

六价铬对玉米幼苗生长及抗氧化系统的影响

黄 辉, 高 峡, 王 娟

(天津师范大学生命科学学院, 天津 300386)

摘 要:为系统研究六价铬[Cr(VI)]对玉米幼苗生长及抗氧化系统的影响,采用水培方法,在培养液中加入不同浓度重铬酸钾(0 、 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} mol·L $^{-1}$),胁迫不同时间(6、12、18 d)后对幼苗进行各项指标检测。结果表明,低浓度铬(10^{-6} mol·L $^{-1}$)对幼苗生长有一定刺激作用,且对地上部分刺激作用更明显;对叶片抗氧化酶活性及抗坏血酸含量没有显著影响。中浓度铬(10^{-5} mol·L $^{-1}$)胁迫明显抑制根部生长($n=15$, $P<0.01$),对地上部分干重积累无显著影响,使幼苗含水量有明显下降($n=15$, $P<0.01$);MDA 含量明显升高($n=5$, $P<0.01$);18 d 后,SOD 和 ASA-POD 活性分别升高 50.9%和 125.0%,POD 活性下降 72.3%,抗坏血酸含量上升约 2 倍。高浓度铬(10^{-4} mol·L $^{-1}$)胁迫下幼苗生长几乎停止,含水量明显下降($n=15$, $P<0.05$)。铬在玉米幼苗中的积累明显影响其生长,造成植株含水量下降,冠根比增大,叶片抗氧化酶活性剧烈变化并受到严重的氧化胁迫。

关键词:铬;玉米;含水量;抗氧化酶;抗坏血酸

中图分类号:Q945.78 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2011)04-0633-06

The Influence of Cr(VI) to the Growth and Antioxidant System of Seedling of *Zea mays* L.

HUANG Hui, GAO Xia, WANG Juan

(College of Life Science, Tianjin Normal University, Tianjin 300386, China)

Abstract: The influence of Cr(VI) to the growth and antioxidant system of maize (*Zea mays* L.) was studied systematically. Seedlings were cultivated in Hoagland liquid medium, which contained different concentrations of $K_2Cr_2O_7$ (0 , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} mol·L $^{-1}$). After 6, 12 and 18 days of stress, physiological parameters of seedlings were measured. In the concentration of 10^{-6} mol·L $^{-1}$, the growth of seedlings was promoted and whereas that of parts above the earth more notably; and the activities of antioxidant system and content of ascorbic acid were almost the same as those of control. Under the stress of 10^{-5} mol·L $^{-1}$, the root growth was restrained markedly and however the dry weight above the earth was almost not inhibited, which made the increase of the ratio of part above the earth to root; the content of water decreased obviously; after 18 days, the activity of SOD increased by 50.9%, that of ASA-POD increased by 125.0% and that of POD decreased by 72.3%; the contents of ascorbic acid and MDA increased obviously. In the concentration of 10^{-4} mol·L $^{-1}$, the seedlings almost did not grow and the content of water decreased notably. In brief, the accumulation of Cr in *Zea mays* made the decrease of water content and the increase of the ratio of part above the earth to root, which affected the normal growth of seedlings. It also caused notable change of antioxidant system in leave, and however, leave of seedling was damaged severely by the oxidant stress.

Keywords: chromium; *Zea mays*; water content; antioxidant enzyme; ascorbic acid

铬(Cr)被称为重金属“五毒”之一,有多种价态,其中三价 Cr(Ⅲ)和六价 Cr(Ⅵ)较稳定,而后者毒性最强,常以 $Cr_2O_7^{2-}$ 和 CrO_4^{2-} 形式存在^[1]。随着经济快速发展,铬污染已成为一些城郊主要重金属污染形式^[2-3]。

虽然三价铬是人体必需微量元素,而过量铬可以直接或通过食物链危害人类健康,造成严重的致癌、致畸作用^[4]。铬是植物非必需元素,影响其水分、矿质元素吸收以及光合、固氮、抗氧化系统等诸多生理过程,对植物的生长、发育具有明显抑制作用^[5]。Cr(Ⅵ)通过运输必需元素(Fe、S、P)的载体以主动运输形式被根部吸收^[6]。铬被吸收后被储存于细胞液泡中,限制了其进一步迁移,因此铬主要积累于根部^[7]。铬在植物体内运输主要通过木质部进行,铬在体内积累浓度超过 100

