

重金属铜胁迫对油菜幼苗生长和铜累积的影响

王立凯¹, 朱震昊¹, 温馨^{1,2*}, 刘孜琪¹, 周诗怡¹, 王乐钦¹

(1. 湖北工程学院 生命科学技术学院, 湖北 孝感 432000;

2. 湖北工程学院 特色果蔬质量安全控制湖北省重点实验室, 湖北 孝感 432000)

摘要:为筛选铜高、低积累油菜品种,研究不同浓度铜(Cu^{2+})胁迫对油菜幼苗生长和铜累积的影响,通过水培试验培育 22 个油菜品种至 30 d 的幼苗,进行浓度为 20 mg/L、40 mg/L 和 60 mg/L 的铜胁迫,胁迫 7 d 后测定油菜幼苗单株生物量、铜含量和铜累积量。结果表明:生物量方面,中双 10 号、中油杂 7819 和 20EA08 对铜胁迫较为敏感,其生物量显著降低,而阳光 50、华油杂 9 号、20EA02、20EA03 和 20EA12 耐受铜胁迫的能力较强;铜含量方面,希望 699 号、双油 10 号、20EA11 和 20EA12 等品种地上部铜含量较高;铜累积量方面,双油 10 号和 20EA10 地上部铜累积量较高,尤其是在 60 mg/L 铜处理中,二者在所有品种中最高。综上,以地上部数据作为筛选指标,得到铜胁迫下地上部生物量较大且铜累积较高的品种双油 10 号和 20EA10,得到地上部生物量受铜胁迫影响较大但铜累积较低的品种 20EA09 和 沱油 737。

关键词:油菜;铜胁迫;生物量;铜含量;铜累积量

中图分类号:X53 **文献标志码:**A **文章编号:**2095-4824(2021)06-0031-06

铜是高等植物必需的 17 种营养元素之一,是植物体内多种氧化酶的组成成分,在氧化还原反应、叶绿素合成中有重要作用,但铜在土壤中容易积累,当铜含量超过一定阈值时会对植物造成毒害作用,干扰细胞代谢,造成植物内部紊乱,引起部分酶失活等。

我国土壤含铜量较为丰富,农业生产实践中铜缺乏现象已比较少见,但随着现代工农业的快速发展,城市工业、采矿业、居民生活导致的“三废”排放和农业生产中含铜化肥和农药的大量使用,使得土壤铜污染状况日趋严重,抑制植物、动物正常生长发育,扰乱土壤微生物平衡与健康,引起生态系统失调,带来一系列生态风险^[1]。

面对严峻的农田土壤铜污染问题,物理修复、化学修复、生物修复等铜污染修复技术引起学者们的广泛关注,其中植物修复因其成本较低、适应性广、无二次污染的优点,在土壤治理方面具有良

好的应用前景^[2]。土壤重金属污染植物修复的基本原理是通过植物吸收作用将重金属从土壤中携出,不同植物对重金属的累积量不同,相同植物不同品种之间因存在基因型差异,对重金属的累积量也有显著的差异。超积累品种有生长速度更快、重金属累积量更大、对重金属的耐受性更强等特点,适宜种在重金属污染较为严重的地区,而低积累品种在重金属中轻度污染的土壤上种植是一个切实可行的措施。因此,进行铜高、低积累作物品种的筛选,对农田土壤铜污染的修复和治理有着重要作用。

油菜是我国重要的油料作物,菜油除供人们食用外还是重要的工业用油,其加工副产品也用于各行业生产中,在农业经济发展中具有重要的地位。油菜在我国有着悠久的栽培历史和种植经验,其产区主要分布在长江中下游平原地区,农田土壤存在不同程度的铜污染状况,以鄱阳湖为例,

收稿日期:2021-08-05

基金项目:湖北工程学院大学生创新创业训练计划项目(202010528019);孝感市自然科学研究项目(XGKJ2021020100)

