

土壤不同浓度铜对小飞蓬毒害及耐受性研究*

丁佳红 刘登义** 李 征 王广林

(安徽师范大学生物多样性研究中心, 芜湖 241000)

【摘要】 通过对高 Cu 污染区(I)、低 Cu 污染区(II)和非污染区(III)小飞蓬盆栽实验及生理生化指标分析,结果表明,生态型 I、II、III 电导率均随着 Cu 浓度增加而增大,并且两者之间呈极显著正相关;叶绿素(a+b)含量随着 Cu 浓度增加呈极显著负相关;生态型 I 的蛋白质和脯氨酸含量随着 Cu 浓度增加均先有所升高,然后又降低,而生态型 II、III 则一直呈现降低趋势.3 种生态型小飞蓬体内 SOD、POD、CAT 酶活性在 Cu 胁迫下均有所提高,与对照相比,当 Cu 浓度为 $1\ 200\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,生态型 I 的 SOD、POD、CAT 活性分别为 194.1%、206.2%、118.6%; II 的 SOD、POD、CAT 活性分别为 170.1%、182.9%、111.3%; III 的 SOD、POD、CAT 的活性分别为 115.1%、155.4%、107.3%. 对 3 种生态型小飞蓬的生理生化指标及酶活性分析表明,高 Cu 污染区小飞蓬的耐受性要强于低 Cu 污染区,两者又均强于非污染区小飞蓬,这 3 种生态型小飞蓬的耐受性呈现出了明显的种间差异.

关键词 小飞蓬 耐受性 重金属

文章编号 1001-9332(2005)04-0668-05 **中图分类号** X171.5 **文献标识码** A

Responses of *Conyza canadensis* to different concentrations of copper in soil. DING Jiahong, LIU Dengyi, LI Zheng, WANG Guanglin (Biodiversity Research Centre, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China). - *Chin. J. Appl. Ecol.*, 2005, 16(4):668~672.

Through pot experiment and physiological-biochemical analysis, the study showed that the electric conductivities of *Conyza canadensis* collected from heavy Cu pollution (I), light Cu pollution (II) and control (III) sites were enhanced, while the chlorophyll (a+b) contents were reduced with increasing Cu concentration. The protein and proline contents in I were increased at first and then reduced, but those in II and III were reduced with increasing Cu concentration. The activities of SOD, POD and CAT were intensified under Cu stresses. When the Cu concentration was $1\ 200\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, their activities in I, II and III were increased 194.1%, 206.2% and 118.6%, 170.1%, 182.9% and 111.3%, and 115.1%, 155.4% and 107.3%, respectively, in comparing with the control, which illustrated that the tolerance of *Conyza canadensis* was in order of heavy Cu pollution site > light Cu pollution site > control site, and the three ecotypes showed distinct differences in tolerance.

Key words *Conyza canadensis*, Tolerance, Heavy metal.

1 引言

工业的快速发展,使得重金属污染日益严重,土壤中过量的重金属不仅可以限制作物正常生长、发育及改变作物的群落结构,甚至可以通过食物链最终危害到人类健康,因此,人们对土壤-作物系统的重金属污染问题日益关注.当前,作物对重金属的耐受性和抗性机制研究已经成为热点之一^[7].

植物受到重金属的毒害,细胞膜的完整性和组成遭到破坏,细胞内的离子和有机物大量外渗,外界有毒物质进入,导致植物体内一系列生理生化过程失调,影响到植物的水分代谢、光合作用、呼吸作用、碳水化合物代谢等等^[1].而重金属胁迫的最主要途径之一是造成过氧化胁迫,产生大量的活性氧自由基,比如 Cu^{2+} 能催化 OH^- 的非酶促反应^[5,11],重金属还可以导致生物体内抗氧化酶的降低,造成 ROS 的过量积累^[13],并且使植物体叶绿体和线粒体的电

子传递发生改变.研究表明,虽然重金属对作物生长有着严重的影响,但是在重金属含量较高的土壤中仍然有些植物能够正常生长代谢,表现出了较强的耐受性,而且不同作物的耐受性不同,即使同种作物也会由于生活环境的差异而分化出不同耐受性的生态型.对这些植物的重金属毒害和耐受性研究,为重金属污染土壤的治理和生态恢复提供科学依据.

