

## 四氯乙烯污染对大豆幼苗抗氧化特征的影响

黄媛媛, 单爱琴, 李海花, 蔡 静, 李 玲

(中国矿业大学 江苏省资源环境信息工程重点实验室, 江苏 徐州 221116)

**摘 要:**通过室内模拟试验,研究了不同浓度四氯乙烯(PCE)污染对大豆幼苗抗氧化特性的影响。结果表明:随PCE胁迫强度的增加,大豆幼苗的丙二醛(MDA)、超氧阴离子( $O_2^{\cdot-}$ )、脯氨酸及谷胱甘肽(GSH)含量均呈累积升高的趋势,且均存在显著的剂量-效应关系。与对照组相比,当浓度达到 $0.30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,大豆幼苗体内脯氨酸及GSH含量明显累积;浓度达到 $30.00\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, $O_2^{\cdot-}$ 及MDA含量明显升高,幼苗膜脂过氧化显著;低浓度PCE胁迫会激活SOD与CAT酶的活性,当浓度超过 $0.30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时则随浓度的升高而降低。

**关键词:**四氯乙烯;大豆;抗氧化特征

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2010)04-0721-03

## Influence of Perchloroethylene on Antioxidation Characteristics of Soybean Seedlings

HUANG Yuan-yuan, SHAN Ai-qin, LI Hai-hua, CAI Jing, LI Ling

(China University of Mining and Technology, Jiangsu Key Laboratory of Resources and Environmental Information Engineering, Xuzhou 221116, Jiangsu, China)

**Abstract:** Effects of different perchloroethylene (PCE) concentration on biological indexes of soybeans seedlings were studied by using simulated experiment in laboratory. Results showed the contents of MDA,  $O_2^{\cdot-}$ , proline and GSH in soybean seedlings all increased as the PCE stress strengthened, and obvious dose-effect relationships between them were found. The proline and GSH contents increased evidently when PCE concentrations were above  $0.30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . When PCE concentrations were above  $30.00\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  the  $O_2^{\cdot-}$  and MDA contents increased evidently, and the lipid peroxidation of soybean seedlings strengthened. It was also showed that the activity of SOD and CAT were activated in lower PCE stress, and decreased when PCE concentrations were above  $0.30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

**Key words:** Perchloroethylene; Soybean seedlings; Antioxidation characteristics

大豆是人类优质蛋白和食用油脂的重要来源,它作为一种具有较高营养及经济价值的农作物,在我国各地都有广泛的种植。四氯乙烯(Perchloroethylene, PCE)是一种重要的有机氯产品,主要用作溶剂、干洗剂、金属脱脂溶剂、脱硫剂及织物整理剂。随着工业的发展,很多地区地下水中都存在着有机氯代烃污染。其污染源主要是露天垃圾堆放场、排污河渠和工业上大量使用的各种有机溶剂。因此,研究四氯乙烯污染对大豆的影响既可以反映污染对大豆的胁迫强度,也能表明大豆对该污染的抗性大小。

现通过室内模拟试验,研究四氯乙烯污染土壤对大豆造成的生理影响,旨在了解氯代烃污染对植物的毒害效应,进而为明确植物对氯代烃的抗性机制提供理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 供试材料

供试大豆为中豆 13;土壤来自江苏徐州中国矿业大学南湖校区内一处未经污染的土壤,刮去表层土,采集 2~18 cm 深土壤,经风干后研磨,过 2 mm 筛备用。

#### 1.2 试验设计

称取风干土样 7 份,每份 500 g,分别盛放于 7 个花盆中(上径 20 cm、下径 10 cm、深 15 cm)。按照 100:1(质量比)向土壤中加入葡萄糖,充分混匀(以解决有机质含量低、微生物贫乏等问题),加入蒸馏水使土壤含水量达到最大持水量的 60%,在 25℃ 恒温生化培养箱预培养 7~10 d。然后加入不同剂量的四氯乙烯溶液,使各处理的终浓度分别为:0、0.05、0.15、0.30、3.00、30.00、60.00  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,分别

