

网络出版时间:2020-08-13 16:07 DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2021.02.013
网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20200812.1408.017.html

外施 γ -聚谷氨酸对辣椒生长及其 镉胁迫下生理特性的影响

巩雪峰^{1,2}, 李 红^{1,2}, 宋占锋^{1,2}, 贺 康³, 许 艺^{1,2}, 陈 鑫^{1,2},
闫志英⁴, 刘独臣^{1,2}, 严奉军^{1,2}

(1 四川省农业科学院 园艺研究所/蔬菜种质与品种创新四川省重点实验室, 四川 成都 610066;

2 农业农村部 西南地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 四川 成都 610066;

3 成都市种子管理站, 四川 成都 610072; 4 中国科学院 成都生物研究所, 四川 成都 610041)

[摘 要] 【目的】探究施用 γ -聚谷氨酸(γ -PGA)对辣椒生长和果实产量的影响, 以及其对镉(Cd)胁迫辣椒幼苗的缓解作用, 为辣椒高产栽培和 Cd 污染防治提供理论依据。【方法】以川腾 6 号辣椒品种为材料, 研究叶面喷施 0.1 g/L γ -PGA 后水培辣椒幼苗生物量和盆栽辣椒果实形态及产量的变化; 在 0, 5 和 10 mg/L Cd 胁迫下, 分析施用 0.1 g/L γ -PGA 后水培辣椒幼苗生长速率、叶绿素含量、抗氧化酶活性、叶绿素荧光特性、矿质元素及镉含量的变化。【结果】喷施 γ -PGA 可以显著提高辣椒幼苗鲜质量, 增加结果数量, 使单株产量提高了 15.94%。施用 γ -PGA 显著增加了不同质量浓度 Cd 胁迫处理辣椒地上部生长速率, 其中 10 mg/L Cd 胁迫处理辣椒的生长速率提高了 68.89%。10 mg/L Cd 胁迫下, 施用 γ -PGA 能显著提高辣椒幼苗的叶绿素含量, 且能使之恢复到未受 Cd 胁迫时的水平。 γ -PGA 增加了 Cd 胁迫辣椒幼苗叶片的最大光化学效率(F_v/F_m)、实际光化学效率($\Phi PSII$)、电子传递速率(ETR)、光化学淬灭(qP), 显著降低了非光化学淬灭(NPQ), 有效提高了叶片光能利用率。喷施 γ -PGA 可以提高 Cd 胁迫辣椒的 SOD、POD、CAT 活性, 显著提高 10 mg/L Cd 胁迫处理辣椒植株的 Fe、Mn 和 Zn 含量, 使 Cd 吸收降低了 19.05%。【结论】叶面施用 γ -PGA 不仅能有效促进辣椒生长和提高产量, 同时可有效缓解 Cd 胁迫对辣椒的伤害, Cd 胁迫越严重, 缓解效应越显著。

[关键词] 辣椒; γ -聚谷氨酸; 镉胁迫; 叶绿素荧光特性

[中图分类号] S641.305

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2021)02-0097-08

Effects of γ -poly glutamic acid on growth and physiological characteristics of pepper under cadmium stress

GONG Xuefeng^{1,2}, LI Hong^{1,2}, SONG Zhanfeng^{1,2}, HE Kang³, XU Yi^{1,2},
CHEN Xin^{1,2}, YAN Zhiying⁴, LIU Duchun^{1,2}, YAN Fengjun^{1,2}

(1 Vegetable Germplasm Innovation and Variety Improvement Key Laboratory of Sichuan Province/Horticulture Research Institute, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu, Sichuan 610066, China; 2 Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticultural Crops (Southwest Region), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Chengdu, Sichuan 610066, China; 3 Seed Management Station of Chengdu, Chengdu, Sichuan 610072, China; 4 Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu, Sichuan 610041, China)

Abstract: 【Objective】 This study investigated the effects of γ -PGA on growth and fruit yield of pepper

[收稿日期] 2020-01-02

[基金项目] 四川省科技计划项目(2018JY0635); 四川蔬菜花卉种质创新与产业提升关键技术研发专项(2016CYTS-004); 四川省财政创新能力提升工程资源创新和品种培育项目(2016YPZ-023)

[作者简介] 巩雪峰(1983-)女, 陕西周至人, 副研究员, 博士, 主要从事辣椒种质资源学及环境胁迫研究。

E-mail: xuefenggong@qq.com

[通信作者] 宋占锋(1977-)男, 河南禹州人, 研究员, 主要从事辣椒遗传育种研究。E-mail: 289544274@qq.com

and the alleviation of pepper seedlings under cadmium (Cd) stress to provide basis for high yield cultivation and Cd pollution control. 【Method】 After foliar spraying of 0.1 g/L γ -PGA, changes in biomass of the hydroponic seedlings of hot pepper cultivar ‘Chuanteng No. 6’ its and fruit morphology and yield in pots were studied. Under 0, 5, and 10 mg/L Cd stress treatments, growth rate, changes of chlorophyll content, antioxidant enzyme activity, chlorophyll fluorescence characteristics, mineral element and Cd content of hydroponic pepper seedlings were further analyzed after foliar spraying of 0.1 g/L γ -PGA using foliar spraying of distilled water as control. 【Result】 After application of γ -PGA, fresh weight of pepper seedlings and amount of fruit per plant were significantly increased, and yield of fruit per plant was increased by 15.94%. Under different Cd levels, shoot growth rate of pepper with foliar application of γ -PGA was significantly increased. Especially under 10 mg/L Cd, growth rate with foliar application of γ -PGA was increased by 68.89% compared with control. Under 10 mg/L Cd, chlorophyll content was significantly increased and even restored to the level without Cd stress. The γ -PGA application enhanced leaf maximum photochemical efficiency (F_v/F_m), actual photochemical efficiency ($\Phi PS II$), electron transfer rate (ETR), and photochemical quenching (qP) under Cd stress treatments, while significantly reduced non-photochemical quenching (NPQ). As a result, it effectively improved utilization of light energy in leaves. After foliar application of γ -PGA, antioxidant enzymes including SOD, POD, and CAT were significantly increased under different Cd levels. The γ -PGA application also resulted in high accumulation of Fe, Mn and Zn in plants under 10 mg/L Cd, and decreased Cd accumulation by 19.05%. 【Conclusion】 Foliar application of γ -PGA effectively promoted growth and yield of pepper. It also effectively alleviated the damage to pepper caused by Cd stress.