收稿日期:2010-09-20

基金项目:国家自然科学基金(30570101);天津师范大学博士启动基金(5RL034)

作者简介:黄 辉(1976—),男,天津人,博士,副教授,主要从事植物生物化学和光合作用方面研究。E-mail:hippoh@sina.com.cn

$\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ (干重)时会对很多高等植物造成毒害作用^[8]。总体来说,虽然铬对植物影响方面研究已历经几十年,而其广度和深度仍不及镉、铅、汞、铝等^[9]。玉米是我国主要大田农作物之一,为 C4 植物,种植面积广、产量高,研究显示,玉米对多种环境胁迫均表现出较强抗性。本实验以玉米景白鲜 2 号为实验材料,采用水培方式,研究不同浓度 Cr(VI) (10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)胁迫过程中玉米幼苗生长状况、含水量及抗氧化系统影响,以评价其毒害程度,为提高玉米抗铬能力及植物修复提供相关理论依据。

1 材料与方法

1.1 植物培养及胁迫

供试玉米(*Zea mays* L.)种子为景白鲜 2 号。种子经 NaClO 消毒,萌发露白后,用 Hoagland 营养液进行水培,分为 4 组,每组 5 盆,每盆(直径 15 cm,容积 1.5 L)10 颗,各组营养液分别含 0(对照)、 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 铬离子($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$),每 3 d 换 1 次营养液。培养条件:最大光照强度 $1\,800\,\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,昼夜温度为 $(25\pm 2)^\circ\text{C}/(15\pm 2)^\circ\text{C}$,相对湿度 $(50\pm 5)\%$ 。以上各组分别简称为 CK、 10^{-6} 、 10^{-5} 组和 10^{-4} 组。

1.2 形态指标测定

水培第 6、12、18 d,随机选取对照及每个处理组的 15 株幼苗(即每盆中随机选取 3 株),测定其根长、根部及地上部分鲜重与干重,并计算含水量及冠根比。实验中选择玉米幼苗初生根中最长的根进行根长测量。

含水量($\%$)=(单株鲜重-单株干重)/单株鲜重 $\times 100\%$

冠根比=地上部分鲜重(干重)/根部鲜重(干重)

1.3 生理生化指标测定

水培第 6、12、18 d,选取第 3 片真叶,提取其中可溶性蛋白酶, 10^{-4} 组由于生长基本停滞无法取材。超氧化物歧化酶(SOD)活性测定使用 NBT 还原法,过氧化物酶(POD)采用愈创木酚法,过氧化氢酶(CAT)采用 H_2O_2 紫外比色法^[9-10];抗坏血酸过氧化物酶(ASA-POD)活性测定及抗坏血酸含量测定参照文献[11-12]。另外,使用硫代巴比妥酸(TBA)法测定丙二醛(MDA)含量。以上指标每个处理组随机选取 5 株(即每盆中随机选取 1 株)。

1.4 统计分析方法及作图

采用 SPSS version 10.0 统计软件进行统计分析,作图使用 Sigmaplot 8.0 作图软件。

2 结果与分析

2.1 生长状况

2.1.1 根部生长状况

图 1 结果显示, 10^{-6} 组根长与 CK 基本一致,而鲜重和干重略高于 CK; 10^{-5} 组根部生长缓慢,胁迫 12 d 后以上指标均明显低于 CK($n=15$, $P<0.01$),且随时间延长,差距逐渐增大;而 10^{-4} 组根部生长基本处于停滞状态。

