

铜排斥型植物黄花月见草(*Oenothera glazioviana*) 对铜胁迫的响应以及在铜污染土壤上的合理利用

贺瑶¹, 周惜时¹, 夏妍¹, 郭攀¹, 王桂萍², 沈振国^{1,2,3}, 陈亚华^{1,2,3*}

(1. 南京农业大学生命科学学院, 南京 210095; 2. 南京农业大学农村土地资源利用与整治国家地方联合工程研究中心, 南京 210095; 3. 江苏省有机固体废弃物资源化协同创新中心, 南京 210095)

摘要:为探究 Cu 对铜排斥型经济植物黄花月见草生长和生理特性的影响,以铜积累型植物海州香薷和铜敏感植物芝麻为对照,通过水培试验研究了 Cu(50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)胁迫对三种植物根系生长、根尖质膜完整性、叶片叶绿素含量、膜透性、渗透调节物质含量、有机酸含量、必需营养元素吸收的影响。结果表明:Cu 胁迫下三种植物根系生长均受到显著抑制,但黄花月见草和海州香薷的根尖质膜完整性较好,而芝麻的根尖质膜完整性受到严重伤害;Cu 胁迫导致芝麻叶片细胞膜透性增加了 130%、叶绿素含量相对于对照降低了 6.9%,但对黄花月见草和海州香薷叶片膜透性、叶绿素含量没有影响。Cu 胁迫下,三种植物体内苹果酸含量均显著增加;海州香薷和芝麻叶片中脯氨酸含量分别上升了 37%和 73%,而黄花月见草叶片脯氨酸含量变化不大。三种植物体内 Cu 积累与 Zn、Fe、Mn 的积累呈显著正相关,与 Ca、K 积累呈负相关。此外,通过盆栽试验发现,土壤中总铜含量不高于 700 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土对黄花月见草种子千粒重、种子油含量、油中 γ -亚麻酸含量均没有显著影响,且种子铜含量符合国家食品卫生标准(GB 5009.13—2003)。低廉的生产成本和较高的经济效益使得黄花月见草在合理利用 Cu 污染土壤中具有推广价值。

关键词:黄花月见草;海州香薷;芝麻;铜耐性;生理响应

中图分类号:X53 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2015)03-0449-12 doi:10.11654/jaes.2015.03.006

Physiological Responses of *Oenothera glazioviana* to Copper Stress and Its Rational Utilization in Copper Contaminated Soil

HE Yao¹, ZHOU Xi-shi¹, XIA Yan¹, GUO Pan¹, WANG Gui-ping², SHEN Zhen-guo^{1,2,3}, CHEN Ya-hua^{1,2,3*}

(1.College of Life Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2.National Joint Local Engineering Research Center for Rural Land Resources Use and Consolidation, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 3.Jiangsu Collaborative Innovation Center for Solid Organic Waste Resource Utilization; Nanjing 210095, China)

Abstract:Growth and physiological characteristics of a copper excluder, *Oenothera glazioviana*, a copper accumulator, *Elsholtzia haichowensis*, and a copper sensitive species, *Sesamum indicum*, treated with 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu were studied in solution culture. Root growth, cell membrane permeability, uptake of essential elements, integrity of the root-tip plasma membrane, and contents of chlorophyll, organic acid and substances used for osmotic pressure adjustment were measured. Three days after Cu treatment, the root growth decreased in all three plant species. Additionally, the plasma membrane of *S. indicum* root-tip was seriously damaged, but membranes remained intact in *O. glazioviana* and *E. haichowensis*. Compared with the control without Cu stress, cell membrane permeability increased by 130%, but chlorophyll content decreased by 6.9% in the leaves of *S. indicum*. However, these physiological characteristics did not change in *O. glazioviana* and *E. haichowensis*. Under Cu stress, malic acid contents of three species increased. Copper stress did not affect proline content of *O. glazioviana*, but increased that of *E. haichowensis* and *S. indicum* by 37% and 73%, respectively. Accumulation of Cu was positively correlated with that of Zn, Fe, and Mn, but negatively with that of Ca and K in all three species. Furthermore, no effects of Cu stress on thousand kernel weight, contents of oil and γ -linolenic acid were found in *O. glazioviana* grown in soil containing total copper $\leq 700\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. The content of Cu in *O. glazioviana* seeds satisfied the National Food Health Standards of China (GB 5009.13—2003). Low production cost and high economic returns of *O. glazioviana* make this plant promising in utilizing Cu-contaminated soils.

Keywords:*Oenothera glazioviana*; *Elsholtzia haichowensis*; *Sesamum indicum*; copper tolerance; physiological response

收稿日期:2014-10-28

基金项目:国家自然科学基金(31371545);江苏省农业科技自主创新基金 CX(14)2095;江苏省科技计划项目(社会发展)(BE2013709, BE2014742)

作者简介:贺瑶(1989—),女,江苏宿迁人,硕士研究生,从事重金属污染土壤的植物修复研究。E-mail:2013116007@njau.edu.cn

*通信作者:陈亚华 E-mail:yahuachen@njau.edu.cn

Cu 是植物生长的必需微量元素, 适量 Cu 对维持植物正常生理代谢及产量的提高、品质的改善都有重要意义。目前由于污水灌溉、污泥、畜禽粪便和农药的施用、矿藏的开采和冶炼等增加了土壤中的 Cu 含量^[1]。过量的 Cu 不仅会给植物的生长带来毒害, 而且还可通过在植物根、茎、叶及果实中的过量积累进入食物链, 进而危及人类健康^[2]。

Cu 对植物最直观的影响表现于植物长势减缓, 根系生长受抑、生物量下降等^[3]。Wei 等^[4]研究发现, 当 Cu 浓度 $\geq 10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 苏丹草根系呈褐色, 生物量与对照相比显著下降。刘登义等^[5]的研究表明, 小麦在 Cu 毒害下, 除叶片细小、普遍失绿外, 还形成特征性的狮尾根, 当土壤总铜含量达 $2000 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 植株萎蔫, 几乎停止生长。过量 Cu 使玉米根细胞的核仁解体、核仁区缩小, 染色质浓缩、核 DNA 合成受抑制, 从而细胞不能顺利地由 G0 期向 S 期转变^[6]。Cu 对叶绿素含量和光合作用有不同程度的影响, Cu 与叶绿体蛋白质上的-SH 结合或取代其中的 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} , 致使叶绿体蛋白中心粒子组成发生变化而失活。Lou 等^[3]研究发现 Cu 浓度高于 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时海州香薷叶片叶绿素含量下降, 光合效率降低。Cu 同样会导致必需营养元素的吸收、运输和积累的失调, 这在许多受 Cu 毒害的植物中均有发现。 $30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu^{2+} 会导致油菜根系和叶片中 K、P、S 含量显著下降, 同时根系中 Ca 含量显著上升^[7]。植物吸收过量 Cu 会对细胞膜及多种细胞器的膜系统产生伤害, 离子泄漏和水分代谢失调是 Cu 胁迫破坏质膜的结果, 巯基化合物含量下降、膜脂过氧化是质膜透性增加的直接原因^[8-9]。另外, Cu 可以通过抑制植物叶片亚硝酸还原酶等氮素代谢相关酶的活性减少氮的吸收及转运, N 总量及叶片和根部 NO_3^- 和游离氨基酸含量均下降, 硝酸还原酶活性几乎被完全抑制, 但游离氨和谷氨酰胺含量上升, 说明经由较为活跃的谷氨酸脱氢酶的 N 代谢途径引起 N 代谢的变化^[10-11]。

黄花月见草 (*Oenothera glazioviana*), 柳叶菜科, 月见草属, 一、二年生或多年生草本植物, 又名野芝麻、山芝麻, 原产北美洲^[12]。近年来, 月见草作为油料作物开始人工栽培, 因为其种子油中富含 7%~10% 的 γ -亚麻酸 (GLA)^[13-14]。GLA 是组成人体一系列前列腺素的必需前体物质, 是组成人体各组织生物膜的结构材料, 具有调节免疫系统、抗癌、抗炎症的作用^[15]。由于 GLA 广泛的生理活性和明显的药理作用, 被认为是“21 世纪功能性食品主角”^[16], 自然界中以月见草

油中的含量最多^[17]。20 世纪 80 年代以来, 英、美、德及中国等 30 多个国家极其重视月见草油的应用研究和开发。

本研究采用溶液培养方法以铜积累型耐性植物海州香薷 (*Elsholtzia haichowensis*)^[3] 和传统的油料作物芝麻 (*Sesamum indicum*)^[18] 作为对照植物, 研究铜胁迫下黄花月见草幼苗生长、渗透调节的变化、根尖质膜完整性、植物体内有机酸的变化等, 探讨黄花月见草对铜胁迫的生理响应及耐铜机理。同时通过盆栽试验, 研究不同浓度 Cu 污染土壤对黄花月见草生长、种子中铜含量、种子油含量以及 γ -亚麻酸含量的影响, 分析了黄花月见草在合理利用 Cu 污染废弃地中的应用价值, 为选育重金属低积累、对环境适应能力强的经济植物提供依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料和实验设计

