

铜在鸭跖草细胞内的分布和化学形态研究^{*}

廖 斌, 邓冬梅, 杨 兵, 束文圣, 蓝崇钰

(中山大学生命科学学院 // 生物防治国家重点实验室, 广东 广州 510275)

摘 要: 运用差速离心法和化学试剂逐步提取法分析了 Cu 在鸭跖草 *Commelina communis* 根、茎、叶的亚细胞分布及贮存形态。结果表明, 细胞壁是鸭跖草根中 Cu 结合的主要位点, 其次为含核糖核蛋白体的细胞溶质部分, 而在叶中, Cu 主要分布在含核糖核蛋白体的细胞溶质部分中, 其次分布在含细胞壁部分; 茎中, 随着外界 Cu 浓度的提高, Cu 向细胞壁部分的分配减少, 而向含核糖核蛋白体的细胞溶质部分的分配增加。根、茎、叶中细胞核、叶绿体和线粒体等细胞器结合 Cu 量较少。在各种形态铜中, 根部以去离子水提取态占优势, 茎部和叶部, 以去离子水和乙醇两种提取态占优势, 其它结合形态的 Cu 在根中比例较低, 在茎、叶中所占的比例有所增加, 显示鸭跖草体内 Cu 的分布特征和形态特征与其耐性和富集 Cu 有密切联系。

关键词: 鸭跖草 *Commelina communis*; Cu; 亚细胞分布; 贮存形态

中图分类号: Q149 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2004) 02-0072-05

随着人类的活动, 土壤重金属污染日益严重, 给人类和人体健康造成许多问题。大多数高等植物在重金属污染的环境中不能生存, 但人们仍发现有一些植物在较高浓度的重金属离子环境中可以生长, 这是由于植物的遗传变异和自然选择, 某些植物已经进化了耐重金属的能力^[1], 这类植物不仅能在高含量的重金属环境中正常生存, 而且可在体内超量积累重金属。超富集植物对金属的耐性可通过两条基本途径: 金属排斥性 (Metal exclusion) 和金属富集 (Metal accumulation)^[2], 前者指重金属被植物吸收后又被排出体外, 或者重金属在植物体内的运输受到阻碍; 后者指重金属在植物体内以不具有生物活性的解毒形态存在, 如结合到细胞壁、金属离子主动运输进入液泡、与有机酸或某些蛋白络合等。束文圣等^[3]在对湖北境内的铜矿区植被调查中发现鸭跖草 *Commelina communis* 是一种 Cu 超富集植物, 其地上部分和根部的 Cu 质量分数 (以干质量计) 分别达 1.034×10^{-3} 和 1.224×10^{-3} , 但其耐 Cu 的机理尚不清楚。因此本研究采用差速离心技术和化学试剂逐步提取法研究 Cu 在鸭跖草细胞内的分布和贮存形态, 试图从 Cu 在组织细胞中的分配特征和结合形态来揭示鸭跖草耐 Cu 的机理, 从而为研究鸭跖草耐铜的生理和分子机理提供一定的理论依据。

1 材料和方法

1.1 植物培养

采用 Hogland 全营养液培养。供试植物为鸭跖草, 取自湖北大冶铜绿山, 自来水冲洗干净, 剪取大小一致长约 4~5 cm 带叶的节, 在 1/4 全营养液中预培养 3 周后 (已长出比较旺盛的根系), 开始进行 Cu 处理, 共设 5 个处理, 以 CuSO_4 浓度计, 分别为 80、160、320、640、800 $\mu\text{mol/L}$, 设重复 3 个, 每个重复 10 棵苗。营养液连续温和通气, 每 4 d 天更换一次, pH 值用 0.1 mol/L HCl 或 0.1 mol/L NaOH 调节, 维持在 5.3 左右, 处理 25 d。收获后, 先反复用自来水把根冲洗干净, 再用 20 mmol/L Na EDTA 交换 15 min, 去除表面吸附的 Cu^{2+} , 最后用去离子水冲洗干净, 吸干表面水分, 置于 -20 °C 冰箱内保存备用。

