石墨烯对蚕豆生长发育的效应研究*

刘泽慧[1,2] 陈志文[1] 赵建国[1,2**] 古 玲[2] 乔 俊[2] 王海雁[2] 邢宝岩[1]
乔玉英[1] 阮明礼[1] 杨晓峰[1]

(1. 山西大同大学炭材料研究所,山西 大同 037009; 2. 山西大同大学化学与环境工程学院,山西 大同 037009)

摘要:为了研究石墨烯对蚕豆作物生长发育的影响. 本研究将蚕豆(*Vicia faba* L.)种子随机分为空白组和实验组,利用不同质量浓度(0 ~ 100.00 mg/L)石墨烯溶液处理蚕豆幼苗根系. 通过评价蚕豆植株和根系的生长发育指标及根系土壤肥力,筛选石墨烯溶液最佳处理质量浓度. 与空白组相比,实验组 25.00 mg/L 石墨烯溶液处理后蚕豆植株的株高和叶片光合作用显著增加($t = 3.46$、2.16, $P < 0.05$);实验组 20.00 和 25.00 mg/L 石墨烯溶液处理后蚕豆幼苗根系总长度和总体积显著增加($t = 2.89 \sim 7.51$, $P < 0.05$),而根系总比表面积数据差异无统计学意义($P > 0.05$);实验组 20.00 和 25.00 mg/L 石墨烯溶液处理后根系土壤铵态氮和有效钾的含量显著增加($t = 3.92 \sim 22.10$, $P < 0.05$). 综合而言,25.00 mg/L 的石墨烯溶液对蚕豆地上和地下部分的生长发育具有最佳的促进作用.

关键词:蚕豆;石墨烯;根系形态;根系活力;净光合速率;土壤肥力
中图分类号:S529 **DOI**:10. 19789/j. 1004-9398. 2020. 05. 007

0 引 言

纳米材料已被广泛应用于电子、机械、能源和生物医学等领域[1-4]. 在植物生长中,纳米材料可被植物吸收和运输到植物组织与器官,提高种子萌发率和促进植物生长[5-6]. 纳米材料主要包括金属、金属氧化物、聚合物和碳纳米材料等,其中碳纳米材料因为其独特的化学性质与结构且具有低毒性,受到研究者的广泛关注[6].

石墨烯是碳纳米材料家族的一员,其比表面积大且基面和边缘上有多种含氧官能团,能够吸附肥料并缓慢释放肥效[7]. 石墨烯碳(C)原子之间有大量的疏水性 sp2 团簇,而碳氧键(C—O)间存在大量的亲水性 sp3 团簇,sp3 C—O 键可以将水分子聚集在其表面,而 sp2 团簇会进一步排斥水分子使其向植物根系或种子迁移,从而促进种子萌发[8]. 有研究表明石墨烯作为抗菌剂可以延长鲜切花的寿命[9].

姚建忠等[10]的研究显示适宜质量浓度的石墨烯溶液能够促进欧洲山杨(*Populus tremula* L.)组培苗植株的不定根伸长、主根形成及不定根数量的增加;郭绪虎等[11]证实 4.00 和 8.00 mg/L 的石墨烯溶液可以促进 MS 培养基上生长的藜麦(*Chenopodium quinoa* Willd.)根系的生长和发育,且增加了藜麦幼苗的生物量;胡晓飞等[12]表明 2.00 mg/L 的石墨烯溶液可以促进树莓(*Rubus corchorifolius* L. f.)组培苗的苗高增加 1.46 倍,根长、比表面积、根尖数与分叉数的发育增加 2 倍;薛斌龙等[13]也证实 2.00 mg/L 的石墨烯溶液可以有效缓减树莓组培苗所遭受的氯化钠(NaCl)胁迫,增强了树莓的抗盐性;Wang 等[14]研究显示石墨烯可以抑制小麦赤霉病菌的生长,并从转录组、蛋白质组和代谢组水平揭示了其抑菌的分子机制,表明了石墨烯在植物保护中的作用.

蚕豆(*Vicia faba* L.)在我国种植面积广泛,其营养价值高[15],目前石墨烯对蚕豆作物的影响尚未有研究报道. 本研究利用不同质量浓度的石墨烯溶液处理蚕豆幼苗,测量石墨烯处理后的蚕豆幼苗各项生长发育与生理指标,以期完善石墨烯对蚕豆幼

收稿日期:2019-12-01
* 山西省“1331 工程”石墨烯产业化应用技术协同创新中心(晋教科[2017]10 号);山西省石墨烯功能材料工程技术研究中心(201705D141034);山西省新型炭素功能材料工程研究中心(晋发改商新发[2019]375 号);山西省人才专项(优秀人才科技创新)(201705D211010);山西省科技成果转化引导专项(201804D131041)
** 通信作者: jgzhaoshi@ 163. com

苗生长发育影响的数据.

