

茶皂素对种子发芽、根长及土壤酶活性的影响

侯俊杰, 李宁宁, 吕辉雄, 曾巧云*, 吴启堂

(华南农业大学资源环境学院, 广州 510642)

摘要:选取玉米、绿豆和菜心作为研究对象, 调查茶皂素对3种作物种子发芽及根伸长的影响情况, 同时研究茶皂素对土壤过氧化氢酶活性和多酚氧化酶活性的影响。结果表明: 试验浓度范围内, 茶皂素溶液对玉米、绿豆和菜心种子的发芽率及根伸长均具有显著的抑制作用(绿豆种子发芽率除外), 0.2%处理对3种种子根伸长的抑制率达33.1%以上, 其根长显著低于对照处理, 对玉米和菜心种子发芽率的抑制率达10%; 茶皂素对种子发芽率及根长抑制作用的强弱与种子类型有关, 整体来说, 茶皂素对3种种子发芽率的抑制作用由强到弱依次为玉米>菜心>绿豆, 对3种种子根伸长的抑制作用由强到弱依次为菜心>玉米>绿豆。茶皂素对土壤过氧化氢酶活性具有显著的抑制作用, 而对多酚氧化酶活性则具有显著的促进作用。

关键词:茶皂素; 种子发芽; 根长; 酶活性; 生态效应

中图分类号: X171.5 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2015)04-0660-06 doi:10.11654/jaes.2015.04.008

Effects of Tea Saponin on Seed Germination, Root Lengths and Soil Enzyme Activities

HOU Jun-jie, LI Ni-ni, LÜ Hui-xiong, ZENG Qiao-yun*, WU Qi-tang

(College of Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Tea saponin, as a biosurfactant, has great potential to be applied to the environmental remediation. However, it has certain biological toxicity to soil ecosystem. In this study, seeds of Chinese flowering cabbage (*Brassica parachinensis*), mung bean (*Vigna radiata* L.) and maize (*Zea mays* L.) were selected to examine the influences of tea saponin added to soil on seed germination rates, root elongations, and the activities of soil catalase and polyphenol oxidase. Results showed that the seed germination rates (excluding mung bean) and root lengths of three plant species were significantly inhibited by tea saponin at the experimental concentrations. The inhibitory effects aggravated with increasing concentrations of tea saponin. When tea saponin concentration was 0.2%, the root lengths significantly decreased more than 33.1% and the germination rates reduced more than 10%, compared with the control (without tea saponin). The inhibition of tea saponin on germination rates and root lengths were dependent on the plant types. The germination rates decreased in order of maize > Chinese flowering cabbage > mung bean, while root lengths decreased in order of Chinese flowering cabbage > maize > mung bean. With increasing concentrations of tea saponin, catalase activity in soil decreased significantly, while soil polyphenol oxidase activity increased significantly.

Keywords: tea saponin; seed germination; root length; enzyme activity; ecological toxicity

茶皂素(Tea saponin), 又称茶皂甙、茶皂苷, 是山茶科植物(如茶、山茶、油茶)中所含的一类天然糖苷化合物^[1], 广泛存在于山茶科植物的根、茎、叶、花、果之中。茶皂素由糖体、甙元及有机酸组成。糖体一端为亲水基团, 通过醚键与另一端疏水基相连接; 疏水基

团由以酯键形式相连接的甙元与有机酸构成, 因而具备了能起到表面活性作用的条件^[2]。作为表面活性剂, 茶皂素广泛应用于人造板、日化、建材、纺织及农药等行业^[3]。近年来的一些研究表明, 茶皂素作为表面活性剂在水环境^[4-6]和土壤环境修复领域也有较大应用潜力^[7-12], 如: 茶皂素对土柱中 Cd、Zn、Pb、Cu 的淋洗率分别为 42.38%、13.07%、6.74%、8.75%^[8]; 金属离子可能是通过直接与皂角甙形成可溶性络合物或者通过与其他金属的架桥作用而被转移到皂角素溶液相中^[9]。茶皂素还能促进植物对土壤中 Cd 和多氯联苯(PCBs)的吸收^[10], 促进微生物对有机污染物十溴二苯

收稿日期: 2014-10-26

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)(2012AA101403); 国家自然科学基金(41471215)

