

# 球形红细菌减少小麦和油菜幼苗中铜积累的效应

郭凌, 张肇铭\*, 杨官娥 (1. 山西大学生命科学与技术学院, 山西太原 030006; 2. 山西医科大学药学院, 山西太原 030001)

**摘要** 采用水培试验, 研究了光合细菌球形红细菌(*Rhodobacter sphaeroides*) 菌悬液对铜胁迫下小麦(*Triticum aestivum*) 和油菜(*Brassica campestris*) 幼苗生长及富集铜的效应。结果表明: 过量  $\text{Cu}^{2+}$  对小麦、油菜幼苗的生长有抑制作用; 油菜幼苗比小麦幼苗更易积累环境中的  $\text{Cu}^{2+}$ ; 施用球形红细菌菌液后, 小麦、油菜生长受到  $\text{Cu}^{2+}$  的抑制都有不同程度的缓解; 其各部分铜的积累都有不同程度的降低, 而且 70 ng/L 菌悬液比 35 ng/L 菌悬液缓解作用更为明显。

**关键词** 球形红细菌; 铜; 小麦; 油菜; 生长; 铜积累

中图分类号 Q936 文献标识码 A 文章编号 0517 - 6611(2006) 23 - 6119 - 02

## Effects of *Rhodobacter sphaeroides* on the Decrease of the Copper Accumulation in Wheat and Cole Seeding

GUO Ling et al (School of Life Science and Technology, Shanxi University, Taiyuan, Shanxi 030006)

**Abstract** With water-culture method, the effects of *Rhodobacter sphaeroides* solution on the growth and copper accumulation of wheat (*Triticum aestivum*) and cole (*Brassica campestris*) under copper stress were researched. The results showed that  $\text{Cu}^{2+}$  can inhibit the seedling growth. Although the cole seeding and the wheat seeding could accumulate copper, the cole seeding could accumulate more copper by comparison. *Rhodobacter sphaeroides* improved the inhibition effects on the seedling growth under copper stress and could also reduce the copper accumulation of two crop seedlings at different degree.

**Key words** *Rhodobacter sphaeroides*; Copper; wheat; Cole; Growth; Copper accumulation

随着工农业生产的迅速发展, 三废的排放、矿产大量的开发利用、污水灌溉以及农药、除草剂和化肥的使用等, 大量重金属进入环境, 造成了严重的环境污染, 给社会、经济和人类健康造成了极大的危害。铜虽然是农作物所必须的微量元素, 但是过量的铜不仅给农作物的生长造成危害, 而且还可以通过在农作物根、茎、叶及果实中过量的积累进入食物链, 危及人类健康<sup>[1,2]</sup>。因此降低农作物中铜的积累成为一个亟待解决的问题。已有研究表明, 一些微生物可以通过细胞代谢、吸收转运、吸附、沉淀、氧化还原等多种途径降低环境中重金属的毒性, 从而减少农作物对重金属的吸收<sup>[3]</sup>。光合细菌是否也能改善铜对植物生长的抑制并降低铜在植物体中的积累, 还未见报道。小麦和油菜都是重要的经济作物, 与人类生活息息相关, 笔者以小麦、油菜为材料, 用水培方法研究了球形红细菌对  $\text{Cu}^{2+}$  胁迫下小麦、油菜幼苗生长以及各部分积累的影响, 为光合细菌进一步的开发应用提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 供试菌种。**球形红细菌(*Rhodobacter sphaeroides*), 属于紫色非硫菌群红细菌属光合细菌, 由山西大学光合细菌研究室提供。

**1.1.2 供试植物。**小麦(*Triticum aestivum*) 种子(晋太170新品种), 油菜(*Brassica campestris*) 种子(寒青), 由山西省农科院提供。

**1.1.3 试剂与仪器。**硫酸铜(分析纯), 岛津 AA-6300 型火焰原子吸收分光光度计, PCZ-200 光照培养箱, 烘箱, 分析天平, 干燥器。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 菌悬液的制备。**取培养 3 d 的球形红细菌菌液在 5 000 r/min 下离心 30 min 后弃上清, 取菌体用去离子水配制

