

海州香薷对铜的蓄积及铜的毒性效应

李锋民^{1,2}, 熊治廷², 胡洪营¹ (1. 清华大学环境科学与工程系 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084; 2. 武汉大学环境科学与工程系, 武汉 430072)

摘要: 研究了不同浓度铜对海州香薷的毒性及海州香薷对铜的蓄积. 结果表明 0.5 mmol/kg 的铜能促进海州香薷的生长, 使其生物量增大. 低浓度的 Cu^{2+} 使叶绿素 a 含量上升, 而高浓度 Cu^{2+} 则使叶绿素 a 下降, 但 Cu^{2+} 对叶绿素 b 的影响并不明显. 反映到 a/b 上则表现为低浓度下 Cu^{2+} 处理会提高 a/b 值. 海州香薷的蓄铜浓度随土壤中铜浓度的增加而升高, 可达 1500 mg/kg, 达到了超量积累植物的标准. 铜对 SOD、POD 活性的影响也表现为低浓度的刺激效应和高浓度的抑制效应, 最高值出现在 0.5 mol/kg.

关键词: 海州香薷; 铜毒性; 铜蓄积

中图分类号: X173 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2003)03-05-0030

Copper Toxicity and Accumulation in *Elsholtzia splendens*

Li Feng min^{1,2}, Xiong Zhiting², Hu Hongying¹ (1. ESPC State Key Joint Laboratory, Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 2. Dept. of Environmental Science and Engineering, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract: *Elsholtzia splendens* is the most widely distributed copper tolerant plant in the areas along the middle and lower streams of the Yangtze River, China. Copper toxicity and accumulation in *Elsholtzia splendens* were investigated. The result showed that copper content of 0.5 mmol/kg solution promoted *Elsholtzia splendens* growth and increased dry mass production. Low concentration copper increased the content of chlorophyll a while high concentration copper decreased it, but copper had very low influence on the content of chlorophyll b. Copper bioaccumulations agree to the copper concentrations in soil, the max was 1500 mg/kg. SOD and POD activities were enhanced by low concentrate copper and restrained by high concentrate copper.

Keywords: *Elsholtzia splendens*; copper toxicity; copper bioaccumulation

海州香薷 (*Elsholtzia splendens* Nakai ex F. Maekawa) 属唇形科, 香薷属, 是我国长江中下游地区废铜矿石堆上常见的优势植物, 对铜有较高的耐性和强蓄积能力^[1]. 铜胁迫会使植物生理生化过程发生变化, 反映在: 植物株高、生物量会发生变化; 植物的光合色素也会因重金属的胁迫而遭到破坏或抑制^[2]. 许多研究表明^[3], 铜污染物可通过对植物光合色素的破坏或抑制其合成影响光合作用, 从而产生毒性. 铜进入细胞后能直接或间接启动膜脂的过氧化作用, 导致膜的损伤和破坏^[4]. 同时能改变植物体内抗氧化酶系统的活性^[5,6]. 研究重金属对海州香薷抗氧化体系的影响, 有利于揭示海州香薷对铜毒害的抗性机制. 植物对重金属的蓄积能力是植物修复的应用基础, 尤其是超量积累植物 (hyperaccumulator) 的概念提出后, 人们对植

物的蓄积能力更加重视. 铜在植物体内的分布是判断一种植物是否是超量积累植物的标准, 只有那些地上部分含铜量达到 1000 mg/kg 以上的植物才称为超量积累植物^[7]. 海州香薷能否达到超量积累植物的标准并应用于铜污染土壤的植物修复, 海州香薷对铜的耐性机理是什么等问题仍没有系统地研究. 本文研究了在不同浓度的铜处理下海州香薷蓄积铜的能力, 通过铜对海州香薷超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶 (Peroxidase, POD) 活性、根系活力、叶绿素含量影响的研究力图揭示海州香薷耐铜机制, 为将海州香薷应

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (29877021); 湖北省自然科学基金资助项目 (99J095)

作者简介: 李锋民 (1975 ~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为环境生物学.