小飞蓬又称作加拿大飞蓬(*Conyza canadensis*),属菊科白酒草属,一年生草本,广泛分布在安徽省各地,具有生命力强,生长迅速,生物量大的特点,在铜陵尾矿区有很强的生长优势.目前对重金属污染植物修复主要集中在超富集植物,但是超富集植物往往生物量小,生长缓慢,大大限制了植物修复的

*国家自然科学基金项目(30470270)、安徽省自然科学基金项目(03043501)和安徽师范大学重要生物资源保护与利用研究安徽省重点实验室专项基金资助项目.

**通讯联系人.

2004-09-02 收稿,2004-11-15 接受.

速度^[14],因此在重金属污染区寻找富集量相对高的耐性植物很有必要,本文对菊科植物小飞蓬铜胁迫下的毒害和耐 Cu 性进行了初步研究。

2 材料与方法

2.1 供试材料

小飞蓬作为本次实验的植物,分别采自 3 种自然生长环境下:高 Cu 污染区域(铜陵狮子山尾矿,记作生态型 I);低 Cu 污染区(尾矿库边缘的农田,记作生态型 II);非污染区(芜湖神山公园,记作生态型 III)。这 3 种生态型生长环境土壤背景值如表 1。

表 1 3 种生态型小飞蓬的土壤背景值

生态型 Ecotype	pH	Cu 浓度 Cu concentration ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	有机质 Organic matter ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
I	6.87	1059.84	3.26
II	7.12	207.92	9.13
III	7.26	25.16	12.70

2.2 盆栽实验

盆栽实验土壤采自安徽师范大学后山田园土,测得背景值为:pH 7.13;有机质 $13.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$;Cu 浓度 $25.46 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。每盆装土 2.5 kg,栽一株大小相当的幼苗,设置 4 个重复,硫酸铜以水溶液的形式分批流加,以不加硫酸铜为对照(CK)处理组硫酸铜分别为 400、800、1 200、1 500、2 000 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,于安徽师范大学后山花房培养 50 d 后取样测定。

2.3 测定方法

2.3.1 细胞膜透性测定 取新鲜植物叶片,剪成 1 cm 小段,放入装有 20 ml 双蒸水的三角烧瓶中,在电动振荡机上以 $400 \text{次} \cdot \text{min}^{-1}$ 震荡 1 h 后用 DDS-307 电导仪测定电导率;叶绿素的测定参照朱广廉^[21]的方法,用 752 型分光光度计分别测量波长 645 nm 和 663 nm 处的吸光值;蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 染料结合法;脯氨酸含量的测定采用茚三酮比色法^[18]。

2.3.2 保护酶活性测定 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定按王爱国方法^[20],酶活力单位用抑制氮蓝四唑(NBT)光化还原 50% 所需酶量表示;过氧化氢酶(CAT)活性测定采用 X.H 波钦诺克的方法^[12],酶活力单位用 20 °C 条件下,1 min 内 1 g 植物分解过氧化氢的微克分子数表示;过氧化物酶(POD)活性测定:采用 X.H 波钦诺克的方法^[12],酶活力单位用 1 g 植物材料氧化愈创木酚的微克数表示。

2.3.3 统计分析 采用 SPASS 11.5 方法分析。

3 结果与分析

3.1 不同浓度 Cu 对小飞蓬生长的影响

对照组中生态型 III 长势最好,在 Cu 浓度为 400 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,生态型 I 和 II 长势变好,无论株高和生物量都较对照组有所增加,而 III 此时开始出现受害

