

铜污染对芹菜生长及生理特性的影响

韦美玉, 刘丽萍

(黔南民族师范学院 生命科学系, 贵州 都匀 558000)

摘要:以芹菜定植苗为试材,通过设 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0、5、10、20、40 mg/L 营养液水培试验,研究 Cu 污染对芹菜生长的影响及生理胁迫伤害。结果表明:低浓度 CuSO_4 5 mg/L 对芹菜生长有促进作用,随浓度递增 20~40 mg/L 对生长有抑制作用;根系活力在 CuSO_4 浓度为 5 mg/L 时较对照上升,随浓度递增而下降;叶绿素 a 含量在低浓度 CuSO_4 5 mg/L 含量上升,随浓度递增含量下降,对叶绿素 a 的影响大于叶绿素 b 及类胡萝卜素;硝酸还原酶在 CuSO_4 浓度为 5 mg/L 时较对照上升,再随浓度递增而不断下降;POD 活性随 Cu 浓度升高先上升后下降再上升;SOD 和 CAT 活性先上升后下降;叶细胞膜渗透性丙二醛(MDA)及含量相对电导率随 CuSO_4 浓度升高而不断上升。

关键词:铜污染;芹菜;生长;生理特性;生理胁迫

中图分类号:S 636.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)09-0033-04

农业生产过程中不合理的利用矿渣、城市垃圾、高 Cu 畜粪、城市污水灌溉、高 Cu 杀菌剂、杀虫剂用药等原因导致土壤环境 Cu 污染日益严重,植物的 Cu 毒害问题逐渐显现^[1-7]。特别是城郊菜田重复利用率高,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^[8]。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^[9],对作物的发育、品质、产量等有重要影响^[10-13],但 Cu 具有累积性,过量的 Cu 会导致植物体的 Cu 毒害,阻碍植物的生长,降低产品的质量^[14-16]。芹菜是一种重要的世界性蔬菜,具有抗氧化、镇静、止痛、抗肝炎、降压、降脂作用以及抗肿瘤作用^[17]。随着芹菜开发利用和芹菜素的相关药理研究的深入,芹菜开发受到广泛关注^[18],城郊规模化产业种植越来越多,芹菜移栽定植基肥需要量大,吸收能力较强,产品采收期较长,且连年种植叶片出现早衰现象,产量和品质有所下降。但对芹菜 Cu 污染和 Cu 毒害却报道很少,该试验通过水培法研究芹菜 Cu 毒害机理可为防止芹菜 Cu 污染影响产量及品质提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

11 月份在贵州省平塘县城规模种植的城郊菜田,选取生长良好、大小形态一致的津南实芹定植幼苗作为供试材料。

1.2 试验设计

单株鲜重为 $(7 \pm 0.5)\text{g}$,株高 $(10 \pm 1.5)\text{cm}$,一级主根长度 (3.5 ± 0.2) ,采集的芹菜幼苗用自来水及蒸馏水冲洗数次,每 4 株培养在装有不同浓度梯度含有 0(CK)、5、10、20、40 mg/L $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 的 25 mL Hoagland 培养液的 150 mL 烧杯中,3 次重复,使芹菜幼苗在自然光照下生长,每 3 d 更换处理液 1 次,培养 10 d 后采样测定各项指标。

1.3 指标测定

植株生长情况测定:用直尺测量株高、根系长度;用电子天平称量植株鲜重;叶绿素含量采用 80%丙酮浸提分光光度法测定^[19];丙二醛(MDA)含量测定采用硫代巴比妥酸法^[19];质膜透性测定采用电导法,用 DDS-7600 电导仪测定,以相对电导率(%)表示^[20];超氧化物歧化酶(SOD)活性以抑制氮蓝四唑(NBT)光氧化还原的 50%酶量为 1 个活力单位^[21];过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法,以 1 min 内 OD 值在 470 nm 变化 0.01 为 1 个酶活单位^[21];过氧化氢酶(CAT)活性测定采用高锰酸钾滴定法^[19];硝酸还原酶活性用磺胺法以 1 h

第一作者简介:韦美玉(1965-),女,本科,副教授,研究方向为植物生理生态学。E-mail: weimeiyu77@163.com.
收稿日期: 2011-02-14