收稿日期: 2002-09-05; 修订日期: 2002-11-26

用于铜污染土壤的植物修复提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料

海州香薷,种子采自湖北大冶铜绿山古铜矿.土壤采自武汉大学珞珈山,风干,过 2 mm 筛.土壤基本性质为:棕壤,pH = 5.8,有机质含量 = 3.07%,离子交换容量 CEC = 31.6 cmol/kg,铜含量为 7.6 ± 0.1 mg/kg

1.2 植物培养及处理

海州香薷(*Elsholtzia splendens*)种子用甲醛消毒后播种(土培,每碗中土壤为 200 g),培养 1 月后间苗,使每个碗中植物为 8 棵且长势均匀.培养 3 d 和 7 d 时测定叶绿素含量、根系活力、SOD、POD 活性.其余的栽培染铜继续培养 14 d 后测定生物量和铜含量.铜浓度设为 0, 0.1, 0.5, 1, 2, 4 mmol/kg 干土.每天浇蒸馏水,每 3 天用 Hoagland 完全培养液施肥 1 次.每个处理 3 个重复.

1.3 分析项目与分析方法

(1) 植物生物量 将地上部与地下部分离,经 80 ℃ 72 h 烘干分别测定每株苗重(W_S)和根重(W_R)及总重(W_T).

(2) 叶绿素含量 比色法测定叶绿素含量^[8].

(3) 铜含量 WF-5 单光束原子吸收分光光度计测定铜含量^[8].

(4) 根系活力的测定^[8] α -萘胺氧化法测定根系活力,以每 g 根系 1 h 氧化的 α -萘胺量 [$\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$]表示.

(5) 过氧化物酶活性的测定^[9] Evans 改进的方法测定 POD 活性,以每 min 光密度变化值表示酶活性大小,即以 $\Delta D_{470}/(\text{min}\cdot\text{g})$ 表示(FW).

(6) 超氧化物歧化酶活性测定^[10] Giannoplities C N 的方法测定 SOD 活性,以 $\Delta A/(\text{g}\cdot\text{min})$ 表示酶活力.

2 结果与分析

2.1 铜胁迫对海州香薷生物量的影响

对比各处理组的植物平均株重可以发现,染铜后平均根重与苗重的最大值都出现在

0.5 mmol/kg 干土的处理组;生物量比对照组还要大,说明 0.1 mmol/kg 和 0.5 mmol/kg 的铜处理能够刺激海州香薷的生长.而高浓度的铜(大于 1 mmol/kg)则抑制了植株的生长.从染铜后 14 d 内生物量的变化看,低浓度处理组和对照组生物量都比染毒前增大了.但 2 mmol/kg 和 4 mmol/kg 2 个处理组的生物量反而降低了(增量为负值),说明此时生物同化作用的速率低于生物异化作用的速率.同化作用速率降低主要是光合作用受抑制的结果.而光合作用受抑制表现在 2 个方面:一方面过量的铜破坏了叶绿体类囊片的膜结构,同时抑制了叶绿素的合成.另一方面铜影响了光合作用过程中暗反应速率.这是因为 Cu^{2+} 改变了 PSII 的原初电子受体 Q_A 的氧化还原电位,从而抑制了 PSII 过程^[11,12].

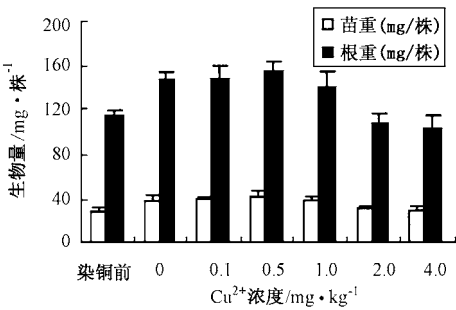


图 1 土壤中铜含量对海州香薷生物量的影响
Fig.1 Effects of copper concentration in soil on the biomass of *E. splendens*

