

## 氟胁迫下几种保护剂对佛手的生理效应

徐丽珊<sup>1\*</sup> 申秀英<sup>1</sup> 蒋德安<sup>2</sup> 甘耀平<sup>1</sup>

<sup>1</sup>浙江师范大学化学与生命科学学院, 浙江金华 321004; <sup>2</sup>浙江大学生命科学学院, 杭州 310029

**摘要** 氟污染的金华佛手喷洒不同浓度的  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 、维生素 C (VC)、 $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ 、 $\text{Sm}(\text{NO}_3)_3$ , 其中喷  $1.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 、 $0.25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  VC、 $0.05 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ 、 $0.05 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Sm}(\text{NO}_3)_3$  的氟污染佛手叶片的相对电导率和丙二醛(MDA)含量较低, 叶绿素含量和过氧化物酶(POD)活性较高。说明这些保护剂对氟污染的佛手有防护效应。

**关键词** 氟胁迫; 佛手; 防护剂; 生理效应

## Physiological Effects of Several Protective Agents on the Fingered Citron (*Citrus medica* var. *sarcodactylis* Swingle) under Fluoride Stress

XU Li-Shan<sup>1\*</sup>, SHEN Xiu-Ying<sup>1</sup>, JIANG De-An<sup>2</sup>, GAN Yao-Ping<sup>1</sup>

<sup>1</sup>College of Chemistry and Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua, Zhejiang 321004, China; <sup>2</sup>College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China

**Abstract** The fingered citron (*Citrus medica* var. *sarcodactylis* Swingle) plants were sprayed with  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ,  $0.25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  VC,  $0.05 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$  or  $0.05 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Sm}(\text{NO}_3)_3$  under fluoride stress, the relative electrolyte leakage and malondialdehyde (MDA) content were lower, chlorophyll content and peroxidase (POD) activity were higher. It indicated that these protective agents could alleviate injury of HF gas to Jinhua fingered citron.

**Key words** fluoride stress; fingered citron (*Citrus medica* var. *sarcodactylis* Swingle); protective agents; physiological effects

佛手(*Citrus medica* var. *sarcodactylis* Swingle)是浙江金华地区的重要经济特产, 但这个地区是氟污染区, 氟化物已严重影响佛手的种植产业, 因此研究氟污染佛手的防护十分重要。另有报道认为, 适量的稀土元素可增强植物对逆境的抵抗能力(胡勤海和叶兆杰 1996; Diatloff 等 1999; He 和 Loh 2000), 它们对金属元素和酸雨胁迫植物生长有防护效应(严重玲等 1998; 庞欣等 2002), 钙化合物和自由基清除剂对氟污染有一定的防护作用(勾晓华等 2000)。但迄今尚未见稀土元素对氟污染植物防护效应的研究, 为此, 本文在以前研究大气氟化物引起佛手各生理生化指标变化(徐丽珊和蒋德安 2004; 徐丽珊等 2004)的基础上探讨稀土元素铈(Ce)、钐(Sm)和防氟污染保护剂—— $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 以及抗氧化剂——维生素C (VC)对受氟污染佛手几种生理指标的影响。

### 材料与方 法

实验材料为盆栽二年生佛手(*Citrus medica* var.

*sarcodactylis* Swingle), 购自金华森禾种业有限公司。佛手长势一致, 无病虫害, 按常规进行栽培管理。

采用的 4 种保护剂以及它们的浓度为:  $0.1$ 、 $0.5$ 、 $1.0$ 、 $1.5$ 、 $2.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ,  $0.1$ 、 $0.25$ 、 $0.5$ 、 $1.0$ 、 $1.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的 VC,  $0.05$ 、 $0.1$ 、 $0.2$ 、 $0.5$ 、 $1.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ ,  $0.05$ 、 $0.1$ 、 $0.2$ 、 $0.5$ 、 $1.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $\text{Sm}(\text{NO}_3)_3$ 。熏气的前 1 d, 用小型喷雾器分别对每盆佛手的叶片背腹面均匀喷洒, 再以低浓度(约  $0.6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) HF 熏气 8 h 后测定叶片中积累的氟和叶绿素含量、电导率、丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量、过氧化物酶(peroxidase, POD)活性; 用等量自来水喷洒后再用同样浓度的 HF 同时熏气的为对照, 以仅用等量水喷洒而不熏气的为空白对照。每处理重复 3 次。

