

铜胁迫对金银花幼苗生理指标的影响

孟 衡 玲, 张 薇, 卢 丙 越, 何 芳 芳, 刘 艳 红

(红河学院 云南省高校农作物优质高效栽培与安全控制重点实验室, 云南 红河 661100)

摘 要:以金银花品种“金花3号”为试材,分别采用不同浓度的 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 溶液处理,研究金银花在不同铜浓度胁迫下的丙二醛(MDA)含量、脯氨酸含量、可溶性糖含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性和过氧化物酶(POD)活性的变化情况,探讨重金属铜对“金花3号”生长的影响。结果表明:铜胁迫处理对金银花生长具有低促高抑的作用,随着营养液中铜含量的增加及胁迫时间的延续,抗氧化物酶 SOD、POD 活性随处理浓度的变化呈一定的变化规律,低浓度处理(100、200 mg/L)呈上升趋势,高浓度处理(400、800 mg/L)呈下降趋势。MDA 含量变幅较小,脯氨酸含量先升高后降低,可溶性糖含量先降低后升高,脯氨酸和可溶性糖间存在补偿作用。该研究认为,金银花在铜元素含量低于 25 mg/L 的环境中能够正常生长,属于耐重金属污染较强的植物。

关键词:金银花;铜胁迫;生理指标

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)05-0167-03

金银花(*Lonicera japonica* Thunb)属忍冬科(Caprifoliaceae)忍冬属(*Lonicera*)多年生半常绿缠绕木质藤本植物,又名金花、银花、双花和忍冬花等,是常用的大宗药材之一,其主要活性成分为绿原酸、黄酮类化合物^[1],具有宣散风热,清解血毒之功效^[2],在临床上广泛应用于瘟疫臃肿毒症、肠炎、菌痢、腮腺炎、肠道传染病等抗病毒性疾病。金银花适应性很强,喜阳、喜湿润、耐荫、耐旱、耐寒,对土壤要求不严,在全国范围内均有种植。铜是动植物生长发育所必需的一种微量元素,也是一种重金属元素,具有累积性,其含量超过一定限度时不仅会影响植物生长发育,而且可直接或间接危害人类的健康和生命^[3]。目前,我国大面积土地遭到重金属污染,给食品药品安全带来了很大的威胁。因此,该研究以“金花3号”为试材,分析不同浓度铜离子胁迫对金银花生长的影响,初步确定金银花对铜离子的耐受能力,以期为金银花安全合理的种植提供理论参考。

第一作者简介:孟衡玲(1981-),女,云南宣威人,博士,讲师,现主要从事药用植物资源的开发与利用等研究工作。E-mail:menghengli@163.com.

责任作者:刘艳红(1968-),女,云南个旧人,博士,教授,现主要从事云南特色植物资源的开发与利用等研究工作。E-mail:kidliu1968@126.com.

基金项目:云南省科技厅应用基础研究资助项目(2012FB174)。

收稿日期:2014-11-13

1 材料与方法

1.1 试验材料

以金银花品种“金花3号”为试材,于2013年6月15日将“金花3号”枝条扦插于红河学院温室内。

1.2 试验方法

2013年11月20日移栽到 Hoagland 完全营养液中培养预培养,5 d 后进行处理,按 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 质量浓度设计 5 个处理:0、100、200、400、800 mg/L,每个处理重复 3 次。放置于红河学院温室内,室内温度不高于 30℃,每隔 3 d 更换 1 次营养液,每天通气 1 h。采集 4~7 节位的成熟叶片,每隔 2 d 采集 1 次,共 4 次,测定丙二醛(MDA)含量、脯氨酸含量、可溶性糖含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性和过氧化物酶(POD)活性。

1.3 项目测定

1.3.1 形态观察 观察并记录金银花在各个 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 浓度梯度下胁迫 8 d 时的外部形态特征。根据铜胁迫危害程度轻重分为以下 5 个级别:0 级:无铜胁迫危害症状;1 级:有少部分叶尖、叶缘变黄;2 级:约有 1/2 的叶尖、叶缘焦枯;3 级:大部分叶片叶缘焦枯和落叶现象;4 级:叶落直至死亡。

