

铜对小青菜生长和叶片保护酶活性的影响

袁 霞¹, 李艳梅¹, 张兴昌^{1,2}

(1.西北农林科技大学, 陕西 杨凌 712100; 2.中国科学院水利部水土保持研究所, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:以小青菜为供试材料,利用土培试验研究了重金属铜对小青菜的株高、叶面积、叶绿素含量、丙二醛含量、过氧化物酶活性以及青菜地上部和根系中铜累积的影响。结果表明,低浓度的铜($<25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)对青菜生长起到促进作用;高浓度的铜($>20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)对青菜生长起到抑制作用;施铜浓度 $>20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,严重限制了小青菜叶绿素的合成;铜浓度 $>10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,青菜体内丙二醛含量和过氧化物酶活性开始升高,铜浓度为 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时青菜体内的丙二醛含量和过氧化物酶活性分别为对照的1.86和1.85倍;随铜浓度的增大,小青菜地上部和根系中的铜含量均呈极显著增加,且主要在小青菜根系中累积。随铜浓度的增加,青菜地上部含铜量占植株总铜量的百分率逐渐降低,而根系中含铜量占植株总铜量的百分率逐渐升高。

关键词:铜浓度;小青菜;铜污染

中图分类号:X503.231 文献标识码:A 文章编号:1672-2043(2008)02-0467-05

Effect of Copper Addition on the Growth and the Activities of Protective Enzymes in Leaves of *Brassica chinensis*

YUAN Xia¹, LI Yan-mei¹, ZHANG Xing-chang^{1,2}

(1.North West Sci-Tec University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100, China; 2.Institute of Soil and Water Conservation, Chinese Academy Sciences, Yangling 712100, China)

Abstract: Copper is an essential micro nutrient element to the plant growth whereas it do poison the plant when added in an excessive dose. Soils with different copper additions were used in this experiment to investigate the effect of copper addition on the growth and leaf protective enzymes of *Brassica chinensis*, and the plant height, leaf area, chlorophyll content, malondialdehyde (MDA) content and peroxidase (POD) activity were all determined. The results indicated that the plant growth was stimulated when copper addition to the soil was lower than $25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ and was inhibited significantly when copper addition to the soil was greater than $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. The chlorophyll content was increased when copper addition to the soil was lower than $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ and was decreased gradually when copper addition was greater than $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Both MDA content and Peroxidase activity exhibit merely no difference when copper addition was lower than $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, MDA content and POD activity were increased when copper addition was greater than $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, being 1.86 and 1.85 times higher than the control respectively at $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ of the copper addition. With the increasing of copper addition to the soil, the copper concentration in both shoot and root were increased significantly, much higher in root than in shoot. The percentage of copper concentration in shoot to total copper concentration in the plant decreased gradually while that the percentage of copper concentration in root to total copper concentration in the plant increased gradually.

Keywords: copper addition; *Brassica chinensis*; copper pollution

铜是植物生长必需的微量营养元素,对植物生长有着重要的作用,但过量的铜会对植物产生毒害作

用,使植物的水分代谢、光合作用、呼吸作用等各项生理代谢发生紊乱,使植物生长缓慢^[1]。铜不仅是植物生长所必需的微量元素,也是植物体多种酶类的成分之一,对作物的正常生理代谢有着重要的意义。由于植物正常生长所需要的铜量很少,所以人为污染(污水灌溉、使用污泥和施用农药过量等)增加到土壤中的

收稿日期:2007-08-27

基金项目:教育部创新团队支持计划;国家科技支撑计划(2006BAD09)

作者简介:袁 霞(1981—),女,土壤学硕士,主要从事重金属污染研究。E-mail:yuanxia423423@gmail.com

通讯作者:张兴昌 E-mail: zhangxc@ms.iswc.ac.cn

高量铜经常会给作物生长带来危害^[2]。如果蔬菜产区遭到重金属污染后,不但严重影响蔬菜的产量和质量,更为严重的是还会通过食物链影响人体健康。本文在模拟实验条件下,研究铜对青菜株高、叶面积、叶绿素含量、丙二醛含量、过氧化物酶活性以及青菜地上部和根系中铜累积量的影响,以期揭示铜污染的植物效应,为防治铜污染提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

