罗洁文, 黄玫英, 殷丹阳, 等. 类芦对铅镉的吸收动力特性及亚细胞分布规律研究[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(8):1451-1457.
LUO Jie-wen, HUANG Mei-ying, YIN Dan-yang, et al. Uptake kinetic characteristics and subcellular distribution of Pb^{2+} and Cd^{2+} in *Neyraudia reynaudiana* [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(8):1451-1457.

类芦对铅镉的吸收动力特性及亚细胞分布规律研究

罗洁文, 黄玫英, 殷丹阳, 吴鹏飞, 蔡丽平, 周垂帆*

(福建农林大学林学院, 福州 350002; 海峡两岸红壤区水土保持协同创新中心, 福州 350002)

摘 要:以南方水土保持植物类芦为研究对象,采用营养液培养的方法,以 Pb、Cd 为目标污染物,设置不同的胁迫浓度和时间,胁迫后测定类芦体内重金属的含量和亚细胞分布。结果分析发现, 类芦体内重金属含量与浓度和时间有显著的关系, 可利用 Freundlich 方程和 Michaelis-Menten 方程进行拟合,R^2>0.95,相关性强。通过拟合发现,重金属主要分布在根部,类芦对 Pb 的吸收能力更强(最高含量达到 4 687.87 mg·kg^{-1}),但是对 Cd 的吸收速率增长更为明显,即类芦在吸收 Cd 方面有一定的潜力。就亚细胞分布而言,两种重金属均主要分布在细胞壁和可溶组分中,不同浓度和时间处理下,两个组分中的重金属含量共占总量的 60%以上。由此说明,类芦对 Pb 的吸收能力更强,同时,类芦通过改变重金属的亚细胞分布来降低重金属的毒害作用,维持自身的稳态。

关键词:类芦;Pb;Cd;吸收动力学;亚细胞分布
中图分类号:X503.23 **文献标志码**:A **文章编号**:1672-2043(2016)08-1451-07 doi:10.11654/jaes.2016-0202

Uptake kinetic characteristics and subcellular distribution of Pb^{2+} and Cd^{2+} in *Neyraudia reynaudiana*

LUO Jie-wen, HUANG Mei-ying, YIN Dan-yang, WU Peng-fei, CAI Li-ping, ZHOU Chui-fan*

(College of Forestry, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; Co-innovation Center for Soil and Water Conservation in Red Soil Region of the Cross-straits, Fuzhou 350002, China)

Abstract: *Neyraudia reynaudiana* is a soil-conservating plant and can grow well in heavy metal polluted soils. Here a solution culture experiment was conducted to examine uptake and subcellular distrubution of Pb and Cd in the plant under different metal levels and stress times. Results showed that the uptake of Pb and Cd by *N. reynaudiana* increased with heavy metal concentrations and stress time. Freundlich and Michaelis-Menten equations fit the data very well, R^2>0.95. It was also revealed that heavy metals were mainly distributed in the roots. *Neyraudia reynaudiana* had greater absorption ability for Pb(the highest content reached to 4 687.87 mg·kg^{-1}), but higher absorption rate for Cd. For subcellular distribution, Pb and Cd were mainly distributed in the cell walls and soluble constituents. Under different concentrations and stress times of Pb and Cd, the Pb/Cd content in cell wall and soluble constituent subcellular components accounted for over 60% of the total. Therefore, *N. reynaudiana* has stronger absorption ability of Pb, and it could change the subcellular distribution of heavy metals to reduce the toxicity of heavy metals for maintaining its steady state. This study provides theoretical support for screening phytoremediation materials.

Keywords: *Neyraudia reynaudiana*; Pb; Cd; absorption kinetics; subcellular distribution

重金属污染日趋严重,重金属污染的治理逐渐引起了人们的重视。其中,Pb、Cd 是植物体内的非必需元素, 这两种重金属毒性极强,Pb 或 Cd 胁迫至一定的浓度则可以使植物出现中毒症状, 如叶片失绿、生长迟缓、光合作用被抑制、扰乱植物对矿质营养元素的吸收等[1-2]。植物的防御主要通过外排作用避免重金属进入细胞, 或是通过细胞壁对重金属进行沉淀、区隔化,同时通过一些配位基团、有机酸、氨基酸以及植物螯合物与重金属作用, 在其进入细胞前减轻其毒害, 不同的植物对 Pb、Cd 的响应过程和耐性机制不同[3-4]。植物修复是近年来新兴的绿色修复技术,其中一些生物量大、生长速度快、对污染物吸收能力较强

