

## 铜胁迫对绿豆幼苗生理指标的影响

朱惠敏, 梁靖, 吴宇东, 周丽萍 (肇庆学院生命科学院, 广东肇庆 526000)

**摘要** [目的]研究铜胁迫对绿豆幼苗生理指标的影响。[方法]以不同浓度的铜溶液为培养液,研究  $\text{Cu}^{2+}$  对绿豆幼苗活性氧清除系统及叶绿素含量的影响。[结果]当  $\text{Cu}^{2+}$  浓度在 0~70 mg/L 梯度内,绿豆幼苗的 SOD 活性、POD 活性和叶绿素均呈先上升后下降的趋势,当  $\text{Cu}^{2+}$  浓度为 50 mg/L 时,SOD 活性和 POD 活性为最大值,随着浓度增大,活性下降;低浓度  $\text{Cu}^{2+}$  促进叶绿素的合成,当  $\text{Cu}^{2+}$  浓度为 20 mg/L 时,绿豆幼苗叶绿素含量最高,随着浓度增大,叶绿素含量明显下降。[结论]铜胁迫明显影响活性氧清除酶系统,导致绿豆幼苗活性氧代谢失调。

**关键词**  $\text{Cu}^{2+}$ ; 绿豆; 幼苗; 生理指标

中图分类号 S522 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)27-0031-02

Effects of Cu Stress on Physiological Indicators of *Vigna radiata* Seedlings

ZHU Hui-min, LIANG Jing, WU Yu-dong et al (College of Life Sciences, Zhaoqing University, Zhaoqing, Guangdong 526000)

**Abstract** [Objective] Effects of Cu stress on physiological indicators of *Vigna radiata* seedlings. [Method] For nutrient solution with different concentrations of Cu solution, this paper studied the effect of  $\text{Cu}^{2+}$  on active oxygen scavenging system and chlorophyll content of *V. radiata* seedling. [Result] When the concentration of copper ions was in the range of 0~70 mg/L, the SOD activity, POD activity and chlorophyll content of the *V. radiata* seedlings appeared to be increased firstly and then decreased. When the concentration of copper ions was 50 mg/L, SOD activity and POD activity got the maximum, with concentration increasing, the activity declined. Low concentration of copper ion promoted chlorophyll's synthesis, when the copper ion concentration was 20 mg/L, the chlorophyll content of *V. radiata* seedlings became highest, with the concentration increasing, the chlorophyll content decreased obviously. [Conclusion] Copper stress significantly affects the active oxygen scavenging enzyme system, causes *V. radiata* seedling's active oxygen metabolism disorder.

**Key words** Copper ion; *Vigna radiata*; Seedlings; Physiological indicators

绿豆 (*Vigna radiata* L.) 又称青小豆, 豆科 (Leguminosae), 豇豆属 (*Vigna*), 属于医食两用的作物<sup>[1]</sup>, 营养成分丰富, 具有清热解毒、清胆养胃, 提高免疫力等功效<sup>[2]</sup>。

重金属与一般污染物的差异在于其危害具有不可逆性, 重金属可以在食物链中累积并在人体中长期潜伏<sup>[3]</sup>。目前, 我国农产品受到的重金属污染主要来源于铅、镉、汞、铜和锌<sup>[4]</sup>, 铜可通过水和食物进入人体。铜离子 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) 是植物生长发育中所必需的微量元素<sup>[5]</sup>, 当土壤中的  $\text{Cu}^{2+}$  超过一定浓度就会对植物的生长发育以及生理活性产生毒害, 主要表现为植物幼苗生长缓慢, 成熟期植株比正常植株萎缩, 植物体内的酶受到破坏, 严重的会导致农作物死亡<sup>[6]</sup>。目前, 造成铜污染的原因主要有铜矿的不规范开采及加工、含铜化肥农药的滥用、生活垃圾的堆积和工业排污等。