测定 HF 处理浓度时, 以 CD-1 大气采样仪采

收稿 2005-04-14 修定 2005-11-25

资助 浙江省自然科学基金(301467)。

✉-mail: xls@zjnu.cn, Tel: 0579-2282269

样, 用氟离子选择电极法测定氟浓度(申秀英等1991)。

测定叶片中氟含量时, 取自顶端起第6张完全展开的叶, 烘干, 粉碎, 称重后用氟离子选择电极法测定氟浓度(申秀英等1991)。

测定各项生理指标时, 取自顶端起第5张完全展开的叶, 用文献的方法(中国科学院上海植物生理研究所和上海市植物生理学会1999)测定电导率; 取自顶端起第3张完全展开的叶, 用硫代巴比妥酸(TBA)比色法测定MDA含量(中国科学院上海植物生理研究所和上海市植物生理学会1999); 取自顶端起第4张完全展开的叶, 参考文献的方法(张志良1990)测定POD活性; 取自顶端起第2张完全展开的叶, 参考Annon法测定叶绿素含量(中国科学院上海植物生理研究所和上海市植物生理学会1999)。

乙烯释放速率测定采用气相色谱法(刘新和张蜀秋2000)。取不同处理的自顶端起第3张完全展开的佛手叶片, 称重, 迅速放入分析瓶中加盖密封, 于25℃下暗处放置2h后, 用注射器抽取1mL气体注入GC-8810型气相色谱仪。以氢气(H<sub>2</sub>)为载气, 进样口温度为70℃, 气化室温度为110℃, FID检测器, 检测器温度为110℃, 4m×3mm GDX-301柱, 氢气:空气=1:1, 进样量纯样0.2μL、样品1mL。

上述所有指标测定都重复3次以上。实验结果采用*t*检验。

## 结果与讨论

### 1 不同浓度Ce(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>、Sm(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>对氟污染佛手几种生理生化指标的影响

从表1和表2可知:

表1 不同浓度Ce(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>对氟污染佛手几种生理生化指标的影响

Table 1 Effects of Ce(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> on several physiological and biochemical indexes of fingered citron under fluoride stress

Ce(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> 浓度/g·L <sup>-1</sup>	叶绿素a含量/ μg·g <sup>-1</sup> (FW)	叶绿素b含量/ μg·g <sup>-1</sup> (FW)	MDA含量/ nmol·g <sup>-1</sup> (FW)	POD活性/ U·g <sup>-1</sup> (FW)·min <sup>-1</sup>	相对电导率/%	氟含量/ mg·g <sup>-1</sup> (DW)
对照	386±31 <sup>A</sup>	137±9.6 <sup>a</sup>	13.3±0.36 <sup>a</sup>	24 640±1 647	0.22±0.02 <sup>a</sup>	0.48±0.04 <sup>a</sup>
空白对照	461±33	242±17.0	10.5±0.56	23 040±1 709	0.08±0.01	0.19±0.01
0.05	470±50	201±19.0 <sup>b</sup>	10.3±0.60 <sup>b</sup>	30 293±1 584 <sup>B</sup>	0.15±0.02 <sup>b</sup>	0.44±0.04
0.1	416±45	192±17.5 <sup>b</sup>	11.3±0.45 <sup>b</sup>	25 107±1 100	0.14±0.02 <sup>b</sup>	0.55±0.04
0.2	520±60 <sup>B</sup>	231±14.5 <sup>b</sup>	11.2±0.40 <sup>b</sup>	20 520±1 100 <sup>B</sup>	0.14±0.02 <sup>b</sup>	0.51±0.04
0.5	583±52 <sup>b</sup>	211±13.5 <sup>b</sup>	12.9±0.40	19 507±1 000 <sup>b</sup>	0.12±0.01 <sup>b</sup>	0.51±0.04
1.0	404±44	120±7.0	13.9±0.65	17 567±950 <sup>b</sup>	0.16±0.02 <sup>B</sup>	0.60±0.04 <sup>B</sup>

