

Cr⁶⁺ 胁迫对高丹草幼苗根质膜氧化及 ATPase 活性的影响

赵 晖^a, 吕金印^a, 张素娜^b, 侯晓林^a

(1 西北农林科技大学 a 生命科学学院, b 理学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】【目的】研究不同浓度 Cr⁶⁺ 处理对高丹草幼苗根质膜氧化及 ATPase 活性的影响, 阐明重金属 Cr 对植物的毒害机理, 为铬污染地区优质牧草的种植提供理论依据。【方法】采用不同浓度(0(对照), 0.5, 1.0, 1.8 mmol/L) K₂CrO₄ 胁迫处理高丹草幼苗, 测定根长、根干质量、根系中的 Cr 含量、根系 O₂⁻ 产生速率和 H₂O₂、丙二醛(MDA)含量及根质膜 H⁺-ATPase、Ca²⁺-ATPase 活性的变化。【结果】与对照相比, 随着 Cr⁶⁺ 处理浓度的增加, 高丹草幼苗根长和根干质量均呈先升高后降低的变化趋势, O₂⁻ 产生速率、H₂O₂ 和 MDA 含量及细胞质膜相对透性显著升高($P < 0.05$), 且与 Cr⁶⁺ 处理浓度呈正相关。0.5 mmol/L Cr⁶⁺ 浓度处理时, H⁺-ATPase、Ca²⁺-ATPase 活性与对照差异不显著($P > 0.05$), 而在 1.0, 1.8 mmol/L Cr⁶⁺ 处理时, ATPase 活性显著降低($P < 0.05$), 并且与膜脂过氧化水平呈负相关。【结论】低浓度 Cr⁶⁺ 处理对高丹草幼苗根质膜 ATPase 活性影响较小, 较高浓度 Cr⁶⁺ 处理使 ATPase 活性及根生长受到抑制。

【关键词】 高丹草; 铬污染; 膜脂过氧化; H⁺-ATPase; Ca²⁺-ATPase

【中图分类号】 S544.044; X503.233

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)10-0167-06

Effects of Cr⁶⁺ on lipid peroxidation and ATPase activity of Sorghum Hybrid Sudangrass (*Sorghum bicolor* × *S. Sudanense*) roots

ZHAO Hui^a, LÜ Jin-yin^a, ZHANG Su-na^b, HOU Xiao-lin^a

(a College of Life Sciences, b College of science; Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】The research investigated the effects of Cr⁶⁺ on lipid peroxidation and ATPase activity of Sorghum Hybrid Sudangrass (*Sorghum bicolor* × *S. Sudanense*) seedling roots, and explored the toxic hazard of heavy metal Cr Stress on Plant. 【Method】The effects of different concentrations of Cr⁶⁺ (0 (CK), 0.5, 1.0, 1.8 mmol/L K₂CrO₄) on the length and dry weight of roots, generating rate of O₂⁻, H₂O₂ and MDA content as well as plasma membrane relative permeability, activities of H⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase in the plasma membrane of Sorghum Hybrid Sudangrass seedlings roots were investigated. 【Result】Compared with the control, the length and dry weight of roots increased first and then decreased with the increase of concentrations of Cr⁶⁺, which resulted in significant increase of O₂⁻ and H₂O₂ level and malondialdehyde(MDA) content as well as plasma membrane relative permeability in the roots ($P < 0.05$), and there was significantly positive correlation to Cr⁶⁺ treatment concentration. Moreover, the activity of H⁺-ATPase and Ca²⁺-ATPase had no obvious change ($P > 0.05$) under 0.5 mmol/L Cr⁶⁺ concentration, but significantly decreased with 1.0, 1.8 mmol/L Cr⁶⁺ stress ($P < 0.05$), a negative correlation was present between the level of membrane-lipid and the two enzyme. 【Conclusion】We concluded that there was unnoticeable change

* [收稿日期] 2009-02-23

[基金项目] 农业部农业公益性行业科研专项“核技术农业应用”(200803034)

[作者简介] 赵 晖(1982-), 女, 河北乐亭人, 在读硕士, 主要从事土壤重金属植物修复研究。E-mail: zx860818@163.com

[通信作者] 吕金印(1960-), 男, 陕西岐山人, 教授, 博士, 主要从事植物抗逆生理研究。E-mail: jinyinlu@163.com

under low concentration of the Cr^{6+} in the activity of ATPase in Sorghum Hybrid Sudangrass seedlings roots plasma membrane, whereas it would dropped markedly and the root growth was repressed under relatively high Cr^{6+} stress.

