

不同铜水平下玉米细胞内铜的分布和化学形态的研究

司江英, 赵海涛, 汪晓丽, 姚彩艳, 邓桂芳, 封克

(扬州大学江苏省作物遗传生理重点实验室, 江苏 扬州 225009)

摘要:运用差速离心法和化学试剂逐步提取法分析了铜在玉米细胞内的分布和存在的主要化学形态。结果表明,从含量上看,细胞壁和细胞溶质部分是铜在玉米细胞内分布的主要位点,细胞核、叶绿体及线粒体等细胞器中铜的含量较低。对照和 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Cu}$ 处理的玉米根部中,铜主要分布在细胞壁区域,其次为细胞溶质部分。随着铜浓度的升高,铜向细胞壁部分的分配减少,而向细胞溶质部分的分配增加。在茎中,就不同铜浓度处理来说,亚细胞组分中铜的含量均以细胞溶质部分的值最高,其次为细胞壁部分。而在叶中,均以细胞壁部分的值最高,其次为细胞溶质部分。就铜的存在形态而言,对照处理的根部主要以 HCl 提取态铜为主,茎和叶中铜以多种化学形态存在。 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Cu}$ 处理时,根部铜仍以 HCl 提取态为主,而茎和叶中以 NaCl 提取态占优势。随着铜浓度的升高,根部和叶部的铜均主要以乙醇提取态为主,而茎中 20 和 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 铜处理主要以 NaCl 提取态铜为主, $80 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu 处理时主要以去离子水提取态铜和 NaCl 提取态铜为主。

关键词: 玉米;铜;亚细胞分布;化学形态

中图分类号: X173 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2008)02-0452-05

Effects of Different Copper Levels on Subcellular Distribution and Chemical Forms of Copper in Maize Cells

SI Jiang-ying, ZHAO Hai-tao, WANG Xiao-li, YAO Cai-yan, DENG Gui-fang, FENG Ke

(Jiangsu Provincial Key Laboratory of Crop Genetics and Physiology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: The differential centrifugation technique and sequential chemical extraction method were used to study the subcellular distribution and chemical forms of copper in the roots, leaves and stems of maize. Results showed that copper was mainly bound to cell walls and soluble fraction, and little found in the cell organelle fraction in maize cells. Copper content in cell walls was more than that in the soluble fraction in the control and $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Cu}$ -treatment roots. With the elevation of copper concentrations in solution, distribution of copper was reduced in cell wall fraction and increased in the soluble fraction. Copper content in soluble fraction was highest in subcellular parts under different copper concentrations in maize stems, whereas that in cell wall fraction came next. On the contrary, copper was mainly distributed in cell wall fraction under different copper concentrations in leaves. Chemical forms of copper in roots, stems and leaves of maize were significantly different at different copper levels. HCl extractable copper was the main form in roots while several copper forms were observed in shoots under the control condition. HCl extractable copper was still superior to other forms in roots and NaCl extractable copper was advantageous in shoots at $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Cu}$. Ethanol extractable copper became dominant in roots and leaves with the increase of copper supply. NaCl extractable copper mainly existed in stems at 20 and $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu while water and NaCl extractable copper was most at $80 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu.

Keywords: maize; copper; subcellular distribution; chemical forms

铜是植物生长发育所必需的微量营养元素,它是多酚氧化酶、细胞色素氧化酶及抗坏血酸氧化酶等多种酶类的组成成分之一^[1-3]。然而,过量的铜会对植物

产生毒害作用^[4]。近年来,由于铜矿的开采和含铜农药的大量使用,以及生活污水的排放,造成土壤中活性铜含量大幅度增加,已成为土壤中主要重金属污染物之一。从 20 世纪 70 年代开始,众多研究人员发现,铜对植物的毒性作用不仅取决于其总量的多少,且与它在植物组织和细胞中的分布特点有关。铜在植物体内的分布受到其存在形态的影响。虽然植物体内的铜一般均以多种复杂的形态同时存在,但不同植物的不同生长发育阶段和不同部位,铜的形态及分布特征都不