与空白对照相比, A: *P*<0.05, a: *P*<0.01; 与对照相比, B: *P*<0.05, b: *P*<0.01。

表2 不同浓度Sm(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>对氟污染佛手几种生理生化指标的影响

Table 2 Effects of Sm(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> on several physiological and biochemical indexes of fingered citron under fluoride stress

Sm(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> 浓度/g·L <sup>-1</sup>	叶绿素a含量/ μg·g <sup>-1</sup> (FW)	叶绿素b含量/ μg·g <sup>-1</sup> (FW)	MDA含量/ nmol·g <sup>-1</sup> (FW)	POD活性/ U·g <sup>-1</sup> (FW)·min <sup>-1</sup>	相对电导率/%	氟含量/ mg·g <sup>-1</sup> (DW)
对照	386±31 <sup>A</sup>	137±9.6 <sup>a</sup>	13.3±0.36 <sup>a</sup>	24 640±1 647	0.22±0.02 <sup>a</sup>	0.48±0.04 <sup>a</sup>
空白对照	461±33	242±17.0	10.5±0.56	23 040±1 709	0.08±0.01	0.19±0.01
0.05	486±58	214±19.5 <sup>b</sup>	11.2±0.40 <sup>b</sup>	31 807±1 752 <sup>b</sup>	0.13±0.01 <sup>b</sup>	0.50±0.05
0.1	536±54 <sup>B</sup>	190±17.0 <sup>b</sup>	11.5±0.45 <sup>b</sup>	25 140±1 350	0.10±0.01 <sup>b</sup>	0.30±0.05 <sup>B</sup>
0.2	431±42	174±16.0 <sup>B</sup>	12.2±0.50 <sup>B</sup>	27 573±1 601	0.14±0.01 <sup>b</sup>	0.58±0.06
0.5	284±29 <sup>B</sup>	126±14.0	13.0±0.50	25 057±1 450	0.15±0.02 <sup>b</sup>	0.37±0.04 <sup>B</sup>
1.0	320±30	121±14.0	13.7±0.60	18 148±850 <sup>b</sup>	0.16±0.02 <sup>B</sup>	0.37±0.04 <sup>B</sup>

与空白对照相比, A: *P*<0.05, a: *P*<0.01; 与对照相比, B: *P*<0.05, b: *P*<0.01。

(1) 对照的佛手叶片的相对电导率和MDA含量比空白对照的明显升高; 氟污染下喷洒不同浓度  $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ 、 $\text{Sm}(\text{NO}_3)_3$  后, 相对电导率明显下降, 以  $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$  及  $0.1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $\text{Sm}(\text{NO}_3)_3$  处理, 相对电导率最低;  $0.05\sim 0.2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$  和  $\text{Sm}(\text{NO}_3)_3$  处理时, 佛手叶中 MDA 含量也明显下降, 以  $0.05 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$  及  $0.05 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $\text{Sm}(\text{NO}_3)_3$  处理最低。

(2) 对照的佛手叶片的 POD 活性比空白对照的高; 喷洒  $0.05 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$  及  $0.05 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Sm}(\text{NO}_3)_3$  的佛手叶片的 POD 活性最高; 随着  $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ 、 $\text{Sm}(\text{NO}_3)_3$  浓度的增加, POD 活性又下降。

(3) 对照的佛手叶中叶绿素含量比空白对照的明显低; 喷洒不同浓度  $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$  及  $\text{Sm}(\text{NO}_3)_3$  的佛手叶中, 叶绿素含量有升高, 其中以喷洒  $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$  及  $0.1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $\text{Sm}(\text{NO}_3)_3$  的最高。

(4) Ce 促进氟污染佛手叶中氟积累, Sm 的影响无规律性, 浓度不同, 其影响也有差异。

## 2 $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ 、 $\text{Sm}(\text{NO}_3)_3$ 对佛手叶中乙烯释放速率的影响

由图 1 可知, 氟胁迫下, 喷施  $0.05$ 、 $0.1$ 、 $0.2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$  和  $\text{Sm}(\text{NO}_3)_3$  的佛手乙烯释放速率均比对照的明显下降。