供试植物为黄花月见草 (*Oenothera glazioviana*)、海州香薷 (*Elsholtzia haichowensis*) 和芝麻 (*Sesamum indicum*), 采用水培和土培相结合的试验方法。

水培选取三种植物饱满的种子, 播种在珍珠岩和蛭石基质上发芽, 待幼苗两片真叶全部打开后, 选取长势和大小一致的幼苗, 用海绵将其固定在有孔的泡沫板上, 然后放置在盛有 2.5 L 营养液周转箱中培养。将幼苗移栽到营养液中, 开始培养时使用 1/8 Hoagland 营养液, 然后逐步换为 1/4、1/2 以至完全 Hoagland 营养液, 用 HCl 或 KOH 溶液将营养液 pH 调至 5.45, 植物生长在可控的温室中。待幼苗生长至 4 叶 1 心期 (不包括子叶) 开始如下处理: 对照和 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ CuSO_4 两个处理, 3 d 后, 测定植物根系生长、根尖质膜完整性、叶片叶绿素含量、膜透性、渗透调节物质含量、植物体内有机酸含量、必需营养元素的吸收。

土培的供试土壤采自南京市汤山街道农田土, 土壤类型为黄棕壤。土壤取样深度为耕层 0~20 cm。供试土壤基础养分含量见表 1。试验设 6 个处理, 每个处理重复 4 次, 各处理添加的 Cu 浓度分别为 0、50、100、300、600、1000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。投加的 Cu 以 $\text{CuSO}_4:\text{CuCO}_3=1:1$ 的形式固态加入到土壤中并充分混匀, 平衡 14 d 后每个花盆装入 $(2.5\pm 0.05)\text{kg}$ 土壤, 并在装盆之前取样测定各土样总 Cu 和提取态 Cu 含量 (表 6)。种子经 0.5% NaClO 消毒 20 min 之后播种于经消毒的穴盘, 20 d 之后约 3 月下旬选择健壮、生长一致的

表1 供试土壤基础养分含量(mean±SE)

Table 1 Physicochemical properties of tested soil

OM/g·kg ⁻¹	TN/g·kg ⁻¹	TP/g·kg ⁻¹	TK/g·kg ⁻¹	HN/mg·kg ⁻¹	AP/mg·kg ⁻¹	AK/mg·kg ⁻¹
29.34±6.28	3.39±0.63	0.32±0.05	3.71±0.18	100.56±4.24	48.53±6.87	332.75±40.45

注:OM为有机质;TN为总氮;TP为总磷;TK为总钾;HN为水溶氮;AP为有效磷;AK为有效钾。

黄花月见草幼苗移栽到各处理花盆中,培养期间温度为28℃/20℃,土壤湿度保持在60%田间持水量,自然光照。待种子完全成熟后约10月上旬收获,自然晾干,测定种子千粒重、油含量及γ-亚麻酸含量。

1.2 水培试验

1.2.1 根系生长测定

根长、根尖数量、根系表面积、根系直径、根系总投影、根系体积采用WRHIZO全自动根系分析系统测定。

1.2.2 根尖质膜完整性测定

通过不透膜的分子荧光探针碘化丙啶(PI)来分析。PI能够与核苷酸相结合,通过用来标记失去膜完整性的细胞^[19],活细胞不被标记。将处理好的植物根尖样品放进5μg·mL⁻¹的PI溶液中,20min后取出冲净,立即置于荧光显微镜下,在546nm波长激发紫外光下观察、拍照。

1.2.3 叶片膜透性测定

用DDS-11A型电导率仪测定相对电导率^[20]。

1.2.4 叶片叶绿素含量测定

用SPAD-502叶绿素仪测定叶片叶绿素含量。

1.2.5 叶片脯氨酸的测定

采用酸性茚三酮法^[20]测定叶片脯氨酸含量。

1.2.6 植物体内有机酸分析

采用高效液相色谱技术,HITACH UV Detector L-2400,HITACH Pump L-2130。准确称取0.50g新鲜植物样品,加入5mL 0.5mol·L⁻¹HCl充分研磨,75℃水浴30min,室温放置过夜,20000×g离心20min,上清过阳离子树脂(Amberlite IR-120)去除金属离子,用0.22μmol·L⁻¹水相滤膜过滤后备测。标准品苹果酸、柠檬酸、草酸、酒石酸、琥珀酸(购自Sigma公司),甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂为分析纯。色谱柱为C18柱(ZORBAX SB-Aq 4.6×250mm 5-Micron),柱温25℃,流动相为0.05mol·L⁻¹磷酸二氢钾,含1%甲醇,进样量20μL,检测波长为214nm,流速为0.6mL·min⁻¹。

1.2.7 元素含量测定

Cu处理3d后,部分样品取样将植物根浸入25mmol·L⁻¹EDTA-Na溶液中交换15min,以解吸根系

表面吸附的金属离子,再用去离子水将植物洗净吸干,将植株分成地上部、根系两部分,120℃于烘箱中30min杀青,之后80℃烘干至恒重并称量测定生物量。

植物地上部和根系样品烘干后粉碎,准确称取(0.2000±0.0010)g植物样,加入HNO₃:HClO₄=87:13(V/V)的混酸,在电热消解仪上消煮。用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES,Perkin Elmer Optima 2100DV)测定大量元素K、Ca、P、Mg及微量元素Cu、Zn、Fe、B、Mn含量。

1.3 土培试验

1.3.1 土壤总铜和有效铜的测定

采集的土样避光阴干,再经30℃烘干至恒重后,玛瑙研钵充分研磨,过2mm筛,准确称取(0.2500±0.0010)g土样倒入洁净干燥的消煮管中,加入6~8mL HNO₃:HClO₄=4:1(V/V)的混酸,在电热消解仪上消煮完全。消煮后的管子内加入20mL 2.5%的稀硝酸,涡旋,70℃下水浴30min,取上清作为待测液。用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES,Perkin Elmer Optima 2100 DV)测定土壤总铜含量。样品消煮过程中以消煮的混合酸为空白,同时消煮,以消除消煮和分析过程中污染带来的误差。

另准确称取(5.0000±0.0010)g土壤样品(孔径小于2mm),置于50mL离心管中,加25mL 0.01mol·L⁻¹CaCl₂溶液后室温下水平振荡2h,离心,取上清液,加入6~8mL HNO₃:HClO₄=4:1(V/V)的混酸,在电热消解仪上消煮完全。用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES,Perkin Elmer Optima 2100DV)测定Ca-Cl₂提取态Cu含量。

1.3.2 黄花月见草种子千粒重测定

千粒重的测定参照Balasubramanian等^[21]的方法,取100g黄花月见草种子,将种子随机分成10等份,然后随机从各份中取种子,数够1000粒,置于40℃烘箱中干燥。然后电子天平(精确到小数点后四位)称重,每次称重重复5次取平均值。

1.3.3 黄花月见草种子油含量测定

称取备用试样5g,准确至0.0001g,置于(105±2)℃烘箱中,干燥1h后取出,放入干燥器内冷却至

室温,同时测定样品的水分含量。籽粒油含量的测定参照 Zaidul 等^[22]的方法,将样品放入研钵内研细,必要时可加适量石英砂助研,将研细的样品过 18~35 目(1~0.5 mm)筛子后移入干燥的滤纸筒内,取少量脱脂棉蘸乙醚抹净研钵、研棒和药匙上的试样和油迹,一并投入滤纸筒内,在试样面层塞以脱脂棉,然后将滤纸筒放入索氏提取器的抽提管内。抽提剂采用无水乙醚,抽提 8 h 后,转移到旋转蒸发器蒸至恒重。

$$\text{油含量}(\% \text{干基}) = \frac{\text{油重量}}{\text{样品重量} \times (1 - \text{水分百分率})} \times 100$$

1.3.4 黄花月见草种子油中 γ -亚麻酸含量测定

采样气相色谱法,色谱柱:SupelcoTM 弹性石英毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm);检测器:FID;载气: N_2 ;灵敏度:20;衰减:-5;分流比:30:1;进样量:1 μL ;柱温:170 $^\circ\text{C}$;进样口温度:180 $^\circ\text{C}$;检测器温度:200 $^\circ\text{C}$ 。对照品溶液: γ -亚麻酸甲酯对照品购自中国药品生物制品检定所,批号:110898~200503。准确称取 γ -亚麻酸甲酯对照品 11.62 mg,置于 10 mL 容量瓶中,准确加入正己烷溶解并制成每 1 mL 含 1.162 mg 的 γ -亚麻酸甲酯对照品溶液。供试品溶液:黄花月见草种子油 100 g 经皂化反应后得总脂肪酸,准确称取总脂肪酸约 8 mg,置于 10 mL 具塞试管中,加入甲醇 2 mL,三氟化硼乙醚液 1 mL,振摇,于 60 $^\circ\text{C}$ 水浴 5 min,冷却至室温,准确加入正己烷 2 mL,饱和氯化钠溶液 2 mL,旋涡振摇,放置片刻,加入无水硫酸钠 2 g,上层液即为甲酯化供试品溶液。

