

铜胁迫对烟草幼苗生长和生理特征的影响

张艳英, 刘 鹏*, 徐根娣, 周 楠

(浙江师范大学 植物学实验室, 浙江 金华 321004)

[摘 要] 以 2 个烟草品种(89112 和双-70)为试验材料, 设置 0、0. 5、1、5、10 mg/L 5 个铜浓度, 通过水培试验, 研究铜胁迫下烟草体内丙二醛(MDA)、叶绿素的含量, SOD、POD 的活性, 生物量的变化。结果表明, MDA 的含量随着铜处理浓度的增加, 先增加后降低; 低浓度的 Cu 处理下 SOD 和 POD 的活性增加, 高浓度的铜处理则抑制其活性; 在铜处理浓度低于 1 mg/L 时, 叶绿素含量增加, 生物量的积累也有所增加, 但是当浓度高于 1 mg/L 时, 叶绿素含量降低, 植物的光合作用减弱, 从而降低了生物量的积累。

[关键词] 铜胁迫; 烟草; 幼苗生长; 生理特征

[中图分类号] S572

[文献标识码] A

Effects of Cu Stress on Growth and Physiological Characteristics of Tobacco Seedlings

ZHANG Yan-ying, LIU Peng*, XU Ger-di, ZHOU Nan

(Botany laboratory, Zhejiang Normal University, Jinhua, Zhejiang 321004, China)

Abstract: The seedlings of two tobacco varieties (89112 and shuang-70) were cultured under different Cu concentration (0, 0. 5, 1, 5 and 10 mg/L) to investigate the effects on the content of MDA and chlorophyll, activity of SOD and POD, and biomass. The results showed that the MDA content first raised and then decreased with increase of Cu concentration, the activity of SOD and POD was increased under the low Cu concentration and inhibited under the high Cu concentration, the chlorophyll content and biomass increased when Cu concentration was below 1mg/L and decreased when Cu concentration was above 1 mg/L.

Key words: Cu stress; tobacco; seedling growth; physiological characteristic

铜是植物生长发育必需的微量营养元素, 为多酚氧化酶、细胞色素氧化酶及抗坏血酸氧化酶等多种酶类的组成成分之一; 参与呼吸代谢中的氧化还原反应和叶绿体质体蓝素中光合作用的电子传递过

程, 对植物正常的生理代谢及生长发育、作物产量的提高、品质的改善都有重要意义。过量的铜不仅对植物的生长有影响, 而且对光合作用和呼吸系统^[1]也有不同程度影响, 还会影响植物对氮、磷、钾、钙、

[收稿日期] 2008-12-11; 2008-02-07 修回

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30540056) 和浙江省自然科学基金项目(304186, 303461)

[作者简介] 张艳英(1982-), 女, 在读硕士, 研究方向: 植物生理生态。E-mail: 2006210460@zjnu.net

* 通讯作者: 刘 鹏(1965-), 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事植物营养, 植物生态和植物区系研究。E-mail: sky79@zjnu.cn

表 2 苦荞种子黄酮类化合物对·OH 的抑制率

Table 2 The effect of flavonoids in tartary buckwheat seeds on inhibition rate of ·OH

样品 Sample	样品浓度/(μg/mL) Sample concentration	A ₀	A _x	A _{x0}	抑制率/% Inhibition rate
1	0.008	0.495	0.476	0.001	4.040
2	0.009	0.464	0.441	0.002	5.388
3	0.011	0.516	0.489	0.003	5.814
4	0.012	0.505	0.475	0.004	6.733
5	0.013	0.474	0.439	0.006	8.650

3 小结

研究表明, 苦荞种子黄酮类化合物对清除超氧阴离子自由基 O₂⁻ 和抑制·OH 都有明显的效果。黄酮类化合物对清除超氧阴离子自由基的作用效果明显高于对·OH 的清除效果。可以得到初步结论: 苦荞种子黄酮类化合物具有抗氧化性, 可成为衰老保健品辅料或功能因子。但其成分多样, 结构复杂, 对纯化和构效关系的研究有待进一步探讨。

[J]. 四川农业大学学报, 2001(4): 12- 13.

