

# 姜花在 Cu 胁迫下的耐性机理研究

叶 红<sup>1</sup>,袁 野<sup>2</sup>,李远伟<sup>1</sup>,阳路芳<sup>1</sup>,吴晓莉<sup>1</sup>,肖德林<sup>1</sup>,邓仕槐<sup>1</sup>

(1.四川农业大学农业环境工程省重点实验室,四川 雅安 625014;2.成都市生态环境研究所,四川 成都 610000)

**摘要:**采用模拟湿地盆栽试验,研究了姜花在 Cu 胁迫下的积累、分布、化学形态和富集能力。结果表明:(1)姜花对 Cu 的积累能力随 Cu 处理浓度的增加而增大,但各部位对 Cu 的积累具有明显的差异性。当 Cu 处理浓度≤150 mg·kg<sup>-1</sup> 时,其积累能力表现为根>叶>茎;当 Cu 处理浓度≥200 mg·kg<sup>-1</sup> 时,其积累能力表现为叶>根>茎。(2)Cu 在姜花叶片细胞中的分布具有选择性,其主要分布位点为细胞可溶性部分和细胞壁部分,而在细胞器中 Cu 的含量较低。(3)Cu 在姜花根、茎和叶中赋存的化学形态有明显差异。在根部,Cu 的化学形态主要以乙醇提取态和水提取态为主;在茎部,Cu 均以氯化钠提取态为主;而叶部 Cu 主要以活性较低的氯化钠提取态、醋酸提取态和盐酸提取态存在。(4)姜花对 Cu 具有一定的富集能力,但富集能力不强,当 Cu 浓度达到 400 mg·kg<sup>-1</sup> 以上时,姜花植株便出现了较明显的毒害症状并随之死亡,因而姜花尚未达到超富集植物的标准。可见,姜花在 Cu 胁迫下具有一定的耐受性,分布选择性和富集能力,将其运用于湿地 Cu 污染修复中,将极大地缓解重金属 Cu 污染给环境带来的压力。

**关键词:**铜胁迫;积累;分布;化学形态;富集能力

中图分类号:Q945.78 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2009)10-2029-06

## Tolerance Mechanism of *Hedychium coronarium* Under Copper Stress

YE Hong<sup>1</sup>, YUAN Ye<sup>2</sup>, LI Yuan-wei<sup>1</sup>, YANG Lu-fang<sup>1</sup>, WU Xiao-li<sup>1</sup>, XIAO De-lin<sup>1</sup>, DENG Shi-huai<sup>1</sup>

(1.Provincial Key Laboratory of Agricultural Environmental Engineering, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China;2.Institute of Ecology and Environment, Chengdu 610000, China)

**Abstract:** Uptake and accumulation of copper in *Hedychium coronarium* (HC), the subcellular distribution of copper in leaf and chemical form of copper in plants under copper stress were investigated in a pot culture of simulated wetland. The results showed that the accumulation of copper in HC increased with the increase of the concentration of copper. When the concentration of copper was less than 150 mg·kg<sup>-1</sup>, the accumulation of copper in the plant was found in the order of root>leave>stem. While it was in the order of leave>root>stem when the concentration of copper was no less than 200 mg·kg<sup>-1</sup>. In all treatments, the copper in leaf was mainly on cell wall and in soluble fraction, while relatively lower in cell organelle. The copper in the root was predominated with Ethanol- and water-extractable forms, while NaCl-extractable form was dominant in the stem. Whereas NaCl-, HAC- and HCl-extractable forms in the leaf, which were less active, were dominant. In addition, HC had certain concentrating capability, yet the ability was not strong. When the concentration of copper was no less than 400 mg·kg<sup>-1</sup>, the plants suffered from physiological hurt and death quickly, which showed that HC was not satisfied with the standard of copper hyper-accumulation plant. It came to the conclusions that HC had certain tolerance, distributing selectivity and concentrating capability under copper stress, use of which to remedy copper -polluted wetland would relieve the pressure from copper pollution.

**Keywords:**copper stress; accumulation; distribution; chemical form; concentrating capability

随着现代工农业的快速发展,流入环境的铜日益增多,如 Cu 矿的过度开采,工业废水的超标排放,农业生产上含 Cu 农药、化肥的使用等<sup>[1-3]</sup>。近年来,重金属污染修复在湿地方面的研究越来越引起诸多学者

收稿日期:2009-03-18

基金项目:四川省教育厅科研项目(072A083);四川农业大学青年科技创新基金(2006A057);四川公益性重大项目(2007NGY06)

作者简介:叶 红(1984—),女,四川成都人,在读硕士,主要从事湿地修复方面研究。E-mail:yhongjl@163.com

通讯作者:邓仕槐 E-mail:shdeng888@163.com

的广泛关注<sup>[4-7]</sup>,其中植物修复重金属污染湿地已成为一个新的研究领域。采用植物修复重金属污染,既要考虑植物的自身特性、生物量、耐性,又要考虑植物的富集、吸收能力等因素。

姜花系姜科多年生草本植物,生物量大,常见于南方各地的河边湿地及浅水里<sup>[8]</sup>,其抗逆性和适应力都较强,目前尚未见其应用于重金属污染湿地的研究中。为此,本文以姜花为研究对象,以盆栽方法研究了姜花在铜胁迫下的积累、分布、化学形态和富集能力

