

棕壤中长期低剂量铜胁迫对苹果幼树的毒性效应

阚世红¹, 孙百晔², 刘春生³

(1. 潍坊学院生物工程学院, 山东 潍坊 261061; 2. 四川农业大学资源环境学院农业环境工程四川省重点实验室, 四川 雅安 625014; 3. 山东农业大学资源环境学院, 山东 泰安 271018)

摘要:通过 600 d 的土培试验,研究了棕壤中土壤环境质量二级标准附近的低剂量 Cu 长期胁迫对苹果幼树(藤木一号/八棱海棠)生长的毒害效应,并利用 PAGE 同工酶电泳研究了植株的保护性反应。结果表明,苹果树通过增强 4 条过氧化物酶(peroxidases, POD)同工酶的表达,弥补了 6 条 POD 同工酶活性的降低,使 POD 总活性显著增强($P<0.05$),叶片细胞膜透性未出现显著变化($P>0.05$),在一定程度上保护了机体免于长期胁迫致死;但是长期低剂量铜胁迫($160\sim 320\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)仍导致苹果树生长迟缓,春梢快速生长期推迟 17~37 d,土壤施加铜 160 和 $240\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的苹果树生物量比对照分别降低 25.87%和 29.84%($P<0.01$),而且胁迫 600 d 后所有铜处理植株根系均伴有感染真菌病害(白纹羽病)的间接毒害效应。表明长期的、即使是低剂量的铜胁迫仍会对苹果树生长造成显著的毒害效应,土壤铜含量在土壤环境质量标准(果园二级标准为 $150\sim 200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)附近的果园重金属铜污染问题仍需引起进一步重视。

关键词:棕壤;苹果树;低剂量长期胁迫;铜毒害;POD 同工酶;真菌病害

中图分类号:X503.235 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2010)01-0038-05

Toxic Effects of Long-term Low-dose Copper (Cu) Stress on Apple Trees in Brown Soils

KAN Shi-hong¹, SUN Bai-ye², LIU Chun-sheng³

(1. Bioengineering Institute, Weifang University, Weifang 261061, China; 2. Agro-Environmental Engineering Key Laboratory of Sichuan Province, College of Resources and Environment, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China; 3. College of Resources and Environment, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

Abstract: To study the toxic effects of long-term (600 d) low-dose (around the second level of soil environmental quality standard) copper (Cu) stress on the growth of young apple trees [*Malus pumila* Mill (OBIR-2T-47)/*M. micromalus* Makino] in brown soils, 600 d soil culture experiments were done. And the protective reaction of the plants was analyzed using polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE). Results showed that, the reactivity of six bands of peroxidase (POD) isoenzyme were lowered, and the expression of four bands of POD isoenzyme were enhanced, which lead to the significant enhanced total activity of POD in young apple trees ($P<0.05$); And non-significant change of electrolyte leakage of leaf was observed. These protective reactions helped the young apple tree to survive under the long-term Cu stress. However, long-term Cu stress do have adverse effect on the growth of the apple trees: the starting time of branch rapid growth was delayed for 17~37 d with long-term Cu treatments ($160\sim 320\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$); Meanwhile, the amount of biomass production significantly decreased ($P<0.01$) by 25.87% and 29.84% with $160\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ and $240\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cu treatments, respectively. Also, indirect toxic symptoms were observed that trees (roots) were all infected by the fungi disease—rosellinia trunk rot after 600 d Cu stress. All of these results indicated that long term low-dose Cu stress had significant adverse effect on the growth of apple trees, so more attention should be paid to Cu contamination in orchard soils with Cu concentration around environmental quality standard ($150\sim 200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ for orchard soils).

