

铜胁迫对两种不同来源长萼鸡眼草生长及氮代谢的影响

甘金华¹, 李进平², 熊治廷², 李 荣¹

(1. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 湖北 荆州 434000; 2. 武汉大学资源与环境科学学院, 湖北 武汉 430079)

摘 要:采用苗期水培的方法,研究铜胁迫和营养缺失及二者的复合作用对矿区和非矿区长萼鸡眼草生长及氮代谢的影响差异。结果表明,植物吸收的 Cu 绝大部分分配在植物的根部。Cu 胁迫使植物组织中硝态氮 (NO_3^-) 含量和硝酸还原酶 (NR) 活性降低,使植物叶中铵态氮 (NH_4^+) 含量和谷氨酰胺合成酶 (GS) 活性升高,植物生物量减少。Cu 胁迫下矿区植物叶中 Cu 含量、根中 GS 活性比非矿区的低,矿区植物叶生物量、组织中 NR 活性比非矿区的高。营养缺失使植物组织中 NH_4^+ 含量、 NO_3^- 含量、NR 活性、GS 活性显著降低,根生物量显著增加,且矿区植物叶中 GS 活性的变化比非矿区的少。Cu 胁迫营养缺失复合作用使植物组织中 Cu 含量、叶中 GS 活性显著升高,使根生物量、根中 NR 活性显著降低,且矿区植物叶中 Cu 含量增加的比非矿区的少。低营养胁迫可促进长萼鸡眼草对外源 Cu 的吸收,同时也刺激了植物根的生长,Cu 胁迫和营养缺失环境下非矿区植物氮代谢的紊乱程度要比矿区的高,来源于矿区的植物对贫瘠和高 Cu 环境表现出更强的适应性。Cu 及营养缺失对植物氮代谢的影响是非常复杂的,与植物组织中可利用氮和碳的改变有关,也与植物组织中酶活性的直接改变有关。

关键词:长萼鸡眼草; Cu 胁迫; 营养缺失; 氮代谢; 生长

中图分类号: Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2008)03-1057-09

Effects of Copper Stress on Growth and Nitrogen Metabolism of *Kummerowia stipulacea* (Maxim.) Makino from Two Different Sites

GAN Jin-hua¹, LI Jin-ping², XIONG Zhi-ting², LI Rong¹

(1. Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Jingzhou 434000, China; 2. School of Resource and Environmental Science, Wuhan University, Wuhan 430079, China)

Abstract: A research was made on the effects of copper stress and nutrient deficiency as well as their combinational action on growth and nitrogen metabolism of *Kummerowia stipulacea* (Maxim.) Makino from a copper mine-field and from an uncontaminated one by using solution culture of seedlings. The results showed that the copper absorbed by the plant was mostly distributed in the root, and the content of nitrate nitrogen and nitrate reductase (NR) activity in the plant tissue decreased under copper stress, with the ammonium nitrogen (NH_4^+) content and glutamine synthetase (GS) activity in the leaf increasing and the plant biomass decreasing. Under the copper stress, copper content in the leaf and GS activity in the root of the plant from a copper mine field site were lower than those from the uncontaminated one, while the biomass of the leaf and NR activity in the tissue of the plant from the mine field site were higher than from the uncontaminated one. Nutrient deficiency made NH_4^+ and NO_3^- contents and NR and GS activities in the plant tissue decrease significantly, while causing the biomass of the root to increase substantially. Furthermore, the activity of GS in the leaf of the plant from the mine site changed less greatly than that from the uncontaminated one. The combinational action of both Cu stress and nutrient deficiency made copper content in the plant tissue and GS activity in the leaf increase significantly, while causing the biomass of and NR activity in the root to decrease substantially. Besides, the content of copper in the leaf of the plant from the mine site increased less than that from the uncontaminated one. Thus, it can be concluded that the nutrition deficiency stress could promote the absorption of exogenous copper by Korean Lespedeza *Kummerowia stipulacea* (Lespedeza stipulacea) and the growth of the root simultaneously, while under the combined stress of copper stress and nutrient deficiency, nitrogen

metabolism in the plant from the uncontaminated site would be more disturbed than that in the plant from the copper mine field one which displayed more adaptability to the barren environment of high copper content. Effects of copper stress and nutrient deficiency on nitrogen metabolism in the plant related not only to changes of nitrogen and carbon available in plant but also directly to changes of enzyme activity in the plant tissue.

Keywords: *Kummerowia stipulacea* (Maxim.) Makino; copper stress; nutrient deficiency; nitrogen metabolism; growth

Cu是植物生长必需的微量元素之一,参与植物光合作用等许多过程,在植物的生长发育过程中起着重要的作用^[1]。但 Cu 也是具有潜在毒性的元素,是土壤中主要污染物。大部分植物以土壤有效 Cu 含量低于 5 mg·kg⁻¹ 为缺乏临界值^[2]。铜作为仅次于铁的重要工业原料,通过采矿废弃物、工业污泥与污水、大气沉降、家畜粪肥、化肥及农药等多种形式进入到土壤中^[3],使土壤中 Cu 的污染日益严重^[4]。Cu 对植物的毒性作用,归根结底在于 Cu 对植物体内正常的物质代谢的干扰,以及对细胞结构和功能的干扰和破坏^[5]。

长萼鸡眼草 *Kummerowia stipulacea* (Maxim.) Makino, 英文名: Koreanlespedeza, 豆目,蝶形花科,鸡眼草属,一年生草本,广泛分布于我国各省市^[6]。大冶铜绿山是我国古代大型铜矿之一,已有 3 000 多年的历史,其土壤具有高铜等特点^[7]。经野外调查发现长萼鸡眼草在大冶铜绿山废弃铜矿区为优势种植物之一。生长于铜矿区的长萼鸡眼草在长期的自然选择压力下会进化出某些生长于非污染区植物所不具有的抗铜机制进而形成一种新的生态型^[8]。