1.4 数据处理

方差分析使用 SPSS 14.0(SPSS Inc., Chicago, U.S.A)数据处理软件,采用 Duncan 多重范围检验方法。采用 SigmaPlot 12.5 进行数据分析与作图。

2 结果与分析

2.1 铜对三种植物根系生长的影响

如图 1 所示,50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu 处理 3 d 时,黄花月见草、海州香薷和芝麻的根伸长量均受到显著抑制,与对照比较分别下降了 31%、30%和 46%。作为根系中生命活动最旺盛的区域也是根实现吸收功能的主要部位,黄花月见草、海州香薷和芝麻的根尖数量在铜的胁迫下分别比对照下降了 37%、41%和 23%(图 2),下降的程度均达到显著水平。从图 3 可以看出,黄花月见草、海州香薷和芝麻的根系表面积在铜的胁迫下分别比对照下降了 42%、41%和 51%,降低的程度同样也均达到显著水平。就根系体积而言(图 4),黄花

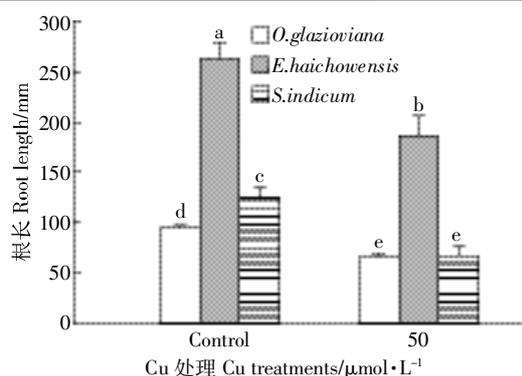


图 1 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu 处理 3 d 对三种植物根系伸长生长的影响
Figure 1 Effect of 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu treatment for 3 days on root elongation of three plant species

Figure 1 Effect of 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu treatment for 3 days on root elongation of three plant species

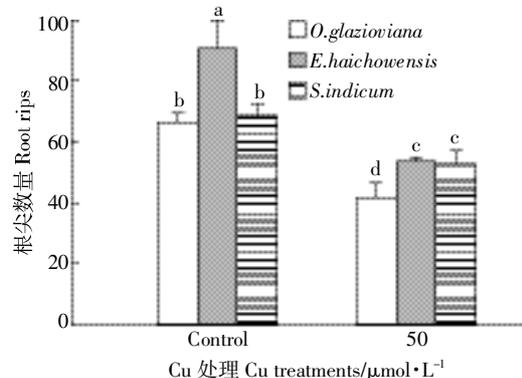


图 2 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu 处理 3 d 对三种植物根系根尖数量的影响
Figure 2 Effect of 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu treatment for 3 days on root tips of three plant species

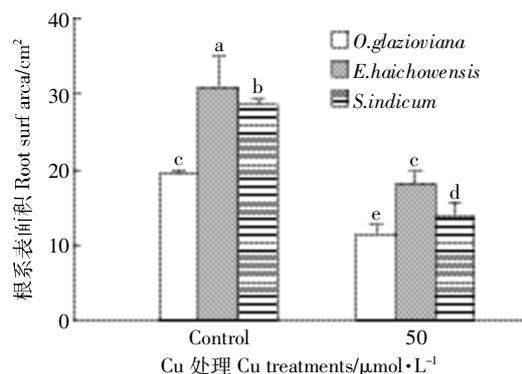


图 3 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu 处理 3 d 对三种植物根系表面积的影响
Figure 3 Effect of 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu treatment for 3 days on root surface area of three plant species

月见草、海州香薷和芝麻的根系体积在铜的胁迫下分别比对照下降了 37%、56%和 63%,降低的程度同样也均达到显著水平。黄花月见草、海州香薷和芝麻的

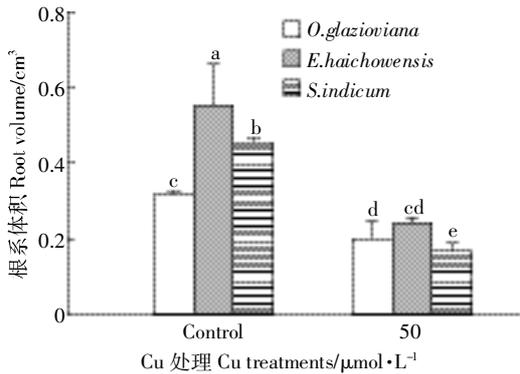


图4 50 μmol·L⁻¹ Cu 处理 3 d 对三种植物根系体积的影响
Figure 4 Effect of 50 μmol·L⁻¹ Cu treatment for 3 days on root volume of three plant species

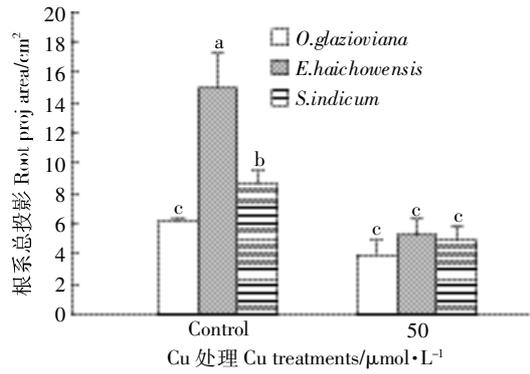


图6 50 μmol·L⁻¹ Cu 处理 3 d 对三种植物根系总投影面积的影响
Figure 6 Effect 50 μmol·L⁻¹ Cu treatment for 3 days on root projection area of three plant species

根系直径在铜的胁迫下分别比对照下降了 1%、10% 和 14%, 如图 5 所示, 黄花月见草根直径几乎没有变化, 而海州香薷和芝麻的根系直径均受到了显著抑制。黄花月见草、海州香薷和芝麻的根系总投影在铜的胁迫下分别比对照下降了 36%、65% 和 43%, 其中黄花月见草根系总投影下降得不明显, 而海州香薷和芝麻根系总投影下降的程度达到显著水平(图 6)。

2.2 铜处理对三种植物根尖质膜完整性的影响

图 7 为三种植物在 50 μmol·L⁻¹ Cu 处理 3 d 时根

尖细胞质膜完整性的荧光检测结果, 可以看出黄花月见草和海州香薷受铜胁迫后与对照相比, 红色轻微的加深, 而芝麻根尖在铜处理后红色非常深, 说明芝麻失去膜完整性的细胞最多, Cu 处理使其膜完整性破坏严重。

2.3 铜处理对三种植物叶片膜透性的影响

如图 8 所示, 铜对黄花月见草、海州香薷叶片的膜透性无显著影响, 却显著增大了芝麻叶片细胞膜的

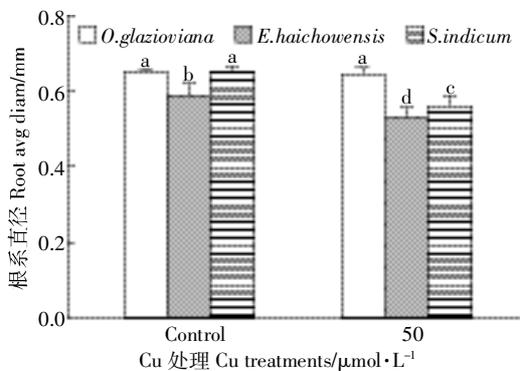


图5 50 μmol·L⁻¹ Cu 处理 3 d 对三种植物根系直径的影响
Figure 5 Effect of 50 μmol·L⁻¹ Cu treatment for 3 days on average root diameters of three plant species

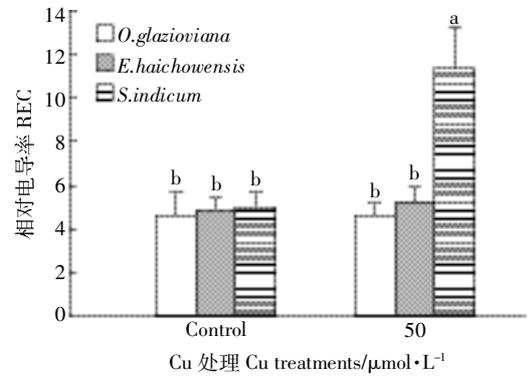


图8 50 μmol·L⁻¹ Cu 处理 3 d 对三种植物叶片膜透性的影响
Figure 8 Effect of 50 μmol·L⁻¹ Cu treatment for 3 days on membrane permeability in leaves of three plant species