成不同浓度的菌悬液。

**1.2.2 水培试验。**挑选大小一致且饱满的种子若干, 用 0.5% 的过氧化氢浸泡 5 min 进行表面消毒, 然后用去离子水充分冲洗后于 25℃ 下用去离子水浸种 5 h, 再催芽 12 h。挑选发芽一致的种子整齐地摆放在铺有滤纸的培养皿中, 置于光照培养箱中培养。用去离子水先培养待出芽的种子都长出根后, 进行 4 个水平  $\text{Cu}^{2+}$  浓度(0、20、100、200 ng/L) 及 3 个水平菌悬液浓度(0、35、70 ng/L) 的 2 因子试验。每处理重复 3 次。以上处理液均用 Hoagland 营养液配制(在不加菌悬液的培养皿中加入等量的去离子水), 3 d 换 1 次培养液, 每天 12 h 光照, 日温为 22℃, 夜温为 18℃。14 d 后取样, 取 10 株测定植株的苗长、根长和鲜重(清洗后用吸水纸吸干外部全部水分后测量)。铜待测样品在 105℃ 杀青 30 min, 70℃ 烘至恒重后保存在干燥器中。

**1.2.3 铜测定方法。**待测样品用  $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$  法消化后, 用岛津 AA-6300 型火焰原子吸收分光光度计测定。

**1.2.4 数据分析。**各处理组与对照组用 t 检验进行比较,  $P < 0.05$  为存在显著差异, 用 \* 表示;  $P < 0.01$  为存在极显著差异, 用 \* \* 表示。

## 2 结果与分析

**2.1 不同浓度  $\text{Cu}^{2+}$  处理对小麦、油菜幼苗生长的影响** 当植物受到重金属胁迫时, 植物的生长就会受到抑制, 植物受损伤的程度可以通过其苗长、根长和鲜重的变化表示。如表 1 所示, 小麦、油菜幼苗苗长和根长均随  $\text{Cu}^{2+}$  浓度的增加而降低。当  $\text{Cu}^{2+}$  浓度为 200 ng/L 时抑制作用最为明显, 小麦幼苗苗长和根长分别为对照组的 46.0% 和 49.0%, 油菜相应的长度分别为对照组的 62.6% 和 77.3%。t 检验显示, 当  $\text{Cu}^{2+}$  浓度为 20 ng/L 时, 除了小麦苗长与对照组苗长差异极显著外, 小麦根长、油菜苗长和根长与对照组均无显著差异。当  $\text{Cu}^{2+}$  浓度为 100 和 200 ng/L 时, 小麦、油菜幼苗长度均与对照组存在极显著差异。在  $\text{Cu}^{2+}$  胁迫下小麦、油菜幼苗鲜重均表现为抑制作用。当  $\text{Cu}^{2+}$  浓度为 20、100 和 200 ng/L 时, 小麦、油菜幼苗鲜重依次为对照组的 69.4% 和 93.7%,

基金项目 国家科技攻关项目(2001BA540C)。

作者简介 郭凌(1982-), 女, 山西大同人, 硕士研究生, 研究方向: “三废”处理及资源化。\* 通讯作者。

收稿日期 2006-09-06

63.2%和78.0%,42.3%和75.6%。经t检验,铜处理后小麦幼苗鲜重与对照组差异均为极显著;当 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度为20 ng/L时,油菜幼苗鲜重与对照组无显著差异,但当 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度为100和200 ng/L,油菜幼苗鲜重与对照组有显著差异。

