

重金属及有机物复合污染对大豆生理特性和 DNA 损伤效应的影响

陈 璨,常云霞,古红梅,李俐俐,陈 龙

(周口师范学院 生命科学系,河南 周口 466001)

摘 要:采用沙培方法研究了模拟复合污水(汞、铜、镉、苯、二甲苯和苯酚)对野生大豆和栽培大豆幼苗的生理特性以及 DNA 损伤效应的影响。结果表明:经污水处理后,大豆幼苗叶片中叶绿素含量、DNA 提取量均下降;DNA 增色效应、可溶性蛋白、可溶性糖、脯氨酸、丙二醛含量均上升。其中野生大豆 ZKDC 的叶绿素含量、DNA 提取量下降幅度最小,可溶性蛋白、可溶性糖、脯氨酸含量上升幅度最大,DNA 增色效应与丙二醛含量上升幅度最小。因此供试材料中野生大豆 ZKDC 的耐污能力最强。

关键词:野生大豆;重金属;生理特性;DNA 损伤

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2012)06-0915-05

Effects of Heavy Metal and Organic Compound Contamination on Physiological Character and DNA Damage of Soybean Seedlings

CHEN Can, CHANG Yun-xia, GU Hong-mei, LI Li-li, CHEN Long

(Department of Life Science, Zhoukou Normal University, Zhoukou 466001, Henan, China)

Abstract: The effects of sewage (Hg, Cu, Cd, benzene, xylene and phenol) irrigation on physiological character and DNA damage of *Glycine soja* and *Glycine max* were evaluated by sand culture tests. The results showed that the contents of chlorophyll and the extracts of DNA of soybean seedlings were significantly decreased than those of control. The hyperchromicity of DNA and the contents of soluble protein, soluble sugar, proline and MDA were significantly increased. Compared with the other tested materials, the *Glycine soja* 'ZKDC' had the smallest decline for chlorophyll content and DNA extracts amount, the largest rise for soluble protein, soluble sugar and proline content, and the smallest rise for hyperchromicity of DNA and MDA content. In summation, 'ZKDC' has the best tolerance for sewage pollution.

Key words: Wild soybean; Heavy metal; Physiological property; DNA damage

随着我国工业尤其是采矿业、冶炼业、电镀业、印染业等行业的迅速发展,重金属污染问题日益突出。化学农药(包括杀虫剂、杀菌剂、除草剂等)残留以及多环芳烃等是目前造成我国农田有机污染的主要污染物,它们严重污染农业生态环境,影响我国农业的可持续发展和粮食安全^[1]。目前有关重金属及有机物复合污染的研究主要集中在小麦、水稻和玉米的种子萌发、幼苗生长以及一些蔬菜的生理生化等方面^[2-5],对大豆尤其是野生大豆不同发育阶段的毒害效应的研究较少。幼苗阶段是植物感知外界环境的最初生命阶段,此阶段受到重金属胁迫会直接影响作物的生长^[6]。因此,本研究以野生大豆和栽培大豆为试材,初步研究了重金属及有机物复合污染对大豆幼苗阶段的生理影响以及 DNA 的损伤,为有效预防作物的早期污染伤害以及农业污染研究和治理提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

野生大豆种子(HHT、ZKSHA、ZHSHD、XYSC、NYXX、ZKTJ、NYXXbs、ZKDC)采自信阳商城山区、南阳西峡山区、郑州黄河滩区、周口沙颍河河岸等地,栽培大豆(周豆16、中黄13)由周口种子公司提供。以上10个材料按顺序编号为1~10。

1.2 材料处理

取粒饱满的大豆种子,用0.1% HgCl₂表面消毒7 min,去离子水反复冲洗,在30℃的去离子水中浸泡48 h后均匀播种于加有2层纱布的300×200×50 mm的托盘中,每盘60粒,每个材料播种6盘,共60盘,每天9:00和17:00用50 mL 1/2 Hogland营养液处理使纱布保持湿润。当苗长至12~15 cm时停止培养液的浇灌。用重金属有机模拟复合污