作者简介:王立凯(1998-),男,内蒙古通辽人,湖北工程学院生命科学技术学院学生。

温馨(1988-),女,四川达县人,湖北工程学院生命科学技术学院讲师,博士,本文通信作者。

多年的铜矿开发、工业废水超标排放,导致鄱阳湖及附近多处油菜种植区铜污染情况严重^[3]。因此,研究铜污染对油菜生长的影响,筛选出铜积累水平差异显著的油菜品种,对于修复农田土壤铜污染以及保证油菜产量品质具有重要意义。本研究通过水培试验模拟铜污染环境,研究 22 个油菜品种对铜的吸收和累积效果,为铜污染土壤超积累植物的筛选提供参考,评价油菜品种对铜污染土壤的修复潜能。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试油菜的品种名称、试验编号如表 1 所示,其中 A 到 L 来源为市场采购,A01 到 A12 来源为孝感市农科院自留繁育。

表 1 供试油菜品种名称和试验编号

编号	品种名称	编号	品种名称
A	文油 99	A01	20EA01
B	中双 10 号	A02	20EA02
C	中双 11 号	A03	20EA03
E	阳光 50	A04	20EA04
F	阳光 2009	A06	20EA06
G	希望 699 号	A07	20EA07
H	双油 10 号	A08	20EA08
I	沔油 737	A09	20EA09
J	华油杂 9 号	A10	20EA10
K	中油杂 7819	A11	20EA11
L	中油杂 12	A12	20EA12

1.2 试验设计

每个品种分别挑选健康饱满的种子,用 0.5% NaClO 溶液消毒 20 min,去离子水反复清洗干净、浸种催芽 24 h 后,置于铺有单层纱布的培养皿中,在光照 16 h、黑暗 8 h,温度为 25 ℃,相对湿度为 65% 的条件下催芽。待子叶完全展开后,挑选长势良好大小一致的幼苗,移栽于盛有 10 L 含营养液的避光聚乙烯盒中,先用 1/4 营养液培养 5 d,再用 1/2 营养液培养 5 d,然后转入全量营养液培养 10 d,之后进行不同浓度铜处理。营养液组成为改良霍格兰营养液(大量元素)和无铜的阿农营养液(微量元素),营养液配方如表 2 和表 3 所示。

试验设 4 个处理,即铜浓度设置为:0、20、40、60 mg/L。每品种每处理 5 颗幼苗为重复。不同铜浓度以 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 配置。试验所用全部试剂采用分析纯,全部用水为去离子水。

表 2 霍格兰营养液配方

组分	浓度	
	g/L	mmol/L
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.945	4
KNO_3	0.607	6
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	0.115	1
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.493	2

表 3 阿农微量元素营养液配方

组分	浓度	
	g/L	mmol/L
H_3BO_3	2.86	46.2
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.81	9.1
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.02	0.02
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.22	0.8
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.08	0.3

1.3 样品采集与测定

生物量:2021 年 4 月 10 日,22 个油菜品种的幼苗生长茁壮,开始进行铜胁迫,胁迫 7 d 后,油菜幼苗出现典型的铜中毒症状,采集样品,去离子水洗净后,测定油菜幼苗单株鲜重(地上部、根部),随后放入烘箱,105 ℃杀青 30 min,70 ℃烘干至恒重。

植物组织铜含量:准确称取植物干样 0.3000 g 于三角瓶中,加入 10 mL 混酸(硝酸+高氯酸 $v:v=4:1$),酸解放置过夜后,用电热板消解,直至冒白烟,消化液呈无色透明或略带黄色,将消化液少量多次洗入 50 mL 容量瓶中,定容至刻度,过滤,滤液上原子吸收光谱仪测定,同时做样品空白和标准曲线。

采用 Excel 2007 对数据进行统计分析。利用 SPSS 20.0 软件进行 22 个油菜品种同一铜处理下各指标的方差分析(Duncan 法),用 K-均值聚类法进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 不同浓度铜胁迫对油菜幼苗生物量的影响

如图 1 所示,不同浓度铜胁迫对 22 个油菜品种幼苗生长情况的影响趋势一致,即 20 mg/L 处理开始,油菜出现明显的铜中毒症状,并随着铜胁迫浓度的增加而严重,中毒症状主要为:植株矮小,叶片黄化枯萎,叶脉颜色加深,根系生长受阻。

