

铜污染对高等植物的生理毒害作用研究*

林义章¹ 徐 磊²
(1. 福建农林大学园艺学院 福州 350002; 2. 福建省农业厅 福州 350003)

摘 要 本文综述了当前国内外 Cu 污染对高等植物生理毒害的研究近况,探讨了 Cu 过量对植物光合作用、细胞结构、细胞分裂、酶学系统和其他营养元素的吸收等的影响,并探讨了该方面研究存在的不足及其展望。
关键词 Cu 污染 高等植物 生理毒害

Physiological toxicity of copper pollution to higher plant. LIN Yi-Zhang¹, XU Lei² (1. College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Fujian Department of Agriculture, Fuzhou 350003, China), *CJEA*, 2007, 15(1): 201~204
Abstract With the copper pollution aggravating in the environment, the problems of copper physiological toxicity to higher plants become increasingly serious. The paper reviews the recent studies on copper physiological toxicity to higher plants at home and abroad, especially discusses the effects of the excess copper on photosynthesis, cell structure, cell division, enzymology system and the absorption of the other nutrition of higher plants. At the same time, the paper points out the existing problems and the prospects of the studies.
Key words Copper pollution, Higher plant, Physiological toxicity
(Received July 1, 2005; revised Oct. 6, 2005)

Cu 是高等植物生长发育过程中的一种重要微量营养元素,作为多种酶的组分之一,参与很多生理代谢过程,对作物的发育、品质、产量等有重要影响,但 Cu 具有累积性,过量的 Cu 又会导致植物体的 Cu 毒害,阻碍植物的生长,降低产品的质量。近年来,电镀、铝铜材、地砖、印染、化工等重金属污染型工矿企业遍布城乡,工业“三废”、城市垃圾等排放及其农用化学品应用的日趋广泛,高 Cu 杀菌剂、杀虫剂、化肥等不合理的使用,采用高 Cu 饲料也使得高 Cu 畜粪等大量涌入农田,土壤环境 Cu 污染日益严重,植物的 Cu 毒害问题逐渐显现^[1,21],引起了国内外很多科研人员的广泛关注。

1 高等植物的 Cu 毒害

Cu 污染对高等植物毒害作用的研究目前主要集中在对植物光合作用、细胞结构、细胞分裂、酶学系统和其他营养元素的吸收上。

Cu 污染对植物光合作用的影响首先是对光系统 II (PS II) 的影响,过量的 Cu 会破坏类囊体的结构功能,这种破坏作用既可发生在光氧化侧,又可发生在还原侧,抑制初级电子供体和受体产量,同时 PS II 的反应中心上也有抑制位点^[22,23]。Patsikka 等^[24]指出过量 Cu 影响光抑制和光修复之间的平衡,导致受光照叶片的 PS II 活跃中心的电子浓度下降。植物的光合作用对 Cu²⁺ 十分敏感,高于 1μmol/L 即可成为电子传递的抑制因子^[25]。Cu 污染下植株外部失绿是由内部色素含量的变化引起的。主要是 Cu 污染会抑制叶绿素合成或破坏叶绿素,小麦叶片中叶绿素含量与 Cu 含量显著相关^[2],这可能是由于植物体内过量的 Cu 使得叶绿体酶活性比例失调,叶绿素分解加快,同时 Cu 局部积累过多,与叶绿体中蛋白质上的巯基结合,或取代其中的 Fe²⁺、Zn²⁺、Mg²⁺,使叶绿素蛋白中心离子组成发生变化而导致失活。此外,高 Cu 抑制根系生长,根尖硬化,养分吸收能力下降,导致 Fe 缺乏,叶绿素含量降低而失绿。刘登义等^[3]近来又发现,Cu 胁迫会干扰小麦的某些代谢途径,致使叶绿素 a 和叶绿素 b 含量降低,叶片失绿,出现明显的白化现象,尽管叶绿素 a/b 并无影响,这也与 Penelope 等^[26]的结论相一致。而类胡萝卜素含量也有类似变化趋势,但从对 Cu 污染的敏感程度而言,通常是叶绿素 b>叶绿素 a>类胡萝卜素。