活性氧清除系统是植物细胞内清除多余活性氧的保护机制, 包括超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX)、脱氢抗坏血酸还原酶 (DHAR)、谷胱甘肽还原酶 (GR) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 等<sup>[7]</sup>。当植物受到胁迫时, 植物体内产生活性氧使植物受到氧化胁迫危害, 活性氧清除系统为保护植物不受伤害发挥了重要的作用。超氧化物歧化酶 (SOD) 是一种强氧化性、清除自由基金属离子的蛋白质<sup>[8]</sup>。过氧化物酶 (POD) 是广泛分布于生物中的一类以  $\text{H}_2\text{O}_2$  等过氧化物 (ROOH) 为电子受体, 催化底物发生氧化反应的酶<sup>[9]</sup>。SOD 和 POD 均属于保护酶, 当植物处于不利的环境时, 其活性会

有较大的波动。在植物体内, 高浓度重金属除了影响抗氧化酶的活性还会导致叶绿素含量明显降低, 影响植物的光合作用<sup>[10]</sup>。将绿豆种子放在不同浓度的铜溶液中进行处理, 研究  $\text{Cu}^{2+}$  对绿豆幼苗 SOD 活性、POD 活性及叶绿素总量生理指标的影响, 找出  $\text{Cu}^{2+}$  对绿豆产生毒害作用的临界浓度, 为铜污染的生物防治提供一些参考依据。

## 1 材料与方法

1.1 材料 绿豆, 购于肇庆市端州区。

## 1.2 方法

1.2.1 材料处理。挑选颗粒饱满、大小均匀的绿豆, 用 1% 次氯酸钠浸泡 10 min, 用去离子水冲洗, 晾干, 整齐排放于铺有 2 层纱布的培养皿中, 每皿 20 粒。以自来水作为对照, 将  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  配制成浓度为 10、20、30、40、50、60、70 mg/L 的溶液, 共 8 组, 每组 3 个培养皿, 培养皿中加入 15 mL 溶液, 将其放在 26 °C 室温的培养室中培养, 每 24 h 更换 1 次培养液, 保持纱布湿润。

1.2.2 酶液提取。称取 1 g 样品, 置于预冷的研钵中, 加入少量石英砂, 并加入 9 mL 经过预冷的 50 mmol/L、pH 7.8 的 PBS, 研磨成匀浆, 4 °C、6 000 r/min 离心 15 min, 将上清液倒入离心管, 低温保存, 提取液用于测定 SOD、POD。

1.2.3 生理指标测定。SOD 活性测定用氮蓝四唑法<sup>[11]</sup>, POD 活性测定用愈创木酚法, 叶绿素的提取采用浸提法<sup>[12]</sup>, 在波长为 645 和 663 nm 处测定各样品管的吸光值。

1.3 数据统计与处理 SOD 和 POD 活性以及叶绿素总量都是通过 3 次重复试验后取平均值, 将数据用 Excel 软件进行分析, 最后做成折线图。

## 2 结果与分析

2.1  $\text{Cu}^{2+}$  对绿豆幼苗 SOD 活性的影响 在重金属离子处

基金项目 广东大学生科技创新培育专项 (pdjh2016b0538)。

作者简介 朱惠敏 (1992—), 女, 广东河源人, 实验员, 硕士, 从事发育生物学及分子生物学研究。

收稿日期 2017-07-19

理下, SOD 作为生物的保护酶之一, 对植物渡过逆境具有重要意义。由图 1 可知,  $\text{Cu}^{2+}$  浓度为 0 ~ 70 mg/L 时, 绿豆幼苗的 SOD 活性变化极显著 ( $P < 0.01$ )。  $\text{Cu}^{2+}$  浓度在 40 mg/L 以下时, SOD 活性的变化幅度较小, 在 40 ~ 50 mg/L 时, SOD 活性增幅明显, 并在 50 mg/L 时 SOD 活性达到最大值, 当  $\text{Cu}^{2+}$  浓度大于 50 mg/L 时, SOD 活性下降速度很快。总体上, SOD 的活性先增后减, 最大值出现在  $\text{Cu}^{2+}$  浓度为 50 mg/L 处。  $\text{Cu}^{2+}$  浓度在 50 mg/L 时, SOD 活性比对照组高 14%。