从表 4 可以看出,22 个油菜品种幼苗的单株地上部生物量在 4 个铜浓度下有显著差异:其中品种 B、C、H、K、A08、A09 和 A10 聚为一类,特点

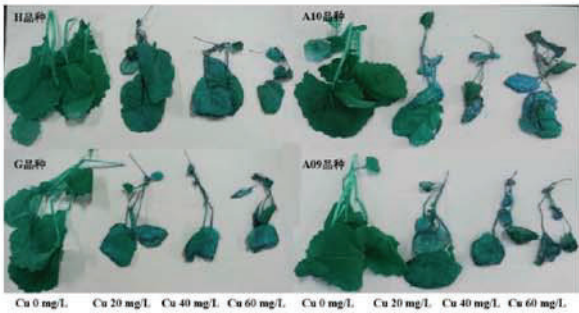


图1 油菜品种 H、A09、G 和 A10 的生长情况

表4 不同浓度铜胁迫下油菜幼苗的单株鲜重(地上部)

品种	单株鲜重(g)				聚类分析
	0	20 mg/L	40 mg/L	60 mg/L	
A	2.08±0.09 abcd	0.71±0.01 cde	0.66±0.01 abcd	0.76±0.03 abcde	1
B	3.18±1.25 ab	0.75±0.35 cde	0.66±0.18 abcd	0.49±0.08 cde	2
C	2.91±0.96 abc	0.90±0.34 bed	0.92±0.15 abc	0.54±0.29 bede	2
E	2.55±0.60 abcd	1.06±0.24 bed	0.71±0.18 abcd	0.55±0.31 bede	3
F	1.89±0.84 abcd	1.08±0.22 bc	0.77±0.36 abcd	0.51±0.19 cde	1
G	1.85±0.77 abcd	0.64±0.17 cde	0.56±0.15 bed	0.47±0.17 cde	1
H	3.15±0.68 ab	0.76±0.41 cde	0.71±0.23 abcd	0.82±0.56 abc	2
I	2.12±0.76 abcd	0.79±0.21 cde	0.62±0.19 abcd	0.36±0.10 e	1
J	1.99±0.96 abcd	1.67±0.39 a	0.97±0.68 ab	0.96±0.38 ab	3
K	3.20±1.39 ab	0.89±0.40 bed	0.65±0.36 abcd	0.39±0.16 cde	2
L	2.06±0.10 abcd	0.84±0.01 bed	0.57±0.02 bed	0.66±0.02 abcde	1
A01	1.99±1.18 abcd	0.65±0.27 cde	0.64±0.25 abcd	0.39±0.19 cde	1
A02	2.41±0.10 abcd	0.69±0.02 cde	0.82±0.02 abc	0.81±0.02 abcd	3
A03	2.12±0.09 abcd	0.81±0.02 abcd	0.94±0.02 ab	0.55±0.02 bede	3
A04	1.91±0.07 abcd	0.79±0.02 cde	0.96±0.02 ab	1.03±0.04 a	3
A06	1.67±0.06 bed	0.85±0.02 bed	0.52±0.02 bed	0.73±0.01 abcde	1
A07	1.51±0.05 cd	0.56±0.02 de	0.34±0.01 cd	0.52±0.01 cde	1
A08	3.23±1.32 a	0.89±0.20 bed	0.46±0.19 d	0.34±0.19 e	2
A09	3.25±0.89 a	0.88±0.48 bed	1.07±0.25 a	0.37±0.25 de	2
A10	3.32±1.29 a	1.31±0.22 ab	0.68±0.34 abcd	0.69±0.34 abcde	2
A11	2.23±0.93 abcd	0.70±0.20 cde	0.49±0.08 bed	0.33±0.12 e	1
A12	2.42±1.35 abcd	1.10±0.30 bc	0.93±0.42 abc	0.77±0.43 abcde	3