* 福建省科技厅项目(99-Z-108)资助
收稿日期:2005-07-01 改回日期:2005-10-06

Cu 污染会导致细胞结构的变化。膜结构是植物细胞遭受 Cu 污染的优先和关键部位, Cu 可与细胞膜蛋白的巯基或磷脂分子层的磷脂类物质反应, 造成膜蛋白磷脂结构改变, 透性增大, 进而影响物质在生物体中的运输, 叶片外渗液电导率增大, 电导率与 Cu 浓度极显著正相关, 因此膜透性可作为植物受害的重要评价指标。过量 Cu 引起的光合生物膜中类脂过氧化和 PS II 紊乱, 会使非周期性的光合磷酸化作用遭到破坏, 进而抑制希尔反应的活性^[27]。小麦叶片膜透性随铜尾矿比例增加而增大, 选择透性机能受损, 使细胞内一些可溶性物质外渗, 破坏了细胞内酶及代谢作用原有的区域性, 这是小麦受害的原因之一。Strange 等认为 Cu 过量使细胞膜的强度下降, Cu 渗入细胞内, 影响细胞器的结构功能, 同时使胞内物质外渗而亏缺^[28, 29]。从另一角度而言, Cu 胁迫常引起活性氧产生消除平衡系统失调, 活性氧积累, 加重细胞膜质过氧化, 这与植物螯合肽的产生和还原型谷胱甘肽减少有一定关系。Cu 胁迫时, 植株叶片膜质过氧化作用增强的同时, 还原型谷胱甘肽含量显著下降, 氧化型谷胱甘肽所占百分比增加^[30, 31], 含巯基螯合物含量升高, 可能是 Cu^{2+} 作用下叶片合成螯合物使得还原型谷胱甘肽减少, 因为 Cu 等重金属元素在谷氨酰半胱氨酸合成酶催化下, 能以还原型谷胱甘肽为底物合成富含巯基的螯合物, 而且 Cu^{2+} 本身也能催化还原型谷胱甘肽氧化为氧化型谷胱甘肽^[32]。还原型谷胱甘肽的降低使植物细胞自由基产生和消除的平衡遭到破坏, 细胞膜质过氧化加剧。何水林等发现 Cu^{2+} 会诱导辣椒叶片倍半萜环化酶基因表达, 在用外源自由基清除剂试验后, 推测这可能与辣椒叶片膜脂过氧化作用和还原型谷胱甘肽氧化有关^[4]。

Cu 污染还会造成其他超微结构的破坏, 尤其是根部细胞。姚益云等^[5, 6]研究表明, 随土壤 Cu 浓度增高, 紫云英的根细胞结构遭破坏逐渐加重, 具体特征为表皮层断裂, 变为黑褐色, 细胞壁变形乃至断裂, 质膜遭破坏, 发生质壁分离, 细胞质逐渐收缩, 以至解体而使壁内空腔, 皮层、中柱细胞逐渐死亡, 致使根吸收水分和养分能力降低, 成活率极低, 甚至绝苗。土壤 Cu 浓度为 200 mg/kg 时, 紫云英表皮细胞、薄壁细胞、维管细胞、筛管细胞等均大量解体死亡。Ouzounidou 等^[33]也发现, 过量 Cu 会破坏玉米根尖细胞的原生质体。