Key words: *Capsicum annuum* L.; γ -polyglutamic acid (γ -PGA); cadmium stress; chlorophyll fluorescence characteristics

农业生产中,由于磷肥、农药的大量施用及污水灌溉,加之矿产资源的不合理开发、工业建筑垃圾乱堆乱放以及大气沉降等原因,世界许多地方的农业土壤都受到重金属,如 Cd、Cu、Zn、Ni、Co、Cr、Pb 和 As 的污染^[1]。中国重金属超标耕地高达 232 万 hm^2 , 占总耕地面积的 19.4%, 其中 Cd 污染土壤占比高达 7.0%^[2]。Cd 是无生物功能的金属元素,即使较低浓度都会对植物造成毒害,导致植物生长缓慢,叶片发黄失绿,产量降低^[3]。同时, Cd 毒性高、移动性强,在土壤中无法被生物降解,极易被植物吸收并转运至可食用部位,若通过食物链进入体会引发多种疾病,严重威胁着人体健康^[4]。研究表明,人体内绝大多数 Cd 来源于食物,尤其是蔬菜^[5],因此有必要采取有效措施来保护蔬菜免受 Cd 的污染。

γ -聚谷氨酸 (γ -poly glutamic acid, γ -PGA) 是 D-谷氨酸和 L-谷氨酸通过微生物发酵后由 γ -谷氨酰胺键连接而成的高分子聚合体,具有强螯合性、生物可降解性和环境友好性等特点,已广泛应用于医药、食品、化妆品及环保等行业,在农业方面的应用相对较晚^[6]。研究发现, γ -PGA 可以促进植物养分吸收,从而促进植物生长^[7]。此外, γ -PGA 可通过参与水稻幼苗的渗透调节而提高其抗旱能力^[8],可

以增强甘蓝型油菜脯氨酸积累,从而影响其对盐和冷胁迫的耐受性^[9]。Pang 等^[10]报道, γ -PGA 可以有效缓解 Cd 和 Pb 对黄瓜幼苗生长的抑制,降低黄瓜幼苗对 Cd 和 Pb 的吸收。考虑到 γ -PGA 的侧链含有大量羧基,具有很强的金属螯合能力,因此可能成为理想的稳定剂^[11],在蔬菜 Cd 污染治理上具有广阔的应用前景。

辣椒 (*Capsicum annuum* L.) 是我国重要的经济作物,全国各地均有广泛种植。但土壤 Cd 污染会抑制辣椒生长, Cd 超标不仅降低其品质,而且会影响人体健康^[12]。目前利用 γ -PGA 来缓解辣椒 Cd 胁迫、抑制辣椒 Cd 吸收的研究还鲜见报道。为此,本研究分别利用水培和盆栽的方式,分析叶片喷施 γ -PGA 对辣椒幼苗期生长和成熟期果实产量等的影响;同时利用水培法模拟 Cd 污染条件,分析叶片喷施 γ -PGA 对辣椒 Cd 吸收的影响,以期对辣椒安全生产及蔬菜的 Cd 污染防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料及育苗

供试辣椒 (*Capsicum annuum* L.) 品种川腾 6 号,为四川省农业科学院园艺所自育品种; γ -PGA

由中国科学院成都生物研究所闫志英研究员课题组提供。试验于四川省农业科学院园艺研究所光照温室进行,培养条件如下:平均温度 25 ℃/18 ℃(昼/夜),相对湿度 60%,采用 T5 全光谱荧光灯(上海鼎铎)为光源,光照强度 300 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光周期 16 h/8 h(昼/夜)。供试辣椒幼苗分 2 批进行培育,选取饱满的辣椒种子,用体积分数 10% H_2O_2 消毒 10 min,28 ℃ 黑暗中催芽,待根长至 2~3 cm 后移至装有改良 Hoagland's 营养液^[13]的试管(50 mL)中,待辣椒幼苗长至 6 叶 1 心时完成育苗工作。

1.2 试验处理

1.2.1 γ -PGA 对辣椒生长及果实产量的影响 选取第 1 批长势一致的 6 叶 1 心供试辣椒幼苗,一部分移栽至装有 20 L 改良 Hoagland's 营养液的水培箱(长×宽×高=44 cm×24.3 cm×29.8 cm)中培养,营养液每 7 d 更换 1 次,每箱栽培辣椒 8 株,幼苗自移栽后每隔 10 d 取样测定植株鲜质量,共测 6 次。其余幼苗移栽至装有基质的塑料花盆(外径×高=17.3 cm×10.3 cm)中,基质由珍珠岩/腐殖土按质量比 1:4 组配而成,经高温灭菌后称质量,使每盆质量保持一致,每盆栽辣椒 1 株,并用改良 Hoagland's 营养液浇灌;至果实成熟后测定果实结果数量、单果质量、产量、果实长度等指标。水培和盆栽苗自移栽后,各栽培方式的 1/2 幼苗于叶面喷施蒸馏水(对照),另外 1/2 幼苗叶面喷施 0.1 g/L 的 γ -PGA,每隔 5 d 喷施 1 次,以叶面和叶背滴水为宜(约 10 mL/株),每处理重复 3 次。对测定数据进行统计分析,确定 γ -PGA 对辣椒的作用后进行后续试验。