作者简介: 侯俊杰(1993—), 男, 广东佛山人, 在读本科生, 主要从事环境有机污染与控制研究工作。

E-mail: 792336640@qq.com

* 通信作者: 曾巧云 E-mail: qiaoyunzeng@126.com

醚的微生物降解^[11-12]。茶皂素作为生物表面活性剂,具有能生物降解、资源丰富、生产成本低廉等明显优势^[13]。然而,已有研究表明,茶皂素具有一定的急性毒性,如对淡水中的鱼虾具有较强的毒性^[14],对土壤蚯蚓、小菜蛾及枯萎病原真菌也表现出急性毒性^[15]。因此,茶皂素在环境领域使用过程中,应注意其生态环境效应。

目前,有关茶皂素对作物种子发芽及根伸长、土壤微生物活性影响的相关研究还鲜有报道。本文拟选用本课题组之前用来修复有机污染土壤的玉米种子为研究对象,并选用种子粒径不同的绿豆和菜心种子作为对比,研究茶皂素浓度对作物种子发芽及根伸长的影响。同时土壤中有毒物质的降解离不开土壤酶的参与,土壤酶活性的大小与土壤微生物活性(包括微生物生物量和功能多样性)和有机污染物的污染程度存在一定的相关性。多酚氧化酶和过氧化氢酶均属于氧化还原酶,均参与烃类化合物及其代谢中间产物在土壤中的降解过程,特别是多酚氧化酶与土壤中芳烃和酚类的降解密切相关^[16],如黑麦草和苜蓿根际土壤多环芳烃(PAHs)的去除率与多酚氧化酶活性呈显著正相关^[17-18]。一些学者还将土壤过氧化氢酶和多酚氧化酶作为土壤污染程度和生态毒理的评价指标^[19-21]。因此本文还研究了茶皂素浓度对土壤酶活性的影响,为茶皂素作为生物表面活性剂在污染农田土壤生物修复领域中的应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用种子共3种,即菜心种子、绿豆种子和玉米种子,均购自广东省农业科学院。试验所用粗茶皂素由广东省新天地有限公司(梅州)提供。试验所用土壤取自北纬23°8',东经113°26',风干后磨碎过1 mm筛,备用。土壤基本理化性质:pH6.65,有机质9.63 g·kg⁻¹,全氮1.35 g·kg⁻¹,全磷2.02 g·kg⁻¹,全钾24.73 g·kg⁻¹,土壤质地为粉砂土壤(按美国制:砂粒占78.0%、粉粒占18.0%、黏粒占4.0%)。

1.2 试验方法

1.2.1 种子发芽试验

种子发芽试验方法参考文献[22-24]并在此基础上做出一些修改。

1.2.1.1 预试验

选取大小均一、形态饱满的种子,用75%的酒精消毒,然后用蒸馏水润洗3次。玉米、绿豆和菜心种子

分别在蒸馏水中浸泡12、4 h和1 h。

配制茶皂素溶液浓度梯度分别为0.2%、0.5%、1.0%、2.0%、4.0%、6.0%和8.0%,作为种子发芽的培养液,同时以蒸馏水作为对照。

将浸泡好的种子放入内径为11 cm的培养皿,培养皿底部铺有一层滤纸,每培养皿放置种子数为20粒,然后分别加入不同浓度的茶皂素溶液或蒸馏水,玉米、绿豆和菜心种子加入培养液量分别为15、10、7 mL,以保证种子能充分湿润但又不完全被淹没。试验设置3个重复。将制作好的培养皿放入恒温恒光培养箱中培养(28℃、常亮,保证根的伸长)。每天观察种子的萌发,采用恒重法来维持培养液的体积,并适当调换培养皿在培养箱中的位置。48 h后停止培养,计算种子的发芽率,确定发芽率不低于对照处理50%的最大茶皂素溶液浓度为正式试验的最大浓度。

预试验结果表明,菜心种子对茶皂素的耐性最弱,2.0%浓度的茶皂素溶液几乎完全抑制了菜心种子的发芽及根伸长,据此将菜心种子发芽试验的茶皂素最大浓度设为1.0%。绿豆种子对茶皂素的耐性最大,预试验浓度范围内其发芽率影响不大;玉米种子发芽率约为50%的处理的茶皂素浓度为4.0%,因此选择该浓度作为玉米和绿豆种子发芽试验的最大浓度。