收稿日期:2007-04-30

基金项目:国家重点基础研究发展计划项目(973-G1999011800);
江苏省教育厅高校自然科学基金研究项目(06KJD
210124)

作者简介:司江英(1975—),女,新疆伊犁人,博士研究生,主要从事植物根系形态与营养吸收研究。

联系作者:封克 E-mail: fengke@yzu.edu.cn

相同,进而在活性和迁移能力等方面都存在着显著差异^[5-8]。因此,对植物体内铜的存在形态和分布特征进行探讨,将有利于搞清铜的毒害机理和发现植物的耐铜机制,对铜污染土壤的植物修复具有重要意义。

玉米是一种重要的禾本科作物,也是对重金属铜反应相当敏感的一种作物,其较大的生物量使其有可能将吸入体内的铜加以稀释,而在食用部分的积累较少,因此是一种值得关注的植物。然而有关玉米对铜的反应机理和铜在玉米体内的分布特征还少有报道。本文对玉米细胞内铜的形态、含量及分布状况进行了研究,重在探讨铜在玉米体内的分布规律及化学形态特征与玉米耐铜性的关系,为研究植物耐铜的生理和分子机理提供一定的参考。

1 材料方法

1.1 供试材料

试验采用的玉米(*Zea mays* L.)品种为苏玉19。种子经 $10\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}\text{NaClO}$ 溶液消毒30 min,经自来水冲洗后,在 $0.2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{CaSO}_4$ 溶液中浸泡24 h进行催芽。种子露白后播在石英砂上,用 $0.2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{CaSO}_4$ 溶液保持种子湿润,在LRH-250-G光温培养箱中培养。7 d后将玉米幼苗移入营养液并置于光照培养室中生长。温度为 $25\text{ }^\circ\text{C}$,每天光照12 h,光强为 $4\ 000\text{ lx}$ 。营养液组成为($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$): $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 945, KNO_3 607, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 115, $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 493, Fe-EDTA 5.57, H_3BO_3 2.86, $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.08, $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.22, $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.81, $\text{H}_2\text{MoO}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.09。培养期间,每天早晚用稀NaOH和稀HCl调节营养液pH值至6.0,每天间歇通气2 h,每3 d更换一次营养液。苗龄为28 d时,分别在营养液中设5个不同的铜浓度处理,即对照(完全营养液中正常的铜浓度为 $0.32\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、1、20、50、 $80\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,每个铜处理水平设3个平行的重复。铜以 CuSO_4 的形式供给,其他营养成分不变,铜处理后的幼苗管理同上。

不同浓度铜处理7 d后取样。先反复用自来水把根部冲洗干净,并将根放在 $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 溶液中浸泡3 h以除去表面吸附的 Cu^{2+} ,再用去离子水反复冲洗干净。吸干表面水分后将样品分为根、茎和叶3部分备用。

1.2 植物亚细胞组分的分离

采用差速离心法对不同的细胞组分进行分离^[9]。准确称取5.00 g鲜样,加入 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Tris-HCl}$ 的缓冲液(pH7.4,料液比为1:10)后研磨匀浆,匀浆

液在600 g下离心10 min,沉淀为含细胞壁的残渣部分。上清液在1 000 g下离心15 min,沉淀为含细胞核和叶绿体部分;上清液在10 000 g下离心20 min,沉淀为线粒体部分;上清液为含蛋白的细胞溶质部分。全部操作在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下进行。

1.3 植物体内铜形态分析

参照许嘉琳等的方法^[10],对植物体内不同形态重金属进行逐步提取。提取剂及顺序依次为:(1)80%乙醇:提取以硝酸盐,氯化物为主的无机盐以及氨基酸等。(2)去离子水:提取水溶性有机酸盐,重金属的一代磷酸盐等。(3) $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氯化钠溶液:提取果胶酸盐,与蛋白质结合或呈吸着态的重金属等。(4)2%醋酸:提取难溶于水的重金属磷酸盐,包括二代磷酸盐,正磷酸盐等。(5) $0.6\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸:提取草酸盐等。