等作用机理,以期为植物对铜的耐性机制和重金属污染湿地的植物修复提供参考和科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料采集和培养

供试姜花采自雅安郊区河滩边。采集日期为 2007 年 11 月,先将姜花地下根埋于直径 33 cm、高约 29 cm 的试验桶中,桶底部设布水管,并放置直径 2~5 cm 的砾石,厚度 10 cm,其上铺 10 kg 取自河边的土壤(其 Cu 含量背景值为  $39.22 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),使土壤保持湿润,放置于采光良好,不被雨淋,保温性能较好的棚内。为使试验具有可参比性,每桶埋 2 个姜花块根,统一修剪为 10 cm 长的段,每块地下根留 2~3 个嫩芽,长至湿土表面 4~5 cm 株高时,每盆留 4 株,第二年 4 月,对各试验桶进行铜污染模拟试验。

### 1.2 人工污染湿地模拟

设置 6 个不同的 Cu 浓度,一次性添加  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  溶液,与湿土充分混匀,使湿土中 Cu 含量(以纯 Cu 量计算)分别为 50、100、150、200、300、400  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,以未加 Cu 的土壤作为对照(CK),每种处理设 4 个重复。同时在培养盆中添加 Hogland 完全营养液,并保证姜花植株根部 24 h 处于淹没状态,以消除营养和水分缺失带来的影响。

### 1.3 测试指标及测试方法

#### 1.3.1 姜花体内各器官中 Cu 含量的测定

用不同 Cu 浓度处理 60 d 后采样,洗净后分为根、茎、叶 3 部分,于恒温干燥箱中 105 °C 下杀青 30 min,之后放于 85 °C 烘箱中烘干至恒重,用粉碎机粉碎,过 60 目筛备用。

分别称取样品 0.300 0 g,用  $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$  消煮,原子吸收分光光度计法测定 Cu 的含量。

#### 1.3.2 土壤中 Cu 含量的测定

土壤经自然风干、粉碎,过 100 目筛后,分别称取样品 1.000 0 g 放入聚四氟乙烯坩埚,采用 HF-HClO<sub>4</sub>-HNO<sub>3</sub> 法消煮,原子吸收分光光度计测定 Cu 的含量。

#### 1.3.3 姜花叶细胞不同组分中 Cu 含量的测定

从盆栽试样中采取新鲜样品,用自来水洗净,再用超纯水冲洗两遍,吸干表面水分,然后将样品分根、茎和叶 3 部分备用。

采用亚细胞分级方法改进后进行测定<sup>[9]</sup>:准确称取鲜样 0.500 0 g,加入预冷的 20 mL 提取液[0.25 mol·L<sup>-1</sup> 蔗糖+50 mol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl 缓冲液 (pH=7.5)],研磨匀浆。用尼龙纱布过滤,滤渣为细胞壁部分(F<sub>1</sub>);

滤液在 50 mL 的塑料离心管中,在 4 °C 下离心 45 min,底部碎片为细胞器组分(F<sub>2</sub>),上层清液为含核糖蛋白的细胞溶质部分(F<sub>3</sub>),包括细胞质及液泡内大分子有机物及无机离子。全部操作过程均控制在 4 °C 下进行。上清液、残渣和沉淀部分分别用去离子水多次转入 100 mL 三角瓶中,蒸发至近干后,用  $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$  消煮,原子吸收分光光度计测定 Cu 的含量。

#### 1.3.4 姜花根茎叶中 Cu 的化学形态分析

采用化学试剂逐步提取法研究姜花根、茎和叶内 Cu 的化学形态<sup>[10]</sup>。提取剂和提取顺序为 80% 乙醇,去离子水,1 mol·L<sup>-1</sup> 氯化钠,2% 醋酸,0.6 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸。具体操作如下:准确称取 0.400 0 g 干燥样品于 100 mL 的塑料离心管中,加入提取剂,样品与提取剂比例为 1:100,在 25 °C 恒温下浸泡 22 h,振荡 1 h,5 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,倒出上清液,再在放置样品的离心管中加入 10 mL 的提取剂,25 °C 恒温振荡机振荡 1 h,5 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 h,倒出上清液。合并 2 次上清液于 150 mL 的三角瓶中,电热板上蒸发至近干,加入  $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ (4:1)于砂浴中消煮至澄清,用 10% 硝酸定容,原子吸收分光光度法测定 Cu 含量。

### 1.4 统计方法

统计分析采用 SPSS13.0 统计分析软件,对照和处理间的差异显著性采用单因素多重比较分析,采用最小显著性差异法(LSD)。

## 2 结果与分析

### 2.1 姜花形态对铜胁迫的耐受响应

施入不同浓度 Cu 溶液后,姜花植株外观状况见表 1。与空白对照相比,在 50  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  Cu 浓度下,姜花幼苗茎叶生长正常,长势较对照旺盛。随着 Cu 处理浓度的升高,姜花生长逐渐出现受害症状,部分老叶片失绿、出现发黄斑点,随着时间的延长,叶片逐渐变黄、枯萎,到 400  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  Cu 处理浓度 45 d 时,植株生长受到抑制,到 60 d 时,植株地上部分死亡。这表明 400  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  可能是姜花受 Cu 毒害的临界浓度。原因可能是 Cu 作为植物生长所必需的微量元素,在含量较低时对植株的生长有促进作用,但随着 Cu 浓度的增大,破坏了幼苗的内部生理结构,影响了叶绿素的合成,使姜花叶片出现失绿变黄症状,当达到 400  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  Cu 处理时,植物光合作用完全受到抑制以至植株叶片枯死,植株茎基部也呈现褐色症状。