Keywords: brown soils; apple trees; long-term low-dose stress; copper toxicity; peroxidase; fungal disease

含铜杀菌剂波尔多液、含铜污泥和厩肥的施用以

及污水灌溉,导致我国不少果园土壤铜含量在国家土壤环境质量二级标准值附近,部分苹果园表层土壤铜含量在 $90\sim 210\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,栽培 10 a 以上的苹果园表层土壤铜含量平均 $252.52\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。大量研究表明,高剂量急性铜胁迫会对植物生长造成毒害^[3],甚至导致果实和籽粒铜含量超标。考虑到果树生长期多在几年至几十年,如此长期的,即使是在土壤环境质量标准附近的低

收稿日期:2009-03-01

基金项目:四川省教育厅重点项目(08ZA073);潍坊学院自然科学理论
研究项目青年项目(2008Z021)

作者简介:阚世红(1975—),女,山东泰安人,硕士,讲师,主要从事土壤
重金属污染生态毒理学和作物品质的生物化学研究。

E-mail: kshh—3@163.com

通讯作者:孙百晔 E-mail: bys298@yahoo.com.cn

剂量铜是否会对果树造成毒害效应,尚不清楚。目前植物重金属毒性研究多是针对草本植物^[6-9],且多为高剂量急性毒害研究^[3-5],虽然针对木本植物的长期低剂量慢性毒害效应研究,在Cd、As等重(类)金属上已有报道^[10-11],但对于铜的报道尚不多见。本研究基于果树多年生的特点和我国不少果园土壤轻度铜污染的现状,针对木本植物长期低剂量铜胁迫效应尚不清楚的问题,利用盆栽试验研究了在土壤环境质量二级标准附近的低剂量铜胁迫 600 d 对苹果幼树的毒性效应,以期维持果园生态系统健康,保障果品生产的食品安全提供科学依据,为果园土壤环境评价提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

盆栽用土为棕壤,取自泰山南麓坡洪积扇的果园,轻粘质,pH5.5,有机质 $8.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,全Cu含量 $28.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,有效Cu $7.37 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。以一年生藤木一号苹果嫁接苗(砧木为八棱海棠)为供试材料。

1.2 试验设计

根据我国土壤环境质量标准^[12],pH<6.5的果园土壤二级标准为 $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,三级标准(pH>6.5)为 $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,设5个Cu水平,分布在低于二级标准($80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、在二级标准附近($160 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)和高于二级标准但低于三级标准(240 和 $320 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),依次用Cu0、Cu80、Cu160、Cu240、Cu320表示。以 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 的形式施入土壤。每个处理设7次重复。

1.3 土培试验及测定方法

选取生长一致的一年生苹果幼树,栽入 $25 \text{ cm} \times 30 \text{ cm}$ 的盆钵,每盆装土 17 kg ,按 $0.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ N}$ 的量加入肥底($\text{N}:\text{P}_2\text{O}_5:\text{K}_2\text{O}=1:1:1$)和相应剂量的 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$,混均放置平衡后,栽植1棵果树幼树。2000年3月8日移栽,于网室中培养,生长过程中进行常规管理,于每年春季春梢快速生长期用精确度为 0.1 cm 的尺子测量各主枝的长度,每3d测量1次,前后2次测量结果之差为此间的新梢生长量。2001年10月30日收获,洗净,吸水纸吸干水分,用百分之一天平称重,获得果树的总生物量。总培养时间为600d。

细胞膜透性用电解质相对渗漏率表示,根据文献[13]的方法,于2001年9月测定。苹果叶片中POD同工酶PAGE电泳根据文献[14]的方法进行,采用7.5%分离胶(pH8.9)、3.1%浓缩胶(pH6.7)和甘氨酸电极缓冲液,于2001年9月22日选取功能叶进行。电泳谱带光密度的定量分析使用Quantity One软件(Bio-

Rad Laboratories, Inc. USA)。

1.4 数据处理方法

在进行统计分析之前,首先用Lilliefors test法对数据的正态性进行检验,使用MatLab 7.0软件(Math-Works, Inc.)分析。方差分析(One-way ANOVA)使用SPSS 11.5软件(SPSS Inc.),如果差异显著($P<0.05$),则进行多重比较(LSD法)。回归分析使用Origin 7.0软件(OriginLab Corporation, USA)。