氮是植物生长重要的营养元素,植物吸收的氮素形态主要有无机态氮(硝态氮和铵态氮)、有机态氮如尿素等。硝态氮被植物吸收后只有转化为铵态氮才能被利用。在植物体内 NO₃⁻还原为 NH₄⁺需要两种酶,即硝酸还原酶(NR)和亚硝酸还原酶(NiR)的催化才能完成。硝酸还原酶是氮代谢过程中的第一个酶,也是硝酸盐同化过程中的限速酶,它是一种底物诱导酶,催化硝态氮到亚硝态氮的转化,已证明这是硝酸盐同化过程中的关键步骤^[9]。Cu 积累不仅影响硝酸盐的转运而且减少 NR 酶催化生成亚硝酸盐。根部吸收的 NH₄⁺或由硝酸盐还原和分子氮固定产生的氨,均可与呼吸作用所产生的各种酮酸形成氨基酸。铵态氮转入碳架主要是通过 GS 和 GOGAT 酶来实现的^[10]。氮素的吸收和同化与植物的很多生理生化过程关系密切,因此研究环境有害物质对植物氮代谢的影响具有广泛的理论和实际意义。

本试验的目的是研究 Cu 胁迫和营养缺失对长萼鸡眼草氮代谢的影响,以揭示 Cu 胁迫、营养缺失

及它们的复合作用对长萼鸡眼草营养生长期氮代谢的影响机制。

1 材料与方法

1.1 材料及幼苗预培养

试验材料:长萼鸡眼草 *Kummerowia stipulacea* (Maxim.) Makino, 英文名: Koreanlespedeza, 豆目,蝶形花科,鸡眼草属,一年生草本。试验用长萼鸡眼草 *Kummerowia stipulacea* (Maxim.) Makino 种子分别取自大冶铜绿山(矿区种子)和武大附中草坪(非矿区种子)。铜试剂为购于武汉博大化学试剂仪器有限公司 CuSO₄·5H₂O,分析纯。

幼苗期试验材料的培养与处理:长萼鸡眼草种子用砂纸进行物理打磨至种胚处隐约露出白色即可,用二次蒸馏水冲洗置于恒温培养箱中,于 (25±1)℃ 恒温、75%的湿度条件下浸泡过夜至发芽。将发芽的种子播入石英砂中固定一星期后,用 Hoagland 全营养液培养一个月,然后分别用 1/2 Hoagland 营养液和 1/20 Hoagland 营养液恢复培养一星期后进行染毒处理。染毒的浓度根据预备试验确定为 10 μmol·L⁻¹ Cu (CuSO₄·5H₂O, AR)溶液。以后每隔 3 d 换一次培养液,两星期后收获。试验处理方案如表 1 所示。所有试验处理均在自然光照下培养,水培所用的蒸馏水均暴气 12 h 后才使用。

表 1 实验处理方案 (每个处理 3 个重复,每盆 12 株)
Table 1 Schedule of the experimental treatments (3 replications, 12 plants per pot)

营养液 浓度	Cu处理浓度			
	0 μmol·L ⁻¹		10 μmol·L ⁻¹	
1/2 Hoagland	矿区	非矿区	矿区	非矿区
1/20 Hoagland	矿区	非矿区	矿区	非矿区

1.2 测定方法

生物量、植物体内的 Cu 含量、硝态氮、脯氨酸的测定方法参考李合生等^[11]。铵态氮的测定方法参考 Chen 和 Kao^[12]。NR 的测定方法采用活体法^[11]。GS 的测定方法见文献[13]。实验所作标准曲线相关系数均在 0.999

以上,质控样的加标回收率均在 99%以上。

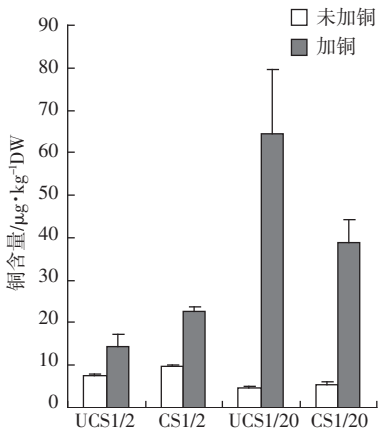
1.3 统计分析

实验结果以平均数+标准偏差来表示,实验数据均采用 SPSS13.0 软件进行方差分析及相关性分析。

2 结果与分析

2.1 Cu 胁迫和营养缺失对植物体内 Cu 含量的影响

Cu 胁迫和营养缺失对植物体内 Cu 含量的影响见图 1 和图 2。方差分析结果显示 Cu 胁迫使植物根叶中 Cu 含量显著升高 (根: $P<0.001$,叶: $P<0.001$),使植物根叶中 Cu 含量的比值显著性升高 ($P<0.001$),且此时矿区植物根叶 Cu 含量之比比非矿区的小。营养缺失使植物根叶中 Cu 含量及二者之比显著性降低 (根: $P<0.001$,叶: $P<0.001$,根/叶: $P<0.001$)。Cu 胁迫



UCS代表非污染区种群,CS代表矿区种群。加铜浓度为 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。1/2 HS 代表用 1/2 Hoagland 营养液培养,1/20 HS 代表用 1/20 Hoagland 营养液培养,下同。