1.3.2 生理指标的测定 MDA 含量测定采用硫代巴比妥酸(TBA)显色法^[4];脯氨酸含量测定采用茚三酮显色法^[5];可溶性糖含量测定采用硫酸蒽酮法^[5];过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法^[5];超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用氮蓝四唑(NBT)光化还原法^[6]。

1.4 数据分析

试验数据采用 Excel 2007 软件进行分析及图表绘

制,采用 DPS 2.0 软件进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同铜浓度胁迫处理对金银花生长的影响

由表 1 可知,不同铜浓度胁迫处理对金银花生长的影响不同。

表 1 不同铜浓度处理下
金银花胁迫症状及伤害等级

Table 1 Stress symptoms and damage level by
copper stress of *Lonicera japonica* seedling

铜处理浓度/(mg · L ⁻¹)	胁迫 8 d 时症状	伤害等级
0(CK)	生长正常	0
100	叶色浓绿	0
200	叶片边缘变黄	1
400	约有 1/2 的叶尖、叶缘焦枯	2
800	部分叶片全变黄,少量脱落	3

2.2 不同铜浓度胁迫对金银花幼苗 MDA 含量的影响

丙二醛(MDA)通常用于表示细胞膜过氧化程度和植物对逆境条件反应的强弱。从图 1 可以看出,胁迫第 2 天时,200 mg/L 处理的 MDA 含量最高,达 47.97 $\mu\text{mol/g}$ FW,其它处理略高于对照,胁迫处理 4 d 后各处理的 MDA 含量均低于对照,说明金银花生理代谢受到了严重的影响。

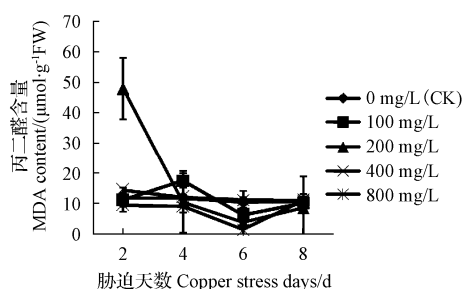


图 1 不同铜浓度胁迫对金银花幼苗丙二醛含量的影响

Fig. 1 Effect of copper stress on the MDA content of
Lonicera japonica seedling

2.3 不同铜浓度胁迫对金银花幼苗脯氨酸含量的影响

从图 2 可以看出,随着铜处理时间的延长,金银花

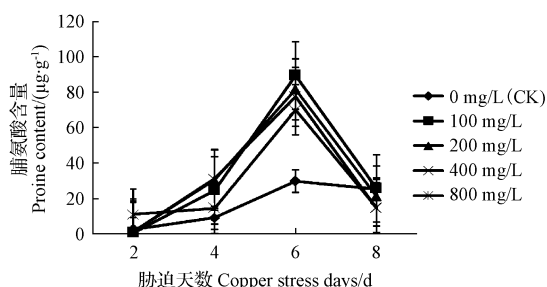


图 2 不同铜浓度胁迫对金银花幼苗脯氨酸含量的影响

Fig. 2 Effect of copper stress on the proline content of
Lonicera japonica seedling

叶片内的脯氨酸含量均呈先上升后下降的趋势,且都在第 6 天上升到最大值,均显著高于对照($P < 0.05$),且脯氨酸含量随着处理浓度的增加而减少,6 d 后脯氨酸含量迅速下降。说明金银花在受到胁迫时均出现了不同程度的生理相应。

2.4 不同铜浓度胁迫对金银花幼苗可溶性糖含量的影响

从图 3 可以看出,在不同浓度铜胁迫处理下,整体呈现先升高后降低再升高的趋势,胁迫第 2 天时达到小高峰,且 800 mg/L 铜浓度处理下的可溶性糖含量最高。胁迫第 6 天时可溶性糖含量均下降到最低点,之后迅速升高,第 8 天时 200 mg/L 浓度处理的可溶性糖含量最高,各处理间均达到了显著性差异($P < 0.05$)。