提取方法:准确称取2.00 g鲜样置于烧杯中,加入20 mL提取剂,使样品保持浸透状态,并在 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温箱内放置18 h后回收提取液。再在放置样品的烧杯中加入同样体积的同样提取剂,浸取2 h后再回收提取液,并连续再重复提取2次,即在24 h内共进行4次提取。集4次提取液(共150 mL)于烧杯中。

1.4 植物体内铜含量的测定

分别将植物亚细胞组分的分离物和铜形态分析的提取液蒸发至近干后,用 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ 消煮,原子吸收分光光度计法测定铜的含量。

1.5 统计方法

统计分析采用SPSS13.0统计分析软件,对照和处理间的差异显著性使用单因素多重比较分析,采用新复极差法(LSD)。

2 结果分析

2.1 不同铜浓度处理下铜在玉米细胞内的分布

由表1显示,在对照和 $1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Cu}$ 处理下,铜在根亚细胞各组分中的含量大小趋势均为细胞壁部分>细胞溶质部分>细胞核和叶绿体部分>线粒体部分,其中前两者之和占总量的比率超过了60%,而20、50和 $80\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 铜浓度时,根亚细胞各组分中铜含量的大小趋势为细胞溶质部分>细胞壁部分>细胞核和叶绿体部分>线粒体部分,其中细胞溶质部分中的铜含量占总量的比率超过了50%以上,细胞壁部分中的铜含量占总量的比率超过了30%以上,细胞核和叶绿体部分及线粒体部分中铜的含量极少,二者之和仅约占总量不足10%。铜在茎亚细胞组分中的含量,不同铜浓度处理均以细胞溶质部分中的值最高,

占总量的34%~37%,其次为细胞壁部分中的铜含量,占总量的23%~30%,细胞核和叶绿体部分及线粒体部分中铜的含量较低,但与根相比,二者的含量随着铜浓度升高明显上升,二者之和占总量的比率超过了30%。铜在叶亚细胞组分中的含量,不同铜浓度处理均以细胞壁部分中的值最高,占总量的36%~58%,其次为细胞溶质部分中的铜含量,占总量的21%~29%,细胞核和叶绿体部分及线粒体部分中铜的含量仍旧较低。不同铜浓度处理间,仅根部在高的铜浓度处理(20、50和80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Cu}$)时亚细胞各组分中的铜含量均显著大于对照的相应值。

上述结果表明,细胞壁和细胞溶质部分是铜在玉米细胞内的分布的主要位点,细胞核和叶绿体部分及线粒体部分中铜的含量较低。

2.2 不同铜浓度处理下玉米不同部位中铜的存在形态

表2数据显示,不同铜浓度处理下,铜在玉米根、茎和叶中存在的主要化学形态有明显差异。在根中,对照和1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Cu}$ 处理时,主要以HCl提取态铜为主,分别占总量53.01%和59.90%,其次是乙醇提取态铜,分别占总量的19.14%和13.17%,其余4种形态的铜含量在这2种处理下约占总量的2%~12%,20、50和80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Cu}$ 处理时,主要是乙醇提取态铜占优势,分别占总量的36.16%、44.59%和39.80%,

其次是HCl提取态铜,分别占总量的27.30%、20.88%和26.06%。在茎中,铜存在的主要化学形态在不同铜浓度处理间也是不同的,对照中,乙醇提取态铜、去离子水提取态铜、NaCl提取态铜及HAC提取态铜所占比例相当,均在16%~22%之间。铜浓度为1、20和50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,主要以NaCl提取态铜为主,其占总量的比率均超过了30%,而其他形态的铜均不足20%。在80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Cu}$ 处理时,主要以去离子水提取态铜和NaCl提取态铜为主,分别占总量的35.68%和28.94%,其余提取态铜含量均不足总量的12%。在叶部,对照中不同提取态铜所占总量的比例相差不大,均在15%~19%间变化,1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Cu}$ 处理时,HAC提取态铜所占总量的比例最大,达28.72%,其次是乙醇提取态铜和NaCl提取态铜,分别占总量的18.61%和14.58%,20、50和80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 铜浓度时,乙醇提取态铜所占总量的比例最大。不同铜浓度处理间,仅根部在高的铜浓度处理(20、50和80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Cu}$)时,6种提取态铜的含量均显著大于对照中的相应值。