症状,叶片失绿,发黄,随着 Cu 浓度的提高,生态型 III 的小飞蓬出现老叶、枯叶,生长受阻,株高、生物量都逐渐下降^[4],由表 2 可见,3 种生态型小飞蓬生长情况受到 Cu 毒害有很大差别,并且 I、II、III 的变化具有显著差异性,其中 III 小飞蓬对 Cu 最为敏感,受 Cu 毒害最为严重,株高以及鲜重降低较为明显, I 小飞蓬表现出较强耐性, II 小飞蓬其次,表现了同种植物不同生态型对重金属胁迫的差异性。由表 2 可见,在 Cu 浓度为 $1\ 200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 3 种生态型小飞蓬株高、地上鲜重、地下鲜重相对于对照 CK 的变化(采用 SNK 和 LSD 检验,对 I、II、III 进行组间差异性分析,株高: $F = 951.475, P < 0.05$;地上鲜重: $F = 298.15, P < 0.05$;地上鲜重: $F = 372.540, P < 0.05$ 。以下数值均为相对于对照的百分数)。

表 2 3 种生态型小飞蓬生长特性的比较

Table 2 Growth characteristics of *Conyza canadensis* in three ecotypes (%)

生态型 Ecotype	株高 Plant height (cm)	地上鲜重 Shoot weight (g)	地下鲜重 Root weight (g)
I	85.27*	80.85*	85.83*
II	62.74*	73.41*	77.05*
III	41.26*	44.20*	35.22*

3.2 不同浓度 Cu 胁迫下小飞蓬生理生化特征

3.2.1 植物细胞膜透性 对生态型 I、II、III 的电导率测定结果如图 1 所示。生态型 I、II、III 电导率均随着 Cu 浓度的提高而增加,电导率的增加和 Cu 浓度提高之间呈极显著正相关性,相关系数为: $0.9581^{**}, 0.9842^{**}, 0.9862^{**}$ 。采用 LSD、SNK 对生态型 I、II、III 进行组间分析发现: $F = 152.309$, I 和 II 之间、II 和 III 具有显著差异性, $P < 0.05$, I 和 III 之间具有极显著差异性, $P < 0.01$ 。由此可见,随着 Cu 浓度的提高,3 种生态型小飞蓬受到的膜毒害的程度也有明显不同,其中生态型 III 受到的 Cu 毒害最大,生态型 I 受到的 Cu 毒害最小。

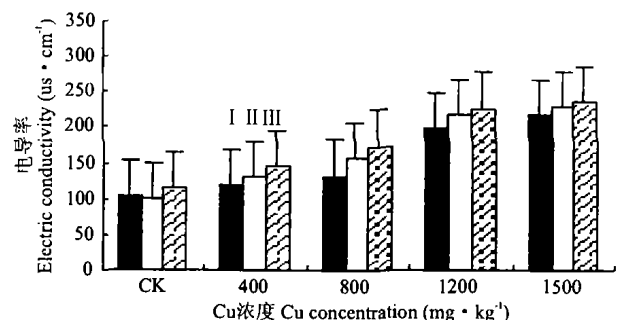


图 1 不同浓度 Cu 处理对 3 种生态型小飞蓬电导率的影响

Fig. 1 Effect of Cu treatment on electric conductivity of *Conyza canadensis* from three ecotypes.