产生 1 μg NO_2^- 的酶活性单位^[21]; 根系活力用氯化三苯基四氮唑(TTC)法^[21]。各项指标至少测定 3 次, 取平均值。用 Excel 进行数据处理及分析。

2 结果与分析

2.1 不同 CuSO_4 浓度处理对芹菜生长发育的影响

芹菜幼苗经过 10 d 培养, CuSO_4 浓度为低浓度的 5 mg/L 时对植株生长有促进作用, 单株根茎叶重量为对照的 112.45%, 差异显著, 且生长良好; 10 mg/L 时, 开始出现轻度伤害症状, 叶片轻微失绿, 植株矮小, 重量下降为对照的 93.16%; 20 mg/L 时, 出现中度伤害症状, 植株矮小, 重量为对照的 84.85%, 差异显著; 40 mg/L 时, 表现重度伤害症状, 植株萎蔫叶片发黄枯萎有白化斑线现象, 且严重皱缩重量为对照的 71.18%, 差异显著(表 1)。当 CuSO_4 浓度为 5 mg/L 时, 对株高有促进作用为

对照的 110.26%, 差异显著; 20 mg/L 时, 起抑制作用为对照的 69.55%, 差异显著; 40 mg/L 时, 株高生长受到明显的抑制为对照的 61.00%, 差异显著。 CuSO_4 浓度为 5 mg/L 时对一级根长生长有促进作用, 为对照的 106.04%, 差异显著; 20 mg/L 时, 起抑制作用为对照的 88.70%; 差异显著; 40 mg/L 时为对照的 80.08%, 差异显著。新根对 CuSO_4 浓度最敏感, CuSO_4 浓度 5 mg/L 时, 植株可产生新根并能正常生长; 10 mg/L 时新根生长受到抑制为对照的 47.24%, 差异显著; CuSO_4 浓度升高 20、40 mg/L 时为对照的 22.04%、7.08%, 差异显著。根系活力在低浓度 5 mg/L 时为对照的 131.76%, 差异显著; CuSO_4 浓度升高为 20 和 40 mg/L 时, 为对照的 86.27%、59.27%, 差异显著。

表 1 不同 CuSO_4 处理对芹菜生长发育的影响

CuSO_4 浓度 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	单株鲜重 / g	株高 / cm	一级根长 / cm	新根长 / cm	根系活力 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{h}^{-1}$
0	8.19 \pm 0.72b	16.36 \pm 1.93b	4.96 \pm 0.56b	2.54 \pm 0.09a	111.52 \pm 10.36b
5	9.21 \pm 0.83a	18.04 \pm 1.91a	5.26 \pm 1.00a	2.74 \pm 0.10a	146.94 \pm 11.80a
10	7.63 \pm 0.74b	12.18 \pm 0.98c	4.74 \pm 0.62b	1.20 \pm 0.08b	117.01 \pm 10.56b
20	6.95 \pm 0.85c	11.38 \pm 1.36c	4.40 \pm 0.42c	0.56 \pm 0.05c	96.21 \pm 6.97c
40	5.83 \pm 0.61d	9.98 \pm 1.10d	4.01 \pm 0.36d	0.18 \pm 0.03d	66.10 \pm 5.23d

注: 各列不同字母表示 $P < 0.05$ 水平差异显著, 下同。

2.2 不同 CuSO_4 浓度处理对芹菜叶片叶绿素及硝酸还原酶的影响

CuSO_4 浓度为 5 mg/L 时芹菜叶片中叶绿素 a 含量上升为对照的 113.49%, 差异显著(表 2); 20、40 mg/L 时, 叶片叶绿素 a 含量降低为对照的 92.06%、68.25%, 差异显著。叶绿素 b 在 CuSO_4 浓度为 5、10、20 mg/L 含量上升为对照的 127.78%、116.67%、111.1%, 差异显

