

苯酚对小白菜幼苗株高及生理特性的影响

刘挺君,李君昭,洪若晖,张建民
(山东大学 海洋学院,山东 威海 264209)

摘要:为了探究苯酚富集的危害,以小白菜为材料,用不同浓度(0、10、20、30、40、50、60 mg·L⁻¹)苯酚溶液浇灌小白菜幼苗,分析由此产生的各种生物学效应。结果表明:苯酚会抑制蛋白质的合成;低浓度苯酚溶液会刺激可溶性糖的合成,当苯酚溶液浓度为 30 mg·L⁻¹时最明显;苯酚能抑制核酸的合成,在浓度为 30 mg·L⁻¹时细胞内核酸含量明显降低;同样,苯酚也能够抑制叶绿素的合成,从而使小白菜光合作用减弱,从而表现出随着苯酚浓度的升高,小白菜幼苗株高逐渐降低。

关键词:苯酚;小白菜;幼苗株高;生物学效应

中图分类号:S634.3 文献标识码:A 文章编号:1002-2767(2017)11-0033-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2017.11.0033

苯酚用途很广,但有毒,易与细胞原浆中的蛋白质反应,使细胞变性甚至凝固。对鱼类、植物、人类具有三致(致畸、致癌、致死)效应^[1]。由于其危害性严重,美国试验材料环保署将其列入优先污染物和 65 种有毒污染物名单,同时也被我国列入中国环境优先污染物名单^[2]。苯酚及苯酚衍生物在水体和土壤中的大量排放,污染了水体和土壤,对农作物造成严重危害。并且农作物的富集作用将苯酚危害扩大到生物链与食物链中,最终影响人类的生存、健康、繁衍。苯酚对人体的局部损害主要是可深入内部组织,刺激脊髓,侵犯神经中枢,最终导致全身中毒^[3-4]。小白菜作为一种叶菜类蔬菜^[5],具有很高的营养价值,本文以小白菜为试验材料研究苯酚对小白菜幼苗早期生长及生理特性的影响。

收稿日期:2017-09-14
第一作者简介:刘挺君(1997-),女,辽宁省丹东市人,在读学士,从事分子生物学研究。E-mail:792896550@qq.com。
通讯作者:张建民(1958-),男,山东省单县人,教授,从事分子生物学研究。E-mail:zhangjianmin@sdu.edu.cn。

Determination of Extracellular Enzyme Activity of Hami Melon Bacterial Fruit Blotch

MAO Liang¹, WU Jiu-yun², JI Yan-ling¹, PAN Wei-ping¹, ZHANG Yi-he¹, WANG Xiao-dong³
(1. Xinjiang Turpan Agricultural Technology Promotion Center, Turpan, Xinjiang 838000; 2. Turpan Research Institute of Agricultural Sciences, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Turpan, Xinjiang 838000; 3. Key Laboratory of Oasis Crop Disease Control and Prevention, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000)

Abstract: In order to prevent the initial Hami melon bacterial fruit spot infection, through the determination of pathogen bacteria growth curve of melon bacterial fruit blotch, extracellular enzymes pectinase change, extracellular cellulase change, the law of extracellular enzyme pectinase and cellulose was mastered in the early stages of infection of melon bacterial fruit blotch. The results showed that pectinase and cellulase were produced by bacterial fruit blotch of melon, which indicated that pathogenicity of the pathogen was related to the activities of these two enzymes at the initial stage of infection. With the growth curve of bacteria, the pectinase did not show obvious trend, but the activity of cellulase increased gradually after the growth of bacteria entered the recession period. Both pectinase and cellulase appeared peaks at the same time in 44 h, but there was no significant increase in pectinase in the late 44 h to 72 h, cellulase showed an obvious upward trend, indicating that cellulase plays a major role in the late growth of the disease.

Keywords: Hami melon; bacterial fruit blotch; enzyme activity; pathogenicity

1 材料与方法

1.1 材料

小白菜品种为速生 568, 由青岛胶研种苗有限公司生产。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 随机选取大小一致, 饱满度相同的小白菜种子。设置 7 个浓度梯度, 分别为 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 每浓度 5 次重复。在每个培养皿中预先放入 3 mm 厚的沙子, 在沙子上垫 2 张滤纸, 均匀播种 50 粒种子, 先用清水浇灌种子, 让其萌发, 随后用浓度不同的苯酚溶液浇灌 2 d (每天 1 次), 而后每日视情况滴加 Hoagland 营养液, 使小白菜种子和幼苗始终保持湿润状态, 于试验室自然环境下进行培养。

