

DOI:10.11937/bfyy.201705004

Cu^{2+} 胁迫对花椰菜种子的萌发及幼苗生理特性的影响

赵淑玲, 王 瀚, 王让军, 卓平清

(陇南师范高等专科学校 农林技术学院, 甘肃 成县 742500)

摘 要:以花椰菜为试材,用不同浓度 Cu^{2+} (12.5、25.0、50.0、100.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 处理花椰菜种子,研究 Cu^{2+} 胁迫对花椰菜种子的萌发及幼苗生理特性的影响。结果表明:随 Cu^{2+} 浓度增加,花椰菜植物种子的萌发受到抑制;对根的生长发育影响较大,叶片内叶绿素含量和类胡萝卜素含量呈下降趋势;超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性总体上升,丙二醛(MDA)及脯氨酸(Pro)含量呈先升后降的趋势。

关键词: Cu^{2+} 胁迫;花椰菜子;叶绿素含量;SOD;POD;MDA;Pro

中图分类号:S 635.304⁺.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)05-0016-05

成县位于甘肃南部,矿产资源富集,初步建成了以铅锌为主导的工业。但随开矿规模的发展,采矿后的尾矿数量急剧增加,尾矿中含有较多的铜(Cu)等重金属^[1]。铜是植物必需的微量元素之一,是多种氧化还原酶的辅基,在电子传递、呼吸反应中起重要作用,同时,铜还是质体蓝素的成分,参与光合电子传递^[2],因此,铜对植物的正常生长、光合作用、发育代谢等具有重要意义。随工业快速发展,产生的废水、废气、废渣对环境造成一定的危害,排放到环境中的铜大量增加,铜污染成为广泛的重金属污染之一。铜污染不仅会影响作物生长发育,降低产量和品质,而且还可通过植物吸收积累,残留在植物的可食用部分,最终通过食物链进入人体,对人类健康产生巨大威胁^[3],过量的铜通过抑制光合色素合成或者破坏影响光合作用,造成植物毒害^[4]。

花椰菜(*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.)属十字花科芸薹属,又称花菜、菜花或椰菜花。是当地群众喜食蔬菜之一,其主要成分有抗癌作用。该试验以花椰菜为试材,用不同浓度 Cu^{2+} 处理花椰菜种

子后,观察其对种子的萌发、根的生长情况,叶绿素含量、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、脯氨酸(Pro)含量、丙二醛(MDA)含量等生理生化指标的影响,以期进一步认识重金属离子对蔬菜生长发育的胁迫机理,并为当地土壤修复提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试花椰菜种子为“荷兰 83”,购自兰州润丰种业有限公司。5424 型冷冻离心机(德国艾本德);SP-723PC 分光光度计(上海光谱仪器有限公司)等。其它试剂如甲硫氨酸、三氯乙酸等试剂均为分析纯,天津大茂化学试剂厂生产。

1.2 试验方法

花椰菜种子以 0.1% 的 KMnO_4 溶液消毒 30 s,蒸馏水冲洗 4~5 次,选取籽粒饱满的花椰菜种子均匀播在贴好标签并铺有双层滤纸的培养皿($d=120$ mm)中,每皿 30 粒,分别浇注 12.5、25.0、50.0、100.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (以 Cu^{2+} 浓度计)的溶液,每个梯度设置 3 次重复,每天及时补充相应浓度的铜离子溶液,以蒸馏水处理种子为对照。处理温度 23 $^{\circ}\text{C}$,湿度 70%,每天做好试验记录,6 d 后测定相关生理生化指标。

1.3 项目测定

1.3.1 种子萌发率及幼苗生长状况 种子催芽后 24 h 开始观察记录发芽情况,直至对照组发芽率不再变化^[5]。发芽率(%)=发芽总粒数/试验总粒数 $\times 100$ 。

第一作者简介:赵淑玲(1968-),女,甘肃康县人,硕士,副教授,研究方向为植物生理学。E-mail:1109385865@qq.com

基金项目:陇南师范高等专科学校校级科研资助项目(2014LSZK02008);甘肃省委组织部陇原青年创新人才扶持计划资助项目(2015-13);甘肃省教育厅高等学校科研资助项目(2015B-147)。

