

纳米材料促进大豆萌芽、生长的影响 及其机理研究^{*}

陆长梅¹ 张超英¹ 温俊强² 吴国荣¹ 陶明煊¹

(1. 南京师范大学生命科学学院, 江苏 210097; 2. 江西省南昌纳米高新技术开发有限公司, 江西 330029)

摘要 纳米材料表现上可促进高等植物大豆的萌发、生长, 防止种子长霉。生理上分析纳米材料可促进大豆根系活力与叶片硝酸还原酶活性的提高, 增强了植物吸收水、肥与利用氮肥的能力; 刺激了包括 SOD、POD、CAT 在内的抗氧化酶系与植株总抗氧化能力的升高, 提高了植物的抗逆能力。

关键词 纳米材料; 大豆; 萌芽; 生长; 抗氧化系统

中图分类号 S565.101 文献标识码 A 文章编号 1000-9841(2002)03-0168-04

纳米材料是晶体尺寸小于 100nm (纳米) 的单晶体或多晶体。因其结构上的特殊性, 使纳米材料具有一些独特的效应, 主要包括小尺寸效应和表面或界面效应, 因而在性能上与相同组成的传统概念的微米材料有非常显著的差异, 表现出许多优异的性能和全新的功能, 已在许多领域展示出广阔的应用前景, 引起了世界各国科技界和产业界的广泛关注。纳米技术的发展又引伸出了一系列新的科学技术领域, 如纳米电子学、纳米光学、纳米生物学、纳米化学、纳米材料学、纳米工程、纳米医学等等, 并已成为当前国际上的前沿研究课题之一, 许多工业国家已将其列为关键技术^[1]。

在纳米材料的广泛使用过程中发现它具有促进动植物生长、防治动植物疾病、去污染^[2]等多种功效。我们已有研究表明纳米材料具有抑制单细胞原核蓝藻铜绿微囊藻大形变种 (*Microcystic aeruginosa* var. *major* A.M. Smith) 生长的作用, 对高等多细胞植物作用虽有少量报道, 但主要围绕在对表现形态的影响, 生理、机制方面的研究尚未见报道。本文选择广泛种植的农作物大豆 (*Glycine max*) 为研究对象, 初步研究纳米材料对其作用, 探讨其作用机理, 为纳米材料的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

纳米材料由江西省南昌纳米高新技术开发有限

公司提供。本品以 TiO₂、SiO₂ 等为主要成分并与水硬性凝固剂固化而成的一种新型纳米功能材料, 经检测其粒径在 5nm 以下的占 55% 以上、且 70% 以上呈晶形。

大豆 (*Glycine max*) 黑脐 91-1, 江苏省农科院蔬菜研究所提供 (室内自然条件下储藏一年)。

1.2 处理

分别随机取子粒饱满、大小均匀的大豆种子 200 粒用自来水 (对照组) 与纳米材料浸泡其中的自来水 (实验组) 浸种, 避光置于室温 (20℃ 左右) 下, 每隔 2 小时随机取 50 粒, 用吸水纸吸干表面水分, 称重, 直至 12 小时。24 小时后, 暗中催芽, 以后每天随机取 50 粒称重, 直至第 5 天, 并在胚根长出后测其胚根下胚轴总长度。第 6 天时, 将每组豆苗, 用纱布固定于玻璃缸上, 分别用自来水 (对照组) 与纳米材料浸泡过的自来水 (实验组) 见光培养大豆。分别取见光 7 天与 14 天的大豆幼苗, 再次分别测其茎长、茎重、根重等。并分别按以下方法同时测定其各种生理指标。实验重复 3 次, 最终结果取平均值。

1.3 测定项目与方法

可溶性蛋白含量测定, 参照 Bradford 的考马斯亮蓝 G-250 法^[3]。

根系活力的测定, 采用常规的 α -萘胺氧化法^[4]。

硝酸还原酶活性的测定, 参照张志良的方法^[4]。

* 收稿日期: 2001-12-10

基金项目: 江苏省科学技术委员会自然科学基金项目 (1998SX05Z001)

作者简介: 陆长梅 (1969-), 女, 讲师, 在职博士, 主要从事植物生理生化方面的研究。

SOD 粗酶液的制备及活性测定, 参照程光宇等的方法^[5]提取粗酶液。SOD 活性测定参照 Gianopolitis 的方法^[9]。

过氧化物酶(POD)活性测定, 采用 X. H. 波钦诺克的方法^[7], 以 $\triangle OD_{470}/mg^{-1} \cdot pr$ 表示其相对含量。

