

铜胁迫对花生幼苗生长及生理代谢的影响

周娜娜¹, 武耀廷², 高华援³, 刘海龙³, 林伟⁴, 冯素萍^{5*}

(1. 海南热带海洋学院生态环境学院, 海南 三亚 572022; 2. 海南大学, 海口 570228; 3. 吉林省农业科学院花生研究所, 吉林 公主岭 136100; 4. 海南热带海洋学院实验中心, 海南 三亚 572022; 5. 海南热带海洋学院食品科学与工程学院, 海南 三亚 572022)

摘要:以四粒红花生为试材, 采用盆栽方式, 设置不同浓度硫酸铜溶液培养花生幼苗, 探究了铜离子胁迫对花生幼苗的生长及生理代谢的影响, 以期为进一步了解重金属铜对花生生长的毒害机制提供理论参考。结果表明: 随着铜离子浓度的增加, 花生幼苗的鲜重和侧根长度持续下降; 株高, 主根长, 叶片中SOD、POD和CAT活性, 茎和叶片中脯氨酸含量, 叶绿素a、叶绿素b、类胡萝卜素含量均呈现先升高后降低的趋势; MDA含量、茎叶中的相对电导率则持续上升。铜离子浓度在100 μmol/L时, 花生幼苗表现出应激反应, 浓度达到1 000 μmol/L时已危害花生生长。

关键词:铜胁迫; 花生; 幼苗; 生长; 生理

中图分类号: S565.2

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2019)06-0006-04

Effects of Copper Stress on Growth and Physiological Metabolism of Peanut Seedlings

ZHOU Nana¹, WU Yaoting², GAO Huayuan³, LIU Hailong³, LIN Wei⁴, FENG Suping^{5*}

(1. College of Ecology and Environment, Hainan Tropic Ocean University, Sanya 572022; 2. Hainan University, Haikou 570228; 3. Institute of Peanut Research, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100; 4. Experimental center, Hainan Tropic Ocean University, Sanya 572022; 5. College of Food Science and Engineering, Hainan Tropic Ocean University, Sanya 572022, China)

Abstract: Effects of copper ion stress on the growth and physiological metabolism of peanut seedlings were studied by treating peanut seedlings of Silihong peanut in pot with different concentrations of copper sulfate solution in order to provide theoretical reference for further understanding the toxic mechanism of heavy metals on peanut growth. The results showed that with the increase of copper ion concentration, the fresh weight and lateral root length of peanut seedlings continued to decrease; plant height, main root length, SOD, POD and CAT activities in leaves, proline content in stems and leaves, chlorophyll A content, chlorophyll B content and carotenoid content all increased first and then decreased, and there was a peak in MDA content and relative electricity content in stems and leaves. When the concentration of copper ion was 100 μmol/L, peanut showed stress reaction, and when the concentration reached 1 000 μmol/L, peanut growth was harmed.

Key words: Copper stress; Peanut; Seedling; Growth; Physiology

土壤中的铜既是植物正常生长所需要的微量营养元素, 又是危害植物正常代谢的重金属, 植物生长环境中, 如果铜的量超过了植物正常生长

的需要, 富余的铜离子与氧结合产生自由基和活性氧类物质, 导致植物细胞死亡, 进而引起铜毒害。逆境时, 植物的抗氧化酶系统可以清除部分活性氧自由基从而增强其抗逆性^[1]。铜离子浓度^[2]对抗氧化酶活性存在影响, 植物种类^[3]甚至植物的品种间抗氧化酶活性也有差异, 可以通过生长情况和生理指标表现出来。花生是我国重要的油料作物, 种植面积和产量均居世界前列, 育种成绩突出^[4-5], 栽培技术比较成熟^[6], 而有关铜胁迫对花生生长和代谢影响的研究较少。花生幼苗期

收稿日期: 2019-03-31

基金项目: 海南省引进集成科技创新项目(KJHZ2013-04); 三亚市农业科技创新项目(2015KJ12); MARS国际合作项目(1001603967)

