

过量铜对苹果树生长及代谢的影响

刘春生¹, 史衍玺¹, 马 丽¹, 叶优良¹, 杨吉华¹, 张福锁²

(1. 山东农业大学资源与环境学院, 山东泰安 271018; 2. 中国农业大学植物营养系, 北京 100094)

摘要: 通过盆栽试验, 研究了铜对苹果树生长及代谢的影响。结果表明, 过量铜会抑制苹果新梢的生长, 降低叶片中活性铁的含量, 使叶绿素含量极显著下降, 叶片中的过氧化氢酶活性也大幅度降低。铜在苹果叶中的积累有一限度, 小于此限度值, 叶片中铜的含量随外源铜施加量的增加而增加; 超过该限度值, 叶片中铜的含量则几乎不再增加。向土壤中施加钙和铁, 能降低叶片中铜的含量, 有减缓过量铜对苹果树生长和代谢毒害的作用。

关键词: 苹果; 铜毒害; 钙; 铁; 过氧化氢酶

中图分类号: S143.7; S661.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-505X(2000)04-0451-07

铜既是植物生长发育必需的微量营养元素, 又是环境污染的重金属元素。它对作物正常的生理代谢及产量的提高、品质的改善都有重要意义。但由于作物正常生长需要量少, 且土壤和空气中含有一定量的铜, 所以人为过程(污水灌溉、施用污泥和农药、开矿等)增加到土壤中的铜经常给作物生长带来危害。含铜杀菌剂(蓝矾、波尔多液)是国内外果园使用历史较久的常用农药, 且使用量大、频度高。已有报道表明, 施于土壤中的铜只有极少一部分可被水淋溶, 因此果园土壤中的铜逐年积累, 高于背景值几到几十倍。Hirst 早在 1961 年就报道过 Wisbech 附近苹果园土壤铜素严重积累的问题^[1]。巴西可可种植园使用波尔多液 0、5、16 年后表层土壤的含铜量分别为 18.6、464.7 和 993.3 mg/kg^[2]。另有报道, 长期使用波尔多液, 法国部分葡萄园土壤含铜量高达 1280 mg/kg; 英国部分苹果园土壤含铜量高达 1500 mg/kg, 严重影响了果树生长, 导致土地废弃, 破坏了生态环境, 危害了人类的身体健康。王宏康等研究了施用污泥后铜对农作物的毒害及污染, 为水稻和小麦正确施用污泥提出了数量指标^[3]; 美国 Alva 等研究了铜过量对柑桔的生理毒害^[4,5], 为柑桔的铜中毒矫正提供了依据。目前含铜杀菌剂(波尔多液, 蓝矾)仍是国内外果园常用农药, 而有关铜对苹果生理毒害的研究未见报道。

苹果是中国北方的重要经济作物, 又是我国大部分地区城乡人口主要水果。人体摄入过量的铜会引起低血压, 铜的大量积累会产生叫做“肝痘”的铜代谢疾病。因而我国的环境质量标准规定, 生活饮用水含铜应不大于 1.0 mg/L, 渔业水质不大于 0.01 mg/L。因此开展苹果铜素毒害的研究, 不仅对调节果树体内营养元素的平衡、降低果树的生理毒害、提高果品的产量和品质方面有重要意义, 而且也可为维持果园生态体系中铜元素的循环平衡, 指导果园中含铜杀菌剂的使用及维持人体健康提供科学依据。