图 1 长萼鸡眼草叶中铜含量

Figure 1 Copper contents in leaves of *K. stipulacea*

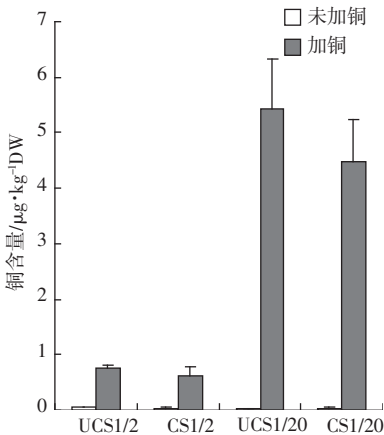


图 2 长萼鸡眼草根中铜含量

Figure 2 Copper contents in roots of *K. stipulacea*

营养缺失复合作用使植物根叶中 Cu 含量及二者之比升高极为显著 (根: $P<0.001$,叶: $P<0.001$,根/叶: $P<0.001$)。总之,植物根中 Cu 含量比植物叶中 Cu 含量高,Cu 胁迫和营养缺失之间有交互作用,二者的复合作用使植物根中 Cu 含量升高得最多。相关性统计分析显示植物根叶中的 Cu 含量呈显著正相关,植物根叶中 Cu 含量与 Cu 处理浓度呈显著正相关,植物根中 Cu 含量与营养液浓度呈显著负相关。

2.2 Cu 胁迫和营养缺失对植物生物量的影响

生物量是反映植物生长状况的重要指标。Cu 胁迫和营养缺失对植物生物量的影响见图 3 和图 4。Cu 胁迫使植物叶生物量显著降低 ($P<0.001$),且非矿区

表 2 长萼鸡眼草组织中铜含量方差分析结果 (F -value) ($n=3$)

Table 2 ANOVA of copper contents in tissues of *K. stipulacea* (F -value) ($n=3$)

	F值		
	叶	根	根/叶
Fp	6.63*	2.48	1.50
Fc	134.41***	258.11***	166.20***
Fs	40.84***	150.82***	37.20***
Fp×c	9.99**	2.42	2.05
Fp×s	6.41*	1.33	3.65
Fc×s	62.59***	154.02***	38.19***
Fp×c×s	5.10*	1.55	1.91

注:* $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$ 。Fp 表示种群 (铜污染区和非污染区) 对 F 值的影响,Fc 表示铜处理浓度 ($10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 铜浓度) 对 F 值的影响,Fs 表示营养液浓度 (1/2 Hoagland 和 1/20Hoagland 营养液) 对 F 值的影响,Fp×c 表示按种群和铜处理浓度二者交互作用对 F 值的影响,Fp×s 表示种群和营养液浓度二者交互作用对 F 值的影响,Fc×s 表示铜处理浓度和营养液浓度二者交互作用对 F 值的影响,Fp×c×s 表示种群、铜处理浓度及营养液浓度三者交互作用对 F 值的影响,下同。

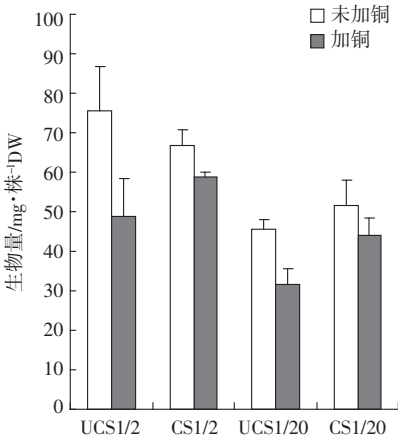


图 3 长萼鸡眼草叶生物量

Figure 3 Biomass of leaves of *K. stipulacea*

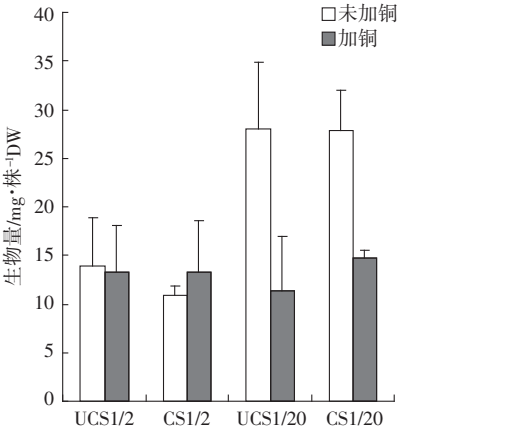


图4 长萼鸡眼草根生物量

Figure 4 Biomass of roots of *K. stipulacea*

植物叶生物量比矿区植物叶生物量下降得更为显著 ($P<0.05$),使根生物量发生显著变化 ($P<0.01$)。营养缺失使植物叶干重显著降低 ($P<0.001$),根生物量显著增加 ($P<0.01$),使植物根叶生物量之比显著增加 ($P<0.001$)。Cu 胁迫营养缺失复合作用使矿区和非矿区植物根生物量发生显著变化 ($P<0.001$),使植物根叶生物量的比值发生显著变化 ($P<0.01$)。相关性统计分析显示,植物根生物量与 Cu 处理浓度、营养液浓度呈显著负相关;叶生物量与营养液浓度呈显著正相关,与 Cu 处理浓度、植物叶中 Cu 含量呈显著负相关。

表3 长萼鸡眼草生物量方差分析结果 (F -value) ($n=3$)
Table 3 ANOVA of biomass of *K. stipulacea* (F -value) ($n=3$)

	F 值		
	叶	根	根/叶
Fp	3.69	0.18	1.17
Fc	30.15***	17.94***	2.79
Fs	55.62***	14.11**	34.10***
Fp×c	6.18*	2.64	0.01
Fp×s	2.68	2.29	0.04
Fc×s	1.75	32.34***	11.60**
Fp×c×s	1.47	0.15	0.77

2.3 Cu 胁迫和营养缺失对植物氮素含量的影响

Cu 胁迫和营养缺失对植物组织中硝态氮含量的影响见图 5、图 6。Cu 胁迫时植物根中的硝态氮含量显著降低 ($P<0.01$)。营养缺失时植物根叶中的硝态氮含量都显著降低 (根: $P<0.001$,叶: $P<0.01$)。Cu 胁迫和营养缺失复合作用使植物根叶中的硝态氮含量较之其他处理组降低得最多,但统计分析表明它们无交互作用。相关性统计分析表明,植物叶中硝态氮含量与