1.2.2 γ -PGA 对镉胁迫辣椒生理特性的影响 选取第 2 批长势一致的 6 叶 1 心供试辣椒幼苗,移栽至水培箱中,7 d 后对 1/2 幼苗叶面喷施 0.1 g/L 的 γ -PGA,另外 1/2 幼苗喷施蒸馏水作为对照,每 5 d 喷施 1 次,共喷施 2 次,喷施方式同上。第 2 次喷施完成后,以 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 形式向改良 Hoagland's 营养液中加入 Cd 进行 Cd 胁迫试验。试验共 6 个处理:加入不含 Cd 的营养液(Cd0);加入不含 Cd 的营养液,但叶面喷施 0.1 g/L γ -PGA(Cd0+PGA);加入含 5 mg/L Cd 的营养液(Cd5);加入含 5 mg/L Cd 的营养液,同时叶面喷施 0.1 g/L γ -PGA(Cd5+PGA);加入含 10 mg/L Cd 的营养液(Cd10);加入含 10 mg/L Cd 的营养液,同时叶面喷施 0.1 g/L γ -PGA(Cd10+PGA)。每个处理重复 3 次,每 7 d 更换 1 次营养液。Cd 胁迫试验 5 d 后进行辣椒生

长及生理指标的测定。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 幼苗生长及果实产量 将第 1 批供试幼苗的水培辣椒按 1.2.1 节所设定的间隔周期小心取出,纸巾拭去根部表面的水分,用电子天平测定植株鲜质量;第 1 批供试幼苗的盆栽辣椒待果实成熟后,用游标卡尺测定果实长度,电子天平测定果实单果质量,记录每株植株结果数量及收果时间(d),单株产量=平均单果质量×单株结果数。对第 2 批供试水培辣椒,用毫米刻度尺测定株高,并计算生长速率:植株生长速率=(镉处理后株高一镉处理前株高)/镉处理时间。

1.3.2 叶绿素含量 第 2 批供试各处理水培辣椒自顶向下取第 3~4 片成熟叶片,去除叶脉后剪碎混匀,取 0.20 g 鲜叶,放入 50 mL 离心管中,加入 20 mL 体积分数 80% 丙酮,密封后于室温下避光浸提 24 h,其间摇动 3~4 次,待叶片完全变白后取上清液,用紫外分光光度计测定 645 和 663 nm 的吸光度值,计算叶绿素含量^[14]。

1.3.3 抗氧化酶活性 逆境胁迫条件下,植物为减少活性氧(ROS)代谢导致的伤害,其自身抗氧化酶系统中的超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)等均会有所响应。但在喷施 γ -PGA 缓解逆境胁迫的相关研究中,主要是围绕 SOD、POD、CAT 这 3 种酶进行分析和研究^[15]。因此,本研究也仅分析 SOD、POD 和 CAT 活性的变化。第 2 批供试各处理水培辣椒自顶向下取第 2~3 片幼嫩叶片,称取 0.1 g 鲜样分别标记,液氮速冻后于-80 ℃超低温冰箱保存,用于酶活性测定。SOD、POD 和 CAT 酶活性均采用苏州科铭生物试剂盒测定,每个处理重复 3 次。

1.3.4 叶绿素荧光参数 采用便携式光合系统(LI-6400 XT, 美国)配以叶绿素荧光叶室,测定第 2 批供试水培辣椒成熟叶片最大光化学效率(F_v/F_m)、实际光化学效率($\Phi\text{PS II}$)、电子传递速率(ETR)、光化学淬灭(qP)和非光化学淬灭(NPQ),光照强度设定为 300 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,气温 25 ℃。

1.3.5 Cd 及矿质元素含量 植物样品中的矿质元素及 Cd 含量参考国家标准方法测定。将 Cd10 和 Cd10+PGA 处理辣椒幼苗样品分别标记后,装入牛皮纸袋烘干并粉碎,称取粉碎的植株样品 0.5 g 于

消化管中,加入 20 mL 混合酸(硝酸与高氯酸体积比为 4 : 1),过夜后在消解炉上高温消解,加去离子水定容至 50 mL,过滤后用电感耦合等离子体发射光谱仪(iCAP6300,美国)测定植物样品中的 Fe、Mn、Zn 及 Cd 含量。

1.4 数据统计与分析

每个指标重复测定 3 次取平均值。利用 Microsoft Excel 2016 进行数据图表处理,用 SPSS 统计分析软件中的 Duncan's 进行新复极差法多重比较。

2 结果与分析

2.1 γ -PGA 对辣椒幼苗生物量、果实形态及产量的影响

由图 1 可知,在整个水培期间,施用 0.1 g/L γ -PGA 的辣椒幼苗整株鲜质量均高于对照,且这种促进效果随着水培时间的延长而增强;尤其是在水培 60 d 时,施用 0.1 g/L γ -PGA 的辣椒幼苗鲜质量较对照增加了 11.94%。由表 1 可知,叶片喷施 0.1

g/L γ -PGA 可以显著提高辣椒的单株结果数、单株产量及收果时长,分别较对照增加了 13.48%, 15.94%和 19.23%;喷施 0.1 g/L γ -PGA 后单果质量和果实长度虽也有所增加,但与对照差异均不显著。可见施用 γ -PGA 能促进辣椒的生长,提高果实产量。