收稿日期:2012-07-05

基金项目:河南省教育厅自然科学研究计划资助项目(2009B180029,2011B180057);周口师范学院生物化学与分子生物学重点学科建设项目。

第一作者简介:陈璨(1985-),男,硕士,讲师,主要从事分子与生化研究工作。E-mail:chenc02@126.com。

通讯作者:陈龙(1962-),男,教授,主要从事植物生理生化教学与研究工作。E-mail:chenlongzg@126.com。

水(苯、二甲苯、苯酚 $0.1 \sim 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, Cu $0.3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、Cd $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、Hg $0.05 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)浇灌,对照(CK)用去离子水浇灌。处理3 d后,进行相关生理生化指标及DNA损伤效应的测定。培养室为恒温 25°C ,光照度 $4\,000 \sim 4\,500 \text{ lx}$,光/暗周期为 $14 \text{ h}/10 \text{ h}$ 。

1.3 测定项目与方法

取大豆幼苗的完全展开叶,经去离子水反复冲洗后,剪碎、混匀,采用CTAB法提取DNA^[7],提取的DNA样品用紫外分光光度计测定波长 260 nm 及 280 nm 的吸光值,根据 A_{260} 估算样品得率,根据 A_{260}/A_{280} 比值判断样品的大致纯度。采用葛才林等^[8]的方法,取叶片DNA样品2份,每份 $20 \mu\text{L}$ 溶于 $1 \text{ mL } 0.08 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ 溶液中,一份在 70°C 水浴中加热,另一份置于室温(24.5°C)。30 min后分别在紫外分光光度计上测定 A_{260} ,以 $\{[A_{260}(70^{\circ}\text{C}) - A_{260}(24.5^{\circ}\text{C})]/A_{260}(24.5^{\circ}\text{C})\} \times 100\%$ 作为DNA增色效应指标。采用丙酮-乙醇提取法测定叶

片内叶绿素含量^[9];考马斯亮蓝法测定叶片内可溶性蛋白质含量^[9];蒽酮比色法测定叶片内可溶性糖含量^[10];硫代巴比妥酸法测定叶片丙二醛(MDA)含量^[10];酸性茚三酮法测定叶片游离脯氨酸(Pro)含量^[10]。

1.4 数据分析

所有数据均取3次重复平均值,采用SPSS 10.0进行数据分析和T检验。

2 结果与分析

2.1 重金属及有机物复合污染对大豆幼苗叶片DNA的影响

2.1.1 DNA提取量 由表1可知,经重金属及有机物复合溶液处理的DNA提取量均比对照组低,但降低幅度不同,其中1、2、3、5、9、10号材料对照组与处理组DNA提取量存在极显著差异($P < 0.01$),4、6号材料有显著差异($P < 0.05$),7、8号材料差异不显著。8号材料DNA提取量(8.3%)降幅最小。

表1 重金属及有机物复合污染对大豆幼苗叶片中DNA提取量的影响

Table 1 Effects of heavy metal and organic compound contamination on DNA extracts in the leave of soybean seedlings ($\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$)

组别 Group	大豆材料 Soybeans									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
对照 Control	0.19	0.29	0.26	0.22	0.29	0.25	0.24	0.24	0.18	0.38
处理 Treatment	0.15	0.21	0.20	0.19	0.18	0.22	0.20	0.22	0.13	0.24
t	36.00 **	34.92 **	23.52 **	9.24 *	28.79 **	6.84 *	16.86	34.64	26.23 **	61.57 **

* 与 ** 表示分别代表在 0.05 和 0.01 水平差异显著,下表同。

* and ** were significantly different at 0.05 and 0.01 probability level, respectively, the same below.