Cu 污染对细胞分裂的影响。陈桂珠^[7]发现, Cu、Cd 过量时, 黄瓜根尖分生组织细胞质变稀薄, 质壁分离, 整个细胞呈松弛状态, 这是由于 Cu、Cd 干扰胞质的生理代谢活动, 影响有丝分裂能量供应, 进而根尖细胞分裂数明显减少, 分裂速度减慢, 造成根尖生长异常^[34]。Leep^[35]研究发现, 高浓度 Cu 会导致根冠细胞分裂受抑, 根生长停止, Kahle^[36]认为是 Cu 使得分生区细胞核变小, 尤其是核仁变小, 阻滞了其分裂。细胞有丝分裂指数有助于了解环境胁迫对植物生长的影响, 高 Cu 时, 小麦细胞相对分裂指数迅速降低, 表现出对细胞分裂明显的抑制作用^[2]。 Cu^{2+} 等处理大麦也会阻碍细胞向分裂状态转化, 参与分裂的细胞数目减少, 有丝分裂指数降低, 且有丝分裂会出现异常, 染色体畸变率显著提高, 并随处理时间的延长而上升, 呈现明显的正相关^[8], c-有丝分裂和染色体桥较为普遍发生。微核试验正是根据环境污染物能引起 DNA 损伤, 诱发染色体畸变而形成微核来检测诱变物质对染色体损伤的。很多研究都证明, 蚕豆根尖细胞微核技术是检测环境 Cu 污染的有效方法, 随 Cu 浓度的增加, 蚕豆根尖细胞微核千分率升高, 所受毒害作用增强, 当达 400 mg/L 时, 根尖细胞有丝分裂严重受阻, 分裂细胞数较对照下降 30% 以上^[9]。

Cu 胁迫下植物体内的酶也会有明显的变化。张义贤等认为, 过量 Cu^{2+} 等对植物体产生毒性的生物学途径可能有两方面, 除了前面提到的干扰离子间平衡系统, 导致离子吸收、运输、渗透和调节等发生障碍而使代谢紊乱外, Cu 取代某些酶蛋白中维持功能所必需的特定元素或与酶蛋白中非活性基团结合导致变性^[8], 不容忽视, 这也是 Cu 毒害研究的重要任务。质膜上有很多酶, 是生化反应的重要场所, Cu 毒害破坏质膜, 必然会影响上面的酶, 进而体内的氧化磷酸化、光合作用的某些过程、养分的吸收等一系列生理生化反应就会受到严重影响。

Cu 污染更多地影响植物体内碳水化合物和氮代谢酶类的活性, Fernando^[37]指出 Cu^{2+} 会抑制超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、脱氢酶、蔗糖酶及烟酰胺腺嘌呤二核苷酸-细胞色素 C 还原酶等的活性。目前这类研究大多集中在 Cu 污染对植物过氧化物酶、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、固氮酶等酶活性的影响上。刘文彰等(1985 年)指出, Cu 过剩时黄瓜幼苗内过氧化物酶活性会急剧增强, 其活性可作为 Cu 过剩的作物生理指标, 推测是过氧化氢急剧增加所致, 同时还发现吡啶乙酸氧化酶活性也有显著提高, 可能是由于过氧化物酶调节游离吡啶乙酸向氧化态转化, 豆芽根伸长随培养液中 Cu 浓度的增大抑制加重, 就是 Cu 使酶活性尤其是过氧化物酶逐渐增强, 吡啶乙酸氧化所致^[10, 11], 其结论与 Leep 关于过量 Cu 使体内过氧化物酶、过氧化氢酶、吡啶乙酸氧化酶活性升高的观点相一致。而王友保认为, 小麦幼苗的过氧化物酶活性随 Cu 浓度升高急剧上升, 主要是 Cu 通过一系列生理生化过程, 产生很多过氧化物, 过氧化物酶底物增加, 使得过氧化物酶活

性渐增^[2]。Cu 对过氧化物酶活性的刺激作用已基本得到认可^[12],需要指出的是,过氧化物酶-过氧化氢分解系统参与叶绿素的降解,Cu 会通过过氧化物酶活性直接或间接地加快叶绿素的降解。朱云集^[13]报道,随外源 Cu 浓度的升高,小麦超氧化物歧化酶活性有明显降低趋势,作为膜脂过氧化的主要产物,小麦根部丙二醛含量显著上升,质膜相对透性增加,表明 Cu 胁迫使根系保护酶系统遭到破坏。史吉平等也发现,100mg/L Cu 处理,小麦幼苗根系中超氧化物歧化酶将持续下降,但叶片中超氧化物歧化酶活性先升后降,一定时间后几乎降为零^[14],其活性变化也反映了幼苗 Cu 毒害的程度。超过 60mg/kg 的 Cu 处理,紫云英单株固氮酶活性会受到抑制,其活性与投加的 Cu 浓度成显著负相关,这可能是由于过量 Cu 损伤根部,根瘤菌寄主减少,根瘤大小、数量、形态、颜色和着生部位等都受影响,干扰了其生理过程,固 N 所需 ATP 和还原力减少,抑制了固氮酶的活性^[15]。雷虎兰等^[16]认为,植物体内酶的变化可作为指示 Cu 毒性的重要指标,小麦等茎中的蔗糖酶明显受 Cu 的抑制。高 Cu 还会显著抑制大豆幼苗中磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活性,间接阻碍 NH_4^+ 向谷氨酸转化,造成 NH_4^+ 在体内积累而损伤根部^[38]。