2.1.2 地上部生长状况

图 2 结果显示, 10^{-6} 组地上部生长速度快于 CK,

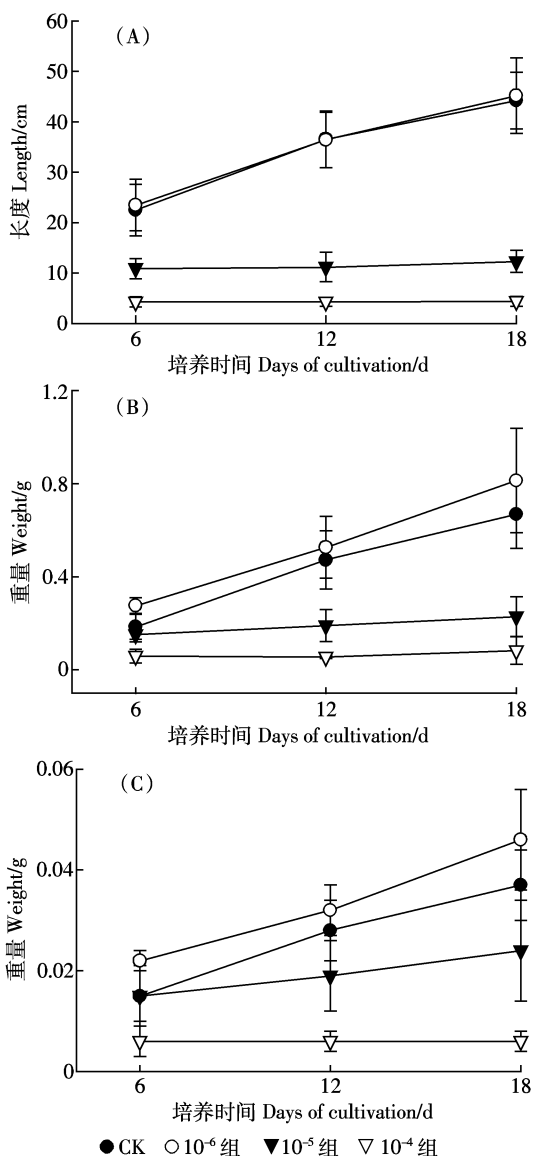


图 1 铬对玉米幼苗根部根长(A)、鲜重(B)及干重(C)的影响
Figure 1 Effects of Cr(VI) on length(A), fresh weight(B) and dry weight(C) of maize seedling root

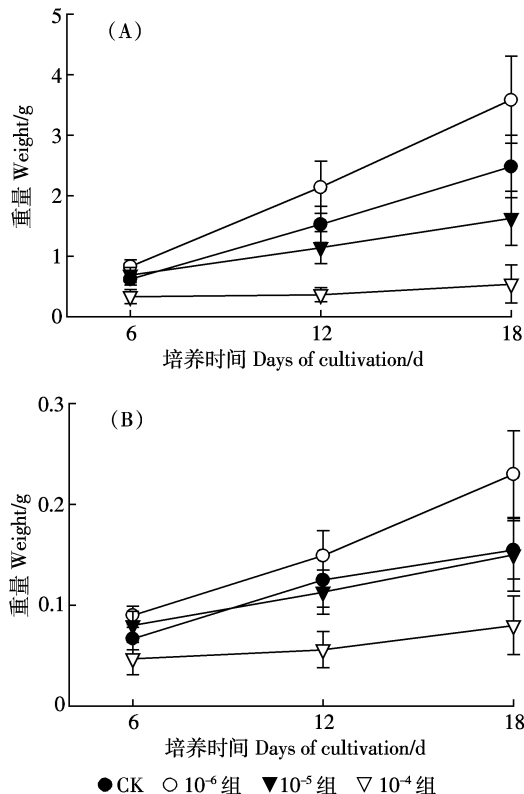


图2 铬对玉米幼苗地上部鲜重(A)与干重(B)的影响
Figure 2 Effects of Cr(VI) on fresh weight(A) and dry weight(B) in part above the earth of maize seedling

18 d时鲜重和干重均明显高于CK($n=15, P<0.05$); 18 d时 10^{-5} 组鲜重明显低于CK($n=15, P<0.05$), 而干重与CK无明显差异; 10^{-4} 组生长非常缓慢, 两项指标均显著低于对照($n=15, P<0.01$)。