2.1.2 DNA增色效应 由表2可知,不同材料对照组和处理组DNA均出现增色效应,并且经重金属及有机物复合溶液处理的DNA增色效应均极显

著高于对照组($P < 0.01$)。其中8号材料增加最小,处理组DNA增色效应与对照组相比仅增加38.8%。

表2 重金属及有机物复合污染对大豆幼苗叶片中DNA增色效应的影响

Table 2 Effects of heavy metal and organic compound contamination on hyperchromicity of DNA in the leave of soybean seedlings (%)

组别 Group	大豆材料 Soybeans									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
对照 Control	20.81	29.64	17.68	11.68	13.59	23.26	62.56	50.83	41.07	8.83
处理 Treatment	30.20	60.03	26.03	20.02	39.78	83.54	119.45	70.56	63.61	56.34
t	28.61 **	53.98 **	33.74 **	53.18 **	86.88 **	3616.6 **	1075.12 **	55.43 **	77.07 **	514.31 **

2.2 重金属及有机物复合污染对大豆幼苗叶片生理特性的影响

2.2.1 叶绿素含量 由表3可知,同一材料处理组与对照组的叶绿素含量存在差异,对照组与处理组

相比,1、2、5、6、7号材料呈极显著差异($P < 0.01$),3、10号材料差异显著($P < 0.05$),8、9号材料差异不显著。材料8叶绿素含量降低幅度最小(8.8%)。

表 3 重金属及有机物复合污染对大豆幼苗叶片中叶绿素含量的影响
Table 3 Effects of heavy metal and organic compound contamination on chlorophyll content in the leave of soybean seedlings(mg·g⁻¹)

组别 Group	大豆材料 Soybeans									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
对照 Control	1.16	1.69	2.06	1.40	1.98	1.65	1.55	2.15	0.66	0.74
处理 Treatment	0.65	1.40	1.92	1.24	1.48	1.13	1.21	1.96	0.74	0.62
Itl	28.07**	12.53**	7.82*	3.56	10.71**	15.58**	12.16**	3.80	3.80	7.11*

2.2.2 可溶性蛋白含量 由表4可知,经重金属及有机物复合溶液处理的大豆幼苗可溶性蛋白含量均高于对照组,且增幅不同,处理组与对照组相比,1、2、3、5、6、10号材料差异极显著($P<0.01$),4、9号材料差异显著($P<0.05$),7、8号材料差异不显著。处理组与对照组相比,幼苗叶片中可溶性蛋白含量升高幅度表现为 $8<9<4<6<7<5<1<10<2<3$ 。

表 4 重金属及有机物复合污染对大豆幼苗叶片中可溶性蛋白含量的影响
Table 4 Effects of heavy metal and organic compound contamination on protein content in the leave of soybean seedlings(mg·g⁻¹)

组别 Group	大豆材料 Soybeans									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
对照 Control	3.73	3.25	3.48	6.61	5.30	7.17	5.90	7.49	6.24	1.61
处理 Treatment	5.42	5.65	7.19	7.69	7.49	8.73	7.37	7.60	6.38	2.64
Itl	58.89**	20.72**	40.23**	6.60*	44.00**	23.50**	4.11	1.15	1.60*	62.00**

2.2.3 可溶性糖含量 由表5可知,经重金属及有机物复合溶液处理的大豆幼苗可溶性糖含量普遍高于对照组,且增幅不同,处理组与对照组相比,3、6号材料差异极显著($P<0.01$),1、2、4、7、10号材料差异显著($P<0.05$),5、8、9号差异不显著。处理组与对照组相比,幼苗叶片中可溶性糖含量升高幅度表现为 $2<9<5<6<3<1<4<7<10<8$ 。

表 5 重金属及有机物复合污染对大豆幼苗叶片中可溶性糖含量的影响
Table 5 Effects of heavy metal and organic compound contamination on sugar content in the leave of soybean seedlings(mg·g⁻¹)

组别 Group	大豆材料 Soybeans									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
对照 Control	13.15	10.12	12.35	19.85	9.72	20.81	16.26	12.99	16.42	17.77
处理 Treatment	15.14	10.76	13.79	22.88	10.44	23.20	19.85	16.66	17.54	22.56
Itl	6.25*	8.00*	10.39**	9.50*	1.50	17.3**	6.50*	4.13	1.47	6.22*