收稿日期:2016-02-19
基金项目:国家科技支撑计划(2014BAD15B02);农业高校产学合作科技重大项目(2013N5002);福建省高校杰出青年科研人才培育计划(2015);福建省自然科学基金项目(2013J01073)
作者简介:罗洁文(1991—),女,硕士研究生,主要从事生态修复研究。E-mail:ellenlll@163.com
* **通信作者**:周垂帆 E-mail:zhouchuifan@163.com

但还达不到超富集植物标准的耐性植物受到了广泛的关注。

类芦(*Neyraudia reynaudiana*)是中国南方优良的水土保持防风固土的绿化植物,不仅可在重金属矿废弃地上较好生长,且保持有较高的生物量,在重金属废弃地的恶劣环境下表现出较强的适应性,其耐干旱、贫瘠、酸、重金属等,根系发达(可长达 300 cm),茎分蘖力强,生长快,生物量大(高可达 300 cm 左右,直径约 1 cm),能适应各种恶劣的环境,这些特性使类芦成为能在铅锌矿上生长的几种植物之一[5]。矿山废弃地研究[6]发现其地上部分 Pb 含量最高可达773 mg·kg^{-1},接近 Pb 超积累植物的临界含量标准(1000 mg·kg^{-1}),且其生物富集系数 0.19~1.69,从转运系数来看,类芦的转运系数为 3.1~21.2。除此之外,研究[7]发现在添加 EDTA 螯合剂的情况下,类芦地上部分对Pb 的富集量可高达 11 008 mg·kg^{-1},是对照的 16.5 倍。正是类芦具备的这些特点,使其成为适合南方 Pb、Cd 重金属污染的修复植物。近年来,国内外学者对类芦开展的研究大多集中在水土流失治理、根系固土作用以及其对干旱和养分胁迫的响应等方面[8-9]。但有关类芦对重金属耐性的机理并不清楚,这成为限制类芦在重金属污染修复应用的主要技术瓶颈。鉴于此,本文选取南方水土保持先锋植物类芦为试验材料,采用营养液培养的方法,研究不同 Pb、Cd 处理浓度、处理时间下类芦对 Pb、Cd 的吸收动力学特性,并对 Pb、Cd 在各亚细胞组分的分布进行分析。本研究旨在探明类芦对 Pb、Cd 的吸收动力学规律,揭示 Pb、Cd 在类芦细胞内的分布格局,为阐明类芦对 Pb、Cd 污染的耐性和富集机理研究提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

类芦种子于 2015 年 4 月购自云南省昆明市某种子公司。同年 8 月底种植于福建农林大学温室大棚,10 月底在水培实验前,选择生长均一的类芦幼株转移到培养箱中,移植在泡沫板上并放置于 500 mL 超纯水中培养 3~4 d,然后依次用 1/2 和完全 Hoagland 培养液在塑料盆中培养 3~4 d。培养期间昼/夜温度为 25 ℃/22 ℃,光照时间 16 h。

1.2 试验方法

1.2.1 Pb^{2+}、Cd^{2+}吸收浓度动力学

取成长到一定程度大小一致的类芦苗,依次用自来水和去离子水冲洗干净,用含 2 mmol·L^{-1} Mes-Tris 和 0.5 mmol·L^{-1} $CaCl_2$ 的预处理液(用 HCl 和 NaOH调节 pH 值为 5.8)预培养 12 h 后,放入含有不同浓度 Pb^{2+}/Cd^{2+}[以 $Pb(NO_3)_2$/$CdCl_2$ 的形式加入]的 2 mmol·L^{-1} Mes-Tris、0.5 mmol·L^{-1} $CaCl_2$(pH5.5)吸收液中培养 48 h,浓度分别为 0.5、1、5、10、25、50、100、200 μmol·L^{-1}(为避免产生磷酸铅沉淀,营养液中 KH_2PO_4 的浓度设置为 0.25 mmol·L^{-1}),每个处理设置 3 次重复,每个处理重复 4 棵类芦。类芦苗处理 48 h 后取出,依次用自来水和去离子水冲洗根部,放入含有 2 mmol·L^{-1} Mes-Tris 和 5 mmol·L^{-1} $CaCl_2$(pH5.5)的洗脱液中冰水浴 30 min。洗脱后的根用去离子水冲洗干净,吸水纸擦干,分为根部和地上部分,置于烘箱 105 ℃杀青 30 min,然后 75 ℃烘干 72 h,称重,测定 Pb^{2+}/Cd^{2+}含量。选取 Pb^{2+}/Cd^{2+}的浓度分别为 0、5、25、200 μmol·L^{-1} 处理的鲜样作亚细胞组分分析,每个处理 3 次重复。