1.2.1.2 正式试验

根据预试验结果,设置玉米和绿豆种子试验茶皂素溶液浓度梯度为0、0.2%、0.5%、1.0%、2.0%、4.0%;设置菜心种子试验茶皂素溶液浓度梯度为0、0.1%、0.2%、0.4%、0.8%、1.0%。每个处理设置3个重复,试验条件与预试验相同。测量培养48 h时所有种子的发芽率(以每处理20粒种子的平均发芽率来表达)及根长(以每处理发芽种子的平均根长来表达),然后计算出不同浓度的茶皂素对根长的抑制率。抑制率=(A-B)/A×100%(其中A为对照处理根长,B为污染处理根长,单位均为mm)。

1.2.2 土壤酶活性试验

称取一定量的粗茶皂,加入上述过1 mm筛的风干水稻土中,使茶皂素的质量浓度分别为0.2%、0.5%和1.0%,充分混匀,备用。选取过氧化氢酶和多酚氧化酶进行测定,分别采用高锰酸钾滴定法和邻苯三酚比色法^[25]。

土壤过氧化氢酶活性测定的主要步骤:①称取上述土壤2.00 g,置于150 mL三角瓶中;②往三角瓶中加入蒸馏水40 mL和0.3%的过氧化氢溶液5 mL;③设置对照处理,即往三角瓶中只加入蒸馏水40 mL和

0.3%的过氧化氢溶液 5 mL,不加土样;④塞紧瓶塞,振荡 30 min(往返式摇床,120 次·min⁻¹);⑤加入硫酸溶液(浓度为 3 mol·L⁻¹)5 mL,以终止反应;⑥用致密滤纸过滤,取滤液 10 mL,加入硫酸溶液(浓度为3 mol·L⁻¹)3 mL;⑦用 0.1 mol·L⁻¹ 高锰酸钾溶液滴定至微红色;⑧土壤过氧化氢酶活性以单位土质量消耗的 0.1 mol·L⁻¹ 高锰酸钾溶液毫升数(对照与试验测定的差)表示。

多酚氧化酶活性测定的主要步骤:①称取上述土壤 1.00 g,置于带磨口瓶塞的 50 mL 离心管中;②加入 1%邻苯三酚溶液 10 mL,摇匀,于 30 ℃恒温箱中培养 2 h;③同时设置无邻苯三酚溶液的土壤和邻苯三酚溶液做对照处理;④培养结束后,往离心管中加入柠檬酸-磷酸缓冲液 4 mL、乙醚 25 mL,用力振荡离心管 30 min,使邻苯三酚溶液经酶促作用所生成的红紫脞精从培养液的水相被萃取到乙醚中;⑤用滴管吸取乙醚于 430 nm 波长比色;⑥根据用重铬酸钾得出的标准曲线,查得红紫脞精的量;⑦通过标准曲线找出对应紫色没食子酸的浓度,多酚氧化酶活性以每百克土没食子酸的毫克数表示。

1.3 数据分析

本文的结果数据为 3 次重复的平均值,采用软件 SPSS13.0 进行数据间的相关性分析(Pearson, Two-tailed),SAS9.0 进行多重比较分析(新复极差法, LSD),显著水平 *P* 为 0.05。

2 结果与分析

2.1 茶皂素对种子发芽及根长的影响

2.1.1 茶皂素对玉米种子发芽率及根长的影响

茶皂素显著抑制了玉米种子发芽率及根长(表 1)。当茶皂素添加浓度为 0.2%时(T-0.2),玉米种子

表 1 不同茶皂素浓度下玉米种子发芽率及根长

Table 1 Seed germination rates and root lengths of maize at different concentrations of tea saponin

处理	发芽率/%	根长/mm	根长抑制率/%
CK	100±0a	31.8±0.10a	0
T-0.2	88.9±2.22b	15.0±0.01b	53.0
T-0.5	75.6±4.44c	12.6±0.02c	60.4
T-1.0	66.7±0c	9.0±0.01d	71.8
T-2.0	66.7±3.85c	7.3±0.01e	77.1
T-4.0	53.3±3.85d	6.2±0.01f	80.6