2 结果与分析

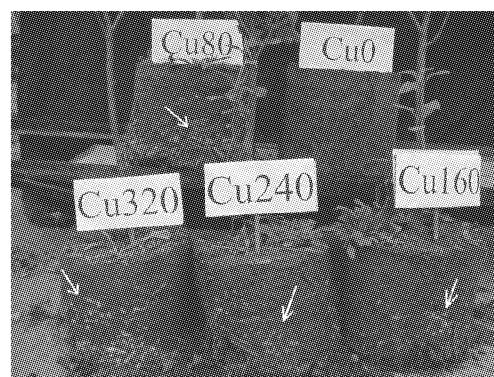
2.1 长期低剂量铜胁迫对苹果幼树的毒性症状

长期生长在低剂量铜胁迫棕壤上的藤木一号苹果树表现为生长迟缓,枝梢顶端新生叶片轻微网纹状黄化,偶有褐斑,功能叶无黄化,树势弱,根系不发达,簇生,根毛少,新生根少。

在收获果树时发现,除对照外,包括Cu80在内的其他处理根系均被真菌病害(白纹羽病)感染(图1):根系附着大量白色病菌菌丝,且有随土壤施铜量的增加而增加的趋势,并伴有根系韧皮部组织霉烂与木质部分离的现象。而未施加铜的对照处理根系正常,未染病。这一试验结果与学者们野外调查的发现一致:铜陵铜尾矿场白车轴草种群中常有链格孢菌真菌病害发生^[15]。

2.2 长期低剂量铜胁迫对新梢生长的抑制作用

苹果树一般在每年5月进入春梢快速生长期。对其新梢生长动态的监测发现,长期低剂量铜胁迫使苹果树春梢快速生长期推迟。为了量化这种延缓效应,用进入春梢快速生长期的相对时间来表示,即各处理进入春梢快速生长期日期距对照植株进入日期的天



收获时将植株从盆钵中拔出,发现与盆钵接合处的根系着生有白色的白纹羽病真菌菌丝(箭头所示白色斑点或斑块)。

图1 低剂量铜胁迫600d后苹果幼树根系感染白纹羽病
Figure 1 Rosellinia trunk rot infecting roots of apple tree seedlings subjected to low-dose Cu for 600 d

数。用下式计算:

$$R_d = D_{\text{treatment}} - D_{\text{control}} \quad (1)$$

式中: R_d 表示进入春梢快速生长期的相对时间, d; $D_{\text{treatment}}$ 和 D_{control} 分别表示铜处理和对照植株进入春梢快速生长期的日期。先于对照进入的 R_d 为负值, 晚于对照的为正值。 R_d 值越大, 说明其进入春梢快速生长期的时间越晚。

由表 1 可见, 随着土壤施铜量的增加, 进入春梢快速生长期的时间向后推迟, 土壤铜在二级土壤质量标准附近的 Cu160 处理比正常植株推迟 17 d, Cu240 和 Cu320 处理分别推迟 29 d 和 37 d。回归分析发现, 随土壤施铜量(x)的增加, 苹果幼树进入春梢快速生长期的相对时间(y)线性增加, 回归方程如下:

$$y = 0.1x - 2.0, R^2 = 0.984, P < 0.01 \quad (2)$$

表明随土壤施铜量的增加, 苹果树进入春梢快速生长期的时间呈线性向后推迟。表明即使是在国家土壤环境质量二级标准附近的低剂量铜, 长期胁迫也会延缓苹果树生长。

表 1 长期低剂量铜胁迫下苹果幼树进入春梢快速生长期的相对时间

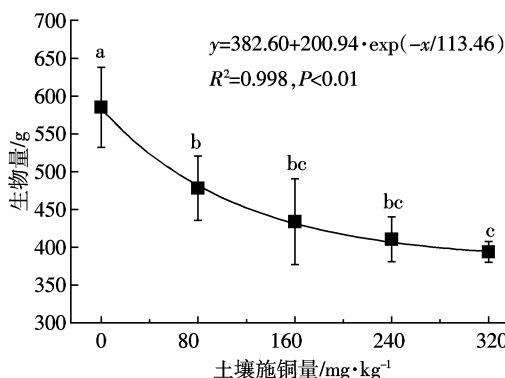
Table 1 Relative time of stating branch rapid growth of apple tree seedlings subjected to long-term low-dose Cu stress