1.2.2 Pb^{2+}、Cd^{2+}吸收时间动力学

基于预试验的结果,在 Pb^{2+}/Cd^{2+}浓度为 25 μmol·L^{-1} 时能够正常生长,选取 Pb^{2+}/Cd^{2+}浓度为 25 μmol·L^{-1} 进行时间动力学试验。将类芦预培养 12 h 后,置于 Pb^{2+}/Cd^{2+}浓度为 25 μmol·L^{-1} 的吸收液中(含有 2 mmol·L^{-1} Mes-Tris、0.5 mmol·L^{-1} $CaCl_2$,pH5.5)培养 3、6、12、24、48 h;试验设置 4 次重复,每个处理重复 6 棵类芦。吸收培养后,洗脱,洗净,擦干,烘干,称重,测定 Pb^{2+}/Cd^{2+}含量;并取鲜样作亚细胞组分分析,每个处理 3 次重复。

1.3 样品 Pb^{2+}、Cd^{2+}总含量的测定

把地上部分和地下部分烘干至恒量,将干燥的类芦根或类芦叶子粉碎后准确称取 0.2 g(精确到 0.000 1)于 50 mL 三角瓶中,加混酸(HNO_3:$HClO_4$=5:1)10 mL,在电炉上加热至冒白烟,用 1%的稀硝酸定容至 25 mL 容量瓶中,然后用原子吸收法测定 Pb^{2+}/Cd^{2+}含量。

1.4 样品亚细胞组分 Pb^{2+}、Cd^{2+}含量的测定

采用差速离心法分离不同的细胞组分,参考周小勇等[10]的方法,具体步骤为:准确称取鲜样 0.2 g,加入 20 mL 提取液[0.25 mol·L^{-1} 蔗糖+50 mmol·L^{-1} Tris-HCl 缓冲液(pH 7.5)+1 mmol·L^{-1} 二硫赤鲜糖醇],液氮研磨匀浆,匀浆液在冷冻离心机 300 r·min^{-1} 下离心1 min,沉淀为细胞壁组分(F1);上清液在 2000 r·min^{-1} 下离心 15 min,沉淀为细胞核和叶绿体组分(F2);上清液在 10 000 r·min^{-1} 下离心 20 min,沉淀为线粒体组分(F3);上清液为含核糖体的可溶组分(F4),全部操作在 4 ℃下进行。各组分采用 1.3 节中的方法进行消解,定容至 10 mL 后测定 Pb、Cd 含量。

1.5 数据处理

数据为 3 次重复样品测定结果的平均值(含标准差)。运用 Excel 2007 和 SPSS 18 进行数据统计分析,采用单因素方差分析(One-way ANOVA)和多重比较,用 SNK 法对处理间数据进行差异显著性分析,以 $P<0.05$ 表示处理间差异显著,并用 Origin 9.2 作图。

2 结果与分析

2.1 类芦对 Pb^{2+}、Cd^{2+}的吸收浓度动力学

在 Pb、Cd 处理下,随着重金属浓度的增加,类芦叶片和根对 Pb、Cd 的吸收都呈明显的增长趋势。但是类芦对 Pb、Cd 的吸收在 200 μmol·L^{-1} 下,经过 48 h 的处理后仍未达到饱和。类芦对 Pb^{2+}、Cd^{2+}吸收动力学曲线呈线性、非饱和曲线,用 Freundlich 方程对类芦叶片吸收 Pb、Cd 曲线进行拟合,修改后的方程为[11]:

$$Q=K_f X^n$$

式中:Q 为吸收量,mg·kg^{-1};X 为溶液中 Pb^{2+}、Cd^{2+}的浓度,μmol·L^{-1};K_f 为与吸收量有关的常数;n 为吸收曲线斜率。K_f 和 n 都由实验测定分析得出。

由图 1 可知,类芦叶片吸收 Pb^{2+}、Cd^{2+}可以采用 Freundlich 方程拟合,相关系数高。拟合得到的方程为:

Pb 处理:$Q=34.34X^{0.23}$

Cd 处理:$Q=2.91X^{0.44}$

拟合方程在坐标上的截距为 K_f 值,对于重金属的吸收情况而言,类芦吸收 Pb 的 K_f 值大于 Cd 的 K_f 值,说明类芦在重金属吸收中具有选择性,相同浓度胁迫下,类芦能更多地富集重金属 Pb。另外,n 为曲线的斜率,在 48 h 的胁迫时间内,类芦吸收 Cd 的 n 值大于 Pb 的 n 值,说明类芦吸收 Cd 的速率增长得更快。