表1 铬对玉米幼苗冠根比的影响

Table 1 Effects of Cr(VI) on the ratio of part above the earth to root in maize seedling

处理 Treatment	冠根比(鲜重)Ratio of fresh weight of part above the earth to root			冠根比(干重)Ratio of dry weight of part above the earth to root		
	6 d	12 d	18 d	6 d	12 d	18 d
CK	3.51±0.62a	3.32±0.46a	3.75±0.60a	3.67±0.79a	3.69±0.31a	4.19±0.54a
10^{-6} M	3.10±0.83a	4.25±0.55a	4.56±0.89a	3.22±0.68a	4.68±0.66b	5.06±0.76a
10^{-5} M	4.64±0.79b	6.68±2.23b	7.42±1.31b	4.42±0.79a	6.95±3.08c	6.52±1.20b
10^{-4} M	6.00±0.99c	6.81±2.18b	7.88±2.94b	6.62±1.24b	9.12±2.87d	13.71±3.48c

注: 同列不同字母表示处理间差异显著($P<0.01$)。下同。

表2 铬对玉米幼苗含水量的影响

Table 2 Effects of Cr(VI) on the content of water of maize seedling

处理 Treatment	根部鲜重含水量/% Water content of fresh weight of root			地上部鲜重含水量/% Water content of fresh weight of part above the earth		
	6 d	12 d	18 d	6 d	12 d	18 d
CK	91.8±1.4a	93.9±0.7a	94.4±0.4a	91.7±0.4a	93.2±0.6a	93.7±0.2a
10^{-6} M	92.1±0.8a	93.5±1.1a	94.2±0.4a	91.8±0.7a	92.9±0.7a	93.6±0.2a
10^{-5} M	90.0±2.0a	89.8±2.4b	89.3±1.3b	90.6±0.8a	90.1±0.6b	90.6±0.8b
10^{-4} M	88.8±2.8b	89.6±3.6b	89.6±2.0b	87.9±1.2b	84.3±3.2c	83.7±3.8c

2.1.3 冠根比

与CK相比(表1), 鲜重和干重的冠根比随着铬处理浓度的升高而依次上升, 其中 10^{-5} 组和 10^{-4} 组均显著高于对照($n=15, P<0.01$)。

2.1.4 含水量

从表2可知, 培养过程中, 10^{-6} 组根部及地上部含水量与CK基本一致, 且均呈上升趋势; 10^{-5} 组根部及地上部含水量12 d后均显著低于CK($n=15, P<0.01$), 根部含水量在培养过程中略呈下降趋势, 而地上部基本持平; 10^{-4} 组根部($n=15, P<0.05$)及地上部($n=15, P<0.01$)含水量均显著低于CK, 根部含水量12 d后基本不变, 地上部则呈明显下降趋势。

2.2 生理生化指标

2.2.1 SOD、POD、CAT活性

10^{-6} 组SOD活性6 d时显著高于CK($n=5, P<0.01$), 而后下降, 12 d后与CK基本相同; 10^{-5} 组SOD活性在培养过程中变化幅度剧烈, 6 d时显著高于CK($n=5, P<0.01$), 12 d时则显著低于CK($n=5, P<0.01$), 随后又升高, 使得18 d时明显高于CK($n=5, P<0.05$) (图3-A)。CK和处理组POD活性在培养12 d前维持在较低水平且基本无差异, 随后活性升高, 18 d时 10^{-6} 组POD活性略高于CK, 而 10^{-5} 组则明显低于CK($n=5, P<0.01$) (图3-B)。CK和处理组CAT活性在培养过程中均接近零且无显著差异(图略)。

2.2.2 ASA-POD活性及抗坏血酸含量

10^{-6} 组ASA-POD活性在培养过程中与CK无明显差异, 而 10^{-5} 组该酶活性明显高于CK($n=5, P<$

0.01), 随时间延长, 差异愈加显著(图 3-C)。6 d 时, 处理组脱氢抗坏血酸(DASC)含量均明显低于 CK ($n=5, P<0.01$), 而 18 d 时 10^{-6} 组与 CK 基本相同, 10^{-5} 组则显著高于 CK ($n=5, P<0.01$)(图 4-B); 还原型抗坏血酸(ASC)与总抗坏血酸(ASC+DASC)含量变化趋势基本一致, 18 d 时, 10^{-5} 组两项指标均明显高于 CK ($n=5, P<0.01$)(图 4-A, C)。