著; 40 mg/L 时含量下降为对照的 88.89%, 差异显著。类胡萝卜素是随 CuSO_4 处理浓度的递增而下降, 5、10、20、40 mg/L 分别为对照的 72.91%、68.75%、64.58%、56.25%, 差异显著; 叶绿素 a/b 随处理浓度的递增而下降。 CuSO_4 浓度为 5 mg/L 时, 芹菜叶片硝酸还原酶活性上升为对照的 119.34%, 差异显著; 20、40 mg/L 时下降为对照的 50.70%、24.93%, 差异显著。

表 2 不同 CuSO_4 处理对芹菜叶片叶绿素和硝酸还原酶含量的影响

CuSO_4 浓度 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	叶绿素 a / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$	叶绿素 b / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$	类胡萝卜素 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$	叶绿素 a / b	硝酸还原酶 / $\pm \text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{h}^{-1}$
0	1.26 \pm 0.09b	0.18 \pm 0.02c	0.48 \pm 0.03a	7.00 \pm 0.55a	26.11 \pm 1.57b
5	1.43 \pm 0.10a	0.23 \pm 0.04a	0.35 \pm 0.05b	6.21 \pm 0.42b	31.16 \pm 1.87a
10	1.18 \pm 0.12bc	0.21 \pm 0.02b	0.33 \pm 0.01bc	5.62 \pm 0.61cd	25.11 \pm 2.17b
20	1.16 \pm 0.15c	0.20 \pm 0.01bc	0.31 \pm 0.04c	5.80 \pm 0.50c	13.24 \pm 1.17c
40	0.86 \pm 0.08d	0.16 \pm 0.02d	0.27 \pm 0.03d	5.37 \pm 0.13d	6.51 \pm 0.87d

2.3 不同 CuSO_4 浓度处理对芹菜叶片 POD、SOD 和 CAT 活性及细胞膜透性的影响

POD 值在 CuSO_4 浓度为 5 mg/L 时有所上升为对照的 107.78%, 差异显著(表 3); 10 mg/L 时下降为对照

的 85.24%, 差异显著; 40 mg/L 到达高峰值为对照的 168.89%, 差异显著。SOD 值在 CuSO_4 浓度为 5 mg/L 时升高达到峰值为对照的 140.00%, 差异显著, 随着浓度递增 SOD 值逐渐下降, 在 10、20、40 mg/L 时分别为对

照的 82.54%、58.18%、56.65%，差异显著。CAT 值随着浓度的递增先升后下降，在 5、10、20 mg/L 时分别为对照的 125.00%、325.00%、200.00%，差异显著。MDA 含量在 CuSO₄ 浓度为 5 mg/L 时为对照的 157.89%，差异不显著，随着浓度的递增而膜透性增大，MDA 含量 10、20、40 mg/L 分别为对照的 288.65%、351.54%、

417.52%，差异显著。叶片外渗液电导率在 CuSO₄ 浓度为 5 mg/L 时为对照的 116.66%，差异不显著；随着浓度的递增而外渗液电导率增大，当浓度分别为 10、20、40 mg/L 时为对照的 138.89%、177.78%、244.44%，差异显著。

表 3 不同 CuSO₄ 处理对芹菜叶片 POD、SOD 和 CAT 活性及细胞膜透性的影响

CuSO ₄ 浓度 /mg · L ⁻¹	POD 活性 /U · g ⁻¹ FW · min ⁻¹	SOD 活性 /U · g ⁻¹ FW	CAT 活性 /mg · g ⁻¹ FW · min ⁻¹	MDA/±mol · g ⁻¹ FW	相对电导率/%
0	16.94±1.87c	13.75±1.45b	2.72±0.06d	0.97±0.04d	0.18±0.02d
5	18.28±1.58b	19.25±2.03a	3.40±0.09c	1.50±0.03d	0.21±0.03d
10	14.44±1.53d	11.35±1.37c	8.84±0.12a	2.80±0.09c	0.25±0.03c
20	16.89±1.65c	8.48±1.54d	5.44±0.14b	3.41±0.06b	0.32±0.04b
40	28.61±2.54a	7.79±1.09d	2.72±0.09d	4.05±0.11a	0.44±0.04a