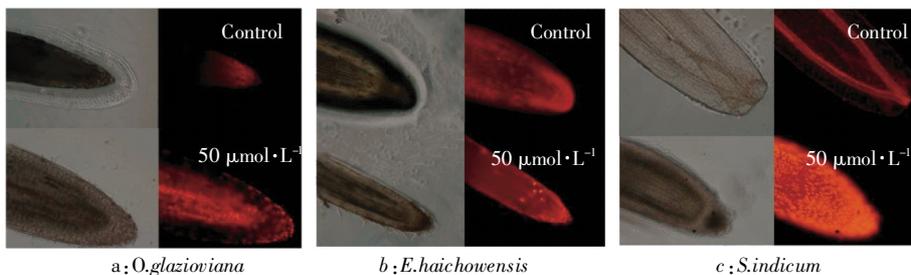


图7 50 μmol·L⁻¹ Cu 处理 3 d 三种植物根系根尖质膜完整性的荧光染色图

Figure 7 Fluorescence images of cell plasma membrane integrity in root tips of three plant species with 50 μmol·L⁻¹ Cu treatment for 3 days

透性,可能由于大量铜进入植物体造成膜蛋白的磷脂结构改变,膜系统遭受破坏,透性增大,使细胞内一些可溶性物质外渗,从而导致相对电导率增大。

2.4 铜处理对三种植物叶片叶绿素含量的影响

由表 2 可以看出,50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu 处理对黄花月见草和海州香薷叶片的叶绿素含量的影响不明显,而芝麻叶绿素含量在铜胁迫下下降了 6.9%, 差异显著。

表 2 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu 处理对植物叶片叶绿素含量的影响

Table 2 Effects of 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu treatment for 3 days on chlorophyll contents in leaves of three plant species

种类 Species	叶绿素含量 Chlorophyll contents /SPAD	
	Control	50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
<i>O. glazioviana</i>	38.21 \pm 1.94a	38.13 \pm 0.85a
<i>E. haichowensis</i>	36.61 \pm 1.86a	36.03 \pm 1.14a
<i>S. indicum</i>	36.26 \pm 0.50a	33.76 \pm 0.30b

注:表中不同小写字母表示同植物不同处理间 LSD 检验 5% 水平差异显著; $n=3$ 。

2.5 铜对三种植物体内渗透调节物质的影响

脯氨酸是植物重要的渗透调节物质。本实验中, Cu 胁迫对黄花月见草叶片的脯氨酸含量影响不显著, 而显著影响了海州香薷和芝麻叶片脯氨酸含量。相对于只添加营养液的对照而言, Cu 处理 3 d 后, 海州香薷和芝麻叶片脯氨酸含量分别上升了 37% 和 73% (图 9)。

2.6 铜对三种植物体内有机酸含量的影响

图 10 所示为有机酸标准样品的离子色谱图谱, 分析了草酸、酒石酸、苹果酸、柠檬酸、琥珀酸 5 种有机酸。由图 11 可见, 三种植物体内的有机酸主要以草酸、柠檬酸、苹果酸为主, 其他有机酸均未检出, 其中

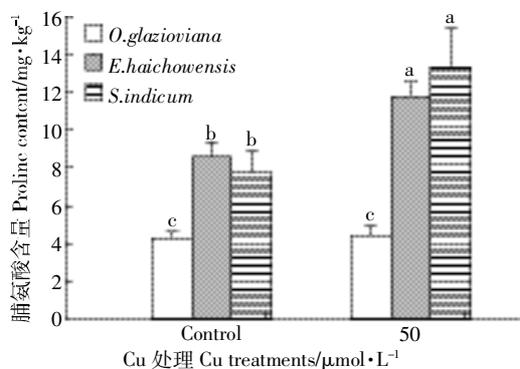
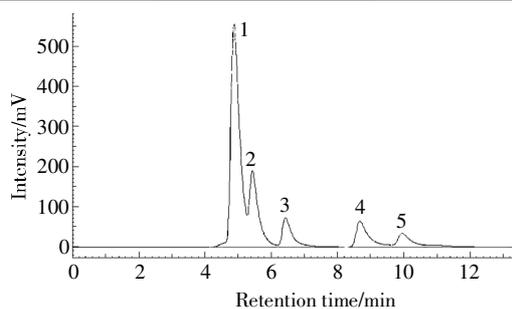


图 9 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu 处理 3 d 对三种植物叶片脯氨酸含量的影响

Figure 9 Effects of 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu treatment for 3 days on proline contents in leaves of three plant species



1.草酸 Oxalic acid; 2.酒石酸 Tartaric acid; 3.苹果酸 Malic acid; 4.柠檬酸 Citric acid; 5.琥珀酸 Succinic acid

图 10 有机酸标准样品的离子色谱图

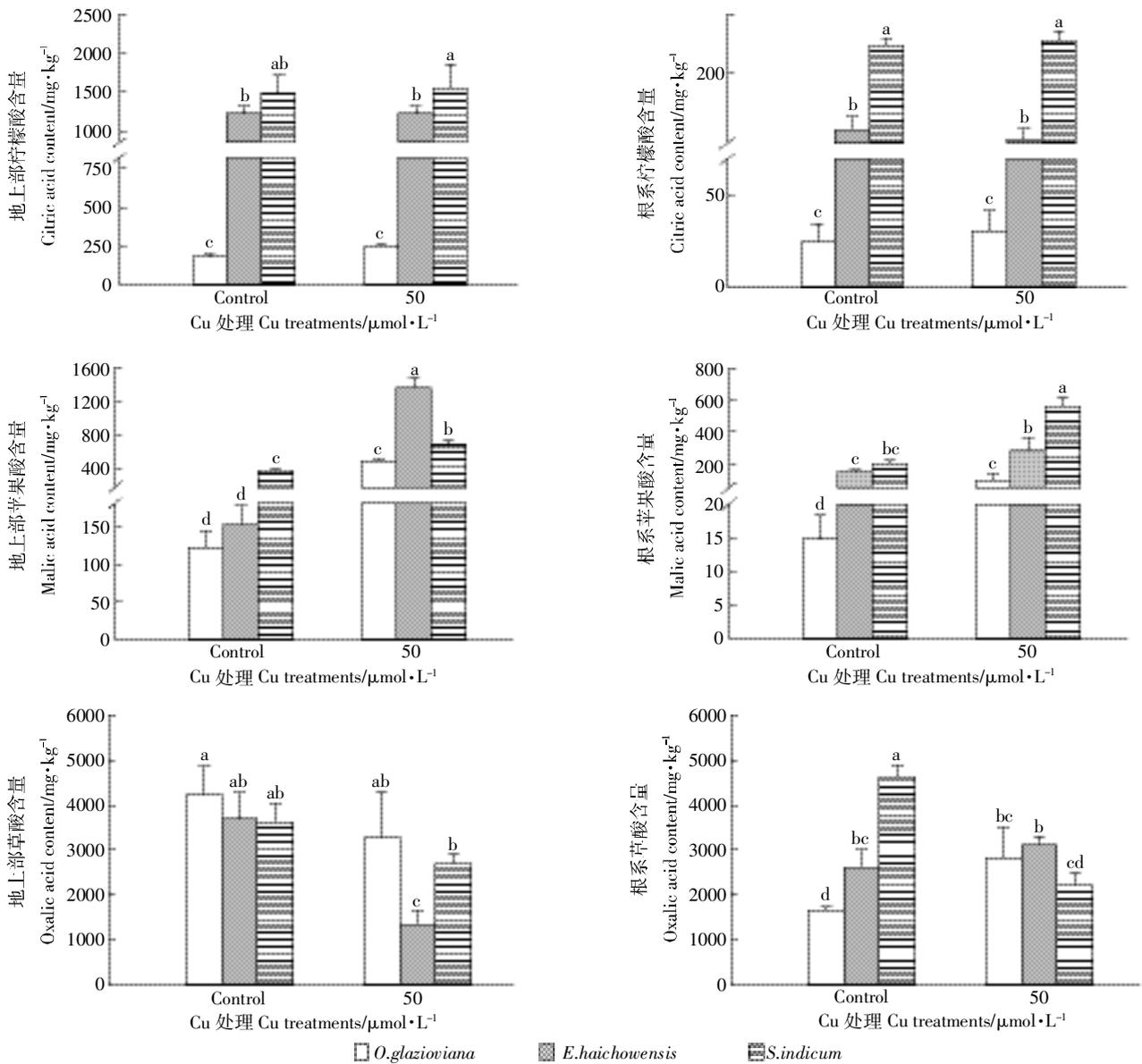
Figure 10 IC chromatogram of standard organic acids

Cu 胁迫对三种植物体内的柠檬酸含量均没有显著的影响。就黄花月见草而言, 其地上部草酸含量受 Cu 的影响不显著, 但苹果酸升高了 3.2 倍, 而根系草酸和苹果酸含量在 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu 处理 3 d 时分别上升了 69% 和 5.5 倍。Cu 胁迫导致了海州香薷地上部草酸含量降低了 63%, 苹果酸含量却上升了 7.9 倍, 其根系中草酸含量受 Cu 影响上升 19%, 苹果酸含量剧增 90%。芝麻在 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu 处理 3 d 时生命体征受损严重, 地上部和根系的草酸含量分别下降了 26% 和 52%, 然而其地上部和根系的苹果酸含量分别上升了 81% 和 1.8 倍。