### 2.2 姜花对 Cu 的吸收和积累

由表 2 可以看出,在湿地盆栽条件下,处理组姜

表1 不同浓度Cu污染湿地中的姜花受害症状  
Table 1 Symptoms of *Hedychium coronarium* poisoned by Cu in different wetland

| 处理时间/d   | 处理浓度/mg·kg <sup>-1</sup> |                |                 |                      |                     |               |
|----------|--------------------------|----------------|-----------------|----------------------|---------------------|---------------|
|          | 50                       | 100            | 150             | 200                  | 300                 | 400           |
| 15 生长正常  | 生长正常                     | 生长正常           | 老叶尖微泛黄，正常生长     | 老叶尖泛黄，正常生长           | 老叶尖黄化，正常生长          | 老叶边缘开始发黄，正常生长 |
| 30 有新芽长出 | 抽心叶，生长正常                 | 抽心叶，生长正常       | 抽心叶，植株下部老叶片失绿软化 | 新叶尖发黄，老叶失绿出现褐色斑点     | 新叶尖失绿，下部老叶发黄开始干枯    |               |
| 45 新芽抽叶  | 老叶尖略发黄                   | 部分老叶失绿软化       | 植株下部老叶出现发黄斑点，   | 从下部老叶逐渐向上黄化          | 下部老叶枯死，部分植株茎基部呈褐色   |               |
| 60 生长正常  | 老叶尖发黄，生长正常               | 心叶生长缓慢，老叶尖发黄卷曲 | 心叶开始泛黄，部分老叶开始枯萎 | 新叶开始失绿软化，下部老叶枯萎，茎微泛黄 | 部分植株地上部分枯死，其他植株生长缓慢 |               |

表2 姜花不同器官Cu的含量(mg·kg<sup>-1</sup>)(平均值±标准误)  
Table 2 content of Cu in different organs of *Hedychium coronarium* (Mean±SE)

| 器官 | Cu 处理浓度/mg·kg <sup>-1</sup> |              |              |               |               |               |               | r 值  | 回归方程            |
|----|-----------------------------|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|------|-----------------|
|    | 0                           | 50           | 100          | 150           | 200           | 300           | 400           |      |                 |
| 根  | 7.47±0.75f                  | 57.34±8.39e  | 81.76±3.45d  | 132.20±13.88c | 187.51±8.78b  | 205.25±17.06b | 227.36±21.14a | 0.95 | $Y=0.56x+32.41$ |
| 茎  | 6.78±0.41d                  | 18.52±9.31bc | 12.68±2.15ed | 27.75±8.43a   | 21.49±3.11ab  | 25.33±3.89ab  | 21.12±2.51ab  | 0.62 | -               |
| 叶  | 8.02±0.96e                  | 20.25±13.65e | 33.27±10.24e | 114.22±19.20d | 287.63±32.47c | 394.57±44.34b | 569.08±66.21a | 0.97 | $Y=1.54x-68.23$ |

注:a、b、c、d表示处理间达到0.05水平差异显著性。

花根部Cu含量均明显高于对照组，平均是对照的19.9倍；而姜花叶部Cu含量在低Cu浓度处理时(<100 mg·kg<sup>-1</sup>)与对照无明显差异，当Cu处理浓度达到150 mg·kg<sup>-1</sup>时，叶部Cu含量与对照有显著差异。回归分析表明，姜花根部和叶部Cu含量随Cu处理浓度的增加而升高，均呈极显著正相关( $r_R=0.95, P<0.01; r_R=0.97, P<0.01$ )；而茎部Cu含量与Cu处理浓度两者间无明显相关性( $r_R=0.62, P>0.05$ )。

铜胁迫下姜花不同器官对Cu的积累能力也具有显著差异。当Cu处理浓度≤150 mg·kg<sup>-1</sup>时，姜花对Cu的累积能力表现为根>叶>茎；当Cu处理浓度达到200 mg·kg<sup>-1</sup>以上时，姜花叶部Cu大量累积并超过根部，在Cu处理浓度为400 mg·kg<sup>-1</sup>时达到最大积累量569.08 mg·kg<sup>-1</sup>，为根中Cu含量的2.5倍。Cu的累积能力从大到小依次为叶、根、茎。