类芦根系对 Pb^{2+}、Cd^{2+}的吸收曲线(其中,Pb 只对浓度 0~100 μmol·L^{-1} 进行拟合)可利用 Michaelis-Menten 方程进行拟合[12]:

$$V_C=V_{max}\times X/(K_m+X)$$

式中:V_C 是吸收速率,mol·g^{-1}·h^{-1};X 是溶液中 Pb^{2+}、Cd^{2+}的浓度,μmol·L^{-1};V_{max} 是最大吸收速率,mol·g^{-1}·h^{-1};K_m 是方程的速率常数,μmol·L^{-1},K_m 值代表了根系对离子的亲和力,该值越小,亲和力越高。根吸收力 $\alpha=V_{max}/K_m$,表示根系对离子的实际吸收能力,α 值越大,表明根系对离子的吸收能力越强。

根据方程的拟合效果(图 2)及参数(表 1),相关系数 $R^2>0.95$,说明该方程能很好地拟合吸收曲线。类芦根系对 Pb^{2+}、Cd^{2+}的亲和值 K_m 相近,而最大吸收速率 V_{max} 有较大的差异,类芦吸收 Cd 的 α 值明显高于 Pb 的 α 值,说明类芦根系对 Cd 吸收能力更强。但是此吸收规律仅对于 Pb 浓度为 0~100 μmol·L^{-1} 而言,当 Pb 浓度达到 200 μmol·L^{-1},根系大量富集 Pb,其含量达到 4 687.86 mg·kg^{-1},说明类芦对 Pb 有较高的耐受和富集能力。

2.2 类芦对 Pb^{2+}、Cd^{2+}的吸收时间动力学

吸收液中 Pb^{2+}、Cd^{2+}浓度为 25 μmol·L^{-1} 时,类芦对 Pb^{2+}、Cd^{2+}的积累量都随时间的增加而增加,并且都能用修改的 Freundlich 方程进行拟合,相关系数 $R^2>0.95$,拟合性好,见图 3。

由图 3 可知,在吸收时间动力学试验中(3~48 h),类芦对 Pb^{2+}、Cd^{2+}的吸收量基本保持平稳增长,根部随时间增长大量富集 Pb、Cd,处理 48 h 后,根部吸收的 Pb、Cd 分别是叶片的 3.2 倍和 13.72 倍。而由表 2 可知,类芦吸收 Pb 的 K_f 值大于 Cd 的 K_f 值,说明在 3~48 h 内,类芦能更多地富集重金属 Pb。但是在曲线斜率 n 上,类芦吸收 Cd 的 n 值均大于 Pb 的 n 值,说明相对而言,类芦吸收 Cd 的速率增长得更快、更明显。

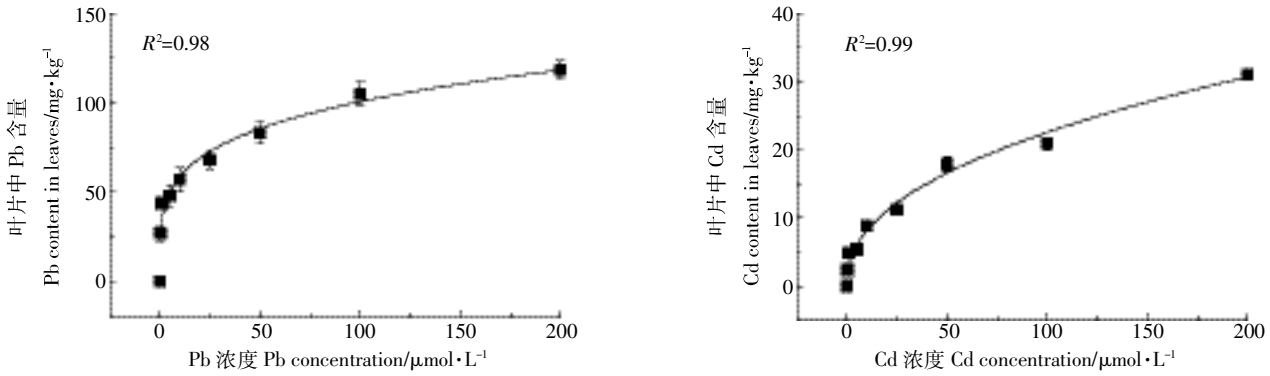

图 1 类芦叶片对 Pb^{2+}、Cd^{2+}的吸收速率与溶液浓度的关系

Figure 1 Concentration-dependent Pb^{2+}, Cd^{2+} influx kinetics in leaves of *Neyraudia reynaudiana*