1.2 植物亚细胞组分的分离

采用差速离心法分离不同的细胞组分^[4]。将样品用 10 mmol/L Tris HCl 缓冲液 (pH 7.4, 料液比为 1:10), 研磨匀浆, 匀浆液在 600 g 下离心 10 min, 沉淀为含细胞壁的残渣部分 (组分 F1); 上清液在 1 000 g 下离心 15 min, 沉淀为含细胞核和叶绿体部分 (组分 F2); 上清液在 10 000 g 下离心 20 min, 沉淀为线粒体部分 (组分 F3); 上清液为含核糖核

^{*} 收稿日期: 2003-03-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30170178); 高等学校博士学科点专项科研基金资助项目 (20020558044); 国家 863 资助项目 (2001AA645010-3)

作者简介: 廖斌 (1969 年生), 女, 博士生; 通讯联系人: 蓝崇钰; E-mail: ls04@zsu.edu.cn

蛋白的细胞溶质部分（组分 F4）。全部操作在 4 ℃ 下进行。

1.3 植物体内 Cu 形态分析

采用化学试剂逐步提取法^[9]。具体操作如下：准确称取 2 000 g 样品于 100 mL 的塑料离心管中，加入一定量的提取剂，采用连续浸提方法，在 25 ℃恒温振荡 22 h 后，5 000 r/min 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 ℃恒温振荡 1 h，5 000 r/min 离心 10 min，倒出上清液。合并两次上清液。采用下列 5 种提取剂依次进行浸提： $\varphi=80\%$ 乙醇（F_E），去离子水（F_W），1 mol NaCl 溶液（F_{NaCl}）， $\varphi=2\%$ HAc（F_{HAc}），0.6 mol HCl（F_{HCl}），最后为残留物（F_r）。

1.4 铜质量分数的测定

上清液直接用原子吸收分光光度计测定 Cu 质量分数，残留物用 H₂SO₄ 加 H₂O₂ 消化后测定铜质量分数，所有数据经 SPSS 软件处理。

2 结 果

2.1 Cu 在鸭跖草细胞内的分布

Cu 在鸭跖草根、茎、叶中的质量分数以及在 4 个主要亚细胞组分中的分布见表 1。不同 Cu 浓度处理中，Cu 在根亚细胞各组分中的质量分数或分布率为 F1> F4> F2> F3，均以含细胞壁组分的 F1 最高，占总量的 53%~66%，其次为 F4 组分，占总量的 27%~34%，F2 与 F3 分别只占总量的 4%~9%和 2%~6%（表 1）。Cu 在鸭跖草茎细胞中

的分布率与根相同（表 2），但与根相比，F1 呈下降趋势，只占总量的 47%~49%，F4 呈上升趋势，占总量的 43%~45%，F2 与 F3 所占的比例同样很低。Cu 在叶亚细胞中的分配情况与根不同，主要表现为 F4 组分含铜量最高，占总量的 46%~59%，且随着外界 Cu 浓度的提高而提高，其次才为 F1 组分，占总量的 33%~46%，F2、F3 呈无规律变化。上述结果表明含细胞壁的部分是 Cu 在鸭跖草根中的主要分布位点，其次为细胞质可溶性部分，在茎中随着外界 Cu 浓度的提高，Cu 向细胞壁部分的分配减少，而向含核糖核蛋白体的细胞溶质部分的分配增加，而在叶中，Cu 主要分布在含核糖核蛋白体的细胞溶质部分中，其次分布在细胞壁部分，在根、茎、叶中少量的 Cu 分布在叶绿体、线粒体、细胞核等细胞器组分中。

2.2 Cu 在鸭跖草体内的存在形态

鸭跖草根、茎、叶中 Cu 存在形态的分析结果见表 2。从表 2 可以看出 Cu 在根、茎、叶内都有其存在形态，并保持基本稳定。在各种 Cu 浓度处理下，根中以去离子水提取态（F_W）占绝对优势，占总量的 57%~80%，其余各种形态的铜含量一般低于 17%，乙醇提取态（F_E）只占 5%~9%，醋酸提取态 FHAC 略占 6%~17%，F_{HCl} 大致占 2%~14%，残渣态 F_r 不超过 6%。

在茎中，去离子水提取态（F_W）与根相比在总量中的百分率大大低于在根中的百分率，但仍占优势，为总量的 21%~38%；而乙醇提取态所占

表 1 Cu 在鸭跖草亚细胞组分中的分布
Tab 1 Cu distribution in subcellular fractions of *Commelina communis*