表1 不同浓度 $\text{Cu}^{2+}$ 处理对小麦、油菜幼苗苗长、根长和鲜重的影响

$\text{Cu}^{2+}$ 浓度 ng/L	小麦			油菜		
	苗长	根长	鲜重	苗长	根长	鲜重
	cm	cm	g/株	cm	cm	g/株
0 (CK)	18.7 (100)	9.8 (100)	2.392 (100)	6.9 (100)	4.4 (100)	0.3341 (100)
20	16.2** (86.6)	8.8 (89.8)	1.661** (69.4)	6.2 (89.9)	4.2 (95.4)	0.3130 (93.7)
100	14.3** (76.5)	6.3** (64.3)	1.511** (63.2)	5.3** (76.8)	3.8** (86.4)	0.2605** (78.0)
200	8.6** (46.0)	4.8** (49.0)	1.012** (42.3)	4.3** (62.3)	3.4** (77.3)	0.2527** (75.6)

注:括号内数值为与对照相比的百分数(%)。

在同一浓度 $\text{Cu}^{2+}$ 处理下,小麦幼苗3项生长指标下降

表2 不同浓度球形红细菌菌悬液和 $\text{Cu}^{2+}$ 复合处理下小麦、油菜幼苗长度和鲜重的增长率

$\text{Cu}^{2+}$ 浓度 ng/L	小麦						油菜					
	苗长		根长		鲜重		苗长		根长		鲜重	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
0	2.7*	3.7**	3.1*	9.2*	1.6*	9.2**	4.4*	5.2**	6.8*	4.5*	7.7*	7.9**
20	1.2*	8.0**	3.4*	6.8**	5.2**	23.2**	3.4*	9.2**	11.9	16.7*	37.2*	48.9*
100	2.1	16.8**	4.8*	11.1**	0.6	14.4**	3.8*	11.3	2.6	13.2*	36.3	49.8*
200	32.6	54.6*	2.1	8.3*	10.1	38.4*	4.6	7.0*	5.9	14.7*	10.8	19.0*

注:a、b分别表示35和70 mg/L球形红细菌菌悬液。下表同。

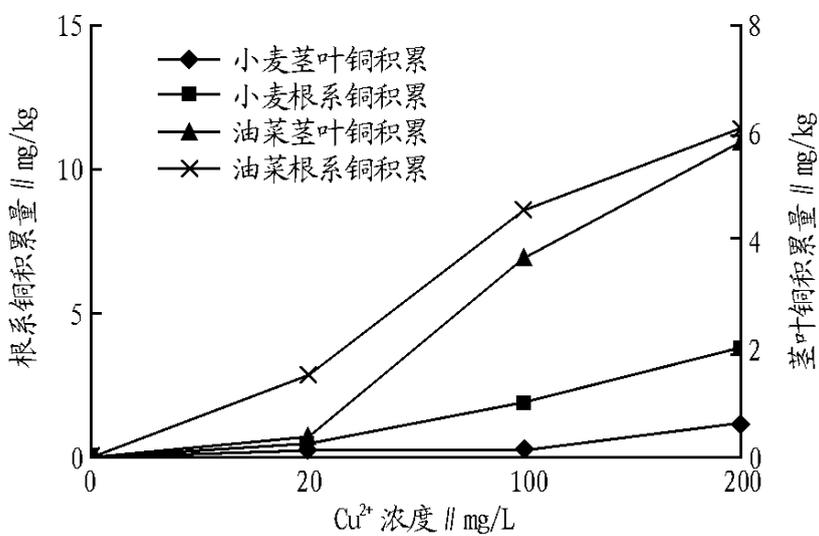


图1 不同浓度 $\text{Cu}^{2+}$ 处理对小麦、油菜幼苗茎叶和根系铜积累量的影响

2.3 不同浓度 $\text{Cu}^{2+}$ 处理对小麦、油菜幼苗各部分铜积累的影响 如图1所示,小麦、油菜幼苗茎叶和根系铜积累量随 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度的增加而增加,2种植物幼苗茎叶中积累的铜均少于其根系中积累的铜。在同一浓度 $\text{Cu}^{2+}$ 处理下,油菜幼苗比小麦幼苗各部分单位重量积累的铜量大。经t检验,当 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度为20 ng/L时,小麦、油菜幼苗茎叶和根系单位重