2.2.3 MDA 含量

10^{-6} 组 MDA 含量在培养过程中与 CK 无明显差异, 而 10^{-5} 组则显著高于 CK ($n=5, P<0.01$)(图 4-D)。

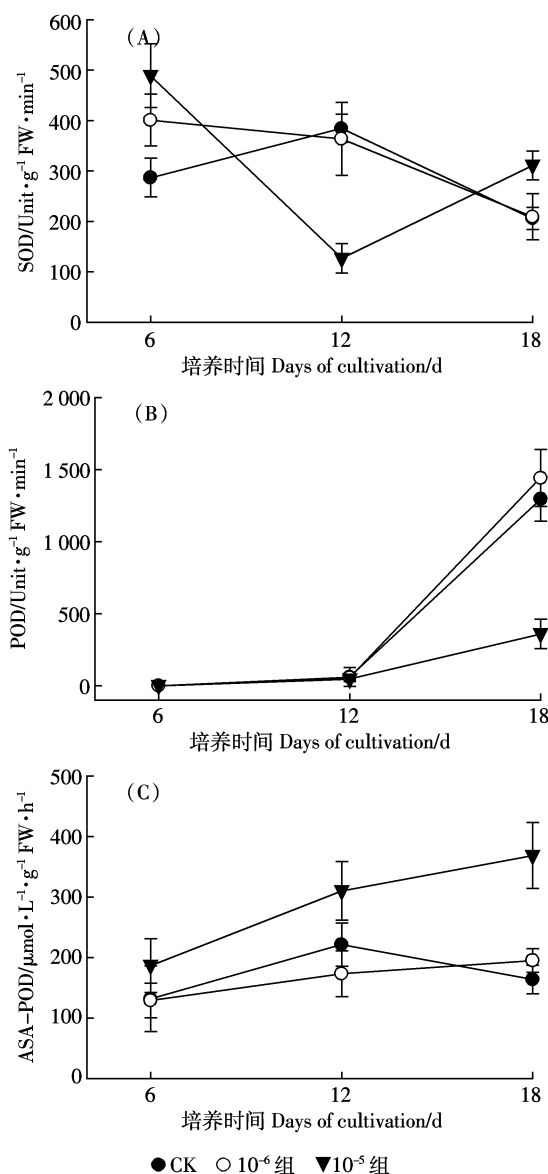


图 3 铬对玉米幼苗叶片 SOD(A)、POD(B) 及 ASA-POD(C)活性的影响

Figure 3 Effects of Cr(VI) on activities of SOD(A), POD(B) and ASA-POD(C) in maize seedling leave

