

水溶性有机碳对玉米根部 Cu 吸收过程的影响

林 卉, 曹 军, 陶 澍

(北京大学环境学院,地表过程分析与模拟教育部重点实验室,北京 100871)

摘 要:采用水培试验方法,将玉米根部环境设定一系列不同的 Cu 和水溶性有机物(Dissolved organic matter, DOM)浓度条件,研究 Cu 在玉米根部的吸附和在玉米植株中的积累变化,同时以水和 MgCl₂ 二级提取方法探讨 Cu 在玉米根部的结合状态。结果表明,附着在玉米根表与根际分泌物结合的 Cu 很容易受水相 DOM 存在的影响。与根部吸附位结合的 Cu 则不易被水相 DOM 竞争。植物根对 Cu 的富集浓度超过茎叶,两部分富集量均随暴露溶液 Cu 浓度的增加而增加,但茎叶中 Cu 的富集量与暴露 Cu 浓度呈非线性相关。根内富集 Cu 与根表吸附位结合 Cu 呈现良好的对数线性相关。在相同 Cu 暴露浓度条件下,DOM 对植物组织中富集 Cu 量影响更加不显著。试验发现作为一种有机配位体,DOM 暴露浓度较高时对 Cu 由根表吸附位进入玉米内部这一过程有负作用。

关键词:DOM; Cu; 玉米; 吸收; 吸附

中图分类号:X171.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1672 – 2043(2004)06 – 1061 – 04

Influence of Dissolved Organic Matter (DOM) on the Process of Adsorbing and Assimilating Copper by Roots of Maize

LIN Hui, CAO Jun, TAO Shu

(College of Environmental Sciences, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract: Maize’ s roots were exposed to different concentrations of copper and DOM in nutrient solutions to simulate diverse soil solutions. The adsorptive form of Cu at the root epidermis and the assimilated form of Cu in the root were observed. Meanwhile, a two – step extraction method, which successively extracted the roots with two solutions: water and MgCl₂ solution, was employed to study the variation of the speciation distribution of copper at the root epidermis. The results indicated that: the copper combined with the root exudates, which was most common at the root epidermis, was obviously influenced by the concentration of DOM in culture – solution. DOM, however, did not significantly affect the process of surface complexation, which Cu combined at active sites on the roots’ epidermis. The accumulation of Cu was higher in root than in shoot, and the concentration of Cu in both two parts increased with the increase of the exposure level of Cu, but the latter (Cu in shoot) appeared no linear relationship with the exposure concentration of Cu . The variation of Cu content in root seemed to not be controlled by the variation of DOM in low exposure concentration. DOM, as an organic ligand, influenced the partition of Cu between the root epidermis and root, and restrained the internalization process of Cu at high exposure level of DOM.

Keywords: DOM; Cu; maize; assimilation; adsorption

环境中重金属的形态是决定其生物有效性和毒性的关键,而形态的分布和变化很大程度上取决于环境介质的性状^[1]。影响环境中重金属形态和有效性的诸多因素中,水溶性有机物(DOM)虽然浓度不高,但

活性强,能通过络合作用与重金属牢固结合,从而起到至关重要的作用^[2-4]。很多研究者探讨了土壤中 DOM 对金属有效性的影响。譬如,Zdzislawa^[5]等研究发现土壤中有有机质能抑制 Cd 对黑小麦和油菜产生的毒性作用。

Di Toro 和他的同事提出了描述水相金属毒性的生物配位模型(BLM)^[6]。该模型在游离离子模型的基础上,引入了生物膜表面的竞争吸附,在水生生物对金属吸收研究方面取得较大进展。虽然该模型目前主

收稿日期:2004 – 03 – 11

基金项目:国家自然科学基金(40101025, 40021101)

作者简介:林 卉(1983—),女,在读硕士。

E-mail: linhui – 83. student@ sina. com

联 系 人:曹 军,E – mail: caoj@ urban. pku. edu. cn

要用于水生生物,但其概念框架在土壤-植物系统中同样适用。事实上,BLM 模型强调的是金属与生物膜表面的相互作用,正确使用该模型的关键之一是定量认识这样的相互作用过程。由于土壤-植物系统远比水生体系复杂,其典型的非均相特征、土壤溶液的复杂组分和根土界面的微生物作用等许多因素使定量模型计算十分困难。因此,在探讨 BLM 模型在植物-土壤系统中的使用性研究中,需要在不同程度的简化体系中分别探讨金属与植物根的相互作用,水培试验就是有效的研究方法之一。例如,Smiotakis 和 Ebbs 以营养液模拟土壤溶液的方式水培大麦、燕麦和野生芦苇,观察植物对氰化亚铁化合物的吸收情况^[7]。