小青菜,品种为抗矮青。

1.2 土壤

黄绵土,质地为粉质壤土,土壤 pH 8.51,土壤全铜和有效铜含量分别为 $21.86 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $0.56 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,有机质含量为 $5.31 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,全氮为 $0.478 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,有效氮为 $23.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

1.3 试验设计与处理

试验于人工气候箱内进行,共设 10 个浓度处理。铜浓度设置分别为 0、2.5、5.0、10.0、15.0、20.0、25.0、50.0、75.0 和 $100.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,按处理将 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 配成溶液,分别灌入盆中,渗漏液再灌回原盆中,静置 1 个月,并使盆中水分达到饱和状态。每个处理设 5 次重复,控制土壤含水量为田间持水量的 60%。于直径为 10.5 cm,高 9.5 cm 的塑料盆中进行盆栽试验,每盆装过 2 mm 尼龙筛的风干土壤 600 g,施用基肥后(加氮素为 $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 土, P_2O_5 为 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 土, K_2O 为 $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 土),平衡 3 d 后灌水,使水分入渗均匀后再播种。每盆播 6 粒种子,待幼苗长出二片真叶后进行间苗,每盆留苗 4 株。气候箱中的设置为:每天光照 14 h,白天温度为 25°C ,光照度为 4 级;晚上温度为 18°C ,光照度为 0 级;全天湿度均为 60%。培养 20 d 后开始取样分析。

1.4 测试指标与方法

1.4.1 青菜生长状况的测定

青菜生长第 10 d 和第 15 d 分别测定株高、叶面积和生物量。

1.4.2 叶片中叶绿素含量的测定

便携式 SPAD—502 型叶绿素仪测定。

1.4.3 叶片中丙二醛含量的测定

硫代巴比妥酸(TBA)法^[3,4]测定($\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$)。

1.4.4 叶片中过氧化物酶活性的测定

愈创木酚法^[3]测定($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$)。

1.4.5 青菜地上部和根系中铜含量的测定

先将植物样干灰化,然后用 1:1 的硝酸溶解,用 AAS—320 型原子吸收分光光度计进行测定^[5]。

2 结果与分析

2.1 铜对青菜生长的影响

2.1.1 铜对青菜株高的影响(图 1)

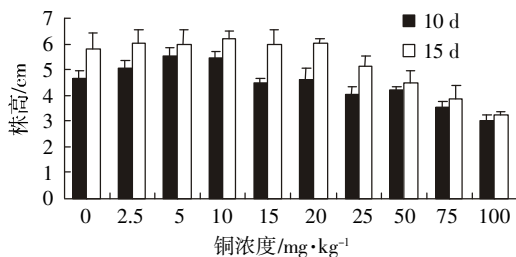


图 1 不同浓度铜处理对青菜株高的影响

Figure 1 Effect of soil copper addition on plant height of *Brassica chinensis*

铜对青菜的株高影响极其显著。在青菜生长前期,铜作为微量元素对青菜生长起到促进作用;在青菜生长后期,施铜明显抑制了青菜的生长,这种抑制作用随铜浓度的升高而加重且有所提前。铜浓度对青菜株高的影响总体上都是呈递减趋势,10 d 和 15 d 时铜浓度与青菜株高的相关系数 r 分别为 -0.88824 和 -0.96853 ;均呈极显著的负相关性。

2.1.2 铜对青菜叶面积的影响

不同浓度的铜处理对青菜叶面积影响如图 2 所示。图 2 表明,当铜浓度在 $0 \sim 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 范围内时,青菜叶面积随铜浓度的升高而逐渐增大,铜浓度在 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时达到最大;而当铜浓度高于 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,青菜叶面积随铜浓度的升高而显著降低。当铜浓度在 $0 \sim 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,青菜生长 10 d 和 15 d 时,青菜叶面积与铜浓度之间分别呈正相关性和极显著的正相关性,相关系数分别为 $r=0.77747$ 和 $r=0.98582$;当铜浓度在 $20 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,青菜生长 10 d 和 15 d 时,青

