

阿特拉津胁迫对番茄种子萌发以及抗氧化酶系统活性的影响

新疆环境保护科学研究院 张 雯

摘要: 在水培条件下, 采用番茄幼苗作为研究对象, 观察在不同浓度阿特拉津作用对番茄种子萌发以及抗氧化酶系统活性的影响。实验结果表明在抗氧化酶系统的响应方面, 阿特拉津浓度越高, 番茄幼苗体内丙二醛 (MDA) 含量越高, 抗氧化酶超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、过氧化物酶 (POD) 的响应程度越高, 从而能够缓解阿特拉津对番茄幼苗的毒害。

关键词: 阿特拉津; 番茄幼苗; 抗氧化酶系统

阿特拉津是一种除草剂, 又名莠去津, 是一种选择性内吸传导型苗前、苗后除草剂。由于杀草功效优良, 价格低廉而被世界各国广泛使用和推广。阿特拉津结构稳定, 持效期长, 在环境中残留可达 457 周, 对人和哺乳动物可能有致癌作用。有研究表明, 阿特拉津会胁迫诱导小麦幼苗膜脂过氧化, 膜的通透性增高, 细胞微观结构受到损害。随着处理浓度的加大, 植物体内富集阿特拉津绝对含量也是逐渐增高, 而生物富集因子 (BCF) 和传导因子 (TF) 呈现出逐渐减小的趋势, 说明阿特拉津对小麦具有较强的生态毒性。土壤中残留的阿特拉津, 会影响后茬敏感作物的生长, 同时过量的阿特拉津进入高等植物体内会诱导同源 DNA 的重组和改变关键功能基因的表达。有文献报道, 当将番茄植株放入阿特拉津溶液中 6d 后, 与对照组相比, 根生长减少了 79.5%, 芽减少了 67.1%。由于植株内存在过氧化物和超氧化物阴离子的诱导作用, 当阿特拉津进入番茄植株体内后, 植株产生过氧化物, 造成了一定的危害。

在正常情况下, 植物体内活性氧的产生与清除是平衡的, 但当植物处于阿特拉津胁迫时, 其体内会累积大量活性氧自由基而引起过氧化损伤。活性氧自由基 (ROS) 会导致脂质、蛋白质和核酸的过氧化。细胞内部有复杂的抗氧化调节机制来保持 ROS 的平衡, 但毒物会影响植物的正常生理生化作用, 严重的可能导致死亡。为了清除体内的活性氧自由基, 植物会通过复杂的抗氧化系统清除自由基。抗氧化系统主要包括两部分, 抗氧化酶类: 包括超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 以及过氧化物酶 (POD); 非酶类抗氧化剂: 包括谷胱甘肽 GSH 和抗坏血酸 AsA 等。

一、材料与方法

(一) 试验材料

供试植物: 番茄“新引 98~1”, 植物培养液为霍格兰溶液。

取籽粒饱满、均匀的番茄种子, 用 1.2%NaClO 溶液消毒 20min, 均匀摆在垫有滤纸的培养皿中, 加入适量去离子水, 放入人工气候箱中避光发芽 5 天。选取发芽情况较好, 平均长度在 3cm 左右的番茄芽于三角烧瓶, 每个三角烧瓶中放同等根数, 加入适量营养液, 在人工气候箱中继续培养 5d, 过程中补充消耗的营养液。人工气候培养箱条件: 光照 16h, 温度 28℃, 湿度: 75%。暗室 8h, 温度 20℃, 湿度 70%。胁迫 7d 时取样测定。

试验浓度的设定: 添加阿特拉津分别为 0、1、5、10mg·L⁻¹。霍格兰溶液培养为对照 (ck), 每组处理均设 3 个重复。

(二) 试验方法

1. 番茄发芽率及根长、芽长的测定。在每个垫有滤纸的培养皿中均匀摆放 25 粒未发芽的外形良好的番茄种子, 后每个培养皿中分别加入上述步骤中所配的各种处理溶液 10mL 在人工气候箱中避光 7 天。取出后, 数出成功发芽的番茄种子个数, 记下数据, 算出发芽率。同时测量根长、芽长数据, 比较不同处理下, 番茄种子的萌发情况。

2. 叶绿素的测定。称取 0.1g 的叶片, 置于 10mL 比色管中, 加入 10mL 丙酮和无水乙醇等量混合成的提取液, 加塞置于 4℃ 冰箱中下浸提 24h 后, 用分光光度计测定在 663nm 和 645nm 处的吸光度, 记下数据并计算。

3. 番茄幼苗 MDA 含量的测定。剪取 0.2g 左右番茄幼苗样品的两部分分别放入研钵中, 加入 10%TCA 2mL 和少量石英砂, 研磨成匀浆, 再加 8mLTCA 进一步研磨, 倒入离心管中, 离心 (3000r/min, 10min), 上清液为样品提取液;