1 实验部分

1.1 实验试剂

分析纯浓硫酸(H_2SO_4)和纯蒽酮($C_{14}H_{10}O$)购自北京生工生物科技有限公司;葡萄糖($C_6H_{12}O_6$)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;活性炭购自天津北辰方正试剂厂;氮标、氮 1 号试剂、氮 2 号试剂、1 号粉、钾标、钾 1 号试剂、钾 2 号试剂、磷标、磷 1 号试剂、磷 2 号试剂和 3 号试剂均购自浙江托普云农科技股份有限公司.实验所用水均为蒸馏水.

1.2 实验仪器

使用上海博迅实业有限公司生产的 GZX-9076MBE 数显鼓风干燥箱烘干葡萄糖、植物与土壤样品;使用德国艾本德股份公司生产的 Centrifuge 5424 低温冷冻离心机完成实验离心工作;使用美国 PP Systems 公司生产的 CIRAS-3 便携式光合作用仪测定蚕豆叶片的净光合速率;使用日本 Epson 公司生产的 Epson Perfection V850 Pro 根系扫描仪扫描根系形态;使用浙江托普云农科技股份有限公司生产的 TPY-8A 型土壤养分速测仪测量土壤肥力.

1.3 石墨烯制备

采用电化学方法制备石墨烯[16].将 2 个石墨电极放入充有一定气体的密闭空间中,并在两端加足够的电压,使空间内气体发生电离而导电,产生电弧放电现象,该过程中,阳极石墨电极消耗,在密封壁上形成石墨烯层.且在石墨烯表面引入亲水基团羧基(—COOH)和羟基(—OH),使其可以稳定溶解于水中.得到质量浓度为 5.00 g/L 的石墨烯酸性溶液.石墨烯溶液质量浓度的计算方法:将 50 mL 石墨烯溶液于 80℃烘干,称取石墨烯固体质量,平行测量 5 组取平均值.

1.4 样品前处理

以种植于山西大同大学炭材料研究所院内试验地的蚕豆为研究对象.按照完全随机分组的方法将 210 颗大小一致的蚕豆种子分为 7 组,每组 10 颗,每组重复 3 次,分别标记为空白组(1 组)和实验组(6 组),所有蚕豆均培养在土壤中.

取一定体积的石墨烯溶液(5.00 g/L)分别稀释 300、250、200、150、100 和 50 倍,对应的质量浓度分别为 16.67、20.00、25.00、33.33、50.00 和 100.00 mg/L.实验组,将 6 个不同质量浓度石墨烯溶液分别浇灌于对应实验组的蚕豆幼苗根部,分 4 次浇灌,从播种开始每隔 1 周浇灌 1 次,每次浇灌 1 L,浇灌时间 18∶00;空白组,浇灌溶液为等体积的蒸馏水,其余处理与实验组一致.蚕豆种子种植时间为 2019 年 7 月 18 日.

1.5 蚕豆幼苗叶片净光合速率测定

以蚕豆幼苗叶片净光合速率代表光合作用强度,用单位时间单位面积吸收的二氧化碳(CO_2)物质的量表示,单位为 μmol/(m^2·s).培养 7 周后,每组实验取 9 株幼苗的 18 个叶片,测量叶片的净光合速率.

1.6 蚕豆幼苗株高测定

以地面到顶端生长点的距离来定义株高.培养 7 周后,测量 7 组共 210 株蚕豆幼苗的株高.

1.7 蚕豆幼苗表型及根系形态分析

利用根系扫描仪分析蚕豆幼苗的根系形态,采用 WinRHIZO 4.0b 软件分析根系总长度、总表面积和体积.培养 8 周后,将不同组蚕豆幼苗从土壤中挖出,用自来水轻轻冲洗干净,分别与空白组对比拍摄蚕豆幼苗表型;剪取蚕豆根系,用自来水轻轻冲洗蚕豆根系,尽量保持根系完整性,进行根系形态分析.

1.8 蚕豆幼苗叶片总糖含量的测定与分析

利用 $C_{14}H_{10}O$—H_2SO_4 比色法测定蚕豆幼苗叶片总糖质量浓度.

(1) $C_{14}H_{10}O$—H_2SO_4 溶液配置.将 760 mL 浓 H_2SO_4 边搅拌边缓慢加入蒸馏水中,室温下体积定容至 1 L,得到 H_2SO_4 溶液储存备用.将 1 g 的 $C_{14}H_{10}O$ 溶解于 1 L H_2SO_4 溶液中,置于棕色瓶中,使用当日配置.

