

# Effects of Cu Pollution on Physiological and Biochemical Characteristics of Maize Seedlings

Bowen Yue, Xiaozhe Zuo, Haijie Dou, Xinjun Zhu\*

Dezhou University, Dezhou Shandong  
Email: 17852675181@163.com, \*15505448266@163.com

Received: Apr. 19<sup>th</sup>, 2019; accepted: May 3<sup>rd</sup>, 2019; published: May 10<sup>th</sup>, 2019

---

## Abstract

The effects of Cu pollution on physiological and biochemical characteristics of maize seedlings were studied by Hoagland nutrient solution culture, which is of great significance to the yield and quality of maize. The experimental results showed that with the increase of copper solution concentration, the content of chlorophyll a and the total chlorophyll content showed a slight increase trend. Relatively stable content of chlorophyll b, the content of soluble sugar showed an increasing trend. The content of protein first rose and then fell, and the overall trend was decreasing. The content of POD rose rapidly first and then decreased, but it showed an upward trend. The content of CAT decreased first and then increased and then decreased.

## Keywords

Corn Seedlings, Cu Pollution, Physiological and Biochemical

---

# Cu污染对玉米幼苗生理生化的影响

岳博文, 左晓哲, 窦海杰, 朱新军\*

德州学院, 山东 德州  
Email: 17852675181@163.com, \*15505448266@163.com

收稿日期: 2019年4月19日; 录用日期: 2019年5月3日; 发布日期: 2019年5月10日

---

## 摘要

通过采用Hoagland营养液培养的方法, 研究Cu污染对玉米幼苗生理生化的影响, 对玉米的产量品质有\*通讯作者。

重要意义。结果表明：随着铜溶液浓度的升高，叶绿素a的含量和叶绿素总含量呈先下降后微上升的趋势，叶绿素b的含量相对稳定；可溶性糖含量增加；蛋白质的含量先增加后下降，总体呈下降趋势；POD的含量先快速上升后有所下降，总体呈现上升趋势；CAT的含量是先下降后上升再下降。

## 关键词

玉米幼苗, Cu污染, 生理生化

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 前言

重金属铜作为一种微量元素，是高等生物包括人类生长发育必不可少的元素，但过量就会产生副作用，同时铜也是环境污染的重金属元素之一[1] [2]。本文研究重金属铜污染对玉米幼苗生理生化特性的影响。玉米一般在浇铜溶液的第三天就会出现明显的不同。在铜等重金属污染条件下，植物体明显停止生长，植株体内叶绿体、线粒体、细胞核等细胞器的超微结构被破坏，抑制其根系、地上部和根瘤生长[3] [4]。植物细胞内具有多种抗氧化酶可以降低或消除活性氧的伤害。重金属Cu处理后，玉米幼苗体内活性氧清除系统遭到破坏[5]。由于济丰96号杂交玉米具有抗病、抗倒、品质优良、产量高等优点，深受广大农民欢迎，本实验以济丰96号杂交玉米为材料，研究不同浓度的铜对玉米各项生理指标的影响。

## 2. 实验材料及方法

### 2.1. 实验仪器

容量瓶(100 ml, 100 ml, 25 ml)、烧杯、锥形瓶、研钵、玻璃棒、试管架、10 ml离心管、移液枪、蓝色枪头、量筒、培养皿(多个)、纱布、纱窗、剪刀、记号笔、比色皿、擦镜纸、试管、药匙、称量纸、直尺、标签、冰块、漏斗、滤纸、胶头滴管。

低速多管架自动平衡离心机、UV-5500紫外可见分光光度计、电子天平、数显鼓风干燥箱、电冰箱、电磁炉、高速冷冻离心机、JB-2型恒温磁力搅拌器。

### 2.2. 实验试剂与材料

考马斯亮蓝、碳酸钙、二氧化硅、95%无水乙醇、95%酒精、磷酸、蒸馏水、三氯乙酸、氢氧化钠、十二水磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、四水硝酸钙、硝酸钾、七水硫酸镁、磷酸二氢钾、乙二胺四乙酸铁钠、微量元素、甲硫氨酸(MET)、乙二胺四乙酸钠(EDTA)、四唑氮蓝(NBT)、核黄素、30%过氧化氢、愈创木酚、硫代巴比妥酸(TBA)、济丰96杂交品种的玉米种子。

### 2.3. 实验材料处理

选取籽粒饱满，大小一致的种子，用2%高锰酸钾溶液消毒，然后清洗、浸种，发芽后分盘。每盘用等量的营养液在光下培养，每天早晚各换一次营养液。

### 2.4. 铜溶液处理

对照组用Hoagland营养液处理( $\text{Cu}^{++}$  0 mg/L)，实验组中的每五盘分别用不同浓度的铜溶液(400 mg/L，

600 mg/L, 800 mg/L)处理, 每盘浇 12 ml 的营养液和 12 ml 的铜溶液, 连续处理两到三天, 早晚各一次, 观察叶片、株高、茎、根等生长情况。

