

氧化铜纳米颗粒对柳树光合作用、叶绿素荧光和抗氧化酶活性的影响

张莹^{1,2}, 陈光才², 刘泓¹, 杨泉泉², 孙慧²

(1. 福建农林大学 资源与环境学院, 福建 福州 350002; 2. 中国林业科学研究院 亚热带林业研究所, 浙江 杭州 311400)

摘要:以杞柳品种“一支笔”为试材,以 Cu^{2+} 和 CuO 微米颗粒为对照,采用溶液培养的方法,研究了不同浓度氧化铜纳米颗粒对柳树的光合作用、叶绿素荧光参数和抗氧化酶系统的影响,以期深入揭示 CuO 纳米颗粒对植物毒性效应的机理提供参考依据。结果表明: $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 纳米颗粒和微米颗粒处理下,柳树叶片的叶绿素含量显著增加,分别增加 58.9% 和 27.4%, Cu^{2+} 则没有显著影响。 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 纳米颗粒处理下,柳树叶片的净光合速率(Pn)、胞间 CO_2 浓度(Ci)及蒸腾速率(Tr)值分别减少 41.2%、34.5% 和 51.6%, $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 微米颗粒处理下只减少 9.9%、17.2% 和 45.8%,而 Cu^{2+} 处理下分别减少 14.3%、14.1% 和 37.4%。 Cu^{2+} 处理下 PSII 电子传递量子产率(Φ_{PSII})与对照相比没有明显变化, $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 微米颗粒和纳米颗粒处理下 Φ_{PSII} 值明显降低,分别减少 21.1% 和 23.4%。 Cu^{2+} 、 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 微米颗粒以及纳米颗粒处理下柳树叶片的超氧化物歧化酶(SOD)活性明显增加,分别增加了 27.7%、28.3% 和 11.2%;在 Cu^{2+} 处理下柳树叶片的过氧化氢酶(CAT)活性和过氧化物酶(POD)活性都显著增加,分别增加了 32.2% 和 24.1%; $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 微米颗粒和纳米颗粒处理下 CAT 活性和 POD 活性呈下降趋势, $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 微米颗粒处理下 CAT 活性和 POD 活性分别减少 42.6% 和 23.0%; $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 纳米颗粒处理下分别减少 1.84% 和 28.0%。该结果表明,同等离子浓度处理下, $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 纳米颗粒对柳树叶片光合速率、PSII 实际光化学量子产量等毒性大于 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cu^{2+} ;但 CuO 微米颗粒和 CuO 纳米颗粒同等颗粒浓度 ($100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 不同粒径颗粒处理对柳树叶片的光合作用、叶绿素荧光等的影响关系复杂,还需要进一步研究。

关键词:柳树; CuO 纳米颗粒; 光合; 叶绿素荧光; 抗氧化酶

中图分类号: S 792.12 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2017)11-0083-07

近年来,随着纳米技术的飞速发展,人工合成纳米颗粒已经越来越广泛地应用于纺织、电子、医药、陶瓷、涂料、化妆品、农业、环境修复等行业。关于纳米金属氧化物所具有的潜在生态毒性与环境风险也正逐渐成为研究热点。目前,纳米颗粒的植物效应

已经引起科学界的广泛关注。

目前的研究,多关注作物、蔬菜等草本植物,对纳米颗粒的植物毒性及植物的吸收、转运和蓄积规律有了一定的认识。但对纳米材料的植物毒性效应评价多数集中在草本植物^[1-3],缺乏树木这类重要植物的数据支持,这与树木的生长周期较长、研究难度大有关。为数不多的研究表明,一定浓度 ($1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 直径 25 nm) 的纳米 Ag 能够促进杨树的根系生长、鲜质量及蒸散作用^[4];而纳米 TiO_2 对耐水湿树种柳树生长几乎没有影响^[5]。纳米 Au 能够在杨树根系韧皮部的胞间连丝中积累,易于在细胞间及整株内传递,表现出进入食物链传递的潜力^[6]。树木在几种重要生态系统的物种组成中占支配地位^[7]。鉴于树木在全

第一作者简介:张莹(1990-),女,硕士研究生,研究方向为农业环境保护。E-mail:1072239700@qq.com

责任作者:刘泓(1968-),女,博士,教授,现主要从事植物环境毒理与环境污染评价及修复和植物营养的教学与科研工作。E-mail:fjauliuhong@163.com

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31470619);中央级公益性科研院所基金资助项目(RISF2013001, RISFZ-2016-17)。