2.7 铜对三种植物必需矿质元素吸收的影响

就大量元素而言(表 3), Cu 胁迫对三种植物地上部和根系的 P、Ca 含量影响不显著, 而黄花月见草和芝麻根系中的 Mg 含量相比对照分别减少了 28% 和 41%, 海州香薷根系中的 Mg 却比对照增加了 34%。三种植物对 K 的吸收也有较大差异, 其中黄花月见草和芝麻根系中的 K 相比对照减少了 16% 和 79%, 而海州香薷根系中的 K 含量却比对照提高了 2.3 倍。

至于微量元素(表 4), Cu 处理并没有导致黄花月见草地上部 Cu 含量产生变化, 而海州香薷和芝麻地上部的 Cu 含量分别增加了 0.7 倍和 1.4 倍, 同时黄花月见草根系中 Cu 含量升高了 19 倍, 远低于海州香薷和芝麻升高的 52 倍和 94 倍。Cu 处理使得黄花月见草和芝麻根系对 Zn 吸收分别下降了 25% 和 48%, 相反, 海州香薷根系中 Zn 含量却升高了 1.05 倍。三种植物在 Cu 胁迫下对 Fe 的吸收也存在较大差异, 黄花月见草地上部和根系中的 Fe 含量分别比对照减少了 31% 和 32%, 然而芝麻地上部和根系中的 Fe 含量却分别增加了 29% 和 22%, Cu 处理并没有影响海州香薷对 Fe 的吸收和积累。Cu 处理导致三种

图 11 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu 处理 3 天对三种植物地上部和根系有机酸含量的影响Figure 11 Effects of 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu treatment for 3 days on organic acid contents in shoots and roots of three plant species

植物地上部 B 含量均呈增加趋势,但影响不显著,芝麻根系中 B 含量减少了 24%。海州香薷体内 Mn 含量不受 Cu 胁迫的影响,然而黄花月见草和芝麻根系中 Mn 含量分别减少了 58% 和 54%。

黄花月见草是铜排斥型的耐性植物,海州香薷是铜积累型耐性植物,芝麻属于对铜比较敏感的非耐性植物,三种植物用于研究对 Cu 胁迫的响应比较有代表性,对三种植物体内 Cu 的积累与其他必需营养元素积累的相关性分析数据如表 5 所示,植物体内 Cu 的积累与 Zn、Fe、Mn 的积累呈显著正相关,与 Ca、K 的积累呈负相关。

2.8 铜对黄花月见草种子千粒重、油含量及油中 γ -亚麻酸含量的影响

如表 6 所示,土壤中有效态铜含量随着添加的总铜含量的升高而升高,有效态铜大约是土壤总铜量的 0.1%。土壤中总铜含量为 $1236\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时严重抑制了黄花月见草的生长,该处理浓度下,植株生长缓慢未收获种子。当土壤总铜含量低于 $700\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,对黄花月见草种子的千粒重、种子铜含量、种子油含量、种子油中 γ -亚麻酸含量均没有显著影响,当土壤中总铜含量为 $874\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,种子的千粒重、种子油含量、种子油中 γ -亚麻酸含量分别降低了 18%、13% 和

表3 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu 处理对三种植物地上部和根系P、Ca、Mg 和 K 积累的影响Table 3 Effects of 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu treatment on P, Ca, Mg and K accumulation in three plant species

Cu 处理 Cu treatment/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$			元素含量 Element content/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ DW			
			P	Ca	Mg	K
地上部 Shoots	<i>O. glazioviana</i>	Control	7.601±0.42b	20.59±1.32b	3.166±0.04c	4275±556a
		50	6.684±0.41b	18.97±1.25bc	2.814±0.34c	3979±373a
	<i>E. haichowensis</i>	Control	6.655±0.57b	16.25±3.45bc	6.965±0.87ab	2647±123bc
		50	8.181±0.39b	15.76±3.57c	7.937±1.51a	3095±214b
	<i>S. indicum</i>	Control	14.96±1.64a	37.85±2.08a	5.928±0.62b	2939±830bc
		50	16.83±2.82a	38.22±1.44a	6.478±0.62ab	2096±315c
根 Roots	<i>O. glazioviana</i>	Control	14.51±3.16bc	19.38±1.89a	9.823±1.46a	3469±364a
		50	12.25±3.27c	20.27±1.66a	7.100±0.25b	2921±360b
	<i>E. haichowensis</i>	Control	14.74±4.07abc	18.42±2.15ab	4.983±0.52c	825.6±198c
		50	19.86±1.29a	16.65±2.42b	6.692±0.75b	2751±344b
	<i>S. indicum</i>	Control	18.99±2.13ab	11.76±1.01c	5.740±0.67bc	3155±39.5ab
		50	13.97±1.55bc	12.52±0.78c	3.385±0.18d	674.1±31.5c

注:植物相同部位不同字母表示 LSD 检验 5%水平差异显著; $n=3$ 。表 4 同。

表4 Cu 处理对三种植物地上部和根系 Cu、Zn、Fe、B 和 Mn 积累的影响

Table 4 Effects of Cu treatment on Cu, Zn, Fe, B and Mn accumulations in three plant species

Cu 处理 Cu treatment/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$			元素含量 Element content/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DW				
			Cu	Zn	Fe	B	Mn
地上部 Shoots	<i>O. glazioviana</i>	Control	13.99±1.45b	46.31±5.78b	242.1±34.8a	25.71±1.09c	124.7±15.9b
		50	14.59±0.66b	34.35±7.27b	165.1±14.1bc	27.54±2.24c	113.1±16.2b
	<i>E. haichowensis</i>	Control	11.61±2.11bc	39.53±5.32b	147.8±17.6c	46.13±8.47a	64.43±11.1c
		50	19.87±2.54a	46.21±16.5b	141.9±26.8c	48.33±11.5a	67.43±7.41c
	<i>S. indicum</i>	Control	9.56±1.26c	102.4±24.1a	201.1±22.9ab	32.97±6.19bc	136.7±32.9ab
		50	23.03±2.63a	101.9±21.1a	258.5±35.6a	41.47±6.16ab	168.9±27.8a
根 Roots	<i>O. glazioviana</i>	Control	36.45±4.58d	155.4±30.9b	1346±309c	28.65±5.21c	922.6±82.8c
		50	717.6±101c	117.0±10.1bc	918.2±132d	27.59±4.53c	389.5±51.8d
	<i>E. haichowensis</i>	Control	34.10±9.13d	72.93±6.23c	1287±397c	24.22±6.73c	602.9±64.7c
		50	1794±412b	149.9±51.6b	1273±255c	29.40±4.58c	657.3±73.9c
	<i>S. indicum</i>	Control	39.75±8.54d	288.2±55.1a	3455±593b	59.56±11.0a	5961±561a
		50	3761±646a	148.5±11.9b	4219±525a	45.58±6.39b	2724±616b

34%，然而黄花月见草种子中的铜含量始终保持在5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 左右。

3 讨论

Patterson 和 Olson^[23]认为生物量是探讨植物重金属耐性最直接的参数,海州香薷是目前发现耐铜性最高的积累性植物之一^[24],虽然经济作物黄花月见草铜耐性不及海州香薷,但是远高于芝麻。水培实验发现黄花月见草在 $<25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu 处理下生物量并未下降,其半抑制浓度在 50~100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间。10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu 处理导致苏丹草生物量显著下降^[4], 3.6 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu 显著抑制了小麦的根长,阻碍了其生长。由此可

见,黄花月见草具有一定铜耐受性。

细胞膜作为植物调节和控制细胞内外物质运输和交换的重要结构,其完整性是评价植物对污染物反应的常用指标之一^[25]。本实验利用荧光检测的方法发现黄花月见草和海州香薷的根系质膜完整性在 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu 处理下相对较完整,而芝麻受损严重,这与三者耐受实验的结果相一致。

细胞膜结构是植物遭受 Cu 毒害的首要部位, Cu 可以与细胞膜蛋白的巯基或磷脂分子层的磷脂类物质结合或者反应,从而使电导率增大^[26-27]。Strange 等^[28]认为过量的 Cu 可以使细胞膜的强度下降, Cu 渗入细胞内部,同时造成胞内物质外渗而亏缺^[29]。对三种植

表5 Cu处理下三种植物体内必需矿质元素之间的相关性分析

Table 5 Correlationship between essential mineral elements of three plant species treated by 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu for 3 days

Kendall's tau_b	P	Ca	Mg	K	Cu	Zn	Fe	B	Mn
P	1.000	0.030	0.152	-0.182	0.364	0.576**	0.394	0.121	0.515*
Ca		1.000	-0.030	0.121	-0.303	-0.152	-0.152	-0.364	-0.212
Mg			1.000	0.061	0.061	0.212	-0.091	0.182	0.030
K				1.000	-0.333	-0.061	-0.242	-0.152	-0.182
Cu					1.000	0.485*	0.606**	0.091	0.606**
Zn						1.000	0.636**	0.121	0.758**
Fe							1.000	-0.061	0.879**
B								1.000	0.061
Mn									1.000