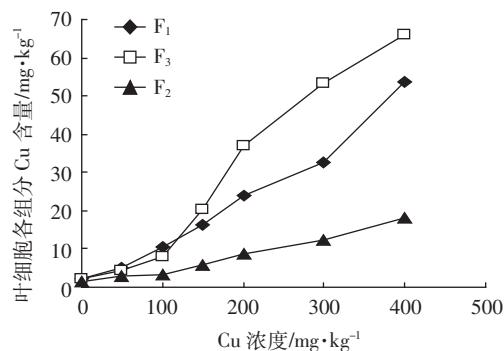


图1 姜花叶细胞各组分Cu含量

Figure 1 Cu content of each fraction in the leaf cell of *Hedychium coronarium*

### 2.3 Cu在姜花叶细胞组分中的分布情况

由图1可知，随Cu处理浓度的增加，姜花叶细胞组分F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>、F<sub>3</sub>的Cu含量表现出一致的趋势，其中的Cu含量都随着Cu处理浓度的增加而显著升高，三者均呈极显著正相关( $r_{F_1}=0.97, P<0.01; r_{F_2}=0.87, P<0.01; r_{F_3}=0.97, P<0.01$ )。

由图2可以看出，在对照、50和100 mg·kg<sup>-1</sup> Cu浓度处理下，Cu在姜花叶亚细胞中含量大小趋势均为F<sub>1</sub>>F<sub>3</sub>>F<sub>2</sub>；在200、300和400 mg·kg<sup>-1</sup> Cu浓度处理下，叶细胞各组分Cu含量大小趋势为F<sub>3</sub>>F<sub>1</sub>>F<sub>2</sub>，其中F<sub>3</sub>占总量的47.88%~53.74%，而F<sub>2</sub>的Cu含量较少，仅为总量的13.21%~14.98%。随着Cu处理浓度的增加，F<sub>1</sub>组分和F<sub>3</sub>组分所占百分比之和有先增加后减小的趋势，并在Cu处理浓度为200 mg·kg<sup>-1</sup>时百分比达到最大，为87.55%。研究结果显示了细胞溶质和细

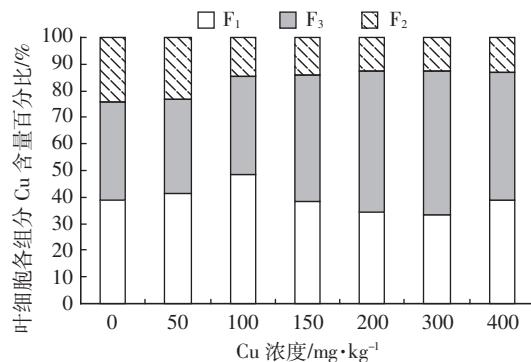


图2 姜花叶细胞各组分Cu含量的百分比

Figure 2 Percentage of Cu content of each fraction in the leaf cell of *Hedychium coronarium*

胞壁部分是铜在姜花叶细胞内的主要积累位点,其细胞器部分 Cu 的含量相对较低。

#### 2.4 Cu 在姜花体内的化学形态

铜在植物体内不同部位都有其主要的存在形态,占优势的提取态的性质和活性对于重金属在植物体内的运输、累积以及毒性都有显著的影响<sup>[11]</sup>。在不同 Cu 浓度处理下,Cu 在姜花根、茎和叶中的主要化学形态存在明显差异。由表 3 可知,在根部,主要以乙醇提取态铜和水提取态铜为主,两者之和约占总量的 50.43%~59.31%;相关分析表明,姜花根部乙醇提取态和水提取态的 Cu 含量与土壤 Cu 浓度间呈极显著的正相关( $r_E=0.92, P<0.01$ ;  $r_W=0.97, P<0.01$ )。而在茎部,Cu 以氯化钠提取态为主,占总量的 37.10%~72.83%,其次是水提取态铜;仅氯化钠提取态的 Cu 含量与 Cu 浓度间呈显著的正相关( $r_{NaCl}=0.75, P<0.05$ ),而水提取态的 Cu 含量与 Cu 浓度间无明显相关性。在对照、50 和 100 mg·kg<sup>-1</sup> Cu 浓度处理时,叶片以氯化钠提取态铜为主,随着 Cu 处理浓度的增加,氯化钠提取态铜的分配比例有所下降,醋酸提取态铜和盐酸提取态铜的分配比例逐渐上升。在 200、300 和 400

mg·kg<sup>-1</sup> Cu 浓度处理下,盐酸提取态铜为主要化学形态,其次是醋酸提取态铜和氯化钠提取态铜,三者之和占总量的 72.77%~80.61%。

#### 2.5 姜花对 Cu 的富集能力评价

评价植物对 Cu 具有富集能力的标准,应用较多的有以下三种:一种是由 Brooks 等<sup>[12]</sup>提出的植物地上部分 Cu 含量超过 1 000 mg·kg<sup>-1</sup>;一种是采用生物富集系数<sup>[13]</sup>(BCF)>1,即地上部分 Cu 含量与土壤中 Cu 含量之比;另一种是转运系数 S/R>1<sup>[12]</sup>(地上部分 Cu 浓度/根系中 Cu 浓度)。