过氧化氢酶(CAT)活性的测定, 采用氧电极法, 以单位时间内 CAT 降解 H_2O_2 释放的氧气量来表示酶活性大小^[4]。

总抗氧化能力含量的测定, 参照 Nicholas J. Miller 等的方法^[8], 采用南京建成生物工程研究所提供的总抗氧化能力试剂盒测定。

观察与荧光强度检测, 取大豆幼苗根, 用徒手切片法快速切片, 放入清水漂洗片刻取出搁置于载玻

片上, 盖上盖玻片, 用美国 Bio—Rad 公司出品的 MRC—1024 型激光扫描共聚焦成像系统观察成像, 激发波长为 488nm, 发射波长分别为 522, 680nm。观察倍数: 200 X。根据所取图象, 用 MRC—1024 自带数据处理软件 Lasershap 进行数据处理, 得到不同自发荧光强度的数据图。

2 结果与分析

2.1 纳米材料对大豆种子萌发与生长的影响

从表 1 结果可以看出实验组大豆种子在浸种时, 其鲜重增加速度均比对照快, 尤其在浸种初期 2 小时内, 对照较干种子鲜重增加了 15.44%, 而实验组大豆则增加了 33.36%。

表 1 纳米材料处理对大豆吸涨时鲜重增加速度的影响

Table 1 Effects of nanometer materials on the rate of fresh weight increase of *Glycine max* during its soaking period

吸涨时间 Soaking time (h)	0	2	4	6	8	10	12	24	48
对照 CK (g/ grain)	0. 2338	0. 2699	0. 3430	0. 3919	0. 4201	0. 4616	0. 4754	0. 5075	0. 5220
实验 Test (g/ grain)	0. 2335	0. 3114	0. 3563	0. 4012	0. 4281	0. 4706 *	0. 4951 *	0. 5224 *	0. 5274 **

注: 与对照比较: *P<0.05, * *P<0.01。

表 2 纳米材料处理 48 小时对大豆发芽率、霉变率的影响

Table 2 Effects of nanometer materials on the rates of germination and mildew ing of *Glycine max* after 48h treatment

	发芽率 Germination rate (%)	霉变率 Mildew ing rate (%)
对照 CK	67. 71±2. 05	24. 76±1. 27
实验 Test	78. 48±3. 27	9. 90±1. 05

表 3 纳米材料处理对大豆催芽期鲜重与胚根下胚轴生长的影响

Table 3 Effects of nanometer materials on its fresh weight and the total length of radical and hypocotyl of *Glycine max* during its accelerating germination period

催芽时间 Accelerating germination time (d)		1	2	3	4	5
鲜重	对照 CK	0. 5573	0. 5869	0. 6746	0. 7535	0. 7777
Fresh weight (g/grain)	实验 Test	0. 5675	0. 6069 *	0. 6979 *	0. 7761 *	0. 7982 *
胚根下胚轴总长度	对照 CK	1. 5513	2. 5504	4. 4311	6. 3741	8. 1682
Radical and hypocotyl length (cm/ grain)	实验 Test	1. 8142 **	3. 0224 **	4. 9902 **	7. 0332 **	9. 5483 **

注: 与对照比较: *P<0.05, * *P<0.01。

苗的胚根下胚轴总长, 结果见表 3。由表中可见实验组鲜重较对照组稍有增加, 而胚根下胚轴总长实验组大豆明显高于对照组。

在对大豆进行暗中处理 5 天后, 将两种处理的大豆幼苗分别用自来水与纳米材料处理水进行见光

待种子充分吸涨, 催芽处理 1 天后(见表 2), 对照组大豆的发芽率为 67.71%, 同时有 24.76% 的种子霉变, 而实验组大豆, 发芽率提高到 78.48%, 而且霉变种子数目也大幅度降低, 仅有 9.90%。

继续对两种处理的大豆种子进行暗中处理, 处理过程中分别用自来水与纳米材料处理过的自来水保持纱布与种子的湿润, 每天同一时间分别随机称量每组 50 棵萌发幼苗的鲜重, 并测量 50 棵萌发幼