表 1 水培实验暴露水平
Table 1 Exposure levels in culture – solutions

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
DOM /mg · L ⁻¹	0	0	0	0	10	10	10	10	100	100	100	100
Cu ²⁺ /mol · L ⁻¹	0	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	0	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻¹	0	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵

供试玉米为农大玉米杂交种 3138。发芽前用自来水浮选去除瘪粒。将种子置于用水浸润的 20 cm × 30 cm 滤纸上,使籽粒半淹于水中。用滤纸遮盖,在 20 ℃ ~ 25 ℃ 发芽。出芽后去除遮盖滤纸,减少水分仅保持湿润。育苗期间每天换水 1 次。待玉米长至约 15 ~ 20 cm 时,选择比较均匀的幼苗冲洗后置于已预加蒸馏水、培养液、Cu 溶液和 DOM 溶液的 50 mL 塑料烧瓶中,于温室中培养。温室昼夜连续通气,温度保持在 20 ℃ ~ 30 ℃,每天光照 14 h(25 ℃),黑暗 10 h(20 ℃)。水培期间每 2 d 更换一次培养液。培养液成分如表 2 所列。所用溶液用高纯水配置,DOM 选用腐殖酸商用试剂。所有玻璃器皿使用前用 10% 稀硝酸浸泡 24 h。

表 2 营养液配置(每 40 L)
Table 2 Composition of the nutrient solution (every 40 L)

K ₂ SO ₄	MgSO ₄	KCl	Ca(NO ₃) ₂	KH ₂ PO ₄
5. 227 5 g	6. 408 2 g	0. 298 2 g	18. 892 0 g	1. 360 9 g

1.2 根表金属的连续提取与样品测定

20 d 培养试验后将玉米根与叶分离。茎叶用水彻底清洗,根部轻微涮洗。根样分别用高纯水和 0.1 mol · L⁻¹MgCl₂ 顺次提取(15 min)。提取液用微波(CEM MDS-2000)消解去除有机物。消解过程为:在盛放浸提液的聚四氟乙烯管中加入 1.5 mL HNO₃ 和 1.0 mL HCl,在 PSI-0 条件下用 100% 功率(1 260 W)消解 1 min。消解液离心(30 r · min⁻¹, 12 min)、抽滤(0.45 μm)后定容至 50 mL 后待测。玉米的地上部分

Cu 既是营养元素,又是污染元素,能与 DOM 形成稳固的配位络合物,因此土壤中 DOM 对 Cu 的生物有效性具有至关重要的影响^[8, 9]。本研究用玉米水培试验,结合两步连续提取法研究天然 DOM 存在条件下对 Cu 在玉米根表面的结合状态以及对玉米吸收量的影响。

1 材料与方法

1.1 水培试验

水培试验包括 3 种 DOM 浓度水平和 4 种 Cu 含量水平,共 12 个组合,见表 1。每个水平设置 2 个平行。培养周期为 20 d。

和经两级提取后的根内部 Cu 含量用同样方法测定。将根叶样品密封放入冷冻干燥器中干燥 48 h,取出称重后消解。消解过程为:称取约 0.200 0 g 样品于聚四氟乙烯管中,加 10 mL HNO₃,在 55% 功率(针对 6 个样品同时消解时,每增加或减少 1 个样品,功率增加或减少 5%)、在 PSI-40 条件下加压 5 min 持续 10 min,在 PSI-85 条件下加压 5 min 持续 10 min,在 PSI-150 条件下加压 5 min 持续 25 min。消解液蒸发浓缩后定容至 50 mL 待测。消解液 Cu 含量均采用原子吸收分光光度计(日立 180-80)测定。

2 结果与讨论

2.1 Cu 和 DOM 对玉米生长的影响

在一定浓度条件下,金属的胁迫作用或者 DOM 对各类营养元素的影响可能导致暴露于金属和 DOM 的植物生长受显著影响^[10, 11]。为探讨生物生长状况的差异对 Cu 吸收研究的干扰,比较了不同暴露水平下植物生长情况。图 1 即为本研究中在不同 Cu 和 DOM 设定浓度条件下玉米生物量的变化。