注:发芽率及根长均为平均值±标准误(*n*=3);根长抑制率为平均值,标准误均小于 0.1;同列数据中含有相同字母者表示差异不显著(*P*>0.05)。下同。

发芽率为 88.9%,显著低于对照处理(CK)。随着茶皂素浓度的继续增加,玉米种子发芽率继续下降,但茶皂素为 0.5%~2.0%时,对发芽率抑制作用的差异不显著。当茶皂素浓度达到 4.0%时(T-4.0),发芽率下降到 53.3%,显著低于其他处理。当茶皂素添加浓度为 0.2%时(T-0.2),玉米种子根长为 15.0 mm,显著低于对照处理,其抑制率达 53%。随着茶皂素浓度的继续增加,玉米种子根长显著下降,当茶皂素浓度达到 4.0%时(T-4.0),玉米种子根长下降为 6.2 mm,抑制率高达 80.6%。

2.1.2 茶皂素对绿豆种子发芽率及根长的影响

茶皂素对绿豆种子的发芽率没有显著影响,所有处理发芽率均达到 100%。但茶皂素显著抑制了绿豆种子根长(表 2)。当茶皂素浓度为 0.2%时(T-0.2),绿豆种子根长显著低于对照处理(CK),抑制率为 33.1%。随着茶皂素浓度的增加,绿豆种子根长逐渐下降,当茶皂素浓度达到 4%时(T-4.0),其根长为 11.1 mm,比对照处理下降了 55.9%,差异显著。

表 2 不同茶皂素浓度下绿豆种子发芽率及根长

Table 2 Seed germination rates and root lengths of mung bean at different concentrations of tea saponin

处理	发芽率/%	根长/mm	根长抑制率/%
CK	100	25.3±0.08a	0
T-0.2	100	16.9±0.06b	33.1
T-0.5	100	15.9±0.03bc	37.2
T-1.0	100	14.6±0.02c	42.0
T-2.0	100	11.7±0.05c	53.9
T-4.0	100	11.1±0.04d	55.9

2.1.3 茶皂素对菜心种子发芽率及根长的影响

不同茶皂素浓度处理菜心种子发芽率及根长情况见表 3。试验浓度范围内,菜心种子发芽率随着茶皂素浓度的增加先下降,0.8%浓度处理(T-0.8)达到最低值,为 81.7%,显著低于对照处理。而当茶皂素浓

表 3 不同茶皂素浓度下菜心种子发芽率及根长

Table 3 Seed germination rates and root lengths of Chinese flowering cabbage at different concentrations of tea saponin

处理	发芽率/%	根长/mm	根长抑制率/%
CK	98.3±1.67a	17.6±0.07a	0
T-0.1	94.8±2.89ab	4.1±0.03b	76.4
T-0.2	88.3±7.26ab	3.1±0.01bc	82.6
T-0.4	90.2±3.03ab	2.4±0.02bc	86.2
T-0.8	81.7±4.41b	2.0±0c	88.9
T-1.0	88.3±1.67ab	2.5±0bc	85.9

度继续上升到 1.0%时(T-1.0),其菜心种子的发芽率有升高的趋势,但与 0.8%处理(T-0.8)之间差异不显著。

茶皂素显著抑制了菜心种子根长。当茶皂素溶液浓度为 0.1%时,根长为 4.1 mm,显著低于对照处理(CK),抑制率达 76.4%。当茶皂素溶液浓度继续增加,菜心种子根长继续下降,0.8%浓度的茶皂素溶液处理(T-0.8)根长最小,为 2.0 mm,抑制率达 88.9%。而当茶皂素浓度继续上升到 1.0%时(T-1.0),其菜心种子的根长反而增加,大于 T-0.8 和 T-0.4 处理,但差异不显著。

2.1.4 茶皂素浓度与种子发芽率及根长相关性分析

对茶皂素浓度与各种子发芽率和根长进行相关性分析的结果表明(表 4),除绿豆种子发芽率外,茶皂素对其他指标均有抑制作用,其中对玉米种子发芽率的抑制作用与其浓度的相关性达显著水平。