[2] 顾尧臣. 小宗粮食加工(四) 荞麦加工[J]. 粮食与饲料工业, 1999(7): 19- 23.

[3] 汪海波, 刘大川, 余珠化, 等. 大豆异黄酮类物质的提取、抗氧化性及稳定性研究[J]. 食品科学, 2004, 25(1): 111- 114.

[4] 肖坤福, 廖晓峰. 黄酮类化合物研究进展及应用[J]. 食品研究与开发, 2003(4): 14- 18.

[5] 刘淑梅, 韩淑英, 张宝忠, 等. 荞麦种子总黄酮对糖尿病高脂血症大鼠血脂、血糖及脂质过氧化的影响[J]. 中成药, 2003(8): 662- 663.

[6] 李 洁, 梁月琴, 郝一彬. 苦荞类黄酮降血脂作用的试验研究[J]. 山西医科大学学报, 2004(6): 39- 40.

[7] 汪海波, 刘大川, 余珠化, 等. 大豆异黄酮类物质的提取、抗氧化性及稳定性研究[J]. 食品科学, 2004, 25(1): 111- 114.

[8] 张 萍, 王玉珠, 李红宁, 等. 荞麦中生物类黄酮的提取方法研究[J]. 食品研究与开发, 2007(2): 45- 48.

[9] 赵二芳, 张海容, 盖青青, 等. 沙棘黄酮的测定及其抗氧化作用[J]. 化学研究与应用, 2003, 15(2): 284- 285.

[10] 汪河滨, 白红进, 王金磊, 等. 黑果枸杞色素清除自由基活性的研究[J]. 食品研究与开发, 2006(11): 8- 10.

(责任编辑: 杨晓容)

[参 考 文 献]

[1] 赵 钢, 唐 宇, 王安虎. 苦荞的成分功能研究与开发应用

镁及微量元素的吸收^[2]。随着工业、农业、交通等领域含 Cu 污染排放物的日益增长,尤其是近几年来含 Cu 杀虫剂在农业生产上的频繁使用、铜矿的过度开采及工业生产中含 Cu 污染物的大量排放,给动植物及环境带来了严重危害,甚至危及人类健康^[3]。铜对生态系统的危害,已引起国内外有关人士的重视,铜污染已成为世界性难题,由铜引起的植物中毒及植物抗铜机理的研究与日俱增。刘登义等对此从不同角度进行了深入研究,其研究对象多为水稻、小麦、玉米等栽培农作物^[4-5]。有研究表明,一定浓度的铜对植物氮的新陈代谢和生长存在有害作用,主要表现为减少根的长度及叶的数量并产生较少的植物生物量^[69]。植物细胞中的 Cu 可以通过细胞内的生理生化反应产生活性氧,活性氧积累会引发脂质和蛋白质的过氧化作用,从而严重干扰植物正常的生理代谢^[10],活性氧产生后会启动细胞内的酶促和非酶促保护系统来减少或清除活性氧对植物造成的伤害。烟草作为一种经济作物,在国民经济中具有重要的作用。为了对农业生产提供理论参考,同时为治理环境中的铜污染提供一定的理论依据,特进行了铜胁迫下烟草体内丙二醛含量、叶绿体色素的含量、SOD、POD 的活性,生物量变化的研究。

1 材料与方法

1.1 供试烤烟品种及种子培养

供试烤烟品种为 89112(铜耐性)和双-70(铜敏感型)。选取大小一致、圆润饱满的烤烟种子,用 10% H₂O₂ 消毒 20min,蒸馏水冲洗 3 次,均匀放在铺有湿润滤纸的培养皿中,置于 25℃ 下催芽,当种子露白后,移栽到盛有细沙的塑料盆中,每盆 20 株。

1.2 试验设计

待烟苗第 4 片叶子完全展开后,选择长势较一致的幼苗移植到盛有 Haogland 营养液的 3 L 的水培桶中,每天通气 2h,每 3 d 更换 1 次培养液。预培养 7 d 后,向培养液中加入铜,铜以 CuSO₄ · 5H₂O 的形式加入。Cu²⁺ 浓度分别为 0、0.5、1、5、10 mg/L,在铜处理的第 15 天和第 30 天后取样测定各生理指标,每个处理设 3 次重复。