(2)标准曲线绘制.称取 5 mg 干燥葡萄糖(80 ℃烘干 2 h)溶于 50 mL 蒸馏水中,得到 100.00 μg/L 标准葡萄糖溶液.在 7 只试管中分别加入 0、100、200、400、600、800 和 1 000 μL 的标准葡萄糖溶液,再分别加蒸馏水定容至 1 mL 后,分别加入 5 mL 的 $C_{14}H_{10}O$—H_2SO_4 溶液,放至沸水浴中加热 10 min,迅速冷却至室温,于 620 nm 波长处测量反应液的吸光度,以质量浓度为 0 的标准葡萄糖溶液试管进行调零.

(3)总糖含量测量.取新鲜叶片在烘箱中 110℃烘干 15 min 后,70℃过夜干燥.称取 50 mg 干叶片研磨,加入 2 mL 80%(体积比)乙醇,摇匀,离心力为 1 503 *g*,4 000 rpm/min 离心 10 min 后,取上清液,再加上述乙醇同样条件下离心后取上清液,重复 3 次,收集所有上清液;在上清液中加入 10 mg 活性炭 80℃脱色,定容至 10 mL 静置沉淀备用.取

1 mL 上清液加入5 mL 的 $C_{14}H_{10}O—H_2SO_4$ 溶液中,放至沸水浴中加热 10 min,迅速冷却至室温,测量溶液吸光度.

1.9　蚕豆根系周围土壤肥力分析

为了揭示石墨烯处理后蚕豆幼苗根系指标存在差异的原因,利用土壤养分速测仪测定蚕豆幼苗根系周围的土壤肥力,即土壤中铵态氮(N)、有效钾(K)和速效磷(P)的含量. 除去蚕豆根系周围浮土,以5 点取样法取根系周围土壤,将土样充分混合后晾干 24 h,经 1 mm 筛子过筛后,分别进行样品测量.

(1)铵态氮测量. ①空白检测:取 2 mL 蒸馏水进行空白检测. ②标准样品检测:在 900 μL 的蒸馏水中加入 100 μL 氮标,摇匀得到 20.00 mg/kg 的标准溶液,在标准溶液中分别加入 100 μL 氮 1 号试剂摇匀,再加入 100 μL 氮 2 号试剂摇匀,静置 10 min 后加入 800 μL 蒸馏水,取 2 mL 标准样品进行测量. ③实际样品检测:称取 4 g 处理后土壤样品放于塑料瓶中,分别加入 20 mL 蒸馏水,1 g 1 号粉,密封后手动震荡 10 min,过滤,在滤液中分别加入 100 μL 氮 1 号试剂摇匀,再加入 100 μL 氮 2 号试剂摇匀,静置10 min 后加入 800 μL 蒸馏水,取 2 mL 实际样品进行测量.

(2)有效钾测量. ①空白检测:取 2 mL 蒸馏水进行空白检测. ②标准样品检测:在 900 μL 的蒸馏水中加入 100 μL 钾标,摇匀得到 100.00 mg/kg 的标准溶液. 在标准溶液中加入 100 μL 钾 1 号试剂摇匀,再加入 100 μL 钾 2 号试剂摇匀,静置 5 min 后加入 800 μL 蒸馏水,取 2 mL 标准样品进行测量. ③实际样品检测:称取 4 g 处理后土壤样品放于塑料瓶中,分别加入 20 mL 蒸馏水,1 g 1 号粉,密封后手动震荡 10 min,过滤,在 1 000 μL 滤液中分别加入100 μL 钾 1 号试剂摇匀,再加入 100 μL 钾 2 号试剂摇匀,静置 5 min 后加入 800 μL 蒸馏水,取 2 mL 实际样品进行测量.

(3)速效磷测量. ①空白检测:取 2 mL 蒸馏水进行空白检测. ②标准样品检测:在 900 μL 的蒸馏水中加入 100 μL 磷标,摇匀得到 20.00 mg/kg 的标准溶液,在标准溶液中分别加入 100 μL 磷 1 号试剂和 800 μL 蒸馏水摇匀,加 50 μL 磷 2 号试剂,取 2 mL 标准样品进行测量. ③实际样品检测:称取 4 g 处理后土壤样品放于塑料瓶中,分别加入 20 mL 蒸馏水,500 μL 3 号试剂,密封后手动震荡 10 min,过滤,向 200 μL 滤液和 800 μL 蒸馏水中分别加入 100 μL 磷 1 号试剂和 800 μL 蒸馏水摇匀,再加入 50 μL 磷 2 号试剂摇匀,无需静置,取 2 mL 实际样品进行测量.