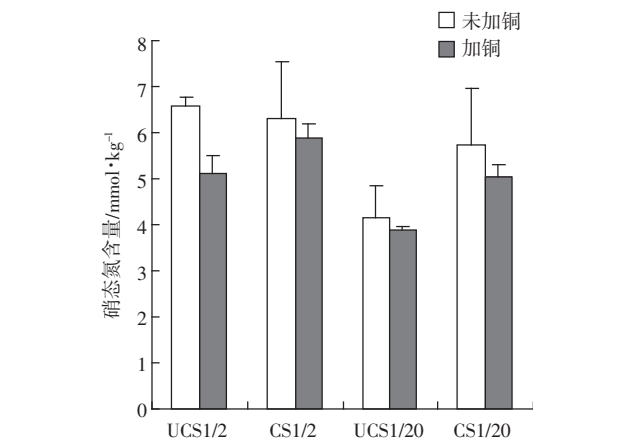


图5 长萼鸡眼草叶中硝态氮含量

Figure 5 Nitrate contents in leaves of *K. stipulacea*

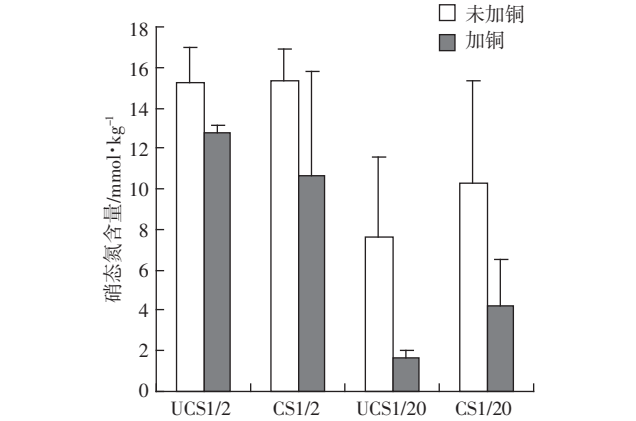


图6 长萼鸡眼草根中硝态氮含量

Figure 6 Nitrate contents in roots of *K. stipulacea*

表4 长萼鸡眼草组织中硝态氮含量方差分析结果 (F -value) ($n=3$)
Table 4 ANOVA of nitrate contents in tissues of *K. stipulacea* (F -value) ($n=3$)

	F 值		
	叶	根	根/叶
Fp	3.85	0.36	0.09
Fc	3.08	12.31**	10.49**
Fs	9.51**	30.40***	24.78***
Fp×c	0.14	0.17	0.13
Fp×s	1.86	1.80	0.85
Fc×s	0.32	0.75	4.57*
Fp×c×s	0.75	0.13	2.41

营养液浓度、植物叶生物量呈显著正相关,与叶中的 Cu 含量呈显著负相关;植物根中硝态氮含量与营养液浓度、根生物量呈显著正相关,与 Cu 处理浓度、植物根中 Cu 含量呈显著负相关。

Cu 胁迫和营养缺失对植物组织中铵态氮含量的影响见图 7、图 8。矿区植物根中铵态氮含量比非矿区

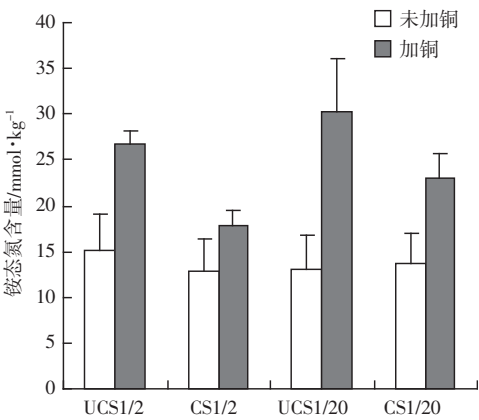


图 7 长萼鸡眼草叶中铵态氮含量

Figure 7 Ammonium contents in leaves of *K. stipulacea*

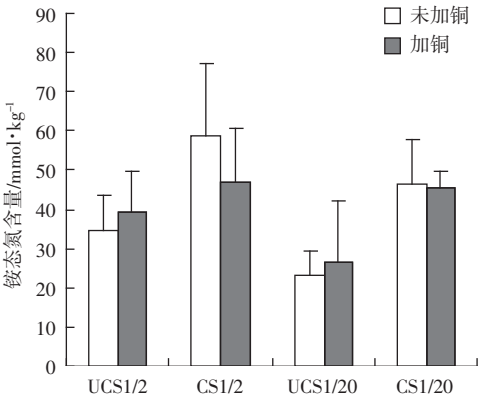


图 8 长萼鸡眼草根中铵态氮含量

Figure 8 Ammonium contents in roots of *K. stipulacea*

表 5 长萼鸡眼草组织中铵态氮含量方差
分析结果 (F -value) ($n=3$)

Table 5 ANOVA of ammonium contents in tissues of *K. stipulacea*
(F -value) ($n=3$)

	F 值		
	叶	根	根/叶
Fp	4.38	29.98***	14.38**
Fc	26.07***	1.99	19.55***
Fs	0.38	13.67**	3.15
Fp×c	3.06	0.35	0.47
Fp×s	0.05	2.98	1.01
Fc×s	2.19	1.17	0.05
Fp×c×s	0.02	22	0.69

的高 ($P<0.001$)。Cu 胁迫使植物叶中铵态氮含量显著升高 ($P<0.001$)。营养缺失使植物根中铵态氮含量显著降低 ($P<0.01$)。相关性统计分析表明,植物叶中铵态氮含量与 Cu 处理浓度、植物叶中 Cu 含量、叶中谷氨酰胺合成酶活性呈显著正相关,与植物叶生物量、叶中硝酸还原酶活性呈显著负相关;植物根中铵态氮