幅度比油菜相应下降幅度大;当 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度为200 ng/L时表现最为明显,小麦幼苗3项生长指标仅为对照的40%左右,而油菜幼苗3项生长指标为对照的70%左右。这说明在同浓度 $\text{Cu}^{2+}$ 胁迫下小麦幼苗比油菜幼苗更为敏感。

2.2 不同浓度球形红细菌菌悬液对 $\text{Cu}^{2+}$ 胁迫下小麦、油菜幼苗生长的影响 表2表明,在同一浓度 $\text{Cu}^{2+}$ 处理下,加入70 mg/L球形红细菌菌悬液,小麦、油菜幼苗3项生长指标的增长率比加入35 mg/L球形红细菌菌悬液其生长指标的增长率大。值得注意的是,加入不同浓度球形红细菌菌悬液对未经处理的小麦、油菜的生长也有一定促进作用,这与一些报道结果一致<sup>[4]</sup>。在同一浓度 $\text{Cu}^{2+}$ 处理下,加入菌悬液与未加菌悬液的处理之间的差异见表2。可以看出,未经铜处理和 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度为20 ng/L时,加入2种浓度的球形红细菌菌悬液对小麦、油菜幼苗生长的促进作用都比较显著;而当 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度增至100和200 ng/L时,只有高浓度菌悬液(70 mg/L)对2种幼苗生长有显著的缓解作用。

量积累的铜存在显著差异;当 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度为100 ng/L,二者均存在极显著差异;当 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度为200 ng/L,小麦、油菜幼苗茎叶单位重量积累的铜存在显著差异,而其根系单位重量积累的铜存在极显著差异。这说明,虽然2种植物均可在体内积累铜,但是积累的能力不同,在同一浓度 $\text{Cu}^{2+}$ 处理下油菜幼苗能积累更多的铜。

2.4 不同浓度球形红细菌菌悬液对 $\text{Cu}^{2+}$ 胁迫下小麦、油菜幼苗各部分铜积累的影响 在同一浓度 $\text{Cu}^{2+}$ 处理的前提下,加入菌液小麦、油菜幼苗各部分积累的铜均有不同程度的降低。在同一浓度 $\text{Cu}^{2+}$ 处理下,加入70 mg/L球形红细菌菌悬液小麦、油菜幼苗各部分铜积累的降低率比加入35 mg/L球形红细菌菌悬液其降低率大。在同一浓度 $\text{Cu}^{2+}$ 处理下,加入70 mg/L菌悬液与未加菌悬液的处理之间的差异如表3所示。可以看出,在同一浓度 $\text{Cu}^{2+}$ 处理下,加入70 mg/L菌悬液与未加菌悬液的处理之间的差异比加入35 mg/L菌悬液与未加菌悬液的处理之间的差异要显著,这说明高浓度菌悬液可以更明显地降低2种幼苗体内积累的铜。

表3 不同浓度球形红细菌菌悬液和 $\text{Cu}^{2+}$ 复合处理小麦、油菜幼苗茎叶和根系铜积累量

$\text{Cu}^{2+}$ 浓度 ng/L	小麦				油菜			
	茎叶		根系		茎叶		根系	
	a	b	a	b	a	b	a	b
20	0.0787 (9.9%)	0.0660 (24.5%**)	0.4675 (9.5%)	0.4266 (17.4%*)	0.1549 (49.2%)	0.2061 (32.4%**)	2.2779 (17.7%*)	1.9355 (30.0%**)
100	0.1458 (5.5%)	0.1267 (17.9%)	1.6330 (8.1%)	1.1948 (32.8%*)	1.5704 (57.2%**)	1.5291 (58.3%**)	7.0848 (18.0%*)	6.5271 (24.4%*)
200	0.3884 (32.4%**)	0.2176 (62.1%**)	3.6773 (6.5%)	3.1968 (18.7%**)	3.8060 (34.3%)	2.4403 (57.9%*)	10.6914 (6.6%*)	10.1400 (11.4%*)