作者简介: 周娜娜(1978-), 女, 硕士, 副教授, 主要从事作物栽培生理研究。

通讯作者: 冯素萍, 女, 博士, 教授, E-mail: 84061197@qq.com

的生长状况与后期的产量与质量密切相关。该研究利用不同浓度的铜离子(Cu^{2+})溶液培养花生幼苗,探讨其对花生幼苗的生长、保护酶活性、渗透性物质、脯氨酸及光合色素含量的影响,以期为深入了解土壤中铜污染对花生生长的毒害机理提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验方法

选取籽粒饱满的四粒红花生种子 125 粒洗净,高锰酸钾消毒后浸泡 10 h,播种于内径 50 cm 塑料盆,内装等量的树皮土基质,每盆 5 粒,5 次重复。置于三亚市防虫网温室内进行培养,培养条件:日温 27~28℃,夜温 22~23℃,日照 11.5 h,每天上午浇水 1 次。当花生二叶一心时,分别浇施 300 mL 的蒸馏水(对照,0 $\mu\text{mol/L}$)和 10 $\mu\text{mol/L}$ 、100 $\mu\text{mol/L}$ 、1 000 $\mu\text{mol/L}$ 、10 000 $\mu\text{mol/L}$ 的 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 溶液。每三天处理 1 次,共处理 4 次。处理结束 3 d 后,测定花生幼苗的长势,样品冷冻保存在-40℃超低温冰箱,进行其他生理指标的测定。

1.2 测定项目与方法

1.2.1 幼苗长势

每个处理随机选取 3 株花生幼苗,测量株高、主根长度和一级侧根的长度,称幼苗鲜重。

1.2.2 生理指标

超氧化物歧化酶(SOD)含量采用氮蓝四唑

(NBT)法测定,过氧化物酶(POD)含量采用愈创木酚法测定,过氧化氢酶(CAT)含量采用过氧化氢法测定,丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸(TBA)比色法测定,电导率采用电导仪法测定,脯氨酸含量采用酸性茚三酮显色法测定^[5],光合色素含量采用分光光度计法测定^[6]。

1.3 数据分析

采用 Microsoft Excel 2013 软件进行初步处理与作图,SPSS 17.0 软件进行显著性方差分析。

2 结果与分析

2.1 对幼苗生长的影响

铜胁迫对花生幼苗的生长存在影响,表 1 可见,随铜离子浓度的增加,花生幼苗鲜重和平均侧根长度都下降,各处理都小于对照;鲜重各处理间差异不显著,1 000 和 10 000 mg/L 的 Cu^{2+} 胁迫下花生幼苗的平均侧根长与对照差异显著,而 10 和 100 mg/L 的 Cu^{2+} 胁迫下平均侧根长与对照差异不显著。随着铜离子浓度的增加,株高和主根长都呈先升高后下降趋势, Cu^{2+} 浓度为 100 mg/L 时,花生幼苗的株高和主根长都达到最大,分别为 19.37 cm 和 18.72 cm,大于对照但差异不显著。铜胁迫对花生幼苗的侧根生长表现出抑制作用,对花生幼苗鲜重的影响不明显,且低浓度铜离子有利于株高和根长生长而高浓度表现出抑制。

表 1 不同浓度 Cu^{2+} 对花生幼苗生长的影响

处理	鲜重(g)	株高(cm)	主根长(cm)	平均侧根长(cm)
0 $\mu\text{mol/L}$	6.41±0.74a	18.24±2.15ab	15.09±2.80ab	11.24±1.46a
10 $\mu\text{mol/L}$	6.15±0.87a	19.32±1.55b	15.10±2.91ab	10.09±1.52ab
100 $\mu\text{mol/L}$	5.95±0.70a	19.37±2.30b	18.72±4.06b	9.93±1.30ab
1 000 $\mu\text{mol/L}$	5.83±1.02a	19.22±2.63b	15.54±4.78ab	9.11±1.83b
10 000 $\mu\text{mol/L}$	5.59±0.75a	17.39±1.50a	13.74±2.76a	7.54±0.89c