Key words: Sorghum Hybrid Sudangrass (*Sorghum bicolor* × *S. Sudanense*); Cr^{6+} pollution lipid peroxidation; H^+ -ATPase; Ca^{2+} -ATPase

铬是我国土壤环境质量标准中有含量规定的 8 种重金属元素之一。目前,铬被大量用于制革、电镀、采矿、冶炼、金属加工、化工等方面,所产生的废水废渣是造成土壤和地下水 Cr 污染的重要因素。 Cr^{6+} 是环境污染物和生物致畸、致突变剂^[1]。重金属在植物体内的代谢吸收机理较为复杂,目前已有一些重金属对植物生理特性影响的报道^[2-4],但对于重金属在植物体内的毒害机理还不是很清楚,尤其对重金属 Cr 的相关研究报道还比较少。

活性氧(ROS)包括超氧负离子自由基(O_2^-)和过氧化氢(H_2O_2)等。在逆境条件下,活性氧在植物体内积累,若不能及时清除,则可抑制 CO_2 的固定,并参与叶绿体的降解, O_2^- 和 H_2O_2 相互作用还可直接引发膜脂过氧化^[5]。质膜 H^+ -ATPase 是植物生命活动过程中的主宰酶,在植物细胞的物质转运、生长发育以及植物对环境胁迫的响应等方面具有重要作用^[6]。质膜 Ca^{2+} -ATPase 是植物细胞质膜上另一种重要的功能蛋白,该酶通过分解 ATP,逆向跨膜转运 Ca^{2+} ,在维持胞质 Ca^{2+} 稳态方面起重要作用^[7]。研究 Cr^{6+} 胁迫下植物细胞质膜 H^+ -ATPase、 Ca^{2+} -ATPase 活性的变化,对于揭示 Cr^{6+} 胁迫对植物的伤害及植物的耐 Cr^{6+} 机理具有重要意义。

高丹草 (*Sorghum bicolor* × *S. Sudanense*) 是高粱与苏丹草杂交的一种新型一年生禾本科饲料作物,在干旱半干旱地区有较好的适应性,且杂种优势明显、生物量大、抗逆性强。本研究采用不同浓度 Cr^{6+} 胁迫处理高丹草幼苗,研究其对高丹草细胞质膜 ATPase 活性的影响,并通过测定活性氧代谢的变化,探讨 Cr^{6+} 胁迫下质膜 ATPase 与抗氧化代谢的关系,旨在分析重金属对植物的毒害机理,从而为铬污染地区优质牧草的种植提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试植物及处理

“先锋”高丹草 (*Sorghum bicolor* × *S. Sudanense*) 种子,由杨凌华星种子公司提供。

1.2 试验设计

挑选籽粒饱满均匀的“先锋”高丹草 (*Sorghum*

bicolor × *S. Sudanense*) 种子,用 1 g/L 的 HgCl_2 消毒 10 min,在自来水中浸泡 6~8 h 后,摆放于培养皿中,保持湿润,并置 25 °C 恒温培养箱内催芽,待根长至约 3.0 cm 时转至光照培养箱内,用 Hoagland 营养液培养^[8],昼/夜培养温度分别为 25 和 18 °C,光暗条件分别为 14 和 10 h,光强为 160 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。每天通气 14 h,每 2 d 更换 1 次营养液。待幼苗长至三叶一心时,选择生长一致的植株,分别于含不同浓度 K_2CrO_4 (CK, 0.5, 1.0, 1.8 mmol/L) 的 Hoagland 营养液中培养,每种浓度设 3 个重复,处理 7 d 后取样测定。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 幼苗根系生长特性 分别取各处理高丹草幼苗 10 株,滤纸吸干水分,直接测量各幼苗主根系长度,于 105 °C 下杀青 15 min,75 °C 烘干至恒质量,称量各处理单株干质量。

1.3.2 Cr 含量的测定^[9] 用蒸馏水将整株高丹草冲洗干净,吸水纸吸干表面水分后,将根部于 85 °C 烘干,加入硝酸-高氯酸 ($V(\text{硝酸}) : V(\text{高氯酸}) = 4 : 1$) 溶液,沙浴消化,用原子吸收法测定 Cr 含量。