由图 1 可见,在本研究的 DOM(0 ~ 100 mg · L⁻¹)和铜(0 ~ 10⁻⁵ mol · L⁻¹)浓度范围内和特定的生长条件与生长周期中,玉米生物量没有显著差别。可以认为,在研究根表对 Cu 的吸附以及植物对 Cu 的吸收过程中可以忽略投加物对植物生理过程的影响。

2.2 Cu 与 DOM 对 Cu 在玉米根表吸附行为的影响

图 2 为不同 Cu 和 DOM 暴露浓度条件下用两步

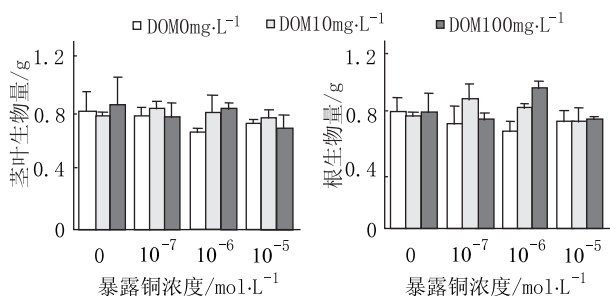


图 1 不同 DOM 和 Cu 暴露水平下玉米生物量差异

Figure 1 The maize biomass at different DOM and Cu exposure levels

连续提取法得到的玉米根表吸附态 Cu 含量的变化趋势 (左图为水提取态 Cu, 右图为盐提取态 Cu)。根据两步连续提取操作方法, 水提取态 Cu 主要为与附着在根表的根分泌粘液 (根酸) 中的 Cu, 而 $MgCl_2$ 提取态 Cu 是和根表活性点位键合的 Cu。前者结合较弱, 后者结合相对紧密。

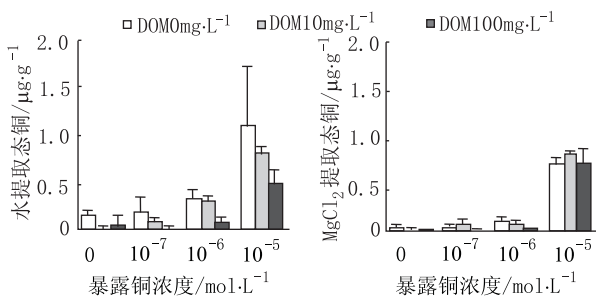


图 2 不同 DOM 和 Cu 暴露水平下单位根重 (g) 根表 2 种提取态 Cu 含量

Figure 2 Contents of two extraction forms of Cu from root epidermis at different DOM and Cu exposure levels

从图中可以看出, 水提取 Cu 浓度高于 $MgCl_2$ 提取相, 可见 Cu 在根表多数富集在根分泌黏液中。Jurkiewicz A 等在研究重金属 Zn、Cd 和 Cu 在兰花根部的分布时, 发现大部分重金属聚集在根表菌根真菌中, 其平均含量是根表皮吸附重金属量的 4 至 5 倍, 这与本研究结果相近^[12]。随着 Cu 暴露浓度的增加, 两级提取 Cu 浓度相应增加。由于图中横标为对数尺度, 纵标则是算术尺度, 提取量有呈指数增高的趋势, 反映了大致的简单线性关系。另一方面, 随着 DOM 浓度的增加, 水提相铜浓度有显著下降趋势, 而对于 $MgCl_2$ 提取态 Cu (特别是高浓度 Cu 暴露条件下) 的影响并不显著。在未加入 DOM 的情况下, 水提取态 Cu 量高于较强结合的 $MgCl_2$ 提取态 (比值在 1~5 之间), 但加入 DOM 后, 由于络合竞争作用, 水提取态的吸附量下降幅度强于 $MgCl_2$ 提取态, 因此导致二者的比值随 DOM 加入量的增加有下降的趋势。当 Cu 的

暴露浓度增加时, 该变化趋势更为明显。水提取态 Cu 主要为 Cu 与根分泌物络合的部分, 其结合牢固程度显然低于与根表与 Cu 之间的络合, 而天然 DOM 的存在没有形成与根表对 Cu 的显著络合竞争。其原因可能为: ① DOM 与 Cu 的络合稳定常数显著低于根表吸附位与 Cu 的作用稳定常数; ② 根表覆盖的粘液阻止了两者的竞争, 导致整体体系的非平衡状态。这方面的具体机理有待进一步深入研究。