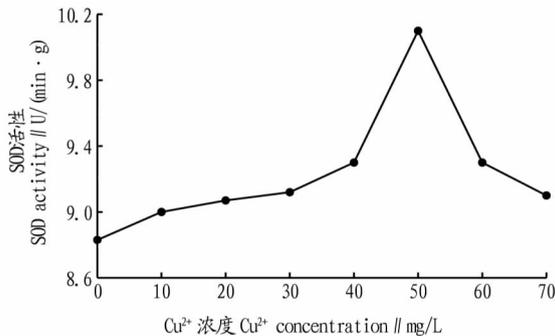


图 1  $\text{Cu}^{2+}$  浓度对绿豆幼苗体内 SOD 活性的影响

Fig. 1 Influence of  $\text{Cu}^{2+}$  concentration on SOD activity of *V. radiata* seedling

**2.2  $\text{Cu}^{2+}$  对绿豆幼苗 POD 活性的影响** POD 活性能很好地反映植物抵抗铜胁迫的能力。从图 2 可以看出, 当  $\text{Cu}^{2+}$  浓度在 10 ~ 50 mg/L 时, 绿豆幼苗的 POD 活性缓慢上升, 在  $\text{Cu}^{2+}$  浓度为 50 mg/L 时达到最大值, 比对照组高 32%,  $\text{Cu}^{2+}$  浓度在 50 ~ 70 mg/L 时, POD 活性变化较缓慢。在 8 个铜浓度处理中, 各组间的 POD 活性差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

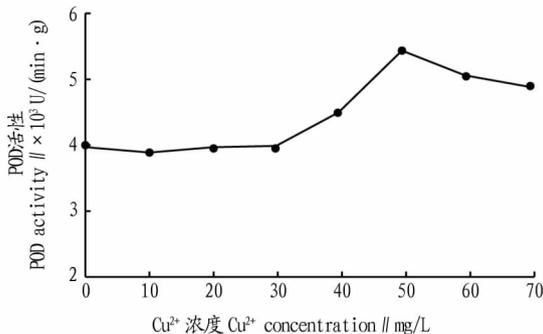


图 2  $\text{Cu}^{2+}$  浓度对绿豆幼苗体内 POD 活性的影响

Fig. 2 Influence of  $\text{Cu}^{2+}$  concentration on POD activity of *V. radiata* seedling

**2.3  $\text{Cu}^{2+}$  对绿豆幼苗叶绿素总量的影响** 铜浓度过高会对叶绿素产生影响。从图 3 可以看出,  $\text{Cu}^{2+}$  浓度大于 20 mg/L 时, 叶片的叶绿素总量明显降低。当  $\text{Cu}^{2+}$  浓度在 50 ~ 70 mg/L 时, 叶绿素总量的变化幅度虽然较小, 但可以看出数据在降低。  $\text{Cu}^{2+}$  浓度为 70 mg/L 时, 叶绿素总量比对照组降低 52%。经过分析, 在 0 ~ 70 mg/L 的  $\text{Cu}^{2+}$  浓度下, 各组间的叶绿素总量差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

### 3 讨论与结论

当植物受到胁迫时, 细胞内活性氧的产生及其清除会失

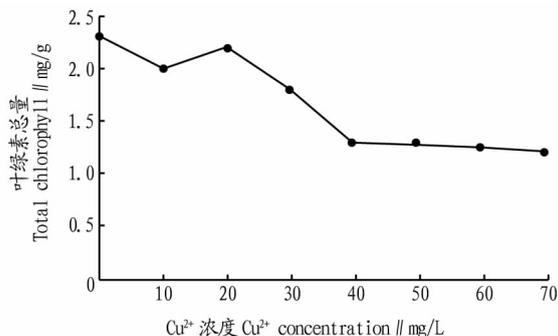


图 3  $\text{Cu}^{2+}$  浓度对绿豆幼苗叶片中叶绿素总量的影响

Fig. 3 Influence of  $\text{Cu}^{2+}$  concentration on total chlorophyll in leaf of *V. radiata* seedling