1.3.3 细胞质膜相对透性(PMP) 参照文献^[10] 用电导法测定。

1.3.4 丙二醛(MDA)含量 采用 TBA 比色法^[10] 测定。

1.3.5 O_2^- 产生速率和 H_2O_2 含量测定 O_2^- 产生速率采用王爱国等^[11] 的方法测定; H_2O_2 含量采用 Uchida 等^[12] 的方法测定。

1.3.6 ATPase 活性 (1) 质膜微囊制备。采用 Kasamo^[13] 的方法测定,并略加修改。取新鲜根系依次用清水和去离子水冲洗干净,吸水纸吸干。称取 10 g 鲜根,加入提取液 20 mL(包括 300 mmol/L 蔗糖,50 mmol/L 的 N-2-羟乙基哌嗪-N'-2-乙磺酸-三羟甲基氨基甲烷 (Hepes-Tris, pH 7.0), 8 mmol/L EDTA, 15 g/L 交联聚乙烯吡咯烷酮 (PVPP), 2 mmol/L 苯甲磺酰 (PMSF), 4 mmol/L 二硫苏糖醇 (DTT), 20 g/L 牛血清蛋白 (BSA)), 在冰浴上研磨。将匀浆用 2 层纱布过滤,滤液经 10 000 × g 离心 20 min,上清液于 50 000 × g 离心

35 min, 弃上清液, 将沉淀用 2 mL 悬浮液 (300 mmol/L 蔗糖, 5 mmol/L 磷酸钾缓冲液 (pH 7.0), 5 mmol/L KCl, 0.1 mmol/L EDTA, 1 mmol/L DTT) 悬浮, 将悬浮好的匀浆液小心铺到两相液 (两相液中含 62 g/L 右旋糖苷 (Dextran) T-500, 62 g/L 聚乙二醇 (PEG) 3350, 300 mmol/L 蔗糖, 5 mmol/L 磷酸钾缓冲液 (pH 7.0), 5 mmol/L KCl, 0.1 mmol/L EDTA, 1 mmol/L DTT) 上, 2 500×g 离心 10 min, 用新下相液与上相液混匀再次离心, 重复操作 30 次。吸取上相溶液, 并用稀释液 (稀释液中含 300 mmol/L 蔗糖, 5 mmol/L HEPES-Tris (pH 7.0), 1 mmol/L DTT) 稀释 5 倍, 80 000×g 离心 40 min, 将沉淀用稀释液悬浮, 即为质膜微囊制剂, 于 -80 °C 超低温冰箱中保存待用。(2) 质膜 H⁺-ATPase 活性的测定。采用 Larsson 等^[14]的方法并略加改动。反应液为 0.5 mL (其中含 200 μL 5 mmol/L HEPES-Tris (pH 6.5), 0.2% Triton (曲拉通) X-100, 50 μL 20 mmol/L MgSO₄, 50 μL 500 mmol/L KNO₃ (抑制液泡膜 H⁺-ATPase 活性), 50 μL 20 mmol/L NaN₃, 50 μL 1 mmol/L 钼酸铵, 50 μL 膜微囊制剂), 用 50 μL 20 mmol/L ATP-Tris (pH 7.5) 启动反应, 在 37 °C 温水浴中反应 20 min 后, 加入 1 mL 体积分数 10% 的 TCA 终止反应, 然后再加 0.2 mL 显色液 (V(5 mol/L H₂SO₄):V(50 g/L 钼酸铵):V(10 g/L 抗坏血酸):V(H₂O)=1:2:2:4, 随用随配), 37 °C 温水浴 15 min, 于 660 nm 比色。测定均重复 3 次。H⁺-ATPase 的活性根据单位时间内每 1 mg 膜蛋白释放的磷减去空白值计算。(3) 质膜 Ca²⁺-ATPase 活性的测定。参考 Lanzetta 等^[15]的方法进行测定, 反应液为 0.5 mL (其中含 50 mmol/L HEPES-Tris (pH 6.5), 1

mmol/L 钼酸铵, 3 mmol/L CaCl₂, 1 mmol/L NaN₃, 1 mmol/L DTT, 0.2% Triton X-100 和 50 μL 膜微囊制剂), 用 50 μL 20 mmol/L ATP-Tris (pH 7.5) 启动反应, 其余步骤与 H⁺-ATPase 活性的测定方法相同。(4) 膜蛋白含量的测定。采用 Bradford^[16]的方法测定, 以牛血清白蛋白 (BSA) 作为标准蛋白。(5) 不同抑制剂对质膜微囊 H⁺-ATPase 活性的影响。提取质膜微囊的纯度检测, 以 H⁺-ATPase 专一性抑制剂对其活性抑制的强弱来估计。Na₃VO₄、KNO₃、NaN₃ 分别为质膜、液泡膜、线粒体膜上 H⁺-ATPase 的专一性抑制剂。取两相法分离的上相膜组分, 测定加或不加 (CK) 这些单一抑制剂时 H⁺-ATPase 活性的变化。测定方法与 H⁺-ATPase 活性的测定方法相同。按“抑制剂敏感活性=对照的活性-一加有抑制剂时的活性”计算抑制剂敏感活性。