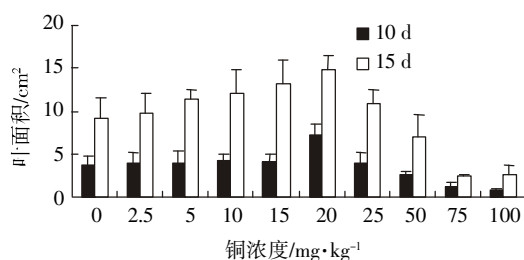


图 2 不同浓度铜处理对青菜叶面积的影响

Figure 2 Effect of soil copper addition on leaf area of *Brassica chinensis*

菜叶面积与铜浓度之间均呈显著的负相关性,相关系数分别为 $r=-0.881\ 72$ 和 $-0.933\ 37$ 。青菜生长 15 d 时叶面积增大和降低的幅度均很明显,铜浓度对青菜叶面积的影响总体上是呈递减的趋势;相关分析表明,青菜生长 10 d 和 15 d 时,铜浓度与青菜叶面积呈负相关关系,相关系数 r 分别为 $-0.740\ 19$ 和 $-0.833\ 96$ 。

2.1.3 铜对青菜植株生物量的影响

铜对青菜地上部和根系干重的影响如表 1 所示。表 1 表明铜浓度在 $0\sim 20\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,植株地上部和根系的干重均随铜浓度的升高而增大;当铜浓度在 $20\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,植株总干重最大,为对照总干重的 129.20%;而高铜浓度 ($25\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $50\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 时,植株干重明显降低,青菜植株的总干重分别为对照的 88.79% 和 24.78%,青菜地上部干重、根系干重和总干重均与对照均呈极显著差异。青菜根系干重与铜浓度变化之间差异不显著,相关系数 $r=-0.387\ 26$;青菜地上部干重、总干重与铜浓度的相关系数分别为 $-0.920\ 21$ 、 $-0.900\ 98$,均呈极显著的负相关性。其原因在于:铜是植物生长发育的必需的微量元素,所以低浓度铜能促进植物的生长,而高浓度铜会对植物产生毒害,对植物的光合、呼吸代谢功能产生不良影响^[6,7]。

2.2 铜对青菜叶片中叶绿素含量的影响

图 3 可看出铜浓度在 $0\sim 20\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 范围内时,叶片中叶绿素含量随铜浓度的升高而逐渐升高;当铜浓度 $>20\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,青菜叶片叶绿素含量随铜浓度的加大而逐渐降低最终趋于平缓。铜污染毒害产生的一个重要特征是氧化胁迫。过量的铜降低呼吸,影响蛋白质的代谢,导致叶绿素含量的下降及叶片光合特性

的抑制^[8,9]。这一过程可由图 3 中叶片中 SPAD 值的变化即可看出。当铜浓度达到 $20\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,叶片中叶绿素含量最高,但仍达不到显著水平;当铜浓度 $>20\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,叶片中叶绿素含量显著降低,由相关分析得出铜浓度与青菜叶片中叶绿素含量呈极显著的负相关性,相关系数 $r=-0.924\ 30$ 。

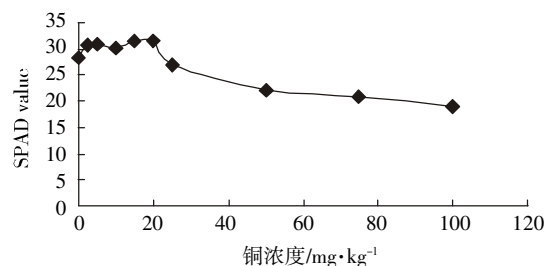


图 3 不同浓度铜处理对青菜叶绿素含量的影响

Figure 3 Effect of soil copper addition on the content of chlorophyll in plant of *Brassica chinensis*