注:*表示在5%水平上显著相关;**表示在1%水平上极显著相关。

表6 不同浓度Cu污染土壤对黄花月见草种子千粒重、Cu含量、油含量、 γ -亚麻酸含量的影响Table 6 Effects of Cu concentrations on thousand kernel weights, Cu contents, oil contents and GLA levels of *O. glazioviana* seeds

项目	Control	50 mg·kg ⁻¹	100 mg·kg ⁻¹	300 mg·kg ⁻¹	600 mg·kg ⁻¹	1000 mg·kg ⁻¹
Tested soils						
总铜/mg·kg ⁻¹	298	332	457	690	874	1236
有效铜/mg·kg ⁻¹	0.03	0.18	0.40	0.69	0.83	1.25
Seed quality						
千粒重/g	0.28±0.06a	0.28±0.03a	0.26±0.05ab	0.26±0.02ab	0.23±0.01b	—
Cu含量/mg·kg ⁻¹	5.4±0.3a	5.5±0.6a	5.4±0.4a	5.7±0.4a	5.7±0.8a	—
油含量/%	18.0±1.9a	17.8±2.1a	17.6±1.6a	16.4±1.3ab	14.2±0.8b	—
油中 γ -亚麻酸含量/%	17.5±2.1a	17.3±1.6a	17.1±0.6a	16.1±1.1ab	10.6±1.2b	—

注:同指标不同字母表示LSD检验5%水平差异显著;n=3。

物叶片的相对电导率的测定结果显示,芝麻地上部细胞膜受损同样非常严重,可能与其地上部被动积累大量的铜有关。

储玲等^[30]研究发现,三叶草在经10 mg·L⁻¹ Cu处理后,叶绿素含量微增,之后随处理浓度的升高而递减。可能是因为少量Cu弥补了植物体内质体蓝素所需^[31],而质体蓝素又是光合作用电子传递系统的一部分,因此,适宜浓度的Cu可使叶绿素含量增加。我们采用50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu处理时,发现黄花月见草和海州香薷叶片叶绿素受铜胁迫没有显著变化,而芝麻叶片黄化严重,叶绿素含量显著下降。叶绿素含量的减少,可能是由于Cu进入植物体内使叶绿体酶活性比例失调,致使叶绿素分解加快^[32]。同时,由于Cu局部积累过多,与叶绿体中蛋白质-SH结合或取代其中的Fe²⁺、Zn²⁺、Mg²⁺,致使叶绿素蛋白中心离子组成发生变化而失活^[33]。

为了适应逆境,植物通常会在短时间内,通过迅速大量地合成和积累如脯氨酸、甜菜碱等一些渗透调节物质,来增强其对渗透胁迫的抵抗能力^[34]。脯氨酸优先储存在液泡中,是所有氨基酸中水溶性最强的一

种氨基酸^[35-36]。本研究发现,海州香薷和芝麻叶片因Cu胁迫导致脯氨酸含量显著升高,而黄花月见草叶片中脯氨酸没有显著变化,可能与黄花月见草地上部铜积累量并没有因Cu处理而明显增加、叶片受逆境伤害较小有关。

有机酸在植物重金属解毒过程中起重要作用^[37],植物根系吸收重金属后,重金属向地上部分的转移以及在贮存位点内的解毒通过在细胞亚细胞水平与有机配体的螯合、转运、交换和隔离等作用实现^[38]。目前关于Cu有机酸配位螯合物的报道非常少,苹果酸、柠檬酸是目前发现最多的在耐性植物体内螯合Cd、Ni、Zn等重金属的有机酸^[39-43],它们与重金属结合后贮存在液泡内^[44]。在比较三种植物铜胁迫下体内有机酸种类和含量变化时,三种植物地上部苹果酸含量增加。

植物必需营养元素的吸收、运输和积累的失调在许多受Cu毒害的植物中均有发现,重金属可通过干扰植物矿质营养元素的代谢活动而使植物中毒^[45]。Vardaka等^[46]发现小麦根中的Fe含量会随Cu浓度的增加而降低,Ca浓度改变被视为植物对Cu毒害的普

遍反应^[47]。在铜处理下凤丹根部及茎部 P 的含量呈下降趋势,但叶片中 P 的含量稳定^[48],铜胁迫导致垂柳叶片中 Zn 含量的显著降低^[49]。外源 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu 胁迫 3 d 并没有引起黄花月见草地上部 Cu 含量的变化,而海州香薷和芝麻地上部 Cu 含量有一定增加,说明黄花月见草对 Cu 具有较强的排斥机制。在 Cu 胁迫下,黄花月见草根系中的 Mg、K、Mn、Zn 和 Fe 含量相比对照显著降低,地上部 K 和 Mn 含量也有同样的下降趋势,另外海州香薷根系中的 Zn 含量因 Cu 胁迫增加 1.05 倍,芝麻体内几种元素含量大多呈显著减少趋势,而地上部和根系中的 Fe 含量却呈现增加趋势。Cu 对不同植物几种矿质元素积累的差异性,可能是由于不同植物对不同矿质元素吸收特性和体内需求的不同决定的。Cu 可能会使植物根部受到损害或者引起酶的变化,都是 Cu 胁迫影响其他矿质元素在体内分布的原因,但具体的原因还需进一步研究。

对 Cu 污染土壤中黄花月见草种子品质的研究发现,当土壤中总 Cu 浓度为 $690 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,土壤有效态 Cu(CaCl₂ 提取)含量为 $0.69 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,该浓度的 Cu 污染土壤对黄花月见草种子的千粒重、油含量、油中 γ -亚麻酸含量均没有显著影响;当土壤中总 Cu 浓度为 $874 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,黄花月见草种子品质明显下降,而种子的 Cu 含量在 $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 左右,符合食品中的限定标准(GB 5009.13—2003, Cu: $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)。根据本研究结果说明,总 Cu 含量低于 $700 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的土壤符合黄花月见草生长的环境要求,利用黄花月见草不仅能够充分利用荒置的 Cu 污染农田,扩大植被覆盖率,减少土壤中的重金属向周边土地及地下水的迁移,而且能够获得安全的月见草种子以及种子油,可以获取更高的经济效益。

4 结论

(1) $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu 处理下,与 Cu 敏感型植物芝麻相比,黄花月见草和海州香薷均具有较高的耐 Cu 性,表现在根系质膜完整性较好、叶片细胞膜透性和叶绿素含量维持相对稳定。

(2) Cu 胁迫下,三种植物体内苹果酸含量均显著增加;海州香薷和芝麻叶片中脯氨酸含量上升,而黄花月见草叶片脯氨酸含量变化不大;三种植物体内 Cu 积累与 Zn、Fe、Mn 的积累呈显著正相关,与 Ca、K 积累呈负相关。

(3) 土壤总 Cu 含量不高于 $700 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,对黄

花月见草的种子的千粒重、种子 Cu 含量、种子油含量、种子油中 γ -亚麻酸含量均没有显著影响,且种子 Cu 含量符合国家食品卫生标准。低生产成本和较高的经济效益使得黄花月见草在 Cu 污染土壤中具有推广价值。

参考文献:

- [1] 张国军,邱栋梁,刘星辉. Cu 对植物毒害研究进展[J]. 福建农林大学学报, 2004, 33(3): 289-294.
ZHANG Guo-jun, QIU Dong-liang, LIU Xing-hui. Advances in copper toxicity to plants[J]. *Journal of Fujian Agricultural and Forestry University*, 2004, 33(3): 289-294.
- [2] Chen B C, Ho P C, Juang K W. Alleviation effects of magnesium on copper toxicity and accumulation in grapevine roots evaluated with biotic ligand models[J]. *Ecotoxicology*, 2013, 22(1): 174-183.
- [3] Lou L Q, Shen Z G, Li X D. The copper tolerance mechanisms of *Elsholtzia haichowensis*, a plant from copper-enriched soils[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2004, 51(2): 111-120.
- [4] Wei L, Luo C L, Li X D, et al. Copper accumulation and tolerance in *Chrysanthemum coronarium* L. and *Sorghum sudanense* L.[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2008, 55(2): 238-246.
- [5] 刘登义,谢建春,杨世勇,等. 铜尾矿对小麦生长发育和生理功能的影响[J]. 应用生态学报, 2001, 12(1): 126-145.
LIU Deng-yi, XIE Jian-chun, YANG Shi-yong, et al. Effects of copper mine tailings on growth and development and physiological function of wheat[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2001, 12(1): 126-145.
- [6] Doncheva S. Ultrastructural localization of Ag-NOR proteins in root meristem cells after copper treatment[J]. *Journal of Plant Physiology*, 1997, 151(2): 242-245.
- [7] Cestone B, Cuypers A, Vangronsveld J, et al. The influence of EDDS on the metabolic and transcriptional responses induced by copper in hydroponically grown *Brassica carinata* seedlings[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2012, 55: 43-51.
- [8] De Vos C H R, Schat H, Vooijs R. Copper-induced damage to the permeability barrier in roots of *Silene cucubalus*[J]. *Journal of Plant Physiology*, 1989, 135(2): 165-169.
- [9] De Vos C H R, Vonk M J, Vooijs R, et al. Glutathione depletion due to copper-induced phytochelatin synthesis causes oxidative stress in *Silene cucubalus*[J]. *Plant Physiology*, 1992, 98(3): 853-858.
- [10] Marchand L, Mench M, Marchand C, et al. Phytotoxicity testing of lysimeter leachates from aided phytostabilized Cu-contaminated soils using duckweed (*Lemna minor* L.)[J]. *Science of the Total Environment*, 2011, 410(411): 146-153.
- [11] Al-Hakimi A B M, Hamad A A M. Ascorbic acid, thiamine or salicylic acid induced changes in some physiological parameters in wheat grown under copper stress[J]. *Plant Protection Science*, 2011, 47(3): 90-108.
- [12] Singh S, Kaur R, Sharma S K. An updated review on the *Oenothera* genus[J]. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 2012, 10(7): 717-725.
- [13] Ghoreishi S M, Bataghva E. Supercritical extraction of evening primrose oil: Experimental optimization via response surface methodology[J]. *Aiche Journal*, 2011, 57(12): 3378-3384.

