physiological part indicated, the balance of reactive oxygen species (ROS) system of the organism was broken in the contaminated environment, while the adversity resistance of it was aroused simultaneously. The durative exposure of the agent, however, would take the irreversible damage to the plants. At last, the study showed that the morphological and physiological changes, having responded to the stress condition from the snow-melting agent, were generally synchronous. The conclusions of the research made the fundamentals for further comprehension or investigations of the problem, and provided the scientific reference for the snow-melting agent treatment and protecting urban ecological environment.

Key words: *Euonymus japonicus*; chloride snow-melting agent; reactive oxygen species; physiological indices; morphological features