1.2.2 生理生化的测定 从播种后第 4 天开始测量小白菜幼苗的生长量 (芽长), 每隔 24 h 测量 1 次, 一共测量 5 次。在第 13 天开始测定细胞内含物, 即可溶性糖、蛋白质、叶绿素、核酸含量等生理指标。

幼苗长度的测定: 从第 4 d 起每天随机抽取 10 株小白菜幼苗进行株高的测定, 求平均数, 一共测量 5 d。

可溶性糖含量的测定: 取用不同浓度苯酚溶液处理过的小白菜幼苗 0.5 g。将其置于 50 mL 锥形瓶中, 将 25 mL 蒸馏水加入其中, 在水浴锅中沸水浴 10 min, 待其冷却后, 定容至 100 mL, 取 1 mL 定容后的溶液与 5 mL 蒽酮溶液于试管中, 摇匀后沸水浴 10 min, 冷却后于波长 625 nm 测

定可溶性糖含量。

可溶性蛋白质含量的测定: 取用不同浓度苯酚溶液处理过的小白菜幼苗 0.5 g, 将其置于研钵中快速研磨, 然后向其中加入 4 mL 蛋白质抽提 buffer, 离心机 4 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 20 min, 取上清液 1 mL 与 4 mL 双缩脲试剂混合, 25 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 30 min, 冷却后于波长 550 nm 测定蛋白质含量。

叶绿素含量的测定: 取用不同浓度苯酚溶液处理过的小白菜幼苗 0.5 g, 向其中加入适量石英沙和 5 mL 丙酮, 快速研磨, 液体过滤, 取滤液在波长分别为 663 和 645 nm 测定并计算叶绿素 a、b 含量及叶绿素总量^[6]。

核酸含量的测定: 取用不同浓度苯酚溶液处理过的小白菜幼苗 0.5 g, 向其中加入核酸提取 10 mL 缓冲液, 在冰上快速研磨, 离心机 3 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取沉淀加入 5 mL 乙醇: 乙醚: 氯仿 (2: 2: 1), 静置 15 min。离心机 3 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液加入 5% 三氯乙酸 5 mL, 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 30 min。在波长 268.5 nm 测定核酸含量。

2 结果与分析

2.1 不同浓度苯酚对小白菜幼苗株高的影响

由图 1 可以看出, 经不同浓度的苯酚溶液处理后, 苯酚处理组的株高均低于对照组, 且在苯酚浓度为 40 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 受苯酚抑制作用最明显, 株高最矮。由此可知, 苯酚对小白菜幼苗生长呈抑制作用, 且随着苯酚浓度的升高, 小白菜幼苗的株高受到明显的抑制。

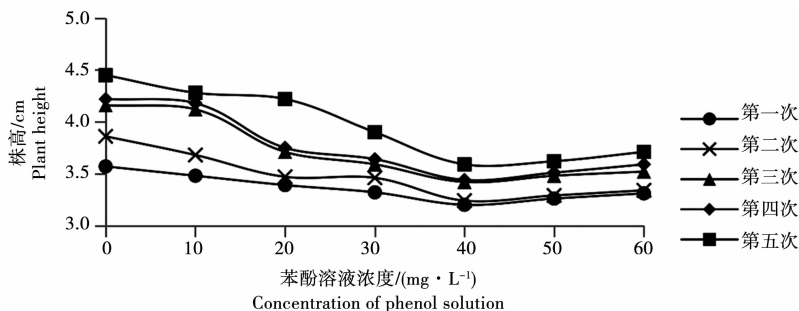


图 1 不同浓度的苯酚溶液处理小白菜幼苗后株高的变化

Fig. 1 Change of Chinese cabbage height treated under different concentration of phenol solution

2.2 不同浓度苯酚溶液对小白菜幼苗内含物含量的影响

2.2.1 不同浓度苯酚溶液对小白菜幼苗可溶性糖含量的影响 由图 2 可以看出, 经不同浓度的

苯酚溶液处理后, 试验组小白菜幼苗可溶性糖含量均高于对照组小白菜幼苗可溶性糖含量。但不同浓度的苯酚溶液对可溶性糖含量的促进作用不同, 在苯酚浓度为 30 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时最明显。当苯酚

溶液的浓度超过 $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,随着苯酚浓度的增加,光合作用的能力下降,限制了可溶性糖的合成,最终导致可溶性糖含量降低。