3 讨论

已有研究表明,在非致死Ni浓度下,进入Ni超富集植物细胞的大部分Ni是与细胞壁物质结合,其

表1 不同铜浓度处理下铜在玉米亚细胞组分中的分布

Table 1 Cu distribution in subcellular fractions of maize under different copper concentrations

铜处理/ $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	铜含量/ $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$					分布率/%				
	含细胞壁的残渣部分	含细胞核和叶绿体部分	线粒体部分	含蛋白的细胞溶质部分	总量	含细胞壁的残渣部分	含细胞核和叶绿体部分	线粒体部分	含蛋白的细胞溶质部分	
根	0.32	2.08cC	1.16dD	0.92dD	1.48dD	5.64	36.89	20.46	16.37	26.28
	1	2.46cC	1.16dD	1.03dD	1.42dD	6.07	40.49	19.10	16.96	23.45
	20	54.23bB	6.44cC	3.33cC	110.30cC	174.29	31.11	3.69	1.91	63.28
	50	141.27aA	11.21bB	5.45bB	240.05bB	397.99	35.50	2.82	1.37	60.32
	80	142.31aA	23.48aA	16.35aA	258.25aA	440.39	32.31	5.33	3.71	58.64
茎	0.32	0.42dC	0.41	0.33	0.62dD	1.76	23.67	22.99	18.44	34.90
	1	0.52cdBC	0.40	0.44	0.71cC	2.07	24.92	19.35	21.38	34.35
	20	0.60bcAB	0.34	0.44	0.81bB	2.19	27.43	15.70	19.90	36.97
	50	0.63bAB	0.43	0.45	0.82bB	2.32	27.22	18.30	19.25	35.23
	80	0.75aA	0.41	0.41	0.92aA	2.48	30.08	16.37	16.57	36.98
叶	0.32	1.35bB	0.64	0.65	1.04	3.68	36.71	17.35	17.57	28.37
	1	2.03bAB	0.64	0.60	1.22	4.49	45.16	14.34	13.45	27.05
	20	2.34abAB	0.73	0.54	1.34	4.95	47.24	14.72	11.00	27.05
	50	3.43aA	0.65	0.61	1.30	5.98	57.29	10.78	10.16	21.77
	80	3.24aA	0.73	0.61	1.46	6.04	53.60	12.15	10.05	24.20
		ns	ns	ns						

注:铜含量均以湿重计。a, b, c, d, e 和 A, B, C, D, E 分别表示处理间达到 0.05 和 0.01 水平差异显著性。“ns”表示处理间未达到显著水平。

余的主要积累在液泡中或与细胞液中的各种成分结合^[11]。Zn 超富集植物体内大约 60%~90%的 Zn 分布在细胞壁上^[12]。在 Cu 超富集植物细胞中 Cu 多分布在细胞壁、细胞液和液泡中,而叶绿体和线粒体等细胞器的 Cu 含量极少^[13,14]。本研究中,铜在玉米细胞内的分布的主要位点是细胞壁和细胞溶质部分,细胞核和叶绿体部分及线粒体部分中铜的含量较低,这一结果进一步证实了前人的研究。细胞壁是重金属进入植物细胞内部的第一道屏障,它含有多种能与金属离子配位结合的多糖、蛋白质等物质,当重金属进入植物体时,大部分被结合在细胞壁上,从而减少金属离子的跨质膜运输,降低原生质体中的金属离子浓度,维持细胞的正常生理代谢。当细胞壁结合的重金属离子达到饱和点时,进入细胞内的大部分金属离子被转运到液泡中储藏起来,使金属离子在细胞内区隔化。这部分被扣留的重金属没有任何的生理作用,也不会对植物产生危害^[15,16]。而对于光合作用和呼吸作用的场所——叶绿体和线粒体结合的铜量很少,这一方面可以满足植物体对微量必需元素铜的需求,另一方面又避免了过量的铜对植物体的这两个重要细胞器的伤害,使植物细胞能正常发挥重要的生理功能,这是由植物对重金属污染的耐性机制决定的。对于铜在玉米根亚细胞中的分布表现出的不同铜浓度间的差异,未