## 3 不同浓度 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 和 VC 对氟污染佛手几种生理生化指标的影响

表 3 和表 4 显示:

(1) 对照的佛手叶片的相对电导率比空白对照的高; 喷洒低于  $1.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}(\text{OH})_2$  或低于  $1.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$

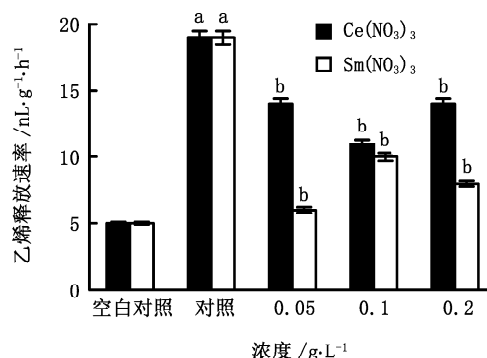


图 1 不同浓度  $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$  和  $\text{Sm}(\text{NO}_3)_3$  对佛手叶中乙烯释放速率的影响

Fig. 1 Effects of  $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$  and  $\text{Sm}(\text{NO}_3)_3$  on the ethylene production rate of fingered citron with blank control, a:  $P < 0.01$ ; 与对照相比, b:  $P < 0.01$ 。

VC 后, 相对电导率低于对照的; 喷洒  $2.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}(\text{OH})_2$  的佛手叶片的相对电导率又升高; 喷洒  $1.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}(\text{OH})_2$  及  $0.25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  VC 的佛手叶片的相对电导率最低。

(2) 对照的佛手叶片的 MDA 含量比空白对照的明显升高; 喷洒  $1.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}(\text{OH})_2$  及  $0.25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  VC 的佛手叶片的 MDA 含量最低; 随着  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  和 VC 浓度的增加, MDA 含量又回升。

(3) 对照的佛手叶中叶绿素含量比空白对照的明显低; 而喷洒不同浓度  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  的佛手叶中叶绿素含量有所升高, 喷洒  $2.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}(\text{OH})_2$  和  $0.25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  VC 的佛手叶中叶绿素含量最高, VC 浓度增加时叶绿素含量又下降。

表 3 不同浓度  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  对氟污染佛手几种生理生化指标的影响

Table 3 Effects of  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  on several physiological and biochemical indexes of fingered citron under fluoride stress

$\text{Ca}(\text{OH})_2$ 浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	叶绿素a含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)	叶绿素b含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)	MDA含量/ $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)	POD活性/ $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW) $\cdot\text{min}^{-1}$	相对电导率/%	氟含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)
对照	$386\pm 31^A$	$137\pm 9.6^a$	$13.3\pm 0.36^a$	$24\ 640\pm 1\ 647$	$0.22\pm 0.02^a$	$0.48\pm 0.04^a$
空白对照	$461\pm 33$	$242\pm 17.0$	$10.5\pm 0.56$	$23\ 040\pm 1\ 709$	$0.08\pm 0.01$	$0.19\pm 0.01$
0.1	$455\pm 42$	$175\pm 14.5^B$	$12.7\pm 0.75$	$22\ 080\pm 1\ 541$	$0.12\pm 0.01^b$	$0.50\pm 0.05$
0.5	$405\pm 36$	$158\pm 12.2$	$12.5\pm 0.78$	$25\ 440\pm 2\ 191$	$0.12\pm 0.01^b$	$0.78\pm 0.03^b$
1.0	$421\pm 39$	$166\pm 13.4^B$	$11.3\pm 0.95^B$	$26\ 720\pm 2\ 166$	$0.10\pm 0.01^b$	$0.89\pm 0.08^b$
1.5	$422\pm 39$	$183\pm 15.0^B$	$12.8\pm 1.00$	$23\ 680\pm 1\ 982$	$0.19\pm 0.01$	$0.98\pm 0.08^b$
2.0	$561\pm 46^b$	$258\pm 20.6^b$	$14.3\pm 1.04$	$20\ 960\pm 1\ 622$	$0.26\pm 0.01^B$	$1.22\pm 0.07^b$

与空白对照相比, A:  $P < 0.05$ , a:  $P < 0.01$ ; 与对照相比, B:  $P < 0.05$ , b:  $P < 0.01$ 。