收稿日期: 1999-07-15

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目(Y98D18066)。

作者简介: 刘春生(1955—), 男, 山东费县人, 山东农业大学资环学院教授, 主要从事植物营养与肥料教学与研究工作。

1 材料与amp;方法

1.1 试验设计

盆栽试验用土为褐土,一年生红富士苹果嫁接苗为试验材料,盆钵大小为 25cm×30cm。试验设为 6 个施 Cu 水平,即:施 Cu 0、50、100、200、300、400mg/kg,分别用处理 Cu₀、Cu₁、Cu₂、Cu₃、Cu₄、Cu₅ 表示。在施 Cu 300mg/kg 和 400mg/kg(Cu₄、Cu₅)的处理,各加施 Ca 200、400mg/kg 和施 Fe 200、400mg/kg 各 2 个处理,分别用 Cu₄Ca₁、Cu₄Ca₂、Cu₄Fe₁、Cu₄Fe₂ 和 Cu₅Ca₁、Cu₅Ca₂、Cu₅Fe₁、Cu₅Fe₂ 表示。试验共 14 个处理,4 次重复。每盆栽土 17kg,所用肥料为含 N、P、K 各为 15% 的复合肥和铜、钙、铁按不同试验设计用 CuSO₄·5H₂O、CaCO₃、FeSO₄·7H₂O 试剂,充分混匀后装至离盆口约 1/3 处,并从边缘压实土壤。苹果苗于 1998 年 3 月 21 日栽植,深度以恰好露出嫁接处为度。

1.2 调查测定方法

新梢长度 分别于 1999 年 5 月 11 日和 6 月 11 日测定各主枝的新梢长度,2 次测量结果之差为新梢增长量。

叶绿素含量 用 SPAD-502 型手持叶绿素计测新叶和老叶的叶绿素相对含量。
过氧化氢酶活性 按过氧化氢酶分解量测定法,取新鲜的嫩叶,洗净磨碎后,测定过氧化氢酶活性。
新叶中活性铁及铜含量 取苹果新叶用蒸馏水洗净后吸干,按 Pierson 和 Clark 提出的方法测定^[6]。将鲜叶剪成约 0.5cm² 的碎片,用 1mol/L 的盐酸溶液浸提,样品与浸提剂的比例为 1:10,连续振荡 5h 后过滤,用原子吸收分光光度法测定浸提液中的活性铁及铜含量。

2 结果与分析

2.1 不同处理对苹果新梢生长总量的影响

根据苹果枝叶的生长特性,在 5 月,新梢有一次明显的加长生长,形成苹果的春梢^[7]。从表 1 可以看出苹果在 5 月 11 日到 6 月 11 日的新梢生长总量随土壤铜施入量的增加而减少,二者呈极显著的负相关($r = -0.981^{**}$, $n = 5$, $r_{0.01} = 0.874$)。高量铜处理的苹果新梢几乎停止生长,严重阻碍了苹果春梢的形成。可见,铜对苹果枝条生长点造成毒害,抑制新梢伸长,其抑制程度随铜施入量的增加而加剧。

表 1 不同铜施加量处理新梢生长总量的变化
Table 1 Changes of total growth of young branches under different copper treatments

处 理 Treatments	Cu ₀	Cu ₁	Cu ₂	Cu ₃	Cu ₄	Cu ₅
施 Cu 量(mg/kg)	0	50	100	200	300	400
新梢生长总量(cm)	26.33A	21.7A	20.17A	11.63B	3.37C	2.5C

注:不相同字母表示差异达 1% 显著水平。The different letter means significant at 1% level.

有研究表明,土壤供铜水平低时,植株顶部和幼叶的含铜量低而老叶的高;对植株供铜适当或较多时,植株顶部和幼叶的含铜量较高,而老叶含铜低^[8]。所以,苹果铜中毒时,症状首先在幼叶和新梢上表现出来。而在土壤中施加钙和铁后,由于钙和铁对铜的颉颃作用,

使土壤供铜水平相对降低, 从而降低了新梢中铜的含量。表明施入钙和铁有缓解铜毒害, 促进苹果新梢生长的作用(图 1)。

2.2 不同处理铜对苹果叶片叶绿素含量的影响

绿色植物的生长离不开光合作用, 叶绿素含量的多少直接影响光合能力的强弱。如果叶片中叶绿素含量减少, 叶片就会黄化失绿, 影响光合作用的正常进行, 对植物的生长产生危害。有研究表明, 小麦铜中毒时叶片尖端黄化、失绿, 变为紫红色, 严重时部分叶片枯死^[3]。在苹果树上也观察到类似的现象, 土壤施加高量级铜的叶片网状纹状失绿, 呈黄色或黄白色, 叶片从边缘褐色干枯, 严重时部分叶片枯死。可见, 高浓度的铜引起叶绿素含量下降使叶片黄化失绿, 甚至枯死。从表 2 可以看出, 新叶中叶绿素含量在 Cu₄ 水平处理下极显著下降, 老叶叶绿素含量则在 Cu₅ 水平处理下显著下降。这说明高浓度的铜会降低苹果叶中叶绿素的含量, 进而影响果树的正常生长发育。

