

铬胁迫对辣椒幼苗生长和生理生化特性的影响

陈庆华, 王百木 (永城职业学院, 河南永城 476600)

摘要 [目的] 探讨铬胁迫对茄果类蔬菜的毒害机理。[方法] 通过水培试验, 研究0(对照)、5、10、20、50和100 ng/L的 $K_2Cr_2O_7$ 溶液对辣椒幼苗生长和生理的影响。[结果] 随着 Cr^{6+} 浓度的升高, 辣椒幼苗的生长受到了明显的抑制, 株高、根部和地上部的鲜重、干重显著降低, 根冠比(干重)呈升高趋势, 叶绿素含量、叶绿素a/b值呈下降趋势, 细胞膜透性大幅度增大, 丙二醛(MDA)含量显著升高, 超氧化物歧化酶(SOD)活性下降, 过氧化物酶(POD)活性先上升后下降。 Cr^{6+} 浓度与根部和地上部的干重、叶绿素a含量均呈极显著的负相关, 与叶绿素b含量呈显著的负相关。[结论] 辣椒幼苗对低浓度的 Cr^{6+} 具有一定的抵抗作用。

关键词 辣椒; 铬胁迫; 生理生化特性

中图分类号 S641.3 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)22-09382-02

Effect of Chronic Stress on Growth and Physiology of Pepper Seedlings

CHEN Qing-hua et al (Yongcheng Vocational College, Yongcheng, Henan 476600)

Abstract [Objective] The purpose was to discuss the toxicity mechanism of chronic stress (Cr Stress) on solanaceous vegetable. [Method] Through water cultivation test, the effect on growth and physiology of pepper seedling by using 0 (CK), 5, 10, 20, 50 and 100 ng/L of $K_2Cr_2O_7$ solution was studied. [Result] The growth of pepper seedling was inhibited obviously with the increasing of concentration of Cr^{6+} , the fresh and dry weight of plant height, root and aerial part were decreased significantly, the root-shoot ratio (dry weight) showed raising tendency and chlorophyll content and chlorophyll a/b value had dropping trend, the cell membrane permeability increased greatly, malondialdehyde (MDA) content increased remarkably, the activity of superoxide dismutase (SOD) reduced, peroxidase (POD) activity risen up first and then dropped down. Cr^{6+} concentration had a significant negative correlation with all the dry weight of root and aerial part and content of chlorophyll a, and also presented a obvious negative correlation with the content of chlorophyll b. [Conclusion] Pepper seedling had a certain resistant function to Cr^{6+} with low concentration.

Key words Pepper; Chronic stress (Cr stress); Physiological and biochemical characteristics

近年来,随着工农业生产的发展,重金属对土壤和农作物的胁迫问题越来越突出,特别是对城市周围菜田的胁迫日益严重。重金属铬是一种毒性较大的致畸、致突变剂^[1]。蔬菜受重金属胁迫后,不仅严重影响其产量和品质,而且会进一步通过食物链进入人体,危及人类健康。国内外有关铬对水稻、小麦、玉米和花生等农作物的种子萌发、生理生化的影响已有不少报道^[2-7],但对茄果类蔬菜影响的研究尚未见报道。笔者以辣椒为材料,研究不同浓度的 Cr^{6+} 对辣椒生理生化特性的影响,旨在探讨铬对茄果类蔬菜毒害的机理,为蔬菜生产中早期预报和环境监测中评价重金属铬的胁迫以及消除其毒害提供一定的科学依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料 供试辣椒品种为黄元帅1号,购自河南省商丘市种子商店。

1.2 试验设计 辣椒种子经10% NaClO溶液消毒10 min、蒸馏水冲洗3次后,放入纱布内,用湿毛巾包住,于26℃培养箱内催芽。把催芽后长出根的辣椒种子播种于装有蛭石基质的培养钵中,用1/2 Hoagland培养液浇灌,待长出2~3片真叶后,选择长势一致的幼苗,移栽至装有2 L 1/2 Hoagland培养液的塑料桶中,常温、10 000~14 000 lx光照下培养,每天光照12 h,间歇性通气4~6 h,每2 d更换1次培养液。10 d后转移到含有0(CK)、5、10、20、50和100 ng/L $K_2Cr_2O_7$ 的新鲜1/2 Hoagland培养液中,培养10 d后开始采样测定各项指标。