表 4 茶皂素浓度与种子发芽率和根长的相关系数

Table 4 Correlation coefficients between tea saponin concentration and seed germination rate and root length

处理	绿豆		玉米		菜心	
	发芽率	根长	发芽率	根长	发芽率	根长
相关系数	—	-0.744	-0.863*	-0.662	-0.583	-0.757

注:—表示至少有一变量为常数,所以无法进行计算;*表示在 0.05 水平上显著相关。

2.2 茶皂素对土壤酶活性的影响

茶皂素对土壤过氧化氢酶具有抑制作用(表 5)。当茶皂素浓度为 0.2%时(T-0.2),土壤过氧化氢酶比对照处理(CK)下降了 11.9%,但此时差异不显著;当茶皂素浓度达到 0.5%和 1.0%时,土壤过氧化氢酶比对照处理分别下降了 28.7%和 64.2%,差异显著。茶皂素促进了土壤多酚氧化酶活性。随着茶皂素浓度的

表 5 不同茶皂素浓度下土壤过氧化氢酶和多酚氧化酶活性

Table 5 Activities of catalase and polyphenol oxidase in soil amended with different concentrations of tea saponin

处理	过氧化氢酶活性/ $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1} \cdot 20 \text{ min}^{-1}$	多酚氧化酶活性/ $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1} \cdot 2\text{h}^{-1}$
CK	5.62±0.14a	4.94±0.36d
T-0.2	4.95±0.31ab	15.25±3.74c
T-0.5	4.01±0.28b	33.69±5.28b
T-1.0	2.01±0.45c	51.95±4.48a

注:过氧化氢酶活性单位以反应时间内(20 min)每克土壤所消耗的 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KMnO}_4$ 毫升数表示;多酚氧化酶活性以反应时间内(2 h)每百克土的没食子酸毫克数表示。

增加,土壤多酚氧化酶活性显著增加,0.2%、0.5%和 1.0%处理分别是对照处理的 3.1、6.8 倍以及 10.5 倍。

相关性分析表明,茶皂素对土壤过氧化氢酶活性的抑制作用和对多酚氧化酶活性的促进作用均与其浓度呈极显著相关($P=0.01$)。茶皂素添加浓度与土壤过氧化氢酶活性的相关系数 $r=-0.998$;与土壤多酚氧化酶活性的相关系数 $r=0.993$ 。

3 讨论

已有研究表明,表面活性剂可以与生物膜结合并插入或透过膜,并在膜内形成胶束,从而造成膜蛋白和脂分离,使膜解体^[26],如:表面活性剂氯化十六烷基三甲基胺(CTMA)在大于临界胶束浓度(CMC)的情况下能促使大麦根细胞膜内物质外流^[27];表面活性剂十二烷基苯磺酸钠(LAS)在 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度下会导致水藻和大藻的细胞膜的通透性增加,物质外渗,细胞结构逐渐解体,同时两种植物细胞内的过氧化氢酶活性下降^[28]。同时,种子的萌发过程代谢特别旺盛,会产生大量的过氧化氢^[29]。因此,本研究中生物表面活性剂茶皂素对菜心、玉米和绿豆三种作物种子的发芽率和根长的抑制作用可以解释为,茶皂素降低了这些种子细胞内的过氧化氢酶活性,使种子萌发过程中产生的大量过氧化氢不能及时清除,细胞结构逐渐解体,从而导致种子的发育及生长受到不同程度的影响,但具体机理有待进一步研究。

茶皂素对作物种子发芽和生长的影响与其浓度有关,如 $0.05 \sim 30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的茶皂素对茄科、伞型科、十字花科、葫芦科、百合科等科属的植物有刺激生长的作用,而浓度过高则会抑制植物的生长,且不同作物间存在一定的差异^[30]。本试验中茶皂素对菜心、玉米和绿豆三种作物种子的发芽及根生长均表现为抑制作用,当茶皂素溶液浓度为 0.2%时均显著抑制了三种种子的发芽率和根伸长(绿豆种子发芽率除外),可能是由于本试验设置茶皂素的最低浓度是 $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,远远超过以往报道的浓度 $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。因此,茶皂素作为表面活性剂用来修复重金属或有机污染的农田土壤时,应考虑其浓度对作物种子发芽和根长的影响。