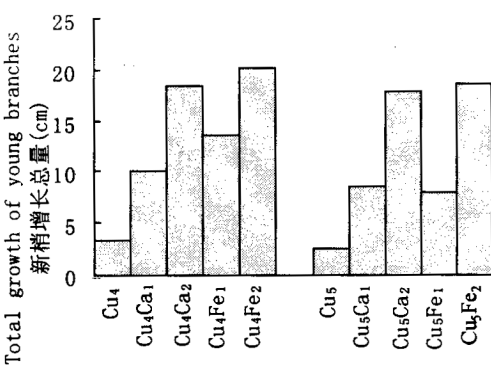


图 1 Cu 配施 Ca 和 Fe 对苹果新梢生长量的影响
Fig.1 Effects of Cu with Ca and Fe application on growth of young branches of apple

表 2 不同铜施加量叶片叶绿素相对含量的变化
Table 2 Relative chlorophyll contents in leaves of apple under different copper treatments

叶位 Leaf position	Cu ₀	Cu ₁	Cu ₂	Cu ₃	Cu ₄	Cu ₅
新叶	12.63A	14.13A	14.13A	12.30A	4.40B	4.33B
老叶	38.17a	42.30a	40.57a	36.67a	34.17a	22.37b

注:不同大小写字母分别表示 1% 和 5% 显著差异水平。
Note: The different capital and small letters means significant at 1% and 5% levels, respectively.

从表 2 还可以看出, Cu 施加量在 0 到 200mg/kg 范围内并未对叶绿素含量造成显著性影响, 这是因为 Cu 与叶绿体色素可形成配合物, 对叶绿素和其它色素有稳定作用, 特别是在不良环境中防止色素被破坏。因此, 适量的 Cu 有利于叶绿素的形成与稳定, 超过了这个限度, 对叶绿素造成危害, 使其含量呈极显著地下降。

土壤中的 Ca 和 Fe 能减缓 Cu 对叶绿素的毒害。在高 Cu 水平下, 配施 Ca 和 Fe 均能增加苹果叶(包括老叶和新叶)叶绿素的含量。说明较低浓度的 Cu 不会危害苹果叶中的叶绿素, 而高浓度的 Cu(≥300mg/kg)会对苹果叶的叶绿素产生毒害。在富钙缺铁的褐土上, Fe 的解毒效果优于 Ca(图 2、3)。

2.3 不同处理对苹果叶片中过氧化氢酶活性的影响

过氧化氢酶和其他酶一样, 都是具有催化功能的蛋白质。低量 Cu 会促进酶分子与底物结合, 使酶活性增加; 而高量 Cu 处理时, Cu 会使蛋白质变性, 酶活性降低, 最终失活。在

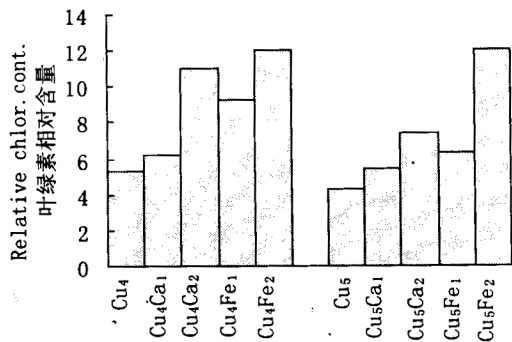


图 2 在高铜处理中施加 Ca 和 Fe 对苹果新叶中叶绿素相对含量的影响

Fig.2 Effect of Cu with Ca and Fe application on relative contents of chlorophyll in young leaves of apple

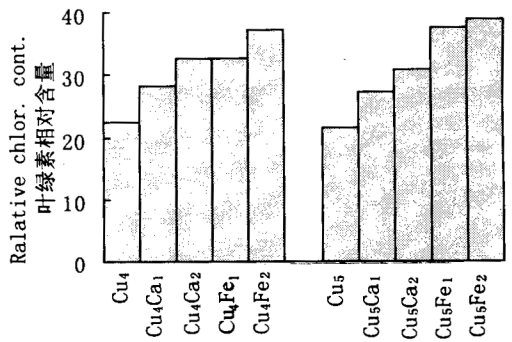


图 3 在高铜处理中施加 Ca 和 Fe 对苹果老叶中叶绿素相对含量的影响

Fig.3 Effect of Cu with Ca and Fe application on relative contents of chlorophyll in old leaves of apple