收稿日期:2017-02-22

球生态系统中的重要性,亟需开展纳米材料对典型生态树种的毒性效应研究。

柳树生物量大、轮伐期短、适应性强,繁殖栽培较容易,在我国园林绿化及造林中被广泛运用。柳树可在中度重金属污染地区生长,为修复污染环境的优良树种之一;而且可用作生物能源、回收金属和造纸原料等,有较高的经济价值。杞柳(*Salix integra*)属杨柳科柳属植物,该试验选用杞柳品种“一支笔”(Salix integra ‘Yizhibi’)作为试验材料,采用溶液培养的方法,通过测定不同粒径 CuO 颗粒处理下柳树光合、叶绿素荧光参数和抗氧化酶活性等的变化,探讨 CuO 纳米颗粒对柳树生长和光合作用的影响以及抗氧化酶在植物抵御纳米颗粒胁迫中的作用,以期深入揭示 CuO 纳米颗粒对植物毒性效应的机理提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试柳属杞柳品种为“一支笔”,扦插柳条采自浙江省富阳常安试验田。3月柳树枝条萌发前,剪取粗细一致、健康的一年生枝条,剪成10 cm长度的插条,扦插在20 L的塑料箱内泡沫板上。自然光照,20~30℃条件下,用改进的pH为5.5~6.5的Hoagland营养液配方,在中国林业科学研究院亚热带林业研究所的实验大棚内培养。营养液中大量元素含量分别为0.51 g·L⁻¹ KNO₃、0.82 g·L⁻¹ Ca(NO₃)₂、0.49 g·L⁻¹ MgSO₄·7H₂O、0.136 g·L⁻¹ KH₂PO₄;微量元素含量分别为2.86 mg·L⁻¹ H₃BO₃、1.81 mg·L⁻¹ MnCl₂·4H₂O、0.22 mg·L⁻¹ ZnSO₄·7H₂O、0.45 mg·L⁻¹ (NH₄)₆Mo₇O₂₄、0.6 mg·L⁻¹ FeSO₄、0.744 mg·L⁻¹ EDTA。7 d换一次营养液,培养60 d后进行胁迫试验。

1.2 试验方法

选择长势一致的柳树幼苗将其移栽到容积500 mL、用铝箔纸包裹遮光的透明玻璃瓶中进行胁迫。设空白对照(CK)、1.5 mg·L⁻¹铜离子(Cu²⁺,对应100 mg·L⁻¹ CuO纳米颗粒的离子释放浓度)、100 mg·L⁻¹ CuO微米颗粒(BPs 100)和10 mg·L⁻¹ (NPs 10)、50 mg·L⁻¹ (NPs 50)、100 mg·L⁻¹ CuO纳米颗粒(NPs 100)6个处理,每处理设5次重复。培养期间柳树随机摆放,并通气保持颗粒悬浮,处理持续30 d。

1.3 项目测定

1.3.1 CuO微米颗粒和纳米颗粒悬浮液中Cu²⁺浓

度的测定 称取CuO微米颗粒和纳米颗粒直接加入到全Hoagland营养液中,使营养液中CuO微米颗粒和纳米颗粒达到100 mg·L⁻¹,超声分散30 min,备用。将100 mg·L⁻¹的CuO微米颗粒和纳米颗粒悬浮液制备好后,于0、1、2、3、4、5、6 d取样,每次取样8 mL装入10 mL离心管中,3次重复,将CuO微米颗粒和纳米颗粒悬浮液经10 000 r·min⁻¹高速离心30 min后,取其上清液,再过0.45 μm滤膜,室温放置,采用火焰原子吸收法测定滤液中Cu²⁺的浓度^[8]。

1.3.2 生理生化指标 各处理在胁迫的第30天取柳树幼苗的第3~5叶位成熟叶片,立即带回实验室进行叶绿素、抗氧化系统酶等生理指标的测定。叶绿素含量测定采用丙酮乙醇提取法^[9];超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用氯化硝基四氮唑蓝(NBT)光化学还原法^[9];过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚氧化法^[9];过氧化氢酶(CAT)活性测定采用紫外吸收法^[9];试验均3次重复。

1.3.3 光合指标 处理30 d时测定柳树的光合速率等相关指标。采用美国Li-Cor公司生产的LI-6400便携式光合系统分析仪于09:00—12:00测定幼苗叶片的净光合速率(Pn)、气孔导度(Gs)、细胞间隙CO₂浓度(Ci)、蒸腾速率(Tr),每株幼苗测定3片功能叶,每个处理测定3株柳树。测定参数:叶室温度控制在20~25℃,光强为1 000 μmol·m⁻²·s⁻¹,CO₂浓度为400 μmol·mol⁻¹,流速为500 μmol·s⁻¹。