注:数据为5次重复平均值(±标准误),同一列中不同小写字母表示不同品种在同一铜浓度下的显著差异水平($p<0.05$),下同。

由表5可知,22个品种油菜幼苗的单株根部生物量在4个铜浓度下有显著差异:其中品种B、K、A08聚为一类,特点为对照的生物量最高,但在铜胁迫处理下生物量显著降低;品种C、E、H、J、L、A01、A02、A03、A09、A10、A12聚为一类,特点为对照的生物量低、在铜胁迫处理下高于分类3;品种A、F、G、I、A04、A06、A07、A11聚为一类,在4个铜处理中生物量均较低。

由此可知,品种B、K、A08是对铜胁迫较为敏感的品种,铜胁迫后,其生物量显著降低;品种E、J、A02、A03、A12耐受铜胁迫的能力较强。

是对照单株鲜重较高,随着铜浓度增加生物量明显降低;品种E、J、A02、A03、A12聚为一类,此类品种的单株鲜重在不施铜处理下虽然不是最高,但在所有铜胁迫处理中均有较高的生物量;品种A、F、G、I、L、A01、A06、A07、A11聚为一类,此类品种在不施铜处理下生物量较低,铜胁迫后生物量更低。

2.2 不同浓度铜胁迫对油菜幼苗铜含量的影响

不同油菜品种对铜的吸收存在差异,且地上部铜含量随着铜胁迫水平的升高而升高。由图2可知,20 mg/L铜胁迫下,地上部铜含量范围是0.83 ~ 3.49 mg/g,差值为2.66 mg/g;40 mg/L铜胁迫下,地上部铜含量范围是1.84 ~ 3.44 mg/g,差值为1.60 mg/g;60 mg/L铜胁迫下,地上部铜含量范围是1.67 ~ 4.45 mg/g,差值为2.78 mg/g。对22个不同油菜品种的地上部铜含量进行聚类分析,将供试品种聚为3类:品种G、H、A01、A11聚为一类,此类特点是在3个铜胁迫

表 5 不同浓度铜胁迫下油菜幼苗的单株鲜重(根部)

品种	单株鲜重(g)				聚类分析
	0	20 mg/L	40 mg/L	60 mg/L	
A	0.19±0.07 cde	0.05±0.02 bc	0.03±0.01 de	0.06±0.02 b	2
B	0.33±0.12 abc	0.05±0.02 bc	0.05±0.02 cde	0.04±0.01 b	3
C	0.30±0.11 abcde	0.05±0.02 bc	0.09±0.01 ab	0.09±0.02 ab	1
E	0.23±0.06 bcde	0.06±0.01 bc	0.06±0.01 bcde	0.06±0.31 a	1
F	0.14±0.06 cde	0.07±0.02 bc	0.07±0.02 bc	0.06±0.02 b	2
G	0.20±0.10 cde	0.05±0.01 bc	0.04±0.01 cde	0.04±0.01 b	2
H	0.32±0.08 abcde	0.06±0.03 bc	0.05±0.01 cde	0.07±0.05 b	1
I	0.15±0.06 cde	0.06±0.02 bc	0.07±0.02 bcde	0.05±0.19 ab	2
J	0.26±0.11 abcde	0.13±0.01 a	0.11±0.04 a	0.12±0.05 ab	1
K	0.44±0.28 a	0.06±0.03 bc	0.07±0.04 bc	0.07±0.02 b	3
L	0.23±0.09 bcde	0.05±0.02 bc	0.04±0.01 cde	0.05±0.01 b	1
A01	0.25±0.15 abcde	0.06±0.02 bc	0.06±0.02 bcde	0.04±0.03 b	1
A02	0.23±0.08 bcde	0.06±0.02 bc	0.06±0.02 bcde	0.06±0.02 b	1
A03	0.24±0.06 bcde	0.05±0.02 bc	0.07±0.02 bcd	0.05±0.02 b	1
A04	0.19±0.07 cde	0.05±0.01 bc	0.06±0.02 bcde	0.10±0.04 ab	2
A06	0.18±0.07 cde	0.06±0.02 bc	0.04±0.02 cde	0.06±0.01 b	2
A07	0.15±0.05 cde	0.04±0.01 c	0.03±0.01 e	0.04±0.02 b	2
A08	0.40±0.19 ab	0.06±0.02 bc	0.05±0.02 cde	0.05±0.01 b	3
A09	0.27±0.13 abcde	0.05±0.02 bc	0.09±0.02 ab	0.05±0.01 b	1
A10	0.32±0.13 abcd	0.11±0.02 a	0.06±0.02 bcde	0.10±0.06 ab	1
A11	0.22±0.09 bcde	0.04±0.01 c	0.03±0.01 de	0.04±0.01 b	2
A12	0.31±0.19 abcde	0.08±0.02 b	0.07±0.03 bc	0.06±0.01 b	1