I. 生态型 I Ecotype I; II. 生态型 II Ecotype II; III. 生态型 III Ecotype III. 下同 The same below.

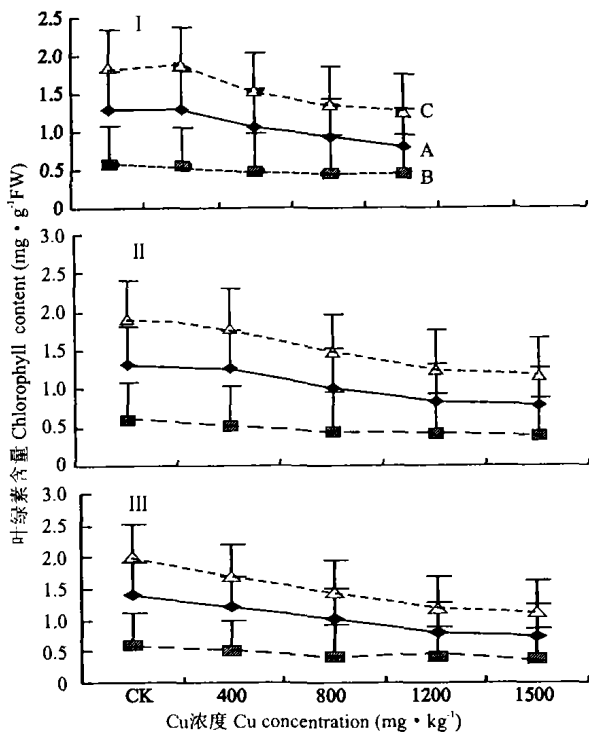


图2 不同浓度Cu处理对3种生态型小飞蓬叶绿素含量的影响
Fig.2 Effect of Cu treatment on chlorophyll content of *Conyza canadensis* from three ecotypes.
A: 叶绿素 a Chlorophyll a; B: 叶绿素 b Chlorophyll b; C: 叶绿素 a + b Chlorophyll a + b.

3.2.2 叶绿素含量 重金属污染后,植物叶绿体受到严重影响:低浓度下叶绿体基粒片层开始变稀疏,层次减少;随浓度升高,基粒片层消失,叶绿体功能受到破坏^[16],叶片色素产生了明显变化^[2].Cu处理明显降低了叶绿素含量和叶绿素 a/叶绿素 b 的比值,且Cu毒害对叶绿素 a 的影响要大于叶绿素 b.如图2所示,3种生态型小飞蓬在Cu处理下叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 a + b 均呈现下降趋势,但是在同等Cu浓度下,生态型 I 叶绿素含量下降比生态型 II、生态型 III 下降要慢,如在 1 200 mg·kg⁻¹下,生态型 I 的叶绿素 a 和叶绿素 b 分别保持了对照组含量的 71.1% 和 78.9%,生态型 II 的叶绿素 a 和叶绿素 b 分别保持了对照组的 62% 和 71%,而生态型 III 仅为对照组的 49.6% 和 57.4%,显示了同种植物不同生态型对Cu胁迫的差异性,生态型 I 的叶绿素 a + b、叶绿素 a 和叶绿素 b 与Cu浓度的增加之间均呈现显著负相关性,相关系数分别为: -0.9756^{**}、-0.9744^{**}、-0.9703^{**};生态型 II 叶绿素 a + b、叶绿素 a、叶绿素 b 与Cu浓度提高之间也呈现负相关性,相关系数为 -0.9841^{**}、-0.9801^{**}、-0.9793^{**};生态型 III 的叶绿素 a + b、叶绿素 a、叶绿素 b 与Cu浓度之间的相关系数分别为 -0.9811^{**}、-0.9831^{**}、-0.9576^{**},也都具有

极显著的负相关性.

3.2.3 蛋白质含量 对3种生态型小飞蓬的蛋白质含量测定结果如图3所示.在不同浓度Cu处理下,生态型 I 蛋白质含量先有增高,然后呈下降趋势,II、III 蛋白质含量则一直呈下降趋势,对3种生态型小飞蓬蛋白质含量下降采用SNK和LSD进行组间差异性分析发现,I和III之间具有显著差异性, $F = 6.092, P < 0.05$,其中I和II、II和III之间则未见明显差异性,说明在同等Cu浓度下,生态型 I 对Cu的耐性强,而生态型 III 蛋白质的含量对Cu最为敏感,蛋白质变化较明显,生态型 I、II 和 III 蛋白质含量与Cu浓度提高之间相关系数分别为: -0.9753^{**}、-0.9907^{**}、-0.9923^{**},3种生态型小飞蓬蛋白质含量变化与Cu浓度之间均呈极显著负相关性.