显色: 取上清液 2mL 加入 0.6%TBA 2mL 混匀, 沸水浴加热 15min (自试管内溶液中出现小气泡开始计时), 迅速冷却, 离心 (3000r/min, 10min), 与去离子水对照;

测定: 取上清液, 使用分光光度计在 450nm、500nm 和 600nm 处测定吸光度;

4. 番茄幼苗抗氧化系统酶的测定。SOD 的测定、POD 的测定、CAT 的测定均按照文献中方法进行测定。

二、结果与讨论

(一) 不同浓度阿特拉津对番茄种子萌发的影响

表 1 不同浓度阿特拉津对番茄种子萌发的影响

阿特拉津 (mg/L)	发芽率 (%)	根长 (mm)	芽长 (mm)
0	0.95	54.08	25.26
1	0.93	33.93	25.05
5	0.92	32.68	23.06
10	0.90	32.25	21.34

由表 1 所示, 通过比较番茄幼苗的根长和芽长可知, 在不同阿特拉津浓度下, 番茄幼苗的根长与芽长较未添加阿特拉津的时均有不同限度地短小, 且浓度越高, 对根长芽长的抑制情况越明显。发芽率情况与根长、芽长的变化情况一致, 当添加阿特拉津浓度逐渐增加时, 番茄幼苗的发芽率也逐渐受到抑制。由此可见, 阿特拉津对番茄种子的萌发起到了一定限度的抑制作用。

(二) 不同浓度阿特拉津对番茄幼苗叶绿素的影响

表 2 不同浓度阿特拉津对番茄幼苗叶绿素的影响

阿特拉津 (mg/L)	叶绿素 a (mg/L)	叶绿素 b (mg/L)	叶绿素 (mg/L)
0	6.289	2.309	8.597
1	5.394	2.149	7.7
5	5.574	2.126	7.501
10	5.352	2.031	7.425

由表 2 可以看出, 与对照组相比, 添加了阿特拉津处理组, 番茄幼苗的叶绿素 a、b 以及叶绿素均有所下降, 并且随着阿特拉津浓度的增加, 叶绿素下降越明显, 这是由于阿特拉津在植物体内会干扰植物光合作用, 并阻碍叶绿素的生成。

(三) 不同浓度阿特拉津对番茄幼苗 MDA 含量的影响

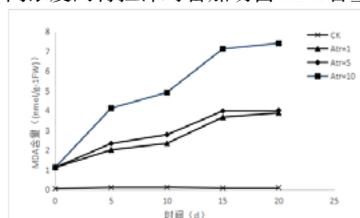


图 1 不同阿特拉津浓度下番茄幼苗体内 MDA 含量

图 1 反映了不同浓度阿特拉津对番茄幼苗 MDA 含量的影响。随着时间的增加, 番茄幼苗体内 MDA 含量逐渐增加, 说明番茄幼苗所受脂质过氧化损伤逐渐增大。由图 1 可知, 相对于低浓度阿

特拉津胁迫，高浓度阿特拉津显著增加了番茄幼苗MDA含量，表明阿特拉津浓度越大，番茄幼苗所受胁迫程度越高，从而导致了MDA含量的上升。

(四) 不同浓度阿特拉津对番茄幼苗SOD含量的影响

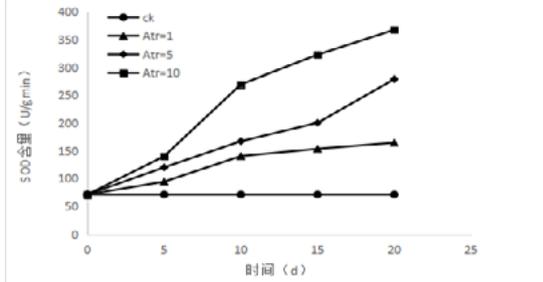


图2 不同阿特拉津浓度下番茄幼苗体内SOD含量

图2所示为不同浓度阿特拉津对番茄幼苗体内SOD含量的影响，番茄幼苗SOD活性随时间的变化。在0~5d中，阿特拉津对番茄幼苗的毒害尚不明显，因此SOD未产生响应；而随着时间的增加，从5~15d，阿特拉津胁迫加重，SOD活性逐渐升高。

由图中也可以看出高浓度相对于低浓度阿特拉津诱导产生SOD更多，诱导产生SOD的顺序为Atr10>Atr5>Atr1。

(五) 不同浓度阿特拉津对番茄幼苗CAT含量的影响

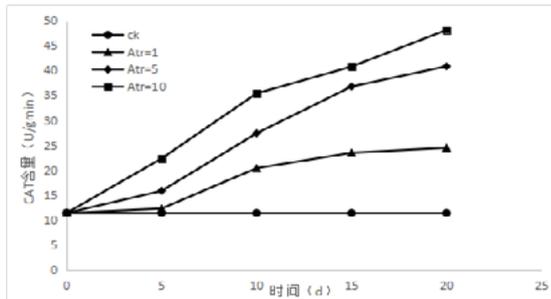


图3 不同阿特拉津浓度下番茄幼苗体内CAT含量

图3所示为不同浓度阿特拉津对番茄幼苗体内CAT含量的影响，番茄幼苗CAT活性随时间的变化。在0~5d中，阿特拉津对番茄幼苗的毒害尚不明显，因此CAT未产生响应；而随着时间的增加，从5~15d，阿特拉津胁迫加重，CAT活性逐渐升高。