$c(\text{Cu})$ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 部位		$w(\text{Cu})^{1)}/10^{-6}$					分布率/%			
		F1	F2	F3	F4	总量	F1	F2	F3	F4
80	根	98.8±1.67	6.25±0.66	4.77±0.17	41.2±0.97	151±3.47	65.4	4.14	3.15	27.3
	茎	5.30±0.27	0.27±0.12	0.12±0.01	2.15±0.37	7.84±0.50	67.6	3.45	1.54	27.5
	叶	2.63±0.11	0.30±0.03	0.12±0.01	2.71±0.08	5.77±0.23	45.7	5.22	2.12	47.0
160	根	230±7.18	34.0±1.48	11.2±0.60	123±21.3	398±30.7	57.7	8.55	2.82	30.9
	茎	7.20±0.19	0.36±0.07	0.18±0.03	2.91±0.20	10.7±0.49	67.6	3.38	1.72	27.4
	叶	3.45±0.31	0.81±0.04	0.58±0.05	4.62±0.05	9.46±0.45	36.5	8.52	6.10	48.9
320	根	569±12.4	83.8±4.46	62.6±2.30	343±23.5	1058±63.4	53.8	7.92	5.92	32.4
	茎	13.1±1.10	1.87±0.08	0.78±0.04	15.5±0.63	31.3±1.85	41.9	5.97	2.49	49.6
	叶	11.0±1.52	1.40±0.06	0.76±0.04	13.4±1.58	26.6±3.20	41.5	5.27	1.86	50.4
640	根	662±18.5	102±6.72	54.0±8.98	406±12.5	1224±46.7	54.1	8.32	4.42	33.1
	茎	25.4±0.77	1.50±0.37	1.16±0.07	26.0±0.65	54.1±1.86	47.0	2.77	2.14	48.9
	叶	14.7±1.03	2.17±0.08	1.36±0.02	25.3±1.07	43.4±2.20	43.4	4.99	3.13	58.1
800	根	715±10.6	118±3.57	16.3±2.79	498±11.9	1347±28.9	53.1	8.75	1.21	37.0
	茎	47.1±1.51	3.83±1.05	1.47±0.39	55.4±3.65	108±6.60	43.7	3.55	1.37	51.4
	叶	47.1±1.51	3.83±1.05	1.47±0.39	55.4±3.65	108±6.60	43.7	3.55	1.37	51.4