培养, 分别在见光后第 7 天与第 14 天测定其生长量与各项生理指标。其生长量比较见表 4, 各项生理指标比较见表 5 和表 6。由表 4 中可见在第 7 天时, 实验组的大豆的茎长、茎重与根重分别高出对照组 20.04%、14.89% 与 27.59%, 而 14 天时, 则分别高

表 4 纳米材料处理对大豆见光后生长期间生长的影响

Table 4 Effects of nanometer materials on the growth of *Glycine max* in light

见光时间 Illumination time(d)	7			14		
形态指标 Morphological index	茎长 Stem length (cm/g rain)	茎重 Stem weight (g/grain)	根重 Root weight (g/ grain)	茎长 Stem length (cm/ grain)	茎重 Stem weight (g/ grain)	根重 Root weight (g/ grain)
对照 CK	18. 3053	1. 4171	0. 4411	24. 2051	1. 4329	0. 5965
实验 Test	21. 9744 * *	1. 6281 * *	0. 5628 * *	27. 9062 * *	1. 6732 *	0. 9093 * *

注: 与对照比较: * P<0. 05, * * P<0. 01。

表 5 纳米材料处理对大豆见光后生长期间根系活力与硝酸还原酶活性的影响

Table 5 Effects of nanometer materials on the activities of root system and nitrate reductase of *Glycine max*

见光时间 Illumination time(d)	7		14	
生理指标 Physiological index	根系活力 Root system activity (μ g/g, FW)	硝酸还原酶活力 Nitrate reductase activity (μ g/g, FW)	根系活力 Root system activity (μ g/g, FW)	硝酸还原酶活力 Nitrate reductase activity (μ g/g, FW)
对照 CK	414. 465	94. 913	842. 429	173. 766
实验 Test	1057. 458 * *	98. 373	1533. 952 * *	403. 745 *

注: 与对照比较: * * P<0. 01。

出 15.29%、16.77%和 52.39%。

2.2 纳米材料对大豆生理生化影响

2.2.1 纳米材料对大豆根系活力与硝酸还原酶活性的影响

见光后 7 天与 14 天时, 实验组大豆的根系活力远远高于对照组(表 5); 见光处理 7 天时大豆叶中的硝酸还原酶活性, 实验组稍高于对照组, 而在 14 天时实验组则比对照组高出 132.35%。

2.2.2 纳米材料对大豆自发光强度的影响

在激光扫描共聚焦显微镜下, 植物体细胞自发光强度的强弱在一定程度上反映了细胞生命力的强弱^[9]。图版 1 上侧显示实验组与对照组见光 14 天时激光共聚焦显微镜下根的自发光图谱, 下侧是用 Lasersharp 软件对荧光强度进行分析测试的结果。结果表明不论绿色荧光(发射波长 522nm)还是红色荧光(发射波长 680nm, 蓝色为 MRC-1024 设计为伪色), 实验组平均荧光强度较对照组明显增强, 且红色增强幅度更大, 实验组平均红色荧光强度是对照组的 2.467 倍。表明实验组根系活力高于对照组。

2.2.3 纳米材料对大豆抗氧化酶系统活性的影响

纳米材料实验组 14 天时, 大豆根、茎、叶等器官中 SOD、POD、CAT 等抗氧化酶活性以及组织总抗氧化能力虽然较对照组高出程度不一, 但均显著高出对照组(表 6); 就总抗氧化能力而言, 实验组的根、茎、叶三器官分别高出对照组 25.14%、21.064%与 18.91%。

表 6 纳米材料处理大豆见光后 14 天对不同器官抗氧化能力的影响

Table 6 Effects of nanometer materials on antioxidant activities from different organs of *Glycine max* after 14 days treatment in light

	器官 Organ	对照 CK	实验 Test
SOD 比活性	根 Root	0. 578	0. 800 * *
SOD specific activity	茎 Stem	0. 893	1. 487 * *
(U. mg ⁻¹ pr)	叶 Leaf	0. 968	1. 542 * *
POD 比活性	根 Root	297. 464	584. 309 * *
POD specific activity	茎 Stem	98. 189	144. 387 * *
(Δ OD470. min ⁻¹ . mg ⁻¹ pr)	叶 Leaf	54. 270	63. 826 *
CAT 比活性	根 Root	0. 781	1. 405 * *
CAT specific activity	茎 Stem	1. 228	2. 692 * *
(O ₂ ^μ L. min ⁻¹ . mg ⁻¹ pr)	叶 Leaf	3. 903	6. 262 * *
总抗氧化能力	根 Root	17. 303	21. 651 * *
Total antioxidant activity	茎 Stem	21. 524	26. 144 * *
(U. mg ⁻¹ pr)	叶 Leaf	17. 744	21. 101 * *