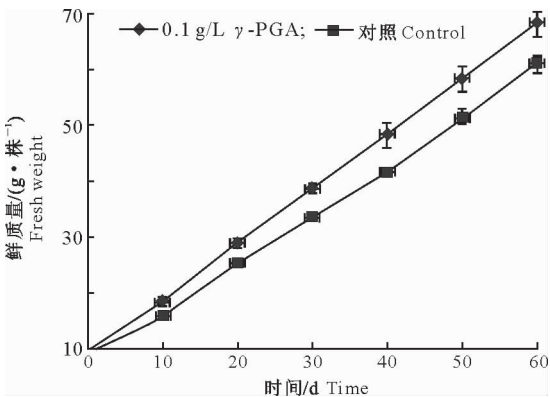


图 1 γ -PGA 对辣椒幼苗鲜质量的影响

Fig. 1 Effects of γ -PGA on fresh weight of pepper seedlings

表 1 γ -PGA 对辣椒果实形态及产量的影响

Table 1 Effects of γ -PGA on morphology and yield of pepper fruits

处理 Treatments	单株结果数 Fruit number per plant	单果质量/g Single fruit weight	单株产量/g Yield per plant	果实长度/cm Fruit length	收果时长/d Harvest time
对照 Control	28.20±1.29 b	6.01±0.14 a	169.62±7.25 b	14.00±0.46 a	55.28±4.53 b
0.1 g/L γ -PGA	32.00±0.50 a	6.15±0.13 a	196.66±10.48 a	14.80±0.72 a	65.91±2.61 a

注:表中数据为“平均值±标准差”,同列数据后标不同小写字母表示差异达到 5%显著水平,下同。
Note: Values in table are “means±SD”, different lowercase letters indicate significant difference at 5% level. The same below.

2.2 γ -PGA 对 Cd 胁迫辣椒幼苗生长速率的影响

γ -PGA 对 Cd 胁迫辣椒幼苗生长速率的影响结果见图 2。

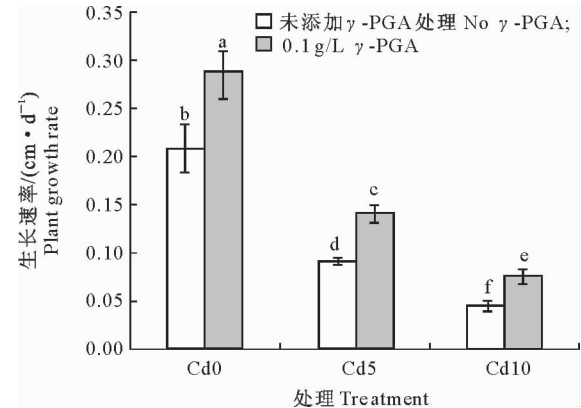


图 2 γ -PGA 对 Cd 胁迫辣椒幼苗生长速率的影响
Fig. 2 Effects of γ -PGA on growth rate of pepper seedlings under different Cd stress

图 2 表明,Cd 胁迫显著抑制了辣椒幼苗地上部

的伸长生长,且 Cd 质量浓度越高,辣椒幼苗的生长速率降低越明显。当 Cd 质量浓度为 10 mg/L 时,辣椒幼苗的生长速率仅为未添加 Cd 处理的 21.63%($P<0.05$)。 γ -PGA 能够不同程度地促进 Cd 胁迫辣椒的生长,而且这种促进效果随 Cd 质量浓度增大而越发明显。当水培液中不添加 Cd 时,施用 γ -PGA 后辣椒的生长速率最大,较未添加 γ -PGA 处理增加了 38.46%($P<0.05$);当 Cd 质量浓度分别为 5 和 10 mg/L 时,喷施 γ -PGA 处理辣椒幼苗的生长速率较未添加 γ -PGA 处理分别提高 56.04%和 68.89%。

2.3 γ -PGA 对 Cd 胁迫辣椒幼苗叶绿素含量的影响

图 3 显示,Cd 胁迫可以不同程度地降低辣椒叶片的叶绿素含量,在高质量浓度(10 mg/L)Cd 胁迫下,辣椒幼苗的叶绿素 a 和 b 含量显著低于无 Cd 处理。正常生长状态下,叶片喷施 0.1 g/L γ -PGA 可显著增加辣椒叶片的叶绿素 b 含量。在较低质量浓度(5 mg/L)Cd 胁迫条件下,施用 γ -PGA 后辣椒叶片的叶绿素含量与未添加 γ -PGA 处理相比差异不

显著,且接近正常水平。而在高质量浓度(10 mg/L) Cd 胁迫下,与未添加 γ -PGA 处理相比,施用 γ -PGA 后叶绿素 a 和叶绿素 b 含量显著提高了 35.46%和20.77%,而且能够恢复到正常生长水平。

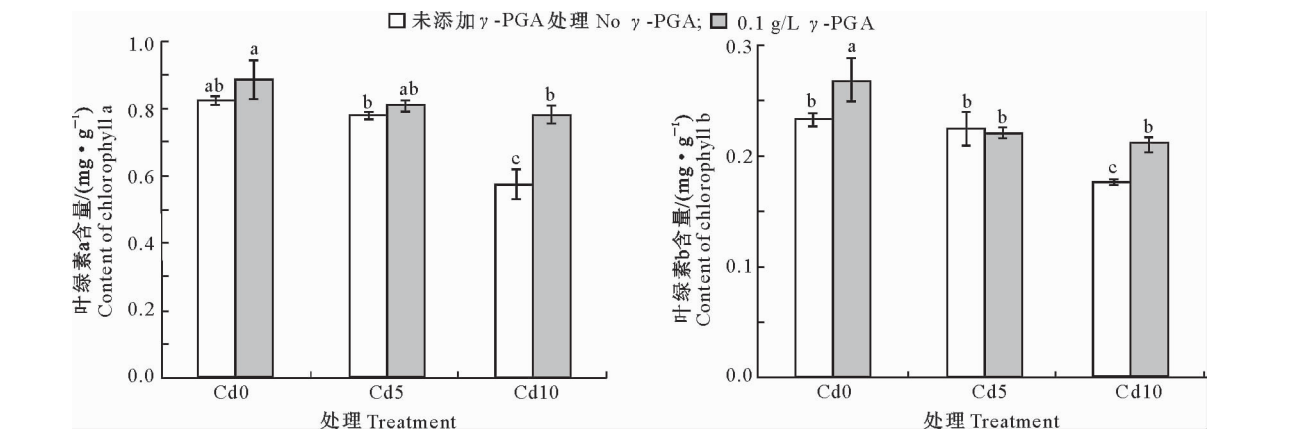


图 3 γ -PGA 对 Cd 胁迫辣椒叶片叶绿素含量的影响

Fig. 3 Effects of γ -PGA on chlorophyll contents of pepper seedlings under Cd stress