1.3 测定方法及数据处理

丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法(TBA)测定^[11]。过氧化物酶(POD)的活性采用愈创木酚法测定^[12],超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定参照苍晶的植物生理实验^[13]。叶绿素含量的测定采用丙酮浸提比色法^[16]。生物量的测定进行全株收获,测定根长,株高。将地上部和地下部分开,用自来水冲洗干净,于 80℃ 烘箱中烘至恒重,用分析天平称量地上、地下部分的干重。计算根冠比,根冠比=地上部干重/地下部干重。

根据重复实验所得数据计算平均值和标准偏差(STDEV),采用 Excel2003 和 SPSS13.0 软件进行

数据处理和统计分析。

2 结果与分析

2.1 铜胁迫对烟草膜质过氧化的影响

从图 1 可以看出,随着铜处理浓度的增加,2 个烟草品种体内的 MDA 含量呈现先增加而后降低的趋势;在铜处理浓度为 5 mg/L 时,体内的 MDA 含量达到最大值;随着处理时间的增加,2 个烟草品种体内的 MDA 含量有所下降,当铜浓度大于 1 mg/L 时,MDA 的含量随着时间的增加降幅增大。

2.2 铜胁迫对烟草体内保护酶的影响

2.2.1 SOD 活性 从图 2 看出,在铜处理的 15 d 和 30 d,当浓度为 0~0.5 mg/L 时,89112 和双-70 的 SOD 活性随着铜浓度的增加而增加;当浓度为 0.5~10 mg/L 时,2 个品种的 SOD 活性随铜浓度的升高呈下降的趋势,其中,当浓度高于 1 mg/L 时,2 个品种的 SOD 活性低于对照。2 个品种的 SOD 活性随着处理天数的增加而降低,但差异不明显。

2.2.2 POD 活性 POD 是植物保护系统中的酶,是活性氧胁迫下植物体内有毒物质的清除剂。图 3 结果表明,在处理的 15 d 和 30 d,89112 的 POD 活性在铜浓度 0~0.5 mg/L 时,随着铜浓度的增加而活性增加,当浓度高于 0.5 mg/L,POD 的活性随着

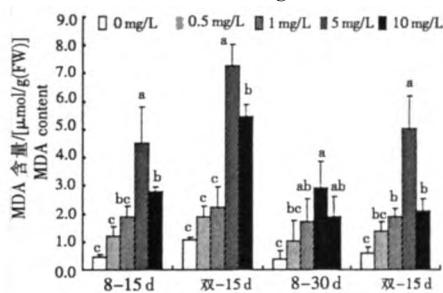


图 1 铜胁迫对烟草幼苗丙二醛含量的影响

Fig. 1 The effect of different Cu stress on MDA content

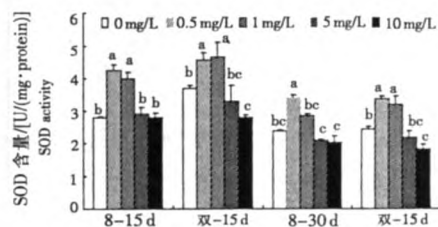


图 2 铜胁迫对烟草 SOD 活性的影响

Fig. 2 The effect of different Cu stress on SOD activity

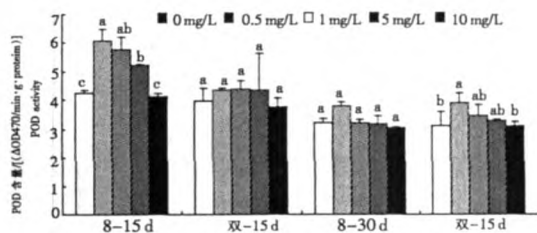


图 3 铜胁迫对烟草 POD 活性的影响

Fig. 3 The effect of different Cu stress on POD activity

表 不同铜浓度对烟草幼苗生长的影响
Table The effect of different Cu stress on growth of tobacco seedlings