3.2.4 脯氨酸含量 植物生长在重金属污染环境,氮素吸收和同化受到抑制,蛋白质代谢失调,结果导致植物体内氨基酸水平发生明显改变,其中脯氨酸变化具有某种生理意义,脯氨酸又通常被看作是植物体内氨基酸库,把脯氨酸含量作为植物体内氨基酸代谢是否受到重金属影响的指标是值得考虑的.对生态型 I、II 和 III 小飞蓬脯氨酸含量测定结果如图3所示.随着Cu浓度提高,生态型 I 脯氨酸含量先有增加,后又降低,生态型 II、III 脯氨酸含量一直呈下降趋势,并且在各个Cu浓度处理下,含量均低于生态型 I.对3种生态型小飞蓬脯氨酸含量的降低采用SNK和LSD进行组间差异性分析表明,I和II之间、I和III之间具有显著差异性, $F = 766.013, P < 0.05$,II和III之间未见明显差异性.其中、II、III脯氨酸含量的降低与Cu浓度的提高之间也具有负相关性,相关系数分别为: -0.9709^{**}、-0.9388^{**},而生态型 I 的脯氨酸含量的提高与Cu浓度的提高之间未见明显的相关性.

3.3 不同浓度Cu胁迫下小飞蓬SOD、POD、CAT酶活性的差异

对生态型 I、II、III 的SOD、POD、CAT的活性测定结果如图3、表2.3种生态型小飞蓬的SOD活性均表现为先增加后降低,而POD和CAT活性整体上呈增加趋势,但是生态型 III 的CAT活性变化规律不强.不同浓度Cu处理下3种酶活性的变化可以看出生态型 I、II、III 小飞蓬对Cu的耐受性不同,并且SOD、POD酶活性的变化具有显著差异性, $P < 0.05$,其中3种生态型小飞蓬SOD活性与Cu处理浓度之间均没有明显相关性;而生态型 I 的

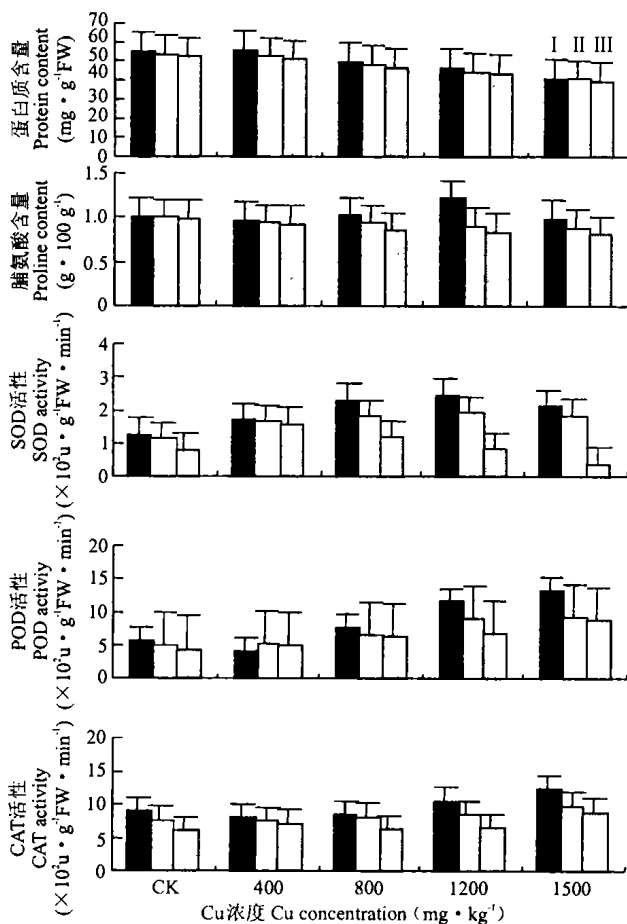


图3 不同浓度Cu处理对3种生态型小飞蓬生理指标和抗氧化酶活性的影响

Fig.3 Effect of Cu treatment on protective enzyme activities and physical features of *Conyza canadensis* from three ecotypes.