见报道,本试验中,在对照和 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Cu}$ 处理下,根部铜主要分布在细胞壁部分,其次为细胞溶质部分。随着浓度的升高,铜向细胞壁部分的分配减少,而向细胞溶质部分的分配增加,这可能也是由植物对重金属的耐性反应所决定的。当外源铜浓度很低时,铜除了满足植物体正常的需要外,主要结合在细胞壁上,随着外界铜浓度的升高,细胞壁上的重金属结合位点达到饱和时,植物为最大程度降低对自身的伤害,其余的铜离子被储存在包含液泡的细胞质可溶性部分。而不同铜浓度处理下铜在茎和叶亚细胞中的分布不同于在根中的分布,可能是由于玉米根直接受到铜的影响,铜离子在茎和叶细胞中转运机理完全不同于根对铜离子的吸收机理。植物对重金属的耐性机理是复杂的,这还需进一步的试验证明。

在超富集植物体内,85%~90%的重金属离子是与极性化合物相结合的,金属离子和这些极性化合物结合所形成的螯合物可限制金属在体内的移动性。这些极性化合物一般是水溶性的、醇溶性的和酸溶性的低分子量金属螯合物^[17,18],不同的提取剂可提取不同形态的化合物,去离子水主要提取与水溶性物质结合的部分如水溶性有机酸盐等;80%乙醇主要提取醇溶性蛋白质、氨基酸盐等为主的物质,HAc 提取难溶于水的重金属磷酸盐,HCl 提取草酸盐等,NaCl 可提取

表 2 不同铜浓度处理下玉米不同部位中铜的形态分析

Table 2 Analysis of copper forms in roots, stems and leaves of maize under different copper concentrations

铜处理 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	铜含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$							分布率/%					
	乙醇 提取态	去离子水 提取态	NaCl 提取态	HAc 提取态	HCl 提取态	残渣态	乙醇 提取态	去离子 水提取态	NaCl 提取态	HAc 提取态	HCl 提取态	残渣态	
根	0.32	4.02 dD	0.90 dD	2.13 eD	2.02 dD	11.13 eE	0.80 bA	19.14	4.29	10.13	9.60	53.01	3.82
	1	3.38 dD	0.91 dD	3.08 dD	2.18 dD	15.38 dD	0.74 bA	13.17	3.56	11.98	8.50	59.90	2.89
	20	36.10 cC	10.20 cC	5.25 cC	20.12 cC	27.25 cC	0.91 abA	36.16	10.21	5.26	20.16	27.30	0.91
	50	81.15 bB	15.15 bB	7.30 bB	39.32 bB	38.00 bB	1.05 abA	44.59	8.33	4.01	21.61	20.88	0.58
	80	87.25 aA	16.20 aA	11.23 aA	46.21 aA	57.13 aA	1.22 aA	39.80	7.39	5.12	21.08	26.06	0.56
茎	0.32	1.06 cBC	1.27 bB	1.28 dC	1.39	0.62 bA	0.83 bB	16.39	19.70	19.81	21.60	9.60	12.90
	1	1.01 cC	1.38 bB	2.33 cdC	1.41	0.73 bA	0.62 bB	13.55	18.41	31.12	18.88	9.77	8.27
	20	1.25 cBC	1.26 bB	3.03 cBC	1.35	0.84 abA	0.93 bB	14.44	14.53	35.02	15.63	9.67	10.71
	50	2.12 bB	1.07 bB	4.45 bB	2.24	0.84 abA	0.94 bB	18.21	9.18	38.19	19.18	7.21	8.02
	80	3.33 aA	10.30 aA	8.35 aA	2.17	1.39 aA	3.32 aA	11.53	35.68	28.94	7.53	4.83	11.50
叶	0.32	1.36 cC	1.17	1.13 dD	1.41 bC	1.30 cB	1.14 bB	18.11	15.57	15.01	18.81	17.31	15.21
	1	1.47 cC	1.06	1.15 dD	2.27 bBC	1.04	0.91 bB	18.61	13.41	14.58	28.72	13.12	11.57
	20	3.05 bBC	1.19	2.08 cC	2.24 bBC	1.16 cB	1.10 bB	28.23	11.02	19.21	20.69	10.69	10.16
	50	4.27 aAB	1.20	3.15 bB	3.41 aAB	1.93 bB	1.14 bB	28.30	7.94	20.87	22.60	12.77	7.52
	80	5.17 aA	1.44	4.05 aA	4.02 aA	4.17 aA	2.28 aA	24.45	6.82	19.17	19.02	19.74	10.80
		ns				1.16 cB							