含量仅与营养液的浓度呈显著正相关。
2.4 Cu 胁迫和营养缺失对植物氮同化酶的影响
Cu 胁迫和营养缺失对长萼鸡眼草组织中的 NR 活性的影响见图 9、图 10。Cu 胁迫使植物根叶中 NR 活性显著降低 (叶: $P<0.001$,根: $P<0.001$),且非矿区植物根叶中 NR 的活性比矿区降低得更为显著 ($P<0.01$)。营养缺失使植物根叶中 NR 活性显著降低 (叶:

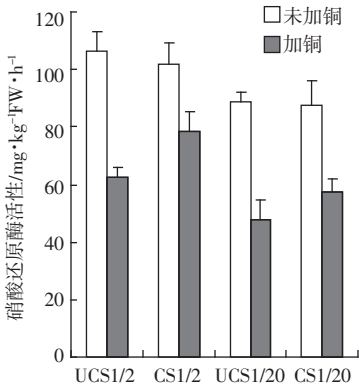


图 9 长萼鸡眼草叶中硝酸还原酶活性

Figure 9 NR activity in leaves of *K. stipulacea*

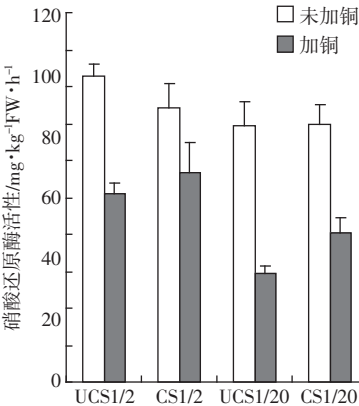


图 10 长萼鸡眼草根中硝酸还原酶活性

Figure 10 NR activity in leaves of *K. stipulacea*

表 6 长萼鸡眼草组织中硝酸还原酶活性方差
分析结果 (F -value) ($n=3$)

Table 6 ANOVA of NR activities in tissues of *K. stipulacea*
(F -value) ($n=3$)

	F 值		
	叶	根	根/叶
Fp	3.58	1.12	0.03
Fc	183.29***	199.41***	1.61
Fs	43.47***	43.88***	0.64
Fp×c	9.27**	9.23**	0.05
Fp×s	0.05	2.77	1.98
Fc×s	0.21	6.04*	3.08
Fp×c×s	0.92	0.16	0.40

$P<0.001$,根: $P<0.001$)。Cu 胁迫和营养缺失复合作用使植物根中 NR 活性进一步降低 ($P<0.05$),营养缺失加重了 Cu 对植物体内 NR 活性的影响程度。相关性统计分析显示,植物叶中硝酸还原酶活性与 Cu 处理浓度、植物叶中 Cu 含量、叶中铵态氮含量、叶中谷氨酰胺合成酶活性呈显著负相关,与营养液浓度、植物叶生物量、叶中硝态氮含量呈显著正相关;植物根中硝酸还原酶活性与 Cu 处理浓度、植物根中 Cu 含量呈显著负相关,与根生物量、根中硝态氮含量呈显著正相关。

Cu 胁迫和营养缺失对植物体内 GS 活性的影响见图 11、图 12。矿区植物叶中 GS 活性比非矿区的低 ($P<0.01$)。Cu 胁迫使植物叶中 GS 活性升高 ($P<0.001$)。营养缺失使植物根叶中 GS 活性降低 ($P<0.05$),且此时矿区植物叶中 GS 活性降低得比非矿区的少 ($P<0.01$)。Cu 胁迫和营养缺失复合作用时植物叶中 GS 活性进一步显著升高 ($P<0.001$)。相关性统计分析显示,植物叶中谷氨酰胺合成酶活性与 Cu 处理浓度、植物叶中 Cu 含量、叶中铵态氮含量呈显著正相关,与植物叶生物量、植物叶中硝酸还原酶活性呈显著负相关,而植物根中谷氨酰胺合成酶活性仅与营

养液浓度呈显著正相关。

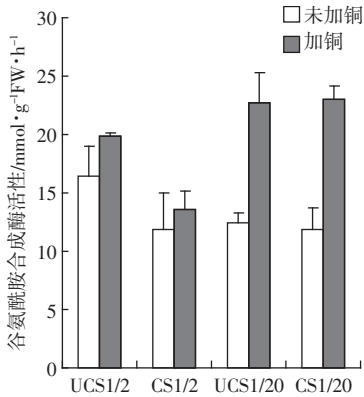


图 11 长萼鸡眼草叶中谷氨酰胺合成酶活性

Figure 11 GS activities in leaves of *K. stipulacea*

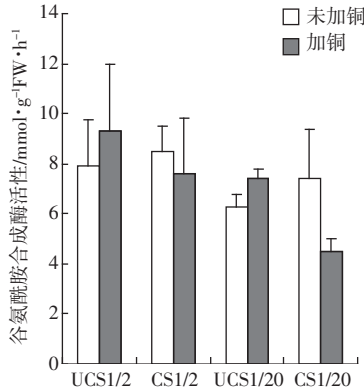


图 12 长萼鸡眼草根中谷氨酰胺合成酶活性

Figure 12 GS activities in leaves of *K. stipulacea*

表 7 长萼鸡眼草组织中谷氨酰胺合成酶活性方差分析结果 (F -value) ($n=3$)

Table 7 ANOVA of GS activities in tissues of *K. stipulacea* (F -value) ($n=3$)

	F 值		
	叶	根	根/叶
Fp	12.11**	0.25	5.29*
Fc	69.36***	1.12	19.79***
Fs	6.84*	12.67**	13.21**
Fp×c	0.06	9.02**	7.00*
Fp×s	10.83**	0.68	6.14*
Fc×s	26.47***	0.06	1.54
Fp×c×s	0.62	0.00	0.09