## 2.5. 指标测定

### 2.5.1. 叶绿素的测定方法

采用丙酮乙醇混合液法测定叶绿素含量[6]。分别取相同部位的叶(0 mg/L, 400 mg/L, 600 mg/L, 800 mg/L), 去主脉称量 0.2 g, 按一般方法提取叶绿素, 将匀浆转入 25 ml 容量瓶中, 并用适量 95%无水乙醇洗涤研钵定容到 25 ml。从容量瓶中取 8 ml 于离心管中, 离心后取上清, 每个浓度测三个吸光值, 再取平均值。计算公式:

$$C_a = 13.95A_{665} - 6.88A_{649}$$

$$C_b = 24.96A_{649} - 7.32A_{665}$$

$$C_{\text{总叶绿素}} = C_a + C_b$$

$$\text{叶绿素含量(mg/g)} = (C \times V \times \text{稀释倍数})/m$$

### 2.5.2. 蛋白质的测定方法

采用考马斯亮蓝染色法测定蛋白质含量[7]。对照组: 1 ml 蒸馏水加 5 ml 配好的考马斯亮蓝溶液。

实验组: 取样 0.1 ml (0 mg/L, 400 mg/L, 600 mg/L, 800 mg/L)加蒸馏水 0.9 ml 加 5 ml 配好的考马斯亮蓝溶液, 摇匀 3 min 后在 595 nm 处测 OD 值。

计算公式: 蛋白质含量(mg/g) = (OD - 0.0044)/2 ÷ 0.0056。

### 2.5.3. 酶液的提取

分别取相同部位的叶(0 mg/L, 400 mg/L, 600 mg/L, 800 mg/L), 去主脉称取 0.2 g 剪碎再加 1 ml PH = 7.8 PBS 在冰上研磨成匀浆, 在研磨过程中依次加入四次 1 ml PH = 7.8 PBS 缓冲液使研磨充分。装入离心管中, 离心管需等量对称放入高速冷冻离心机中(离心管在放入高速离心机前必须确认离心管的盖已扣紧), 温度 4℃, 10,500 r/min, 离心 20 min 后取上清液, 转移至试管中塞上塞子, 注意做好标记, 放入冰箱冷藏待用。注意酶液提取的整个过程要在冰上进行。

### 2.5.4. 可溶性糖的测定方法

TBA 和酶液各取 2 ml 加到试管中混合均匀, 沸水浴 15 min 后转移到离心管中。3000 r/min 离心 15 min, 取上清。

对照组: TBA 溶液。

实验组: 上清液(0 mg/L, 400 mg/L, 600 mg/L, 800 mg/L)。

对照组和实验组加相同的量, 分别 532 nm、450 nm 处测吸光值。

计算公式: 可溶性糖(mmol/L) = 11.71 OD<sub>450</sub>。

### 2.5.5. POD 的测定方法

采用愈创木酚法测定 POD 含量[6]。

对照组: 0.2%过氧化氢 2 ml 加愈创木酚 1 ml 再加 7.0 PBS 1 ml。

实验组: 0.2%过氧化氢 2 ml 加愈创木酚 0.95 ml 加 7.0 PBS 1 ml 加 0.05 ml 酶液。

用对照组调零, 在 470 nm 处测吸光度值。

计算公式:  $\text{POD } \mu\text{(g/min)} = (\Delta A_{470} \times V_t) / (w \times V_s \times 0.01 \text{ t})$ 。

### 2.5.6. CAT 的测定方法

对照组: 0.2%过氧化氢 1 ml 加水 2 ml。

实验组：0.2%过氧化氢 1 ml 加水 1.9 ml 再加酶液 0.1 ml。

用对照组进行调零，在 240 nm 处测吸光值。

计算公式： $CAT \mu/(gmin) = \Delta A_{240} \times V_T/W \times V_S \times 0.01 \times t$ 。

### 3. 结果与分析

#### 3.1. 重金属铜对玉米叶绿体色素含量的影响

表 1 表明，随着铜浓度的增加，叶绿素 a 含量先降低后升高，但总体呈现下降趋势。与对照组相比，叶绿素 a 含量先后降低 14.75%、33.42%、21.09%，叶绿素 b 含量先上升 4.33%，后下降 18.17%、6.92%，可见，随着铜溶液浓度的增加，玉米叶中的叶绿素 a 的产生受到抑制，叶绿素 b 含量变化不大。低浓度的铜溶液能够促进叶绿素 b 的形成，高浓度的铜溶液对叶绿素 b 的形成有抑制作用。