收稿日期:2016-09-23

1.3.2 幼苗根长及根毛变化情况 从种子胚根长出后开始每天观察,在第6天,每皿随机抽取10株观察,记录根毛数量、主根长度等。

1.3.3 叶绿素含量测定 称取0.2 g新鲜叶片,剪碎,每个浓度做3次重复,取平均值,放入研钵,加少量碳酸钙,95%酒精研磨至匀浆,过滤至棕色容量瓶,定容25 mL,在分光光度计470、649、665 nm下测定,按公式计算。

1.3.4 生理生化指标测定 超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性、脯氨酸(Pro)含量、丙二醛(MDA)含量参照王学奎^[6]方法测定。SOD活性采用NBT还原法进行测定,POD活性采用愈创木酚法测定。

1.4 数据分析

采用Excel软件进行数据分析,定量指标以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果与分析

2.1 Cu^{2+} 胁迫对花椰菜种子萌发率的影响

由图1可以看出,不同 Cu^{2+} 浓度处理的花椰菜种子的发芽率与蒸馏水处理相比,发芽率均低于对照组。可能是 Cu^{2+} 对花椰菜种子的萌发随 Cu^{2+} 浓度的增加而出现抑制作用的结果^[7]。

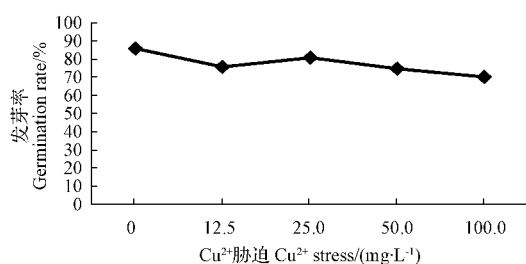


图1 Cu^{2+} 胁迫对种子萌发率的影响

Fig.1 Effects of different concentration of Cu^{2+} on seeds germination rate of *Brassica oleracea* L.

2.2 Cu^{2+} 胁迫对幼苗根长及根毛发育的影响

培养6 d后花椰菜幼苗茎长、主根长度及根毛发生情况见表1。试验第2天对照组与处理组种子都有萌动迹象,第4天对照组与处理组主根生长的长度、色泽上未见明显差异,但对照组主根均出现细小根毛,而处理组从低浓度到高浓度根毛逐渐减少, Cu^{2+} 浓度100.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 无根毛长出,从第5天,花椰菜幼苗随 Cu^{2+} 浓度增加,主根上根毛逐渐稀疏,根尖萎缩、发黑。花椰菜幼苗的茎长与主根长度与对照组相比,差异显著($P < 0.05$),花椰菜幼苗根的生长发育与 Cu^{2+} 浓度呈负相关性。表明不同 Cu^{2+}

浓度对花椰菜的根、茎生长有明显的抑制作用,高浓度 Cu^{2+} 对花椰菜的生长有抑制作用,可能是 Cu^{2+} 对植物根尖细胞有丝分裂时纺锤体的形成有破坏或抑制作用^[5],影响根的正常发育,进而影响植物的整体生长和发育。

表1 培养6 d茎长、根长及根毛发生情况

Table 1 Growth of stem and root of hairs after treated for 6 days

Cu^{2+} 浓度 Cu^{2+} concentration /($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	茎长 Stem length /cm	根长 Root length /cm	根毛发生 Root of hairs
0(CK)	1.88±0.24a	5.12±0.24c	主根长,根毛发达,长势好
12.5	0.92±0.23a	1.92±0.47b	主根较长,长势良好
25.0	0.74±0.28b	0.62±0.22a	主根根尖发黑,有少许根毛
50.0	0.52±0.04b	0.48±0.30a	主根根尖发黑,萎缩,极少有根毛
100.0	0.62±0.18c	0.10±0.07d	主根根尖发黑,极短萎缩,几无根毛

2.3 Cu^{2+} 胁迫对花椰菜幼苗叶绿素含量的影响

由表2可以看出,随 Cu^{2+} 浓度的增加,叶绿素含量整体呈下降趋势,但叶绿素b和类胡萝卜素含量在 Cu^{2+} 浓度12.5~50.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时变化不大,只在100.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时出现明显下降,可能是叶绿素a较叶绿素b和类胡萝卜素对 Cu^{2+} 敏感,而且在低浓度范围内,叶绿素b和类胡萝卜素对 Cu^{2+} 有一定的耐受性,但超过一定阈值后,叶绿素b和类胡萝卜素的稳定性遭到破坏,该结论与金进等^[8]研究结果一致。

表2 不同 Cu^{2+} 浓度对花椰菜幼苗体内叶绿素及类胡萝卜素浓度的影响

Table 2 Effects of different concentrations of Cu^{2+} on chlorophyll and carotenoid content of *Brassica oleracea* L.