1.4 数据处理

试验数据取 3 次重复的平均值, 用 SPSS 16.0 抑制剂敏感的活性软件进行方差分析 (ANOVA) 和 LSD 检验, 数值用“平均值±标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 Cr⁶⁺ 处理对高丹草幼苗根系生长特性的影响

由图 1 可以看出, 随着 Cr⁶⁺ 处理浓度的增加, 高丹草根长、根干质量均呈先升高后降低的变化趋势, 0.5 mmol/L Cr⁶⁺ 处理的根长、根干质量与对照接近 ($P>0.05$), 1.0 和 1.8 mmol/L Cr⁶⁺ 浓度处理的根长、根干质量均显著低于对照 ($P<0.05$), 根长分别较对照降低 22.3% 和 31.6%, 根干质量分别降低 17.9% 和 20.7%。说明高浓度 Cr⁶⁺ 处理抑制了高丹草幼苗根的生长。

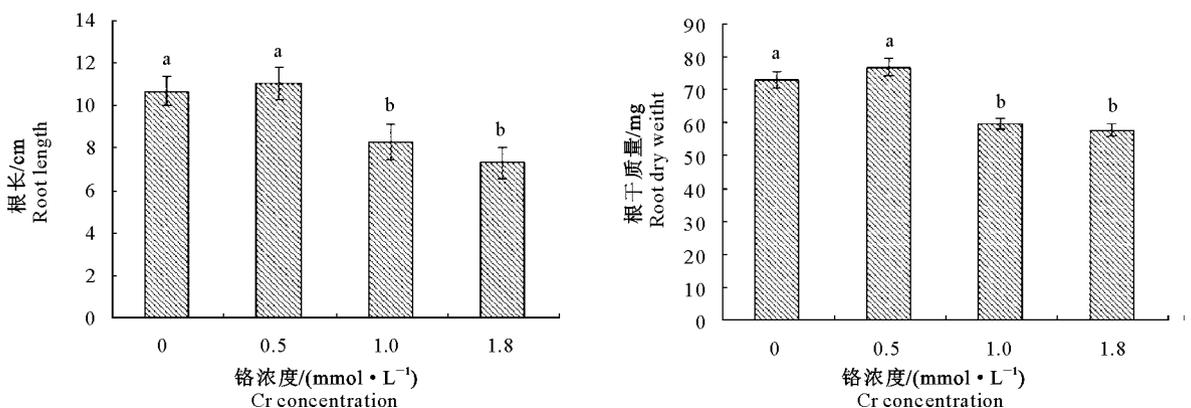


图 1 不同浓度 Cr⁶⁺ 对高丹草幼苗根长和根干质量的影响

(图中标不同字母表示差异显著 (LSD 检验, $P=0.05$), 下同)

Fig. 1 Effect of Cr⁶⁺ on roots length and dry weight in Sorghum Hybrid Sudangrass seedlings

(Values with different letter in the figure indicate a significant difference at $P=0.05$ level according to LSD test. The following figures are the same)

2.2 Cr⁶⁺ 处理对高丹草幼苗根系 Cr 含量的影响

从图 2 可以看出,随着 Cr⁶⁺ 处理浓度的增加,根系中的 Cr 含量逐步升高,且均显著高于对照 ($P < 0.05$)。在 0.5, 1.0, 1.8 mmol/L Cr⁶⁺ 处理下,根系中 Cr 含量分别是对照的 18.0, 19.3 和 22.1 倍。

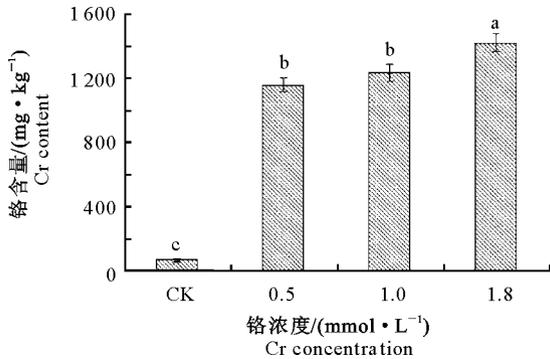


图 2 不同浓度 Cr⁶⁺ 处理对高丹草幼苗根系 Cr 含量的影响
Fig. 2 Content of Cr²⁺ in different parts of Sorghum Hybrid Sudangrass seedlings