**Table 1.** Effects of different concentrations of copper solution on chlorophyll a and chlorophyll b in maize leaves

**表 1.** 不同浓度的铜溶液对玉米叶中叶绿素 a 和叶绿素 b 的影响

Cu <sup>2+</sup> 浓度(mg/L)	OD <sub>649</sub>	OD <sub>665</sub>	叶绿素 a (mg/g)	叶绿素 b (mg/g)
0	0.578	1.355	14.926 ± 3.56	4.508 ± 0.67
400	0.533	1.175	12.724 ± 1.17	4.703 ± 0.88
600	0.417	0.918	9.937 ± 0.89	3.689 ± 0.54
800	0.486	1.084	11.778 ± 1.16	4.196 ± 0.96

表 2 表明，玉米叶绿素总含量随着铜溶液浓度的增加而降低。与对照组相比，叶绿素总含量先后下降 10.33%、29.89%、17.80%。重金属破坏叶绿体结构，使植物叶片叶绿素含量降低，从而降低光合强度，这是重金属对植物毒害的普遍现象[8]。

**Table 2.** Effects of different concentrations of copper solution on total chlorophyll content in maize leaves

**表 2.** 不同浓度的铜溶液对玉米叶中叶绿素总含量的影响

Cu <sup>2+</sup> 浓度(mg/L)	OD <sub>649</sub>	OD <sub>665</sub>	C <sub>总</sub>	叶绿素含量(mg/g)
0	0.578	1.355	19.434	2.429 ± 2.64
400	0.533	1.175	17.427	2.178 ± 1.39
600	0.417	0.918	13.626	1.703 ± 0.86
800	0.486	1.084	15.974	1.997 ± 1.33

#### 3.2. 重金属铜对玉米蛋白质含量的影响

表 3 表明，随着铜溶液浓度的增大，蛋白质含量先上升后下降的趋势。与对照组相比蛋白质含量先上升 5.52%，后下降了 5.32%、41.37%。可溶性蛋白质与调节植物细胞的渗透势有关，高含量的可溶性蛋白质可帮助维持植物细胞较低的渗透势，抵抗水分胁迫带来的伤害[9]。随着铜浓度的增加，蛋白质的含量下降的越来越快，可能是因为 Cu<sup>2+</sup>促进了蛋白质的分解，而蛋白质的分解大于合成从而使蛋白质呈现出下降的趋势。

#### 3.3. 重金属铜对玉米可溶性糖含量的影响

表 4 表明，随着铜溶液浓度的增大，可溶性糖含量逐渐增加。与对照组相比，可溶性糖含量升高 78.88%、

91.81%、207.46%，随着铜溶液浓度的增加，可溶性糖含量增加。这是由于不同浓度铜溶液中渗透物质的增加所致，细胞液浓度增加，渗透势降低，这是对外界胁迫的适应性调节[10]。

**Table 3.** Effects of different concentrations of copper solution on protein content in maize leaves

**表 3.** 不同浓度的铜溶液对玉米叶中蛋白质含量的影响

Cu <sup>2+</sup> 浓度(mg/L)	OD <sub>595</sub>	蛋白质含量(mg/g)
0	0.512	45.321 ± 3.61
400	0.540	47.821 ± 3.77
600	0.485	42.911 ± 1.49
800	0.302	26.571 ± 2.30

**Table 4.** Effects of different concentrations of copper solution on soluble sugar content in maize leaves

**表 4.** 不同浓度的铜溶液对玉米叶中可溶性糖含量的影响

Cu <sup>2+</sup> 浓度(mg/L)	OD <sub>450</sub>	可溶性糖含量(mmol/L)
0	0.294	3.443 ± 0.05
400	0.526	6.159 ± 0.69
600	0.564	6.604 ± 1.34
800	0.904	10.586 ± 2.62

### 3.4. 重金属铜对玉米 POD 含量的影响

表 5 表明，玉米叶中 POD 的含量与对照组相比一直呈现上升的趋势。与对照组相比 POD 的含量在铜浓度为 0 mg/L~400 mg/L 时上升的最快，在 600 mg/L 时达到最大值，后有所下降。POD 是一种氧化还原酶，能使植物体中的有毒物质氧化分解，减少毒害作用。随着铜溶液浓度的增加，POD 活性受到刺激，但当 POD 的含量上升到一定程度后，POD 的活性变弱，含量就会随之下降。

**Table 5.** Effects of different concentrations of copper solution on POD content in maize leaves

**表 5.** 不同浓度的铜溶液对玉米叶中 POD 含量的影响

Cu <sup>2+</sup> 浓度(mg/L)	OD <sub>470</sub>	POD (μ/gmin)
0	0.037	1850 ± 2.57
400	0.159	7950 ± 2.91
600	0.22	11,000 ± 3.33
800	0.21	10,500 ± 1.48