注:铜含量均以湿重计。a, b, c, d, e 和 A, B, C, D, E 分别表示处理间达到 0.05 和 0.01 水平差异显著性。“ns”表示处理间未达到显著水平。

与蛋白质结合的物质以及果胶酸盐等^[10]。已有研究表明,铜在鸭跖草根中以去离子水提取态为主,而在茎和叶中以多种形态存在^[14]。铜在结缕草和三叶草中以醋酸和盐酸提取态及活性较低的残渣态为主要存在形式^[19]。铜超富集植物 *silene cobalticola* 叶中的铜主要以去离子水、乙醇和 HC 提取态存在^[17]。本研究结果显示,不同铜浓度处理下,铜在玉米根、茎和叶中存在的主要化学形态有明显差异。低铜浓度处理时,玉米根中铜主要以 HCl 提取的难溶于水的草酸盐形式存在,大量的 Cu 在体内结合成低活性的盐,沉积于根系,避免了过量的 Cu 进入茎叶组织,尽管 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\text{Cu}$ 处理时茎和叶中以 NaCl 提取态铜占优势,说明茎叶中的大部分铜与蛋白质结合,但由于铜的含量较少不致影响植株正常的光合和呼吸等生理生化过程,而对照处理中茎叶中铜以多种化学形态存在,表明铜可能与金属硫蛋白、有机酸和多糖等多种金属螯合物结合,既有利于铜沉积在细胞壁上,又有利于铜在细胞内区隔化,既满足了植物正常的生理代谢又使植物具有较强的耐性。随着铜浓度的升高,根和叶中铜的主要化学形态发生了改变,以活动性较强的乙醇提取态为主,这些醇溶性的蛋白质和氨基酸盐易于向地上部转移,致使大量的铜在地上部积累。在茎中以 NaCl 提取态铜为主,说明过量的铜可能与植物生长发育所需的蛋白质结合,造成植物的毒害。这可能是过量的铜对植物产生毒害的机理之一,但有待于进一步试验证明。

根系是高等陆生植物直接受到重金属毒害的主要器官,已有很多报道表明,植物体内各器官中重金属主要分布在根中^[14,20,21]。本文试验也表明,玉米幼苗体内铜大部分积累在根部,而分布在地上部的很少。究其原因,可能是因为重金属不易向地上部运输而造成在根中的大量积累^[22,23]。本研究,不同铜浓度处理间,仅根部在高的铜浓度处理(20、50 和 $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\text{Cu}$)时,亚细胞各组分中的铜含量和 6 种提取态铜的含量均显著大于对照中的相应值。可见,重金属在根中的大量积累可能与植物体内重金属的存在形态和分布特征存在很大的关系。

参考文献:

- [1] Clijsters H, Van Assche F. Inhibition of photosynthesis by heavy metals[J]. *Photosynth Res*, 1985, 7: 31–40.
- [2] Lolkema P C, Voijs R. Copper tolerance in *Silene cucubalus*: subcellular distribution of copper and its effects on chloroplasts and plastocyanin synthesis[J]. *Planta*, 1986, 167: 30–36.
- [3] Ouzounidou G. Changes of photosynthetic activities in leaves as a result of Cu-treatment: Dose-response relations in *Silene* and *Thlaspi* [J]. *Photosynthetica*, 1993, 29: 455–462.
- [4] Reboredo F, Henriques F. Some observations on the leaf ultrastructure of *Halimione portulacaoides* (L.) Aellen grown in a medium containing copper[J]. *J Plant Physiol*, 1991, 137: 717–722.
- [5] Ager F J, Ynsa M D, Dominguez-Solis J R, et al. Cadmium localization and quantification in the plant *Arabidopsis thaliana* using micro-PIXE [J]. *Nuclear Instr Methods Phys Res B*, 2002, 189: 494–498.
- [6] High K A, Barthet V J, McLaren J W, et al. Characterization of metallothionein like proteins from Zebra mussels [J]. *Environ Toxicol Chem*, 1997, 16(6): 1111–1118.
- [7] 汪金舫, 朱其清, 刘 铮. 小麦和油菜中 Cu 和 Zn 的化学结合形态初步研究[J]. *应用生态学报*, 2000, 11(4): 629–630.
- [8] 杨居荣, 查 燕, 刘 虹, 等. 污染作物籽实中 Cu 的分布、结合形态及其毒性[J]. *农业环境保护*, 2001, 20(4): 199–201.
- [9] 杨居荣, 鲍子平, 张素芹. 镉、铅在植物细胞内的分布及其可溶性[J]. *中国环境科学*, 1993, 13(4): 263–268.
- [10] 许嘉琳, 鲍子平, 杨居荣, 等. 农作物体内铅、镉、铜的化学形态研究[J]. *应用生态学报*, 1991, 2(3): 244–248.
- [11] Kramer U, Smith R D, Wenzel W W, et al. The role of metal transport and tolerance in nickel hyperaccumulation by *Thlaspi goesingense* *Halaesy* [J]. *Physiology Plant*, 1997, 115: 1641–1650.
- [12] Kupper H, Zhao F J, Megath S P. Cellular compartmentation of zinc in leaves of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* [J]. *Plant Physiol*, 1999, 119: 305–311.
- [13] Lolkema P C, Voous K. Copper tolerance in *Silene cucubalus* [J]. *Planta*, 1986, 167: 30–36.
- [14] 廖 斌, 邓冬梅, 杨 兵, 等. 铜在鸭跖草细胞内的分布和化学形态研究[J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2004, 43(2): 72–75.
- [15] Allen D L, Jarrell W M. Proton and copper absorption to maize and soybean root cell walls [J]. *Plant Physiol*, 1989, 89: 823–832.
- [16] Van Assche F, Clijsters H. Enzyme analysis in plants as a tool for assessing phytotoxicity of heavy metal polluted soils [J]. *Med Fac Landbouww Rijksuniv Gent*, 1987, 52: 1819–1824.
- [17] Baker A J M, Brooks R R. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements—a review of their distribution ecology and phytochemistry [J]. *Biorecovery*, 1989, 81–126.
- [18] Rauser W E. Structure and function of metal chelators produced by plants [J]. *Cell Biochem. and Biophys*, 1999, 31: 19–48.
- [19] 王友保, 张 莉, 沈章军, 等. 铜尾矿区土壤与植物中重金属形态分析[J]. *应用生态学报*, 2005, 16(12): 2418–2422.
- [20] 黎耿碧, 陈二钦, Alva1 A K. 外界铜离子对柑桔小苗常量元素吸收特性的影响[J]. *广西农业大学学报*, 1996, 3 (15): 195–201.
- [21] 黄细花, 赵振纪, 刘永厚, 等. 铜对紫云英生长发育影响的研究[J]. *农业环境保护*, 1993, 12 (1): 1–6.
- [22] Punz W F, Sieghardt H. The response of roots of herbaceous plant species to heavy metals [J]. *Env Exp Bot*, 1993, 33: 85–98.
- [23] Ouzounidou G. Copper-induced changes on growth, metal content and photosynthetic functions of *Alyssum montanum* L. plant [J]. *Envir Exp Bot*, 1994, 34: 165–172.