1.10　数据分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示. 采用 SPSS 19.0 软件进行组间独立样本 t 检验. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2　结　果

2.1　蚕豆生长发育的影响

不同质量浓度石墨烯溶液通过根部浇灌蚕豆及幼苗,待长到幼苗期后,取蚕豆植株拍照观察其表型(图 1). 石墨烯质量浓度在 16.67 ~ 33.33 mg/L 时,随着质量浓度的增加,溶液促进蚕豆幼苗的生长,即促进株高增加;当质量浓度在 50.00 ~ 100.00 mg/L 时,蚕豆植株生长较慢,即抑制株高增加.

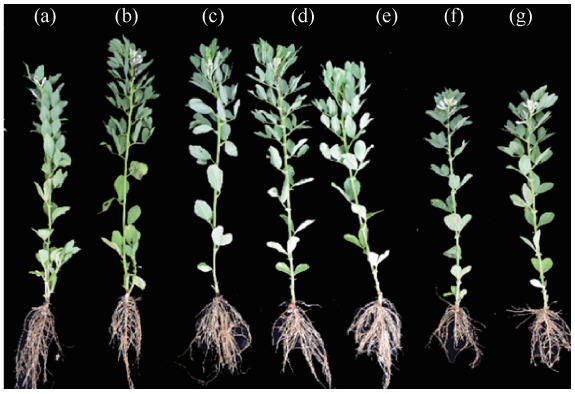


图 1　不同质量浓度石墨烯溶液培养的蚕豆幼苗形态
(a)0;(b) 16.67 mg/L;(c) 20.00 mg/L;(d) 25.00 mg/L;
(e) 33.33 mg/L;(f) 50.00 mg/L;(g) 100.00 mg/L

2.2　蚕豆植株株高、叶片光合作用和总糖含量

不同质量浓度石墨烯溶液处理后蚕豆幼苗生长发育指标详细结果列于表 1. 蚕豆幼苗地上部分株高为(50.83 ± 4.82 ~ 58.12 ± 3.10) cm,与空白组相比,25.00 mg/L 实验组株高显著增加 ($t = 3.46$, $P < 0.05$),增加到 1.1 倍;20.00 和 33.33 mg/L 实验组株高增加但差异无统计学意义 ($P > 0.05$);16.67、50.00 和 100.00 mg/L 实验组株高降低但差异无统计学意义($P > 0.05$).

空白组和实验组蚕豆幼苗叶片的净光合速率分别为(14.31 ± 2.85) 和(10.14 ± 2.32 ~ 18.23 ± 2.84) μmol/(m^2 · s). 与空白组相比,25.00 mg/L 实验组净光合速率显著提高($t = 2.16$, $P < 0.05$),提高到 1.3 倍;16.67、20.00 和 33.33 mg/L 实验组净光合速率提高,但差异无统计学意义($P > 0.05$);

50.00 mg/L 实验组净光合速率下降,但差异无统计学意义($P>0.05$);100.00 mg/L 实验组净光合速率显著降低($t=-3.28$,$P<0.05$),降低到 0.7 倍.

空白组和实验组蚕豆幼苗叶片的总糖质量浓度分别为(334.35 ± 3.02)和(330.89 ± 0.05 ~ 336.38 ± 5.56)μg/L. 与空白组相比,20.00、25.00、33.33 和 100.00 mg/L 实验组总糖质量浓度提高,但差异无统计学意义($P>0.05$);16.67 和 50.00 mg/L 实验组总含糖量下降,但差异无统计学意义($P>0.05$).

综上所述,25.00 mg/L 石墨烯溶液对蚕豆植株的株高和叶片光合作用提升作用最佳.

表 1 不同质量浓度石墨烯溶液处理后蚕豆幼苗生长发育指标情况($\bar{x}\pm s$)

质量浓度/(mg·L^{-1})	株数	株高/cm	净光合速率/[μmol·(m^2·s)$^{-1}$]	总含糖量/(μg·L^{-1})
0	30	53.14 ± 4.85	14.31 ± 2.85	334.35 ± 3.02
16.67	30	52.35 ± 8.36	14.52 ± 3.63	330.89 ± 0.05
20.00	30	53.73 ± 3.65	15.44 ± 2.62	336.08 ± 0.02
25.00	30	58.12 ± 3.10[a]	18.23 ± 2.84[b]	336.38 ± 5.56
33.33	30	53.70 ± 5.86	15.71 ± 3.99	336.17 ± 0.03
50.00	30	51.18 ± 4.86	12.42 ± 3.51	330.98 ± 0.03
100.00	30	50.83 ± 4.82	10.14 ± 2.32[b]	334.47 ± 2.99

注:与 0 相比,[a]$t=3.46$,$P<0.05$;[b]$t=2.16$ 和 -3.28,$P<0.05$.