注:表中数据为 3 次重复的“平均值±标准误”;同一列中不同小写字母代表不同处理间的差异显著($P<0.05$),下同

2.2 对保护酶活性和丙二醛含量的影响

保护酶能有效清除植物体内的自由基和过氧化物,其活性与花生对铜胁迫做出的应激反应有明显关系。如表 2 所示,随着铜离子浓度的增加,花生幼苗的 SOD、POD 和 CAT 活性都呈先上升后下降的趋势,其中 SOD 和 POD 的活性在铜离子浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 时达到最高,分别比对照上升 93.7% 和 80.2%,与对照差异显著;而 CAT 活性在

铜离子浓度为 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 时达到最高,比对照上升了 205.1%,且差异显著。MDA 含量的高低反映膜系统的受损程度及植物的代谢强度。随着铜离子浓度的增加,花生幼苗的 MDA 含量呈持续上升趋势,各处理都高于对照。10 $\mu\text{mol/L}$ 处理与对照差异不显著,其他处理差异显著。铜胁迫对花生幼苗膜系统存在不同程度的损伤。

表2 铜对花生叶片保护酶活性和丙二醛含量的影响

处理	SOD/(U/g)	POD/[u/(g·min)]	CAT/(U)	MDA/(μmol/g)
0μmol/L	72.5±6.1a	18.2±1.5a	13.6±2.7a	3.5±0.1a
10μmol/L	87.9±7.3a	22.4±2.7a	23.5±1.4c	4.1±0.3a
100μmol/L	140.4±5.0b	32.8±3.1b	37.2±2.6d	6.4±0.3b
1 000μmol/L	113.8±10.6c	26.3±1.4c	41.5±6.7e	9.0±1.8c
10 000μmol/L	109.1±7.8c	23.5±2.0c	19.5±3.5b	11.8±1.5d

2.3 对渗透调节物质的影响

2.3.1 对相对电导率的影响

电导率能直接反映植物细胞膜的伤害程度，不同浓度铜离子对花生幼苗叶片和茎中电导率的影响差异显著(表3)。随着铜离子浓度的增加，花生叶片中相对电导率呈持续增高趋势，各处理均高于对照，分别比对照增加13.7%、37.5%、61.7%、103.5%；茎相对电导率的变化趋势与叶片一致，各处理相对电导率比对照分别增加17.5%、69.9%、108.7%、187.4%；随着铜离子浓度的增加，茎相对电导率增加幅度明显大于叶片。10 000μmol/L处理中，花生茎的相对电导率略高于叶片相对电导率；而对照和低浓度铜离子各处理中，花生茎相对电导率均低于叶片。铜离子的存在对花生细胞膜具有一定程度的伤害，浓度越大，伤害越严重，相同浓度铜离子对花生茎的损伤程度大于叶片。

表3 铜对花生的叶片和茎相对电导率的影响

处理	叶片相对电导率(%)	茎相对电导率(%)
0μmol/L	25.6±0.5a	18.3±1.1a
10μmol/L	29.1±1.7b	21.5±1.4b
100μmol/L	35.2±2.1c	31.1±4.6c
1 000μmol/L	41.4±3.8d	38.2±0.6d
10 000μmol/L	52.1±1.7e	52.6±1.4e

2.3.2 对脯氨酸含量的影响

脯氨酸是最重要和有效的渗透调节物质，脯氨酸的累积是花生对铜毒害的一种保护性适应，花生茎和叶片中脯氨酸的含量随着铜离子浓度的增加，均呈现先升高后下降的趋势，分别在100μmol/L、1 000μmol/L浓度时达到最高(图1)。当铜离子浓度较低时，花生茎叶内的脯氨酸对铜有保护性适应，随着铜离子浓度的增加，脯氨酸含量逐渐增加。当铜离子浓度超过100μmol/L后，铜会破坏花生茎结构组织的细胞内环境，抑制了脯氨酸的合成，花生茎中的脯氨酸含量开始下降；当铜离子浓度超过到1 000μmol/L时，铜才破坏叶片细胞内环境，抑制细胞脯氨酸合成。10μmol/L处理叶