从表 4 可知,姜花在 Cu 处理浓度>150 mg·kg<sup>-1</sup> 时,生物富集系数和转运系数均大于 1,并在 Cu 处理浓度达到 400 mg·kg<sup>-1</sup> 时,富集系数和转运系数达到最大值,分别为 1.44 和 2.60。由于姜花地上部分 Cu 最大积累量为 590.20 mg·kg<sup>-1</sup><1 000 mg·kg<sup>-1</sup>,且在 Cu 处理浓度 400 mg·kg<sup>-1</sup> 部分植株出现了较明显的毒害症状并随之死亡,因此姜花不符合 Cu 富集植物的标准。但是,在 200~400 mg·kg<sup>-1</sup> Cu 浓度处理下,姜花地上部分有较高的 Cu 积累,其含量为一般植物体内 Cu 含量水平(5~20 mg·kg<sup>-1</sup>)<sup>[14]</sup>的 29.5~118.0 倍,且能存

表 3 姜花体内不同化学形态的 Cu 含量及分配率

Table 3 Cu contents and distribution ratio of different chemical forms in *Hedychium coronarium*

| 铜处理/<br>mg·kg <sup>-1</sup> | 铜含量/mg·kg <sup>-1</sup> |                |                   |                  |                  |                | 分配率/%          |                |                   |                  |                  |                |      |
|-----------------------------|-------------------------|----------------|-------------------|------------------|------------------|----------------|----------------|----------------|-------------------|------------------|------------------|----------------|------|
|                             | F <sub>E</sub>          | F <sub>W</sub> | F <sub>NaCl</sub> | F <sub>HAC</sub> | F <sub>HCl</sub> | F <sub>R</sub> | F <sub>E</sub> | F <sub>W</sub> | F <sub>NaCl</sub> | F <sub>HAC</sub> | F <sub>HCl</sub> | F <sub>R</sub> |      |
| 根                           | CK                      | 1.55d          | 1.12f             | 2.89e            | 0.50d            | 0.25e          | —              | 24.56          | 17.73             | 45.82            | 7.93             | 3.96           | —    |
|                             | 50                      | 14.50c         | 12.75e            | 10.80d           | 4.38c            | 8.63d          | 0.50d          | 28.13          | 24.73             | 20.95            | 8.49             | 16.73          | 0.97 |
|                             | 100                     | 20.94c         | 18.93e            | 17.05c           | 6.07c            | 12.36d         | 3.70c          | 26.49          | 23.94             | 21.57            | 7.68             | 15.64          | 4.68 |
|                             | 150                     | 40.08b         | 33.76d            | 16.61c           | 13.06b           | 22.13c         | 4.45c          | 30.81          | 25.95             | 12.77            | 10.04            | 17.01          | 3.42 |
|                             | 200                     | 46.81ab        | 53.92c            | 30.04b           | 12.41a           | 29.38b         | 3.78c          | 26.54          | 30.58             | 17.04            | 7.04             | 16.66          | 2.15 |
|                             | 300                     | 50.88a         | 61.66b            | 35.99a           | 9.34a            | 28.69b         | 3.19b          | 26.82          | 32.49             | 18.97            | 4.92             | 15.12          | 1.68 |
|                             | 400                     | 54.60a         | 70.95a            | 40.85a           | 12.69a           | 35.71a         | 6.07a          | 24.72          | 32.12             | 18.49            | 5.75             | 16.17          | 2.75 |
| 茎                           | CK                      | 0.29d          | 0.99d             | 4.57c            | 0.68d            | 0.06e          | —              | 4.46           | 14.99             | 69.28            | 10.39            | 0.88           | —    |
|                             | 50                      | 0.48d          | 8.94a             | 6.70c            | 1.22bc           | 0.65ab         | 0.08c          | 2.63           | 49.49             | 37.10            | 6.74             | 3.62           | 0.43 |
|                             | 100                     | 1.09c          | 3.26c             | 6.29c            | 1.09e            | 0.32cd         | 0.10c          | 8.96           | 26.87             | 51.77            | 8.98             | 2.59           | 0.83 |
|                             | 150                     | 2.83a          | 5.05b             | 16.65a           | 1.48ab           | 0.84a          | 0.17c          | 10.47          | 18.70             | 61.60            | 5.49             | 3.12           | 0.62 |
|                             | 200                     | 0.25d          | 2.86c             | 14.62ab          | 1.75a            | 0.30d          | 0.29b          | 1.25           | 14.27             | 72.83            | 8.73             | 1.50           | 1.42 |
|                             | 300                     | 2.61a          | 5.78b             | 13.28b           | 1.69a            | 0.85a          | 0.51a          | 10.54          | 23.40             | 53.72            | 6.85             | 3.45           | 2.05 |
|                             | 400                     | 1.54b          | 2.66c             | 15.02ab          | 0.92cd           | 0.54bc         | 0.16c          | 7.39           | 12.79             | 72.09            | 4.40             | 2.58           | 0.75 |
| 叶                           | CK                      | 0.72e          | 0.55e             | 5.19f            | 0.85d            | 0.54e          | —              | 9.20           | 6.96              | 66.15            | 10.79            | 6.89           | —    |
|                             | 50                      | 2.69e          | 2.57e             | 9.21ef           | 2.33d            | 2.47e          | 0.81e          | 13.39          | 12.79             | 45.90            | 11.58            | 12.29          | 4.05 |
|                             | 100                     | 4.21e          | 3.30e             | 15.61e           | 3.87d            | 3.82e          | 2.05d          | 12.82          | 10.05             | 47.51            | 11.77            | 11.62          | 6.24 |
|                             | 150                     | 9.22d          | 10.28d            | 38.38d           | 23.95d           | 28.12d         | 2.26d          | 8.21           | 9.16              | 34.21            | 21.34            | 25.06          | 2.02 |
|                             | 200                     | 32.09 c        | 41.67c            | 69.25c           | 66.00c           | 73.24c         | 4.24c          | 11.20          | 14.55             | 24.17            | 23.04            | 25.56          | 1.48 |
|                             | 300                     | 40.05b         | 56.86b            | 82.15b           | 97.04b           | 101.18b        | 7.85b          | 10.40          | 14.76             | 21.33            | 25.20            | 26.27          | 2.04 |
|                             | 400                     | 52.15a         | 75.01a            | 98.45a           | 125.21a          | 158.34a        | 10.92a         | 10.03          | 14.42             | 18.93            | 24.08            | 30.45          | 2.10 |