Cu^{2+} 浓度 Concentration /($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	叶绿素 a Chlorophyll a	叶绿素 b Chlorophyll b	叶绿素 a+b Chlorophyll a+b	类胡萝卜素 Carotenoid
0(CK)	3.86	1.12	4.98	0.85
12.5	3.35	1.33	4.68	0.68
25.0	3.51	1.00	4.51	0.85
50.0	2.63	1.32	3.95	0.53
100.0	0.88	0.29	1.17	0.26

2.4 Cu^{2+} 胁迫对花椰菜叶片 POD 活性的影响

由图2可以看出,在 Cu^{2+} 浓度一定范围内($\leq 50.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)时,POD活性变化不大,但 Cu^{2+} 胁迫浓度在100.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,POD活性最强。POD是植物体内普遍存在的酶,其活性较高,与植物的光合作用、呼吸作用以及生长素的氧化等有密切的关系。 H_2O_2 是光合作用电子传递过程及反应过程中的产物,过多 H_2O_2 会对细胞造成伤害,POD能

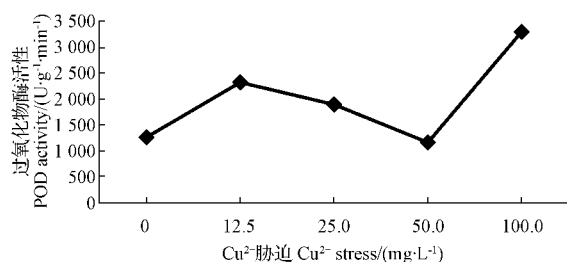


图2 不同 Cu^{2+} 浓度对花椰菜幼苗体内的 POD 活性影响

Fig. 2 Effects of different concentrations of Cu^{2+} on POD activity of *Brassica oleracea* L.

维持植物体内 H_2O_2 平衡。在试验范围内,植物体可根据体内 H_2O_2 含量做出相应的调整^[7]。

2.5 Cu^{2+} 胁迫对花椰菜叶片 SOD 活性的影响

由图3可以看出,花椰菜幼苗 SOD 活性在 $0 \sim 12.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 波动幅度较小,随 Cu^{2+} 浓度增加,在 $25.0 \sim 100.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 SOD 活性升高,总体呈现升高趋势 Cu^{2+} 浓度为 $100.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, SOD 活性达到最高。表明在低浓度范围内,花椰菜幼苗对 Cu^{2+} 有一定的耐受性,随 Cu^{2+} 浓度的增大, SOD 活性升高,可能是花椰菜幼苗在逆境中的一种应激反应,是在外界环境胁迫下,短时间内活性氧爆发,诱导 SOD 的合成,增强了 SOD 活性^[9],以清除由胁迫引起体内代谢废物。

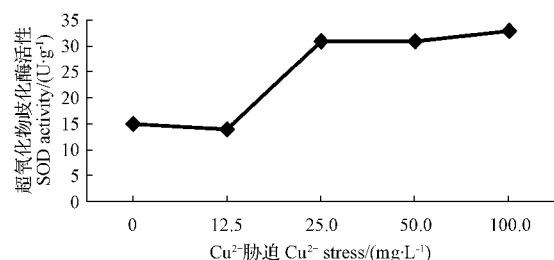


图3 不同 Cu^{2+} 浓度对花椰菜幼苗体内的 SOD 活性影响

Fig. 3 Effects of different concentrations of Cu^{2+} on SOD activity of *Brassica oleracea* L.