表3 3种生态型小飞蓬酶活性变化的比较

Table 3 Enzyme activities of *Conyza canadensis* in three ecotypes(%)

生态型 Ecotype	SOD	POD	CAT
I	194.1*	206.2*	118.6
II	170.1*	182.9*	111.3
III	115.1*	155.4*	107.3

POD、CAT的活性和Cu浓度之间均有相关性,相关系数为:0.9559**、0.8695*;生态型II的POD、CAT活性与Cu浓度之间具有相关性,相关系数分别为:0.9595**、0.9154**,生态型III的POD活性与铜浓度之间具有相关性,相关系数为0.9765**,而CAT不具有相关性.表3所示为Cu浓度为1200 mg·kg⁻¹时3种酶活性相对于对照CK的变化(采用SNK和LSD对I、II、III小飞蓬的3种酶活性变化组间差异分析:SOD, $F = 7002.585$, $P < 0.05$; POD, $F = 2032.15$, $P < 0.05$,以下为相对于对照的百分数).

4 讨论

不同生态型的小飞蓬由于长期对生存环境的适

应,在对Cu胁迫的适应上也产生了差异,在Cu为400 mg·kg⁻¹,生态型I和II长势较好,但是III已经开始出现失绿,叶片发黄等中毒症状,随着Cu浓度升高,3种生态型小飞蓬电导率也随着提高,电导率的变化即反映了Cu对细胞膜毒害的大小^[7,8],生态型III的小飞蓬电导率上升的比较剧烈,并且与II和I电导率的上升之间具有显著组间差异性, $P < 0.05$,表明在同等Cu浓度下,III的膜受到的Cu毒害最大,而I对Cu的耐性最强,受到的膜伤害最小;重金属毒害可以加快蛋白质分解和阻碍蛋白质合成,可明显改变植物体内蛋白质水平^[8],但是不同生态型小飞蓬蛋白质含量变化也不同,I和III的蛋白质含量变化在Cu浓度升高时出现了显著差异性, $P < 0.05$,表明在高Cu胁迫时,生态型I的蛋白质含量受到Cu毒害影响变化小,比III有着较高的耐受性;铜尾矿有机质贫乏,养分较低,持水保肥能力差,这也直接影响到植物在尾矿区的生存,而脯氨酸增加在植物抵抗各种不良环境时具有一定作用^[9],在模拟高Cu环境对3种生态型小飞蓬脯氨酸含量测定时发现,生态型I小飞蓬脯氨酸含量增加最为明显,这一定程度上增强了其对高Cu污染的耐性,也说明生态型I比生态型II、III对不良环境的适应性强.重金属毒害造成膜脂的过氧化,植物为保护自身免受活性氧的伤害形成了内源保护系统,其中由SOD、POD、CAT组成了一个有效活性氧自由基清除系统^[3,10,15],从而使植物免受或少受重金属伤害,而且SOD、POD、CAT的维持和提高也被认为是植物抗重金属毒害的物质基础之一^[19].在Cu为1200 mg·kg⁻¹,3种生态型小飞蓬的SOD、POD、CAT的活性相对于对照均有很大提高,其中生态型I酶活性的增加最为明显,分别为对照的194.1%、206.2%、118.6%;而生态型III的分别增加为对照的115.1%、155.4%、107.3%,两种生态型酶活性具有显著差异性, $P < 0.05$,生态型I中酶活性的提高和维持在耐铜胁迫中起到了很大作用,使得生态型I、II、III的耐Cu性产生了明显差异^[17].在狮子山铜尾矿自然生长的小飞蓬由于长期对高Cu环境的适应,产生了自身的抗性系统.另外,菊科植物生长迅速,根系发达,生物量较大,耐贫瘠环境能力强,因此在矿业废弃地的恢复上有着重要意义.