2.3 铜对青菜体内丙二醛含量的影响

不同浓度铜对青菜叶片中丙二醛含量影响如图 4 所示。MDA 是膜质过氧化的重要产物,可与蛋白质、核酸、氨基酸等活性物质交联,形成不溶性的化合物(脂褐素)沉积,干扰细胞的正常生命活动^[7,10]。由图 4 可看出,铜浓度在 $0\sim 10\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 范围内时,青菜叶片中丙二醛含量与对照无显著差异,略微有所降低;而当铜浓度 $\geq 15\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,叶片中丙二醛含量逐渐增加;相关分析表明,铜浓度与青菜叶片中的丙二醛含量是呈极显著的正相关性,相关系数 $r=0.871\ 75$ 。在不同浓度的铜处理 (2.5 、 5 、 10 、 15 、 20 、 25 和 $50\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 下,青菜叶片中的丙二醛含量分别为对照的 94.68%、92.43%、88.96%、101.23%、109.00%、175.66%、

表 1 不同铜处理对青菜生物量的影响

Table 1 Effect of soil copper addition on biomass of *Brassica chinensis*

Cu 浓度 / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	青菜地上部干重/ $\text{g}\cdot(4\ \text{plant})^{-1}$	青菜根系干重/ $\text{g}\cdot(4\ \text{plant})^{-1}$	青菜植株总干重/ $\text{g}\cdot(4\ \text{plant})^{-1}$
0	$2.98\pm 0.27\ \text{c}$	$0.41\pm 0.02\ \text{c}$	$3.39\pm 0.28\ \text{b}$
2.5	$3.02\pm 0.21\ \text{c}$	$0.44\pm 0.05\ \text{c}$	$3.46\pm 0.18\ \text{b}$
5	$3.14\pm 0.13\ \text{bc}$	$0.47\pm 0.02\ \text{c}$	$3.61\pm 0.14\ \text{b}$
10	$3.43\pm 0.24\ \text{ab}$	$0.71\pm 0.06\ \text{b}$	$4.14\pm 0.29\ \text{a}$
15	$3.53\pm 0.15\ \text{a}$	$0.77\pm 0.03\ \text{ab}$	$4.30\pm 0.12\ \text{a}$
20	$3.53\pm 0.18\ \text{a}$	$0.85\pm 0.10\ \text{a}$	$4.38\pm 0.13\ \text{a}$
25	$2.56\pm 0.19\ \text{d}$	$0.45\pm 0.03\ \text{c}$	$3.01\pm 0.18\ \text{c}$
50	$0.70\pm 0.14\ \text{e}$	$0.14\pm 0.01\ \text{d}$	$0.84\pm 0.15\ \text{d}$
75	$0.36\pm 0.02\ \text{f}$		
100	$0.14\pm 0.01\ \text{f}$		

注:(1)各项数值均为平均值 $\pm$ 标准差($n=3$);(2)数字后的小写字母为 SAS 测验中 $\alpha=0.05$ 水平上的差异显著性。

Note: Values in the table are means $\pm$ SD($n=3$), the small letter after the values indicates significant difference at 0.05 level based on the analysis using SAS software.

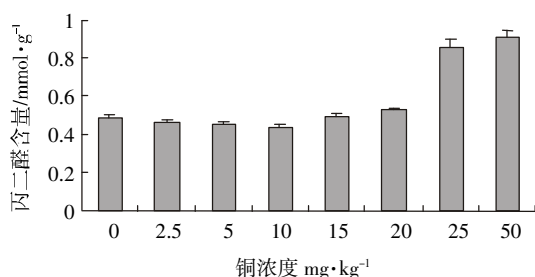


图4 不同浓度铜处理对青菜体内丙二醛含量的影响

Figure 4 Effect of soil copper addition on the content of MDA in plant of *Brassica chinensis*

186.30%。低浓度的铜对青菜生长没有危害,这与前文所说铜作为微量元素对作物生长具有促进作用相符;而高浓度的铜就会使作物体内高度积累丙二醛,丙二醛含量的增加显示出膜质过氧化水平升高,造成膜透性增大,膜结构受损伤的程度加深,使作物的抗逆能力减弱^[1]。