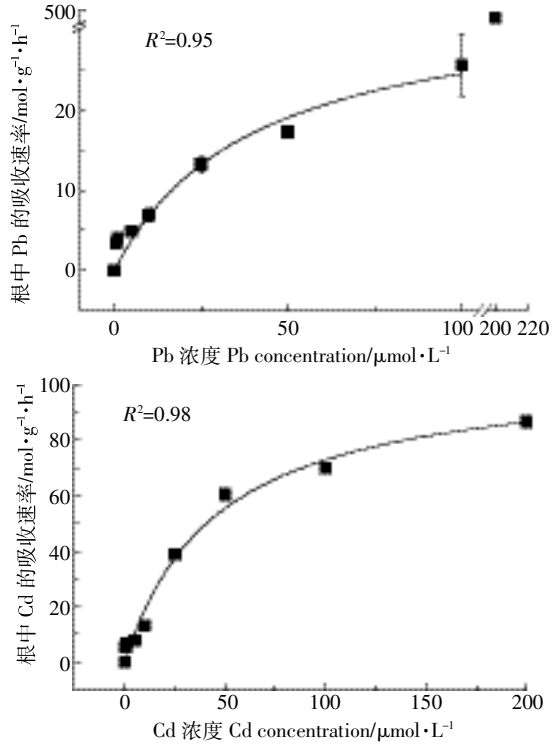

图 2 类芦根系对 Pb^{2+}、Cd^{2+}的吸收速率与溶液浓度的关系

Figure 2 Concentration-dependent Pb^{2+}, Cd^{2+} influx kinetics in roots of *Neyraudia reynaudiana*

表 1 Michaelis-Menten 方程拟合参数

Table 1 Fitting parameters for Michaelis-Menten equation

处理	最大吸收速率 V_{max}/mol·g⁻¹·h⁻¹	米氏常数 K_m/μmol·L⁻¹	根吸收力 α/L·kg⁻¹·h⁻¹
Pb	34.31	40.12	0.86
Cd	106.27	45.81	2.32

2.3 Pb^{2+}、Cd^{2+}在类芦体内的亚细胞分布

通过差速离心分离法,将类芦叶片和根细胞分别分离出四部分,并对 Pb^{2+}、Cd^{2+}在类芦体内的分布进行测定,结果显示,没有 Pb、Cd 胁迫时,植物体内只有少量的 Cd 分布于细胞壁(可能是培育的土壤受到了轻微 Cd 污染),并且没有检测出 Pb。从总量来说,根中的重金属含量基本高于叶片中的含量,Pb 在植物体内的含量高于 Cd 的含量,在不同 Pb^{2+}、Cd^{2+}浓度胁迫时(表3), Pb、Cd 在细胞壁组分(F1)和含核糖的可溶组分(F4)的分布最高,占 61.98%~100%,其次为细胞核和叶绿体组分(F2),仅有少量分布在线粒体组分(F3), 这说明细胞壁和含核糖体可溶组分是 Pb、Cd 在类芦体内的主要分布位点,只有少量分布于细胞核和叶绿体以及线粒体等细胞器中, 说明 Pb、Cd 的胁迫使细胞壁对重金属的滞留作用显著增强。同是类芦叶片,Cd 主要分布在 F1 中,在低浓度胁迫时,该组分中的 Cd 含量达到 74.76%,但随着 Cd 浓度的增加,部分金属转移到 F4 中,而 Pb 在类芦体内的比例并没有明显的变化。根系状况与叶片有所不同,高浓度 Pb 胁迫下,Pb 在细胞壁中大量富集,Pb 浓度为 200 μmol·L⁻¹ 时,在此组分的含量达到最高,为 1 096.49 mg·kg⁻¹,所占比例为 90.43%,同时减少了 Pb 在其他组分中的分配比例,说明细胞壁为促进植物进行正常生理活动发挥了作用。而 Cd 在类芦根部的分布,随着 Cd 浓度的增加,其在 F1 组分中的比例下降,在 200 μmol·L⁻¹ 时降至 44.63%, 而 F4 的比例上升, 说明部分 Cd 从 F1 组分转移到 F4 组分中。