- [14] Christie W W. The analysis of evening primrose oil[J]. *Industrial Crops and Products*, 1999, 10(2):73-83.
- [15] Fan Y Y, Chapkin R S. Importance of dietary gamma-linolenic acid in human health and nutrition[J]. *Journal of Nutrition*, 1998, 130(Sup-p11):1411-1414.
- [16] 田歆珍, 王贤磊, 孙桂林, 等. γ -亚麻酸的研究进展[J]. 生物技术, 2008, 18(1):89-92.
TIAN Xin-zhen, WANG Xian-lei, SUN Gui-lin, et al. Research advance of γ -linolenic acid[J]. *Biotechnology*, 2008, 18(1):89-92.
- [17] 万红贵, 张 建, 袁建锋, 等. 生物制备 γ -亚麻酸研究进展[J]. 中国酿造, 2012, 31(2):12-16.
WAN Hong-gui, ZHANG Jian, YUAN Jian-feng, et al. Research progress of biological preparation of gamma linoleic acids[J]. *China Brewing*, 2012, 31(2):12-16.
- [18] 杨 涓, 黄凤洪. 中国芝麻产业现状与存在问题、发展趋势与对策建议[J]. 中国油脂, 2009, 34(1):7-12.
YANG Mei, HUANG Feng-hong. Situation, problem, development trend and suggestion of sesame industry in China[J]. *China Oils and Fats*, 2009, 34(1):7-12.
- [19] De Cnodder T, Vissenberg K, Van Der Straeten D, et al. Regulation of cell length in the *Arabidopsis thaliana* root by the ethylene precursor 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid: A matter of apoplastic reactions[J]. *New Phytologist*, 2005, 168(3):541-550.
- [20] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 2006.
WANG Xue-kui. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment[M]. 2nd Edition. Beijing: Higher Education Press, 2006.
- [21] Balasubramanian S, Viswanathan R. Influence of moisture content on physical properties of minor millets[J]. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 2010, 47(3):279-284.
- [22] Zaidul I S M, Norulaini N N A, Omar A K M, et al. Supercritical carbon dioxide(SC-CO₂) extraction and fractionation of palm kernel oil from palm kernel as cocoa butter replacers blend[J]. *Journal of Food Engineering*, 2006, 73(3):210-216.
- [23] Patterson W A, Olson J J. Effects of heavy metals on radical growth of selected woody species germinated on filter paper, mineral and organic soil substrates[J]. *Canadian Journal of Forest Research*, 1983, 13(2):233-238.
- [24] Xia Y, Qi Y, Yuan Y X, et al. Overexpression of *Elsholtzia haichowensis* metallothionein1 (EhMT1) in tobacco plants enhances copper tolerance and accumulation in root cytoplasm and decreases hydrogen peroxide production[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 233-234:65-71.
- [25] Hall J L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53(366):1-11.
- [26] Jouili H, Feriani E. Changes in antioxidant and lignifying enzyme activities in sunflower roots (*Helianthus annuus* L.) stressed with copper excess[J]. *Comptes Rendus Biologies*, 2003, 326(7):639-644.
- [27] Teisseire H, Guy V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*) [J]. *Plant Science*, 2000, 153(1):65-72.
- [28] Strange J, Macnair M R. Evidence for a role for the cell-membrane in copper tolerance of *Mimulus-guttatus* Fischer ex DC[J]. *New Phytologist*, 1991, 119(3):383-388.
- [29] Clijsters H, Van Assche F. Inhibition of photosynthesis by heavy metals [J]. *Photosynthesis Research*, 1985, 7(1):31-40.
- [30] 储 玲, 刘登义, 王友保, 等. 铜污染对三叶草幼苗生长及活性氧代谢影响的研究[J]. 应用生态学报, 2004, 15(1):119-122.
CHU Ling, LIU Deng-yi, WANG You-bao, et al. Effect of copper pollution on seedling growth and activate oxygen metabolism of *Trifolium pretense* [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(1):119-122.
- [31] Tapken W, Rave K, Pilon M. Plastocyanin controls the stabilization of the thylakoid Cu-transporting P-type ATPase PAA2/HMA8 in response to low copper in *Arabidopsis* [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(22):18544-18550.
- [32] Barón M, Arellano J B, Gorgé J L. Copper and photosystem II: A controversial relationship[J]. *Physiologia Plantarum*, 1995, 94(1):174-180.
- [33] Hsu B D, Lee J Y. Toxic effects of copper on photosystem of spinach chloroplasts[J]. *Plant Physiology*, 1988, 87(1):116-119.
- [34] 焦 蓉, 刘好宝, 刘贯山, 等. 论脯氨酸累积与植物抗渗透胁迫[J]. 中国农学通报, 2011, 27(7):216-221.
JIAO Rong, LIU Hao-bao, LIU Guan-shan, et al. Discussion of accumulation of proline and its relationship with osmotic stress tolerance of plants[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27(7):216-221.
- [35] Szabados L, Saviouré A. Proline: A multifunctional amino acid[J]. *Trends in Plant Science*, 2010, 15(2):89-97.
- [36] Choudhary N L, Sairam R K, Tyagi A. Expression of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase gene during drought in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, 2005, 42(6):366-370.
- [37] Pittman J K. Managing the manganese: molecular mechanisms of manganese transport and homeostasis[J]. *New Phytologist*, 2005, 167(3):733-742.
- [38] Clemens S. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis[J]. *Planta*, 2001, 212(4):475-486.
- [39] Bhatia N P, Walsh K B, Baker A J M. Detection and quantification of ligands involved in nickel detoxification in a herbaceous Ni hyperaccumulator *Stackhousia tryonii* Bailey [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005, 56(415):1343-1349.
- [40] Maketon W, Ogden K L. Synergistic effects of citric acid and polyethyleneimine to remove copper from aqueous solutions[J]. *Chemosphere*, 2009, 75(2):206-211.
- [41] Küpper H, Mijovilovich A, Meyer-Klaueke Wa, et al. Tissue and age-dependent differences in the complexation of cadmium and zinc in the cadmium/zinc hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* (Ganges ecotype) revealed by X-ray absorption spectroscopy[J]. *Plant Physiology*, 2004, 134(2):748-757.
- [42] Ma J F, Ueno D, Zhao F J, et al. Subcellular localization of Cd and Zn in the leaves of a Cd-hyperaccumulating ecotype of *Thlaspi caerulescens* [J]. *Planta*, 2005, 220(5):731-736.
- [43] Salt D E, Prince R C, Baker A J M, et al. Raskin I and Pickering IJ. Zinc ligands in the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* as determined using X-ray absorption spectroscopy[J]. *Environmental Science & Technology*, 1999b, 33(5):713-717.
- [44] Memon A R, Aktoprakligil D, Özdemir A, et al. Heavy metal accumulation and detoxification mechanisms in plants[J]. *Turkey Journal of Botany*, 2001, 25:111-121.
- [45] Monni S, Salemaa M, White C, et al. Copper resistance of *Calluna vulgaris* originating from the pollution gradient of a Cu-Nismelter, in southwest Finland[J]. *Environment Pollution*, 2000, 109(2):211-219.

- [46] Vardaka E, Cook C M, Lanaras T. Inter elemental relationship in the soil and plant tissue and photosynthesis of field cultivated wheat growing in naturally enriched copper soils[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1997, 20(4-5):441-453.
- [47] Nieminen T, Helmisaari H S. Nutrient retranslocation in the foliage of *Pinus sylvestris* L. growing along a heavy metal pollution gradient[J]. *Tree Physiology*, 1996, 16(10):825-831.
- [48] 周 燕, 张桂花, 徐迎春, 等. 铜对凤丹生长、生理及体内矿质元素吸收分配的影响[J]. *生态学杂志*, 2011, 30(3):415-423.
- ZHOU Yan, ZHANG Gui-hua, XU Ying-chun, et al. Effects of Cu on *Paeonia ostii* growth, physiology, and element absorption and allocation [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2011, 30(3):415-423.
- [49] 陈彩虹, 刘治昆, 陈光才, 等. Cu胁迫对苏柳 172 和垂柳吸收矿质元素的影响[J]. *中南林业科技大学学报*, 2011, 31(6):28-32.
- CHEN Cai-hong, LIU Zhi-kun, CHEN Guang-cai, et al. Effects of copper stress on uptake of mineral elements by *Salix jiangsuensis* CL J-172 and *Salix babylonica* Linn[J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2011, 31(6):28-32.