2.2 海州香薷蓄铜能力分析

从野外标本含铜分析和幼苗含铜分析可以发现海州香薷对铜有很高的蓄积能力,当环境中 Cu^{2+} 含量较高时地上部分铜含量可达 1000 mg/kg 以上.表 1 列出了不同浓度 Cu^{2+} 处理海州香薷的含铜量.土壤中有有效态 Cu^{2+} (HCl 有效态)及二者相关性.土壤有效态铜与根苗中 Cu^{2+} 含量的相关性方程如(1)~(3):

土与根: $y = 7.81x + 822.2 \quad r_1 = 0.885$ (1)

土与苗: $y = 7.38x + 382.3 \quad r_2 = 0.980$ (2)

根与苗: $y = 0.774x - 176.4 \quad r_3 = 0.906$ (3)

由相关性分析可以看出,随着土壤中有效态铜的增加,植株内蓄积的铜含量也增加,二者

表 1 不同浓度 Cu²⁺处理海州香薷的含铜量/ mg·kg⁻¹

Table 1 Effects of Cu²⁺ concentration in soil on copper content in *E. splendens* / mg·kg⁻¹

Cu ²⁺ 含量	处理 Cu ²⁺ 浓度/ mg·kg ⁻¹					
	CK	0.1	0.5	1	2	4
有效态 Cu ²⁺	7.6 ±0.1	11.3 ±0.1	30.6 ±0.3	44.7 ±1.2	96.5 ±2.0	156.8 ±3.5
根中 Cu ²⁺	496.2 ±220.9	1201.7 ±115.9	1057.6 ±215.1	1369.9 ±283.3	1465.7 ±89.7	2056.6 ±316.7
苗中 Cu ²⁺	331.9 ±89.6	416.2 ±24.8	654.3 ±99.7	835.2 ±204.4	1153.6 ±244.4	1468.7 ±158.6

是有良好的相关性,尤其是有效铜与苗中铜含量为极显著相关.土壤中有有效铜含量与根中铜含量显著相关.植物中 Cu²⁺ 蓄积量受许多因素影响,如土壤的理化状况,植物种类,土壤中有有机质含量,以及温度、降水等.由以上分析可见,当植物种类确定时,土壤中有有效态铜含量将影响植物蓄铜能力.土壤中有有效态铜与总铜、腐殖质等螯合剂、其它金属离子以及植物根系的活性有关.海州香薷在野外生长时地上部分含铜量一般在 300 mg/kg 左右^[13].笔者认为这是因为其生境土壤中虽然总铜量很高,但有效态铜含量很低的原因(大冶铜绿山矿总铜达 10000 mg/kg 以上,但有效铜最低为 6.5 mg/kg).已有文献报道在适宜的环境下海州香薷的蓄铜能力能得到强化^[14].

2.3 铜胁迫对海州香薷叶绿素含量的影响

抑制叶绿素合成及破坏叶绿体结构是

Cu²⁺ 植物毒性的重要原因之一^[15].表 2 揭示了 Cu²⁺ 对海州香薷叶绿素含量的影响.叶绿素含量的基本变化规律是随 Cu²⁺ 浓度的升高,叶绿素 a 含量先升高后降低.染 Cu²⁺ 后第 3 天叶绿素 b 呈下降趋势,但叶绿素总量(Tchl)仍呈先升后降的.而 a/b 则基本是变大的,说明叶绿素 a 占的比例是增加的.在染 Cu²⁺ 后第 7 天,叶绿素 a 的含量在低 Cu²⁺ 处理下已恢复至与对照组含量相近,仅 2 个高浓度 Cu²⁺ 处理组的叶绿素 a 明显降低,但叶绿素 b 的变化不明显.因而叶绿素总量的变化规律与叶绿素 a 的变化规律基本一致.对比 2 次测定的结果可以发现,Cu²⁺ 浓度即使很低(0.1、0.5 mmol/kg)在短时间内也会明显影响到叶绿素含量,但随时间的推移,这种影响会逐渐变弱.高浓度的 Cu²⁺ 会降低叶绿素含量,并且这种影响会维持较长时间.