用 T1 ~ T7 表示, 2 次重复。

搅拌混匀, 继续培养 2 d 后, 在花盆中种入经 5% 次氯酸钠溶液消毒的大豆种子 (每盆 30 粒), 在 25℃ 下继续培养, 待种子出苗后, 将其置于室外, 定时喷水以保持土壤湿度。

### 1.3 测定项目与方法

分别在大豆幼苗刚长出第 1 对真叶 (第 3 天)、第 1 对真叶完全展开 (第 7 天)、第 2 对真叶完全展开 (第 14 天) 时, 选取长势均匀的大豆植株, 对整株进行测定。测定指标为: 幼苗丙二醛 (MDA)、超氧阴离子自由基 ( $O_2^-$ )、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽 (GSH)、游离脯氨酸。

MDA 含量的测定采用硫代巴比妥酸法<sup>[1]</sup>,  $O_2^-$  含量的测定采用羟胺氧化法<sup>[2]</sup>; SOD 活性的测定采用氮蓝四唑 (NBT) 还原法<sup>[3]</sup>, CAT 活性的测定采用高锰酸钾滴定法<sup>[3]</sup>; GSH 含量的测定采用巯基试剂 DTNB 法<sup>[1]</sup>, 游离脯氨酸的测定采用酸性茚三酮法<sup>[4]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 四氯乙烯对大豆幼苗丙二醛 (MDA) 含量的影响

MDA 是膜脂氧化的主要产物之一, 可用来反映细胞膜脂质过氧化程度及植物对逆境条件反应的强弱。由图 1 可知, 在大豆出苗后的第 3、7、14 天, 幼苗体内 MDA 含量均有不同程度的增加, 且随 PCE 胁迫浓度增加呈升高的趋势。相关性分析表明, PCE 浓度与幼苗 MDA 含量之间存在极显著的剂量-效应关系 ( $P < 0.01$ )。说明 PCE 胁迫对大豆幼苗产生不同程度的膜脂过氧化作用, 且膜损伤程度随胁迫强度的增加而加剧。

配对样本 T 检验结果表明, 与对照组相比, T2 ~ T5 ( $0.05 \sim 3.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 处理组的 MDA 含量无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 表明膜质过氧化不明显; T6 和 T7 ( $30.00, 60.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 高浓度处理组的 MDA 含量, 增幅达到显著性水平 ( $P < 0.05$ ), 表明高浓度胁迫明显导致幼苗发生膜质过氧化, 大豆幼苗的细胞膜受到明显损伤。

### 2.2 四氯乙烯对大豆幼苗超氧阴离子 ( $O_2^-$ ) 含量的影响

$O_2^-$  是植物体内一种氧化能力极强的自由基, 其含量可表明受到胁迫的程度。由图 2 可知, 与 PCE 胁迫对 MDA 含量的变化趋势相似, 在大豆出苗后的第 3、7、14 天, 幼苗体内的  $O_2^-$  含量随胁迫浓度的升高呈上升趋势, 且二者之间存在极显著的剂量-效应关系 ( $P < 0.01$ )。与对照组相比, T6 和 T7 ( $30.00, 60.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 高浓度处理样的  $O_2^-$  含量明显增加 ( $P < 0.05$ ), 且随胁迫时间的延长而升高。

$O_2^-$  伤害植物的机理之一在于参与启动膜脂过氧化或膜脂脱脂作用<sup>[5]</sup>。结果表明, 随 PCE 胁迫浓度的升高, 大豆幼苗体内  $O_2^-$  含量累积增加, 膜脂过氧化作用加剧, 膜损伤加重。