项目	Cu0	Cu80	Cu160	Cu240	Cu320
铜施加量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	0	80	160	240	320
相对时间 R_d/d	0 $\pm$ 2	5 $\pm$ 1	17 $\pm$ 8	29 $\pm$ 8	37 $\pm$ 5

注: R_d 为均值 $\pm$ SD, 值越大表示进入春梢快速生长期的时间越晚。

2.3 长期低剂量铜胁迫对苹果幼树生物量的影响

600 d 的低剂量铜胁迫后, 藤木一号苹果幼树生物量显著低于对照($P < 0.05$), 且随土壤施铜量的增加逐渐降低(图 2)。Cu80 处理比对照(Cu0)生物量降低 18.31%, 达到显著水平; Cu160 和 Cu240 处理生物量



数据点上方不同的字母表示差异显著($P < 0.05$), 误差棒表示 SD, 下同。

图 2 低剂量铜胁迫 600 d 后苹果幼树生物量

Figure 2 Biomass of apple trees under low-dose Cu stress for 600 d

分别比对照降低 25.87% 和 29.84%, 而 Cu320 的生物量只有对照的 58.09%。回归分析发现, 随土壤施铜量(x)的增加, 果树生物量(y)呈极显著指数降低:

$$y = 382.60 + 200.94 \cdot \exp\left(-\frac{x}{113.46}\right) \quad (3)$$

说明长期低剂量胁迫会使生物量急剧降低。

2.4 长期低剂量铜胁迫对苹果幼树叶片细胞膜透性的影响

经过近 600 d 的低剂量铜胁迫, 各处理苹果树叶片细胞的电解质相对渗出率没有显著性变化($P > 0.05$; 图 3)。电解质渗漏是细胞膜受到损伤的直接证据, 一般在急性胁迫时, 往往会引起细胞膜透性急剧变化, 但中等以下的且长期的胁迫会使生物的适应机制发生作用, 故出现本研究细胞膜透性没有显著变化的现象。

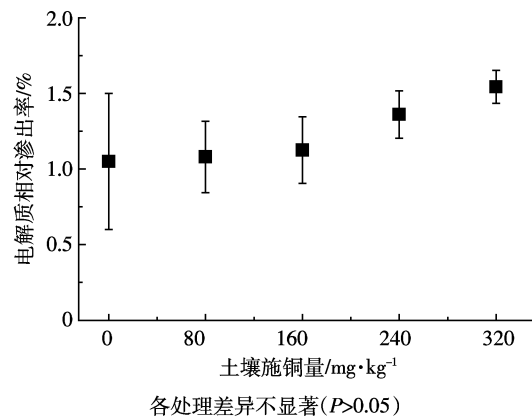
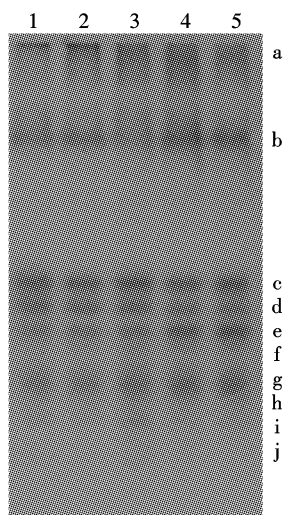


图 3 低剂量铜胁迫近 600 d 后苹果树叶片细胞电解质相对渗出率

Figure 3 Relative conductivity of leaf leachate of apple tree seedlings subjected to low-dose Cu treatments for near 600 d