处理中地上部铜含量均较高;品种 A、B、C、E、F、I、J、L、A02、A04、A06、A09 聚为一类,此类特点是 3 个铜胁迫处理中地上部铜含量均较低;品种 A03、A07、K、A08、A10、A12 聚为一类,此类特点是地上部铜含量在 20 mg/L 铜胁迫下较低、且随着铜水平的升高不断增加。

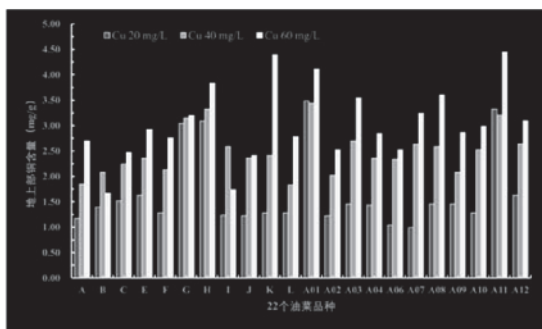


图 2 不同浓度铜胁迫下油菜幼苗的地上部铜含量

由图 3 可知,20 mg/L 铜胁迫下,根部铜含量范围是 6.60 ~ 21.51 mg/g,差值为 14.91 mg/g;40 mg/L 铜胁迫下,根根部铜含量范围是 10.03 ~ 64.52 mg/g,差值为 54.49 mg/g;60 mg/L 铜胁迫下,根部铜含量范围是 10.69 ~ 74.75 mg/g,差值为 64.06 mg/g。所有品种的油菜根部铜含

量聚为一类,除 L 外,其他品种油菜根部铜含量在 40 mg/L 铜处理中最高。同时,结合油菜地上部、根部铜含量可知,60 mg/L 铜胁迫加速了铜从植物根系向地上部的转移。

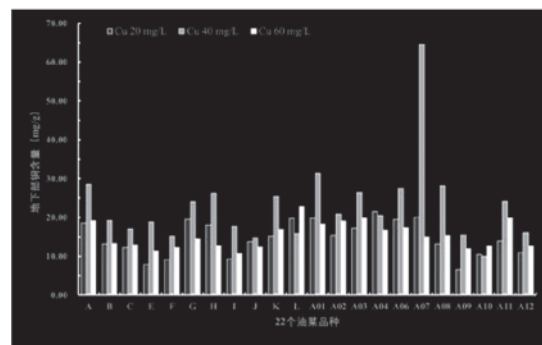


图 3 不同浓度铜胁迫下油菜幼苗的根部铜含量

2.3 不同浓度铜胁迫对油菜幼苗铜积累量的影响

22 个油菜品种地上部和根部铜积累量对不同浓度铜胁迫的响应趋势不同。由图 4 可知,随铜浓度的升高,品种 A、E、F、H、K、A04、A06、A07、A08、A10 和 A12 的地上部铜积累量也随之增加,在所有铜胁迫下,品种 H 和 A10 地上部铜积累量较高,尤其是在 60 mg/L 铜处理中,二者在所有品种中最高。