在 Pb、Cd 不同时间处理下(表 4),类芦吸收 Pb

表 2 Freundlich 方程的拟合

Table 2 Fitting parameters for Freundlich equation

器官	处理	Freundlich 方程
叶	Pb	$Q=10.09X^{0.39}$
	Cd	$Q=1.11X^{0.56}$
根	Pb	$Q=51.30X^{0.27}$
	Cd	$Q=2.65X^{1.00}$

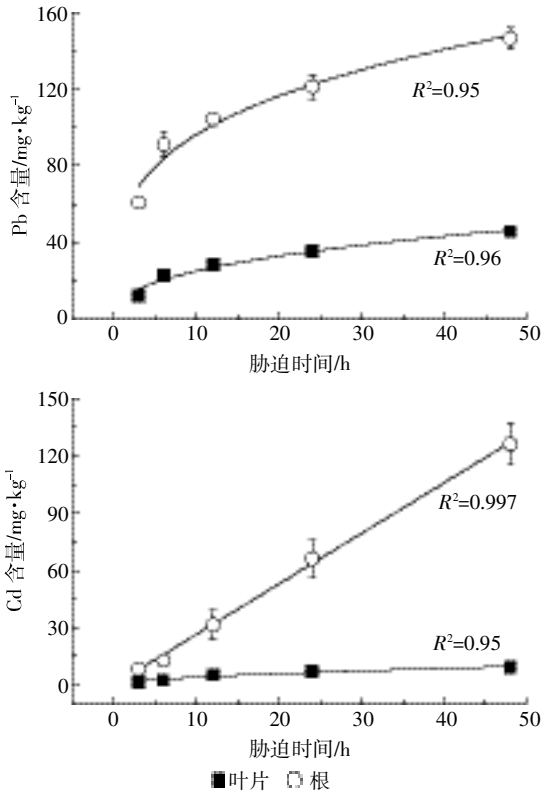

图 3 类芦对 Pb^{2+}、Cd^{2+}的吸收速率与时间的关系

Figure 3 Time-dependent Pb^{2+}, Cd^{2+} influx kinetics in roots and leaves of *Neyraudia reynaudiana*

表 3 不同浓度处理下 Pb^{2+}、Cd^{2+}在类芦体内的亚细胞分布(mg·kg^{-1})

Table 3 Subcellular distribution of Pb^{2+} and Cd^{2+} in *Neyraudia reynaudiana* under different concentrations(mg·kg^{-1})

器官	处理	浓度/μmol·L^{-1}	F1	F2	F3	F4
叶片	Pb	0	—	—	—	—
		5	14.43±0.17a(38.42)	8.17±0.72a(21.75)	6.11±0.80a(16.27)	8.85±2.24a(23.56)
		25	18.92±3.01a(35.09)	11.62±0.77b(21.55)	8.66±1.17a(16.06)	14.72±3.66b(27.30)
		200	31.58±3.70b(38.92)	14.76±0.47b(18.19)	13.74±4.52b(16.93)	21.06±3.27c(25.96)
	Cd	0	0.28±0.0a(100)	—	—	—
		5	2.34±0.30b(74.76)	0.79±0.14a(25.24)	—	—
		25	2.74±0.23b(66.02)	1.00±0.14b(24.10)	—	0.41±0.13a(0)
		200	5.21±0.27c(49.24)	1.20±0.42b(11.34)	1.21±0.35(11.44)	2.96±0.10b(27.98)
根	Pb	0	—	—	—	—
		5	15.08±0.96a(37.84)	6.85±1.65a(17.19)	7.83±0.84a(19.65)	10.09±0.88a(31.51)
		25	39.56±3.12a(47.25)	10.18±1.67b(12.16)	7.56±1.28a(9.03)	26.43±1.62b(31.46)
		200	1 096.49±178.30b(90.43)	48.46±2.4c(4.00)	21.62±2.71b(1.78)	45.93±4.28c(3.83)
	Cd	0	0.11±0.00a(100)	—	—	—
		5	1.51±0.74a(62.92)	—	—	0.89±0.14a(37.08)
		25	3.89±0.07b(44.97)	0.79±0.25a(9.13)	—	3.97±0.01b(45.90)
		200	16.22±1.74c(44.63)	3.62±1.17b(9.96)	1.41±0.03(3.88)	15.09±0.24c(41.52)

注:同列不同字母表示不同浓度处理间差异显著(P<0.05)。括号中数值表示该组分在总量上的比例(%)。下同。

Note: Different lowercase letters within a column indicate significant differences at P<0.05. Values in brackets show the proportion of the subcellular components in total(%). The same below.