去平衡, 在生物系统进化过程中, 植物细胞为保护自身免受伤害形成了活性氧清除酶系统。该系统包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)、谷胱甘肽还原酶(GR)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)等<sup>[7]</sup>。研究表明, 低浓度  $\text{Cu}^{2+}$  处理, SOD 活性有所提高, 植物的抗逆能力增加, 但当浓度不断升高, SOD 活性呈下降趋势<sup>[13-17]</sup>。该研究用  $\text{Cu}^{2+}$  处理绿豆幼苗, SOD 活性先升后降, 与苏明星等<sup>[18]</sup>的研究相符, 临界  $\text{Cu}^{2+}$  浓度为 50 mg/L。POD 能与 SOD、CAT 相互协调配合, 清除自由基, 以提高植物的抗逆性。在不同浓度的  $\text{Cu}^{2+}$  处理下, POD 活性与 SOD 活性相同, 呈先升后降的趋势, 临界  $\text{Cu}^{2+}$  浓度为 50 mg/L。由此可见, 当  $\text{Cu}^{2+}$  浓度为 50 mg/L 时, 绿豆幼苗体内的 SOD 和 POD 活性均为最高, 该浓度下  $\text{Cu}^{2+}$  对绿豆苗的毒害作用明显加强。

叶绿素总量可以作为判定光合作用强弱的重要参考指标。蒋文智<sup>[19]</sup>研究表明, 重金属毒害会使叶绿体的双层结构遭到破坏。当  $\text{Cu}^{2+}$  浓度高于 20 mg/L 时, 绿豆幼苗叶片中的叶绿素总量明显下降, 叶片中叶绿体和叶绿素结构遭到破坏, 植物的光合作用受到限制, 降低了生物量的积累。

综上所述, 当  $\text{Cu}^{2+}$  浓度在 0 ~ 70 mg/L 时, 绿豆幼苗的 SOD 活性、POD 活性和叶绿素含量均呈先上升后下降的趋势, 当  $\text{Cu}^{2+}$  浓度为 50 mg/L 时, SOD 活性和 POD 活性为最大值, 随着浓度增大, 活性下降; 低浓度  $\text{Cu}^{2+}$  促进叶绿素的合成, 当  $\text{Cu}^{2+}$  浓度为 20 mg/L 时, 绿豆幼苗叶绿素含量最高, 随着浓度增大, 叶绿素含量明显下降, 说明铜污染对绿豆幼苗的生长表现为抑制作用。

### 参考文献

- [1] 王丽侠, 程须珍, 王素华. 绿豆种质资源、育种及遗传研究进展[J]. 中国农业科学, 2009, 42(5): 1519-1527.
- [2] 张海均, 贾冬英, 姚开. 绿豆的营养与保健功能研究进展[J]. 食品与发酵科技, 2012, 48(1): 7-10.
- [3] 李玉红. 农村工业源重金属污染: 现状、动因与对策——来自企业层面的证据[J]. 农业经济问题, 2015(1): 59-65.
- [4] 孙树. 我国土壤和农作物重金属污染现状及转化规律[J]. 淮北职业技术学院学报, 2010, 9(5): 71-72.
- [5] SHKOLNIK M Y. Trace elements in plants[J]. Elsevier, 1984, 73(6): 78-85.
- [6] 江行玉, 赵可夫. 植物重金属伤害及其抗性机理[J]. 应用与环境生物学报, 2001, 7(1): 92-99.