茶皂素对作物种子发芽和生长的影响还与作物种类有关^[30]。本试验中,菜心种子对茶皂素的耐性最弱,2.0%浓度的茶皂素几乎完全抑制了菜心种子的发芽及根伸长;相同浓度茶皂素溶液对玉米种子发芽率及根长的影响作用大于绿豆种子。因此,茶皂素对作

物种子发芽和根长抑制作用的强弱与作物种类相关,与种子粒径大小的关系不确定。

茶皂素对土壤酶活性的影响鲜见报道。本试验中,茶皂素对土壤过氧化氢酶活性具有显著的抑制作用,对多酚氧化酶活性具有显著的促进作用。这可能是由于加入茶皂素后,茶皂素可通过影响微生物细胞膜的通透性(本试验中土壤酶主要来自于土壤微生物)而降低其过氧化氢酶的活性^[28]。多酚氧化酶与过氧化氢酶不同,在正常状态下,细胞内多酚氧化酶与细胞内膜结合,活性很低,但遭遇外界逆境时,多酚氧化酶可以增加生物体对病原体的抗性,潜在的多酚氧化酶大量被激活^[31]。因此,茶皂素作为生物表面活性剂在土壤污染修复中不仅能提高土壤中污染物的有效性而促进污染物的去除^[7-12],还可能通过改变土壤中酶活性来促进或抑制污染物的微生物降解,实际应用中还应考虑茶皂素对土壤酶活性的影响。

4 结论

(1)试验浓度范围内,茶皂素溶液对玉米、绿豆和菜心种子的发芽率及根长均具有显著抑制作用(绿豆种子发芽率除外)。0.2%处理对3种种子根伸长的抑制率达33.1%以上,显著低于对照处理,对玉米和菜心种子发芽率的抑制率约为10%。

(2)茶皂素对种子发芽率及根长抑制作用的强弱与种子类型有关。种子发芽率的抑制作用由强到弱依次为玉米>菜心>绿豆,种子根伸长的抑制作用由强到弱依次为菜心>玉米>绿豆。

(3)茶皂素对土壤过氧化氢酶活性具有显著的抑制作用,而对多酚氧化酶则具有显著的促进作用。

参考文献:

- [1] 宛晓春. 茶叶生物化学[M]. 北京:中国农业出版社, 2003.
WAN Xiao-chun. Tea biochemistry[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2003.
- [2] 夏春华, 朱全芬, 田洁华, 等. 茶皂素的表面活性及其相关的功能性质[J]. 茶叶科学, 1990, 10(1): 1-10.
XIA Chun-hua, ZHU Quan-fen, TIAN Jie-hua, et al. Surface activity of tea saponin and the related functional properties[J]. *Tea Science*, 1990, 10(1): 1-10.
- [3] 柳荣祥, 夏春华, 朱全芬. 茶皂素表面活性理论体系及其应用[J]. 茶叶, 1996, 22(1): 10-13.
LIU Rong-xiang, XIA Chun-hua, ZHU Quan-fen. The theory and its application of tea saponin[J]. *Journal of Tea*, 1996, 22(1): 10-13.
- [4] 彭艳春, 袁兴中, 曾光明, 等. 茶皂素与十二烷基硫酸钠复配体系浮选去除废水中金属离子的研究[J]. 应用化工, 2008, 37(2): 125-128.
PENG Yan-chun, YUAN Xing-zhong, ZENG Guang-ming, et al. Research of removing metal ions from wastewater with mixed tea saponin and sodium lauryl sulfate by flotation[J]. *Applied Chemical Industry*, 2008, 37(2): 125-128.
- [5] 孟佑婷, 袁兴中, 曾光明, 等. 生物表面活性剂茶皂素离子浮选去除废水中镉离子[J]. 环境科学学报, 2005, 25(8): 1029-1033.
MENG You-ting, YUAN Xing-zhong, ZENG Guang-ming, et al. Removal of cadmium from wastewater with plant derived biosurfactant tea saponin by ion flotation[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2005, 25(8): 1029-1033.
- [6] Yuan X Z, Meng Y T, Zeng G M, et al. Evaluation of tea-derived biosurfactant on removing heavy metal ions from dilute wastewater by ion flotation[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng Aspects*, 2008, 317(1-3): 256-261.
- [7] 张中文, 李光德, 周楠楠, 等. 茶皂素对污染土壤中重金属的修复作用[J]. 水土保持学报, 2008, 22(6): 67-70.
ZHANG Zhong-wen, LI Guang-de, ZHOU Nan-nan, et al. Removal of heavy metals in contaminated soils with tea saponin[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2008, 22(6): 67-70.
- [8] 李光德, 张中文, 敬 佩, 等. 茶皂素对潮土重金属污染的淋洗修复作用[J]. 农业工程学报, 2009, 25(10): 231-235.
LI Guang-de, ZHANG Zhong-wen, JING Pei, et al. Leaching remediation of heavy metal contaminated fluvio-aquatic soil with tea-saponin[J]. *Transactions of the CSAE*, 2009, 25(10): 231-235.
- [9] 朱清清, 邵超英, 张 琢, 等. 生物表面活性剂皂角苷增效去除土壤中重金属的研究[J]. 环境科学学报, 2010, 30(12): 2491-2498.
ZHU Qing-qing, SHAO Chao-ying, ZHANG Zhuo, et al. Saponin biosurfactant-enhanced flushing for the removal of heavy metals from soils[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2010, 30(12): 2491-2498.
- [10] Tang S Y, Bai J Q, Yin H, et al. Tea saponin enhanced biodegradation of decabromodiphenyl ether by *Brevibacillus brevis*[J]. *Chemosphere*, 2014, 114: 255-261.
- [11] Huang J, Ye J S, Ma J W, et al. Triphenyltin biosorption, dephenylation pathway and cellular responses during triphenyltin biodegradation by *Bacillus thuringiensis* and tea saponin[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2014, 249: 167-173.
- [12] Xia H L, Chi X Y, Yan Z J, et al. Enhancing plant uptake of polychlorinated biphenyls and cadmium using tea saponin[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(20): 4649-4653.
- [13] 陈剑锋, 何晓玲, 李国平, 等. 油茶皂素鱼毒制剂对常见淡水鱼虾的毒性研究[J]. 淡水渔业, 2006, 36(1): 28-31.
CHEN Jian-feng, HE Xiao-ling, LI Guo-ping, et al. Study on toxicities of tea saponin medicament to some of the common[J]. *Freshwater Fish & Shrimp*, 2006, 36(1): 28-31.
- [14] 雷国建, 陈志良, 刘千钧, 等. 生物表面活性剂及其在重金属污染土壤淋洗中的应用[J]. 土壤通报, 2013, 44(6): 1508-1511.
LEI Guo-jian, CHEN Zhi-liang, LIU Qian-jun, et al. Biosurfactants and their applications in soil flushing of heavy metal pollution[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2013, 44(6): 1508-1511.
- [15] 何晓玲, 高进勇, 邵敬伟, 等. 茶皂素对蚯蚓、小菜蛾及枯萎病原真菌的急性毒性研究[J]. 福州大学学报(自然科学版), 2007, 35(5):