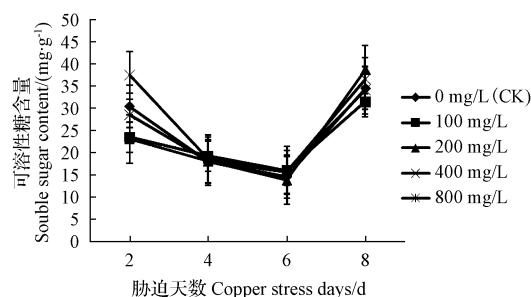


图 3 不同铜浓度胁迫对金银花幼苗可溶性糖含量的影响

Fig. 3 Effect of copper stress on the soluble sugar content of
Lonicera japonica seedling

2.5 铜胁迫对金银花体内保护酶活性的影响

2.5.1 SOD 活性 从图 4 可以看出,400、800 mg/L 铜浓度处理下 SOD 活性整体呈先升高后降低再升高的趋势,100、200 mg/L 处理下的 SOD 活性呈上升趋势,100 mg/L 和 200 mg/L 处理下的 SOD 活性在第 8 天时达到了最大值。且各处理均显著高于对照($P < 0.05$)。

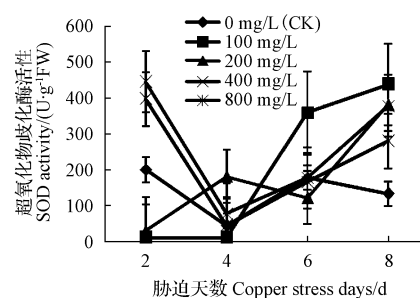


图 4 不同铜浓度胁迫对金银花幼苗 SOD 活性的影响

Fig. 4 Effect of copper stress on the SOD activity of
Lonicera japonica seedling

2.5.2 POD 活性 100、400 mg/L 铜浓度处理下的 SOD 活性呈先升高后降低的趋势,200 mg/L 铜浓度处理下的 POD 活性呈先下降后升高再下降的趋势,800 mg/L 铜浓度处理下的 POD 活性呈下降趋势。铜浓

度越高的处理,POD活性出现高峰越早,其最高活性几乎是对照的2倍,各处理间存在着显著性差异($P<0.05$)。

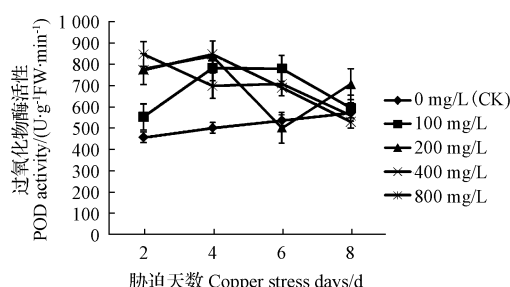


图5 不同铜浓度胁迫对金银花幼苗 POD 活性的影响

Fig. 5 Effect of copper stress on the POD activity of *Lonicera japonica* seedling

3 讨论

铜是植物体必要的微量元素之一,同样也是环境污染的主要重金属之一,当铜浓度超标时会导致植物的生物产量和品质降低、品种退化等^[7]。该研究发现,金银花在低浓度(100 mg/L)生长表现出叶色浓绿,生长势好,但随着铜浓度的增加,叶片边缘变黄、甚至是脱落死亡,说明高浓度铜严重影响了金银花的生理代谢,表明铜对金银花的生长具有低促高抑的作用,与前人研究结果一致^[8-9]。杨丹慧^[10]认为,高浓度铜会大大的减弱植物的光合效率,主要是由于进入叶绿体中的铜沉积到了类囊体上,破坏了叶绿体酶系统结构,这可能就是金银花叶片变黄脱落的主要原因。该研究结果发现,随着铜胁迫时间的延长,金银花中脯氨酸含量呈先升高后降低的趋势,而可溶性糖含量呈先降低后升高趋势,与张美云等^[11]研究结果一致。Cu胁迫浓度越高,金银花中SOD、POD活性越快达到高峰,之后就迅速下降,可能是