Cu 浓度/ (mg/L) Concentration	测定时间/d Time for determination	根长/cm Length of roots	株高/cm Plant height	地下部干重/g Dry weight of the subterranean part	地上部干重/g Dry weight of the aerial part	根冠比 Ratio of root to crown
89112						
0	15	12.367±0.777b	3.233±0.153a	0.073±0.018b	0.888±0.024a	0.082
	30	19.400±1.353bc	3.900±0.361a	0.187±0.007a	0.970±0.043a	0.193
0.5	15	14.367±1.626b	3.400±0.755a	0.078±0.009b	0.925±0.067a	0.084
	30	20.533±1.450ab	4.400±0.693a	0.170±0.047a	1.028±0.092a	0.166
1	15	17.800±0.557a	4.000±1.389a	0.114±0.024a	1.087±0.291a	0.105
	30	22.367±1.250a	5.067±1.756a	0.214±0.081a	1.282±0.489a	0.167
5	15	13.500±2.784b	2.900±0.361a	0.061±0.024b	0.790±0.162a	0.077
	30	17.433±1.097cd	3.400±0.436a	0.146±0.046a	0.942±0.049a	0.155
10	15	12.700±1.179b	2.567±0.987a	0.060±0.009b	0.629±0.272a	0.097
	30	15.167±1.102d	3.000±0.200a	0.144±0.006a	0.812±0.143a	0.177
双 70						
0	15	14.467±0.503a	2.467±0.737ab	0.071±0.011b	0.600±0.276ab	0.119
	30	17.933±2.747a	2.733±0.503b	0.074±0.047a	0.721±0.171b	0.103
0.5	15	15.333±1.986a	2.700±0.361ab	0.086±0.011b	0.678±0.192ab	0.127
	30	19.667±3.215a	3.600±0.721ab	0.113±0.018a	0.881±0.205a	0.129
1	15	16.967±1.380a	3.733±0.643a	0.120±0.016a	0.953±0.071a	0.126
	30	20.767±0.83a	4.733±0.757a	0.127±0.013a	1.149±0.233a	0.11
5	15	7.933±0.603b	2.367±0.611ab	0.070±0.005b	0.666±0.170ab	0.104
	30	10.567±1.518b	3.333±0.208ab	0.072±0.012a	0.918±0.015a	0.079
10	15	7.167±0.764b	1.767±0.404b	0.061±0.010b	0.431±0.086b	0.141
	30	9.267±1.210b	2.333±1.002b	0.062±0.012a	0.634±0.270a	0.097

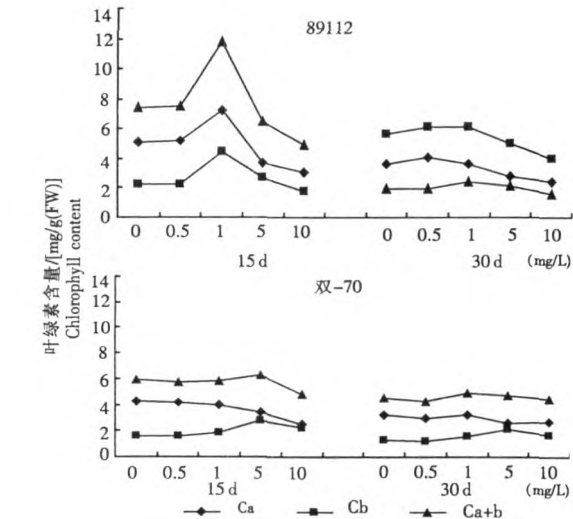


图 4 铜胁迫对烟草 89112 和双-70 叶绿素含量的影响
Fig. 4 The effect of Cu stress on chlorophyll content of 89112
And shuang-70