的总量仍高于吸收 Cd 的量,植物体内 F1 与 F4 组分中 Pb、Cd 的含量随着时间的增长而增加,Pb、Cd 在这两个组分中所占比例最高,占总量的 59.88%~100%。在 48 h 处理时间内,Cd 在 F2、F3 组分含量极低,仪器未能检测出其含量,而 Pb 在 F2 和 F3 中的含量在类芦不同部位变化趋势不一。同在类芦叶片,从 Pb、Cd 含量所占的百分比来看,Pb 在 F1 组分中的比例下降而 F4 组分比例增加,而 Cd 则相反,随着处理时间的增加,F1 组分中从 100%降至 80.56%,F4 组分从 0%增加至 19.44%。Cd 在根系中的分布比例状况与叶片中的相似,且含量与时间有显著的关系(P<0.05),而 Pb 在根 F1 组分中的比例随时间的增长先升后降,F4 的比例呈上升趋势,F2、F3 组分所占比例呈下降趋势。上述结果表明,随着胁迫时间的增加,类芦根细胞壁能将大部分 Pb、Cd 吸附在细胞壁上,并且类芦对 Pb、Cd 的吸收具有一定的动态变化。

3 讨论

3.1 类芦对 Pb^{2+}、Cd^{2+}的吸收规律

一般而言,植物通过根际吸收重金属元素,并将其输送和富集到地上部分,在本研究中,类芦体内重金属含量与浓度和时间有显著的相关性,类芦根系吸收溶液中的重金属,并转移到叶片中。经过分析后发现,可利用 Freundlich 方程和 Michaelis-Menten 方程对吸收量和吸收速率进行拟合。从拟合方程对比来看,类芦对 Pb 有更强的敏感性,吸附量更高,但对 Cd 的吸收速率更为显著,类芦吸收 Cd 有一定的潜力。类芦根中可以积累较大量的 Pb^{2+}、Cd^{2+},并且这两种重金属浓度在根中均高于叶片中的浓度,这跟以往关于植物吸收重金属的研究一致[13],可能是重金属从根到地上部分远距离转运而导致的。当溶液中重金属浓度达到 200 μmol·L^{-1} 时,Cd 在类芦叶片中的含量为 31.10 mg·kg^{-1},根中含量达到 465.43 mg·kg^{-1},约为叶片含量的 15 倍;而 Pb 在类芦体内的分布差异更为显著,其在叶片中含量为 118.65 mg·kg^{-1} 时,在根中大量富集,达到 4 687.87 mg·kg^{-1},是叶片中含量的 39.5 倍。由此可见,水培条件下根系是类芦主要富集 Pb、Cd 的部分,而类芦对 Pb^{2+}具有较高的选择性,其中可能是有一些通道对 Pb 有特定的吸附能力,还有待进一步的研究。

3.2 类芦对 Pb^{2+}、Cd^{2+}的耐性机制

植物根系吸收离子主要是通过细胞外空间(质外体)或经由胞质(通过共质体),在本试验中,细胞壁结合部分(质外体途径)会干扰 Pb^{2+}、Cd^{2+}流进细胞质的量,原则上,细胞壁吸附的重金属不能被认为是真正的吸收,因此,利用洗脱液去除细胞壁松散的 Pb^{2+}、

表 4 不同时间处理下 Pb^{2+}、Cd^{2+}在类芦体内的亚细胞分布(mg·kg^{-1})

Table 4 Subcellular distribution of Pb^{2+} and Cd^{2+} in *Neyraudia reynaudiana* under different stress times(mg·kg^{-1})