注:表中百分数为不同浓度球形红细菌菌悬液和 $\text{Cu}^{2+}$ 复合处理小麦、油菜幼苗茎叶和根系铜积累量的降低率。

(上接第6120页)

### 3 讨论

试验表明,小麦、油菜幼苗可以吸收处理液中的 $\text{Cu}^{2+}$ ,并在其体内各部分积累,积累量随 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度的增大而增加。小麦、油菜幼苗体内积累的 $\text{Cu}^{2+}$ 越多,其生长受到的抑制作用就越大<sup>[5]</sup>。这是因为 $\text{Cu}^{2+}$ 胁迫下的小麦、油菜幼苗体内生理生化过程紊乱,光合作用降低,吸收受到抑制,导致供给它们生长的物质和能量减少。 $\text{Cu}^{2+}$ 主要积累在小麦、油菜幼苗的根部,向上运输的能力较弱<sup>[6]</sup>。这是因为 $\text{Cu}^{2+}$ 与植物作用时,最先接触到根部,根细胞壁中存在大量交换位点,能将 $\text{Cu}^{2+}$ 固定在这些位点上,从而阻止 $\text{Cu}^{2+}$ 进一步向地上部分转移。因此,根是植物最重要的络合 $\text{Cu}^{2+}$ 的部位,也是最易受 $\text{Cu}^{2+}$ 毒性影响的部位。

加入球形红细菌菌液后,小麦、油菜幼苗各部分铜积累都有所降低,生长受到的抑制也有所缓解。高浓度菌悬液可以更明显地降低2种幼苗体内积累的铜,也更有利于缓解 $\text{Cu}^{2+}$ 对2种幼苗生长的抑制作用。这可能是因为:一是光合细菌为 $G^-$ 原核生物,其细胞壁成分主要为肽聚糖,与

藻类不同,但同样带负电荷和氨基、羟基等官能团, $\text{Cu}^{2+}$ 与球形红细菌菌液接触时,二者可以形成稳定的络合物<sup>[7]</sup>;二是球形红细菌通过同化型硫酸还原作用及脱硫酶作用生成硫化铜沉淀。白红娟等发现在菌体生长稳定期,部分半胱氨酸及其衍生物通过半胱氨酸脱硫酶作用生成 $\text{S}^{2-}$ ,将 $\text{Cu}^{2+}$ 转化为沉淀 $\text{CuS}$ 。因此,球形红细菌就可以减少环境中小麦、油菜直接吸收的 $\text{Cu}^{2+}$ ,从而降低了小麦、油菜体内各部分铜的积累,减轻 $\text{Cu}^{2+}$ 对它们的损伤。

### 参考文献

- [1] 廖自基. 环境中微量重金属元素的污染危害及迁移转化[M]. 北京: 科学出版社, 1989.
- [2] ALVA A K, CHENE Q. Effects of external copper concentrations on uptake of trace elements by citrus seedlings[J]. Soil Sci, 1995(159): 59 - 64.
- [3] 沈振国, 陈怀满. 土壤重金属污染生物修复的研究进展[J]. 农村生态环境, 2000, 16(2): 39 - 44.
- [4] 熊琦, 冯安吉, 刘继彪, 等. 光合细菌促进菠菜生长的机理研究[J]. 应用与环境生物学报, 1999, 5(S1): 194 - 196.
- [5] SRIVASTAVA P C, GUPTA U C. Trace elements in crop production[M]. Lebanon: Science Publishers Inc, USA, 1996.
- [6] 韩梅, 李发生, 卢桂兰, 等. 外源Cd胁迫对不同类型土壤中蔬菜生长的影响及其残留效应[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(2): 213 - 216.
- [7] 周茂洪, 赵肖为, 周峙苗. 几种重金属离子对光合细菌生长的抑制效应[J]. 生态学杂志, 2002, 21(4): 6 - 11.