《农业环境科学学报》2014 年审稿专家名录

(按姓氏拼音排序)

白军红 白志辉 包木太 鲍艳宇 毕永红 卜元卿 蔡 超 蔡丽平 蔡妙珍 蔡 鹏 蔡太义 蔡喜运 曹翠玲 曹 靖 曹林奎 曹文志
 曹玉华 曹云者 常志州 陈宝梁 陈保冬 陈广银 陈桂葵 陈怀满 陈济琛 陈能扬 陈能汪 陈 清 陈世宝 陈书涛 陈卫民 陈孝杨
 陈效民 陈 欣 陈学民 陈亚华 陈炎辉 陈玉成 陈振华 成水平 程国军 程 谊 仇荣亮 初立业 崔骁勇 崔岩山 代杰瑞 戴九兰
 单玉华 党秀丽 丁 成 丁 洪 丁士明 丁维新 丁竹红 董长勋 董元杰 豆俊峰 窦 森 杜昌文 杜青平 段桂兰 段 林 多立安
 樊 军 樊向阳 范丙全 方 迪 方 华 冯人伟 冯鸿汉 冯永忠 付融冰 傅海燕 干方群 高 宏 高会议 高 娟 高 人 高彦征
 葛信达 葛 滢 弓晓峰 龚道新 巩宗强 顾明华 顾雪元 郭朝晖 郭劲松 郭军康 郭书海 郭 伟 韩 超 韩建刚 韩圣慧 何 冰
 何 江 何晶晶 何天容 何小松 何寻阳 何 艳 和文祥 贺鸿志 侯 明 侯宪文 侯晓龙 侯振安 胡红青 胡克林 胡荣桂 胡双庆
 胡 忻 胡学玉 胡雪峰 胡正华 华玉妹 化党领 黄 灿 黄德军 黄 辉 黄 丽 黄仁华 黄 耀 黄益宗 黄应平 黄占斌 黄志勇
 季 民 江 敏 姜德娟 姜锦林 蒋成爱 蒋静艳 焦 燕 金 辉 靳红梅 靳振江 孔火良 匡少平 郎 漫 雷炳莉 雷 梅 黎华寿
 李保同 李成芳 李成亮 李纯厚 李大命 李大鹏 李发东 李法云 李芳柏 李国学 李 华 李 季 李九玉 李俊良 李立平 李莲芳
 李 梅 李明德 李启权 李平(广州) 李平(南京) 李强坤 李秋华 李仁英 李日强 李荣华 李茹莹 李淑仪 李廷强 李旭东 李彦文
 李 艳 李艳霞 李银生 李永华 李永梅 李永涛 李 鱼 李裕元 李 元 李兆富 李兆君 李正魁 李中阳 李卓佳 梁东丽 梁 涛
 梁 威 廖柏寒 廖新倬 廖宗文 林爱军 林超文 凌婉婷 刘 标 刘传平 刘春光 刘东方 刘 峰 刘刚才 刘红江 刘 杰 刘静玲
 刘 娟 刘鸣达 刘 鹏 刘如林 刘汝涛 刘瑞民 刘世亮 刘树庆 刘 宛 刘维涛 刘文新 刘五星 刘宪斌 刘新刚 刘艳菊 刘玉荣
 刘玉学 刘增文 柳 勇 龙天渝 龙新宪 娄运生 卢桂宇 卢少勇 卢晓霞 卢新卫 卢 瑛 陆隽鹤 吕昌伟 吕辉雄 吕家珑 吕金印
 罗连光 罗良国 罗 琳 罗孝俊 马红亮 马宏瑞 马文奇 马 莹 孟凡乔 孟 磊 孟顺龙 孟昭福 缪驰远 莫测辉 穆 虹 南旭阳
 倪福全 倪进治 聂海峰 牛军峰 欧晓明 欧阳威 潘根兴 潘建刚 潘月鹏 彭 斌 彭向永 朴 哲 齐雁冰 钱晓雍 乔显亮 乔玉辉
 秦伯强 邱宇平 邱兆富 冉 炜 阮维斌 桑 楠 申哲民 沈根祥 沈国清 沈健林 沈玉芳 盛下放 施卫明 石福臣 石元亮 司友斌
 宋 波 宋福强 宋 静 宋雪英 苏德纯 苏以荣 苏玉红 孙本华 孙 成 孙 可 孙 权 孙瑞莲 孙文娟 孙轶斐 孙 英 孙约兵
 孙志梅 谭文峰 汤 利 汤叶涛 唐峰华 唐建军 唐景春 唐文浩 唐文忠 唐晓燕 唐延林 陶玉强 陶宗娅 田 超 田光明 田胜艳
 涂仕华 涂书新 汪海珍 王朝辉 王 成 王代长 王 芳 王 芬 王 果 王海龙 王贺祥 王宏镜 王金花 王凯荣 王 磊 王 力
 王立刚 王丽红 王利军 王连峰 王美娥 王鸣华 王 娜 王 平 王起超 王瑞刚 王慎强 王胜利 王世梅 王仕禄 王曙光 王小治
 王 新 王兴祥 王学东 王学军 王彦华 王 一明 王 祎 王应军 王莹莹 王永忠 王友保 王中良 王忠强 王祖伟 韦革宏 卫泽斌
 魏 静 魏克强 魏树和 翁伯琦 吴根义 吴海花 吴洪生 吴龙华 吴启堂 吴淑杭 吴 伟 吴卫红 吴文成 吴喜军 吴耀国 吴银宝
 吴永贵 伍 钧 伍玉鹏 武兰芳 席北斗 肖 波 肖 华 肖能文 肖细元 谢国生 谢树莲 谢文军 谢显传 谢忠雷 辛言君 信 欣
 邢世和 熊邦喜 熊慧欣 熊 丽 熊双莲 熊治廷 徐 建 徐明岗 徐秋芳 徐绍辉 徐向华 徐晓锋 徐轶群 徐友宁 许 超 许晓毅
 许修宏 许中坚 薛利红 薛南冬 薛喜成 闫振广 严重玲 阎百兴 阎秀兰 颜昌宙 颜晓元 颜增光 晏维金 杨 琛 杨合同 杨洪岩
 杨金燕 杨京平 杨俊诚 杨俊刚 杨兰芳 杨丽标 杨连新 杨林章 杨柳燕 杨清香 杨如意 杨 劭 杨世琦 杨秀虹 杨学云 杨延梅
 杨 勇 杨玉义 杨正礼 杨志新 姚槐应 姚丽贤 姚燕来 叶花香 叶优良 易 秀 殷宪强 殷永泉 尹大强 尹平河 尹云锋 由文辉
 于方明 于宏兵 于瑞莲 于 涛 余海波 俞巧钢 虞云龙 袁松虎 袁 涛 袁 星 袁旭音 曾希柏 翟丙年 占新华 湛方栋 张昌爱
 张成军 张承东 张迪(哈尔滨) 张迪(昆明) 张芬琴 张 刚 张 洪 张后虎 张家宏 张金波 张晋京 张 磊 张美俊 张盼月 张 平
 张奇春 张倩茹 张晴雯 张庆忠 张瑞福 张世熔 张树兰 张松柏 张素坤 张 巍 张 伟 张卫建 张 稳 张翔凌 张秀霞 张秀芝
 张学军 张杨珠 张耀鸿 张义贤 张饮江 张迎梅 张 颖 张永勇 张 勇 张雨梅 张玉斌 张玉华 张增强 张志东 章家恩 章明奎
 赵保卫 赵海超 赵海涛 赵 吉 赵建庄 赵 琦 赵同科 赵先富 赵言文 赵 焯 赵振华 赵竹青 郑纪勇 郑世英 郑 毅 郑袁明
 郑子成 钟继承 钟金魁 周东美 周鸿凯 周建斌 周明华 周 青 周溶冰 周 胜 周卫军 周小勇 周鑫斌 周益奇 周运超 朱 波
 朱广伟 朱建国 朱 江 朱鲁生 朱能武 朱奇宏 朱维琴 朱雪竹 朱宇恩 庄恒扬 宗良纲 邹 平 祖艳群

正是因为有以上专家认真及时地审稿,才使刊物的稿件质量得到有力的保证,使创新性的科研成果得以即时发表,使科技新人脱颖而出。在此,本刊编辑部对各位专家的辛勤工作表示诚挚的感谢。为不断壮大审稿专家队伍,适应日益增多的稿源需求,我们衷心地希望广大作者和读者踊跃推荐审稿专家候选人,以促进刊物的不断发展和创新。

(本刊编辑部)