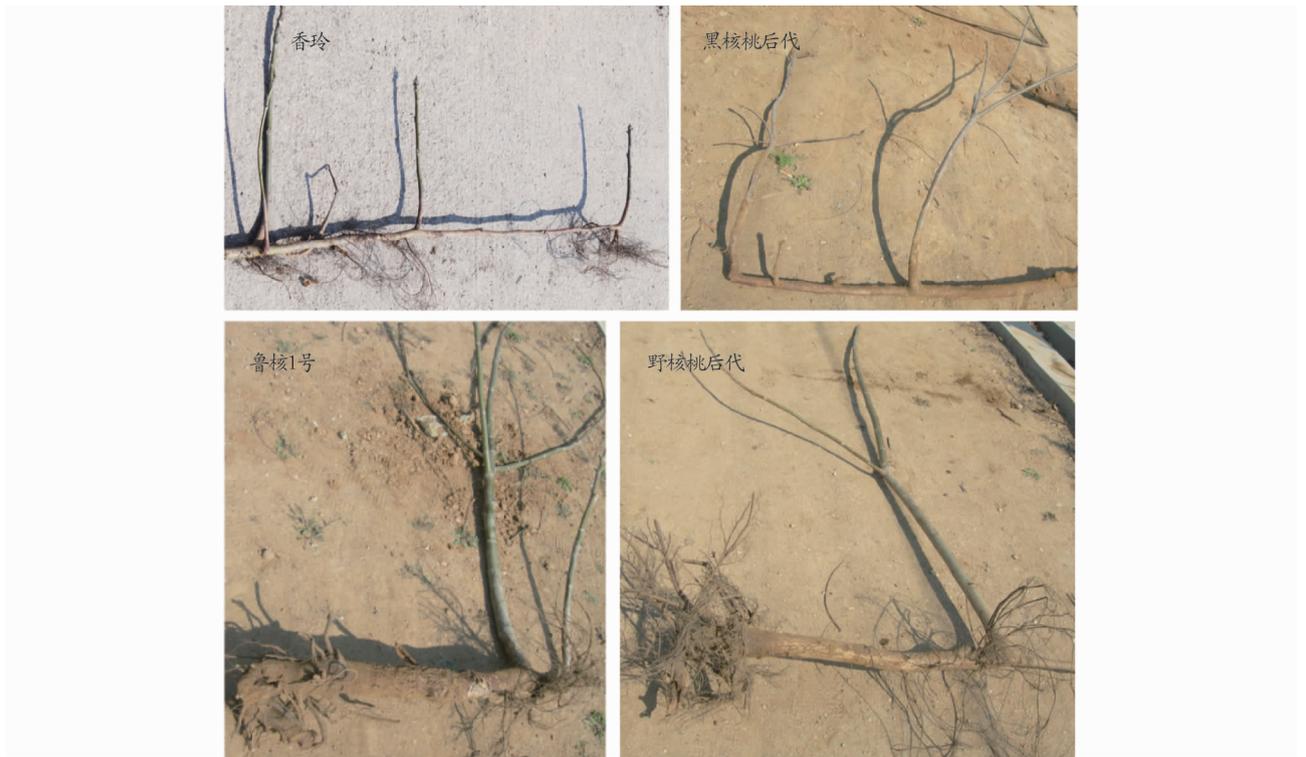


图3 ABT1号生根粉处理生根材料硬枝生根效果

Fig. 3 Effects of ABT1 rooting powder on material rooting

#### 4 结论

核桃属苗木进行硬枝生根繁殖,采用带根平栽、平埋的方式,新梢长出3~4对复叶时,第1次沿新梢基部浇施浓度为70 mg/kg的ABT1号生根粉液,间隔30 d处理1次,共处理3次,生根效果最好。此方法操作简单、成本低、所繁苗木健壮,便于在生产中推广应用。

#### 参考文献

- [1] 郝荣庭,张毅萍. 中国果树志·核桃卷[M]. 北京:中国林业出版社,1996.
- [2] 常君,姚小华,王开良,等. 美国山核桃根段育苗试验[J]. 浙江林业科技,2009,29(3):61-63.
- [3] 黄有军,王正加,郑炳松,等. 植物生长调节剂对薄壳山核桃硬枝扦插生根的影响[J]. 西南林学院学报,2006,26(5):42-44.
- [4] 耿国民,周久亚,朱灿灿. 薄壳山核桃扦插繁殖技术初报[J]. 江苏农业科学,2011,39(6):249-250.