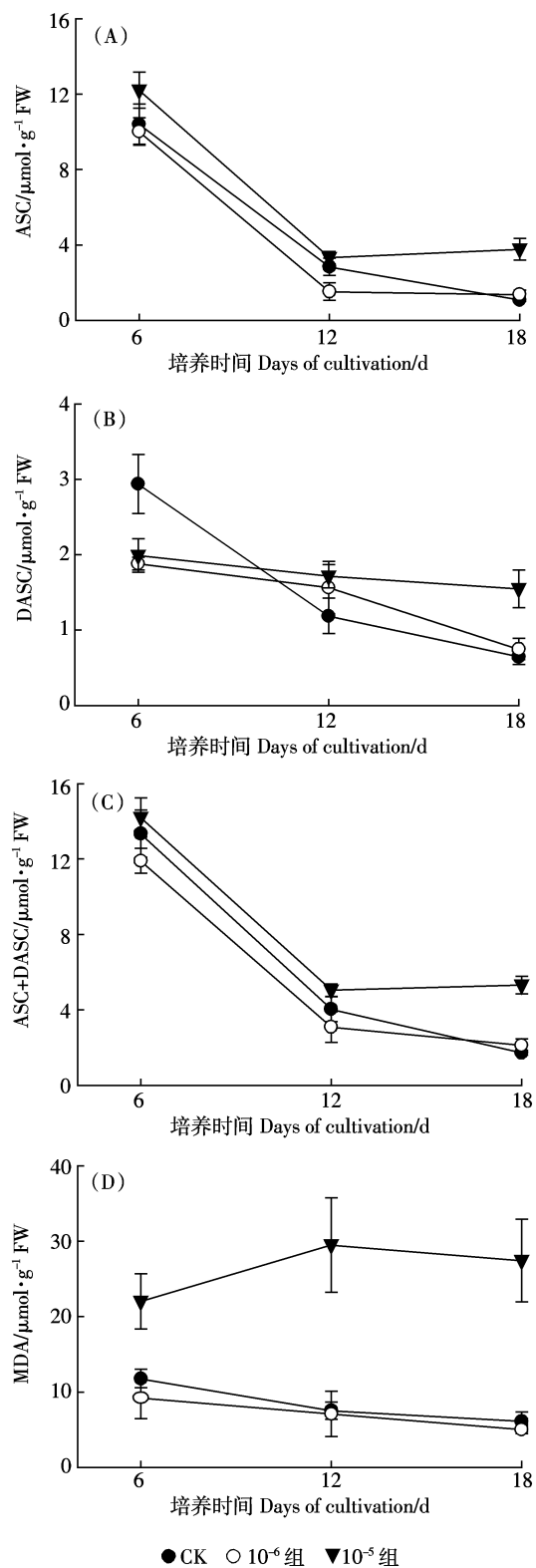


图 4 铬对玉米幼苗叶片还原型抗坏血酸 ASC(A)、脱氢抗坏血酸 DASC(B)、总抗坏血酸 ASC+DASC(C)含量及丙二醛(D)含量的影响

Figure 4 Effects of Cr(VI) on contents of ascorbate(ASC, A), dehydroascorbate(DASC, B), ASC+DASC(C) and malondialdehyde(MDA, D) in maize seedling leave

3 讨论

本实验以根长、鲜重、干重、含水量及冠根比为指标检测了Cr(VI)对玉米幼苗生长的影响。综合以上结果,低浓度($10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)Cr(VI)对玉米根及地上部分生长均有促进作用,这与Panda和Patra^[13]在小麦幼苗中得到的结果一致,相比之下,对地上部分促进作用更为显著,在培养过程中地上部生长速度略高于对照;该浓度的处理对幼苗含水量几乎无影响,表明低浓度Cr(VI)处理并未影响到水分的吸收及运输过程,这可能由于少量铬被吸收后,可被完全束缚于根部细胞液泡中,不会对主要生理过程产生影响。其他重金属(镉等)在低浓度下对玉米幼苗生长的促进作用也见诸报道^[14]。中浓度($10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)Cr(VI)胁迫下,玉米根部及地上部含水量均明显低于对照,且培养过程中根部含水量呈下降趋势,表明毒害作用不断加强,可见该浓度下水分的吸收、运输均受到抑制作用,地上部含水量下降可能与Cr(VI)胁迫下导管直径下降进而影响水分长距离运输有关^[15];根部生长受到显著抑制,而地上部干重的积累未受影响,因此地上部鲜重的降低是由于含水量降低的缘故,以上结果导致冠根比升高,表明地上、地下部分生长进一步失调。高浓度($10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)Cr(VI)处理导致玉米幼苗生长基本停止,地上部含水量呈下降趋势,表明水分运输被严重抑制,而根部含水量反而呈上升趋势。高浓度、长时间的处理导致根部细胞死亡,膜系统崩解可能是根部含水量反常上升的原因。