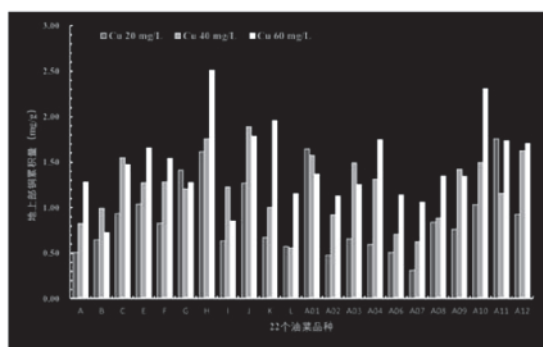


图4 不同浓度铜胁迫下油菜幼苗的地上部铜累积量

由图5可知,所有品种根部铜累积量聚为一类,即在铜胁迫下变化趋势相似,除品种L和A06,其余的20个品种根部的铜累积量在40 mg/L铜胁迫下最高。

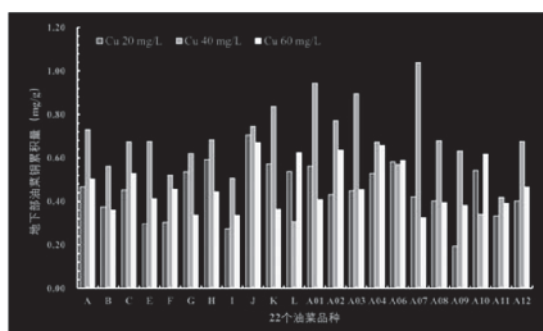


图5 不同浓度铜胁迫下油菜幼苗的根部铜累积量

由图6可知,对22个油菜品种的铜累积总量进行分析发现,品种H、J、A01、A10、A11和A12的铜累积总量高于其他品种。

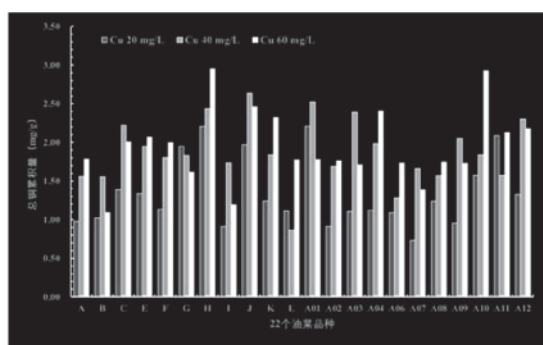


图6 不同浓度铜胁迫下油菜幼苗的总铜累积量

3 讨论

铜虽然是高等植物生长发育必需的微量元素之一,但植物对铜的忍耐力较差,铜过量很容易引起毒害作用,对一般植物来讲,体内含铜量超过20 mg/kg时就可能出现中毒症状,过量的铜会导致植物生物量减少、生长发育迟缓,甚至引起萎黄病和坏死^[4-6],本研究中,营养液铜浓度超过20

mg/L时,所有油菜品种都表现出中毒症状,且随着铜胁迫浓度的升高,大部分油菜品种表现出生物量降低、叶片黄化、叶脉颜色加深的毒害症状,这与前人研究结果一致。

不同基因型作物耐受重金属胁迫的能力不同;孙建云等^[7]发现铜耐性甘蓝品种除了限制铜向地上部运输还可以通过限制根吸收铜来缓解铜的毒害,造成不同基因型甘蓝对铜吸收和累积出现显著差异;张远兵等^[8]通过分析7个高羊茅品种的叶绿素和还原氯化三苯四氮唑(TTC)能力,得到不同铜浓度胁迫下不同高羊茅品种的耐性强弱不同;吴志超^[9]以地上部生物量和地上部镉含量为筛选指标,从49个不同基因型油菜中筛选得到镉高积累品种中双9号、镉低积累品种白花油菜。本研究中22个油菜品种对铜胁迫的耐受力、油菜幼苗铜累积量有显著差异,所有供试品种中双油10号、华油杂9号、20EA01、20EA10、20EA11、20EA12是铜积累量较高的品种,文油99、中双10号、中油杂12、泮油737、20EA02、20EA05、20EA06、20EA07、20EA08是对铜高敏感且积累较低品种,体现了同种作物不同品种间耐受铜胁迫的基因型差异。