2.3 蚕豆根系形态的影响

不同质量浓度石墨烯溶液处理后蚕豆幼苗根系形态变化如图 2 所示. 可知,石墨烯质量浓度在 16.67 ~ 33.33 mg/L 时,随着质量浓度的增加,溶液促进蚕豆幼苗根系的生长,即根系长度和根数增加;同时蚕豆幼苗根系结有根瘤的数量和体积也有所增加. 当质量浓度在 50.00 ~ 100.00 mg/L 时,蚕豆幼苗根系的长度和数量及根瘤数量和体积均减少,即溶液抑制蚕豆幼苗根系的发育.

不同质量浓度石墨烯溶液处理后蚕豆幼苗的 3 个根系形态指标详细结果列于表 2. 空白组和实验组蚕豆幼苗根系的总长度分别为(223.51 ± 23.70)和(199.33 ± 21.08 ~ 321.17 ± 11.20)cm. 与空白组相比,20.00、25.00 和 33.33 mg/L 实验组根系总长度增加($t=7.51$、3.17 和 7.45,$P<0.05$),增加到 1.3 ~ 1.4 倍;16.67 和 50.00 mg/L 实验组根系总长度增加但差异无统计学意义($P>0.05$);100.00 mg/L实验组根系总长度显著降低($t=-2.52$,$P<0.05$),降低到 0.9 倍.

空白组和实验组蚕豆幼苗根系总表面积分别为(21.52 ± 1.30)和(18.68 ± 2.07 ~ 22.37 ± 0.31)cm^2. 与空白组相比,20.00 和 33.33 mg/L 实验组根系总表面积增加,但差异无统计学意义($P>0.05$);16.67、25.00 和 50.00 mg/L 实验组根系总表面积降低,但差异无统计学意义($P>0.05$);100.00 mg/L 实验组根系总表面积显著降低($t=-2.85$,$P<0.05$),降低到 0.9 倍.

空白组和实验组蚕豆幼苗根系的总体积分别为(4.47 ± 0.45)和(3.04 ± 0.60 ~ 6.08 ± 1.35)cm^3. 与空白组相比,16.67、20.00、25.00 和33.33 mg/L 实验组根系总体积显著增加($t=2.82$、2.96、2.89 和 2.98,$P<0.05$),增加到 1.1 ~ 1.4 倍;50.00 和 100.00 mg/L 实验组根系总体积显著降低($t=-3.31$ 和 -2.78,$P<0.05$);均下降到 0.7 倍.

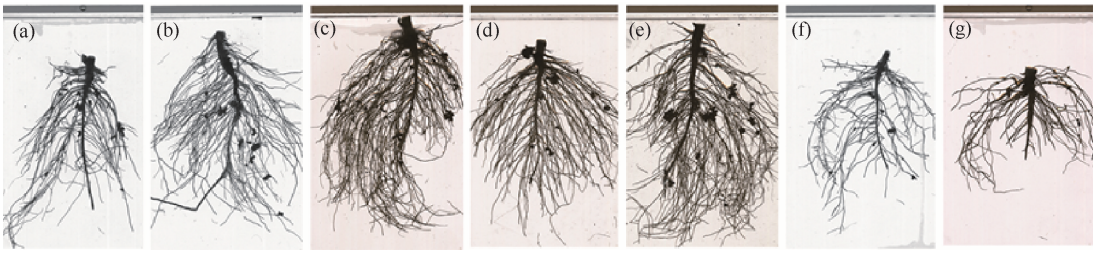


图 2 不同质量浓度石墨烯溶液处理后蚕豆幼苗的根系形态

(a)0;(b) 16.67 mg/L;(c) 20.00 mg/L;(d) 25.00 mg/L;(e) 33.33 mg/L;(f) 50.00 mg/L;(g) 100.00 mg/L

注:黑点表示根瘤.

20.00、25.00 和 33.33 mg/L 石墨烯溶液处理后均会促进蚕豆幼苗根系发育,综合可知 20.00 mg/L 实验组根系指标最佳.

2.4　土壤肥力分析

不同质量浓度石墨烯溶液处理后,蚕豆幼苗根系周围土壤的肥力详细结果列于表 3. 空白组和实验组蚕豆幼苗根系周围土壤的铵态氮质量分数分别为(5.14 ± 0.62)和(5.24 ± 0.40 ~ 8.71 ± 0.25)mg/kg. 与空白组相比,20.00 和 25.00 mg/L 实验组根系周围土壤的铵态氮质量分数显著增加(t = 22.10 和 4.87,P < 0.05),增加到 1.4 ~ 1.7 倍;其他实验组根系周围土壤的铵态氮质量分数均增加,但差异无统计学意义(P > 0.05).