注: 与对照比较: * * P<0. 01。

3 讨论

实验结果显示: 纳米材料处理可促进大豆种子吸水、缩短大豆浸种时间(表 1); 提高种子发芽率(表 2); 促进大豆尤其促进其根系的生长(表 3、表 4、图版 1); 增强植物根系活力, 提高硝酸还原酶活性(表 5)等。由此可见纳米材料可能是通过提高植株吸收、利用水肥能力来促进大豆生长的。

大量研究表明: 纳米材料尤其是 TiO₂ 制成的纳米材料具有很强的光催化能力^[19]。在光照(包括紫

外光)条件下,表面可产生大量的羟自由基($\cdot\text{OH}$)。植物所处环境中的自由基含量的升高可直接作用于植物体或诱导植物体内自由基含量的升高。自由基含量的大幅度升高对于单细胞微生物而言有明显的杀伤效应,作者已在铜绿微囊藻大型变种的实验中已经得到证实,这与大豆萌发过程中抑制种子的霉变是相互映证的(表2)。而对高等植物而言,一方面自由基有可能作为一种信号,激发植物的多种生理功能,这对维持植物的正常健康生长与对自然界环境因素变化的应答所必需;另一方面很多研究表明植物在逆境条件下,植物体内自由基含量会激应提高,从而诱导植物体内抗氧化系统活力的提高,抗氧化活力的提高一方面可清除过量的活性氧,同时又提高了植物的抗逆抗病与抗病虫害等能力^[11,12];但当环境胁迫过强时,大量的自由基超过了抗氧化系统的清除能力,自由基将直接攻击蛋白质、DNA、脂类等多种生物大分子,引起体内脂质氢过氧化物含量积累的增加^[11,12],损伤有机体,甚至造成有机体死亡。表6显示实验组大豆根、茎、叶等器官中的SOD、POD、CAT等植物体内的主要清除自由基的抗氧化酶与植物总抗氧化能力均较对照高,表明在本实验中纳米材料产生的羟自由基刺激了大豆自由基与自由基清除系统的旺盛代谢,增强植物的抗逆能力,最终促进了植物的生长发育,这与表现实验结果一致。

纳米材料的实验结果表明纳米材料具有多样性的生物学效应,显示其在生产、生活领域中的广阔的应用前景。实验也提示其不同生物学效应的内在机

制有可能有其同一的方面。至于如何在不同的条件、不同的目的下正确利用纳米材料,以及在用量、处理时间、处理对象等方面尚需继续探讨。

参 考 文 献

- 1 许海燕,孔桦,杨子彬. 纳米材料及其在生物医学工程中的应用. 国外医学生物医学工程分册[J]. 1998, 21(5): 262—266.
- 2 陈学军,万新建,方荣. 纳米材料在豇豆和萝卜上的浸种效应[J]. 江西农业科技, 2000, 6: 34.
- 3 Bradford, M. A. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Anal Biochem, 1970, 72: 248.
- 4 张志良主编. 植物生理学实验指导[M]. 高等教育出版社, 北京: 1993.
- 5 程光宇,魏锦城,吴国荣,等. 枸杞果实铜锌超氧化物歧化酶的纯化及其性质研究[J]. 南京师大学报(自), 1991, 24(2): 82—92.
- 6 Giannopltis CN, Ries SK. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plant[J]. Plant Physiol, 1977, 59: 309—314.
- 7 X. H 波钦诺克著. 荆家海译. 植物生物化学分析方法[M]. 科学出版社, 北京: 1981, 197—209.
- 8 Nichloas. Miller Catherine Rice—Evans et al. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonate[J]. Clinical Science, 1993, 84: 407—412.
- 9 陆长梅,张卫明,芮海云,等. 蒲公英提取物对普通小球藻 Hg^{2+} 毒害保护作用的研究[J]. 中国野生植物资源, 2001, 20(3): 32—34.
- 10 沈耀良,王惠民. 纳米材料与 TiO_2 光催化废水处理技术[J]. 江苏环境科技, 2000, 13(3): 13—15.
- 11 陆长梅,施国新,吴国荣,等. Hg 、 Cd 对莼菜越冬芽叶绿素含量及活性氧清除系统的影响[J]. 湖泊科学, 1999, 4: 322—327.
- 12 陆长梅,吴国荣,周长芳,等. 悬铃木越冬芽在冬季的生理适应[J]. 西北植物学报, 2001, 21(4): 650—655.