### 3.5. 重金属铜对玉米 CAT 含量的影响

表 6 表明，随着铜溶液浓度的增大，CAT 含量先降低后升高，再降低。在 400 mg/L 时下降到最低，在 600 mg/L 时上升到最高。在 400 mg/L 到 600 mg/L 的浓度中，CAT 含量一直在上升，高浓度铜溶液可诱导活性氧的生成，这有利于减少在高浓度铜的作用下植物体产生的活性氧，减少活性氧对植物的毒害。

## 4. 结论与讨论

本次实验重点研究在铜污染的情况下对玉米幼苗叶中各种生理指标的影响。结果显示，在低浓度的

**Table 6.** Effects of different concentrations of copper solution on CAT content in maize leaves  
**表 6.** 不同浓度的铜溶液对玉米叶中 CAT 含量的影响

Cu <sup>2+</sup> 浓度(mg/L)	OD <sub>240</sub>	CAT (μ/gmin)
0	0.048	1200 ± 0.097
400	0.033	825 ± 0.064
600	0.058	1450 ± 0.077
800	0.052	1300 ± 0.021

铜溶液(0 mg/L, 400 mg/L, 600 mg/L)培养条件下, 叶绿素 a、总叶绿素含量呈下降趋势; 在高浓度的铜溶液(600 mg/L, 800 mg/L)培养条件下, 叶绿素 a 和总叶绿素含量略有增加, 但与对照组相比总含量还是下降趋势。光合作用是植物体进行一切生命活动的基础, 在不同浓度的铜溶液培养条件下, 叶绿素的合成会受到抑制, 有可能是重金属铜抑制了叶绿素合成相关的酶的活性[11], 从而抑制光合作用。蛋白质在低浓度的铜溶液中呈现上升趋势, 高浓度下呈现下降趋势。可溶性糖的含量一直是上升趋势。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)统称为植物中的保护酶, 可以清除植物体内的活性氧自由基, 使自由基保持在最低水平[12]。过量的重金属会导致植物中过量的自由基, 这些自由基会对机体产生毒性作用。

## 参考文献

- [1] 董丽欣, 李保国, 齐国辉, 等. 土壤铜、硫含量对初果期苹果树叶片生长和果实品质的影响[J]. 汉斯农业科学杂志, 2012, 2(2): 13-17.
- [2] 美英, 杨晓华, 张鹏. 植物滞留系统草本植物对人工雨水中铜的富集及去除效果研究[J]. 内蒙古大学学报(自然版), 2015, 32(2): 22-26.
- [3] 谢志坚, 周春火, 贺亚琴, 等. 21 世纪我国稻区种植紫云英的研究现状及展望[J]. 草业学报, 2018, 27(8): 185-196.
- [4] 倪才英, 陈英旭, 骆永明, 等. 紫云英(*Astragalus sinicus* L.)对重金属胁迫的响应[J]. 中国环境科学, 2003, 23(5): 503-508.
- [5] 熊思, 林爱军, 宋亮, 等. 铜污染对玉米幼苗的毒性及其机制研究[J]. 北京化工大学学报(自然科学版), 2013, 40(6): 82-87.
- [6] 刘家尧, 刘新. 植物生理学实验教程[M]. 北京: 高等教育出版社, 2010.
- [7] 魏群. 基础生物化学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009.
- [8] 李晔, 李玉双, 孙丽娜, 等. 重金属 Cd 胁迫对不同玉米品种生理生化指标的影响[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(5): 2627-2628+2657.
- [9] 王琰, 陈建文, 狄晓艳. 水分胁迫下不同油松种源 SOD、POD、MDA 及可溶性蛋白比较研究[J]. 生态环境学报, 2011, 20(10): 1449-1453.
- [10] Lv, Y., Hu, M., Wang, L., et al. (2015) Influences of Heat Treatment on Fatigue Crack Growth Behavior of NiAl Bronze (NAB) Alloy. *Journal of Materials Research*, **30**, 3041-3048. <https://doi.org/10.1557/jmr.2015.282>
- [11] 陈俊任, 柳丹, 吴家森, 等. 重金属胁迫对毛竹种子萌发及其富集效应的影响[J]. 生态学报, 2014, 34(22): 6501-6509.
- [12] Nie, J., Pan, Y., Shi, J., et al. (2015) A Comparative Study on the Uptake and Toxicity of Nickel Added in the Form of Different Salts to Maize Seedlings. *International Journal of Environmental Research & Public Health*, **12**, 15075-15087. <https://doi.org/10.3390/ijerph121214972>

**知网检索的两种方式：**

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2330-1724，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：[ojs@hanspub.org](mailto:ojs@hanspub.org)