空白组和实验组蚕豆幼苗根系周围土壤的有效钾质量分数分别为(9.55 ± 1.28)和(9.96 ± 2.28 ~ 17.85 ± 2.52)mg/kg. 与空白组相比,20.00、25.00、50.00 和 100.00 mg/L 实验组根系周围土壤的有效钾质量分数显著增加(t = 5.09、3.92、4.44 和 3.36,P < 0.05),增加到 1.3 ~ 1.9 倍;其他实验组根系周围土壤的有效钾质量分数也增加,但差异无统计学意义(P > 0.05).

空白组和实验组蚕豆幼苗根系周围土壤的速效磷质量分数分别为(0.55 ± 0.05)和(0.50 ± 0.24 ~ 1.61 ± 0.83)mg/kg. 与空白组相比,16.67、20.00 和 100.00 mg/L 实验组根系周围土壤的速效磷质量分数显著增加(t = 2.81、2.80 和 2.78,P < 0.05),增加到 1.9 ~ 2.9 倍;33.33 和 50.00 mg/L 实验组根系周围土壤的速效磷质量分数增加,但差异无统计学意义(P > 0.05);25.00 mg/L 实验组根系周围土壤的速效磷质量分数下降但差异无统计学意义(P > 0.05).

16.67 ~ 100.00 mg/L 石墨烯溶液处理后蚕豆幼苗根系周围土壤肥力均会提升,而 20.00 mg/L 实验组根系周围土壤肥力提升最佳.

3　讨　论

本文对蚕豆植株地上和地下 2 部分生长发育指标同时进行研究,结果显示接近于 25.00 mg/L 石墨烯溶液促进效果最佳. 在地上部分的生长指标数据中,25.00 mg/L 石墨烯溶液可以增加蚕豆幼苗株高以及加强叶片光合作用. He 等[8]研究显示 50.00 mg/L 的石墨烯溶液可以增加菠菜的株高,但未解释促进株高发育的原因. 目前,尚未有报道证实石墨烯能否加强植物叶片光合作用,本研究首次

表 2　不同质量浓度石墨烯溶液处理后蚕豆幼苗根系指标情况($\bar{x} \pm s$)

质量浓度/(mg·L^{-1})	株数	总长度/cm	总表面积/cm^2	总体积/cm^3
0	30	223.51 ± 23.70	21.52 ± 1.30	4.47 ± 0.45
16.67	30	273.56 ± 34.51	19.42 ± 2.28	5.73 ± 0.64^c
20.00	30	320.34 ± 10.14^a	22.37 ± 0.31	6.08 ± 1.35^c
25.00	30	291.68 ± 35.91^a	21.39 ± 0.19	5.01 ± 0.95^c
33.33	30	321.17 ± 11.20^a	22.07 ± 0.87	6.07 ± 1.18^c
50.00	30	241.29 ± 67.08	21.11 ± 1.70	3.04 ± 0.60^c
100.00	30	199.33 ± 21.08^a	18.68 ± 2.07^b	3.17 ± 0.67^c

注:与 0 相比,$^a t$ = 7.51、3.17、7.45 和 −2.52,P < 0.05;$^b t$ = −2.85,P < 0.05;$^c t$ = 2.82、2.96、2.89、2.98、−3.31 和 −2.78,P < 0.05.

表 3　不同质量浓度石墨烯溶液处理后蚕豆幼苗根系周围土壤的肥力($\bar{x} \pm s$, mg/kg)

质量浓度/(mg·L^{-1})	株数	铵态氮	有效钾	速效磷
0	30	5.14 ± 0.62	9.55 ± 1.28	0.55 ± 0.05
16.67	30	5.31 ± 0.67	9.96 ± 2.28	1.61 ± 0.83^c
20.00	30	8.71 ± 0.25^a	17.85 ± 2.52^b	1.40 ± 0.97^c
25.00	30	7.16 ± 0.71^a	12.70 ± 0.55^b	0.50 ± 0.24
33.33	30	5.82 ± 1.07	11.10 ± 0.32	0.66 ± 0.33
50.00	30	5.60 ± 1.20	13.94 ± 1.14^b	0.84 ± 0.55
100.00	30	5.24 ± 0.40	13.60 ± 1.65^b	1.05 ± 0.31^c

注:与 0 浓度相比,$^a t$ = 22.10 和 4.87,P < 0.05;$^b t$ = 5.09、3.92、4.44 和 3.36,P < 0.05;$^c t$ = 2.81、2.80 和 2.78,P < 0.05.