2.4 Cu²⁺ 对海州香薷根系活力的影响

表 2 Cu²⁺ 浓度对海州香薷叶绿素含量的影响

Table 2 Effects of Cu²⁺ concentration on chlorophyll content in *E. splendens* leaf

作用时间/d	叶绿素	Cu ²⁺ 处理浓度/ mmol·kg ⁻¹					
		0	0.1	0.5	1	2	4
3	Chla	0.56	1.60	1.71	1.52	1.41	1.33
	Chlb	0.59	0.62	0.55	0.47	0.44	0.48
	Tchl	2.01	2.22	2.26	1.99	1.85	1.81
	a/b	2.64	2.58	3.11	3.23	3.20	2.77
7	Chla	1.47	1.51	1.44	1.45	1.36	1.24
	Chlb	0.53	0.56	0.51	0.48	0.48	0.53
	Tchl	2.00	2.01	1.95	1.93	1.84	1.77
	a/b	2.77	3.02	2.82	3.02	2.83	2.34

由图 2 可以看出,Cu²⁺ 的加入可以明显影响海州香薷的根系活力.第 3 天时,随着土壤中 Cu²⁺ 含量的增加,根系活力下降明显,当土壤中总 Cu²⁺ 达到 2 mmol/kg 干土时,根系活力从对照组的 839.6 下降到 351.6,下降幅度达 60%.经过 7d 培养后可发现,各染 Cu²⁺ 组根系活力

都有一定程度的恢复,低浓度处理组恢复得较为明显.从图 2 中还可发现,0.1 和 0.5 mmol/kg 干土 2 个处理组根系活力在第 7 天时都超过了对照组,这说明在较低浓度 Cu²⁺ 处理下,海州香薷根系受抑制发生在较短时间内,在经历短暂抑制后,低浓度 Cu²⁺ 对海州香薷根系活力还

有一定促进作用.

对土壤中总铜((4)(5))/有效铜(6)(7)与根系活力进行一元线性回归分析,回归曲线分别见(4)~(7):

$$y = -127.7x + 756.0 \quad r_1 = -0.883 \quad (4)$$
$$y = -128.0x + 819.7 \quad r_2 = -0.921 \quad (5)$$
$$y = -3.46x + 794.5 \quad r_3 = -0.912 \quad (6)$$
$$y = -3.43x + 856.4 \quad r_4 = -0.942 \quad (7)$$

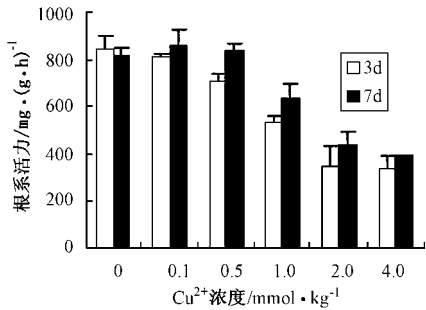


图2 Cu²⁺浓度对海州香薷根系活力的影响
Fig.2 Cu²⁺ Concentration effects on root activities
of *E. splendens*

其中(4)和(6)达到显著性相关($p < 0.05$), (5)和(7)达到极显著相关($p < 0.01$).由4条相关曲线可发现,培养7d后根系活力与总Cu²⁺或有效Cu²⁺的相关性大于培养3d时的相关性.

2.5 Cu²⁺胁迫对海州香薷 POD 活性的影响

图3揭示了染Cu²⁺后不同时间Cu²⁺对海州香薷地下部(根)和地上部(苗)内POD活性的影响.Cu²⁺的施入,极大地影响了POD的活性.在低浓度下,Cu²⁺使植物体内POD活性显著地提高,在0.5mmol/L时POD活性达最大值;随着Cu²⁺浓度的继续升高,POD活性则降低.由图3可以看出,染Cu²⁺后第3天,根内POD活性即发生明显变化,但苗部POD活性变化不太显著,到第7天时,苗中POD活性发生了明显变化.这是由于根部是最先接触Cu²⁺,并受Cu²⁺影响的部位.而Cu²⁺到达地上部需一定时间,且地上部Cu²⁺浓度较低,因而,POD活性的变化要稍滞后于根部.POD与植物抗病性关系密切,一般认为外源诱导因子作用于植物后,该酶活性会迅速上升^[16].但本文结果却显示,在较低剂量诱导因子作用下,POD活性

会逐渐升高;但若诱导因子超过1mmol/kg干土时,POD活性即成下降趋势,这可能是因为Cu²⁺直接或间接地抑制POD的合成或破坏酶分子结构从而降低其含量与活性.