外源Cu施入量 $\leq 100\text{mg/kg}$ 时,过氧化氢酶的活性随Cu施加量的增加有升高的趋势,但不显著;Cu施入量超过 100mg/kg 时,过氧化氢酶的活性便极显著下降(图4)。

高量Cu水平下,配施Ca和Fe能减轻铜对过氧化氢酶的毒害,其活性随Ca和Fe施加量的增加而增加(图5)。图5还看出,无论是Cu₄还是Cu₅水平,Ca₁处理对提高过氧化氢酶的活性好于Fe₁处理;反之,在Ca₂、Fe₂处理水平时,则Fe₂优于Ca₂。这可能是由于褐土缺铁较严重,而果树对铁的吸收又受多种因素影响,所以只有施入的铁达到一定量时,才会使过氧化氢酶的活性显著增加。据报道,过氧化氢酶的活性与植物的铁营养状况有良好的 consistency^[9,10]。

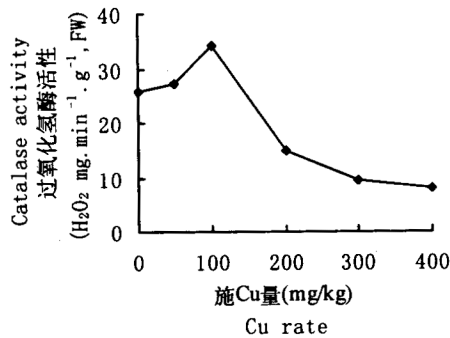


图 4 不同 Cu 用量对苹果叶片过氧化氢酶活性的影响

Fig.4 Effect of catalase activity in apple leaves with different Cu treatments

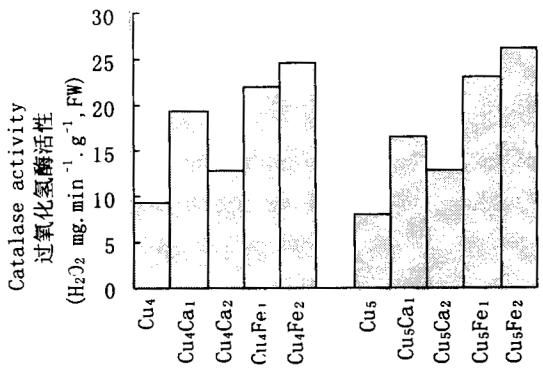


图 5 高量 Cu 配施 Ca、Fe 对苹果叶片过氧化氢酶活性的影响

Fig.5 Effect of Cu with Ca and Fe application on catalase activity in apple leaves

2.4 不同处理对苹果叶吸收积累铜的影响

苹果叶片中Cu的含量随着土壤中Cu施入量的增加而增加,但Cu用量超过 100mg/kg ,叶片中Cu的含量就不再增加。表明苹果叶片对Cu的积累有一极限,超过极限后,尽管

施入的外源铜成倍增加,叶片吸收积累铜的量也几乎不再增加(图 6)。王宏康、阎寿沧在研究盆栽水稻地上部各器官中 Cu 的含量和土壤 Cu 施加量的关系时,也发现了同样的规律^[3]。这可能是生物在环境中对毒物有一种土壤—植物壁垒(Soil-Plant barrier)作用^[11],有待进一步验证。另外,Cu 含量高时,蛋白质分子(如过氧化氢酶分子)与 Cu 形成不溶性的盐沉淀,Cu 不易被浸提剂浸提出来,所以超过一定限度后,叶片中铜的含量不再增加。

由于土壤中 Ca、Fe 对 Cu 的颉颃作用制约植物对 Cu 的吸收,所以在高量 Cu 水平上施加 Ca 和 Fe 能降低苹果叶片中 Cu 的含量(图 7),表明 Ca 和 Fe 有减缓 Cu 毒害的作用。