2.3 Cr⁶⁺ 处理对高丹草幼苗根系质膜及抗氧化活性的影响

表 1 表明,在 Cr⁶⁺ 胁迫条件下,高丹草幼苗根系活性氧代谢受到影响。O₂⁻、H₂O₂、·OH、¹O₂ 等

含量增加,引起膜脂过氧化或膜脂脱脂作用,膜结构损伤。H₂O₂ 含量及 O₂⁻ 产生速率显著升高 ($P < 0.05$),其中 H₂O₂ 含量及 O₂⁻ 产生速率与铬浓度呈正相关,相关系数(R)分别为 0.947 和 0.942。表明 Cr⁶⁺ 导致细胞膜活性氧增加,伤害程度随 Cr⁶⁺ 浓度的增加而加剧。

MDA 含量可以反映细胞膜脂过氧化的程度,并可间接反映细胞清除自由基的能力^[17]。由表 1 可知,随着 Cr⁶⁺ 处理浓度的增加,高丹草幼苗根系细胞膜的相对透性和 MDA 含量均逐渐上升,回归分析表明,二者与 Cr⁶⁺ 处理浓度成正相关,相关系数(R)分别为 0.927 和 0.942。就质膜透性而言,0.5 mmol/L Cr⁶⁺ 处理的质膜相对透性较对照高 16.8%,但与对照间差异不显著 ($P > 0.05$),1.0 和 1.8 mmol/L Cr⁶⁺ 处理的质膜透性较对照增加了 77.0% 和 98.8%;在不同浓度 Cr⁶⁺ 处理条件下,根系的 MDA 含量均显著增加 ($P < 0.05$),0.5, 1.0 和 1.8 mmol/L Cr⁶⁺ 处理的 MDA 含量分别较对照增加 14.5%, 46.4% 和 114.5%。由此可见,高浓度 Cr⁶⁺ 胁迫使高丹草根系膜系统受到严重伤害。

表 1 Cr⁶⁺ 处理对高丹草幼苗根系细胞膜生理特性的影响

Table 1 Effect of Cr⁶⁺ on several Characteristics associated with plasma membrane of Sorghum Hybrid Sudangrass seedlings roots

Cr ⁶⁺ 浓度/ (mmol · L ⁻¹) Cr ⁶⁺ content	质膜相对透性/% PM relative permeability	丙二醛含量 /(μmol · g ⁻¹) MDA content	H ₂ O ₂ 含量 /(μmol · g ⁻¹) H ₂ O ₂ content	O ₂ ⁻ 产生速率 /(nmol · min ⁻¹ · g ⁻¹) O ₂ ⁻ production rate
CK	24.4 ± 1.58 c	6.9 ± 0.20 d	12.7 ± 1.86 c	7.5 ± 0.66 d
0.5	28.5 ± 4.16 c	7.9 ± 0.31 c	20.6 ± 2.60 b	13.0 ± 1.67 c
1.0	43.2 ± 4.51 b	10.1 ± 0.48 b	42.5 ± 1.10 a	28.6 ± 4.26 b
1.8	48.5 ± 3.63 a	14.8 ± 0.86 a	47.7 ± 2.73 a	31.9 ± 2.85 a

注:同列数据后标不同字母者表示差异显著 ($P = 0.05$)。

Note: Values with different letters in the same column indicate a significant difference at $P = 0.05$ level.

2.4 Cr⁶⁺ 处理对高丹草幼苗根部 H⁺-ATPase、Ca²⁺-ATPase 活性的影响

从表 2 可以看出,50 mmol/L KNO₃、1 mmol/L NaN₃ 对高丹草幼苗根部的 H⁺-ATPase 活性影响甚微,而 0.1 mmol/L Na₃VO₄ 对高丹草幼苗根部 H⁺-ATPase 活性的抑制率在 95% 以上,表明该膜微囊体主要以细胞膜为主,液泡膜、线粒体膜的污染较小。为了避免线粒体膜、液泡膜上 H⁺-ATPase 以及酸性磷酸酶对 ATPase 活性的影响,故在测定细胞膜 H⁺-ATPase、Ca²⁺-ATPase 活性时,均加入 50 mmol/L KNO₃、1 mmol/L NaN₃ 和 1 mmol/L Na₂MoO₄ 抑制剂,以保证测定结果的可靠性。