RESEARCH OF THE EFFECT OF NANOMETER MATERIALS ON GERMINATION AND GROWTH ENHANCEMENT OF *GLYCINE MAX* AND ITS MECHANISM

Lu Changmei¹ Zhang Chaoying¹ Wen Junqiang² Wu Guorong¹ Tao Mingxuan¹

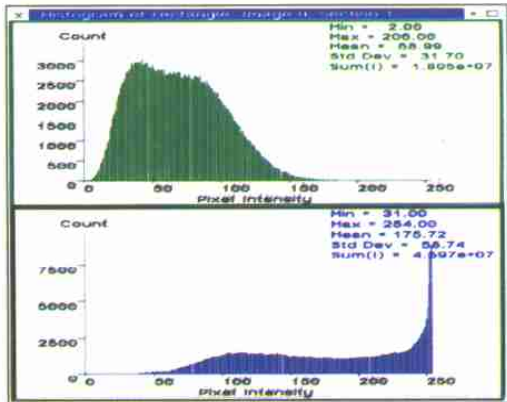
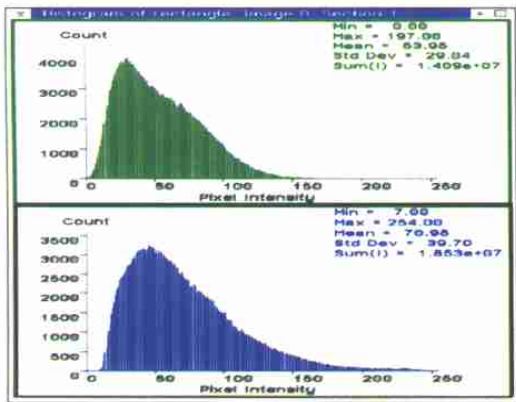
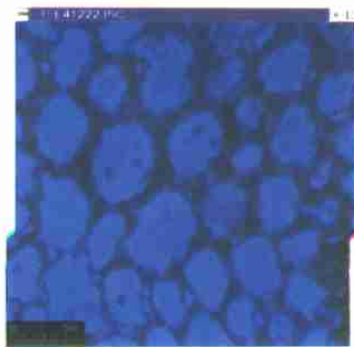
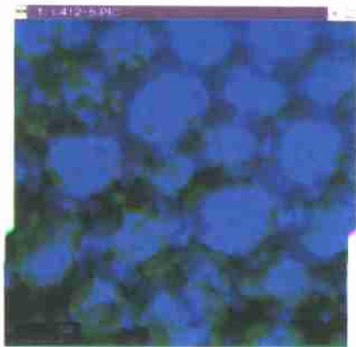
- (1. The College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097;
2. Jiangxi Nanchang Nanometer Technological Exploitation Ltd, Nanchang 330029)

Abstract Apparently, nanometer materials could hasten *Glycine max*'s germination, growth and prevent it from going moldy. Analyzed from the physiological point of view, nanometer materials could increase *Glycine max*'s activities of root and leaves' nitrate reductase, enhance it's abilities of absorbing and utilizing water, fertilizer; stimulate its antioxidant system, including SOD, POD and CAT etc, and its total antioxidant capacities, and ultimately improve *Glycine max*'s resistance to adversities.

Key words Nanometer materials; *Glycine max*; Germination; Growth; Antioxidant system

陆长梅等：纳米材料促进大豆萌芽、生长的影响及其机理研究

Lu Changmei et al:Research of the effect of nanometer materials on germination and growth enhancement of *Glycine max* and its mechanism



1、对照组
1、CK

2、实验组
2、Experimental group

图版 1 纳米材料对大豆根自发荧光强度的影响

Plate 1.Effects of the nanometer materials on the intensity of spontaneous fluorescence of *Glycine max*' s roots