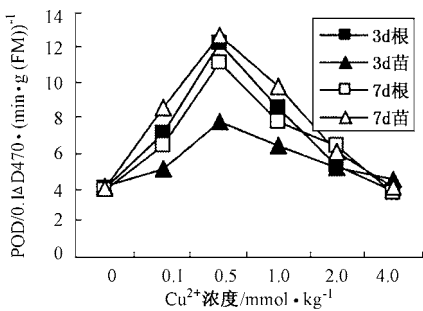


图3 Cu²⁺浓度对海州香薷 POD活性的影响
Fig.3 Effects of Cu²⁺ concentration on POD activities
of *E. splendens*

2.6 Cu²⁺胁迫对海州香薷 SOD 活性的影响

SOD作为植物体内清除体内超氧阴离子自由基(O₂^{·-})的主要酶系之一,其含量与活性都易受环境中诱导因子的影响.如图4所示,植物体内SOD活性在低Cu²⁺处理下逐渐升高,在高Cu²⁺时又逐渐下降,一般在0.5mmol/kg干土的Cu²⁺处理下达到最大值.对比4条曲线还可发现,第3天时苗中SOD活性变化较小,而此时根中SOD活性却变化最大,其原因可能与POD变化相同,即第3天时Cu²⁺仅有少量到达地上部,其影响也滞后.在低浓度的Cu²⁺作用下,海州香薷的SOD、POD活性均升高,从而减轻Cu²⁺引起的氧化胁迫的毒害作用,这可以看作是海州香薷对高铜土壤的一种适应机制.而

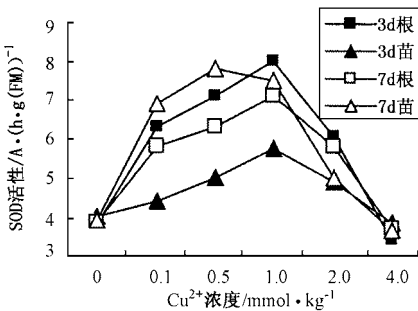


图4 不同浓度Cu²⁺对海州香薷 SOD活性的影响
Fig.4 Effects of Cu²⁺ concentration on SOD activities
of *E. splendens*

过高浓度的 Cu^{2+} 则使 SOD、POD 活性下降,显示了 Cu^{2+} 对植物的毒害作用.植物体内的抗氧化酶与活性氧可认为是一种平衡体系,在一定范围内,外来因子(如重金属、干旱、光胁迫等)会引起活性氧浓度升高,与之相适应,抗氧化酶系的活性亦升高以维持固有的平衡.但若外来因子的强度超过了此平衡得以维持的极限,则平衡被打破,并使酶蛋白本身亦受到抑制.这就是低浓度的 Cu^{2+} 使 SOD、POD 活性上升,而高浓度则下降的原因^[17,18].

综上所述,在较低浓度 Cu^{2+} 作用下(0.1, 0.5 mmol/kg)海州香薷的生长受到促进,反映在生物量、叶绿素含量、根系活力的增加上.同时,植物体内 POD 和 SOD 在一定范围内随 Cu^{2+} 浓度的增加而升高,缓解了 Cu^{2+} 的毒性为植株的正常生长提供保障.当 Cu^{2+} 浓度超过海州香薷的耐受限度,其生长就受到抑制.

3 结论

(1) 海州香薷能大量蓄积铜.植物含铜量随土壤中水溶性铜含量的增加而升高,当土壤中 Cu^{2+} 为 96.5 g/kg 时植物体内铜含量已经超过 1000 mg/kg,已经达到超量积累植物的标准.