参考文献

- 1 Chen C-Y(陈朝阳), Gong H-Q(龚惠群), Wang K-R(王凯荣). 1996. Effect of Cd on yield, quality, physiological and mulberry leaves and its mechanism. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), 7

- (4):417~423(in Chinese)
- 2 Chen G-X(陈国祥), Shi G-X(施国新). 1999. Effect of mercury and cadmium on photochemical activity and polypeptide composition of photosynthetic membranes from winter bud of *Brasenia schreberi*. *Acta Circ Sci* (环境科学学报), 19(5): 521~525 (in Chinese)
 - 3 Chis B, *et al.* 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 42(1):83~116(in Chinese)
 - 4 Chu L(储玲), Liu D-Y(刘登义), Wang Y-B 王友保, *et al.* 2004. Effect of copper pollution on seedling growth and active oxygen metabolism of *Trifolium pratense*. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), 15(1): 119~122(in Chinese)
 - 5 Hallwell B, Gutteridge JMC. 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J*, 219:1~14
 - 6 Jiang X-J(蒋先军), Luo Y-M(骆永明), Zhao Q-G(赵其国). 2000. The phytoremediation study on heavy metal contaminated soil. *Soils*(土壤), (2): 72~74(in Chinese)
 - 7 Jiang X-Y(江行玉), Zhao K-F(赵可夫). 2001. Mechanism of metal injury and resistance of plants. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 7(1):92~99(in Chinese)
 - 8 Kong X-S(孔祥生), Zhang M-X(张妙霞), Guo X-P(郭秀璞). 1999. Effects of Cd toxicity on cell membrane permeability and protective enzyme activity of maize seedling. *Agro-Environ Prot* (农业环境保护), 18(3):133~134(in Chinese)
 - 9 Liu D-Y(刘登义), Xie J-C(谢建春), Yang S-Y(杨世勇), *et al.* 2001. Effects of copper mine tailings on growth and development and physiological function of wheat. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), 12(1): 126~128(in Chinese)
 - 10 Ma C-C(马成仓). 1998. Hg harm on cell membrane of rape leaf and cell endogenous protection effect. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), 13(10):323~326(in Chinese)
 - 11 Mamisha G, *et al.* 1999. Copper affects the enzymes of ascorbate-glutathione cycle and its related metabolites in the roots of phaseolus-vulgaris. *Physiol Plantarum*, 106:262~267
 - 12 Proinok X. 1981. The Analysis Methods of Biochemistry of Plants. Beijing: Science Press. 197~209
 - 13 Takashi V, *et al.* 1999. Effect of hypoxia on the antioxidant enzymes in aerobically grown rice (*Oryza sativa*) seedlings. *Physiol Plantarum*, 107:181~187
 - 14 Wei C-Y(韦朝阳), Chen T-B(陈同斌). 2001. Hyperaccumulators and phytoremediation of heavy metal contaminated soil: A review of studies in China and abroad. *Acta Ecol Sin* (生态学报), 21(7): 1196~1203(in Chinese)
 - 15 Xu Q-S(徐勤松), *et al.* 2001. Effect of Cd²⁺ on antioxidant system and ultrastructure of *Ottelia alismoides* (L.). *Rural Eco-Environ* (农村生态环境), 17(5):30~34(in Chinese)
 - 16 Yang J-R(杨居荣), He J-Q(贺建群), Jiang W-R(蒋婉茹). 1995. Effect of Cd pollution on the physiology and biochemistry of plant. *Agro-Environ Prot* (农业环境保护), 14(5): 193~197(in Chinese)
 - 17 Yang J-R(杨居荣), He J-Q(贺建群), Zhang G-X(张国祥). 1996. Reaction of some enzyme activities in crops of different tolerance to the stress of Cd. *China Environ Sci* (中国环境科学), 16(2):113~117(in Chinese)
 - 18 Zhang Z-L(张志良). 1990. Guide for Plant Physiology Experimentation. Beijing: Higher Education Press. (in Chinese)
 - 19 Zhou Y-H(周艳虹), Yu J-Q(喻景权), Qian Q-Q(钱琼秋), *et al.* 2003. Effect of chilling and seedlings growth and their antioxidant enzyme activities. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), 14(6): 921~924(in Chinese)
 - 20 Zhu G-L(朱广廉), *et al.* 1990. Plant Physiology Experimentation. Beijing: Peking University Press. 126~130(in Chinese)
-
- 作者简介 丁佳红,女,1977年生,在读硕士研究生.主要从事污染生态学研究,发表论文2篇. E-mail: smalljia@etang.com
-