- [5] 刘淑兰,韩碧文. 核桃(*Juglans regia* L.)的离体繁殖[J]. 北京农业大学学报,1986,12(2):143-148.
- [6] 袁巧平,董茂山,黄钦才,等. 核桃体细胞胚诱导的初步研究[J]. 林业科技通讯,1990(3):13-14.
- [7] 刘淑兰,韩碧文. 核桃愈伤组织的诱导[J]. 植物生理学通讯,1984(4):38.
- [8] 刘淑兰,韩碧文,陈正华. 核桃叶柄体细胞胚发生及其细胞学观察[J]. 北京农业大学学报,1992,18(1):29-31.
- [9] 张继东. 甜樱桃砧木ZY-1电热温床硬枝扦插育苗技术[J]. 黑龙江农业科学,2012(11):156-158.
- [10] 俞玖. 园林苗圃学[M]. 北京:中国林业出版社,1988.
- [11] 师晨娟,刘勇,胡长寿. 青海云杉硬枝扦插繁殖研究[J]. 江西农业大学学报(自然科学版),2002,24(2):259-263.
- [12] 高焕章,鲍新梅,艾天成. 柿树硬枝扦插试验初报[J]. 湖北农学院学报,2001,21(1):16-17.
- [13] 库尔班·苏来曼,阿衣古力·阿不都瓦依提,阿布来克·尼牙孜,等. 不同生根剂对四种核桃扦插成活率和根数的影响[J]. 新疆农业科学,2012,49(9):1657-1661.

(上接第32页)

- [7] 奉斌,代其林,王劲. 非生物胁迫下植物体内活性氧清除酶系统的研究进展[J]. 绵阳师范学院学报,2009,28(11):50-53.
- [8] 朱秀敏. 超氧化物歧化酶的生理活性[J]. 当代医学,2011,17(15):26-27.
- [9] 牛红军,岳鹏,滕文华,等. 过氧化物酶和 PeroxiBase 过氧化物酶数据库[J]. 生命科学研究,2012,16(6):539-544.
- [10] 张纯伟,刘双. 重金属对植物光合作用的影响研究进展[J]. 成功(教育版),2007(9):171-173.
- [11] 李玲. 植物生理学模块实验指导[M]. 北京:科学出版社,2009.
- [12] 刘萍,李明军. 植物生理学实验[M]. 2版. 北京:科学出版社,2016.
- [13] 王广林,张金池,王丽,等. 铜、镉胁迫对丁香蓼生理指标的影响[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2009,33(4):43-47.

- [14] 陈颖. 绿豆提取物及预混料铜、锌调控对健康养猪与营造安全猪肉食品的初步研究[D]. 南宁:广西大学,2014.
- [15] 吴琪,周守标,程龙玲,等. 铜递进胁迫对芦竹生理指标、富集能力的影响(英文)[J]. 激光生物学报,2012,21(4):360-364.
- [16] 张艳英. 铜胁迫下烟草(*Nicotiana glauca* L.)幼苗抗性及其品质生理的研究[D]. 金华:浙江师范大学,2009.
- [17] 刘文莉,金则新,柯世省. 铜对夏腊梅种子萌发及抗氧化酶活性的影响[J]. 环境化学,2008,27(1):44-48.
- [18] 苏明星,谢芳,石戈,等. 铜处理对大豆和绿豆种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 华中师范大学学报(自然科学版),2010,44(3):478-482.
- [19] 蒋文智. 重金属镉对叶绿体超微结构的影响[J]. 广西科学,1995(2):21-23.