- 785-788.
- HE Xiao-ling, GAO Jin-yong, SHAO Jing-wei, et al. Acute toxicity effect on earthworm, *plutella xylostella* and *fusarium oxysporum* by tea saponin[J]. *Journal of Fuzhou University(Natural Science)*, 2007, 35(5):785-788.
- [16] Novotny C, Erbanova C P, Dadek V, et al. Extracellular oxidative enzyme production and PAH removal in soil by exploratory mycelium of white rot fungi[J]. *Biodegradation*, 1999, 10(3):159-164.
- [17] 丁克强, 骆永明, 刘世亮, 等. 黑麦草对非污染土壤修复的初步研究[J]. 土壤, 2002, 34(4):233-236.
- DING Ke-qiang, LUO Yong-ming, LIU Shi-liang, et al. Remediation of phenanthrene-intubated soil by growing *Lolium multiflorum* Lam[J]. *Soils*, 2002, 34(4):233-236.
- [18] 王 洪, 李海波, 孙铁珩, 等. 生物修复 PAHs 污染土壤对酶活性的影响[J]. 生态环境学报, 2011, 20(4):691-695.
- WANG Hong, LI Hai-bo, SUN Tie-heng, et al. Bioremediation of PAHs contaminated soil and its impacts on soil enzyme activity[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2011, 20(4):691-695.
- [19] 宫 璇, 李培军, 张海荣, 等. 菲对土壤酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(5):981-984.
- GONG Xuan, LI Pei-jun, ZHANG Hai-rong, et al. Effects of phenanthrene contamination of enzyme activity in soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2004, 23(5):981-984.
- [20] 朱 凡, 田大伦, 闫文德, 等. 四种绿化树种土壤酶活性对不同浓度多环芳烃的响应[J]. 生态学报, 2008, 28(9):4195-4202.
- ZHU Fan, TIAN Da-lun, YAN Wen-de, et al. The response of soil enzymatic activity to PAHs contamination for four urban afforestation species[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(9):4195-4202.
- [21] 马晋荣, 占新华, 周立祥, 等. 表征复合型有机污染场地土壤污染程度的生态指标研究[J]. 南京农业大学学报, 2010, 33(4):69-74.
- MA Jin-rong, ZHAN Xin-hua, ZHOU Li-xiang, et al. Ecological indicators indicating soil pollution in a compound organic contaminated site[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2010, 33(4):69-74.
- [22] 常 梅. 玉米种子培养皿法发芽试验误差分析[J]. 中国农学通报, 2006, 22(4):134-137.
- CHANG Mei. The error analysis in the germination test of corn seeds which is done by the method of culture dish[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2006, 22(4):134-137.
- [23] 向 垒, 莫测辉, 卢锡洪, 等. 纳米氧化铜对白菜种子发芽的毒害作用研究[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(9):1830-1835.
- XIANG Lei, MO Ce-hui, LU Xi-hong, et al. Toxicity of copper oxide nanoparticles to the seed germination of Chinese cabbage[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(9):1830-1835.
- [24] 李彦文, 黄献培, 向 垒, 等. 典型微囊藻毒素对白菜种子发芽的生态毒性[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(10):1879-1883.
- LI Yan-wen, HUANG Xian-pei, XIANG Lei, et al. Ecotoxicity of microcystins to seed germination of Chinese cabbage[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(10):1879-1883.
- [25] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京:农业出版社, 1986:320-328.
- GUAN Song-yin. Soil enzyme and the study methods[M]. Beijing: Agriculture Press, 1986:320-328.
- [26] Helenius A, Simons K. Solubilization of membranes by detergents[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1975, 415(1):29-79.
- [27] 栾 升, 倪晋山. 表面活性剂和 Ca^{2+} 对大麦根质膜透性的作用[J]. 植物生理学报, 1987, 13(2):168-173.
- LUAN Sheng, NI Jin-shan. Surface active agent and Ca^{2+} permeability of plasma membrane of barley root effect[J]. *Plant Physiology Journal*, 1987, 13(2):168-173.
- [28] 刘红玉. 表面活性剂对水生植物的损伤及生物降解研究[D]. 长沙:湖南农业大学, 2001.
- LIU Hong-yu. Study of the harmful effects on aquatic plants and the biodegradation of surfactants[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2001.
- [29] 杨冬业, 张丽珍, 徐淑庆. 西瓜不同生长阶段的过氧化氢酶活性研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(18):9604-9606.
- YANG Dong-ye, ZHANG Li-zhen, XU Shu-qing. Study on catalase activity in watermelon during its different growth periods[J]. *Journal of Anhui Agriculture Science*, 2012, 40(18):9604-9606.
- [30] 侯如燕. 茶皂素提取纯化及其抗菌活性研究[D]. 合肥:安徽农业大学, 2002.
- HOU Ru-ye. Studies on teasaponins' extraction and isolation and its antifungal activities[D]. Hefei: Agricultural University of Anhui, 2002.
- [31] 孔俊豪, 孙庆磊, 涂云飞, 等. 多酚氧化酶特性研究及其应用进展[J]. 中国野生植物资源, 2011, 30(4):13-17.
- KONG Jun-hao, SUN Qing-lei, TU Yun-fei, et al. Research progress on enzymatic characteristic and application of polyphenol oxidase[J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 2011, 30(4):13-17.