质膜 H⁺-ATPase、Ca²⁺-ATPase 为植物细胞质膜上 2 种重要的功能蛋白。从图 3 可以看出,随

着 Cr⁶⁺ 处理浓度的增加,H⁺-ATPase 和 Ca²⁺-ATPase 活性变化较为明显,且都呈现出先增后减的变化趋势。0.5 mmol/L Cr⁶⁺ 处理时,H⁺-ATPase 和 Ca²⁺-ATPase 活性较对照略有升高,分别比对照增加 5.5% 和 10.8%,但差异并不显著 ($P > 0.05$)。而 1.0, 1.8 mmol/L Cr⁶⁺ 处理的 H⁺-ATPase 和 Ca²⁺-ATPase 活性与对照相比均显著降低 ($P < 0.05$),H⁺-ATPase 分别较对照降低 14.6% 和 33.7%,Ca²⁺-ATPase 活性分别降低 27.1% 和 46.8%,说明低浓度 Cr⁶⁺ 对 H⁺-ATPase、Ca²⁺-ATPase 活性影响较小,而当 Cr⁶⁺ 浓度较高时,其对二者的活性有抑制作用,此时生物膜上的物质转运和能量代谢受到影响,引起代谢紊乱,使细胞受到伤害。

表 2 高丹草根细胞膜微囊体 H⁺-ATPase 活性对不同抑制剂的敏感性(pH 6.5)
Table 2 Inhibitor-sensitive ATPase activity associated with plasma membrane vesicles from roots of Sorghum Hybrid Sudangrass (pH 6.5)

抑制剂 Inhibitor	铬浓度/(mmol·L ⁻¹)			
	0	0.5	1.0	1.8
空白(CK)	34.64±1.74	38.22±1.78	31.23±1.54	15.46±2.20
50 mmol/L KNO ₃	34.59±1.31	37.96±1.92	30.68±2.35	15.30±1.63
1 mmol/L NaN ₃	35.02±1.85	38.24±2.06	31.17±1.38	15.31±1.57
1 mmol/L Na ₂ MoO ₄	33.52±2.92	36.75±3.11	30.02±3.10	15.14±2.04
0.1 mmol/L Na ₃ VO ₄	1.31±0.15	1.83±0.07	1.45±1.82	0.56±0.03

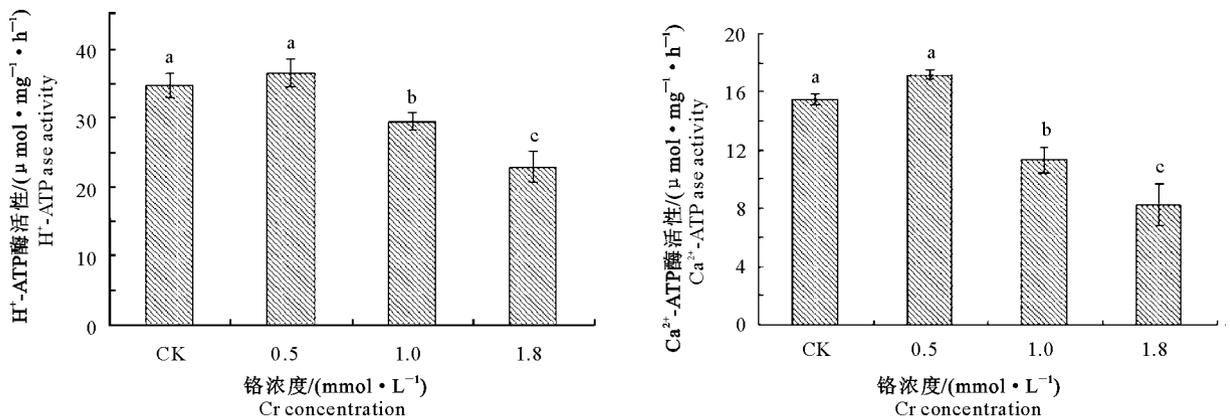


图 3 不同浓度 Cr⁶⁺ 处理对高丹草幼苗根系质膜 H⁺-ATPase 和 Ca²⁺-ATPase 活性的影响

Fig. 3 Effect of Cr⁶⁺ on H⁺-ATPase and Ca²⁺-ATPase activity in the plasma membrane of Sorghum Hybrid Sudangrass seedlings roots