1.3.4 叶绿素荧光参数 叶绿素荧光参数测定采用PAM 2500调制式荧光仪(Heinz Walz, Effeltrich, Germany)测定叶片的PSII最大光化学效率(Fv/Fm)、PSII电子传递量子产率(Φ_{PSII})、调节性能耗散的量子产量(Y(NPQ))和光化学猝灭系数(qP)荧光参数,测量前功能成熟叶片暗适应30 min。

1.4 数据分析

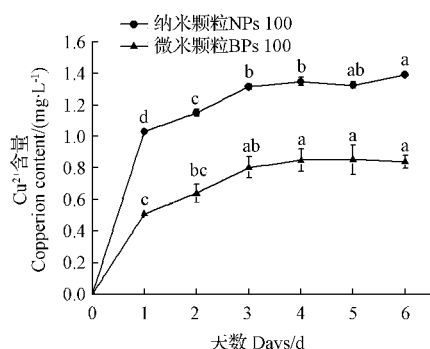
数据采用Excel 2010软件进行初步分析整理,用DPS软件对柳树各生理指标以及光合、荧光等指标作单因素ANOVA分析,并用LSD作多重比较分析(P<0.05),采用Origin 7.5软件制图。

2 结果与分析

2.1 CuO微米颗粒和纳米颗粒悬浮液中Cu²⁺浓度的测定

由图1可以看出,100 mg·L⁻¹ CuO微米颗粒和纳米颗粒溶解释放出的Cu²⁺浓度随着天数的增加而上升,但从第3天开始溶解出的Cu²⁺浓度基本稳

定, CuO 微米颗粒溶解释放出的 Cu^{2+} 浓度约 $0.85 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, CuO 纳米颗粒溶解释放出的 Cu^{2+} 浓度达到 $1.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。



注:数据为平均数±标准误差,不同字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。下同。

Note: Data are mean ± standard error, different letters indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$). The same below.

图1 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 微米颗粒和 CuO 纳米颗粒释放出 Cu^{2+} 的时间动力学

Fig. 1 Time-dependent kinetics of Cu^{2+} release from $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO microparticles and CuO nanoparticles

表1 不同处理柳树叶片光合色素含量的比较

Table 1		Comparison of photosynthetic pigment contents in leaves of different treatments			$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
处理	Treatment	叶绿素含量 Chlorophyll content			类胡萝卜素含量
		叶绿素 a Chl a	叶绿素 b Chl b	总叶绿素 Chl(a+b)	Carotenoid content
对照(CK)		$1.09 \pm 0.02\text{c}$	$0.38 \pm 0.00\text{c}$	$1.46 \pm 0.02\text{c}$	$0.23 \pm 0.00\text{b}$
Cu^{2+}		$1.10 \pm 0.04\text{c}$	$0.38 \pm 0.01\text{c}$	$1.47 \pm 0.06\text{c}$	$0.24 \pm 0.01\text{b}$
BPs 100		$1.38 \pm 0.10\text{b}$	$0.47 \pm 0.03\text{b}$	$1.86 \pm 0.13\text{b}$	$0.30 \pm 0.02\text{a}$
NPs 10		$1.27 \pm 0.13\text{bc}$	$0.43 \pm 0.04\text{bc}$	$1.70 \pm 0.17\text{bc}$	$0.27 \pm 0.03\text{ab}$
NPs 50		$1.10 \pm 0.08\text{c}$	$0.40 \pm 0.03\text{bc}$	$1.50 \pm 0.11\text{c}$	$0.18 \pm 0.01\text{c}$
NPs 100		$1.73 \pm 0.06\text{a}$	$0.59 \pm 0.02\text{a}$	$2.32 \pm 0.08\text{a}$	$0.28 \pm 0.00\text{ab}$

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level. The same below.