抗氧化系统是植物重要的保护机制,重金属胁迫后,往往造成抗氧化酶活性的剧烈变化,因此铬对植物抗氧化系统的影响一直受到广泛关注^[16-18]。SOD、POD、CAT 3种酶构成的体系是抗氧化系统的重要组成部分,也是抗氧化系统对重金属胁迫响应研究的热点,一般来说抗氧化酶对重金属胁迫表现出“低促高抑”的特点^[19-20]。相比之下,以往对重金属胁迫下与抗坏血酸相关的抗氧化系统研究较少。还原型抗坏血酸可直接清除氧化胁迫,也可在ASA-POD等酶的作用下,作为底物发挥作用,其产物——脱氢抗坏血酸可被还原再利用。SOD是植物抗氧化胁迫中的第一道防线,其活性对环境和发育反应很敏感。实验中,SOD活性随时间变化最为剧烈,对照组呈现“先升后降”趋势。培养5~7 d时,幼苗进入三叶期,此时幼苗已基本上脱离胚乳的营养供应,靠根系吸收水分及矿质元素;此外,光合作用明显增强。因此,推测其抗氧化酶活性

的剧烈变化可能与营养方式转变过程中同工酶的表达有关。本研究显示,低浓度($10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)Cr(VI)胁迫对3种酶活性均没有显著影响,只是SOD活性在胁迫6 d时高于对照,抗坏血酸含量及ASA-POD活性也与对照基本一致,MDA含量显示低浓度胁迫虽未激发抗氧化系统活性,也未造成叶片氧化损伤,可能是铬主要积累于根部,运输至地上的量太低的缘故;而中浓度($10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)使抗氧化酶活性发生显著变化,但趋势迥异:SOD活性变化最为复杂和剧烈,推测可能和胁迫过程中同工酶组成的变化相关;POD活性被明显抑制;ASA-POD显著升高,抗坏血酸含量也明显高于对照,而同时铬胁迫依然造成叶片显著的氧化损伤,可能是叶片中的铬毒害超过了抗氧化系统的保护能力,其原因可能是铬抑制了线粒体中电子传递使得超氧自由基大量产生,同时铬对某些抗氧化酶活性直接造成抑制,导致抗氧化系统无法高效运转所致。

4 结论

铬对玉米幼苗的影响是全方面、多层次的。低浓度铬胁迫对幼苗生长有一定促进作用;而随着处理浓度升高,植株含水量下降,根部生长受到抑制,地上地下生长不均衡,虽然叶片抗氧化系统被充分调动,叶片仍然受到严重氧化胁迫;高浓度铬胁迫会造成幼苗生长停滞,植株最终死亡。

参考文献:

- [1] Becquer T, Quantin C, Sicot M, et al. Chromium availability in ultramafic soils from New Caledonia [J]. *Sci Total Environ*, 2003, 301: 251-261.
- [2] 王 威, 刘东华, 蒋悟生, 等. 铬污染地区环境对植物生长的影响[J]. *农业环境保护*, 2002, 21(3): 257-259.
WANG Wei, LIU Dong-hua, JIANG Wu-sheng, et al. Effects of plant growth in the soil polluted by chromium[J]. *Agro-Environmental Protection*, 2002, 21(3): 257-259.
- [3] 黄 辉, 童 雷, 苗 芃, 等. 铬污染地区芦苇 (*Phragmites australis* L.) 生理特征分析[J]. *农业环境科学学报*, 2007, 26(4): 1273-1276.
HUANG Hui, TONG Lei, MIAO Peng, et al. Analysis of physiological characteristics of *Phragmites australis* L. growing in chromium polluted Area[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(4): 1273-1276.
- [4] 徐衍忠, 秦绪娜, 刘祥红. 铬污染及其生态效应[J]. *环境科学与技术*, 2002, 25: 8-10.
XU Yan-zhong, QIN Xu-na, LIU Xiang-hong, et al. The Study of chromium pollution and ecological effects[J]. *Environmental Science and Technology*, 2002, 25: 8-10.