片脯氨酸含量与对照差异不显著，其他处理差异显著。花生茎中脯氨酸含量，各处理与对照差异均达显著水平，但处理间差异不显著。花生叶片对铜的耐受性大于茎。

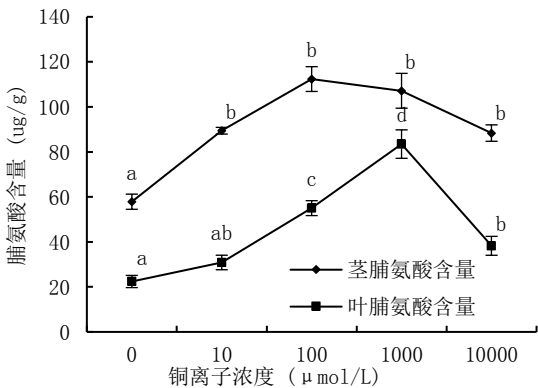


图1 铜对花生叶片和茎中脯氨酸含量的影响

2.4 对光合色素含量的影响

铜胁迫对花生幼苗叶片中光合色素含量的影响较为显著(表4)。叶片中叶绿素a的含量随着铜离子浓度的增加，呈先升高后降低的趋势，100μmol/L含量最高，达1.22 mg/g。花生幼苗在低浓度铜离子10μmol/L处理时，叶片中叶绿素b的含量最高，达0.42±0.03 mg/g，后随着处理花生幼苗的铜离子浓度的不断升高，叶绿素b含量逐渐降低，呈现极显著负相关(R²=0.9031)。叶绿素a和b的总量，在10μmol/L处理最高，高于对照7.4%，差异显著，低浓度的铜离子对叶绿素的形成有促进作用，从而有利于提高花生的光合速率。当铜离子浓度超过100μmol/L时，叶绿素分解的速度大于合成的速度，叶绿素含量显著低于对照，叶片失绿，开始枯衰。类胡萝卜素在光合作用过程中具有吸收和传递光能的作用。处理后的花生幼苗叶片中类胡萝卜素的含量，随铜离子浓度的增加而下降，呈极显著负相关(R²=0.9392)。铜离子浓度为10μmol/L时，类胡萝卜素的含量显著高于对照8.3%；当铜离子浓度为100μmol/L时，类胡萝卜素的含量略高于对照但差异不显著；当铜离子浓度超过100μmol/L时，类胡萝卜素的含量开始

下降,与对照差异显著。低浓度的铜离子对类胡萝卜素的形成有促进作用,而高浓度的铜离子抑

制作用显著。铜离子浓度越高,对花生光合色素合成的抑制作用越显著。

表4 铜对花生叶片光合色素含量的影响

处理	叶绿素 a (mg/g)	叶绿素 b (mg/g)	叶绿素 a+b(mg/g)	类胡萝卜素(mg/g)
0 μ mol/L	1.14 $\pm$ 0.08c	0.33 $\pm$ 0.03b	1.47 $\pm$ 0.21c	0.24 $\pm$ 0.01b
10 μ mol/L	1.16 $\pm$ 0.13b	0.42 $\pm$ 0.03a	1.58 $\pm$ 0.16a	0.26 $\pm$ 0.01a
100 μ mol/L	1.22 $\pm$ 0.35a	0.33 $\pm$ 0.06b	1.55 $\pm$ 0.18b	0.25 $\pm$ 0.03b
1 000 μ mol/L	0.94 $\pm$ 0.09d	0.30 $\pm$ 0.02c	1.24 $\pm$ 0.11d	0.20 $\pm$ 0.02c
10 000 μ mol/L	0.82 $\pm$ 0.06e	0.28 $\pm$ 0.02d	1.10 $\pm$ 0.08e	0.16 $\pm$ 0.02d