2.3 Cu 与 DOM 对 Cu 在玉米组织中积累的影响

本试验各种 Cu 和 DOM 暴露水平下玉米根和地上部分吸收的 Cu 浓度如图 3 所示。

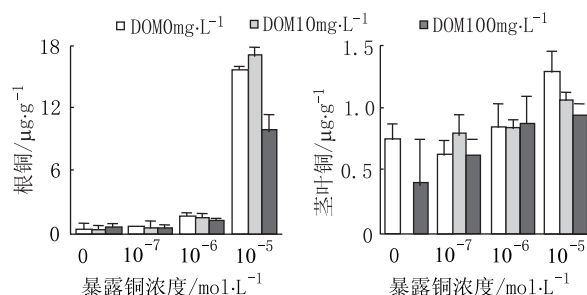


图 3 不同 DOM 和 Cu 暴露水平下单位根重 (g) 玉米根与茎叶中 Cu 浓度变化

Figure 3 Contents of the assimilation - Cu in the roots and shoots at different DOM and Cu exposure levels

玉米根中 Cu 的吸收量随溶液 Cu 和 DOM 暴露浓度的变化趋势与根表 $MgCl_2$ 提取量变化趋势相似, 即水相 Cu 浓度增加, 根组织吸收量随之增加, 且根组织中 Cu 含量随水培营养液中 Cu 浓度增加的趋势也呈现指数形式。另一方面, 低暴露水平条件下 DOM 含量改变对根吸收量的影响不如 Cu 含量影响明显; 但在 Cu 浓度最高暴露水平下看到, 高浓度 DOM 对根部 Cu 的富集呈显著抑止作用。与根组织富集相仿, 玉米茎叶中 Cu 含量同样与溶液暴露量正相关, 但累积增量与暴露量不成正比 (图中横标为对数单位, 纵标为算术单位)。DOM 同样影响高浓度 Cu 暴露条件下的茎叶吸收。茎叶中 Cu 主要来自根部吸收和传输, 其与根含量的正相关在预料之中。但其间的非线性关系以及茎叶含量显著低于根组织含量说明根向茎叶的传输速率慢于根吸收速率, 且呈非典型的一次动力学过程。有关研究曾发现加入小分子可溶性有机物 EDTA 可促进芥菜根叶吸收 Cu, 但大分子的柠檬酸或苹果酸则对芥菜吸收 Cu 无明显促进作用^[13]。Wu et al. 研究发现加入 EDTA 可促进植株体内 Pb 由根部向地上部分的运输^[14]。本试验中使用的 DOM 为天然大分子腐植酸, 结果表明其对玉米茎叶吸收 Cu 无显著性影

响,只在 Cu 暴露浓度较高时存在 DOM 抑制茎叶吸收 Cu 的作用,可能是本次试验暴露 Cu 量过低不足以体现茎叶由根部吸收 Cu 的动态变化,其具体机制有待进一步分析。

2.4 玉米根表 Cu 吸附量与根组织吸收量的关系

以上结果均为 4 个 Cu 浓度水平的暴露结果。其中空白条件下测得的吸附量和富集量主要来自试剂空白和种籽背景。为直接判断投加 Cu 的定量影响,在 3 个投加暴露水平中减去零空白,用得到的根组织富集量与根表吸附态 Cu(MgCl₂ 提取态)含量作图,见图 4。考虑到浓度分布的对数正态特征,横纵坐标均取对数。

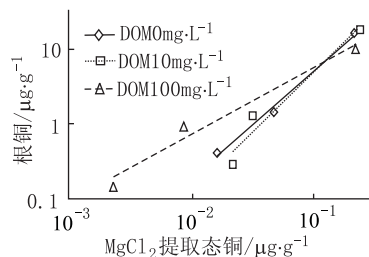


图 4 根部吸收 Cu 与根表吸附 Cu 对数关系

Figure 4 Log-log relationships between MgCl₂-adsorption Cu and root-assimilation-Cu

从图 4 可以看出,不同 DOM 投加量条件下,根组织富集量对数与根表吸附态 Cu 含量对数呈简单直线关系。基于 BLM 的理论模型,金属进入生物体分为 3 个过程:外层扩散、与生物表面活性点位的结合、穿过细胞膜进入生物体内^[15]。因此,植物吸收量应当与结合在生物膜表面的 Cu 数量成正比。然而,高 DOM 浓度条件下直线斜率明显低于 2 个低 DOM 浓度条件下的斜率,主要表现在根吸收 Cu 含量与 MgCl₂ 提取态 Cu 含量之比在 100 mg·L⁻¹ DOM 情况下显著低于 DOM 含量较低的情况,显然,DOM 对 Cu 吸收的影响主要表现在较高 DOM 含量的情况下。然而 DOM 较低含量(10 mg·L⁻¹)时比值较无 DOM 暴露时略有上升,DOM 对该比值的影响有待进一步深入研究。仅根据本研究结果看,DOM 含量增加至高浓度条件下减少了根表的吸附,而且在某种程度上抑止了根部吸收(同吸附量情况下)。这或许意味着本试验采用的 MgCl₂ 提取态 Cu 不能完全反映与根部吸收成正比的根表吸附位 Cu 吸附态。