2.2.4 MDA 含量 由表6可知,经重金属及有机物复合溶液处理的大豆幼苗MDA含量与对照组相比均升高,且升高幅度不同。与对照组进行比较,2、7号材料差异极显著($P<0.01$),1、3、5号差异显著($P<0.05$),4、6、8、9、10号差异不显著。材料8经处理后,幼苗叶片中MDA含量较对照升高幅度(1.6%)最小。对照组和处理组中野生材料的MDA含量均低于栽培大豆,说明野生大豆抗重金属和有机复合污染能力强于栽培大豆材料。

表 6 重金属及有机物复合污染对大豆幼苗叶片中MDA含量的影响
Table 6 Effects of heavy metal and organic compound contamination on MDA content in the leave of soybean seedlings($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)

组别 Group	大豆材料 Soybeans									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
对照 Control	10.82	17.85	15.2	19.71	18.92	23.66	17.2	13.12	33.12	34.12
处理 Treatment	13.26	23.44	17.63	21	22.87	24.44	20.72	13.33	33.84	35.05
Itl	7.80*	10.33**	8.5*	2.60	5.77*	2.2	13.59**	1.59	3.78	2.46

2.2.5 脯氨酸含量 由表7可知,经重金属及有机物复合溶液处理的大豆幼苗脯氨酸含量与对照组相比均升高,并且升高幅度不同。与对照组比较,1、5、6、8号材料差异极显著($P < 0.01$),2、7号差异显著($P < 0.05$),3、4、9、10号差异不显著。材料8

经处理后,幼苗叶片中脯氨酸含量较对照升高幅度(503.1%)最大。与对照组相比幼苗叶片中脯氨酸含量升高幅度由低到高为 $3 < 9 < 4 < 10 < 7 < 2 < 5 < 1 < 6 < 8$,说明不同材料耐污能力有明显不同,其中材料8耐污能力最强。

表7 重金属及有机物复合污染对大豆幼苗叶片中脯氨酸含量的影响

Table 7 Effects of heavy metal and organic compound contamination on proline content in the leave of soybean seedlings($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

组别 Group	大豆材料 Soybeans									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
对照 Control	13.93	24.95	17.1	67.39	5.32	5.19	15.96	4.81	6.33	8.23
处理 Treatment	46.23	53.96	17.35	70.17	11.78	20.77	21.15	29.01	6.59	9.88
Itl	13.61**	6.60*	0.55	4.16	11.13**	26.84**	7.75*	34.3**	1.00	2.60

3 讨论

超过一定范围的重金属及有机物都会对植物造成不同程度的伤害,主要包括抑制细胞生长,降低光合作用和叶绿素合成,干扰碳代谢、植物水分状况和对养分的吸收等^[11]。本实验结果表明,重金属及有机复合污染条件下,大豆幼苗叶片中叶绿素含量与DNA提取量明显下降,DNA增色效应增加,说明重金属及有机复合污染对大豆幼苗造成一定的伤害。

植物体内可溶性蛋白的增多,有助于维持植物细胞的正常代谢,提高植物的抗逆性^[12]。本实验结果表明,重金属及有机复合污染下,大豆幼苗叶片中可溶性蛋白含量升高,可以增加细胞的渗透势和功能蛋白的数量,有助于维持细胞正常的代谢,从而缓解重金属及有机复合污染的伤害。

可溶性糖对植物细胞具有渗透调节及保护膜结构稳定的作用^[13],植物为了适应逆境会主动积累一些可溶性糖,降低细胞渗透势和冰点,以适应外界环境的变化;可溶性蛋白是植物体内的主要渗透调节物质,其含量的高低影响着植株的抗逆性。在多种逆境下,植物体内都积累可溶性糖和可溶性蛋白^[14-15]。本实验结果表明,重金属及有机复合污染下,大豆幼苗叶片中可溶性糖、可溶性蛋白含量升高,可以保持细胞与组织水分平衡,保护膜结构完整性,减轻重金属及有机复合污染的伤害,其中野生大豆ZKDC可溶性糖和可溶性蛋白含量上升幅度较大。