注:F<sub>E</sub> 为乙醇提取态,F<sub>W</sub> 为水提取态,F<sub>NaCl</sub> 为氯化钠提取态,F<sub>HAC</sub> 为醋酸提取态,F<sub>HCl</sub> 为盐酸提取态,F<sub>R</sub> 为残留态;“—”表示未检出;a, b, c, d 表示处理间达到 0.05 水平差异显著性。

活,说明姜花对 Cu 具有一定的耐性。另外,姜花在 Cu 处理浓度 $>100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,其转运系数逐渐增大。转运系数越高,转移到可收割地上部分的 Cu 含量就越高,通过收割方式能有效降低污染湿地中的 Cu 含量,因而姜花具有良好的修复潜力。

表 4 姜花对 Cu 的富集特征

Table 4 Cu accumulation symptoms of *Hedychium coronarium*

| Cu 处理浓度/<br>$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ | Cu 含量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ |        |        | 生物富<br>集系数 | 转运系数 |
|--|---|--------|--------|------------|------|
|  | 地上部分                                    | 根      | 土壤     |            |      |
| CK   | 14.80                                   | 7.47   | 39.22  | -          | -    |
| 50   | 38.77                                   | 57.34  | 72.32  | 0.54       | 0.68 |
| 100  | 45.95                                   | 81.76  | 114.39 | 0.40       | 0.56 |
| 150  | 141.97                                  | 132.2  | 162.61 | 0.87       | 1.07 |
| 200  | 309.12                                  | 187.51 | 209.82 | 1.47       | 1.65 |
| 300  | 419.90                                  | 205.25 | 296.45 | 1.42       | 2.05 |
| 400  | 590.20                                  | 227.36 | 409.54 | 1.44       | 2.60 |

### 3 讨论

铜是植物生长发育所必需的微量元素,然而过量的铜会对植物产生毒害作用,主要表现为植株生长缓慢,叶片失绿,植物的光合作用、呼吸作用等各种生理代谢发生紊乱<sup>[15-16]</sup>。本研究表明,低浓度铜( $\text{Cu} < 100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )对姜花的生长具有一定的促进作用。随着 Cu 浓度的升高,姜花逐渐表现出一定的毒害症状,叶片失绿软化,出现褐色斑点,发黄卷曲,当 Cu 浓度达到 $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,部分植株出现叶片枯萎现象,并在处理 60 d 后地上部分死亡,因此, $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可能是姜花受 Cu 毒害的临界浓度。

重金属在植物体内的分布有两种情况,一种是大部分在根部,一种是把根系吸收的重金属大部分运输到地上部分<sup>[17-18]</sup>。本研究中,当 Cu 处理浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,Cu 主要积累在姜花根部,随着 Cu 处理浓度的增大,姜花对 Cu 的转运系数也逐渐增大,叶片对 Cu 的积累量大幅增加,并在 Cu 浓度为 $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时达到最大值 $569.08 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,为根中 Cu 含量的 2.5 倍。大量的 Cu 从姜花根部迁移并积累在地上部分,一方面降低了过量 Cu 对根部的伤害,另一方面积累在地上部分的 Cu 可以通过收割的方式除去,这为姜花用于 Cu 污染湿地修复提供了一定的理论基础。

重金属离子在细胞内的区室化是植物内部解毒的重要途径之一,其中细胞壁和液泡是重金属区室化的两个主要位点<sup>[19-20]</sup>。Lolkema 等<sup>[21]</sup>对铜在耐性植物 *Silene cucubalus* 中的亚细胞分布研究结果表明,Cu 多分布在细胞壁和液泡中。铜超累积植物鸭跖草也与

此类似<sup>[22]</sup>,其根中绝大部分铜(53%~66%)分布在细胞壁组分中,茎、叶中铜主要分布在细胞壁和以液泡为主的细胞质可溶性部分。在本研究中,从铜离子在姜花叶细胞各组分中的分布来看,绝大部分的 Cu 分布在细胞溶质部分( $F_3$ ),占总量的 35.35%~53.05%,其次为细胞壁( $F_1$ ),占总量的 33.24%~48.38%,而在细胞器部分( $F_2$ )中 Cu 含量较低,仅占总量的 12.45%~23.1%。大部分的 Cu 分布在细胞溶质部分的原因可能是细胞溶质中含有各种蛋白质、糖、有机酸和有机碱等物质,且这些物质都能与过量的铜离子结合而降低其毒性。细胞器中 Cu 含量较少的原因可能是为了避免过量的 Cu 对姜花体内重要细胞器(叶绿体、线粒体)的伤害,使姜花细胞正常发挥重要的生理功能,这可能是由姜花对铜污染的耐性机制决定的。