1)以湿质量计

表 2 鸭跖草中铜的形态分布
Tab 2 Chemical forms of Cu in *Commelina communis*

$\frac{w(\text{Cu})}{(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})}$ 部位		$w(\text{Cu})^{1)}/10^{-6}$							分布率/%					
		F_W	F_E	F_{NaCl}	F_{HAc}	F_{HCl}	F_r	总和	F_W	F_E	F_{NaCl}	F_{HAc}	F_{HCl}	F_r
80	根	41.0±2.10	3.59±0.17	1.80±0.09	12.1±0.62	9.39±0.51	3.59±0.20	71.5±3.69	57.4	5.02	2.51	16.9	13.1	5.02
		3.08±0.49	2.51±0.24	2.56±0.18	2.83±0.49	1.74±0.11	1.83±0.05	13.5±1.61	21.2	17.3	17.6	19.5	12.0	12.6
	茎	3.64±0.08	2.01±0.42	1.71±0.09	3.23±0.62	0.60±0.11	2.35±0.29	13.5±1.61	23.9	26.9	12.6	4.39	14.9	17.4
		71.3±3.09	8.61±0.66	2.76±0.15	13.2±0.58	5.46±0.16	3.09±0.07	104±4.71	68.3	8.24	2.64	12.7	5.23	2.96
	叶	4.37±0.30	2.29±0.35	1.84±0.36	2.62±0.25	1.89±0.02	1.83±0.05	14.6±1.56	29.4	15.4	12.4	17.7	12.7	12.4
		3.54±0.40	2.03±0.42	1.47±0.08	2.36±0.04	1.95±0.17	2.72±0.14	14.1±1.25	23.1	14.5	10.5	16.8	13.9	19.3
160	根	254±8.87	17.1±0.86	12.7±0.58	29.3±0.82	9.19±0.31	1.37±0.08	324±11.5	78.5	5.28	3.92	9.06	2.84	0.42
		28.5±4.58	16.6±0.47	7.85±0.54	18.0±3.31	5.36±1.20	4.73±0.18	81.1±10.3	35.1	20.5	9.68	22.3	6.62	5.80
	茎	8.78±1.11	8.87±0.60	2.76±0.10	3.60±0.76	3.55±0.62	4.60±0.33	32.3±3.52	27.3	27.6	8.58	11.2	11.1	14.3
		450±9.84	25.8±0.94	31.9±0.92	40.0±1.23	12.3±0.46	4.46±0.16	565±13.6	79.7	4.57	5.65	7.08	2.18	0.79
	叶	65.4±7.15	22.2±4.02	25.2±3.49	44.2±3.98	11.3±0.72	3.47±0.18	172±19.5	38.0	12.9	14.7	25.7	6.58	2.02
		22.1±6.34	15.4±2.72	1.99±0.08	4.76±0.45	2.07±0.12	9.51±1.32	58.5±11.0	37.8	26.3	3.40	12.8	3.53	16.3
320	根	489±37.1	32.6±1.34	37.5±1.26	40.0±1.15	15.7±0.29	6.39±0.18	621±41.3	78.7	5.25	6.04	6.45	2.53	1.03
		133±9.74	121±8.35	33.3±9.94	33.4±1.08	24.2±1.02	5.71±0.58	351±30.7	38.0	34.5	9.50	9.52	6.90	1.63
	茎	31.0±0.41	9.43±2.04	4.07±0.62	6.70±0.88	2.47±0.20	6.89±0.86	60.5±5.01	51.2	15.6	6.72	11.1	4.08	11.4
		450±9.84	25.8±0.94	31.9±0.92	40.0±1.23	12.3±0.46	4.46±0.16	565±13.6	79.7	4.57	5.65	7.08	2.18	0.79
	叶	65.4±7.15	22.2±4.02	25.2±3.49	44.2±3.98	11.3±0.72	3.47±0.18	172±19.5	38.0	12.9	14.7	25.7	6.58	2.02
		22.1±6.34	15.4±2.72	1.99±0.08	4.76±0.45	2.07±0.12	9.51±1.32	58.5±11.0	37.8	26.3	3.40	12.8	3.53	16.3

1)以湿质量计

比例大大提高，从 5%~9% 上升到 12%~35%；其它活性较低的醋酸提取态(F_{HAc})从 6%~17% 上升到 9%~26%；盐酸提取态(F_{HCl})和氯化钠提取态(F_{NaCl})所占比例略有增加，残渣态所占比例仍较低，占总量的 1%~13%。Cu 在叶中的形态分布与茎中的特征相似，也是以去离子水与乙醇提取态所占比例最高，在各种 Cu 浓度处理下，叶中 F_W 为 23%~52%， F_E 为 15%~27%，与根相比其余各种形态所占比例也有所增加，如 F_{HAc} 为 4%~17%， F_{HCl} 为 3%~15%， F_{NaCl} 为 3%~13%，残渣态 F_r 为 11%~18%。上述结果说明在根中，Cu 主要以去离子水提取态存在，显示出根中大部分 Cu 可能只与一种配位体结合，而在茎叶中以多种形态存在，表明 Cu 与多种配位体结合。

3 讨 论

重金属元素在超富集植物中的分布总是尽量避免损伤功能相对重要的组织，细胞和细胞器，从而表现出选择性的分配。在非原生质体部位积累以及细胞内区隔化分布是其中重要的两个方面。细胞壁含有多种能与进入植物体的金属离子配位结合的多糖、蛋白质等物质，从而减少金属离子的跨质膜运输，降低原生质体中的金属离子浓度，维持细胞的正常生理代谢^[9]，因此细胞壁是重金属进入细胞内部的第一道屏障。当细胞壁结合的重金属离子达到饱和点时，进入细胞内的大部分金属离子被转运到液泡中储藏起来，使金属离子在细胞内区隔化。如对 Ni 超富集植物的研究发现在非致死 Ni 浓度下，