1.3 测定指标及方法 植株生长情况测定指标包括株高、地上部分与根部的鲜重及干重;叶绿素含量采用80%丙酮浸

提法^[8]测定;丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定^[8];质膜透性采用DDS-11A电导仪^[9]测定,以相对电导率(%)表示;超氧化物歧化酶(SOD)活性采用王爱国等^[9]的方法测定,以抑制氮蓝四唑(NBT)光氧化还原的50%酶量为1个活力单位;过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法^[10],以每分钟内 $A_{470\text{nm}}$ 变化0.01为1个酶活单位。各项指标测定时至少重复3次,取平均值。

2 结果与分析

2.1 Cr^{6+} 胁迫对辣椒幼苗生长的影响 表1表明, Cr^{6+} 胁迫对辣椒幼苗生长产生了明显的抑制作用。当 Cr^{6+} 浓度较低时(10 ng/L),幼苗株高与对照相比稍有降低,差异不明显;当 Cr^{6+} 浓度增加到20 ng/L以上时,株高明显降低;当 Cr^{6+} 浓度为100 ng/L时,株高仅为对照的65.6%。表1还表明,幼苗根部、地上部分鲜重和干重等生物量随着 Cr^{6+} 处理浓度的升高而显著降低。相关性分析表明, Cr^{6+} 浓度与根部和地上部分干重的相关系数分别为-0.977 4**和-0.982 3**,呈极显著负相关。随着 Cr^{6+} 浓度的升高,根冠比(干重)呈升高趋势。说明 Cr^{6+} 胁迫对辣椒幼苗生长有明显的抑制作用,且对地上部分的抑制作用比对根部强。

2.2 Cr^{6+} 胁迫对辣椒幼苗叶绿素含量的影响 叶绿素是植物进行光合作用的色素,其含量高低在一定程度上可以反映光合作用水平。表2表明,随着 Cr^{6+} 胁迫浓度的升高,叶绿素a、叶绿素b和叶绿素总量都呈下降趋势。相关性分析表明,在 Cr^{6+} 胁迫下,叶绿素a、b的含量与 Cr^{6+} 浓度分别呈极显著、显著的负线性相关,其相关系数分别为-0.980 3**和-0.901 6*。叶绿素a/叶绿素b值随着 Cr^{6+} 胁迫浓度的增高而降低。说明 Cr^{6+} 胁迫使辣椒叶绿素含量明显降低,且对叶绿素a的影响大于对叶绿素b的影响。

2.3 Cr^{6+} 胁迫对辣椒幼苗细胞膜透性和丙二醛(MDA)含量的影响 植物在逆境时,细胞原生质膜中的不饱和脂肪酸会

基金项目 河南省永城市科技局自然科学科技攻关资助项目(200810306)。

作者简介 陈庆华(1965-),男,河南永城人,高级讲师,从事生物学教学及研究工作。

收稿日期 2008-05-19

表1 不同浓度Cr⁶⁺胁迫对辣椒幼苗生长的影响Table 1 Effects of different concentrations of Cr⁶⁺ stress on the growth of *Capsicum annuum* L.

| Cr ⁶⁺ 浓度 ng/L Cr ⁶⁺ concentration | 株高 cm Plant height | 根鲜重 g Fresh weight of roots | 根干重 g Dry weight of roots | 地上鲜重 g Fresh weight of the overground parts | 地上干重 g Dry weight of the overground parts | 根冠比(干重) Root-top ratio (Dry weight) |
|--|-----------------------|--------------------------------|------------------------------|--|--|--|
| 0(CK) | 17.66(100.0) | 2.73(100.0) | 0.162(100.0) | 10.05(100.0) | 1.00(100.0) | 0.162(100.0) |
| 5 | 17.35(98.2) | 1.64(60.1) | 0.123(75.9) | 6.93(69.0) | 0.64(64.0) | 0.192(118.5) |
| 10 | 16.75(94.8) | 1.44(52.7) | 0.112(69.1) | 5.23(52.0) | 0.51(51.0) | 0.220(135.8) |
| 20 | 15.03(85.1) | 1.16(42.5) | 0.100(61.7) | 4.46(44.4) | 0.41(41.0) | 0.244(144.3) |
| 50 | 13.32(75.4) | 0.99(36.3) | 0.069(42.3) | 2.60(25.9) | 0.24(24.0) | 0.286(150.6) |
| 100 | 11.58(65.6) | 0.82(30.0) | 0.055(34.0) | 2.23(22.2) | 0.18(18.0) | 0.306(188.9) |