3 讨论

植物吸收 Cu 离子过程可分为慢速和快速 2 个阶段,当外界 Cu 浓度很低 ($0.01\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)时,植物吸收 Cu 的速度很慢,其体内的 Cu 浓度很低;当外源 Cu 浓度增大时,吸收速度加快,组织中的 Cu 含量迅速上升^[14]。本试验中,在 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Cu}^{2+}$ 胁迫时植物组织中的 Cu 含量显著升高,且植物根中的 Cu 含量显著高

表 8 长萼鸡眼草叶中测定指标间相关性分析结果 (Pearson correlation)

Table 8 Correlation analysis between tested parameters of leaves of *K. stipulacea* (Pearson correlation)

参数	铜浓度	营养液	叶生物量	叶铜含量	叶硝态氮	叶铵态氮含量	叶 NR 活性	叶 GS 活性
铜浓度								
营养液	0.000							
叶生物量	-0.506*	0.688**						
叶铜含量	0.690**	-0.381	-0.629**					
叶硝态氮含量	-0.295	0.517**	0.575**	-0.430*				
叶铵态氮含量	0.707**	-0.085	-0.538**	0.660**	-0.229			
叶 NR 活性	-0.845**	0.411*	0.771**	-0.810**	0.513*	-0.739**		
叶 GS 活性	0.698**	-0.219	-0.450*	0.761**	-0.236	0.727**	-0.703**	

表 9 长萼鸡眼草根中测定指标间相关性分析结果 (Pearson correlation)

Table 9 Correlation analysis between tested parameters of leaves of <i>K. stipulacea</i> (Pearson correlation)								
参数	铜浓度	营养液	根铜含量	根生物量	根硝态氮含量	根氨态氮	根 NR 活性	根 GS 活性
铜含量								
营养液	0.000							
根铜含量	0.663**	-0.507*						
根生物量	-0.455*	-0.502*	-0.353					
根硝态氮含量	-0.446*	0.701**	-0.733**	-0.101				
根氨态氮含量	-0.173	0.454*	-0.345	-0.135	0.378			
根 NR 活性	-0.846**	0.397	-0.856**	0.303	0.744**	0.367		
根 GS 活性	-0.168	0.564**	-0.378	-0.195	0.633**	0.237	0.282	

于叶中的 Cu 含量,这与许多学者的研究结论相同^[4,5,16],且在 Cu 胁迫营养缺失复合作用,矿区植物根叶 Cu 含量之比是所有处理中最大的,这说明此时植物体内的 Cu 绝大部分分布在植物的根部,根部对 Cu 离子的滞留作用对植物抗 Cu 污染有重要意义^[17]。而且有研究结果显示,在低营养胁迫条件下,低浓度的外源 Cu 就可促使植物根中的 Cu 浓度显著升高,营养液浓度的升高可抑制植物根中 Cu 浓度的升高^[18]。这主要是与营养元素铁和磷有关。铁和磷的缺失可促进植物对铜的吸收,这是因为铁缺失/磷缺失诱导质膜上产生的 H⁺-ATP 酶释放出的质子降低了植物根际的 pH 值,从而促进了植物对阳离子的吸收^[19,20],而且,铁缺失诱导产生的非特异性二价阳离子运输体可促进植物对二价铜的吸收^[21]。

在本试验中,1/20Hoagland 营养液处理组中矿区和非矿区植物根生物量都呈显著的升高趋势,即 1/20 的全营养缺失条件可刺激植物根生物量的增加,而在 Xiong 等的研究中也发现同样的现象^[18]。这可能是因为营养缺失刺激了植物的某些应激机制,植物不断的通过根的增长使植物具有较大的吸收表面积^[22]。

Cu 胁迫营养缺失复合作用时矿区植物叶中 Cu 含量增加比非矿区的低,这是因为矿区植物在 Cu 胁迫下维持体内矿物营养元素平衡的能力比非矿区的植物强,矿区植物可减少铜毒害对植物根细胞质膜损伤所带来的植物组织中离子的流失和脂质过氧化^[23]。这也表明矿区植物在矿区高铜贫瘠的土壤环境下已进化出对高铜和贫瘠胁迫的双重抗性机制,而这两种机制之间的联系是遗传学上的还是生理学上的还有待于进一步的研究。

植物的生长发育是在遗传和环境因素及其相互作用下,通过极其复杂的生理、生化过程完成的,其中无机氮 (主要是 NO₃⁻) 的还原、同化和有机含氮化合物的合成及其之间的相互转化是低、高等植物获得

有机氮的最主要途径。因而氮代谢是植株体内最基本的物质代谢之一,是植物正常生长发育的物质基础。对无机氮素的吸收直接影响到植物的生长发育。

硝酸还原酶活性被认为是判断植物生长速度的生化指标,它是硝酸盐同化过程中的起始酶,也是限速酶,在氮素代谢作用中处于关键地位。硝酸还原酶活性 (NRA) 高低不仅表明了植物体内硝酸盐的吸收、积累水平,也反映着植物对氮素的利用水平,在植物氮代谢的研究中,硝酸还原酶活性是研究重点之一^[24]。在受到 Cu 胁迫和营养缺失作用时植物叶根中 NR 活性降低,而在 Cu 胁迫营养缺失复合作用时植物根中 NR 活性进一步降低,且植物叶中的硝酸还原酶活性比根中的高。这与前人的研究结果是一致的。Cu 引起 NR 活性降低的原因可能是: (1) Cu 直接或间接地通过减少水分吸收,导致气孔关闭从而减少光合作用中二氧化碳的固定,而气孔关闭能够快速抑制 NR 活性; (2) Cu 离子也可能通过与硝酸还原酶中的巯基基团结合而使该酶失活^[25]; (3) Cu 胁迫诱导产生的活性氧自由基会使植物组织中的蛋白水解酶活性升高,从而使硝酸还原酶水解失活; (4) 引起 NR 活性降低也可能反映了光合作用的降低减少了植物组织中糖的供应,而糖对 NR 的表达至关重要^[9]。同时 NR 是一种诱导酶,根叶中 NR 的存在对 NO₃⁻ 有一定的依赖性, Cu 胁迫下 NR 活性的降低与植物体内 NO₃⁻ 减少相关^[26],植物根叶中硝酸还原酶活性与植物相应组织中的硝态氮含量呈显著正相关也正说明了这一点。Cu 胁迫时矿区植物根叶中硝酸还原酶活性降低得比非矿区的少。而其中是哪一种或哪几种机制在矿区植物抗铜性方面起重要作用还有待于进一步的研究。