铜浓度的增加而降低; 双-70 的 POD 的变化与 89112 的变化相似。从总体上来说, 高浓度的铜抑制了 POD、SOD 的活性。

2.3 铜胁迫对烟草叶绿素含量的影响

从图 3A 可以看出, 品种 89112 的叶绿素 a 和叶绿素(a+ b)的含量在低浓度(小于 1mg/L)的铜处理下随着铜的浓度的增加而增加, 当浓度大于 1mg/L 时, 含量开始下降; 叶绿素 b 的含量随着铜浓度变化没有明显的变化。而品种双-70 叶绿素(a+ b)的含量在低浓度的铜处理下没有明显的变化,

但是在高浓度(大于 5 mg/L)铜处理下叶绿素(a+ b)含量降低; 叶绿素 a 的含量随着铜处理浓度的增加而降低, 叶绿素 b 的变化不明显。

2.4 铜胁迫对烟草生物量的影响

从表中可以看出, 品种 89112 和品种双-70 的根长和株高、地上和地下部干重及根冠比在铜浓度小于 1mg/L 时, 随着铜浓度的升高而增加, 高浓度的铜处理时这些参数都降低, 但是 89112 的生物量的增加量明显高于双-70 的。随着处理时间的增加, 低浓度处理的生物量变化不明显, 而高浓度处理生物量的显著下降, 两个品质生物量在铜处理下表现出一定的相似性。

3 讨论

1) MDA 是膜脂过氧化的重要产物, 可与蛋白质、核酸、氨基酸等活性物质交联, 形成不溶性的化合物(脂褐素)沉积, 干扰细胞的正常生命活动。MDA 的积累受到 3 个因素的影响, 即 O₂ 浓度、不饱和脂肪酸(底物)含量和组织总的清除自由基能力。自动氧化速率越大, MDA 积累越多, 表明组织的保护能力越弱。Cu 处理使植物体内 MDA 积累, 其含量的增加显示膜脂氧化水平增大, 造成膜透性增大, 植株的抗逆能力减弱^[14]。而引起氧化胁迫主要制毒机理在于, 铜对细胞屏障的损伤是由于其能诱发活性氧(ROS)的产生。而丙二醛是膜脂过氧化作用的产物之一, 通常将它作为脂过氧化指标, 用于

表明细胞膜过氧化程度和植物对逆境条件反映的强弱。本研究结果表明:铜处理增加了植物体内的膜质过氧化水平,当浓度大于 5 mg/L 时,MDA 的含量降低,可能是由于细胞积累了大量的活性氧,导致细胞失去正常的生理代谢能力。

2) 植物体内具备由过氧化物酶、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶共同组成一个有效的活性氧消除酶系统。SOD、POD 和 CAT 是植物对膜脂过氧化作用的酶促防御系统中的重要的保护酶。SOD 在细胞保护酶系统的作用是清除超氧自由基(O_2^-),同时产生歧化产物 H_2O_2 。POD 和 CAT 在保护酶系统中主要起到酶促降解 H_2O_2 的作用,从而抵抗植物在逆境胁迫下,其代谢过程中产生的有害物质对细胞的伤害^[15]。而随 Cu 浓度的增加,造成植物细胞内的保护酶 SOD、POD 活性比例失调,使植物体内活性氧的产生和清除系统失去平衡,并利于产生 O_2^- ,造成 MDA 高度积累,致使烟草生理代谢紊乱,导致细胞内酶及还原代谢作用区域受到破坏,加速植株组织、细胞衰老,引起叶片色素含量下降,生长减缓,生物量下降。本研究中,两种烟草品种的 SOD 和 POD 活性均随着铜浓度的变化先增加后减少,这与涂俊芳等^[16-17]关于铜对紫背萍和青萍色素含量及抗氧化酶系统的影响以及铜胁迫对玉米幼苗生长、叶绿素荧光参数和抗氧化酶活性的影响的报道结果一致。也和王友保等^[18]关于污水灌溉植物 SOD 活性最为敏感,与植物的抗逆性密切相关的报道一致。