注:括号中的数字为处理占对照的百分比。下同。

Note: Numbers in the bracket are the percentages of treatment in control. The same as below.

表2 不同浓度的Cr⁶⁺胁迫对辣椒叶绿素含量的影响Table 2 Effects of different concentrations of Cr⁶⁺ stress on the chlorophyll content of *C. annuum*

| Cr ⁶⁺ 浓度 Cr ⁶⁺ concentration ng/L | 叶绿素a Chlorophyll a ng/g FW | 叶绿素b Chlorophyll b ng/g FW | 叶绿素总量 Total amount of chlorophyll ng/g FW | 叶绿素a/叶 叶绿素b Ratio of chlorophyll a to chlorophyll b |
|---|----------------------------------|----------------------------------|--|--|
| 0(CK) | 1.65(100.0) | 0.567(100.0) | 2.217(100.0) | 2.91(100.0) |
| 5 | 1.47(89.1) | 0.545(96.1) | 2.065(93.1) | 2.70(92.8) |
| 10 | 1.36(82.4) | 0.522(92.1) | 1.882(85.4) | 2.61(89.7) |
| 20 | 1.19(72.1) | 0.469(82.7) | 1.659(74.8) | 2.54(87.1) |
| 50 | 0.97(58.9) | 0.431(76.0) | 1.401(63.2) | 2.25(77.3) |
| 100 | 0.74(44.7) | 0.396(69.8) | 1.136(51.2) | 1.87(64.3) |

发生过氧化作用产生MDA,使质膜系统受到伤害,细胞质内电解质外渗量增加,因而MDA含量可反映膜脂过氧化作用的强弱,质膜透性可表示膜受伤害或变性程度^[11]。表3表明,随着Cr⁶⁺胁迫浓度的升高,细胞膜透性及MDA含量均呈逐渐增加趋势。当Cr⁶⁺浓度低于10 ng/L时,无论是质膜透性还是MDA含量,其增幅都较小;当Cr⁶⁺浓度高于20 ng/L时,两者的增幅都明显增大;当Cr⁶⁺浓度为100 ng/L时,相对电导率和MDA含量分别为对照的1.87、1.67倍。说明辣椒对低浓度的Cr⁶⁺具有一定的耐受能力,而高浓度的Cr⁶⁺对辣椒具有明显的毒害作用。

表3 不同浓度的Cr⁶⁺胁迫对辣椒细胞膜透性和丙二醛(MDA)含量的影响Table 3 Effects of different concentrations of Cr⁶⁺ stress on the plasma membrane permeability and MDA content in the leaves of *C. annuum*

| Cr ⁶⁺ 浓度 Cr ⁶⁺ concentration ng/L | 相对电导率 Relative electrical conductivity % | MDA含量 MDA content μmol/g FW |
|---|--|-----------------------------------|
| 0(CK) | 8.43(100.0) | 17.26(100.0) |
| 5 | 8.65(102.6) | 18.81(109.0) |
| 10 | 9.65(114.5) | 19.12(110.8) |
| 20 | 11.46(135.9) | 21.79(126.2) |
| 50 | 13.47(159.8) | 25.45(147.5) |
| 100 | 15.79(187.3) | 28.78(166.7) |