在高等植物中,GS 是氨同化的主要酶。在 ATP 供能的情况下,该酶催化 NH₄⁺ 与谷氨酸转变成谷氨酰胺。它与谷氨酸合成酶形成的循环反应为其他所有含氮有机化合物的合成提供前体。GS 在不同植物组织

或器官中都存在^[27]。在本试验中 Cu 胁迫时植物叶中 GS 活性显著升高。Mäck 等的研究表明,当大麦体内的 NH₄⁺-N 含量升高时,GS 活性相应的升高^[28]。Tercé-Laforgue 等解释说 GS 活性的升高是植物对其体内 NH₄⁺含量升高的一种适应机制,此时 GS 基因的表达和活性被诱导^[29,30]。Cruz C 等的研究表明植物叶中 GS 活性比根中高^[31],这与本试验的结果一致。也有研究发现植物叶中 GS 活性对胁迫更为敏感^[29],这很可能就是 Cu 胁迫时植物叶中 GS 活性升高,而根中 GS 活性没有显著变化的原因。GS 活性升高跟 NH₄⁺浓度升高密切相关,这也可以解释为什么在营养缺失时植物体内 NH₄⁺含量降低,GS 活性降低。同样的,Cu 胁迫营养缺失复合作用时植物叶中 NH₄⁺含量最高,而此时植物叶中 GS 活性也最高。

植物体内所有无机氮首先被逐步还原,经过再循环后变成有机氮形态以供植物代谢所用。因此 NR 和 GS 酶在植物氮素代谢中是两种非常重要的酶,这两个酶若发生改变必将影响到氮素的代谢。相关性统计分析表明,植物叶中谷氨酰胺合成酶活性与植物叶中的硝酸还原酶活性呈显著负相关,这表明 Cu 胁迫使植物组织中氮代谢处于一种紊乱状态,从而减少了植物体内干物质的积累。

总之,Cu 及营养缺失对植物氮代谢的影响是非常复杂的,与植物组织中可利用氮和碳的改变有关,也与植物组织中酶活性的直接改变有关。

4 结论

(1)低营养胁迫可促进长萼鸡眼草对外源 Cu 的吸收,同时也刺激了植物根的生长。

(2)来源于矿区的长萼鸡眼草对贫瘠和高铜的环境表现出更强的适应性。

(3)Cu 胁迫和营养缺失环境下非矿区植物氮代谢的紊乱程度要比矿区的高。

参考文献:

[1] 胡筑兵,陈亚华,王桂萍,等.铜胁迫对玉米幼苗生长、叶绿素荧光参数和抗氧化酶活性的影响[J].植物学通报,2006,23(2):129-137.
HU Zhu-bing, CHEN Ya-hua, WANG Gui-ping, et al. Effects of copper stress on growth, chlorophyll fluorescence parameters and antioxidant enzyme activities of Zea mays Seedlings [J].Chinese Bulletin of Botany, 2006, 23(2):129-137 (Ch).

[2] Stratton M L, Barker A V, Rechcigl J E. Soil amendments and environmental quality[M]. Boca Raton:Leewis Publishers, 1995.

[3] 孙 权,何振立,杨肖娥,等.铜对小白菜的毒性效应及其生态健康指标[J].植物营养与肥料学报,2007,13(2):324-330.

SUN Quan, HE Zhen-li, YANG Xiao-e, et al. Toxic effects of copper on Chinese cabbage and its ecological health parameter[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2007, 13(2):324-330 (Ch).

[4] 康立娟,谢忠雷.铜对水稻和玉米污染效应及累积规律的对比研究[J].吉林农业大学学报,2006,28(6):656-659.
KANG Li-juan, XIE Zhong-lei. Contrastive study of pollution effect and accumulative rules of Copper on corn and rice[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2006, 28(6):656-659 (Ch).

[5] Stiborova M, Ditrichova M, Brezinova A. Effects of heavy metal ions on growth and biochemical characteristics of photosynthesis of barley and maize seedling[J]. Biology Plant, 1987, 29:453-467.

[6] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志[M].北京科学出版社出版,1985.160-161.
Editing Committee of Flora of China of Chinese Academy of Sciences. Flora of China[M].Science press, 1985.160-161 (Ch).

[7] 华觉明,卢本珊.长江中下游铜矿带的早期开发和中国青铜文明[J].自然科学史研究,1996,15(1):1-16.
HUA Jue-ming, LU Ben-shan. Early mining of Copper material deposits in the middle and lower reaches of Yangtse River and Chinas bronze civilization[J]. Studies in the History of Natural Sciences, 1996, 15(1):1-16 (Ch).

[8] 熊治廷.植物抗污染进化及其遗传生态学代价[J].生态学杂志,1997,16(1):53-57.
XIONG Zhi-ting. Pollution-resistant evolution in plants and its genecological costs[J]. Chinese Journal of Ecology, 1997, 16(1):53-57 (Ch).

[9] Campbell W H. Nitrate reductase structure, function and regulation: bridging the gap between biochemistry and physiology[J]. Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology, 1999, 50:277-303.

[10] 罗亚平,刘 杰,蔡湘文,等.铜对水稻种子萌发和生长的影响[J].广西农业科学,2005,36(4):316-340.
LUO Ya-ping, LIU Jie, CAI Xiang-wen, et al. Effect of copper (Cu) on seed germination and growth of rice[J]. Guangxi Agricultural Science, 2005, 36(4):316-340 (Ch).