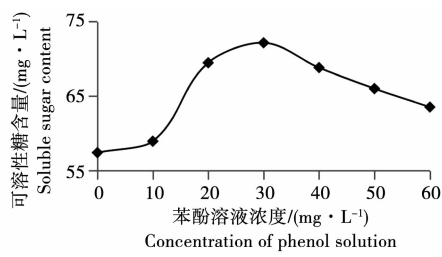


图2 不同浓度苯酚溶液处理小白菜幼苗后可溶性糖的含量变化

Fig. 2 Change of soluble sugar content in Chinese cabbage treated under different concentration of phenol solution

2.2.2 不同浓度苯酚溶液对小白菜幼苗中蛋白质含量的影响 由图3可看出,各试验组小白菜幼苗蛋白质的含量均低于对照组,在苯酚溶液浓度为 $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,可溶性蛋白含量略高于其它试验组,但仍低于对照组。可能由于苯酚对蛋白质合成酶和分解酶的影响趋势不同,综合作用后呈现出如图3的趋势。

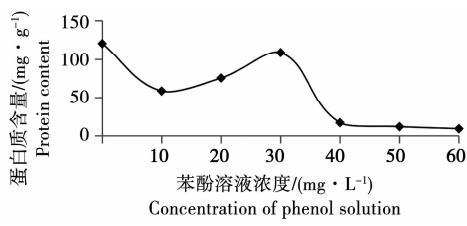


图3 不同浓度苯酚溶液处理小白菜幼苗后蛋白质的含量变化

Fig. 3 Change of protein content in Chinese cabbage treated under different concentration of phenol solution

2.2.3 不同浓度的苯酚溶液对小白菜幼苗中叶绿素含量的影响 叶绿素是一类与光合作用有关的最重要的色素。从图4中看出,当苯酚溶液浓度为 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,叶绿素含量(包括叶绿素总量,叶绿素a,叶绿素b)均高于对照组且含量最多,当苯酚溶液浓度超过 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,处理组中的叶绿素含量都低于对照组,且随着苯酚溶液浓度的升高,叶绿素的含量逐渐降低,当浓度达到 $60\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时叶绿素含量稍有升高。

2.2.4 不同浓度的苯酚溶液对小白菜幼苗中核酸含量的影响 由图5可看出,各处理组小白菜幼苗核酸的含量均低于对照组,可见苯酚溶液会抑制小白菜幼苗中核酸的合成,当浓度为

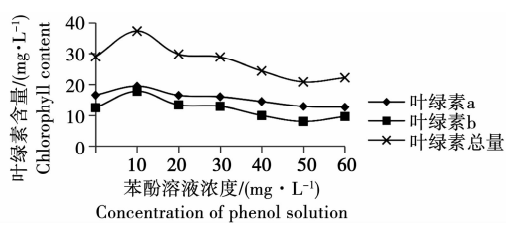


图4 不同浓度苯酚溶液处理小白菜幼苗后叶绿素的含量变化

Fig. 4 Change of chlorophyll content in Chinese cabbage treated under different concentration of phenol solution

$30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时抑制作用最为明显。当苯酚浓度进一步升高时,苯酚对小白菜核酸的抑制作用逐渐减弱。有研究表明苯类物质会使细胞器结构受损,导致核结构变形,从而影响核酸的含量^[7]。核酸的变化趋势与植株高度变化相似,推测苯酚通过影响核酸的含量,从而影响植株的高度。

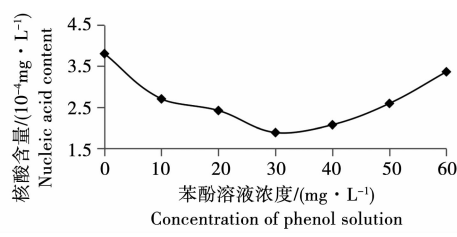


图5 不同浓度苯酚溶液处理小白菜幼苗后核酸的含量

Fig. 5 Change of nucleic acid content in Chinese cabbage treated under different concentration of phenol solution

3 结论与讨论

3.1 苯酚对小白菜幼苗株高的影响

小白菜幼苗植株高度生长明显受到苯酚的抑制。这可能是由于苯酚易在根部积累,根部细胞遭到破坏后导致植株正常生长受到阻碍从而影响小白菜的株高,这与林开敏^[8]研究结果一致。