同处理之间,气孔导度(Gs)呈显著性差异, Cu^{2+} 处理下, Gs 没有明显变化,而与对照相比, $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 微米颗粒导致 Gs 值显著升高,比对照增加 29.6%, $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 纳米颗粒导致 Gs 值比对照减少 30.1%。不同浓度(10、50、 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) CuO 纳米颗粒处理下的柳树叶片的净光合速率(Pn)、气孔导度(Gs)、胞间 CO_2 浓度(Ci)值与浓度值呈负相关。

2.4 对柳树叶片叶绿素荧光参数的影响

由图3可知,不同处理下的柳树叶片的 PSII 最大量子产量(Fv/Fm)与对照相比无显著性差异($P > 0.05$);而 PSII 的实际量子产量(Φ_{PSII})有显著性差异($P < 0.05$)。 Cu^{2+} 处理下 Φ_{PSII} 与对照相比没有明显

2.2 对柳树叶片光合色素含量的影响

由表1可知,柳树叶片光合色素含量和处理呈显著相关($P < 0.05$)。与对照相比,不同浓度的 CuO 纳米颗粒、微米颗粒以及 Cu^{2+} 胁迫下柳树叶绿素 a、b 及总叶绿素的含量均有不同程度增加。其中, $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 纳米颗粒处理下含量增加最多,叶绿素 a、b 及总叶绿素分别增加了 58.7%、55.3%、58.9%;微米颗粒次之,分别增加了 26.6%、23.7%、27.4%; Cu^{2+} 处理下与对照相比没有显著性差异。类胡萝卜素含量与对照相比也有不同程度增加,但 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 微米颗粒处理下类胡萝卜素含量增加最多,增加了 30.4%; $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 纳米颗粒处理下增加了 21.7%, Cu^{2+} 处理下增加了 4.3%。

2.3 对柳树叶片光合参数的影响

由图2可知,不同 CuO 颗粒及 Cu^{2+} 处理下,柳树叶片的净光合速率(Pn)、胞间 CO_2 浓度(Ci)及蒸腾速率(Tr)值与对照相比均呈下降趋势。在 Cu^{2+} 处理下, Pn、Ci 及 Tr 的值分别减少 14.3%、14.1%和 37.4%; $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 微米颗粒处理下,分别减少 9.9%、17.2%和 45.8%; $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 纳米颗粒处理下分别减少 41.2%、34.5%和 51.6%。不

变化; $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 微米颗粒和纳米颗粒处理下 Φ_{PSII} 值明显降低,分别减少 21.1%和 23.4%。纳米颗粒处理下 Φ_{PSII} 值随浓度的升高而降低。PSII 处于调节性能耗散的量子产量(Y(NPQ))与 Φ_{PSII} 结果呈负相关, Cu^{2+} 处理下与对照相比没有显著性差异; $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 纳米颗粒和微米颗粒处理下显著增加,分别增加了 26.6%和 29.9%。光化学淬灭系数 qP 与 Φ_{PSII} 结果呈负相关, Cu^{2+} 处理下与对照相比均无显著性差异, CuO 纳米颗粒与微米颗粒处理下明显降低,且 CuO 纳米颗粒处理下 qP 值与 CuO 纳米颗粒的浓度呈负相关。

2.5 对柳树叶片抗氧化酶的影响

由图4可知,柳树叶片的超氧化物歧化酶(SOD)、

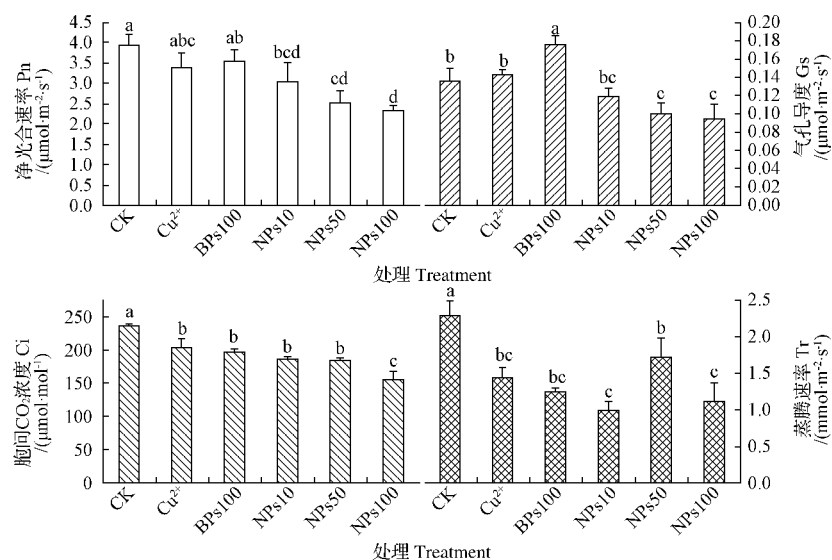


图2 不同处理对柳树叶片光合参数的影响

Fig. 2 Effects of different treatments on photosynthesis parameters of willow leaves