2.4 铜对青菜体内过氧化物酶活性的影响

不同浓度的铜处理对青菜体内的过氧化物酶活性的影响如图5所示。由图5可看出,当铜浓度在0~10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,青菜体内的过氧化物酶活性略微有所降低,当铜浓度>10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,青菜体内的过氧化物酶活性会随铜浓度的增加而迅速增大。铜浓度在50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,青菜体内过氧化物酶活性为对照的1.85倍,曲线整体呈上升趋势,呈极显著的正相关性,相关系数 $r=0.944\ 25$ 。

2.5 铜对青菜地上部和根系铜含量影响

不同浓度的铜处理对青菜地上部和根系铜含量的影响如图6和图7所示。由图6和图7可以看出,在所有的处理中,青菜地上部和根系中铜的含量均随着铜浓度的增加而增加,并且根系中的铜的含量均明显高于地上部的铜含量,当铜浓度达到50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,青菜叶片中铜含量为对照的4.04倍,而根系中铜

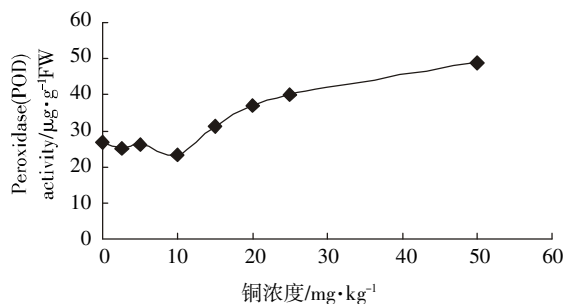


图5 不同浓度铜处理对青菜体内过氧化物酶活性的影响

Figure 5 Effect of soil copper addition on the activity of POD in *Brassica chinensis*

含量为对照的7.75倍。由此可见,根系是青菜吸收累积铜的主要器官。由相关分析可知,青菜地上部和根系中铜含量与铜浓度之间均呈极显著的正相关性,相关系数 r 分别为0.972 45和0.993 34。

图8为青菜地上部和根系中含铜量占植株总铜量的百分率。由图8可看出,随铜浓度的增加,青菜地上部含铜量占植株总铜量的百分率逐渐降低,而根系中含铜量占植株总铜量的百分率逐渐升高。铜浓度在0~50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 范围内时,青菜地上部含铜量占植株总铜量的百分率由30.29%降低到18.45%;而根系中含铜量占植株总铜量的百分率由69.71%升高到81.55%。

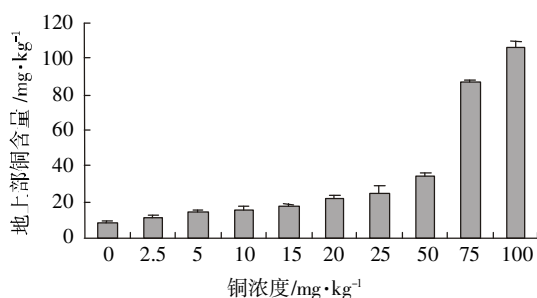


图6 不同浓度铜处理对青菜地上部铜含量的影响

Figure 6 Effect of soil copper addition on the concentrations of copper in the shoot of *Brassica chinensis*

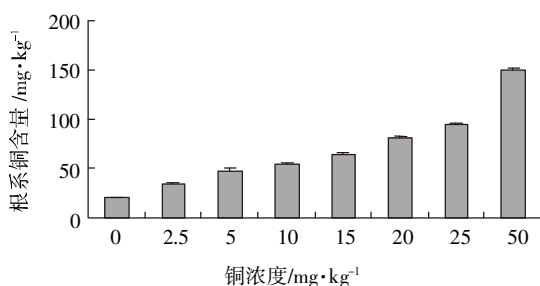


图7 不同浓度铜处理对青菜根系铜含量的影响

Figure 7 Effect of soil copper addition on the concentrations of copper in the root of *Brassica chinensis*