2.6 Cu^{2+} 胁迫对花椰菜叶片 Pro 含量的影响

脯氨酸(Pro)是植物蛋白质的组分之一,在干旱、盐渍等胁迫条件下,植物体内脯氨酸大量积累。脯氨酸能调节植物细胞质内物渗透压、稳定生物大分子结构、降低细胞酸性等方面起重要作用,Pro 含量在一定程度上反映了植物的抗逆性。由图4可以看出,随 Cu^{2+} 浓度增加,Pro 含量逐渐增加,在 $50.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到峰值,随后又下降。

2.7 Cu^{2+} 胁迫对花椰菜幼苗体内的 MDA 含量影响

脂质氧化终产物丙二醛(MDA)在体外影响线

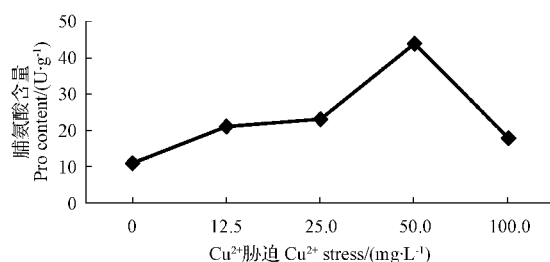


图4 不同 Cu^{2+} 浓度对花椰菜幼苗体内的脯氨酸含量的影响

Fig. 4 Effect of Cu^{2+} on proline content in *Brassica oleracea* L.

粒体呼吸链复合物及线粒体内关键酶活性,MDA 是膜脂过氧化最重要的产物之一,它能加剧膜的损伤,MDA 是植物衰老生理和抗性生理研究中一个指标,通过 MDA 了解膜脂过氧化的程度,间接测定膜系统受损程度以及植物的抗逆性。由图5可以看出,随 Cu^{2+} 浓度增加 MDA 含量先升后降, Cu^{2+} 浓度为 $25.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,MDA 达到最高,随后又下降。

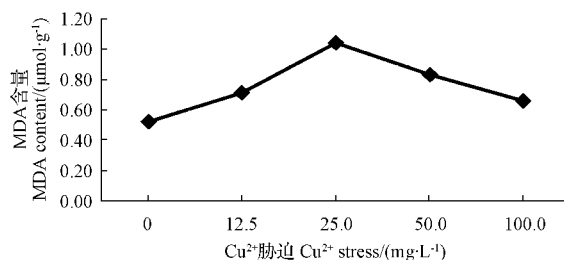


图5 不同 Cu^{2+} 浓度对花椰菜幼苗体内的 MDA 含量影响

Fig. 5 Effects of different concentrations of Cu^{2+} on MDA content of *Brassica oleracea* L.

3 讨论

不同的植物体内的含铜量不同,一般植物体内含铜量在 $5 \sim 30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,高于 $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 会引起植物铜中毒^[10]。过量的铜会对植物种子萌发和幼苗生长有一定的抑制作用^[11]。在该试验中,随 Cu^{2+} 浓度增加,花椰菜种子萌发率呈下降趋势,幼苗发育迟缓,矮小,主根及根毛渐短,花椰菜幼苗在 Cu^{2+} 浓度为 $100.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,呈现典型铜毒害症状,即生育迟缓、矮小、主根褐黑色、粗短,根毛少^[10]。

花椰菜体内 Cu^{2+} 的量累积,引起植物体内新陈代谢的变化,试验中随 Cu^{2+} 浓度增加,对照组(CK)叶绿素含量与类胡萝卜素含量均高于处理组,处理组的叶绿素与类胡萝卜素含量随 Cu^{2+} 离子浓度的

增加而降低($P < 0.05$),整体呈负相关性,但叶绿素 b 和类胡萝卜素含量在 Cu^{2+} 浓度 $12.5 \sim 50.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时变化不大,在 $100.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时出现明显下降,可能是叶绿素 a 较叶绿素 b 和类胡萝卜素对 Cu^{2+} 敏感,而且在低浓度范围内,叶绿素 b 对 Cu^{2+} 有一定的耐受性。铜是质体蓝素的成分之一,参与光合作用中电子传递和光和磷酸化过程,但过高的 Cu^{2+} 浓度会破坏叶绿体结构,使叶绿素合成受阻^[12]、阻碍了 CO_2 的固定^[13]。叶绿素含量的高低是反映植物光合作用能力和生长的一个重要指标,试验表明,随 Cu^{2+} 浓度的增大,影响植物的光合作用,导致花椰菜幼苗发育迟缓。