2.4 γ -PGA 对 Cd 胁迫辣椒幼苗叶绿素荧光特性的影响

由表 2 可知,随着 Cd 胁迫的加重,叶绿素荧光参数 F_v/F_m 、 qP 、 $\Phi PS II$ 和 ETR 均逐渐下降,而 NPQ 则显著上升, γ -PGA 处理对正常生长辣椒的荧光参数无明显影响。低质量浓度 Cd(5 mg/L)胁迫下,与未施用 γ -PGA 相比, γ -PGA 处理辣椒叶片 ETR 显著增加,NPQ 显著降低,其他荧光参数无显

著变化。10 mg/L Cd 胁迫使辣椒叶片的光化学效率受到显著抑制,施用 γ -PGA 则能使之得到有效缓解,除 F_v/F_m 无显著变化外, qP 、 $\Phi PS II$ 及 ETR 均显著升高($P < 0.05$),分别较未施用 γ -PGA 处理增加了 9.52%,13.89%和 13.16%;NPQ 则显著降低 6.90%($P < 0.05$);但总体来看,各荧光参数仍显著低于正常生长幼苗。

表 2 γ -PGA 对 Cd 胁迫辣椒叶绿素荧光特性的影响					
Table 2 Effects of γ -PGA on chlorophyll fluorescence characteristics of pepper seedlings under Cd stress					
处理 Treatments	F_v/F_m	qP	NPQ	$\Phi PS II$	ETR
Cd0	0.77±0.009 a	0.78±0.026 ab	0.42±0.013 e	0.52±0.016 a	12.41±0.356 a
Cd0+PGA	0.76±0.026 a	0.79±0.025 a	0.41±0.009 e	0.54±0.015 a	12.81±0.538 a
Cd5	0.74±0.027 ab	0.72±0.006 cd	0.49±0.013 c	0.44±0.015 b	10.56±0.230 c
Cd5+PGA	0.74±0.007 ab	0.74±0.021 bc	0.45±0.020 d	0.46±0.011 b	11.37±0.105 b
Cd10	0.70±0.007 c	0.63±0.021 e	0.58±0.015 a	0.36±0.019 d	9.04±0.428 d
Cd10+PGA	0.72±0.010 bc	0.69±0.023 d	0.54±0.010 b	0.41±0.021 c	10.23±0.256 c

2.5 γ -PGA 对 Cd 胁迫辣椒抗氧化酶活性的影响

由表 3 可以看出,Cd 胁迫显著降低了辣椒叶片的抗氧化酶活性,且胁迫程度越强酶活性下降越明

显,尤其是当 Cd 质量浓度为 10 mg/L 时,SOD、POD、CAT 活性较未胁迫处理(Cd0)分别降低了 22.65%,24.60%和 34.45%。

表 3 γ -PGA 对 Cd 胁迫辣椒抗氧化酶活性的影响			
Table 3 Effects of γ -PGA on antioxidant enzyme activities of pepper seedlings under Cd stress			
处理 Treatments	SOD/(U·g ⁻¹)	POD/(U·g ⁻¹)	CAT/(nmol·min ⁻¹ ·g ⁻¹)
Cd0	151.29±1.61 b	2 471.36±35.99 b	361.01±7.22 a
Cd0+PGA	169.66±8.61 a	2 946.92±161.45 a	376.76±5.45 a
Cd5	136.23±0.91 c	1 922.80±48.46 d	295.86±16.22 c
Cd5+PGA	159.90±7.62 b	2 225.23±57.52 c	335.19±14.56 b
Cd10	117.02±4.17 d	1 863.49±7.16 d	246.98±11.27 d
Cd10+PGA	122.71±5.04 d	1 903.38±74.44 d	306.70±1.78 c

表 3 显示,施用 γ -PGA 可以有效缓解 Cd 的抑制作用。未受 Cd 胁迫时,施用 γ -PGA 可以显著增强 SOD 和 POD 活性,但 CAT 活性升高不显著;当 Cd 质量浓度为 5 mg/L 时, γ -PGA 处理后辣椒叶片

的 SOD、POD、CAT 活性分别较未喷施 γ -PGA 处理显著升高了 17.38%,15.72%和 13.29%,SOD 活性甚至提高到了正常生长水平;高质量浓度 Cd(10 mg/L)胁迫下,仅 CAT 活性较未添加 γ -PGA 处理显

著提高了23.90%($P<0.05$)。说明 γ -PGA 处理对低水平 Cd 胁迫下的抗氧化酶活性有明显促进作用,但 Cd 胁迫程度加重时,这种促进效果有所减弱。

2.6 γ -PGA 对 Cd 胁迫辣椒幼苗 Cd 及营养元素含量的影响

由表 4 可知,当 Cd 质量浓度为 10 mg/L 时,

表 4 γ -PGA 对 Cd 胁迫辣椒养分元素及 Cd 含量的影响
Table 4 Effects of γ -PGA on nutrient elements and Cd contents of pepper seedlings under Cd stress mg/kg

处理 Treatments	Fe	Mn	Zn	Cd
Cd10	24.04±0.85 b	7.92±0.12 b	2.78±0.01 b	83.89±5.32 a
Cd10+PGA	29.82±2.01 a	14.49±0.28 a	4.05±0.19 a	67.91±2.42 b