2.4 Cr⁶⁺胁迫对辣椒幼苗超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性的影响 SOD是重要的活性氧清除酶,当外来胁迫导致大量活性氧产生时,它能及时有效清除自由基,保护细胞免受活性氧胁迫的伤害^[12],而POD是植物体内重要的抗氧化酶,能有效清除H₂O₂。表4表明,在Cr⁶⁺胁迫下,

辣椒叶片的SOD活性受到严重影响,当Cr⁶⁺浓度低于10 ng/L时,SOD活性略有降低,但不明显,随着Cr⁶⁺浓度的继续增加,SOD活性急剧下降。而POD活性则是随着Cr⁶⁺浓度的升高,表现出先升后降的趋势。在低浓度Cr⁶⁺胁迫下,POD活性呈现出明显的增幅,当Cr⁶⁺浓度为20 ng/L时,达到峰值为对照的1.45倍;当Cr⁶⁺浓度为50 ng/L时,POD活性明显下降,但仍略高于对照;当Cr⁶⁺浓度为100 ng/L时,POD活性明显低于对照,仅为对照的76.6%。说明Cr⁶⁺浓度低时,辣椒幼苗细胞对Cr⁶⁺胁迫具有一定的抵抗作用,但浓度过高时,抵抗作用逐渐消失。这与Cr⁶⁺胁迫对幼苗生长的影响规律是一致的。唐咏^[13]用重金属铅处理辣椒幼苗和石贵玉^[3]用Cr⁶⁺处理水稻幼苗,均发现随着处理浓度的增加,植物体内SOD活性下降,POD活性先增加后下降。这与该研究得到的结果类似。

表4 不同浓度的Cr⁶⁺胁迫对辣椒叶片SOD和POD活性的影响Table 4 Effects of different concentrations of Cr⁶⁺ stress on the activities of SOD and POD in the leaves of *C. annuum*

| Cr ⁶⁺ 浓度 ng/L Cr ⁶⁺ concentration | SOD活性 U/g FW SOD activity | POD活性 U(g·min) ⁻¹ FW POD activity |
|--|------------------------------|---|
| 0(CK) | 27.8(100.0) | 267.7(100.0) |
| 5 | 27.4(98.6) | 310.4(116.0) |
| 10 | 26.2(94.2) | 351.3(131.2) |
| 20 | 22.9(82.4) | 387.4(144.7) |
| 50 | 20.2(72.7) | 304.6(113.8) |
| 100 | 17.1(61.5) | 205.1(76.6) |

3 结论与讨论

(1) 研究结果表明,Cr⁶⁺胁迫对辣椒根部、地上部分鲜重和干重以及株高都具有明显的抑制作用,这可能是由于铬作为非必需元素,在植物体内积累到一定程度,会影响细胞分裂和生长,干扰营养物质的吸收和分配,从而抑制辣椒的生长。结果还表明,Cr⁶⁺胁迫使辣椒叶片叶绿素含量显著降低,并影响其组成。Cr⁶⁺导致叶绿素含量下降,可能是由于铬与相关酶作用,抑制叶绿素前体的合成,促进叶绿素分解,或直接破坏叶绿体结构,从而降低叶绿素含量^[14]。叶绿素a/b值随着Cr⁶⁺处理浓度的升高而降低,这与王林等^[15]用镉、铅及其复合物处理辣椒所得到的结论类似。有学者认为,叶绿素a/b值随着叶片衰老而下降,可以作为叶片衰老的指标^[16]。说明Cr⁶⁺胁迫具有加速叶片衰老的作用。

Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 及其复合污染处理 20 d, Pb^{2+} 浓度小于 15 ng/L 时, 处理株叶片可溶性蛋白含量与对照相比, 变化不明显, Pb^{2+} 浓度为 15 ng/L 时, 处理株叶片可溶性蛋白含量与对照相比, 增加了 25.8%, 说明低浓度 Pb^{2+} 对可溶性蛋白含量影响不大, 而高浓度 Pb^{2+} 能够增加可溶性蛋白含量, 这可能与高浓度 Pb^{2+} 抑制叶片生长有关。单一 Cd^{2+} 处理, 随着浓度的升高处理株叶片可溶性蛋白含量表现为两端高、中间低; Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 复合污染处理, 随着浓度的升高处理株叶片可溶性蛋白含量表现为中间高、两端低。从以上分析可知, 2 种重金属对可溶性蛋白含量影响没有协同效应。