此外,重金属对酶的抑制过程中会出现一次或数次酶活性高峰,即所谓“抗性酶活性”现象。吴家燕等发现,Cu 对作物根系脱氢酶有抑制作用,但随 Cu 浓度升高,会出现两个活性高峰。国内外的研究大都认为,重金属胁迫促使土壤产生不同的抗性微生物,达到一定浓度时,会有一小部分发生突变而存活下来,致使不同浓度下产生相应的抗性微生物,出现若干抗性峰^[12]。

Cu 污染也会导致脯氨酸含量的变化。植物的内源脯氨酸具有清除活性氧的功能,可减少膜脂过氧化程度,缓和膜透性变化,对植物起一定防护作用。刘登义等指出,小麦叶片游离脯氨酸含量随 Cu 增加而增多,两者成显著正相关,这同 Bassi 结论相一致^[3,34]。应该说脯氨酸的增加是对 Cu 污染的一种适应性反应,其含量可作为鉴定植物 Cu 抗性的指标。

此外,Cu 污染还会抑制其他营养元素的吸收,主要是由于 Cu 对根系的伤害和吸收拮抗作用。刘永厚指出,过量 Cu 会抑制紫云英 N、P、K、Zn 等养分的吸收,茎叶中含量明显降低,与 Cu 的投加浓度显著负相关,而 N 含量更是达极显著负水平,一方面是由于过量 Cu 对根系 N 吸收的抑制,另一方面是根瘤形成和固 N 受抑的缘故^[15]。Alva、黎耿碧等指出,过量的 Cu 明显抑制柑橘对 N、P、K、Ca、Mg、Fe 等常量和微量元素的吸收,之间均达极显著负相关水平,在 0.1~5.0 $\mu\text{mol/L}$ 范围内,根系和叶对 P、K、Ca、Mg 等的吸收量都下降 60% 以上。外源 Cu 削弱柑橘对 Fe 的吸收和运输,必然会导致叶片失绿,光合速率降低^[39]。Lidon 和 Henriques^[40]在这方面也做了大量研究,指出过量 Cu 也会抑制 Mn、Fe、Ca 等的吸收。Rhoads 等^[41]发现,番茄植株中 Ca 的吸收量随 Cu 浓度增加而降低。此后,徐红宁等也指出,Cu 污染存在下,植物根部生育受阻,细胞结构损坏,细胞膜渗透性提高,使 K^+ 、 PO_4^{3-} 等离子外渗,植物根部 P、K、Ca、Mg、Fe、Na、S 等含量趋于降低^[17]。