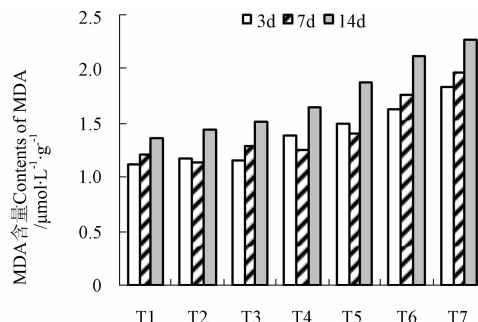


图 1 PCE 对大豆幼苗丙二醛含量的影响

Fig. 1 MDA contents of soybean seedlings at different PCE concentrations

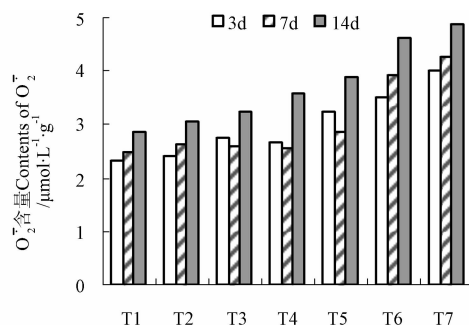


图 2 PCE 对大豆幼苗  $O_2^-$  含量的影响

Fig. 2  $O_2^-$  contents of soybean seedlings at different PCE concentrations

### 2.3 四氯乙烯对大豆幼苗超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性的影响

由图 3 可知, 在出苗后第 3、7 天, 随着 PCE 胁迫浓度的升高, 大豆幼苗的 SOD 活性呈先升高后降低的趋势。T2 ~ T5 ( $0.05 \sim 3.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 处理组的 SOD 活性受到不同程度的激活, 且浓度为  $0.30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  处理样的 SOD 活性最高; 当浓度达到  $3.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, SOD 活性下降甚至受到抑制。在第 14 天, 幼苗的 SOD 活性随 PCE 胁迫浓度的升高而呈降低的趋势, 且二者之间的剂量-效应关系显著 ( $R = -0.867$ )。

大豆出苗后的第 3、7、14 天, 随着 PCE 胁迫强度的增加, 幼苗的 CAT 活性与 SOD 活性的变化趋势相似, 均表现出先升高后降低的趋势。各处理样的 CAT 活性均高于对照组, 即表现出不同程度的激活作用。与对照组相比, T3、T4 ( $0.15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 处理组的 CAT 活性被明显激活; 然后 CAT 活性则随胁迫浓度升高而降低, 但仍呈激活状态。相关性分析表明, CAT 活性与 PCE 浓度之间呈负相关性 ( $R = -0.200 \sim -0.410$ ), 但没有达到显著水平。

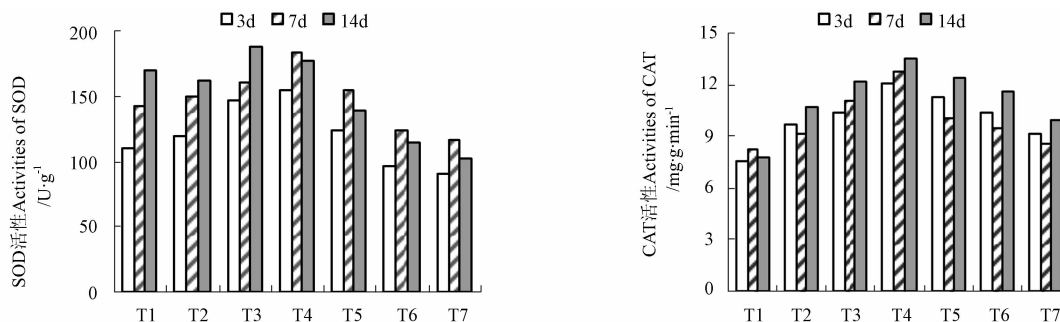


图3 PCE对大豆幼苗SOD、CAT活性的影响

Fig.3 SOD and CAT activities of soybeans seedlings at different PCE concentrations