4 结论

1)铜胁迫抑制油菜幼苗生长,造成叶片黄化萎蔫,显著降低地上部生物量。

2)22个油菜品种对铜胁迫的响应不同,其地上部生物量、铜含量、铜累积量因基因型的不同而存在显著差异。以地上部数据作为筛选指标,得到铜胁迫下地上部生物量较大且铜累积较高的品种H和A10,其名称分别是双油10号和20EA10;得到地上部生物量受铜胁迫影响较大但铜累积较低品种A09和I,其名称分别是20EA09和泮油737。

3)60 mg/L铜胁迫加速了铜从植物根系向地上部的转移。

[参 考 文 献]

- [1] 李焕江.不同铜源对畜禽作用及对环境的影响[J].吉林畜牧兽医,2008,2,9(7):11-13.
- [2] 金勇,付庆灵,郑进,等.超积累植物修复铜污染土壤的研究现状[J].中国农业科技导报,2012,14(4):93-100.
- [3] 黄淑娥,祝必琴,辜晓青,等.鄱阳湖区油菜种植气

- 候区划[C]//中国气象学会2008年年会气候资源应用研究分会论文集.中国气象学会,2008:197-202.
- [4] 公勤,康群,王玲,等.重金属铜对植物毒害机理的研究现状及展望[J].南方农业学报,2018,49(3):469-475.
- [5] 陆景陵.植物营养学:上[M].2版.北京:中国农业大学出版社,2003.
- [6] 刘欢,田晓璇,宋红.铜胁迫对玉蝉花幼苗生长及生理指标的影响[J].北方园艺,2021(10):71-79.
- [7] 孙建云,沈振国.铜胁迫下甘蓝幼苗生长和铜吸收的基因型差异[J].西北植物学报,2005(10):2003-2009.
- [8] 张远兵,刘爱荣,王兵,等.铜胁迫下7个高羊茅品种耐性和铜积累能力的比较[J].热带作物学报,2010,31(5):750-757.
- [9] 吴志超.高低镉积累油菜品种筛选及其生化机制研究[D].武汉:华中农业大学,2015.

Effects of Heavy Metal Copper Stress on Growth and Copper Accumulation of Rape Seedlings

Wang Likai¹, Zhu Zhenhao¹, Wen Xin^{1,2*}, Liu Ziqi¹, Zhou Shiyi¹, Wang Leqin¹

(1. School of Life Science and Technology, Hubei Engineering University, Xiaogan, Hubei 432000, China;

2. Hubei Key Laboratory of Quality Control of Characteristic Fruits and Vegetables, Hubei Engineering University, Xiaogan, Hubei 432000, China)

Abstract: To screen rape varieties with high and low copper (Cu^{2+}) accumulation and explore the effects of different concentrations of Cu stress on seedling growth and Cu accumulation of rape seedlings, 22 rape varieties were cultivated through hydroponic experiment for 30 days. After that, the seedlings were subjected to 3 concentrations of Cu stress (20 mg/L, 40 mg/L, 60 mg/L), after 7 days of Cu stress, the biomass, Cu content and Cu accumulation of rape seedlings were determined. The results show that in terms of biomass, Zhongshuang 10, Zhongyouza 7819 and 20EA08 were more sensitive to Cu stress with significant reduction of their biomass, Yangguang 50, Huayouza 9, 20EA02, 20EA03 and 20EA12 were more tolerant to Cu stress. In terms of Cu content, the aboveground Cu content of Xiwang 699, Shuangyou 10, 20EA11 and 20EA12 were higher. In terms of Cu accumulation, the aboveground Cu accumulation of Shuangyou 10 and 20EA10 were higher than those of all tested varieties, in particular in 60 mg/L Cu treatment, both of which were the highest among all varieties. In conclusion, using the aboveground data as the screening index, the Shuangyou 10 and 20EA10, which had higher aboveground biomass and higher Cu accumulation under Cu stress, were selected as the high Cu accumulation varieties, and the 20EA09 and Fengyou 737, which were greatly affected by Cu stress but had lower Cu accumulation, were selected as the low Cu accumulation varieties.

Key Words: rape; copper stress; biomass; copper content; copper accumulation

(责任编辑:邹礼平)