3 结论

根表水提态 Cu、根表吸附位结合态 Cu 和根吸收 Cu 含量均随 Cu 暴露量的增加而增加。DOM 对 Cu 吸

附和吸收的影响主要表现在高 DOM 浓度条件下。DOM 含量恒定条件下,根吸收量与根表吸附位态 Cu 含量呈简单的对数线性关系,其比值受 DOM 浓度影响。

参考文献:

- [1] Paquin P R, Zoltay V, Winfield R P, et al. Extension of the biotic ligand model of acute toxicity to a physiologically based model of the survival time of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to silver[J]. *Comp Biochem Physiol*, 2002, 133: 305 - 343.
- [2] Businelli M, Altieri R, Giusquiani P L, Gigliotti G. Complexation capacity of dissolved organic matter from pig slurry: a gel filtration and dialysis study[J]. *Water Air & Soil Pollution*, 1999, 113: 385 - 394.
- [3] Hollis L, Muench L, Playle R. Influence of dissolved organic matter on copper binding, and calcium on cadmium binding, by gills of rainbow trout[J]. *Journal of Fish Biology*, 1997, 50(4): 703 - 720.
- [4] Breault R F, Colman J A, Aiken G R, et al. Copper speciation and binding by organic matter in copper-contaminated streamwater[J]. *Environ Sci Technol*, 1996, 30(12): 3477 - 3486.
- [5] Zdzislawa C, Miroslawa W, Wladyslawa K, Jadwigaa Z. Effect of organic matter and liming on the reduction of cadmium uptake from soil by triticale and spring oilseed rape[J]. *The Science of the Total Environment*, 2001, 281(1-3): 37 - 45.
- [6] Di Toro, D M, Allen H E, Bergman H L, et al. The Biotic Ligand Model: A Computational Approach for Assessing the Ecological Effects of Metals in Aquatic Systems[C]. International Copper Association Ltd. Published as part of the Environmental Program in a series on Copper in the Environment and Health, 2000.
- [7] Smiotakis M, Ebbs S D. Possible evidence for transport of an iron cyanide complex by plants[J]. *Environmental Pollution*, 2004, 127: 169 - 173.
- [8] del Castillo P, Chardon W J and Salomons W. Influence of cattle-manure slurry application on the solubility of cadmium, copper, and zinc in a manured acidic, loamy-sand soil[J]. *Journal of Environmental Quality*, 1993, 22: 689 - 697.
- [9] Stevenson F J. Stability constants of Cu²⁺, Pb²⁺, and Cd²⁺ complexes with humic acids[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1976, 40: 665 - 672.
- [10] 王宏康, 阎寿枪. 污泥施肥时铜对农作物的污染[J]. *环境科学*, 1990, 11(3): 6 - 11.
- [11] Chen Y, Magen H, Riov J. Humic substances originating from rapidly decomposing organic matter: properties and effects on plant growth. In: Senesi, N., Miano, T. M. (Eds.): *Humic Substances in the Global Environment and Implication on Human Health*[M]. Elsevier Science B. V., Amsterdam, 1994. 427 - 443.
- [12] Jurkiewicz A, Turnau K, Mesjasz-Przybyłowicz J, Przybyłowicz W, Godzik B. Heavy metal localisation in mycorrhizas of *Epipactis atrorubens* (Hoffm.) Besser (Orchidaceae) from zinc mine tailings[J]. *Protoplasma*, 2001, 218(3-4): 117 - 124.
- [13] 吴龙华, 骆永明, 黄焕忠. 铜污染旱地红壤的络合诱导植物修复作用[J]. *应用生态学报*, 2001, 12(3): 435 - 438.
- [14] Wu J, Hsu F C, Cunningham S D. Chelate-Assisted Pb phytoextraction: Pb availability, uptake and translocation constraints[J]. *Environ Sci Technol*, 1999, 33: 1898 - 1904.
- [15] Peter G C, Campbell, Olivier Errecable. Review, Metal bioavailability to phytoplankton - applicability of the biotic ligand model[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2002, 133: 189 - 206.