进入细胞的大部分 Ni 是与细胞壁物质结合，其余的主要积累在液泡中或与细胞液中的各种成分结合^[7]；对金属耐性植物 *Athyrium yokoscense* 和 Zn 超富集植物的研究表明植物体内大约 60%~90% 的 Cu 和 Zn 分布在细胞壁上^[8,9]。此外，Lolkema 等^[10]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、细胞液和液泡中，叶绿体等细胞器的 Cu 量极少。本研究结果与此类似，鸭跖草根中绝大部分 Cu（53%~66%）分布在细胞壁组分中，茎、叶中 Cu 主要分布在细胞壁和以液泡为主的细胞质可溶性部分中（表 1），表明细胞壁是鸭跖草超积累 Cu 的一个重要部位，同时液泡也发挥着极其重要作用，而对于细胞最重要的光合作用和呼吸作用的场所—叶绿体和线粒体结合的铜量很少，均不足 10%，这一方面有利于满足细胞对 Cu 的需要，另一方面又减轻了过量的 Cu 对细胞毒害作用，使细胞能正常发挥重要的生理功能，从而使植物表现出较强的耐受性，这可能是鸭跖草对 Cu 的耐受机理之一。

许多研究者对植物体内重金属离子存在的化学形态的研究表明重金属离子在细胞内不能以游离态大量存在。在超富集植物体内，85%~90% 的重金属离子是与极性化合物相结合的，金属离子和这些极性化合物结合所形成的螯合物可限制金属在体内的移动性。这些极性化合物一般是水溶性的、醇溶性的和酸溶性的低分子量的金属螯合物，它们含有大量的金属离子的配位基团，这些金属配位体在维持细胞金属离子的微量稳态方面起着重要作用^[11,12]。不同的提取剂可提取不同形态的化合物。如去离子水主要提取与水溶性物质结合的部分如水溶性有机酸盐等；φ=80%乙醇主要提取醇溶性蛋白质、氨基酸盐等为主的物质；HAc 提取难溶于水的重金属磷酸盐；HCl 提取草酸盐等，NaCl 可提取与蛋白质结合的物质以及果胶酸盐等^[9]。因此采用不同提取剂顺序性提取植物中不同成分可以判断金属离子在植物组织中存在的化学形态（结合形态）。研究表明 Cu 超富集植物 *Silene cobalticola* 叶中的 Cu 主要以去离子水、乙醇和 HCl 3 种提取态存在，显示 Cu 在植物体内与多种金属配位体结合^[10]。本研究结果同样表明，铜在根中以去离子水提取态为主，茎、叶中除水溶态、乙醇提取态所占比例较高外，醋酸态和盐酸态的比例有所增加（表 2），说明鸭跖草体内的 Cu 在根中可能主要与水溶性的有机螯合物结合，这样使 Cu 易于向地上部分迁移；

而茎、叶中的 Cu 以多种形态存在，表明 Cu 可能与金属硫蛋白、PCs、有机酸、多糖等多种金属螯合物结合，这一方面有利于 Cu 沉积在细胞壁上，另一方面有利于 Cu 在细胞内区隔化，使植物对 Cu 具有较强的耐性，这也可能是鸭跖草对 Cu 的耐受机理之一，但 Cu 在植物体内主要与何种配位体结合还有待于进一步研究。

参考文献:

[1] HUMPHREYS M O, NICHALLS M K. Relationships between tolerance to heavy metals in *Agrostis capillaries* L. [J]. New Phytologist, 1984, 98: 177—190.

[2] BAKER A J M. Metal tolerance[J]. New Phytol, 1987, 106: 93—111.

[3] SHU W S, YANG K Y, ZHANG Z Q, et al. Flora and heavy metals in dominant plants growing on ancient copper spoil heap at Tonglushan of Hubei Province, China[J]. Chin J Appl and Env Bio, 2001, 7(1): 7—12.

[4] YANG J R, BAO Z P, ZHANG S Q. Distribution and chemical binding forms of Cd, Pb in plant[J]. Chi Environ Sci, 1993, 13(4): 263—268.

[5] 皆川兴荣. カアミウ ム汚染米中の重金属の化学形态 [J]. 日本公卫志, 1978, 25(2): 97.