3 小结与讨论

铜胁迫对花生幼苗的侧根生长表现出抑制作用,对花生幼苗鲜重的影响不明显,且低浓度铜离子有利于植株长高和根长伸长而高浓度表现出抑制。铜胁迫对花生幼苗膜系统存在不同程度的损伤,铜离子浓度越大,伤害越严重,相同浓度铜离子对花生茎的损伤程度大于叶片。花生叶片对铜的耐受性大于茎。铜离子浓度越高,对花生光合色素合成的抑制作用越显著。

铜离子的存在抑制了花生幼苗鲜重的增加和侧根的生长;低浓度铜离子胁迫激活了花生幼苗的抗逆性反应,从而促进株高和主根的生长;高浓度铜离子胁迫导致幼苗株高和根的生长受到抑制,这与齐文靖^[7]、黄永杰^[8]、尹相博等^[9]的研究结果一致。花生叶片中SOD、POD的含量,在铜离子浓度为100 μ mol/L时的活性显著高于对照,超过此浓度,两种酶活性都表现下降,这与李晓梅^[8]的研究结果一致;而花生在铜离子浓度为10 000 μ mol/L时仍可发芽和生长,却与李晓梅^[10]的研究结果不一致,不同花生品种对铜离子的耐受性不同。种子发芽培养的条件不同,对实验结果也有一定的影响,但是逆境下各指标的总体变化趋势与前人的研究是一致的。叶绿素b和类胡萝卜素的含量,及叶绿素的总量都在铜离子浓度为10 μ mol/L时达到最高,超过10 μ mol/L时开始下降,说明铜离子通过抑制植物光合色素的合成,降低光合速率,从而抑制植物的生长。对比花生茎叶中脯氨酸含量,花生叶片细胞对铜离子胁迫的耐受性大于茎细胞。随着铜离子浓度的增大,MDA含量、茎叶中

的相对电导率则持续上升,铜离子浓度越大,花生细胞膜的伤害越严重。

综上所述,对花生各指标对铜离子的反应不同,但是总趋势一致。随着铜离子浓度的增加,花生呈现各种应激反应,首先是植株叶片色素含量降低,然后各种保护酶含量升高,生长缓慢,生物量下降,最后细胞受到伤害,出现铜中毒反应。

参考文献:

- [1] Bhaduri A M, Fulekar M H. Antioxidant enzyme responses of plants to heavy metal stress[J]. Reviews in Environmental Science & Bio/technology, 2012, 11(1): 55-69.
- [2] Rastgoo L, Alemzadeh A. Biochemical responses of Gouan(*Aeluropus Littoralis*) to heavy metals stress[J]. Australian Journal of Crop Science, 2011, 5(4): 375-383.
- [3] Li S, Chen J, Islam E, et al. Cadmium -induced oxidative stress, response of antioxidants and detection of intracellular cadmium in organs of Moso Bamboo(*Phyllostachys Pubescens*) seedlings[J]. Chemosphere, 2016, 153:107-114.
- [4] 栾天浩,翟季,孙伟龙,等.密度与氮、磷、钾用量对花生吉花1号产量的影响[J].东北农业科学,2017,42(4):23-26.
- [5] 李合生,孙群,赵世杰,等.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000:164-260.
- [6] 萧浪涛,王三根.植物生理学实验技术[M].北京:中国农业出版社,2005:110-114.
- [7] 齐文靖,于晗,张佳慧,等.不同重金属胁迫对绿豆种子萌发和幼苗部分生理指标的影响[J].北方园艺,2018(21):1-5.
- [8] 黄永杰,杨红飞,杨集辉,等.铜胁迫对水花生生长及活性氧代谢的影响[J].生态学杂志,2009,28(6):1112-1116.
- [9] 尹相博,杨梦璇,王冰,等.铜胁迫对红小豆萌发的影响[J].吉林农业科学,2013,38(5):10-11,35.
- [10] 李晓梅.铜胁迫对花生种子萌发、幼苗生长和生理特性的影响[J].江苏农业科学,2010(4):80-82.