重金属处理植物幼苗,会导致植物细胞核、线粒体等细胞器的变形,尤其是线粒体对重金属离子敏感, Cu^{2+} 能抑制线粒体氧化磷酸化、线粒体膜上 ATP 及其它酶的活性^[11]。在试验中,花椰菜幼苗体内 SOD 和 POD 活性均在 Cu^{2+} 浓度 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到峰值。SOD 与 POD 是植物体内重要的抗氧化酶,能维持体内活性氧处于较低状态,在有外来胁迫时,能随胁迫程度增强抗氧化酶活性,激发植物对胁迫反应^[7],保护植物,但当胁迫超过一定的阈值后,细胞内的抗氧化酶及膜系统遭到破坏,代谢紊乱^[11],影响植物正常生长和发育。

脯氨酸能调节植物细胞质内物渗透质、稳定生物大分子结构。试验中,随 Cu^{2+} 浓度的增加 Pro 含量逐渐增加,在 $50.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到峰值,随后又下降,可能是在低浓度在($< 50.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)下,植物幼苗通过积累脯氨酸维持渗透平衡,对植物起到保护作用,而高浓度下,脯氨酸合成需能增加,对植物幼苗生长不利,导致 Pro 含量降低^[14]。

MDA 是膜脂过氧化最重要的产物之一,与不饱和脂肪酸及 O_2 含量等有关,MDA 含量越多,表明植物的保护能力越弱^[15]。随 Cu^{2+} 浓度增加,MDA 含量先升后降,在 Cu^{2+} 浓度 $25.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,MDA 达

到峰值,随后下降。MDA 含量的下降可能是花椰菜幼苗体内积累了大量活性氧,导致植物细胞失去正常的代谢功能,不能积累 MDA。

综上所述,重金属 Cu 对花椰菜种子的萌发及幼苗的生长等生理特性有一定的影响,需进一步研究其分子及危害机理,为土壤修复提供参考依据。

参考文献

- [1] 谢晓华.成县黄渚矿区尾矿库溃坝土壤污染评价[J].甘肃农业科技,2013(6):33-35.
- [2] 武维华.植物生理学[M].3版.北京:科学出版社,2011.
- [3] 王波,陈辰,张磊.铜胁迫对油菜种子萌发期生理生化指标的影响[J].中国农学通报,2009,25(4):137-139.
- [4] 姜理英,石伟勇,杨肖娥,等.铜矿区超量积累 Cu 植物的研究[J].应用生态报,2002,13(7):806-906.
- [5] 苟本富.铜胁迫对蚕豆种子萌发及幼苗生长的影响[J].西南师范大学学报(自然科学版),2010(5):116-121.
- [6] 王学奎.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2006.
- [7] 陈国维,杨洪琴,陈坤浩.铅胁迫对构树幼苗抗氧化酶活性的影响[J].现代农业科技,2014(14):135-138.
- [8] 金进,叶亚新,李丹,等.重金属铜对玉米的影响[J].玉米科学,2006,14(3):83-86.
- [9] 马博英,铅-锌诱导的高羊茅叶片过氧化物酶活性变化[J].浙江教育学院学报,2008(4):77-81.
- [10] 常红岩,孙百晔,刘春生.植物铜素毒害研究进展[J].山东农业大学学报(自然科学版),2000,31(2):227-230.
- [11] 李洋,于丽杰,金晓霞.植物重金属胁迫耐受机制[J].中国生物工程杂志,2015,35(9):91-104.
- [12] OUZOUNIDOU G. Copper induced changes on growth metal content and photosynthetic function of *alysium montanu* plants[J]. Environ Experiment Bothany,1994,34(2):165-172.
- [13] CEDENO-MALDONADO A. The cupric ion as an inhibitor of photosynthetic electron transport in isolated chloroplasts[J]. Plant Physiology,1973,50(6):698-701.
- [14] 韩志平,郭世荣,冯吉庆,等.盐胁迫对西瓜幼苗生长_叶片光合色素和脯氨酸含量的影响[J].南京农业大学学报,2008,31(2):32-36.
- [15] 张艳英,刘鹏,徐根娣,等.铜胁迫对烟草幼苗生长和生理特征的影响[J].贵州农业科学,2009,37(3):32-35.

Effect of Cu^{2+} Stress on Growth and Physiological and Biochemical Characteristics of *Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.