[6] ALLEN D L, JARRELL W M. Proton and copper absorption to maize and soybean root cell walls[J]. Plant Physiol, 1989, 89: 823—832.

[7] KRAMER U, SMITH R D, WENZEL W W, et al. The role of metal transport and tolerance in nickel hyperaccumulation by *Thlaspi goesingense* Halacsy[J]. Physiology Plant, 1997, 115: 1641—1650.

[8] NISHIZONO H, ICHIKAWA H, SUZUKI S, et al. The role of the root cell wall in the heavy metal tolerance of *Athyrium yokoscense*[J]. Plant and Soil, 1987, 101: 15—20.

[9] KUPPER H, ZHAO F J, MCGATH S P. Cellular compartmentation of zinc in leaves of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*[J]. Plant Physiol, 1999, 119: 305—311.

[10] LOLKEMA P C, VOOIJIS K. Copper tolerance in *Silene cucubalus*[J]. Planta, 1986, 167: 30—36.

[11] BAKER A J M, BROOKS R R. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements—a review of their distribution ecology and phytochemistry[J]. Biorecovery, 1989, 81—126.

[12] RAUSER W E. Structure and function of metal chelators produced by plants[J]. Cell Biochem And Biophys, 1999, 31: 19—48.

(下转第 80 页)

A Broad Spectrum Organophosphorus Hydrolase from Fungus

LIU Yang, LIU Yu huan, LI Fang, CHEN Zhi shi, LIAN Jie,
LUO Wei jia, HUANG Xiao, ZHONG Ying chang

(The State Key Laboratory for Biocontrol //School of Life Sciences, Sun Yat sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: A fungus strain F1 isolated from the polluted soil was capable of degrading various organophosphorus pesticides effectively. A broad spectrum organophosphorus hydrolase from mycelia of strain F1 was purified by ammonium sulfate precipitation, Sephadex G-100, DEAE Sepharose CL6B chromatography. The results showed that the optimal temperature and pH of the enzyme activity were 45 °C and pH 7.5 respectively. The enzyme was stable over the range of pH 6.0 ~ 9.5 and below 50 °C. The activities were strongly inhibited by Hg²⁺, Fe³⁺, p-chloromercuribenzoate, iodoacetic acid and N-ethylmaleimide, while Cu²⁺, β-mercaptoethanol, dithiothreitol, dithioerythritol, glutathione and detergents activated the enzyme slightly. The enzyme can not only split organophosphorus pesticides possessing P—O linkage such as methyl parathion, but also operate on organophosphorus pesticide containing P—S bond including demeton S. The K_m, V_{max}, and K_{cat} was 52 μmol/L, 317 μmol ° min⁻¹, 1 152 s⁻¹ when methylparathion was as substrate, and the parameters were 236 μmol/L, 179 μmol ° min⁻¹, 650 s⁻¹ respectively, when demeton S as substrate.

Key words: a broad spectrum organophosphorus hydrolase; fungus; degradation; properties

(上接第 75 页)

Subcellular Distribution and
Chemical Forms of Cu in *Commelina communis*

LIAO Bin, DENG Dong mei, YANG Bing, SHU Wen sheng, LAN Chong yu

(State Key Laboratory for Bio-Control //School of Life Sciences, Sun Yat sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: The differential centrifugation technique and sequential chemical extraction method were used to study the subcellular distribution and the chemical forms of Cu in the roots, leaves and stems of *Commelina communis*. The results showed that most of Cu was bound to the cell wall of roots under different Cu concentration in solution. For the leaves, however, Cu was mainly distributed in the soluble fraction. In the stems, increasing Cu supply reduced the percentage of Cu in the cell wall fraction, and increased the mount of Cu in the soluble fraction. Little Cu was found in the cell organelle fraction. For the chemical forms, water extractable Cu predominated in roots, whereas ethanol extractable Cu and water extractable Cu were the main forms in leaves and stems. Other forms such as acetic acid HCl and NaCl extractable Cu were low in roots but high in leaves and stems. The subcellular location of Cu and the chemical forms of Cu has tight relationship with resistance and accumulation in plant.

Key words: *Commelina communis*; Cu; subcellular distribution; chemical forms