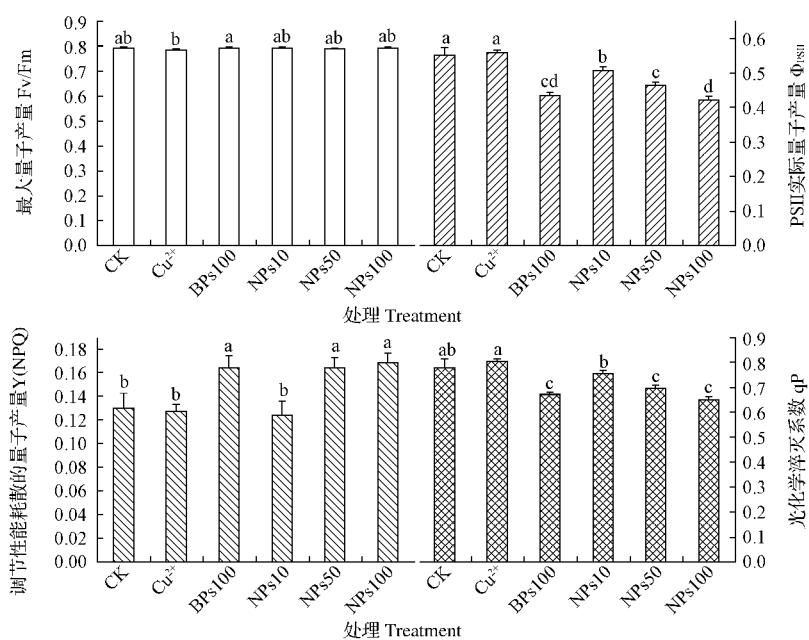


图3 不同处理对柳树叶片叶绿素荧光参数的影响

Fig. 3 Effects of different treatments on chlorophyll fluorescence parameters of willow leaves

过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性在不同处理下有显著性差异($P < 0.05$)。在 Cu^{2+} 、 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 微米颗粒以及纳米颗粒处理下柳树叶片的 SOD 活性明显增加,分别增加了 27.7%、28.3%和 11.2%。在 Cu^{2+} 处理下柳树叶片的 CAT 活性和 POD 活性均显著增加,分别增加了 32.2%和 24.1%; $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 微米颗粒和纳米颗粒处理下 CAT 活性和 POD 活性与对照相比呈下降趋势,

$100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 微米颗粒处理下 CAT 活性和 POD 活性分别减少 42.6%和 23.0%; $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 纳米颗粒处理下分别减少 1.84%和 28.0%。CuO 纳米颗粒不同浓度处理下 POD 活性和 CAT 活性呈现显著性差异,在 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 纳米颗粒处理下柳树叶片的 POD 活性和 CAT 活性均最高, $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 次之, $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 最低。