2 Cu 毒害研究存在问题及研究展望

目前,我国 Cu 毒害的机理研究仍处于探讨阶段,很多研究都仍只是推测,具体证明仍需从更多方面进行实验研究。也不难看出,当今 Cu 污染研究更多地被放在了大田粮食作物上,相反,蔬菜作物的 Cu 污染和 Cu 毒害却报道很少,没能得到足够的重视,应该说 Cu 毒害在蔬菜作物上的研究会比粮食作物意义更大。从土壤 Cu 污染的分布来说,菜田污染明显比大田严重。城市“三废”和垃圾排放量是 Cu 污染的主要来源,而城郊作为城市最主要的蔬菜供应源,菜田在城郊农田中占有相当大的比例,城郊菜田也首当其冲成为 Cu 污染的高发区,事实上我国很多重金属的调查都选择了城郊菜田^[18]。另一方面,蔬菜需肥量大,病虫害严重,各种化肥、农药被频繁使用于蔬菜上,这也都使得蔬菜 Cu 污染进一步加剧。目前随着科学养殖业的发展,各种微量元素添加剂在饲料中得到了广泛应用,Cu 的杀菌和促生长作用,让很多养猪场都使用高 Cu 饲料,高 Cu 猪粪作为有机肥在菜田中使用,已成为一个不容忽视的 Cu 污染促进因子^[19]。蔬菜对 Cu 污染比粮食作物敏感^[20]。我国粮食 Cu 污染的卫生标准为 20mg/kg,而蔬菜却仅为 5.0mg/kg。况且蔬菜需肥量大,吸收能力较强,产品采收期较长。而某些菜田采用污水灌溉,施用矿渣、垃圾肥以及高 Cu 猪粪等,这有利于蔬菜中 Cu 的超量富集。研究蔬菜 Cu 毒害机理可为防止蔬菜 Cu 污染和生产无公害蔬菜提供指导。

参 考 文 献

1 廖金凤. 广东省南海市农业土壤中铜锌镍的环境容量. 土壤与环境, 1998, 8(1): 15~18

2 王友保, 刘登义. Cu、As 及其复合污染对小麦生理生态指标的影响. 应用生态学报, 2001, 12(5): 773~776

3 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. 应用生态学报, 2001, 12(1): 126~128

4 何水林, 陈如凯, 郑金贵. Cu²⁺作用下辣椒膜脂过氧化及倍半萜环化酶基因转录. 热带亚热带植物学报, 2001, 9(1): 63~68

5 姚益云, 赵振纪, 刘永厚, 等. 铜对紫云英根细胞毒害研究(I). 江西农业大学学报, 1997, 19(2): 76~79

6 姚益云, 赵振纪, 刘永厚, 等. 铜对紫云英根结构危害研究. 江西农业大学学报, 1997, 19(4): 71~75

7 陈桂珠. 重金属对黄瓜籽苗发育影响的研究. 植物学通报, 1990, 7(1): 34~39

8 张义贤. 重金属对大麦(*Hordeum vulgare*)毒性的研究. 环境科学学报, 1997, 17(2): 199~205

9 张 莉, 刘登义, 王友保. 利用蚕豆根尖细胞微核技术检测 Cu、As 污染的诱变性. 应用生态学报, 2001, 12(5): 777~779

10 林慧贤, 肖洁凝, 关基石. 二价铜离子对绿豆芽根生长和过氧化物酶活性影响. 广州师院学报(自然科学版), 1994 (1): 98~100

11 刘文彰, 孙典兰. 铜对黄瓜幼苗生长及过氧化氢酶和吡哆乙酸氧化酶活性的影响. 植物生理学通讯, 1985 (3): 22~24

12 吴家燕, 夏增禄, 巴 音, 等. 紫色土壤中镉铜铅砷污染对作物根系酶活性的影响. 农业环境保护, 1991, 10 (6): 244~247

13 朱云集, 王晨阳, 马元喜, 等. 铜胁迫对小麦根系生长发育及生理特性的影响. 麦类作物, 1997, 17 (5): 49~51

14 史吉平, 董永华. 重金属胁迫对小麦幼苗超氧化物歧化酶活性的影响. 国外农学——麦类作物, 1996 (3): 33~34

15 刘永厚, 黄细花, 赵振纪, 等. 铜对紫云英固氮作用及养分吸收的影响. 土壤肥料, 1993 (5): 23~27

16 雷虎兰, 高发奎, 杨晓辉, 等. 灰钙土重金属污染对农作物生理生化作用的影响. 农业环境保护, 1994, 13(1): 12~17

17 徐红宁, 许嘉琳. 土壤环境中重金属复合污染对小麦的影响. 中国环境科学, 1993, 13(5): 367~371

18 张 民, 龚子同. 我国菜园土壤中某些重金属元素的含量与分布. 土壤学报, 1996, 33(1): 85~93

19 杨定清, 付绍清. 施用高铜猪粪对土壤环境污染的影响. 土壤农化通报, 1998, 13(4): 77~78

20 林春野. 重金属 Cu、Cd、Zn 的陆生植物毒性比较. 农业环境保护, 1996, 15(6): 266~267

21 Marschner H. Mineral nutrition of higher plants (2nd). London: Academic Press, 1995. 333~347

22 Gupta A., Singhal G. S. Inhibition of PS II activity by copper and its effect on spectral properties on intact cells in *Anacystis nidulans*. Environ. Exper. Bot., 1995, 35: 435~439