[11] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:北京高等教育出版社,2000.
LI He-sheng. Experimental Principle and Technology of Plant Biochemistry[M]. Higher Education Press, 2000, 1st edition (Ch).

[12] Chien H F, Kao C H. Accumulation of ammonium in rice leaves in response to excess cadmium[J]. Plant Science, 2000, 156:111-115.

[13] Zhang G, Fukami M, Sekimoto H. Influence of Cadmium on mineral concentrations and yield components in wheat genotypes differing in Cd tolerance at seedling stage[J]. Field Crops Research, 2002, 77:93-98.

[14] Fernando C L, Fernando S H. Copper toxicity in rice :Diagnostic criteria and effect on tissue Mn and Fe [J]. Soil Science, 1992, 154(2):130-135.

[15] Penelope A R, Hileni C H. Identification of differential responses of cabbage cultivars to copper toxicity in solution culture[J]. Amer Soc Hortic Sci, 1987, 12(6):928-931.

[16] 王 威,刘宗愉,蒋悟生,等. Cu²⁺对大蒜生长的影响及大蒜根、叶及蒜瓣对 Cu²⁺的积累[J].西北植物学报,2001,21(2):306-312.

WANG Wei, LIU Zong-yu, JIANG Wu-sheng, et al. Effects of copper on *Allium sativum* and accumulation of Cu^{2+} by its roots, bulbs and shoots[J]. *Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica*, 2001, 21 (2): 306–312 (Ch).

- [17] 刘 杰, 熊治廷, 李天煜. 两个不同来源的齿果酸膜种群对铜吸收与抗性差异[J]. 农业环境科学学报, 2003, 22 (3): 271–273.

LIU Jie, XIONG Zhi-ting, LI Tian-yu. Uptake of and resistance to Copper of two *Runmax acetosa* L. *Populations* from different spots[J]. *Journal of Agro-environmental Science*, 2003, 22 (3): 271–273 (Ch).

- [18] Xiong Zhiting, Li Yihong, Xu Bin. Nutrition influence on copper accumulation by *brassica pekinensis* Rupr. [J]. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2002, 53: 200–205.

- [19] Fox T C, Gueriot M L. Molecular biology of cation transport in plants[J]. *Annu Rev Plant Physiol plant Mol Biol*, 1998, 49: 669–696.

- [20] Logan K A B, Thomas R J, Raven J A. Effect of ammonium and phosphorus supply on H^+ production in gel by two tropical forage grasses[J]. *Journal of plant Nutrition*, 2000, 23: 41–54.

- [21] Cohen C K, Fox T C, Garvin D F, et al. The role of iron-deficiency stress responses in stimulating heavy-metal transport in plants[J]. *Plant physiology*, 1998, 116: 1063–1072.

- [22] Marschner H, Kirkby E A, Cakmak I. Effect of mineral nutritional status on shoot-root partitioning of photoassimilates and cycling of mineral nutrients[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1996, 47: 1255–1263.

- [23] Ke Wenshan, Xiong Zhiting, Chen Shijian, et al. Effects of copper and mineral nutrition on growth, copper accumulation and mineral element uptake in two *Rumex japonicus* populations from a copper mine and an uncontaminated field sites[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2007, 59: 59–67.

- [24] 许振柱, 周广胜. 植物氮代谢及其环境调节研究进展[J]. 应用生态学报, 2004, 15 (3): 51–51.

XU Zhen-zhu, ZHOU Guang-sheng. Research advance in nitrogen

meta-bolism of plant and its environmental regulation[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15 (3): 51–51 (Ch).

- [25] XIONG Zhiting, LIU Chao, GENG Bing. Phytotoxic effects of copper on nitrogen metabolism and plant growth in *brassica pekinensis* Rupr. [J]. *Ecotoxicology and Environmental safety*, 2006, 64: 273–280.

- [26] 刘 丽, 甘志军, 王宪泽. 植物氮代谢硝酸还原酶水平调控机制的研究进展[J]. 西北植物学报, 2004, 24 (7): 1355–1361.

LIU Li, GAN Zhi-jun, WANG Xian-ze. Advances of studies on the regulation of nitrate metabolism of plants at nitrate reductase level[J]. *Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica*, 2004, 24 (7): 1355–1361 (Ch).

- [27] 李常健, 林清华, 张楚富, 等. NaCl 对水稻谷氨酰胺合成酶活性及同工酶的影响[J]. 武汉大学学报 (自然科学版), 1999, 45 (4): 497–500.

LI Chang-jian, LIN Qing-hua, ZHANG Chu-fu, et al. Effect of NaCl stress on activity and isozymes of glutamine synthetase in rice plants[J]. *Wuhan University Journal (Natural Science Edition)*, 1999, 45 (4): 497–500 (Ch).

- [28] Mäck G. Organ specific changes in the activity and subunit composition of glutamine synthetase isoforms of barley (*Hordeum vulgare* L.) after growth on different level of NH_4 [J]. *Planta*, 1995, 196: 231–238.

- [29] Tercé-Laforgue T, Hirel B. Is glutamine synthetase ammonium-regulated[C]//Martins-Loução M A, Lips S H. (Eds.). Nitrogen in a sustainable ecosystem. Leiden, Backhuys Publishers, 335–338.

- [30] Hirel B, Lea P J. The biochemistry, molecular biology, and genetic manipulation of primary ammonium assimilation[C]//Foyer C H, Noctor G. (Eds.). Photosynthetic nitrogen assimilation and associated carbon and respiratory metabolism. London, Kluwer, 2002. 71–92.

- [31] Cruz C, Bio A F, Domínguez-Valdivia M D, et al. How does glutamine synthetase activity determine plant tolerance to ammonium[J]. *Planta*, 2005, 10: 1–13.