揭示了石墨烯溶液能加强蚕豆叶片的光合作用,且 25.00 mg/L 石墨烯溶液增加效果最佳.分析原因可能是,石墨烯骨架是由 C 原子组成的,其表面富含含氧官能团,包括羧基(—COOH)和羟基(—OH),这些官能团能以电荷吸引方式来吸附土壤中的阳离子,包括铵根离子(NH_4^+)和钾离子(K^+)等,间接为植物提供了营养物质,促进其生长发育,包括株高和叶片的光合作用.

在地下部分的生长指标数据中,25.00 mg/L 石墨烯溶液可以促进蚕豆根系的生长发育,包括根系长度和总体积;同时 20.00 与 25.00 mg/L 石墨烯溶液均提升了根系周围土壤的肥力.有研究表明一定质量浓度的石墨烯溶液可以促进植物根系的发育,但是不同植物根系发育的最适浓度不同,比如树莓组培苗[12-13]、禾本科作物藜麦[11]和水稻[17]所需的最佳质量浓度分别为 2.00、4.00 和 5.00 mg/L,表明植物根系响应石墨烯质量浓度存在特异性.乔俊等[18]和隋祺祺等[19]通过土柱淋溶实验证实石墨烯对土壤中的总氮、总磷和总钾有明显的持留效果,提高了 0.6~1.8 倍.这些研究证实了石墨烯溶液施入土壤后,对土壤中的养分有明显的持留效果,可以提升土壤的肥力,进而促进植物根系的生长发育.

本研究结果也表明了 100.00 mg/L 石墨烯溶液会抑制蚕豆植株地上部分和根系的生长发育.Begum 等[20]报道过在 Hoagland 培养基中,1 000.00 mg/L 的石墨烯溶液会导致番茄、红菠菜和卷心菜的根部大量积累活性氧(ROS),并最终抑制这些植物的生长.Liu 等[17]报道 100.00 mg/L 石墨烯溶液会抑制水稻根系和地上部分的生长发育,并减少植株生物量.这些结果均表明了高质量浓度石墨烯溶液具有抑制植物生长发育的效应.

4 结束语

本研究利用不同质量浓度的石墨烯溶液处理蚕豆幼苗根系,证明石墨烯能够影响蚕豆的生长发育.实验证明 25.00 mg/L 石墨烯溶液对蚕豆地上和地下部分均具有促进生长发育作用,可增加蚕豆幼苗株高、净光合速率、总根长和根体积,同时促进土壤铵态氮和有效钾肥的积累等.而石墨烯溶液对蚕豆开花、结果直至死亡的影响是本研究后续的研究方向,同时现有研究缺少石墨烯影响植物生长发育的分子机制分析[21-23],因此,未来可以结合多组学数据和分子生物学手段,解析石墨烯与植物互作的作用机制.

参 考 文 献

[1] LIU X H, WANG J W, HUANG S, et al. In situ atomic-scale imaging of electrochemical lithiation in silicon [J]. Nature Nanotechnology, 2012, 7(11): 749-756.

[2] SHI W, FREDRICKSON G H, KRAMER E J, et al. Mechanics of an asymmetric hard-soft lamellar nanomaterial [J]. ACS Nano, 2016, 10(2): 2054-2062.

[3] PANG H, MA Y, LI G, et al. Facile synthesis of porous ZnO-NiO composite micropolyhedrons and their application for high power supercapacitor electrode materials [J]. Dalton Transactions, 2012, 41(43): 13284-13291.

[4] VALENTINI F, CARBONE M, PALLESCHI G. Carbon nanostructured materials for applications in nano-medicine, cultural heritage, and electrochemical biosensors [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2013, 405(2/3): 451-465.

[5] ZUVERZA-MENA N, MARTINEZ-FERNANDEZ D, DU W, et al. Exposure of engineered nanomaterials to plants: Insights into the physiological and biochemical responses-a review[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2017, 110: 236-264.

[6] CANAS J E, LONG M, NATIONS S, et al. Effects of functionalized and nonfunctionalized single-walled carbon nanotubes on root elongation of select crop species[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2008, 27(9): 1922-1931.

[7] ZHANG M, GAO B, CHEN J, et al. Slow-release fertilizer encapsulated by graphene oxide films [J]. Chemical Engineering Journal, 2014, 255: 107-113.

[8] HE Y, HU R, ZHONG Y, et al. Graphene oxide as a water transporter promoting germination of plants in soil[J]. Nano Research, 2018, 11(4): 1928-1937.

[9] HE Y, QIAN L, LIU X, et al. Graphene oxide as an antimicrobial agent can extend the vase life of cut flowers[J]. Nano Research, 2018(11): 6010-6022.

[10] 姚建忠, 张占才, 薛斌龙, 等. 石墨烯对欧洲山杨组培苗不定根表观形态影响作用的研究[J]. 山西大同大学学报(自然科学版), 2018, 34(5): 6-9.