由图中也可以看出高浓度相对于低浓度阿特拉津诱导产生更多CAT，诱导产生CAT的顺序为Atr10>Atr5>Atr1，这与SOD变化趋势基本一致。在SOD清除活性氧自由基时，会产生过氧化氢，因此CAT活性的变化会随着SOD变化而变化。

(六) 不同浓度阿特拉津对番茄幼苗POD含量的影响

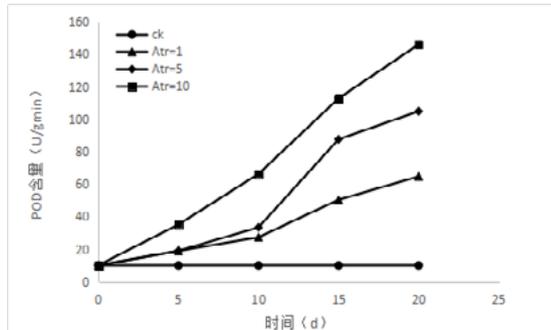


图4 不同阿特拉津浓度下番茄幼苗体内POD含量

图4所示为不同浓度阿特拉津对番茄幼苗体内POD含量的影响，与SOD和CAT变化趋势基本一致，在此不再赘述。

三、结论

阿特拉津对番茄幼苗的生理生化指标的影响随着时间的增加而危害更大，高浓度阿特拉津比低浓度阿特拉津对番茄幼苗危害更大。

随着时间的增加，高浓度阿特拉津胁迫下水稻幼苗体内的脂

质过氧化损伤高于低浓度阿特拉津，抗氧化系统酶活性也随之升高以抵御阿特拉津的胁迫。

参考文献:

- [1]KmetcL, GaurinaSV, SlivaC, etal. AtrazineexposuredecreasescellproliferationinChineseshamsterovary (CHO-K1) cellline[J].BulletinofEnvironmentalContaminationandToxicology, 2008, 81:205-209.
- [2]StorrsMendezSI, TillittDE, RittenhouseTAG, etal. BehavioralresponseandkineticsofterrestrialatrazineexposureinAmericantoads (bufoamericanus) [J].ArchivesofEnvironmentalContaminationandToxicology, 2009, 57:90-97.
- [3]周游.阿特拉津对小麦幼苗的生态毒性[D].南京:南京农业大学, 2012.
- [4]BesplugJ, FilkowskiJ, BurkeP, etal.Atrazineinduceshomologousrecombinationbutnotpointmutationinthetransgenicplant-basedbiomonitoringassay[J].ArchivesofEnvironmentalContaminationandToxicology, 2004, 46(3):296-300.
- [5]LuYC, YangSN, ZhangJJ, etal.Acollectionofglycosyltransferasesfromrice (Oryzasativa) exposedtoatrazine[J].Gene, 2013, 531(2):243-252.
- [6]ZhangJJ, LuYC, ZhangJJ, etal.Accumulationandtoxicologicalresponseofatrazineinricecrops[J].EcotoxicologyandEnvironmentalSafety[J].2014, 102(5):105-112.
- [7]BattinEE, BrumaghimJL.Antioxidantactivityofsulfurandselenium:areviewofreactiveoxygenspeciescavenging, glutathioneperoxidase, andmetal-bindingantioxidantmechanisms[J].CellBiochemistryandBiophysics, 2009, 55(1):1-23.
- [8]iheneH, ImedM, FatimaH, etal.Protectiveeffectsofselenium (Se) andzinc (Zn) oncadmium (Cd) toxicityintheliverandkidneyoftherat:histologyandCdaccumulation[J].FoodandChemicalToxicology, 2008, 46(11):3522-3527.
- [9]NewairyAA, El-SharakyAS, BadredeenMM, etal.Thehepatoprotectiveeffectsofseleniumagainstdmiumtoxicityinrats[J].Toxicology, 2007, 242(1-3):23-30.
- [10]LiuX, ZhangS, ShanXQ, etal.Combinedtoxicityofcadmiumandarsenatetowheatseedlingsandplantuptakeandantioxidativeenzymeresponsetocadmiumandarsenatecontamination[J].EcotoxicologyandEnvironmentalSafety, 2007, 68(2):305-313.

基金项目: 国家自然科学基金(21667030)。