3 结论与讨论

芹菜植株生长在 CuSO₄ 低浓度 5 mg/L 处理时较对照生长良好，株高、单株鲜重较对照升高且达到显著水平，但随着 Cu 浓度的进一步增加，上述指标不断下降，随着 CuSO₄ 浓度加大为 40 mg/L 时，外伤症状愈加明显严重皱缩，影响幼苗生物量，产量下降。由于 Cu 干扰胞质的生理代谢活动，生产点细胞分裂速度减慢叶片瘦小，新生长的叶片出现深绿色而功能叶片失绿，轻则代谢过程紊乱，生长发育受阻，重则导致植株死亡^[23]。低 CuSO₄ 浓度 5 mg/L 处理时芹菜根系生长较对照生长良好，根系活力增强，高 Cu 抑制根系生长，根尖硬化，养分吸收能力下降，根的颜色比对照的根颜色要深，呈深褐色^[23]，高浓度 Cu 导致芹菜根系生长停止，这与 Bassi 研究发现由于 Cu 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^[24]。Leep 研究发现高浓度 Cu 会导致根冠细胞分裂受抑^[25]，根生长受抑制与之一致。

芹菜叶片叶绿素 a、b 含量在 CuSO₄ 低浓度 5 mg/L 处理时含量较对照升高，随 CuSO₄ 浓度升高下降，对 Cu 污染的敏感程度而言，叶绿素 a>叶绿素 b>类胡萝卜素。高浓度 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，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^[7]，这与刘登义研究 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，尽管对叶绿素 a/b 并无影响相一致^[10]，而类胡萝卜素含量随 CuSO₄ 浓度递增而下降。硝酸还原酶活性在 CuSO₄ 低浓度 5 mg/L 处理时有所上升，在高浓度 CuSO₄

胁迫时下降，出现低促高仰的现象。植物体内酶的变化可作为指示 Cu 毒性的指标^[2]，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，由于过量 Cu 对根系 N 吸收的抑制^[26]。研究证实 Cu 污染影响芹菜对 N 的吸收利用，影响硝酸还原酶的活性，阻碍 NH₄⁺和 NO₃⁻在植物体内同化成为有机氮，从而使芹菜生长受阻产量减少。

Cu 污染会抑制芹菜叶片 POD、SOD、CAT 等的活性。POD 值随 Cu 浓度的递增先升后降再升高；与袁霞研究铜对小青菜叶片 POD 活性的影响一致^[27]，王友保认为小麦幼苗的 POD 活性随 CuSO₄ 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，POD 底物增加，使得 POD 活性渐增^[9]。Cu 过剩时黄瓜幼苗内 POD 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^[16]；芹菜 SOD 值随 CuSO₄ 浓度的递增先升后降。朱云集报道，随外源 Cu 浓度的升高，小麦 SOD 活性有明显降低趋势^[2]，史吉平等也发现，100 mg/L Cu 处理小麦幼苗根系中 SOD 活性将持续下降，但叶片中 SOD 活性先升后降，一定时间后几乎降为零，其活性变化也反映了幼苗 Cu 毒害的程度^[13]。CAT 活性随 CuSO₄ 浓度的递增先升后降。作为膜脂过氧化的主要产物，芹菜叶片 MDA 随 CuSO₄ 浓度的升高含量显著上升，质膜相对透性增加，表明 Cu 胁迫使叶片保护酶系统遭到破坏。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^[9]，透性增大，进而影响物质在生物体中的运输，随 CuSO₄ 浓度递增叶片外渗液电导率增大。因此膜透性可作为植物受害的重要评价指标，抗氧化酶活性失衡导致 MDA 含量、叶片外渗液电导率迅速升高可能是导致