Cu 向姜花地上部的运输能力较高,可能与铜离子在植物体内存在的化学形态有一定的关系。植物体内重金属的化学形态决定其在植物体内的活性、毒性以及迁移能力<sup>[23]</sup>。本研究中,姜花根部 Cu 的化学形态主要以活性较强的乙醇提取态和水提取态为优势;在茎部,Cu 均以氯化钠提取态为主;而在叶片中,在 50 和 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cu 浓度处理时,以氯化钠提取态铜为主,随着 Cu 处理浓度的升高,醋酸提取态铜和盐酸提取态铜的比例逐渐增加,并成为主要化学形态。原因可能是由根部运输到地上部分的 Cu 在低浓度 Cu 胁迫下多附集在蛋白质周围,与蛋白质相结合形成结合形态,而在较高浓度 Cu 胁迫下,主要以盐酸和醋酸提取的草酸盐形式与重金属盐形式存在,形成难溶性的沉淀或者活性低的络合态,以减少地上部分游离态 Cu 的含量,降低其有效性及毒性,能在一定程度上保护植物免受 Cu 的毒害。

姜花虽未达到 Brooks 等提出的地上部分 Cu 含量 $1000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的超富集植物标准,但姜花在 Cu 处理浓度 $>150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,生物富集系数和转运系数均大于 1,地上部分有较高的 Cu 积累,且含量是一般植物 Cu 含量( $5\sim20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )的 29.5~118.0 倍,这就表明姜花对土壤中的 Cu 有一定的富集作用,具有作为 Cu 污染湿地的植物修复物种的潜力。

本研究从姜花在 Cu 胁迫下的积累、分布、化学形态和富集能力等方面探讨了姜花的耐受性,分布选择性和富集能力,结果表明姜花虽不是 Cu 超富集植物,但地上部分对 Cu 具有较强的积累能力,耐受能力也较强,因而具有良好的修复潜力。如果将其运用于湿地 Cu 污染修复中,将极大地缓解重金属 Cu 污