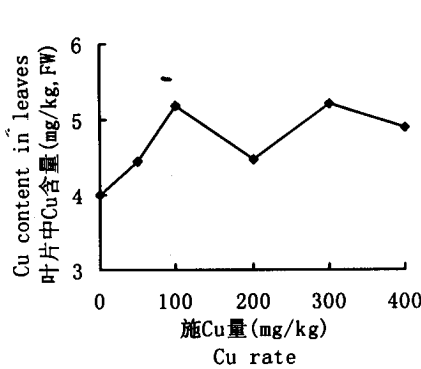


图 6 不同铜处理苹果新叶中铜含量的变化
Fig.6 Changes of Cu contents in young leaves with different Cu treatments

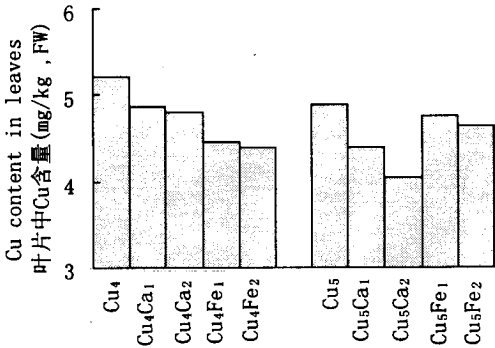


图 7 在高铜处理中施加 Ca 和 Fe 对苹果叶片中铜含量的影响
Fig.7 Effect of Cu with Ca and Fe application on contents of Cu in apple leaves

2.5 不同处理对苹果叶片中活性铁含量的影响

从图 8 可以看出,土壤施加外源 Cu 的量小于 50mg/kg 时,叶片中活性 Fe 含量增加,说明低量的 Cu 能促进苹果对铁的吸收;但当外源 Cu 施加量超过 50mg/kg 后,叶片中活性 Fe 的含量与外源 Cu 的施用量间呈现出极显著的直线负相关($r = -0.996^{**}$, $n = 4$, $r_{0.01} = 0.917$)。这显然是 Cu、Fe 颉颃作用在苹果体内的反映。因为 Fe 是叶绿素合成所必需的元素,所以叶片中活性 Fe 含量的下降会导致叶绿素含量的同步下降,二者呈极显著的正相关($r = 0.948^{**}$, $n = 4$, $r_{0.01} = 0.917$),Fe 和叶绿素的这种关系与 Sherif 等人以菠菜为供试作物所得出的结果相一致^[12]。由图 9 可知,向土壤中施加 Ca 和 Fe 铁,均能提高叶片中活性 Fe 含量,且其含量随着 Ca 和 Fe 施加量的增加而增加,叶绿素含量随之增加(图 2、3)。在褐土上,施加 Fe 对提高叶片中活性 Fe 含量的效果比施加 Ca 好。

3 结论

3.1 褐土施加过量的 Cu 会严重抑制苹果树新梢的生长;施加 Ca 和 Fe 有缓解 Cu 中毒,促进苹果新梢生长的作用。适量的 Cu 有利于叶绿素的形成;过量 Cu 使叶绿素含量极显著下降。配施 Ca 和 Fe 能缓解高量 Cu 对苹果树的毒害作用,减轻黄化现象,提高叶片中叶绿素的含量。

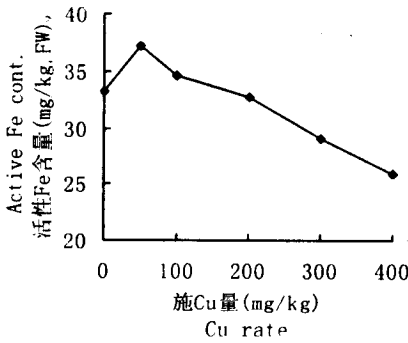


图 8 不同 Cu 处理苹果叶片活性 Fe 含量的变化
Fig.8 Changes of active Fe contents in young leaves with different Cu treatments