2.5 长期低剂量铜胁迫对苹果幼树叶片 POD 同工酶的影响

过氧化物酶(peroxidases, EC1.11.1.7, POD)是植物体内一种重要的清除自由基的保护性酶, 能在一定范围内清除重金属胁迫产生的自由基^[6]。通过垂直板 PAGE 凝胶电泳对低剂量铜胁迫近 600 d 的藤木一号苹果树功能叶片 POD 同工酶谱带的分析发现(图 4): 各处理的谱带组成没有发生质的变化, 但是谱带颜色深浅却存在差异。谱带的颜色深浅反映酶活性的高低, 颜色越深表示活性越高。检测到的 10 种同工酶可分为两类: 一类是高敏感型同工酶, 如谱带 a、c、d、h、i、j, 这 6 种同工酶在 Cu80 和 Cu160 处理中表现高的活性, 而在稍高剂量的铜胁迫处理 Cu240 和 Cu320 中活性降低; 另一类是低敏感高抗型同工酶, 如谱带



图中1代表Cu0处理,2代表Cu80处理,3代表Cu160处理,4代表Cu240处理,5代表Cu320处理;a,b,c,d,e,f,g,h,i,j为谱带编号

图4 低剂量铜胁迫近600 d后苹果叶片POD同工酶谱带特征

Figure 4 POD isozyme patterns in leaves of apple tree seedlings subjected to low-dose Cu treatments for near 600 d

b、e、f、g,这4种同工酶在Cu80和Cu160处理中活性没有明显变化,而在稍高剂量的铜处理Cu240和Cu320中活性明显升高。

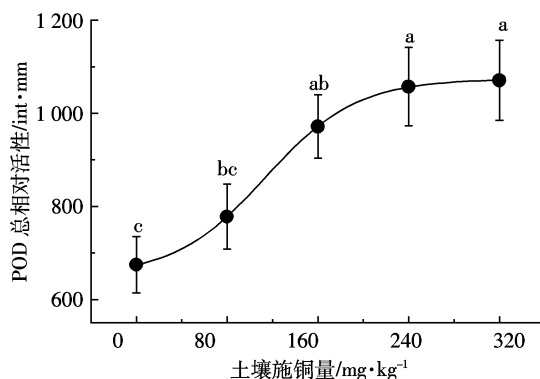
这说明,一方面,不同同工酶对铜胁迫的敏感性存在差异;另一方面,在部分敏感型同工酶的活性受到胁迫而下降时,机体会启动并加强高抗型同工酶的表达,以弥补或代替敏感型同工酶的作用,进而维持机体正常的自由基清除能力。以往的大量研究也发现,植物对重金属胁迫的共同响应是提高POD总活性,以清除体内自由基,提高植物耐性能力^[11,17-18]。

下面进一步利用电泳谱带光密度分析POD总活性。对各条POD同工酶谱带光密度进行累加,得到该处理的POD总相对活性。结果表明(图5),胁迫近600 d的POD总相对活性随施铜量的增加,呈“S”型增加,其中Cu160、Cu240、Cu320处理显著高于对照($P<0.05$)。这是植株对长期慢性胁迫的适应性反应:通过启动逆境适应机制,增强POD同工酶的表达(Cu80和Cu160处理增强6种敏感型同工酶的表达;Cu240和Cu320处理启动并增强4种高抗型同工酶的表达),达到POD总活性的增强,以维持体内自由基处在较低水平,减小对机体的损伤。

3 讨论

3.1 植株对长期低剂量铜胁迫的适应性反应

以往的急性毒理研究表明,POD活性随胁迫的增



POD总相对活性用各条电泳谱带光密度之和表示,误差棒表示SE。

图5 低剂量铜胁迫近600 d后苹果叶片POD相对活性

Figure 5 POD relative activities in leaves of apple tree seedlings subjected to low-dose Cu treatments for near 600 d

加有“低-高-低”的特点,即POD对胁迫的忍耐存在阈限值,低于阈限值的胁迫时,活性升高^[6,19-20],以维持体内自由基在较低水平;超过阈限值的胁迫,导致POD受损,活性降低^[21]。但是长期的低剂量胁迫给机体足够的时间适应胁迫,本研究通过POD同工酶电泳发现,棕壤中低剂量铜($160 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)胁迫600 d后,通过启动并增强高抗型同工酶的表达,弥补或代替了活性降低的敏感型同工酶的作用,POD总相对活性显著升高($P<0.05$),保护机体免受致命伤害[细胞膜透性没有发生显著性变化($P>0.05$)],不至于因长期胁迫致死。这是植株对长期低剂量胁迫的适应性保护反应。