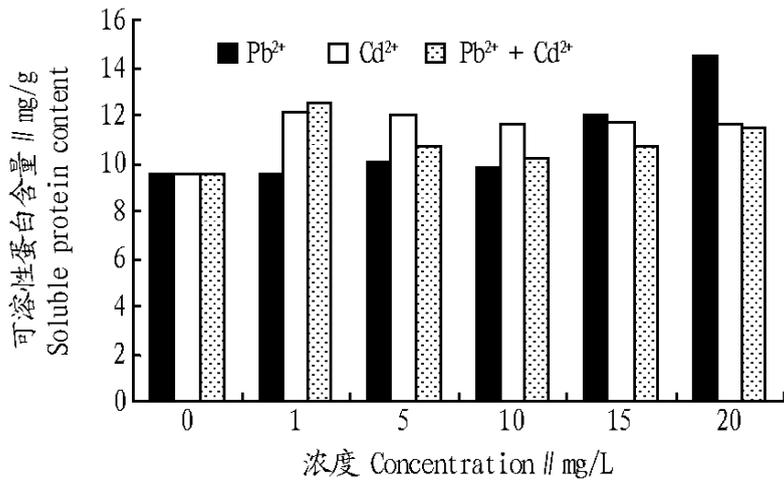


图5 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 及其复合污染对云和雪梨叶片可溶性蛋白含量的影响

Fig. 5 Effects of Pb^{2+} , Cd^{2+} and their compound pollution on the content of soluble protein in the leaves of Yurhe snow pear

(上接第9383页)

(2) 在自然条件下, 植物生长不可避免地会受到多种逆境胁迫, 如重金属、干旱、盐、高温、低温、高辐射、紫外线、养分缺乏和大气胁迫。这些非生物胁迫均会产生次级胁迫, 使植物直接或间接地形成过量的活性氧自由基(ROS), 而ROS对细胞膜系统、脂类、蛋白质和核酸等大分子具有强烈的破坏作用^[17-19]。植物体内有一套复杂的活性氧清除系统, 其中SOD、POD是植物体内酶促防御系统的2个重要保护酶, 它们协同起来可以保护植物细胞免受活性氧的损伤。该研究结果表明, 随着 G^{6+} 胁迫浓度的增加, 辣椒幼苗的细胞膜透性及MDA含量逐渐增大, SOD活性下降, 而POD活性先升高后降低。SOD活性下降可能是铬胁迫下产生过量的ROS对酶蛋白的破坏所致。POD活性升高表明其对铬胁迫的适应性较强。但综合来看, 在低浓度 G^{6+} 胁迫时, 铬对辣椒幼苗的SOD活性无明显的抑制作用, POD活性则明显增加, 说明辣椒对低浓度的 G^{6+} 具有一定的抵抗作用。但在高浓度 G^{6+} 胁迫下保护酶的活性很低, 保护酶系统对活性氧的清除能力大大削弱, 已不能阻止自由基在细胞内积累, 使膜发生膜脂过氧化, MDA积累, 膜透性增加, 导致膜功能受损, 从而引起细胞的衰老和死亡, 对植物产生抑制效应甚至毒害作用。

参考文献

- [1] 周红卫, 施国新, 徐勤松, 等. G^{6+} 和 G^{3+} 对水花生几种生理生化指标的影响比较[J]. 农村生态环境, 2002, 18(4): 35-40.
- [2] 赵世杰, 刘华山, 董新纯. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业科