[11] 郭绪虎, 赵建国, 温日宇, 等. 石墨烯对藜麦幼苗根系形态及生物量的影响[J]. 山西农业科学, 2019, 47(8): 1395 – 1398.
[12] 胡晓飞, 赵建国, 高利岩, 等. 石墨烯对树莓组培苗生长发育影响[J]. 新型碳材料, 2019, 34(5): 447 – 454.
[13] 薛斌龙, 胡晓飞, 姚建忠, 等. 氧化石墨烯对盐胁迫下树莓组培苗生长及生理特征的影响[J]. 山东林业科技, 2019(4): 23 – 28.
[14] WANG X P, LIU C X, LI H Q, et al. Metabonomics-assisted label-free quantitative proteomic and transcriptomic analysis reveals novel insights into the antifungal effect of graphene oxide for controlling *Fusarium graminearum* [J]. Environmental Science: Nano, 2019, 6(11): 3401 – 3421.
[15] LAHROUNI M, OUFDOU K, FAGHIRE M, et al. Cyanobacterial extracts containing microcystins affect the growth, nodulation process and nitrogen uptake of faba bean (*Vicia faba* L., Fabaceae) [J]. Ecotoxicology, 2012, 21(3): 681 – 687.
[16] ZHAO J, GUO Y, LI Z, et al. An approach for synthesizing graphene with calcium carbonate and magnesium [J]. Carbon, 2012, 50(13): 4939 – 4944.
[17] LIU S, WEI H, LI Z, et al. Effects of graphene on germination and seedling morphology in rice [J]. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2015, 15(4): 2695 – 2701.
[18] 乔俊, 赵建国, 解谦, 等. 纳米炭材料对作物生长影响的研究进展[J]. 农业工程学报, 2017, 33(2): 170 – 178.
[19] 隋祺祺, 焦晨旭, 乔俊, 等. 石墨烯溶胶配施化肥对土壤中养分流失的影响[J]. 水土保持学报, 2019, 33(1): 41 – 46.
[20] BEGUM P, IKHTIARI R, FUGETSU B. Graphene phytotoxicity in the seedling stage of cabbage, tomato, red spinach, and lettuce [J]. Carbon, 2011, 49(12): 3907 – 3919.
[21] NAIR R, MOHAMED M S, GAO W, et al. Effect of carbon nanomaterials on the germination and growth of rice plants [J]. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2012, 12(3): 2212 – 2220.
[22] CANAS J E, LONG M, NATIONS S, et al. Effects of functionalized and nonfunctionalized single-walled carbon nanotubes on root elongation of select crop species [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2008, 27(9): 1922 – 1931.
[23] YAN S, ZHAO L, LI H, et al. Single-walled carbon nanotubes selectively influence maize root tissue development accompanied by the change in the related gene expression [J]. Journal of Hazardous Materials, 2013, 246/247: 110 – 118.

Effects of Graphene on the Growth and Development of *Vicia faba* L.

LIU Zehui[2] CHEN Zhiwen[1] ZHAO Jianguo[1,2] GU Ling[2] QIAO Jun[2] WANG Haiyan[2]
XING Baoyan[1] QIAO Yuying[1] RUAN Mingli[1] YANG Xiaofeng[1]

(1. Institute of Carbon Materials Science, Shanxi Datong University, Datong Shanxi 037009;
2. College of Chemistry and Environment Engineering, Shanxi Datong University, Datong Shanxi 037009)

Abstract: To explore the optimal concentration of graphene to promote the growth and development of *Vicia faba* L., the seeds were randomly divided into the blank and experimental groups in this study, the roots of *Vicia faba* L. seedlings were watered by different mass concentrations (0 – 100.00 mg/L) of graphene solutions. By evaluating the growth and development indexes of *Vicia faba* L. and the soil fertility of roots, the best mass concentration of graphene solution was selected. Compared with the blank group, the plant height and leaves photosynthesis of the 25.00 mg/L graphene solution experimental group increased significantly ($t = 3.46$, 2.16, $P < 0.05$); the total root length and volume of the 20.00 and 25.00 mg/L graphene solution experimental groups increased significantly ($t = 2.89 – 7.51$, $P < 0.05$), and there was no significant difference in the total specific surface area of roots ($P > 0.05$); the content of ammonium nitrogen and available potassium of the 20.00 and 25.00 mg/L graphene solution experimental groups increased significantly ($t = 3.92 – 22.10$, $P < 0.05$). In summary, the 25.00 mg/L graphene solution had the best effect on the growth and development of *Vicia faba* L. seedlings.

Keywords: *Vicia faba* L.; graphene; root architecture; root activity; net photosynthetic rate; soil fertility