3.2 长期低剂量铜胁迫对植株的直接和间接毒害效应

本研究棕壤中低剂量铜胁迫600 d的苹果树仍然表现出一系列的毒害效应,如生长延缓、生物量显著降低、树势衰弱等一系列直接毒害效应。这些症状与以往众多急性铜毒害研究的相似^[6,18,22]。

另外,本研究还发现长期慢性铜胁迫的苹果树根系感染了白纹羽病。考虑到 CuSO_4 具有抑杀真菌的作用,可推断不可能由于施铜增加土壤白纹羽真菌种群数量而增加果树染病几率。而白纹羽病有易在树势弱的植株上发病的特点,因此可认为,长期低剂量铜胁迫导致树势的衰弱、抗病力的降低,是造成各铜处理植物感染白纹羽病的重要原因。这一试验结果与以往在野外调查时的发现一致:铜陵铜尾矿场白车轴草种群中常有链格孢菌真菌病害发生^[15]。本研究的试验结果也在一定程度上佐证了这些铜尾矿场植物经常感染真菌病害与土壤铜污染有关。

3.3 果园土壤的低剂量铜污染应引起重视

本研究发现,在土壤环境质量二级标准附近(160

mg·kg⁻¹)的铜胁迫 600 d,导致苹果树出现如上所述的一系列直接和间接毒害效应。考虑到果树多年生的特点,所以生长在“轻度”铜污染土壤中的果树面临的是长达几年至几十年的长期低剂量铜胁迫;如果再考虑吸收到体内铜的积累性,和间接毒害效应在时间上的“后显性”特点,这种胁迫可能会随时间延长而加重。所以土壤铜含量在土壤环境质量标准附近的果园重金属铜污染问题仍应引起进一步重视。

4 结论

棕壤中长期(600 d)、低量(土壤环境质量二级标准附近)铜胁迫下,虽然苹果树通过调节体内抗氧化同工酶的表达,在一定程度上保护机体免于长期胁迫致死,但是长期低量胁迫仍对苹果树造成显著的毒害效应:一方面是生长延缓、生物量显著降低等直接毒害效应;另一方面是通过降低植株的抗病能力,根系易被其他真菌病害感染的间接毒害效应。总之,对土壤铜含量在环境质量二级标准(150~200 mg·kg⁻¹)附近的果园重金属铜污染问题应引起进一步的重视。

参考文献:

- [1] Li W, Zhang M, Shu H. Distribution and fractionation of copper in soils of apple orchards [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2005, 12(3): 168–172.
- [2] 王正直, 刘春生, 邱德峰, 等. 果园土壤铜素的含量, 形态及剖面特征研究[J]. 土壤通报, 2002, 33(5): 369–371.
WANG Zheng-zhi, LIU Chun-sheng, QIU De-feng, et al. Contents, forms, and characters of copper in orchard soils [J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2002, 33(5): 369–371.
- [3] Lin C C, Chen L M, Liu Z H. Rapid effect of copper on lignin biosynthesis in soybean roots[J]. *Plant Science*, 2005, 168(3): 855–861.
- [4] Lombardi L, Sebastiani L. Copper toxicity in *Prunus cerasifera*: Growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants[J]. *Plant Science*, 2005, 168(3): 797–802.
- [5] Zhang H, Xia Y, Wang G, et al. Excess copper induces accumulation of hydrogen peroxide and increases lipid peroxidation and total activity of copper zinc superoxide dismutase in roots of *Elsholtzia haichowensis*[J]. *Planta*, 2008, 227(2): 465–475.
- [6] Chen E L, Chen Y A, Chen L M, et al. Effect of copper on peroxidase activity and lignin content in *Raphanus sativus*[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2002, 40(5): 439–444.
- [7] Paschke M W, Redente E F. Copper toxicity thresholds for important restoration grass species of the western United States [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2002, 21(12): 2692–2697.
- [8] Song Hua W, ZhiMin Y, Hong Y, et al. Copper-induced stress and antioxidative responses in roots of *Brassica juncea* L[J]. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 2004, 45(3): 203–212.
- [9] Xiong Z T, Wang H. Copper toxicity and bioaccumulation in Chinese cabbage (*Brassica pekinensis* Rupr.) [J]. *Environmental Toxicology*, 2005, 20(2): 188–194.
- [10] Reichard J F, Schnekenburger M, Puga A. Long term low-dose arsenic exposure induces loss of DNA methylation[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2007, 352(1): 188–192.
- [11] Schutzendubel A, Schwanz P, Teichmann T, et al. Cadmium-induced changes in antioxidative systems, hydrogen peroxide content, and differentiation in Scots pine roots[J]. *Plant Physiology*, 2001, 127(3): 887–898.
- [12] 国家环境保护局. 土壤环境质量标准[S]. 1995.
SEPA. Environmental quality standard for soils [S]. State of Environmental Protection of People's Republic of China. 1995.
- [13] 刘春生, 孙百晔, 王正直, 等. 铜对不同苹果砧木实生苗生长的影响差异研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2003, 9(3): 364–368.
LIU Chun-sheng, SUN Bai-ye, WANG Zheng-zhi, et al. Effect of copper on growth of different apple stock seedlings[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2003, 9(3): 364–368.
- [14] Liu Y, Wang X, Liu L. Analysis of genetic variation in surviving apple shoots following cryopreservation by vitrification[J]. *Plant Science*, 2004, 166(3): 677–685.
- [15] 刘登义, 李 晶, 王兴明, 等. 铜胁迫下链格孢菌对白车轴草生理生化特性的影响[J]. 生态学报, 2006, 26(5): 1396–1404.
LIU Deng-yi, LI Jing, WANG Xing-ming, et al. Effects of *Alternaria tenuis* Nees on physiological and biochemical characteristics of *Trifolium repens* L. under Cu stress[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(5): 1396–1404.
- [16] Teisseire H, Guy V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*) [J]. *Plant Science (Limerick)*, 2000, 153(1): 65–72.
- [17] Assche F, Clijsters H. Effects of metals on enzyme activity in plants[J]. *Plant, Cell and Environment*, 1990, 13(3): 195–206.
- [18] Weckx J E J, Clijsters H M M. Oxidative damage and defense mechanisms in primary leaves of *Phaseolus vulgaris* as a result of root assimilation of toxic amounts of copper[J]. *Physiologia Plantarum*, 1996, 96(3): 506–512.
- [19] Cuypers A, Vangronsveld J, Clijsters H. Peroxidases in roots and primary leaves of *Phaseolus vulgaris* copper and zinc phytotoxicity: a comparison[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2002, 159(8): 869–876.
- [20] Fang W, Kao C H. Enhanced peroxidase activity in rice leaves in response to excess iron, copper and zinc[J]. *Plant Science (Shannon, Ireland)*, 2000, 158(1–2): 71.
- [21] 王美娥, 周启星. 重金属 Cd, Cu 对小麦 (*Triticum aestivum*) 幼苗生理生化过程的影响及其毒性机理研究 [J]. 环境科学学报, 2006, 26(12): 2033–2038.
WANG Mei-e, ZHOU Qi-xing. Effects of Cd and Cu on physiological and biochemical processes of wheat (*Triticum aestivum*) seedlings and their toxic mechanisms [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2006, 26(12): 2033–2038.
- [22] Patsikka E, Kairavuo M, Sersen F, et al. Excess copper predisposes photosystem II to photoinhibition in vivo by outcompeting iron and causing decrease in leaf chlorophyll [J]. *Plant Physiology*, 2002, 129(3): 1359–1367.

致谢:感谢匿名审稿专家对论文提出的宝贵意见和建议。