## 2.4 四氯乙烯对大豆幼苗脯氨酸和谷胱甘肽(GSH)含量的影响

由图4可知,在大豆出苗后的第3、7、14天,PCE胁迫下,幼苗的脯氨酸与GSH含量均有不同程度的增加,且随胁迫浓度的增加而呈升高的趋势。当PCE浓度达到 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,幼苗的脯氨酸

及GSH含量与对照组相比明显增加( $P < 0.05$ )。相关性分析表明,PCE浓度与脯氨酸、GSH含量之间的剂量-效应关系显著( $P < 0.05$ )。表明PCE胁迫会引起大豆幼苗体内脯氨酸、GSH含量的累积,且随胁迫程度的增强而升高。

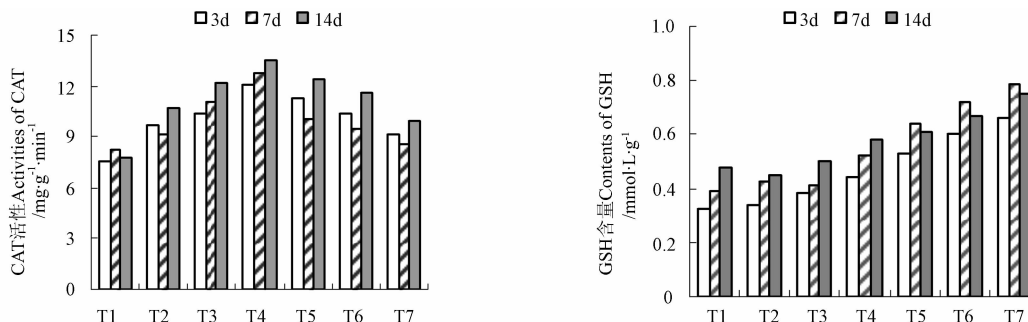


图4 PCE对大豆幼苗脯氨酸、GSH含量的影响

Fig.4 Contents of proline and GSH in soybean seedlings at different PCE concentrations

## 3 讨论

幼苗生长阶段是作物生长过程中最关键的时期,也是对外界环境较为敏感的时期。大量研究表明,许多逆境条件(干旱、盐渍、冷冻、营养素缺乏)及衰老等都会导致植物体内 $\text{O}_2^-$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\cdot\text{OH}$ 等活性氧的积累,并由此引发或加剧细胞的膜脂过氧化。试验结果表明,随PCE胁迫浓度的升高,大豆幼苗 $\text{O}_2^-$ 含量明显增加,推测这是导致幼苗MDA积累的原因之一。MDA含量的增加,表明细胞膜脂过氧化水平升高,从而引起细胞膜结构损伤,细胞膜透性增大,导致细胞内一些可溶性物质外渗,细胞内酶及代谢作用原有的区域受到破坏,使幼苗产生严重损伤。

在生物进化过程中细胞内形成了防御活性氧毒害的保护机制,SOD与CAT作为细胞抵御活性氧伤害的重要保护酶,在植物受到逆境胁迫时,能有效地消除活性氧所产生的过氧化,降低植物受伤程度。其中,SOD主要清除 $\text{O}_2^-$ ,而CAT主要清除 $\text{O}_2^-$ 分解所形成的 $\text{H}_2\text{O}_2$ ,以避免形成氧化性更强的 $\cdot\text{OH}$ <sup>[6-7]</sup>。该试验结果表明,一定浓度PCE胁迫可以激活大豆幼苗的SOD、CAT活性,促进酶活性的提

高,以适应胁迫的影响;当浓度超过 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,酶活性下降甚至受抑制,幼苗体内保护酶系统的活力和平衡受破坏,活性氧累积,加剧膜脂过氧化而造成整体膜的损伤。