3 结论与讨论

Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 对云和雪梨树苗的影响是多方面的, Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 的污染抑制了苗木的生长。叶绿素含量是衡量叶片衰老的重要的生理指标。重金属离子能够抑制叶绿素的合成, 由于叶绿素含量与叶绿素合成和叶片生长速度有关, 当叶片生长严重受阻时, 叶绿素含量反而上升。SOD作为 $O_2^{\cdot-}$ 的清除剂, 其活性高低与植物抗性大小有一定的相关性, 重金属离子能够抑制SOD活性, 使 $O_2^{\cdot-}$ 对植株的毒害性增强。MDA是硫代巴比妥酸的反应产物, 是对细胞生命活动有害的基团, 重金属处理后的植株MDA的含量较对照高, 说明膜脂过氧化损伤程度高。以上结果进一步证实, Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 污染对植物伤害的重要机制之一是活性氧自由基的过量积累导致膜脂过氧化。GSH具有抗氧化作用, 能够消除体内过氧化物及自由基, 受重金属污染时, 植株GSH含量上升, 以增强植株的抗氧化性。重金属处理引起叶片可溶性蛋白质含量上升, 这可能与叶片细胞分裂受到抑制有关。 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 对MDA合成具有协同作用, 而对其他所测指标的影响则没有协同性, 说明相互作用机制复杂, 有待于进一步研究。

参考文献

- [1] ARNON DI. Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*[J]. *Hart Physiol*, 1949, 24: 1-5.
- [2] 刘鹏, 杨玉爱. 钼、硼对大豆叶片膜脂过氧化及体内保护系统的影响[J]. 植物学报, 2000, 42(5): 461-466.
- [3] FOYER C H, LELAND DAIS M, KUNERT K J. Photooxidative stress in plant[J]. *Physiologia Hartarum*, 1994, 92: 708.
- [4] 赵可夫, 王韶唐. 作物抗性生理[M]. 北京: 中国农业出版社, 1990: 153-160.
- [5] 石贵玉. 重金属 G^{6+} 对水稻幼苗的毒害效应[J]. 广西科学, 2004, 11(2): 154-156.
- [6] 张义贤. 三价铬和六价对大麦毒害效应的比较[J]. 中国环境科学, 1997, 17(6): 565-567.
- [7] 马丽苹, 张敏, 康怀彬. G^{6+} 对小麦种子萌发及生长的影响[J]. 安徽农学通报, 2004, 10(6): 27-28.
- [8] 周希琴, 吉前华. 铬胁迫对不同玉米品种种子萌发生理生态的影响[J]. 湖北农业科学, 2005(4): 41-45.
- [9] 郭建林, 代西梅, 李欢庆. G^{3+} 对玉米种子萌发的影响[J]. 河南科学, 2004, 22(2): 67-69.
- [10] 汤章城. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [11] 王爱国, 罗广华, 邵从本, 等. 大豆种子超氧化物歧化酶的研究[J]. 植物学报, 1983, 9(1): 77-84.
- [12] 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: 165-167.
- [13] 孙文越, 王辉. 外来甜菜碱对干旱胁迫下小麦幼苗膜质过氧化作用的影响[J]. 西北植物学报, 2001, 21(3): 487-491.
- [14] 张玉秀, 柴团耀, GERARD BURKARD. 植物耐重金属机理研究进展[J]. 植物学报, 1999, 41(5): 453-457.
- [15] 唐咏. 铅胁迫对辣椒幼苗生长及SOD和POD活性的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2001, 32(1): 26-28.
- [16] VALLEE BI, UMER D D. Biochemical effects of mercury, cadmium, and lead[J]. *Annu Rev Biochem*, 1972, 41: 91-128.
- [17] 王林, 史衍玺. 镉、铅及其复合物胁迫对辣椒生理生化特性的影响[J]. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2005, 36(1): 107-112.
- [18] 余苹中, 廖柏寒, 宋稳成, 等. 模拟酸雨和Cd对小白菜、四季豆生理生化特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(1): 43-46.
- [19] KANAZAWA S. Changes in antioxidative in cucumber cotyledons during natural senescence: Comparison with those during dark induced senescence[J]. *Physiol Hart*, 2000, 109: 211-216.
- [20] NOCTOR C, FOYER C H. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control[J]. *Annu Rev Hart Mol Biol*, 1998, 49: 249-279.
- [21] BECANA M. Reactive oxygen species and antioxidants in legume nodules[J]. *Physiol Hart*, 2000, 109: 372-381.

学技术出版社, 1998.