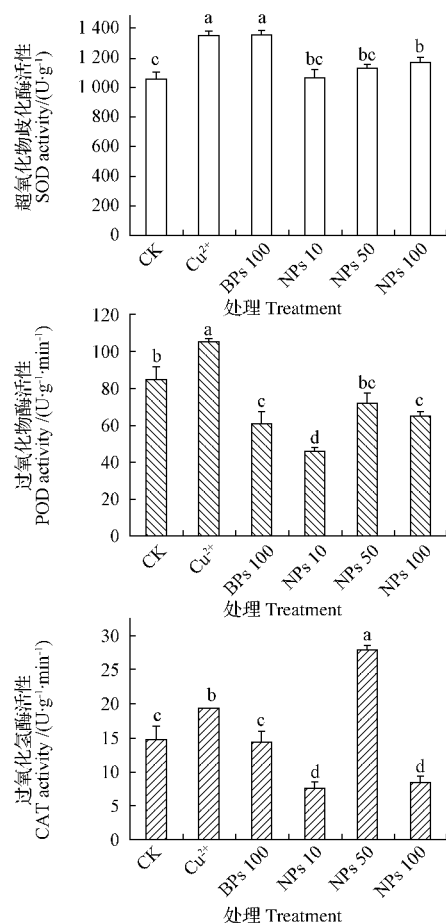


图4 不同处理对柳树叶片抗氧化酶的影响

Fig. 4 Effects of different treatments on antioxidant enzymes of willow leaves

3 讨论

3.1 不同处理对柳树叶片光合色素含量的影响

植物在受到胁迫时会导致光合色素含量发生变化,从而改变其光合能力^[10]。该研究中,在 Cu^{2+} 、CuO 微米颗粒和纳米颗粒处理对柳树叶片光合色素的合成均具有促进作用。其原因可能是 CuO 微米颗粒和纳米颗粒在水溶液中能够溶解出少量的 Cu^{2+} ,这些 Cu^{2+} 被柳树幼苗吸收入体内,而 Cu 为植物叶绿体中质体蓝素的组成成分,参与光合电子传递过程,而且 Cu 是叶绿素形成过程中某些酶的活化剂^[11],因此适量的 Cu 可以满足质体蓝素所需,激发酶活性,促进植物的光合作用。叶绿素是植物进行光合作用必要物质,叶绿素含量增加,能够促进植物的光合作用,促进植物生长。大多数的金属纳米颗粒在水中都有一定的溶解性,能够释放金属离子,金属纳米颗粒可以释放毒性物质如重金属离子。从而对植物产生毒害。STAMPOULIS 等^[12]研究纳米

Ag 对西葫芦幼苗期的毒性时发现,纳米 Ag 释放出来的离子会对植物的生长起到很大的毒害作用。CHEN 等^[13]发现 CuO 和 ZnO 纳米颗粒能够释放相应的金属离子,引起氧化胁迫,进而抑制小麦生长。由于 CuO 纳米颗粒在营养液中释放的 Cu^{2+} 浓度较低($1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),并且铜又是植物生长所需的微量元素,所以毒性效应不明显。

3.2 不同处理对柳树叶片光合特性的影响

净光合速率(P_n)反映了植物在光合作用过程中,固定 CO_2 和产生光合产物的量^[14]。该试验中,不同处理下柳树叶片的 P_n 值均有不同程度的降低,即柳树叶片的净光合速率受到抑制。 P_n 降低主要原因为气孔限制和非气孔限制,胞间 CO_2 浓度(C_i)值的大小是评判气孔限制和非气孔限制的依据,当 P_n 下降时,如果 C_i 和 G_s 同时下降,说明光合作用能力下降的限制因子是气孔限制,相反,当 P_n 下降的同时 C_i 上升,说明光合作用能力下降的限制因子是非气孔限制^[15]。气孔运动对叶片缺水非常敏感,轻度水分亏缺就会引起气孔导度(G_s)下降,导致进入叶内的 CO_2 减少,进而影响植物光合作用^[11]。DIMKPA 等^[3]发现纳米颗粒能够吸附在植物细胞表面,进而产生遮蔽效应,抑制植物的光合作用;此外,纳米颗粒还能够附着在细胞膜表面,堵塞离子通道,干扰营养物质的运输和离子交换。该试验中,不同浓度 CuO 纳米颗粒处理下柳树叶片的净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、胞间 CO_2 浓度(C_i)以及蒸腾速率(T_r)均下降,原因可能是 CuO 纳米颗粒通过吸附或静电作用附着于根表表面并聚集在一起,产生遮蔽效应,浓度越大,根表附着的 CuO 纳米颗粒越多,进入植物体内的水分越少,柳树叶片水势降低、气孔保卫细胞失水,导致柳树叶片的 G_s 下降,进而使柳树叶片 P_n 值降低; Cu^{2+} 和 CuO 微米颗粒处理下,胞间 CO_2 浓度(C_i)减少,说明柳树光合作用能力下降的原因是气孔限制。

3.3 不同处理对柳树叶片荧光参数的影响

叶绿素荧光变化反映了植物光合机构的运转状况,荧光参数值 PSII 最大光化学量子产量(F_v/F_m)代表 PSII 原初光能转化效率,它反映了植物的潜在最大光合能力。 F_v/F_m 在非胁迫条件下变化极小,不受物种和生长条件的影响,胁迫条件下该参数明显下降^[16]。但在该试验中, Cu^{2+} 、CuO 微米颗粒和 CuO 纳米颗粒处理下, F_v/F_m 没有明显变化。

PSII 实际光化学量子产量(Φ_{PSII})反映 PSII 反应中心在有部分关闭情况下的实际原初光能捕获效

率^[16]。该试验中,在 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ 处理对柳树叶片 PSII 反应中心光化学反应效率影响不大,CuO 微米颗粒和 CuO 纳米颗粒显著降低了 PSII 反应中心进行光化学反应的效率。

光化学猝灭系数 qP 值的大小反映 PSII 原初电子受体的氧化还原状态和 PSII 开放中心的数目, qP 值越大,说明 PSII 的电子传递活性越高^[16], qP 的下降表明 PSII 反应中心的开放比例和参与 CO_2 固定的能量减少^[17]。该试验中 Cu^{2+} 提高了柳树叶片的光合电子传递能力,CuO 微米颗粒和 CuO 纳米颗粒降低了叶片光合电子传递能力。 qP 值下降表明 CuO 微米颗粒和 CuO 纳米颗粒处理下叶片光合机构可能遭到破坏,PSII 光合作用活力受到抑制,光合电子传递受阻,PSII 反应中心可能部分关闭^[18]。