除抗氧化保护酶系统,脯氨酸和谷胱甘肽等抗氧化物质在清除活性氧,减少自由基的危害,保护细胞结构和功能等方面起到很大作用。脯氨酸是细胞内一种亲和性渗透调节物质,具有调节细胞渗透平衡、增强细胞结构稳定性和阻止氧自由基产生的作用<sup>[8]</sup>。而GSH作为植物中含量最丰富的含巯基的低分子肽<sup>[9]</sup>,通过自身巯基与自由基结合,可以清除生物体内的自由基,维持细胞的正常生长,保护细胞内含巯基酶(如ATP酶)的活性,从而防止由于巯基的氧化而导致蛋白质的变性<sup>[10]</sup>。结果表明,随PCE胁迫浓度的升高,幼苗体内的脯氨酸及GSH含量积累增加,这可以视为是大豆幼苗对胁迫的一种适应性反应。

## 参考文献

- [1] 陈建勋,王晓峰.植物生理学实验指导[M].广州:华南理工大学出版社,2002.(Chen J X, Wang X F. Direction of plant physiology experiment [M]. Guangzhou: South China University of Technology Press, 2002.)

### 3 结论与讨论

低异交率不育系追施氮肥结实率明显增加,并且在某个追施量达到高峰值,而高异交率不育系随着氮肥追施量增加结实率反而降低。从该试验的结果来看,不同异交率组合在一定的氮肥水平下,追施保花肥对制种产量的提高起到重要作用,低异交率不育系柱头外露率低,追施氮肥可能提高柱头外露率,有利于昆虫授粉,进而提高结实率;而高异交率不育系自身株型收敛,增施氮肥后枝叶变得繁茂,影响昆虫授粉,结实率降低。由于大豆不育系结实率与昆虫传粉效率密切相关<sup>[10]</sup>,因此要提高大豆不育系制种产量既要考虑不同品系间生物学特性方面存在的差异,又要找到最佳的氮肥追施量来调控植株株型、叶片特征和柱头外露率,进而有利于传粉昆虫活动,提高传粉效率,达到提高结实率的目的。

### 参考文献

- [1] 赵丽梅,彭宝,程延喜,等. 杂交大豆研究进展[J]. 大豆通报, 2008(1):1-3. (Zhao L M, Peng B, Cheng Y X, et al. The research advance on hybrid soybean [J]. Soybean Bulletin, 2008 (1):1-3.)
- [2] 赵丽梅,彭宝,程延喜,等. 大豆骨干恢复系和花粉数量的研究[J]. 大豆科学, 2008, 27(2):238-241. (Zhao L M, Peng B, Cheng Y X, et al. Pollination ability of main restorer lines of soybean (*Glycine max*) [J]. Soybean Science, 2008, 27(2):238-241.)
- [3] 孙寰,张井勇,王玉民,等. 木豆、苜蓿和大豆3种豆科作物杂种优势利用概述[J]. 中国农业科学, 2009, 42(5):1528-1539. (Sun H, Zhang J Y, Wang Y M, et al. A review of utilization of heterosis in three legume crops of pigeonpea, alfalfa and soybean [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2009, 42(5):1528-1539.)
- [4] 赵丽梅,孙寰,彭宝,等. 国内外大豆杂种优势利用研究概况[J]. 吉林农业大学学报, 2008, 30(4):401-406, 414. (Zhao L M, Sun H, Peng B, et al. A review of the utilization of heterosis in Soybean [J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2008, 30(4):401-406, 414.)
- [5] 王跃强,王曙明,赵丽梅,等. 杂交大豆昆虫传粉及制种技术研究进展[J]. 吉林农业科学, 2008, 33(3):5-8. (Wang Y Q, Wang S M, Zhao L M, et al. Progress in studies of insect pollinators and seed producing techniques of soybean hybrids [J]. Journal of Jilin Agricultural Sciences, 2008, 33(3):5-8.)
- [6] 赵力汉,吴春胜,郭午,等. 施氮对大豆生长发育的影响[J]. 吉林农业大学学报, 1993, 15(1):12-16. (Zhao L H, Wu C S, Guo W, et al. Influence of nitrogen application on soybean growth [J]. Journal of Jilin Agricultural University, 1993, 15(1):12-16.)
- [7] 胡晨,黄志平,张丽亚,等. 氮肥施用对杂交大豆生育特性及产量的影响[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(22):6745-6746. (Hu C, Huang Z P, Zhang L Y, et al. Influence of nitrogen application on hybrid soybean in growth and yield [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2007, 35(22):6745-6746.)
- [8] 吕凯,魏凤娟,吴永辉,等. 施肥和激素对水稻不育系柱头外露率和结实率的影响[J]. 安徽农业科学, 2003, 31(4):641-642. (Lu K, Wei F J, Wu Y H, et al. Influence of fertilization and hormone application on out-chapter rate and seed-setting rate [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2003, 31(4):641-642.)
- [9] 台德卫,张翔,孙文娟,等. 增施花粒肥对杂交水稻制种产量的影响[J]. 安徽农学通报, 2008, 14(19):77-78. (Tai D W, Zhang X, Sun W J, et al. Influence of fertilizer application on hybrid rice in seed production yield [J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2008, 14(19):77-78.)
- [10] 李建平,李茂海,杨桂华,等. 大豆不育系传粉昆虫及传粉技术研究[J]. 吉林农业科学, 2002(增刊):4-6. (Li J P, Li M H, Yang G H, et al. Study of pollinating insects and pollinating technical of soybean male sterile plants [J]. Journal of Jilin Agricultural Sciences, 2002(Supplement):4-6.)