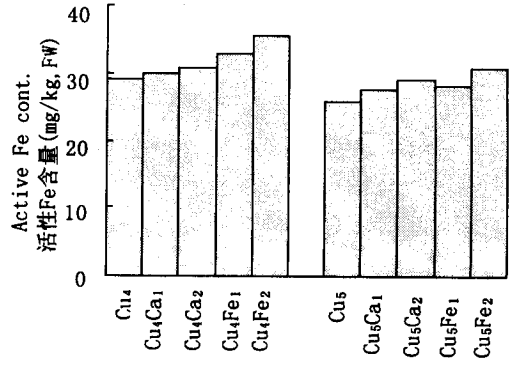


图 9 高 Cu 处理下施加 Ca 和 Fe 对叶片活性 Fe 的影响
Fig.9 Effect of Cu with Ca and Fe application on active Fe contents in young leaves of apple

3.2 低量的 Cu 不会影响苹果叶中过氧化氢酶的活性,而较高量的 Cu 会对过氧化氢酶产生毒害。施加 Ca 和 Fe 能缓解铜对过氧化氢酶的毒害作用。

3.3 苹果叶片对 Cu 的吸收积累有一限度。在外源 Cu 施加量小于 100mg/kg 时,苹果叶片中的 Cu 含量随着土壤施入 Cu 量的增加而增加;超过这个限度之后几乎不再增加。施加 Ca 和 Fe 在一定程度上能降低叶片中的 Cu 含量。低量外源 Cu 对苹果吸收 Fe 有促进作用,超过一定限度(Cu 50mg/kg)时,Cu 与 Fe 的颉颃作用抑制了苹果吸收 Fe;活性 Fe 的含量与外源 Cu 施加量之间呈极显著的负相关关系。

参考文献:

- [1] Hirst J M, Le Riche H H and Bascomb G L. Copper accumulation in the soil of apple orchard near Wisbech[J]. Plant Pathol., 1961, 10:105 - 108.
- [2] Josanidia Santana Lima. Copper balances in cocoa agrarina ecosystems: Effects of differential use of cupric fungicides. Agric. Ecosys. and Envir., 1994, 48:19 - 25.
- [3] 王宏康, 阎寿伦. 污泥施肥时铜对农作物的污染[J]. 环境科学, 1990, 11(3):6 - 11.
- [4] Alva A K, Graham J H and Tucker D P H. Role of calcium in amelioration of copper phytotoxicity for citrus[J]. Soil Sci., 1993, 155:211 - 218.
- [5] Alva A K and Chen E Q. Effects of external copper concentrations on uptake of trace elements by citrus seedlings[J]. Soil Sci., 1995, 159:59 - 63.
- [6] Pierson E E and Clark R B. Ferrous iron determination on plant tissue[J]. J. Plant. Nutr., 1984, 7(1 - 5):107 - 116.
- [7] 王中英. 果树学概论(北方本)[M]. 北京:农业出版社, 1991.
- [8] 何念祖, 孟锡福. 植物营养原理[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1987.
- [9] Chen Y and Barak P. Iron nutrition of plants in calcareous soils[J]. Adv. Agron., 1982, 35:217 - 240.
- [10] Agarwala S C and Sharrma C P. Relation of iron supply to the tissue concentration of iron, chlorophyll and catalase in barley plants grown in sand culture[J]. Physiol. Plant, 1961, 14:275 - 283.
- [11] Logan T J. Utilization of municipal water and sludge on Land[M]. Univ. of California, Riverside, 1983. 235.
- [12] Sheri A F E, Osman A Z, Sadik M K and Shata S M. Determination of ferrous and ferric iron in spinach plants and their relation to iron application[J]. J. Plant Nutr., 1984, 7:767 - 776.

(下转第 480 页)

Effect of excessive copper on growth and metabolism of apple trees

LIU Chun-sheng¹, SHI Yan-xi¹, MA Li¹, YE You-liang¹, YANG Ji-hua¹, ZHANG Fu-suo²

(1. *Shandong Agricultural University, Taian 271018*; 2. *Chinese Agricultural University, Beijing 100094*)

Abstract: Excessive copper in the soil will hinder the extension of young apple branches, decrease the content of active iron and Chlorophyll significantly in the leaves, and decline the activity of catalase in young apple leaves. While the content of copper in the soil is less than a certain degree, the copper content in the leaves increases together with that in the soil, but while more than the degree the content of copper in the leaves hardly rise any longer. Adding Ca and Fe to the soil can decrease copper content in apple leaves, then excessive copper will do less damage to apple trees.

Key words: apple tree; copper toxicity; Ca; Fe; catalase