由此说明,CuO 微米颗粒和 CuO 纳米颗粒遮蔽作用,使得柳树叶片光化学效率降低,同时产生光抑制使热耗散增加^[19]。

3.4 不同处理对柳树叶片抗氧化系统酶的影响

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等抗氧化酶类,是植物活性氧清除系统中重要的酶,能维持活性氧自由基产生与清除系统的平衡^[20]。SOD、POD 和 CAT 等保护酶系统可以有效地清除植物体内活性氧(ROS),保持体内活性氧的平衡,降低膜脂过氧化,减轻对膜系统的伤害^[21]。纳米颗粒能够通过诱导细胞产生活性氧,使细胞遭受氧化胁迫,导致膜脂过氧化、线粒体损伤、蛋白质变质、DNA 损伤等。该试验中, Cu^{2+} 处理下,柳树叶片的 SOD、POD、CAT 活性均上升,起到保护光合作用机构免受或减轻 Cu^{2+} 伤害的作用;而 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 微米颗粒和 CuO 纳米颗粒处理下,柳树叶片的 POD、CAT 活性均降低,SOD 活性升高,表明 SOD 活性最为敏感,是柳树幼苗适应不同粒径 CuO 颗粒胁迫的主要抗氧化酶。

4 结论

该试验结果表明,同等离子浓度($1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$)处理下, $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO 纳米颗粒对柳树幼苗叶片光合速率、PSII 实际光化学量子产量等毒性大于 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$,说明 CuO 纳米颗粒的毒性不仅有离子毒性,还有纳米颗粒本身的毒性,但 CuO 纳米颗粒(40 nm)是否进入柳树幼苗体内产生毒害作用还需要进一步研究。同等颗粒浓度($100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)不同粒径颗粒(CuO 微米颗粒和 CuO

纳米颗粒)处理下,对柳树幼苗的毒性影响关系复杂,还需要进一步研究。

参考文献

- [1] ATHA D H, WANG H, PETERSEN E J, et al. Copper oxide nanoparticle mediated DNA damage in terrestrial plant models[J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46(3): 1819-1827.
- [2] COLMAN B P, ESPINASSE B, RICHARDSON C J, et al. Emerging contaminant or an old toxin in disguise? Silver nanoparticle impacts on ecosystems[J]. Environmental Science & Technology, 2014, 48(9): 5229-5236.
- [3] DIMKPA C O, MCLEAN J E, LATTA D E, et al. CuO and ZnO nanoparticles: Phytotoxicity, metal speciation, and induction of oxidative stress in sand-grown wheat[J]. Journal of Nanoparticle Research, 2012, 14(9): 1-15.
- [4] WANG J, KOO Y, ALEXANDER A, et al. Phytostimulation of poplars and arabidopsis exposed to silver nanoparticles and Ag^+ at sub-lethal concentrations[J]. Environmental Science & Technology, 2013, 47(10): 5442-5449.
- [5] SEEGER E M, BAUN A, KASTNER M, et al. Insignificant acute toxicity of TiO_2 nanoparticles to willow trees[J]. Journal of Soils and Sediments, 2009, 9(1): 46-53.
- [6] ZHAI G, WALTERS K S, PEATE D W, et al. Transport of gold nanoparticles through plasmodesmata and precipitation of gold ions in woody poplar[J]. Environmental Science & Technology Letters, 2014, 1(2): 146-151.
- [7] TRAPP S. Can global biomass influence global chemical cycles? [J]. Stochastic Environmental Research & Risk Assessment, 2003, 17(4): 235-237.
- [8] 封文强. CuO 纳米颗粒对玉米的毒性效应及其在玉米体内的吸收和转运[D]. 杭州: 中国海洋大学, 2011.
- [9] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [10] CAMBROLLE J, MANCILLALEYTON J M, MUNOZVALLES S, et al. Effects of copper sulfate on growth and physiological responses of *Limoniastrum monopetalum* [J]. Environmental Science & Pollution Research, 2013, 20(12): 8839-8847.
- [11] 李合生. 现代植物生理学[M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [12] STAMPOULIS D, SINHA S K, WHITE J C. Assay-dependent phytotoxicity of nanoparticles to plants[J]. Environmental Science & Technology, 2009, 43(24): 9473-9479.
- [13] CHEN G, MA C, MUKHERJEE A, et al. Tannic acid alleviates bulk and nanoparticle Nd_2O_3 toxicity in pumpkin: A physiological and molecular response[J]. Nanotoxicology, 2016, 10(9): 1-34.
- [14] 赵长星, 马东辉, 王月福, 等. 施氮量和花后土壤含水量对小麦旗叶衰老及粒重的影响[J]. 应用生态学报, 2008, 19(11): 2388-2393.
- [15] MEDIAVILLA S, SANTIAGO H, ESCUDERO A. Stomatal and mesophyll limitations to photosynthesis in one evergreen and one deciduous mediterranean oak species[J]. Photosynthetica, 2002, 40(4): 553-559.
- [16] 张守仁. 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论[J]. 植物学报, 1999, 16(4): 444-448.