3 讨 论

质膜是细胞与环境之间物质交换的屏障,各种逆境对细胞的影响均首先作用于细胞膜,最先对逆境作出反应的也是质膜及其功能蛋白。质膜 H⁺-ATPase 建立跨膜质子驱动力,与 Ca²⁺ 行使其第二信使功能有密切关系,在植物对环境胁迫的响应中起着重要作用^[18];质膜 Ca²⁺-ATPase 控制细胞内 Ca²⁺ 的分布和浓度,在维持胞内 Ca²⁺ 的低稳态方面发挥着重要作用^[7],二者活性对植物逆境下的存活可能起主要调节作用^[18,19]。

正常环境条件下,植物体内的 ROS 代谢处于动态平衡。在 Cr⁶⁺ 胁迫下,ROS 的产生和清除失去了平衡,导致 ROS 积累,膜脂过氧化加剧。MDA 含量高低和细胞膜透性变化,是反映细胞膜脂过氧化作用强弱和质膜破坏程度的重要指标。本研究表明,随着 Cr⁶⁺ 处理浓度的增加,Cr 在高丹草根部的积累量逐渐升高,高丹草幼苗根部 O₂⁻ 的产生速率以及 H₂O₂ 含量增加,这与前人的研究结果相似^[20-21]。Cr⁶⁺ 可以损伤植物的质膜系统而影响其生理代谢水平,主要表现在质膜相对透性和 MDA 两项指标上。当大量 Cr 离子进入细胞后,植物体内产

生了过量自由基,其与细胞膜蛋白的-SH 或磷脂分子层的磷脂类物质发生反应,造成膜蛋白的磷脂结构改变,致使细胞膜结构发生变化,膜系统遭到破坏,透性增大,细胞内一些可溶性物质外渗,从而导致电导率增大,并可能破坏细胞内酶及代谢作用原有的区域,使细胞代谢紊乱,从而出现生物量下降和叶片褪绿情况,使植株表现出受害症状^[22]。

质膜结构与功能的改变,在一定程度上可能会影响到其结合蛋白的结构与功能,细胞膜的完整性与 H⁺-ATPase、Ca²⁺-ATPase 活性密切相关。本研究表明,在 0.5 mmol/L 低浓度 Cr⁶⁺ 处理下,H⁺-ATPase、Ca²⁺-ATPase 的活性均较对照略有升高,但差异不大。而当 Cr⁶⁺ 浓度较高时(1.0~1.8 mmol/L),H⁺-ATPase 和 Ca²⁺-ATPase 的活性显著降低,质子驱动力减弱,Ca²⁺ 库中高 Ca²⁺ 的电化学势难以维持,细胞失去 Ca²⁺ 稳态。H⁺-ATPase 使营养物质和离子运输的驱动力得以保持,从而能够建立一个适应其生长的内部环境;质膜 Ca²⁺-ATPase 能维持细胞 Ca²⁺ 稳态,有利于 Ca²⁺ 的移动和其在胞壁等部位的沉积,稳定膜及壁的结构^[23]。高浓度 Cr⁶⁺ 处理影响植物细胞的区域化,从而对细胞质的酶蛋白及细胞器造成伤害,使植物体

的生长受到抑制^[7]。

[参考文献]