(上接第723页)

- [2] 陆巍,许晓明,张荣铎,等. 冰醋酸对于测定植物材料中超氧阴离子含量的灵敏度的影响[J]. 南京师大学报(自然科学版), 2004, 27(1):82-84. (Lu W, Xu X M, Zhang R X, et al. Effect of adding acetic acid on improvement of determination of superoxide anion content in plants [J]. Journal of Nanjing Normal University (Science), 2004, 27(1):82-84.)
- [3] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2000. (Li H S. Physiological experimental principle and technology of plant [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000.)
- [4] 郝再彬,苍晶,徐仲. 植物生理实验[M]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社, 2004. (Hao Z B, Cang J, Xu Z. Plant physiology experiment [M]. Harbin: Harbin Institute of Technology Press, 2004.)
- [5] 吕庆,郑荣梁. 干旱及活性氧引起小麦膜脂过氧化与脱酯化[J]. 中国科学(C辑), 1996, 26(1):26-30. (Lu Q, Zheng R L. Lipid peroxidation and deesterification in wheat caused by drought and active oxygen [J]. Science in China (Ser. C), 1996, 26(1):26-30.)
- [6] 李明,王根轩. 干旱胁迫对甘草幼苗保护酶活性及脂质过氧化作用的影响[J]. 生态学报, 2002, 22(4):503-507. (Lin M, Wang G X. Effect of drought stress on activities of cell defense enzymes and lipid peroxidation in glycyrrhiza uralensis seedlings [J]. Acta Ecologica Sinica, 2002, 22(4):503-507.)
- [7] Fridovich I. Superoxidedismutase [J]. Annual Review of Biochemistry, 1975, 44:147-159.
- [8] Metha S K, Gaur J P. Heavy metal induced proline accumulation and its role in a meliorating metal toxicity in *Chlorella vulgaris* [J]. New Phytologist, 1999, 143:253-259.
- [9] 胡文琴,王恬,孟庆利. 抗氧化活性肽的研究进展[J]. 中国油脂, 2004, 29(5):42-45. (Hu W Q, Wng T, Meng Q L. Research advance of antioxidative bioactive peptides [J]. China Oils and Fats, 2004, 29(5):42-45.)
- [10] 麦维军,张明永. 高等植物体内的谷胱甘肽[J]. 生物学通报, 2005, 40(6):4-5. (Mai W J, Zang M Y. Glutathione in higher plants [J]. Bulletin of Biology, 2005, 40(6):4-5.)