由于金银花受到高浓度铜胁迫,致使体内积累大量的ROS,导致植物失去自身的代谢能力,开始出现枯黄萎焉的现象^[12]。

该研究认为,金银花在低于100 mg/L的CuSO₄·5H₂O溶液中能够正常生长,其耐受力远远高于水花生^[7](纯铜含量5 mg/L)、菊芋^[13](CuSO₄·5H₂O 5 mg/L),说明金银花耐受性很强,需进一步研究金银花植株中铜的富集能力。

参考文献

- [1] 李永梅,王天志,王志霄.细毡毛忍冬花蕾化学成分研究[J].中国中药杂志,2001,26(1):45-47.
- [2] 方朝晖.消暑解暑良药—金银花[J].保健医苑,2009(6):40-41.
- [3] 丁园,何欢,史蓉蓉,等.重金属与农药交互作用对青菜生长的影响[J].江西农业大学学报,2007(3):495-498.
- [4] 王林嵩.生物化学实验技术[M].北京:科学出版社,2007:126-127.
- [5] 李玲,李娘辉,蒋素梅,等.植物生理学模块实验指导[M].北京:科学出版社,2008:11-12,48-50,97-98.
- [6] 常福辰,陆长梅,沙莎.植物生物学实验[M].南京:南京师范大学出版社,2007:158-160.
- [7] 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.
- [8] 涂俊芳,刘登义,王兴明. Cu胁迫对紫背萍的生长及活性氧清除系统的影响[J].生物学杂志,2006,23(3):18-21.
- [9] 刘新华,曹春信,周琴,等.油菜对铜胁迫的生理响应及铜在茎秆和籽粒中的富集特征[J].环境污染与防治,2011,33(12):9-12.
- [10] 杨丹慧.重金属离子对高等植物光合模结构与功能的影响[J].植物学通报,1991,8(3):26-29.
- [11] 张美云,钱吉,郑师章,等.渗透胁迫下野生大豆游离脯氨酸和可溶性糖的变化[J].复旦学报(自然科学版),2001,40(5):558-561.
- [12] 刘蕊. Cu胁迫对香豌豆生长及生理特性影响[J].华北农学报,2012,27(增刊):193-197.
- [13] 贾若凌.铜胁迫对菊芋幼叶生理生化指标的影响[J].河南农业科学,2012,41(8):154-156.

Effect of Copper Stress on Physiological Indexes in *Lonicera japonica* Seedling

MENG Heng-ling, ZHANG Wei, LU Bing-yue, HE Fang-fang, LIU Yan-hong

(The Key Laboratory of High Quality Crops Cultivation and Safety Control, Honghe University, Honghe, Yunnan 661100)

Abstract: Taking *Lonicera japonica* "Jinhua No. 3" as materials, the variation of physiological indexes in *L. japonica*, such as the contents of malondialdehyde(MDA), proline, soluble sugar, and the activities of superoxide dismutase(SOD) and peroxidase (POD) under various concentrations copper stress were studied. The results showed that the copper damage phenomenon of *L. japonica* was present with the accumulating copper in Hoagland nutrient solution. The activities of SOD and POD demonstrated change rules with different copper concentrations that were raise under low concentrations treated(100 mg/L and 200 mg/L) and reducing under high concentrations treated (400 mg/L and 800 mg/L). And MDA content was reducing in different degree after copper stress 8 days. Proline content rose rapidly first then reduced. The soluble sugar content was lower first then rising after 6 days. Between the contents of proline and soluble sugar had compensating effect. *L. japonica* could normally grow that copper content was less than 25 mg/L environment. *L. japonica* was a good plant for resistance copper stress.

Keywords: *Lonicera japonica*; copper stress; physiological index