ZHAO Shuling, WANG Han, WANG Rangjun, ZHUO Pingqing

(Department of Biology and Chemistry, Longnan Teachers' College, Chengxian, Gansu 742500)

Abstract: The physiological and biochemical response of *Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L. to Cu^{2+} stress were studied. The results showed that, Cu^{2+} stress exhibited high inhibitory effects on *Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L. The plant seeds germination rate decreased with the Cu^{2+} concentration increased, with the increasing of Cu^{2+}

昼夜温差对番茄果期干物质分配的影响及模拟

袁小康, 刘富来

(湖南省气象科学研究所, 湖南 长沙 410118)

摘 要:以番茄品种“金冠 5 号”为试材,在人工气候箱对坐果后的番茄植株进行昼夜温差(DIF)处理,设置 25℃ 日平均温度下 5 个昼夜温差水平,即-18℃(16/34,昼温/夜温,℃,以下同)、-12℃(19/31)、0℃(25/25)、+12℃(31/19)、+18℃(34/16),研究昼夜温差对番茄干物质分配在果期各阶段的影响,并构建综合了昼夜温差、辐射和热效应的干物质分配动态模拟模型。结果表明:与零昼夜温差处理相比,+12℃ DIF 使根和叶的干物质分配比例降低,茎和果实的干物质分配比例增加;+18℃ DIF 使叶干物质分配比例增加,而使果实干物质分配比例减少。而负昼夜温差使根、叶的干物质分配比例增加,茎、果实的干物质分配比例降低。不同昼夜温差处理下,根、茎、叶的干物质分配比例均与坐果后的累积辐热积呈指数递减关系,而果实的干物质分配比例与坐果后的累积辐热积呈 Logistic 模型递增关系,通过拟合昼夜温差值与指数模型和 Logistic 模型参数的数量关系,得到昼夜温差对根、茎、叶、果的干物质分配比例影响的模拟模型。经独立试验数据检验表明,模拟效果良好。

关键词:昼夜温差;番茄;干物质分配;影响;模拟

中图分类号:S 641.201 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)05-0020-07

番茄(*Solanum lycopersicum* L.)是一种在全球范围内被大量种植、市场需求旺盛的蔬菜,其营养丰富,一年四季都受到消费者欢迎。如何实现番茄周年高产量、高品质地生产,是农业生产部门需要解决的重要课题之一。设施农业生产方式是解决该问题的重要途径。然而,中国设施番茄生产面临产量低、品质欠佳、难以周年生产等问题,如中国大部分设施番茄的单位面积产量仅有 $7.5 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$,而发达国家荷兰设施番茄单产高达 $54 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$ [1]。番茄的生长除了受自身遗传特性影响外,还与外界的环境条件具有密切的关系。如何优化调控设施环境因子以提高番茄品质和产量,是亟待解决的关键技术问题。近年来,利用昼夜温差调节设施作物生长发育、产量

和品质的引起了国内外科学家广泛关注[2-3]。昼夜温差对番茄也有显著的影响。毛丽萍等[4-5]研究了苗期昼夜温差对番茄光合作用、成株期生长发育、产量形成的影响,得出平均温度 20℃ 时,+12℃ 昼夜温差有利于番茄光合作用、+6℃ 昼夜温差有利于营养生长和产量形成的结论;杨再强等[6]研究了昼夜温差对番茄各器官营养物质分配的影响;李莉等[7]研究指出番茄苗期生长温差不宜过大,花果期适当增大昼夜温差可提高产量。然而,国内外大多数研究集中在昼夜温差对番茄生长发育和产量的影响,而对番茄干物质分配的影响较少。干物质分配指的是植物在一定时间内积累的干物质向各个器官的分配[8]。大量研究表明,昼夜温差影响作物干物质分配[2,9-10]。果期是番茄产量形成的关键生育期,研究昼夜温差对番茄果期干物质分配的影响,对于提高番茄产量有重要意义。

第一作者简介:袁小康(1987-),男,湖南常宁人,博士,研究方向为设施农业气象。E-mail:yxknuist@126.com

收稿日期:2016-12-12

concentration, the root length, contents of chlorophyll decreased obviously. The activity of SOD and POD tended to increase, the content of MDA and Pro tended to firstly increase then decrease with the increasing of Cu^{2+} concentration.

Keywords: Cu^{2+} stress; *Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.; contents of chlorophyll; SOD; POD; MDA; Pro