3 讨 论

γ -PGA 作为一种新型生物肥料增效剂,可促进植物生长和养分吸收,这已经在菠菜^[16]和番茄^[7]等蔬菜作物上得到了证实。尽管目前对 γ -PGA 促进植物生长的机制还不清楚,但已有研究发现,该过程主要通过影响植物氮代谢来完成^[17]。研究发现,生长季节叶施 PGA 肥可促进生姜植株生长,提高植株鲜质量以及鲜姜茎块产量^[18];叶面喷施 0.1~0.3 mg/L γ -PGA 可有效提高温州蜜柑的产量和品质^[19]。本研究表明,叶面施用 0.1 g/L γ -PGA 不仅增加了水培辣椒幼苗的鲜质量,而且明显提高了盆栽辣椒果实数量和产量,大大延长了收果时间。因此, γ -PGA对辣椒植株生长及产量有明显的促进作用,这与上述研究结果^[18-19]一致。

叶绿素参与了植物光合作用中光能的吸收、传递和转换,对植物生长起重要作用。Cd 进入植物体后能够抑制叶绿素合成相关酶的活性或直接破坏叶绿体结构,致使叶绿素合成降速或分解加快,进而抑制植物的光合作用^[20]。本试验中,在 Cd 胁迫下辣椒幼苗地上部生长速率明显受到抑制,叶片叶绿素含量下降,尤其是在 10 mg/L Cd 胁迫下,辣椒幼苗地上部生长速率下降了近 80%,叶绿素含量降低了约 25%;施用 γ -PGA 后,叶绿素含量升高,生长速率显著增加,说明 γ -PGA 能够有效缓解 Cd 胁迫对辣椒叶片叶绿素合成的抑制作用。可能是 γ -PGA具有生物可降解性,极易分解形成谷氨酸,可作为氮源供植物直接吸收利用,而氮素是叶绿素的主要成分,能够促进叶绿素的合成以及光能的捕获,进而促进植物的生长^[21]。

Cd 对植物光合系统具有破坏作用,尤其是光系统 II (PS II) 较光系统 I (PS I) 更易受到 Cd 的毒害^[22]。叶绿素荧光反映了光合作用过程中 PS II 对

γ -PGA处理后辣椒植株的 Fe、Mn 和 Zn 含量分别显著增加了 24.04%,82.95%和 45.68%;叶面喷施 γ -PGA可以显著抑制辣椒植株对 Cd 的吸收,施用 γ -PGA 处理辣椒的 Cd 含量较未施处理显著降低了 19.05%。

光能的吸收、传递、耗散和分配情况,可了解 Cd 胁迫对植物 PS II 光化学活性的影响^[23]。本研究表明,在 5 和 10 mg/L Cd 胁迫下,辣椒幼苗 F_v/F_m 、 qP 、 $\Phi PS II$ 和 ETR 均有不同程度降低,而 NPQ 显著升高,这与赖秋羽等^[24]在番茄上的研究结果相似,即 Cd 胁迫会导致辣椒叶片 PS II 活性中心遭到破坏,电子传递受阻,热耗散增加,且胁迫越严重抑制效果越明显。本研究中,经 0.1 g/L γ -PGA 处理后,辣椒幼苗叶片 F_v/F_m 、 qP 、 $\Phi PS II$ 和 ETR 较单一 Cd 胁迫处理均有不同程度升高,同时伴随着 NPQ 的降低,说明 γ -PGA 对 Cd 胁迫辣椒叶片 PS II 反应中心具有一定的保护作用,能够缓解 Cd 对 PS II 原初光化学活性的抑制作用,提高光合电子传递速率,降低热耗散,使得 PS II 天线色素吸收的光能更多更有效地用于光化学反应,维持了 PS II 的正常功能,进而提高了 Cd 胁迫辣椒植株的生长速率^[25]。

逆境胁迫通常会导致植物体内活性氧包括超氧阴离子、羟自由基和过氧化氢的明显增加,而较高浓度的活性氧会损伤细胞膜系统,造成氧化胁迫,进而阻碍植物生长甚至导致死亡^[26]。SOD、POD 和 CAT 是植物体内 ROS 清除系统的重要保护酶,在其协同作用下能够有效清除植物体内的活性氧自由基。研究表明,Cd 胁迫会导致 Cd^{2+} 直接取代这些酶活性中心的金属元素或与酶的半胱氨酸残基结合,从而抑制酶活性^[4,27]。本研究表明,Cd 胁迫条件下,辣椒幼苗 SOD、POD 和 CAT 活性随 Cd 质量浓度的提高而显著下降。而张菊平等^[28]的研究结果却表明,辣椒抗氧化酶活性随着 Cd 质量浓度的增加先升高后降低。这可能是辣椒品种不同所致。叶面施用 γ -PGA 后,不同质量浓度 Cd 胁迫处理辣椒的 SOD、POD 和 CAT 活性均有不同程度升高,尤其是在 Cd 质量浓度为 5 mg/L 时,抗氧化酶活性升高最为显著。表明外源 γ -PGA 可以增强 Cd 胁迫

辣椒幼苗 SOD、POD 和 CAT 的活性水平,使幼苗能更及时地清除活性氧自由基,减轻细胞的氧化胁迫,维持细胞膜的结构和功能。

作为植物生长的非必需元素,当 Cd^{2+} 进入植物体内后,可取代金属离子,如 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 和 Fe^{2+} 等在金属蛋白中的结合位点,干扰植物的离子平衡^[29]。 γ -PGA 为一种高分子聚合物,其分子侧链含有大量的羧基,电离产生的阴离子附着在高分子链上,对 Ca、Mg、Cu、Zn 等阳离子状态的矿质养分具有较强的吸附和活化作用,有助于提高养分有效性^[30-31]。本研究表明,在 10 mg/L Cd 胁迫下,叶面施用 γ -PGA 能显著增加辣椒幼苗体内的 Fe、Mn、Zn 含量,这与黄巧义等^[21]在菜心上的研究结果相似。Pang 等^[10]发现,施用不同浓度 γ -PGA 能抑制黄瓜对重金属 Cd 和 Pb 的吸收。本研究中,叶面喷施 γ -PGA 后,辣椒植株 Cd 含量显著降低,可能是 Cd 在植物体内的吸收转运并无专用的运输蛋白,而是与 Ca、Mg、Fe 等其他阳离子状态的金属离子竞争同一阳离子通道^[32],施用 γ -PGA 提高了辣椒植株体内 Fe、Mn、Zn 等有益矿质元素含量,因而对 Cd 形成竞争作用,从而抑制辣椒对 Cd 的吸收。