- [17] 曹玲,王庆成,崔东海. 土壤镉污染对四种阔叶树苗木叶绿素荧光特性和生长的影响[J]. 应用生态学报,2006,17(5):769-772.
- [18] 付春霞,张元珍,王衍安,等. 缺锌胁迫对苹果叶片光合速率及叶绿素荧光特性的影响[J]. 中国农业科学,2013,46(18):3826-3833.
- [19] 吴雪霞,杨晓春,朱宗文,等. 外源 6-BA 对低温胁迫下茄子幼苗光合作用、叶绿素荧光参数及光能分配的影响[J]. 植物生理学报,

2013(11):1181-1188.

- [20] 裴斌,张光灿,张淑勇,等. 土壤干旱胁迫对沙棘叶片光合作用和抗氧化酶活性的影响[J]. 生态学报,2013,33(5):1386-1396.
- [21] 毕毓芳,王安可,翟志忠,等. CCCSNs 施入对毛竹叶片光合及生理特性的影响[J]. 安徽农业大学学报,2015,42(5):743-748.

Influence of CuO Nanoparticles on Photosynthesis, Chlorophyll Fluorescence Characteristics and Antioxidant Enzyme Activities of Willow

ZHANG Ying^{1,2}, CHEN Guangcai², LIU Hong¹, YANG Quanquan², SUN Hui²

(1. College of Resources and Environmental Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002; 2. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Hangzhou, Zhejiang 311400)

Abstract: *Salix integrar* ‘Yizhibi’ was used as material, Cu^{2+} and CuO microparticles ($100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) were used as control. The effects of different concentrations of copper oxide nanoparticles on photosynthesis, chlorophyll fluorescence parameters and antioxidant enzyme system of *Salix integrar* ‘Yizhibi’ were studied in order to provide a theoretical basis for revealing the mechanism of CuO nanoparticles on plant toxicity. The results showed that chlorophyll content of willow leaves increased significantly by 58.9% and 27.4%, respectively, under $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO nanoparticles and bulk particles, while Cu^{2+} were not significantly affected. The net photosynthetic rate (Pn), intercellular CO_2 concentration (Ci) and transpiration rate (Tr) of the leaves under $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO bulk particles were decreased by 41.2%, 34.5%, 51.6%, respectively. And treated with $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO microparticles these were decreased by 9.9%, 17.2% and 45.8%, respectively. While these were decreased by 14.3%, 14.1% and 37.4%, respectively, under the Cu^{2+} treatment. The Φ_{PSII} under the treatments of Cu^{2+} did not change significantly compared with the control. The Φ_{PSII} treated with $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO microparticles and nanoparticles was significantly decreased by 21.1% and 23.4%. With the treatment of Cu^{2+} , $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO nanoparticles and microparticles, the SOD activity of willow leaves increased by 27.7%, 28.3% and 11.20%, respectively. The CAT and POD activity increased significantly by 32.2% and 24.1%, respectively, under Cu^{2+} treatment. CAT and POD activity of $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO microparticles and nanoparticles showed a decreasing trend. CAT and POD activity decreased by 42.6% and 23.0% under treatment of $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO microparticles and 1.84% and 28.0% under treatment of $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO nanoparticles, respectively. The results showed that the toxicity of $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CuO nanoparticles to the photosynthetic rate and the photochemical yield of PSII of willow leaves were higher than $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cu^{2+} ; the effects of CuO microparticles and CuO nanoparticles different particle size on the photosynthesis and chlorophyll fluorescence of willow leaves were complex and needed further study.

Keywords: willow (*Salix integrar*); CuO nanoparticles; photosynthesis; chlorophyll fluorescence; antioxidant enzyme