染给环境带来的压力。

### 参考文献:

- [1] 王宪礼, 李秀玲. 湿地研究进展[J]. 生态学杂志, 1997, 16(1):58–62.  
WANG Xian-li, LI Xiu-ling. The study development of wetland[J]. *Ecological Journal*, 1997, 16(1):58–62.
- [2] 方 圆, 赵智杰, 孙卫珍, 等. 深圳湾潮间带湿地沉积物的重金属分布特征[J]. 应用基础与工程科学学报, 2000, 8(4):394–353.  
FANG Yuan, ZHAO Zhi-jie, SUN Wei-zhen, et al. Spatial distribution of heavy metals in inter-tidal wetlands of deep bay, Shenzhen[J]. *Journal of Basic Science and Engineering*, 2000, 8(4):394–353.
- [3] 王国平, 刘景双, 高 峰. 向海湿地沉积芯重金属对流域环境污染示踪[J]. 地理科学, 2001, 21(6):548–553.  
WANG Guo-ping, LIU Jing-shuang, GAO Feng. Environmental pollution tracing of the catchment by heavy metals in sediment cores of the Xianghai wetland[J]. *Geography Science*, 2001, 21(6):548–553.
- [4] 赵如金, 高 晶, 王晓静, 等. 北固山湿地土壤氮磷及重金属空间分布[J]. 环境科学与技术, 2008(2):10–12.  
ZHAO Ru-jin, GAO Jing, WANG Xiao-jing, et al. Spatial distribution of nitrogen, phosphorous and heavy metal in wetland soil[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008(2):10–12.
- [5] 陈桂珠, 陈桂葵, 谭凤仪, 等. 白骨壤模拟湿地系统对污水的净化效应[J]. 海洋环境科学, 2000, 19(4):20–26.  
CHEN Gui-zhu, CHEN Gui-kui, TAN Feng-yi, et al. Purifying effects of a vicennia marina simulated wetland system on sewage[J]. *Marine Environment Science*, 2000, 19(4):20–26.
- [6] 莫 争, 王春霞, 陈 琴, 等. 重金属 Cu, Pb, Zn, Cr, Cd 在水稻植株中的富集和分布[J]. 环境化学, 2002, 21(2):110–116.  
MO Zheng, WANG Chun-xia, CHEN Qin, et al. Distribution and enrichment of heavy metals of Cu, Pb, Zn, Cr and Cd in paddy plant [J]. *Environment Chemistry*, 2002, 21(2):110–116.
- [7] 韩志萍. 利用芦竹修复重金属污染湿地的研究[J]. 环境污染治理技术与设备, 2005, 6(8):30–33.  
HAN Zhi-ping. A research on restoring wetland polluted by some heavy metals using graintreed[J]. *Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control*, 2005, 6(8):30–33.
- [8] 邓仕槐, 李远伟, 李宏娟, 等. 姜花在人工湿地中脱氮除磷研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26:249–251.  
DENG Shi-huai, LI Yuan-wei, LI hong-juan, et al. Removal of nitrogen and phosphorus by hedychium coronarium in a constructed wetland[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26:249–251.
- [9] 杨居荣, 鲍子平, 张素芹. 镉、铅在植物细胞内的分布及可溶性结合态[J]. 中国环境科学, 1993, 13(4):263–268.  
YANG Ju-rong, BAO Zi-ping, ZHANG Su-qin. Distribution and chemical binding forms of Cd, Pb in plant[J]. *Chi Environ Sci*, 1993, 13(4):263–268.
- [10] 许嘉琳, 鲍子平, 杨居荣, 等. 农作物体内铅、镉、铜的化学形态研究[J]. 应用生态学报, 1991, 2(3):244–248.  
XU Jia-lin, BAO Zi-ping, YANG Ju-rong, et al. Chemical forms of Pb, Cd and Cu in crops[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1991, 2(3):244–248.
- [11] 陈英旭, 林 琦, 陆 芳, 等. 有机酸对铅、镉植株危害的解毒作用研究[J]. 环境科学学报, 2000, 20(4):467–472.
- [12] Brooks R R, Crooks H M. Copper and cobalt in African species of *Aeolanthus* Mart[J]. *Plant Soil*, 1978, 50:503–507
- [13] Salt E D, Blaylock M, Kumar PBAN, et al. Phytoremediation: A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants[J]. *Biol Technol*, 1995, 13:468–474.
- [14] 胡学玉, 孙宏发, 陈德林. 铜绿山矿冶废气地优势植物重金属的积累与迁移[J]. 长江流域资源与环境, 2008, 17(3):436–438.  
HU Xue-yu, SUN Hong-fa, CHEN De-lin. Accumulation and distribution of heavy metals in dominant plants growing on tonglushan mineral areas in Hubei Province[J]. *Resources and Environment in the Yangtze Basin*, 2008, 17(3):436–438.
- [15] 郭 平, 刘 畅, 张海博, 等. 向日葵幼苗对 Pb、Cu 富集能力与耐受性研究[J]. 水土保持学报, 2007, 21(6):92–96.  
GUO Ping, LIU Chang, ZHANG Hai-bo, et al. Studies on enrichment and tolerance ability to Pb, Cu of sunflower seedlings[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2007, 21(6):467–472.
- [16] 林文章, 张淑媛, 朱海生. 铜胁迫对小白菜叶肉细胞超微结构的影响[J]. 中国生态农业学报, 2008, 16(4):948–951.  
LIN Yi-zhang, ZHANG Shu-yuan, ZHU Hai-sheng. Effect of copper stress on ultra-structure of mesophyll cells in Chinese cabbage[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2008, 16(4):948–951.
- [17] 江行玉, 王长海, 赵可夫. 芦苇抗镉污染机理研究[J]. 生态学报, 2003, 23(5):856–862.  
JIANG Xing-yu, WANG Chang-hai, ZHAO Ke-fu, et al. Study on the mechanism of cadmium resistance in *Phragmites australis*[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23(5):856–862.
- [18] 李 影, 褚 磊. 节节草对 Cu 的吸收和积累[J]. 生态学报, 2008, 28(4):1565–1572.  
LI Ying, CHU Lei. The uptake and accumulation of Cu in *Hippochaete ramosissimum*[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(4):1565–1572.
- [19] Kramer U, Smith R D, Wenzel W W, et al. the role of metal transport and tolerance in nickel hyper accumulation by *Thlaspi goesingense* Halacsy[J]. *Physiology Plant*, 1997, 115: 1641–1650.
- [20] 陈同斌, 阎秀兰, 廖晓勇, 等. 蜈蚣草中砷的亚细胞分布与区隔化作用[J]. 科学通报, 2005, 24:2739–2740.  
CHEN Tong-bin, YAN Xiu-lan, LIAO Xiao-yong, et al. Effects of As on compartmentalization and subcellular distribution in *Pteris vittata* L.[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2005, 24:2739–2740.
- [21] Lolkema P C, Vooos K. Copper tolerance in *Silene cucubalus*[J]. *Planta*, 1986, 167:30–36.
- [22] 廖 斌, 邓东梅, 杨 兵, 等. 铜在鸭跖草内的分布和化学形态研究[J]. 中山大学学报, 2004, 43(2):72–75.  
LIAO Bin, DENG Dong-mei, Yang Bing, et al. Subcellular distribution and chemical forms of Cu in *Commelinaceae communis*[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2004, 43(2):72–75.
- [23] 周小勇, 仇荣亮, 李清飞, 等. 锌对长柔毛委陵菜中铅的分布和化学形态的影响[J]. 环境科学学报, 2008, 28(10):2064–2071.  
ZHOU Xiao-yong, QIU Rong-liang, LI Qing-fei, et al. Effects of zinc on distribution and chemical form of lead in *Potentilla griffithii var. veolutina*[J]. *Acta Science Circumstantiae*, 2008, 28(10):2064–2071.