23 Ouzounidou G. Copper-induced changes on growth, methal content and photosynthetic function of *Alyssum montanum* plants. Environ. Experi. Bot., 1994, 34(2): 165~172

24 Patsikka E., Aro E. M., Tyystjarvi E. Increase in the quantum yield of photoinhibition contributes to copper toxicity in vivo. Plant Physiol., 1998, 117(2): 619~627

25 Mohanty N., Vass I., Demeter S. Copper toxyity affects photosystem II electron transport at the secondary quinone acceptor, Q_B⁻¹. Plant Physiol., 1989, 90: 175~179

26 Penelope A. R., Helen C. H., Kenneth L. S. Physiological responses of cabbage to incipient copper toxicity. J. Amer. Soc. Hor. Sci., 1989, 114(1): 149~152

27 Chettri M. K., Cook C. M., Vardaka E., et al. The effect of Cu, Zn and Pb on the chlorophyll content of the lichens *Cladonia convoluta* and *Cladonia rangiformis*. Environ. Exper. Bot., 1998, 39(1): 1~10

28 Clijsters H., Van Assche. F. Inhibition of photosynthesis by heavy metals. Photosyn. Res., 1985, 7: 31~40

29 Strange J., Macnair M. R. Evidence for a role for the cell membrane in copper tolerance of *Mimulus guttatu* Fishex DC. New Physiol., 1991, 119: 383~388

30 Grill E., Winnacker E. L., Zenk M. H. Phytochelatins: the principal heavy-metal complexing peptides of higher plants. Science, 1985, 230: 674~676

31 Ric De Vos C. H., Vonk M. J., et al. Glutathione depletion due to copper-induced phytochelatin synthesis cause oxidative stress in *Silene cucubalus*. Plant Physiol., 1992, 98: 853~858

32 Hochstein P., Kumar K. S., Forman S. J. Lipid peroxidation and the cytotoxicity of copper. Ann. N Y Acad. Sci., 1980, 355: 240~258

33 Ouzounidou G., Mousbakas M., Karataglis S. Responses of maize (*Zea mays* L.) plants to copper stress: growth, mineral content and ultrastructure of roots. Environ. Experi. Bot., 1995, 35(2): 167~176

34 Bassi R., Sharma S. Proline accumulation in wheat seedlings exposed to zinc and copper. Phytochem., 1993, 33(6): 1339~1342

35 Leep N. W. Copper. Effect of Heavy Metal Pollution on Plants. Vol I: Effects of Trace Metal on Plant Function. London and New Jersey: Applied Science Publishers, 1981. 111~143

36 Kahle H. Response of roots of trees to heavy metals. Environ. Exper. Bot., 1993, 33 (1): 99~119

37 Lidon F. C., Henriques F. S. Role of rice shoot vacuoles in copper toxyity regulation. Environ. Experi. Bot., 1998, 39(3): 197~202

38 McBride M. B. Toxic metal accumulation from agricultural use of sludge: are USEPA regulations protective?. J. Environ. Qual., 1995, 24 (1): 5~18

39 Alva A. K., Chen E. Q. Effects of external copper concentrations on uptake of trace elements by citrus seedlings. Soil Sci., 1995, 159(1): 59~64

40 Lidon F. C., Henriques F. S. Effects of copper toxicity on growth and uptake and translocation of metals in rice plants. J. Plant Nutr., 1993, 16: 1449~1464

41 Rhoads F. M., Olson S. M., Manning A. Copper toxicity in tomato plants. J Environ. Qual., 1989, 18(2): 195~197