3) Cu^{2+} 对植物的光合作用是有影响的,可以发生在细胞色素及其生化过程等不同层次上。 Cu^{2+} 对细胞色素的影响主要表现为抑制叶绿素的合成或引起叶绿素破坏。然而,近年来的一些研究表明,铜作为植物生长发育所必需的微量元素之一,在浓度较高时对植物产生明显的毒害作用,但如能在其剂量和作用时间上加以控制,则有利于植物的生长发育。本试验的结果也证明了这一点,在铜处理浓度低于 1 mg/L 时,叶绿素含量增加,生物量的积累也有所增加,但是当浓度高于 1 mg/L 时,叶绿素含量降低,植物的光合作用受到限制,光合作用减弱,从而降低了生物量的积累。

4) 综上所述,铜在较低浓度时(0~1 mg/L)对两个烟草品种的生长有一定的促进作用,表现为 POD、SOD 活性增加,叶绿素含量增加,地上部地下部干重增加;但是随着浓度是升高,烟草的 POD、SOD 活性,叶绿素含量,地上部地下部干重有所下降,说明铜对烟草的生长表现出抑制作用。因此,铜对烟草的生长存在剂量效应,与其他人的研究结果

相一致。

[参 考 文 献]

- [1] P tsikk ,E., Kairavuo, M., Der(en, F., et al. Excess copper predisposes photosystem PSII to photoinhibition in vivo by outcompeting iron and causing decrease in leaf chlorophyll [J]. *Plant Physiol*, 2002, 129: 1359-1367.
- [2] 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.
- [3] Nagalakshmi N, Prasad M N V. Copper-induced oxidative stress in *Scenedesmus bijugatus*: Protective role of free radical scavengers [J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1998, 61(5): 623-628.
- [4] 刘登义,谢建春,杨世勇,等.铜尾矿对小麦生长发育和生理功能的影响[J]. *应用生态学报*, 2001, 12(1): 126-128.
- [5] 杨锦忠.玉米的重金属胁迫及其抗性[J]. *玉米科学*, 2000, 8(3): 62-66.
- [6] Xiong Z T, Liu C, Geng B. Phytotoxic effects of copper on nitrogen metabolism and plant growth in *Brassica pekinensis* Rupr [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2006(64): 273-280.
- [7] Ali B M, Singh N, Shohael A M. Phenolics metabolism and lignin synthesis in root suspension cultures of *Panax ginseng* in response to copper stress [J]. *Plant Science*, 2006(171): 147-154.
- [8] Ponizovsky A A, Allen E. H, Ackerman A J. Copper activity in soil solutions of calcareous soils [J]. *Environmental Pollution*, 2006(146): 1-6.
- [9] Wang W X, Robert C. H. Dei. Metal stoichiometry in predicting Cd and Cu toxicity to a freshwater green alga *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Environmental Pollution*, 2006(146): 303-312.
- [10] Lombardi, L., Sebastiani, L. Copper toxicity in *Prunus cerasifera*: Growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants [J]. *Plant Sci*, 2005, 168: 797-802.
- [11] 张宪政.作物生理研究法[M].北京:农业出版社,1983.
- [12] 朱广廉.植物生理学实验[M].北京:北京大学出版社,1990.
- [13] 苍 晶,徐 仲.植物生理实验[M].哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社,2004.
- [14] 徐勤松,施国新,杜开和.铜胁迫对水车前叶片抗氧化酶系统和亚显微结构的影响[J]. *农村生态环境*, 2001, 17(2): 30-34.
- [15] 高惠兰,柳振誉,叶静水,等.冷锻炼对低温胁迫下红掌叶片膜脂过氧化及保护酶活性的影响[J]. *福建农业学报*, 2005, 20(2): 108-112.
- [16] 涂俊芳,王兴明,刘登义,等.不同浓度铜对紫背萍和青萍色素含量及抗氧化酶系统的影响[J]. *应用生态学报*, 2006, 17(3): 502-506.
- [17] 胡筑兵,陈亚华,王桂平,等.铜胁迫对玉米幼苗生长、叶绿素荧光参数和抗氧化酶活性的影响[J]. *植物学通报*, 2006, 23(2): 129-137.
- [18] 王友保,刘登义.污灌对作物幼苗生长及活性氧清除系统的影响[J]. *环境科学学报*, 2003, 23(4): 555-557.

(责任编辑:聂克艳)