表4 不同浓度VC对氟污染佛手几种生理生化指标的影响

Table 4 Effects of VC on several physiological and biochemical indexes of fingered citron under fluoride stress

VC浓度/ g·L <sup>-1</sup>	叶绿素a含量/ μg·g <sup>-1</sup> (FW)	叶绿素b含量/ μg·g <sup>-1</sup> (FW)	MDA含量/ nmol·g <sup>-1</sup> (FW)	POD活性/ U·g <sup>-1</sup> (FW)·min <sup>-1</sup>	相对电导率/%	氟含量/ mg·g <sup>-1</sup> (DW)
对照	386±31 <sup>A</sup>	137±9.6 <sup>a</sup>	13.3±0.36 <sup>a</sup>	24 640±1 647	0.22±0.02 <sup>a</sup>	0.48±0.04 <sup>a</sup>
空白对照	461±33	242±17.0	10.5±0.56	23 040±1 709	0.08±0.01	0.19±0.01
0.1	531±45 <sup>B</sup>	215±12.6 <sup>b</sup>	11.7±0.46 <sup>b</sup>	20 960±1 379 <sup>B</sup>	0.14±0.01 <sup>b</sup>	0.49±0.04
0.25	741±48 <sup>b</sup>	352±24.4 <sup>b</sup>	11.6±0.53 <sup>B</sup>	28 000±1 680	0.13±0.01 <sup>b</sup>	0.59±0.03 <sup>B</sup>
0.5	513±38 <sup>B</sup>	214±11.8 <sup>b</sup>	12.4±0.44	24 960±956	0.14±0.01 <sup>b</sup>	0.62±0.04 <sup>B</sup>
1.0	330±20	151±10.5	13.9±0.66	20 800±1 018 <sup>B</sup>	0.16±0.02 <sup>B</sup>	0.51±0.04
1.5	278±20 <sup>b</sup>	125±9.4	14.0±0.50	19 200±862 <sup>b</sup>	0.20±0.02	0.65±0.05 <sup>b</sup>

与空白对照相比, A:  $P < 0.05$ , a:  $P < 0.01$ ; 与对照相比, B:  $P < 0.05$ , b:  $P < 0.01$ 。

#### (4) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 促进氟污染佛手叶中氟的积累。

#### 参考文献

- 勾晓华, 王勋陵, 陈发虎(2000). 氟化氢熏气对植物影响的防护研究. 西北植物学报, 20 (2): 206~211
- 胡勤海, 叶兆杰(1996). 稀土元素的植物生理效应. 植物生理学通讯, 32 (4): 296~300
- 刘新, 张蜀秋(2000). 水杨酸、茉莉酸和乙烯在调控蚕豆气孔运动中的相互关系. 植物生理学报, 26 (6): 487~491
- 庞欣, 王东红, 邢晓燕, 彭安(2002). 汞胁迫下 $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ 对小麦幼苗抗氧化酶活性的影响. 中国稀土学报, 20 (2): 159~163
- 申秀英, 吴方正, 许晓路(1991). 氟化物对桑叶氮代谢某些影响的研究. 农业环境保护, 10 (5): 194~197
- 徐丽珊, 蒋德安(2004). 氟化氢熏气对金华佛手叶片、花和果实中有机营养物质含量的影响. 植物生理学通讯, 40 (5): 545~548
- 徐丽珊, 申秀英, 许晓路, 蒋德安(2004). 氟化物危害佛手的生理生化表现. 农业环境科学学报, 23 (4): 653~656
- 严重玲, 洪叶汤, 杨先科, 付舜珍, 吴善绮(1998). 稀土元素对酸雨胁迫小麦抗氧化酶的生物学效应. 科学通报, 43 (20): 2206~2209
- 张志良(1990). 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 154~155
- 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会编(1999). 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 302~306
- Diatloff E, Asher CJ, Smith FW (1999). The effects of rare earth elements on the growth and nutrient of plants. Mater Sci Forum, 315 (1~3): 354~360
- HE YW, Loh CS (2000). Cerium and lanthanum promote floral initiation and eporductive growth of *Arabidopsis thaliana*. Plant Sci, 159: 117~124