- [5] Shanker A K, Cervantes C, Loza-Taverac H, et al. Chromium toxicity in plants[J]. *Environ Inter*, 2005, 31:739-753.
- [6] Cervantes C, Garcia J C, Devars S, et al. Interactions of chromium with micro-organisms and plants[J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2001, 25:335-347.
- [7] Shanker A K, Djanaguiraman M, Sudhagar R, et al. Differential antioxidative response of ascorbate glutathione pathway enzymes and metabolites to chromium speciation stress in green gram (*Vigna radiata* (L)R Wilczek, cv CO 4) roots[J]. *Plant Sci*, 2004, 166:1035-1043.
- [8] Davies F T, Puryear J D, Newton R J, et al. Mycorrhizal fungi increase chromium uptake by sunflower plants; Influence on tissue mineral concentration, growth, and gas exchange[J]. *J Plant Nutr*, 2002, 25:2389-2407.
- [9] 黄 辉, 李 升, 郭娇丽. 镉胁迫对玉米幼苗抗氧化系统及光合作用的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29:211-215.
HUANG Hui, LI Sheng, GUO Jiao-li. The Influence of cadmium (Cd^{2+}) to the antioxidant system and photosynthesis of seedling of *Zea mays* L. [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29:211-215.
- [10] Lu Qing-tao, Wen Xiao-gang, Lu Cong-ming, et al. Photoinhibition and Photoprotection in senescent leaves of field-grown wheat plants[J]. *Plant Physiol Biochem*, 2003, 41:749-754.
- [11] González A, Steffen K L, Lynch J P. Light and excess manganese implications for oxidative stress in common bean [J]. *Plant Physiol*, 1998, 118:493-504.
- [12] Anderson J V, Chevone J V, Hess J L. Seasonal variation in the antioxidant system of eastern white pine needles: Evidence for thermal dependence[J]. *Plant Physiol*, 1992, 98:501-508.
- [13] Panda S K, Patra H K. Nitrate and ammonium ions effect on the chromium toxicity in developing wheat seedlings[J]. *P Natl Acad Sci India B*, 2000, 70:75-80.
- [14] Wang M, Zou J H, Duan X C, et al. Cadmium accumulation and its effects on metal uptake in maize (*Zea mays* L.) [J]. *Biores Tech*, 2007, 98:82-88.
- [15] Vazques M D, Poschenrieder C H, Barcelo J. Chromium (VI) induced structural changes in bush bean plants[J]. *Ann Bot*, 1987, 59:427-438.
- [16] 闫 研, 李建平, 张学洪. 超富集植物李氏禾对铬诱导的氧化胁迫响应[J]. 生态环境, 2008, 17(4):1476-1482.
YAN Yan, LI Jian-ping, ZHANG Xue-hong. Response of *Leersia hexandra* Swart to chromium-induced oxidative stress department of material and chemical engineering[J]. *Ecology and Environment*, 2008, 17(4):1476-1482.
- [17] 徐成斌, 裴晓强, 马溪平. 六价铬对玉米种子萌发及生理特性的影响[J]. 环境保护科学, 2008, 34(4):44-47.
XU Cheng-bin, PEI Xiao-qiang, MA Xi-ping. Effects of Cr^{6+} on growth and physiological characteristics of corn seeds [J]. *Environmental Protection Science*, 2008, 34(4):44-47.
- [18] 万永吉, 郑文教, 方 煜, 等. 重金属铬(Ⅲ)胁迫对红树植物秋茄幼苗 SOD、POD 活性及其同工酶的影响[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2008, 47(4):571-574.
WAN Yong-ji, ZHENG Wen-jiao, FANG Yu, et al. Effects of Cr(Ⅲ) stress on activities and isozymes of SOD and POD of *kandelia candel mangrove* seedlings [J]. *Journal of Xiamen University (Natural Science)*, 2008, 47(4):571-574.
- [19] Sinha S, Saxena R, Singh S. Chromium induced lipid peroxidation in the plants of *Pistia stratiotes* L. : Role of antioxidants and antioxidant enzymes[J]. *Chemosphere*, 2005, 58:595-604.
- [20] Dazy M, Béraud E, Cotellet S, et al. Antioxidant enzyme activities as affected by trivalent and hexavalent chromium species in *Fontinalis antipyretica* Hedw[J]. *Chemosphere*, 2008, 73:281-290.