(2) 海州香薷叶绿素含量受土壤中铜含量的影响.在低浓度下,铜使叶绿素含量升高;随着铜浓度继续增大,叶绿素含量下降.

(3) 土壤中铜含量能降低海州香薷的根系活力,但 Cu^{2+} 浓度小于 0.5 mmol/kg 时根系活力变化不大,大于 1 mmol/kg 时根系活力迅速下降.根系活力与土壤中有效铜浓度的相关性比总铜更好.

(4) 低浓度的铜能提高 SOD 和 POD 活性,高浓度的铜则使酶活性降低.

参考文献:

- 姜理英,石伟勇,杨肖娥等.铜矿区超量积累 Cu 植物的研究.应用生态学报,2002,13(7):906~908.
- Teisseire H, Couderchet M, Vernet G. Phytotoxicity of diuron alone and in combination with copper of foalpet on duckweed (*Lemma minor*). Environ. Pollution, 1999, 106: 39~45.
- De Vos C H R, Schat H, Vooijs R et al. Copper-induced damage to the permeability barrier in roots of *silene cubab*. J. Plant Physiol., 1989, 135: 164~169.
- 王建华,刘鸿先,徐同.超氧化物歧化酶(SOD)在植物逆境和衰老生理中的作用.植物物理学通报,1989,(1): 1~7.
- Scandalios S G. Oxygen stress and superoxide dismutases. Plant Physiol., 1993, 101: 7~13.
- Seel W E, Hendry G A F, Lea J A. Effects of desiccation on some activated oxygen processing enzymes and antioxidants in mosses. J. Exp. Botany, 1992, 43: 1031~1037.
- Brooks R R, Lee J, Reeves R D et al. Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. J. Geochem. Explor., 1977, 7: 49~57.
- 华东师范大学生物系植物生理教研组主编.植物生理学实验指导.北京:人民教育出版社,1981.68~70.
- Evans S S. The distribution of peroxidase in extreme dwarf and normal tomato. Phytochemistry, 1965, 4: 449~503.
- Giannopolitis C N and Ries S K. Superoxide dismutase purification and quantitative relationship with water soluble protein in seedling. Plant Physiol., 1977, 59: 315~318.
- Chettri M K, Cook C M, Vandaka E et al. The effect of Cu, Zn and Pb on the chlorophyll content of the lichens *cladonia convoluta* and *cladonia rangifonnis*. Environ. and Experi. Botany, 1998, 39: 1~10.
- 李建宏,邵子厚,曾昭琪. Cu^{2+} 对蓝藻 *Spirulina maxima* 光合作用的抑制机理.植物生理学报,1997,23(1): 77~82.
- Tang S R, Wilke B M, Brooks R R. Heavy metal uptake by metal-tolerant *Elsholtzia haichowensis* and *Commelina communis* from China. COMMUNICATIONS IN SOIL SCIENCE AND PLANT ANALYSIS, 2001, 32 (5-6): 895~905.
- Ouzounidou G. Copper-induced changes on growth, methal content and photosynthetic function of *Alyssum montanum* L. plants. Environ. and Experi. Botany, 1994, 34: 165~172.
- Tang S R, Wilke B M, Huang C Y. The uptake of copper by plants dominantly growing on copper mining spoils along the Yangtze River, the People's Republic of China. PLANT AND SOIL, 1999, 209 (2): 225~232.
- 张宗申,彭新湘,姜子德等.非生物诱抗剂草酸对黄瓜叶片中过氧化物酶的系统诱导作用.植物病理学报,1998, 28(1): 145~150.
- 王海华,曾富华,康健等.镍处理对水稻叶片 H_2O_2 积累和抗病的诱导效应.植物生理学报,2001, 27(1): 61~65.
- Kar P K, Choudhuri M A. Possible mechanisms of light-induced chlorophyll degradation in senescing leaves of *Hydrilla verticillata*. Plant Physiol., 1987, 70: 729~734.