- [1] 顾公望,张宏伟.微量元素与恶性肿瘤[M].上海:上海科学技术出版社,1993:199-205.
Gu G W,Zhang H W. Trace elements and cancer [M]. Shanghai: Science and Technology Publishing House,1993:199-205. (in Chinese)
- [2] 张凤琴,王友绍,李小龙.复合重金属胁迫对秋茄幼苗某些生理特性的影响[J].生态环境,2008,17(6):2234-2239.
Zhang F Q,Wang Y S,Li X L. Effects of heavy metal stress on some physiological characters of the *Kandelia candel* seedlings [J]. Ecology and Environment, 2008, 17(6): 2234-2239. (in Chinese)
- [3] 徐学华,黄大庄,王连芳,等.土壤铅、镉胁迫对红瑞木生长及生理生化特性的影响[J].水土保持学报,2009,23(1):213-216.
Xu X H,Huang D Z,Wang L F, et al. Effects of Pb,Cd stress in soil on the growth and physiological and biochemical characteristics of *Swida alba* [J]. Journal of Soil and Water Conservation,2009,23(1):213-216. (in Chinese)
- [4] 黄化刚,李廷轩,杨肖娥,等.植物对铅胁迫的耐性及其解毒机制研究进展[J].应用生态学报,2009,20(3):696-704.
Huang H G, Li T X, Yang X E, et al. Research advances in plant lead tolerance and detoxification mechanism [J]. Chinese Journal of Applied Ecology,2009,20(3):696-704. (in Chinese)
- [5] Deepa N,Kaur Charanjit,Singh Balraj, et al. Antioxidant activity in some red sweet pepper cultivars [J]. Journal of Food Composition and Analysis,2006,19:572-578.
- [6] Serrano R. Structure and function of plasma membrane ATPase [J]. Ann Rev Plant Physiol,1989,40:61-94.
- [7] 孙大业,郭艳林,马力耕.细胞信号转导[M].2版.北京:科学出版社,1998.
Sun D Y,Guo Y L, Ma L G, et al. Cell Signalling [M]. 2nd Ed. Beijing: Science Press,1998. (in Chinese)
- [8] Shi Q H,Zhu Z J. Effects of exogenous salicylic acid on manganese toxicity,element contents and antioxidative system in cucumber [J]. Environmental and Experimental Botany,2008,63:317-326.
- [9] 张学洪,罗亚平,黄海涛,等.一种新发现的湿生铬超积累植物——李氏禾(*Leersia hexandra* Swartz) [J].生态学报,2006,26(3):950-953.
Zhang X H,Luo Y P,Huang H T, et al. *Leersia hexandra* Swartz: a newly discovered hygrophyte with chromium hyper-accumulator properties [J]. Acta Ecologica Sinica,2006,26(3): 950-953. (in Chinese)
- [10] 高俊凤.植物生理学实验技术[M].西安:世界图书出版公司,2000.
Gao J F. The experimental manual for plant physiology [M]. Xi'an: The World Book Press,2000. (in Chinese)
- [11] 王爱国,罗广华.植物的超氧自由基与羟胺反应的定量关系[J].植物生理学通讯,1990,26(6):55-57.
Wang A G,Luo G H. Quantitative relation between the reac-
- tion of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants [J]. Plant Physiology Communications,1990,26(6):55-57. (in Chinese)
- [12] Uchida A,Jagendorf A T,Hibino T, et al. Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat Stress tolerance in rice [J]. Plant Science,2002,163(33):515-523.
- [13] Kasamo K. Comparison of plasma membrane and tonoplast H⁺-translocating ATPase in *Phaseolus mungo* L. roots [J]. Plant Cell Physiol,1986,7:49-59.
- [14] Larsson C,Widell S,Kjellbom P. Preparation of high-purity plasma membrane [J]. Methods Enzym,1987,148:558-568.
- [15] Lanzetta P A, Alvarez L J, Reinach P S, et al. An improved assay for nanomole amounts of inorganic phosphate [J]. Analytical Biochemistry,1979,100:95-97.
- [16] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Analytical Biochemistry,1976,72: 248-259.
- [17] Janero D R. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury [J]. Free Radic Biol Med,1990,9(6):515-540.
- [18] Ahn S J, Im Y, Chung G C, et al. Sensitivity of plasma membrane H⁺-ATPase of cucumber root system in response to low root temperature [J]. Plant Cell Report,2000,19:831-835.
- [19] Sanders D,Brownlee C,Harper J F. Communicating with calcium [J]. Plant Cell,1999,11:691-706.
- [20] 王友保,黄永杰,严 密,等.铜污染对高羊茅生长及活性氧代谢影响的研究[J].水土保持学报,2006,20(6):167-170.
Wang Y B,Huang Y J,Yan M, et al. Effects of Cu on growth and activate Oxygen Metabolism of *Festuca arundinacea* [J]. Journal of Soil and Water Conservation,2006,20(6):167-170. (in Chinese)
- [21] 黎晓红,兰利琼,吴巧玉,等.镉胁迫对小麦不同生育期活性氧代谢的影响[J].四川大学学报,2007,44(2):420-424.
Li X H, Lan L Q, Wu Q Y, et al. Effects of cadmium stress on reactive oxygen aetabolism in wheat at different developmental stages [J]. Journal of Sichuan University,2007,44(2):420-424. (in Chinese)
- [22] 刘登义,王友保,张徐祥,等.污灌对小麦幼苗生长及活性氧代谢的影响[J].应用生态学报,2002,13(2):179-182.
Liu D Y,Wang Y B,Zhang X X, et al. Effect of sewage irrigation on wheat growth and its activate oxygen metabolism [J]. Journal of applied ecology,2002,13(2):179-82. (in Chinese)
- [23] 周 卫,汪 洪.植物钙吸收、转运及代谢的生理和分子机制[J].植物学通报,2007,24(6):762-778.
Zhou W,Wang H. The physiological and molecular mechanisms of calcium uptake, transport, and metabolism in plants [J]. Chinese Bulletin of Botany,2007,24(6):762-778. (in Chinese)