重金属诱导的氧化胁迫,引起膜质过氧化,终产物丙二醛(MDA)攻击质膜内蛋白质、核酸、不饱和脂酸等生物大分子,阻止新脂类的合成,导致膜的损伤和破坏^[16],进而导致生物膜透性增大。MDA含量越多说明ROS积累越高,膜损伤越严重。

本实验结果表明,重金属及有机复合污染下,大豆幼苗叶片中MDA含量升高,说明膜系统受到一定程度的损伤,质膜透性增大,其中野生大豆ZKDC的MDA含量升高幅度较小,说明其抗重金属及有机复合污染能力强。

综上所述,重金属及有机复合污染条件下,材料1~10幼苗叶片内叶绿素、DNA含量均下降,DNA增色效应、可溶性蛋白、可溶性糖、可溶性蛋白、MDA含量均上升,其中材料8叶绿素含量、DNA提取量下降幅度最小,可溶性糖、可溶性蛋白含量上升幅度最大,可溶性蛋白、DNA增色效应、MDA含量上升幅度最小,因此,野生大豆ZKDC抗重金属及有机复合污染能力最强。

参考文献

- [1] 陈怀满. 土壤中化学物质的行为与环境质量[M]. 北京: 科学出版社, 2002, 8(2): 183-188. (Chen H M. Chemical substantial activity and environment quality in soil [M]. Beijing: Science Press, 2002, 8(2): 183-188.)
- [2] 高雪峰, 敖恩宝力格. 重金属Pb、Hg污染对3种小麦种子的萌发及抗氧化活性的影响[J]. 种子, 2012, 31(2): 17-20. (Gao X F, Ao en B G. Effect of Pb, Hg pollution on germination and antioxidant activity of three kinds of wheat seeds [J]. Seed, 2012, 31(2): 17-20.)
- [3] 伍钧, 吴传星, 孟晓霞, 等. 重金属低积累玉米品种的稳定性和环境适应性分析[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(11): 2160-2167. (Wu Y, Wu C X, Meng X X, et al. The analysis of stability and adaptability on low accumulation of heavy metals in various cultivars of *Zea mays* [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2011, 30(11): 2160-2167.)
- [4] 文晓慧, 蔡昆争, 葛少彬, 等. 硅对镉和锌复合胁迫下水稻幼苗生长及重金属吸收的影响[J]. 华北农学报, 2011, 26(5): 153-158. (Wen X H, Cai K Z, Ge S B, et al. Effects of silicon on plant growth in rice seedlings under and heavy metal absorption Cd and Zn stress [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2011, 26(5): 153-158.)