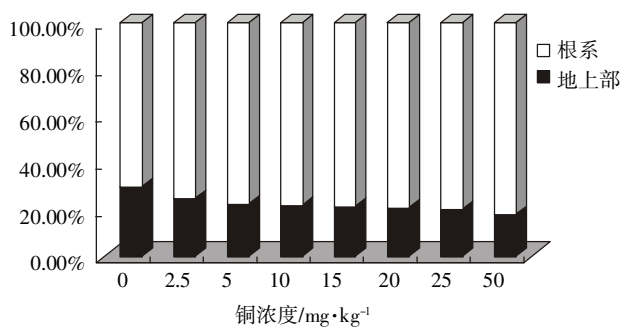


图8 青菜地上部和根系含铜量占植株总铜量的百分率

Figure 8 The percentages of copper concentrations in shoot and root to total copper concentrations in *Brassica chinensis*

3 讨论与结论

施铜浓度不超过 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,叶片叶绿素含量随铜浓度增大而逐渐升高,当铜浓度 $>20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,青菜叶片中叶绿素含量随铜浓度的增大而逐渐降低最终趋于平缓;铜浓度在 $0 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 范围内时,青菜叶片中丙二醛含量和过氧化物酶活性均略微有所降低,与对照无显著差异;当铜浓度 $>10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,叶片中丙二醛含量和过氧化物酶活性逐渐增加。高浓度的铜就会使作物体内高度积累丙二醛,丙二醛含量的增加显示出膜质过氧化水平升高,造成膜透性增大,膜结构受损伤的程度加深,使作物的抗逆能力减弱。

当施铜浓度不超过 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,促进青菜叶面积和干重增加,超过该浓度后,青菜叶面积和干重显著降低。施铜浓度达到 $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,青菜植株的总干重分别为对照的 88.79% 和 24.78%。

在所有的铜处理中,青菜地上部和根系中铜的含量均随铜浓度的增加而增加,并且根系中的铜含量均明显高于地上部的铜含量;随铜浓度的增加,青菜地上部含铜量占植株总铜量的百分率逐渐降低,而根系中含铜量占植株总铜量的百分率逐渐升高。

参考文献:

- [1] 纪忠雄. 柑桔抗寒性的生理生化指标[J]. 园艺学报, 1983, 10(4): 239.
- [2] 刘春生, 常红岩, 孙百晔, 等. 外源铜对土壤果树系统中酶活性影响的研究[J]. 土壤学报, 2002, 39(1): 37-44.
- [3] 王振镒. 植物生理大实验[M]. 西北农林科技大学校内使用教材, 1991. 39-40.
- [4] 植物生理生化教研组. 植物生理学研究技术[M]. 西北农林科技大学校内使用教材, 1998. 18.
- [5] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999. 279.
- [6] 郑春荣, 陈怀满. 土壤-水稻体系中污染重金属的迁移及其对水稻的影响[J]. 环境科学学报, 1990, 10(2): 145-152.
- [7] 储玲, 刘登义, 王友保, 等. 铜污染对三叶草幼苗生长以及活性氧代谢影响的研究[J]. 应用生态学报, 2004, 15(1): 119-122.
- [8] Maksymiec W, Ryszard R, Urbanik-Sypniewska T, et al. Effects of Cu on the photosynthetic apparatus of runner bean leaves treated at two different growth stages[J]. *Physiol Plant*, 1994, (9): 715-721.
- [9] 孙权, 何振立, 杨肖娥, 等. 铜对小白菜的毒性效应及其生态健康指标[J]. 植物营养与肥料学报, 2007, 13(2): 324-330.
- [10] 徐勤松, 施国新, 杜开和. 镉胁迫对水车前叶片抗氧化酶系统和亚显微结构的影响[J]. 农村生态环境, 2001, 17(2): 30-34.
- [11] 司琴, 张徐祥, 王友保, 等. 污灌对小麦幼苗生长及活性氧代谢的影响[J]. 应用生态学报, 2002, 13(10): 1319-1322.