芹菜生长早衰而影响产量及品质的重要因素之一。

参考文献

- [1] 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[J]. 农业环境保护, 1991, 10(6): 244-247.
- [2] 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[J]. 农业环境保护, 1994, 13(1): 12-17.
- [3] 徐红宁, 许嘉琳. 土壤环境中重金属复合污染对小麦的影响[J]. 中国环境科学, 1993, 13(5): 367-371.
- [4] 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[J]. 土壤学报, 1996, 33(1): 85-93.
- [5] 杨定清, 付绍清. 施用高铜猪粪对土壤环境污染的影响[J]. 土壤理化通报, 1998, 13(4): 77-78.
- [6] 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[J]. 应用生态学报, 2001, 12(5): 773-776.
- [7] 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.
- [8] 林义章, 徐磊. 铜污染对高等植物的生理毒害作用研究[J]. 中国生态农业学报, 2007, 15(1): 201-204.
- [9] 王宝山. 植物生理学[M]. 北京: 科学出版社, 2007, 265-270.
- [10] 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): 126-128.
- [11] 何水林, 陈如凯, 郑金贵. Cu 作用下辣椒膜脂过氧化及倍半萜环化酶基因转录[J]. 热带亚热带植物学报, 2001, 9(1): 63-68.
- [12] 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[J]. 麦类作物, 1997, 17(5): 49-51.
- [13] 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[J]. 国外农学—麦类作物, 1996(3): 33-34.

- [14] 陈桂珠. 重金属对黄瓜籽苗发育影响的研究[J]. 植物学通报, 1990, 7(1): 34-39.
- [15] 张义贤. 重金属对大麦(*Hordeum vulgare*)毒性的研究[J]. 环境科学学报, 1997, 17(2): 199-205.
- [16] 刘文彰, 孙典兰. 铜对黄瓜幼苗生长及过氧化氢酶和吗啉乙酸氧化酶活性的影响[J]. 植物生理学通讯, 1985(3): 22-24.
- [17] 周辉, 卢向阳, 田云, 等. 芹菜化学成分及药理活性研究进展[J]. 氨基酸和生物资源, 2006, 28(1): 6-9.
- [18] 王克勤, 陈亮, 刘仲华, 等. 芹菜综合加工及其功能成分研究进展[J]. 食品与机械, 2006, 22(3): 57-61.
- [19] 王学奎. 植物生理生化原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [20] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [21] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003.
- [22] 甄泉, 严密, 杨红飞, 等. 铜污染对野艾蒿生长发育的胁迫及伤害[J]. 应用生态学报, 2006, 17(8): 1505-1510.
- [23] 田胜尼, 刘登义, 彭少麟, 等. 香根草和鹅观草对 Cu、Pb、Zn 及其复合重金属的耐性研究[J]. 生物学杂志, 2004, 21(3): 15-19.
- [24] Bassi R, Shama S. Proline accumulation in wheat seedlings exposed to zinc and copper[J]. Phytochem, 1993, 33(6): 1339-1342.
- [25] Leep N W. Effect of Heavy Metal Pollution on Plants[M]. Vol1: Effects of Trace Metal on Plant Function. London and New jersey: Applied Science Publishers, 1981: 111-143.
- [26] 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[J]. 土壤肥料, 1993(5): 23-27.
- [27] 袁露, 李艳梅, 张兴昌. 铜对小青菜生长和叶片保护酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(2): 467-471.

Effect of Copper Pollution on the Growth and Physiological Characters of *Apium graveolens* Linn

WEI Mei-yu, LIU Li-ping

(Department of Life Sciences, Qiannan Normal College for Nationalities, Duyun, Guizhou 558000)

Abstract: Effects of copper pollution on the growth and physiological stress damage of *Apium* seedlings were studied with water culture experiment of different concentrations $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ solution (0, 5, 10, 20, 40 mg/L). The results indicated that the lower concentration (5 mg/L) of $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ solution promoted the growth of *Apium graveolens* Linn, but the growth was inhibited when the concentration increased to 20 ~ 40 mg/L. When the concentration of $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ solution was 5 mg/L, the root activity and the content of chlorophyll a were higher than the control experiment, and both of them were decreased as the concentration increased. The effect of $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ on the chlorophyll a was larger than the chlorophyll b and carotenoid. The content of the nitrate reductase was higher than the control experiment when the concentration of $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ solution was 5 mg/L, and it was decreased as the concentration increased. With the concentration of Cu increased, the activity of POD ascended, then descended and ascended finally, and the activity of SOD and CAT increased and then decreased. The permeability of leaf cell membrane, the content and relative conductivity of MDA increased as the concentration of CuSO_4 solution increased.

Key words: copper pollution; *Apium graveolens* Linn; growth; physiological characters; physiological stress