3.2 苯酚对小白菜幼苗内含物含量的影响

可溶性糖以葡萄糖、海藻糖、蔗糖的形式参与植物体内的渗透调节^[9],是很多植物重要和有效的有机渗透调节物质,逆境的胁迫会造成植物体内可溶性糖的积累,从而增强植物对环境的适应性,可溶性糖的增加量在一定程度上反映了植物的抗逆性^[10]。所以在苯酚处理下各试验组小白菜幼苗可溶性糖含量均高于对照组。苯酚溶液浓度在小于 $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,随着苯酚溶液浓度的增大,苯酚溶液对幼苗生长的抑制作用增大,从而使可溶性糖含量相对增加以维持细胞的正常生长。但在高浓度的苯酚的胁迫下,叶绿素的含量降低,

且植物的光合作用的强弱直接关系到植物可溶性糖的含量^[11],故在高浓度苯酚处理下小白菜可溶性糖含量并不高。而苯酚对于可溶性蛋白呈现出抑制状态,但不同浓度的苯酚对蛋白质分解酶和蛋白质合成的胁迫作用不同^[12-13]。苯类物质会使细胞器结构受损,导致核结构变形,从而使体内核酸含量发生改变。一定苯酚浓度处理会使小白菜核酸含量减少,从而抑制细胞分裂,使植株变矮。

参考文献:

- [1] 王凯,冯佳,蔡瑾,等.两种植物对水体中苯酚胁迫的响应[J].山西大学学报(自然科学版),2014,37(4):630-636.
- [2] 胡婷,谷洁,甄丽莎,等.石油污染土壤中苯酚降解菌 ad049 的鉴定及降解特性[J].生态学报,2014,34(5):1140-1148.
- [3] 李颖.误饮苯酚污染水对人危害有多大? [N].科技日报,2012-02-10(004).
- [4] 边归国.土壤中苯酚污染治理技术研究进展[C]//中国环境科学学会.2007 中国环境科学学会学术年会优秀论文集(下卷).北京:中国环境科学出版社,2007.
- [5] 徐丹,陈怡,王小晶,等.钾肥对镉污染土壤白菜生长和镉含量的影响[J].长江蔬菜,2012(2):58-61.

- [6] 宋阿琳,李萍,李兆君,等.硅对镉胁迫下白菜光合作用及相关生理特性的影响[J].园艺学报,2011,38(9):1675-1684.
- [7] 张衡锋,陆小青,汤庚国.苯胁迫对 4 种冬青叶片超微结构的影响[J].南京林业大学学报(自然科学版),2010,34(5):161-163.
- [8] 林开敏,叶发茂,林艳,等.酚类物质对土壤和植物的作用机制研究进展[J].中国生态农业学报,2010,18(5):1130-1137.
- [9] 赵江涛,李晓峰,李航,等.可溶性糖在高等植物代谢调节中的生理作用[J].安徽农业科学,2006(24):6423-6425,6427.
- [10] Scragg A H, Spiller L, Morrison J. The effect of 2,4-dichlorophenol on the microalga Chlorella VT-1[J]. Enzyme Microb Tech, 2003(32):616-622.
- [11] Ucisik A S, Trapp S. Uptake, removal, accumulation, and phytotoxicity of phenol in willow trees (*Salix viminalis*) [J]. Environ Toxicol Chem, 2006(25):2455-2460.
- [12] 王习达,吴国荣,陆长梅,等.两种温度条件下苯酚对铜绿微囊藻大型变种生长的影响[J].广西植物,2004(3):281-285.
- [13] 李辉,张光灿,谢会成,等.苯酚废水对垂柳叶片光合生理参数的影响[J].植物学报,2016,51(1):31-39.

Effect of Phenol on Seeding Height and Physiological Characteristics of Chinese Cabbage

LIU Ting-jun, LI Jun-zhao, HONG Ruo-hui, ZHANG Jian-min

(Marine College of Shandong University, Weihai, Shandong 264209)

Abstract: In order to explore the harm of phenol enrichment, taking the Chinese cabbage as the material, the seedlings were watered with phenol solution of different concentrations (0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), and the various biological effects were analyzed. The results showed that phenol solution could inhibit the synthesis of protein; low concentration of phenol solution can stimulate the synthesis of soluble sugar. When the concentration of phenol was 30 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the effect was most obvious. The phenol can inhibit nucleic acid. When phenol concentration was 30 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the inhibition was most obvious. In the same way, phenol also inhibits the synthesis of chlorophyll. Because of the decrease of photosynthesis, the seeding height of Chinese cabbage decreased gradually with the increase of phenol concentration.

Keywords: phenol; Chinese cabbage; seeding height; biological effect

欢 迎 投 稿

欢 迎 刊 登 广 告