4 结 论

γ -PGA 可促进辣椒幼苗生长,提高植株鲜质量和单株收果数及果实产量,延长收果时间。不同程度 Cd 胁迫导致辣椒幼苗代谢紊乱,生长受到严重抑制,叶面施用 γ -PGA 可提高 Cd 胁迫辣椒幼苗叶绿素含量及光能利用率,以及抗氧化酶活性和 Fe、Mn、Zn 等有益矿质元素含量,减少辣椒对有害元素 Cd 的吸收,从而有效缓解 Cd 胁迫对辣椒幼苗造成的伤害,促进辣椒幼苗生长,而且胁迫程度越严重,这种缓解效应越显著。

〔参考文献〕

[1] 黄绍文,唐继伟,李春花.不同栽培方式菜田耕层土壤重金属状况[J].植物营养与肥科学报,2016,22(3):707-718.
Huang S W, Tang J W, Li C H. Status of heavy metals in vegetable soils under different patterns of land use [J]. Journal of Plant Nutrition & Fertilizer, 2016, 22(3): 707-718.

[2] 环境保护部,国土资源部.全国土壤污染状况调查公报[EB/OL]. (2014-04-17) [2020-01-03]. http://www.mee.gov.cn/gkml/sthjbgw/qt/201404/t20140417_270670.htm.
Ministry of Environmental Protection PRC, Ministry of Land and Resources PRC. Report on soil pollution in China [EB/OL]. (2014-04-17) [2020-01-03]. http://www.mee.gov.cn/gkml/sthjbgw/qt/201404/t20140417_270670.htm.

[3] Xie L P, Hao P F, Cheng Y, et al. Effect of combined application of lead, cadmium, chromium and copper on grain, leaf and stem heavy metal contents at different growth stages in rice [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 162: 71-76.

[4] 时 萌,王芙蓉,王棚涛.植物响应重金属 Cd 胁迫的耐性机理研究进展[J].生命科学,2016,28(4):504-512.
Shi M, Wang F R, Wang P T. Research advances in the tolerance mechanism of plant response to heavy metal cadmium stress [J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2016, 28(4): 504-512.

[5] Sarwar N, Saifullah, Malhi S S, et al. Role of mineral nutrition in minimizing cadmium accumulation by plants [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90(6): 925-937.

[6] Luo Z T, Guo Y A, Liu J D, et al. Microbial synthesis of poly- γ -glutamic acid: current progress, challenges, and future perspectives [J]. Biotechnol Biofuels, 2016, 9: 134.

[7] 褚 群,董春娟,尚茂茂. γ -聚谷氨酸对番茄穴盘育苗基质矿质养分供应及幼苗生长发育的影响 [J]. 植物营养与肥科学报, 2016, 22(3): 855-862.
Chu Q, Dong C J, Shang Q M. Effects of γ -poly glutamic acid on substrate mineral nutrient supply and growth of tomato plug seedlings [J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2016, 22(3): 855-862.

[8] 朱安婷,蒋友武,谢国生,等.外源聚 γ -谷氨酸对水稻幼苗耐旱性和渗透调节的影响 [J]. 核农学报, 2010, 24(6): 1269-1273, 1279.
Zhu A T, Jiang Y W, Xie G S, et al. Effects of exogenous poly γ -glutamic acid on drought tolerance and osmotic adjustment of rice seedling [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2010, 24(6): 1269-1273, 1279.

[9] Lei P, Xu Z, Liang J, et al. Poly (γ -glutamic acid) enhanced tolerance to salt stress by promoting proline accumulation in *Brassica napus* L. [J]. Plant Growth Regulation, 2016, 78(2): 233-241.

[10] Pang X, Lei P, Feng X H, et al. Poly- γ -glutamic acid, a bio-chelator, alleviates the toxicity of Cd and Pb in the soil and promotes the establishment of healthy *Cucumis sativus* L. seedling [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2018, 25(20): 19975-19988.

[11] 张 宸.聚谷氨酸生物的合成及其在修复和改良土壤中的应用 [J]. 水土保持通报, 2018, 38(2): 323-328.
Zhang C. Biosynthesis of poly- γ -glutamic acid and its application to soil remediation and improvement [J]. Bulletin of Soil and Water Conservation, 2018, 38(2): 323-328.

[12] 张晓璟,刘吉振,徐卫红,等.磷对不同辣椒品种 Cd 积累、化学形态及生理特性的影响 [J]. 环境科学, 2011, 32(4): 1171-1176.
Zhang X J, Liu J Z, Xu W H, et al. Effect of phosphor on accumulation and chemical forms of cadmium, and physiological characterization in different varieties of *Capsicum annuum* L. [J]. Environment Science, 2011, 32(4): 1171-1176.