- [5] 白瑞琴,孟海波,周爽,等. 重金属 Cd 对两个马铃薯品种生长发育的影响[J]. 华北农学报,2012,27(1):168-172. (Bai R Q, Meng H B, Zhou S, et al. Effects of cadmium on growth and development of two potato varieties[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2012, 27(1):168-172.)
- [6] 李三相,李勃,兰小平,等. Cr^{6+} 胁迫对大豆幼苗生理生化特性的影响[J]. 大豆科学,2010,29(5):777-780. (Li S X, Li B, Lan X P, et al. Effects of Cr^{6+} stress on physiological and biochemical parameters of soybean seedlings[J]. Soybean Science, 2010, 29(5):777-780.)
- [7] 李建武,余瑞元,袁明秀,等. 生物化学实验原理和方法[M]. 北京:北京大学出版社,2002:264-280. (Li J W, Yu R Y, Yuan M X, et al. Biochemistry experiment principle and method[M]. Beijing: Peking University Press, 2002:264-280.)
- [8] 葛才林,杨小勇,孙锦荷,等. 重金属胁迫引起的水稻和小麦幼苗 DNA 损伤[J]. 植物生理与分子生物学报,2002,28(6):419-424. (Ge C L, Yang X Y, Sun J H, et al. DNA damage caused by heavy metal stress in rice and wheat seedlings[J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2002, 28(6):419-424.)
- [9] 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,2003. (Li H S. Plant physiology and biochemistry experiment principle and technology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2003.)
- [10] 刘萍,李明军. 植物生理实验技术[M]. 北京:科学出版社,2008. (Liu P, Li M J. Plant physiology experimental technology[M]. Beijing: Science Press, 2008.)
- [11] 徐楠,施国新,曾晓敏,等. Hg^{2+} 胁迫对浮萍体细胞 DNA 一级结构和抗氧化酶系统的损伤[J]. 植物生态报,2003,27(3):299-303. (Xu N, Shi G X, Zeng X M, et al. Damage to DNA primary structure and antioxidant enzymes in *lemna minor* induced by Hg^{2+} [J]. Acta Phytocologica Sinica, 2003, 27(3):299-303.)
- [12] 常云霞,王红星,陈龙. 水杨酸对锌胁迫下小麦幼苗生长抑制的缓解效应[J]. 西北植物学报,2011,31(10):2052-2056. (Chang Y X, Wang H X, Chen L. Salicylic acid mitigating the inhibition of zinc stress to wheat seedling growth[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2011, 31(10):2052-2056.)
- [13] 冯亚楠,李臻,冯乃杰,等. 不同植物生长调节剂浸种对大豆幼苗子叶碳代谢的影响[J]. 大豆科学,2009,28(6):1016-1020. (Feng Y N, Li C, Feng N J, et al. Effects of seed soaking with plant growth regulators (PGRs) on the carbon metabolism of soybean seedling cotyledon[J]. Soybean Science, 2009, 28(6):1016-1020.)
- [14] 杨卫民,刘宝琦,张世珍. 甘露醇、过氧化氢和氯化钠处理对黑豆苗期抗旱性的影响[J]. 大豆科学,2010,29(2):350-353. (Yang W M, Liu B Q, Zhang S Z. Effect of mannitol, hydrogen peroxide and chloride treatment on drought resistance of black soybean seedling[J]. Soybean Science, 2010, 29(2):350-353.)
- [15] 郑世英,郑建峰,张秀玲,等. NaCl 胁迫对野生及栽培大豆渗透调节物质含量的影响[J]. 大豆科学,2011,30(5):786-789. (Zheng S Y, Zheng J F, Zhang X L, et al. Effect of NaCl stress on the content of osmotic regulation substances in *Glycine soja* and *Glycine max*[J]. Soybean Science, 2011, 30(5):786-789.)
- [16] 孙富,杨丽涛,谢晓娜,等. 低温胁迫对不同抗寒性甘蔗品种幼苗叶绿体生理代谢的影响[J]. 作物学报,2012,38(4):732-739. (Sun F, Yang L T, Xie X N, et al. Effect of chilling stress on physiological metabolism in chloroplasts of seedlings of sugarcane varieties with different chilling resistance [J]. Acta Agronomica Sinica, 2012, 38(4):732-739.)

科学出版社生物分社新书推介

《食品安全化学》

编著者:王利兵

初版时间:2012 年 10 月

书号:9787030356260

定价:98.00 元

《食品安全化学》介绍了食品中化学污染物的理化性质、来源、毒理以及控制措施。全书共分 8 章,第一章介绍了食品安全化学污染物分类、国内外食品安全管理与控制措施现状;接下来的章节分别介绍了食品中生物毒素、加工中的化学污染物、包装化学迁移物、环境污染物、农药残留、兽药残留和食品添加剂等对食品安全的影响、来源分布与危害,介绍预防措施,并对重要化学污染物的检测技术与方法进行概述。书中既有对理论性内容的阐述,又有实践经验的总结,特别是增加了近年来在食品安全化学检测上的一些新方法、新技术,包括近几年国内外食品检测技术方面的科研成果。

《食品安全化学》可作为食品质量与安全专业、食品科学与工程专业和各相关专业的教材,也可供食品安全检测机构、食品卫生、安全监管部门专业人员参考。

购书指南

网上购书:淘宝商城科学出版社旗舰店 <http://kxcbs.tmall.com/>

电话购书:联系人:贾海涛;电话:010-64017321