- [13] 巩雪峰,闫志英,宋占锋,等. 外施 γ -聚谷氨酸对蚜虫胁迫辣椒叶片叶绿素和两种氧化还原酶的分析 [J]. 辣椒杂志, 2017, 15(3): 27-32.
Gong X F, Yan Z Y, Song Z F, et al. Analysis of chlorophyll and two kinds of oxidoreductase in hot pepper leaves under aphid stress by application of γ -PGA [J]. Journal of China Capsicum, 2017, 15(3): 27-32.
- [14] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris* [J]. Plant Physiology, 1949, 24(1): 1-15.
- [15] Guo Z, Yang N, Zhu C, et al. Exogenously applied poly- γ -glutamic acid alleviates salt stress in wheat seedlings by modulating ion balance and the antioxidant system [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2017, 24(7): 6592-6598.
- [16] 刘 乐, 费良军, 陈 琳, 等. γ -聚谷氨酸对土壤结构、养分平衡及菠菜产量的影响 [J]. 水土保持学报, 2019, 33(1): 277-282, 287.
Liu L, Fei L J, Chen L, et al. Effects of γ -polyglutamic acid on soil structure, nutrient balance and spinach yield [J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2019, 33(1): 277-282, 287.
- [17] Xu Z, Lei P, Feng X, et al. Calcium involved in the poly (γ -glutamic acid)-mediated promotion of Chinese cabbage nitrogen metabolism [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2014, 80: 144-152.
- [18] 李胜奇. 新型肥料增效剂“聚谷氨酸”在生姜上的喷施效果 [J]. 农业科技通讯, 2019, 566(2): 156-158.
Li S Q. Spraying effect of new fertilizer synergist “polyglutamic acid” on ginger [J]. Bulletin of Agricultural Science and Technology, 2019, 566(2): 156-158.
- [19] 王润凡, 尹业雄, 胡世权, 等. PGA 增效剂在温州蜜柑中施用效果的评价 [J]. 湖北农业科学, 2010, 49(4): 884-887.
Wang R F, Yin Y X, Hu S Q, et al. Evaluation of the effect on utilization poly- γ -glutamic acid in *Citrus unshiu* [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2010, 49(4): 884-887.
- [20] 魏花朵, 李 悦, 陈忠林, 等. 氮肥对 Cd 胁迫下结缕草光合和叶绿素荧光特性的影响 [J]. 中国土壤与肥料, 2015(4): 88-92.
Wei H D, Li Y, Chen Z L, et al. Effects of nitrogen fertilizer on photosynthetic and fluorescent characteristics of *Zoysia japonica* under cadmium stress [J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2015(4): 88-92.
- [21] 黄巧义, 唐拴虎, 李 苹, 等. 包膜材料 γ -聚谷氨酸对菜心的农学效应 [J]. 植物营养与肥料学报, 2016(6): 1645-1654.
Huang Q Y, Tang S H, Li P, et al. Agronomic effects of coating material γ -polyglutamic acid on Chinese flowering cabbage [J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2016(6): 1645-1654.
- [22] 吴敏兰, 贾洋洋, 李荭荭, 等. Cd 胁迫对不同品种烟草生理及生长状况的影响 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2015, 43(1): 69-76.
Wu M L, Jia Y Y, Li H H, et al. Effects of cadmium stress on physiology and growth of different tobacco varieties [J]. Journal of Northwest A&F University (Nat Sci Ed), 2015, 43(1): 69-76.
- [23] 王瑞波. 水杨酸对 Cd 胁迫小麦叶绿素荧光参数的影响 [J]. 生物技术通报, 2017, 33(7): 96-99.
Wang R B. Effect of salicylic acid on chlorophyll fluorescence parameters in wheat under cadmium stress [J]. Biotechnology Bulletin, 2017, 33(7): 96-99.
- [24] 赖秋羽, 魏树和, 代惠萍, 等. 番茄光合荧光特性及其 Cd 吸收对土壤 Cd 污染的响应 [J]. 中国环境科学, 2019, 39(11): 4737-4742.
Lai Q Y, Wei S H, Dai H P, et al. Response of photosynthetic characteristics and fluorescence parameters of tomato to Cd in soil [J]. China Environmental Science, 2019, 39(11): 4737-4742.
- [25] 王玉萍, 常 宏, 李 成, 等. Ca^{2+} 对 Cd 胁迫下玉米幼苗生长、光合特征和 PS II 功能的影响 [J]. 草业学报, 2016, 25(5): 40-48.
Wang Y P, Chang H, Li C, et al. Effects of exogenous Ca^{2+} on growth, photosynthetic characteristics and photosystem II function of maize seedlings under cadmium stress [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2016, 25(5): 40-48.
- [26] 刘灿玉, 夏 杰, 韩 敏, 等. Cd 对姜叶片活性氧代谢影响的时间和剂量效应 [J]. 园艺学报, 2016, 43(5): 927-934.
Liu C Y, Xia J, Han M, et al. Time and dose effects of cadmium on active oxygen metabolism in ginger leaves [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2016, 43(5): 927-934.
- [27] 孟自力, 贾 斌, 尹海燕, 等. 镉胁迫对小麦生长发育的影响 [J]. 中国农学通报, 2018, 34(23): 26-32.
Meng Z L, Jia B, Yin H Y, et al. Effect of cadmium stress on the growth and development of wheat [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2018, 34(23): 26-32.
- [28] 张菊平, 晋艳娜, 张焕丽. 辣椒对镉胁迫的生理响应 [J]. 生物学通报, 2010, 45(1): 53-56.
Zhang J P, Jin K N, Zhang H L. Physiological response of pepper to Cd stress [J]. Bulletin of Biology, 2010, 45(1): 53-56.
- [29] Gill S S, Hasanuzzaman M, Nahar K, et al. Importance of nitric oxide in cadmium stress tolerance in crop plants [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2013, 63: 254-261.
- [30] 贾艳萍, 殷爱鸣, 孙艳梅, 等. 产聚谷氨酸菌株的筛选及菌株发酵液对玉米幼苗抗旱性的作用 [J]. 生物技术通报, 2017, 33(10): 135-142.
Jia Y P, Yin A M, Sun Y M, et al. Screen of poly- γ -glutamic acid producing bacteria and their glutamic acid fermentation broth's function on the drought resistance of maize [J]. Biotechnology Bulletin, 2017, 33(10): 135-142.
- [31] Yang Z H, Dong C D, Chen C W, et al. Using polyglutamic acid as soil-washing agent to remediate heavy metal-contaminated soils [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2018, 25: 5231-5242.
- [32] Lux A, Martinka M, Vaculik M, et al. Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review [J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(1): 21-37.