器官	处理	时间/h	F1	F2	F3	F4
叶片	Pb	3	8.12±1.18a(26.91)	5.52±0.32a(18.30)	5.86±0.51a(19.42)	10.67±0.23a(35.37)
		6	9.94±1.00ab(31.61)	4.30±0.24b(13.67)	6.43±0.39a(20.45)	10.78±1.55ab(34.28)
		12	10.29±1.64ab(31.15)	4.00±0.75b(12.11)	7.16±0.64b(21.68)	11.58±0.81ab(35.06)
		24	12.33±1.54b(33.08)	4.95±0.60ab(13.28)	8.19±0.12c(21.97)	11.8±0.62ab(31.66)
		48	14.51±0.42c(35.79)	5.02±0.03a(12.38)	8.73±0.48c(21.53)	12.28±0.33b(30.29)
	Cd	3	1.75±0.50a(100)	—	—	—
		6	2.06±0.35a(100)	—	—	—
		12	2.28±0.49a(89.06)	—	—	0.28±0.01a(10.94)
		24	2.5±0.52ab(83.61)	—	—	0.49±0.14ab(16.39)
		48	3.1±90.38b(80.56)	—	—	0.77±0.24b(19.44)
根	Pb	3	12.92±0.93a(36.09)	8.10±0.89a(22.63)	6.26±0.06a(17.48)	8.52±0.23a(23.79)
		6	13.54±0.23a(32.94)	7.72±0.66a(18.78)	8.21±0.37b(19.98)	11.63±0.39b(28.30)
		12	13.82±0.48a(33.60)	7.57±1.39a(18.41)	7.40±0.23b(17.98)	12.34±1.47b(30.00)
		24	15.41±1.19b(33.76)	7.28±0.38a(15.95)	6.24±0.08a(13.66)	16.72±0.75c(36.63)
		48	18.42±0.70b(37.25)	7.52±0.81a(15.21)	6.07±0.58a(12.27)	17.44±0.20c(35.27)
	Cd	3	0.24±0.01a(80.00)	—	—	0.06±0.00a(20.00)
		6	1.06±0.14b(66.37)	—	—	0.54±0.03b(33.63)
		12	2.18±0.22c(62.94)	—	—	1.29±0.15c(37.06)
		24	4.66±0.74d(58.38)	—	—	3.32±0.25d(41.62)
		48	9.53±0.68e(58.97)	—	—	6.63±0.06e(41.03)

Cd^{2+}后再作进一步分析[12]。细胞壁是重金属离子进入植物体的第一道屏障,它与重金属的结合作用是植物耐重金属的原因之一,大量有害重金属沉积在植物细胞壁,能阻止重金属对细胞内溶物的伤害。由于重金属离子被固定在细胞壁上,不能进入细胞质影响细胞内的代谢活动,使植物对重金属表现出耐性[3,14]。有学者分别对矿山生态型的东南景天和少根紫萍进行研究,同样发现重金属镉或铀都主要分布在细胞壁上[15-16]。在本试验中,洗脱后类芦根细胞壁仍有较高的量,说明类芦根细胞壁对 Pb^{2+}、Cd^{2+}的吸附能力较强,同时,进入植物叶片和根部的 Pb、Cd 主要分布在细胞壁上且一直保持较高的比例,仅有少量分布在细胞核和线粒体等组分,可能是因为根细胞壁中固定了大量 Pb、Cd,减少了重金属的流通量,减弱了 Pb、Cd 向地上部分迁移的能力。这些说明了可能是由于凯氏带的存在,离子在进入中柱之前,必须首先进入共质体,而凯氏带则能有效减少重金属离子进入的量[17]。

Pb、Cd 进入细胞内会进一步分布到各种细胞器中,在本试验中,F4 组分在总量中占有相当的比重,F4 组分为含核糖的可溶性组分,主要由液泡和细胞质两部分组成。随着 Pb、Cd 浓度的增加和处理时间的延长,细胞壁沉淀达到饱和及细胞质膜断裂后,多余的 Pb、Cd 便进入原生质体内,进入原生质中的重金属可通过向液泡输送来降低其在原生质体中的浓度,使植物表现出耐性。液泡是植物细胞代谢副产品及废物囤积场所,其含有的多种蛋白质、有机酸、有机碱等物质都能与重金属结合,使重金属离子在细胞内被区隔化,从而明显降低了细胞质中游离重金属离子的浓度[18]。因此,类芦在受到重金属胁迫时,部分 Pb、Cd 向可溶组分转移,可能是类芦通过改变 Pb、Cd 在亚细胞组分中的分布以增强植物对重金属的耐受性。

类芦具有的对 Pb、Cd 富集能力、耐受性及生物量大等特点,或能使其成为植物修复的潜能植物。而目前,在植物修复方面,超积累植物与非超积累植物最大的区别在于其向地上部转运重金属的能力,对生物量大而富集量一般的耐性植物而言,EDTA、DTPA、有机肥等螯合剂,尤其是胡敏酸等天然螯合剂得到了广泛的使用,这些螯合剂能促使植物将大量的重金属转运至地上部分[19]。但是何种螯合剂能促进类芦对重金属的吸收,螯合剂在类芦体内的螯合机制,以及是否对环境有潜在的风险等仍需进一步的讨论和深入的研究。

4　结论

(1)类芦对 Pb、Cd 吸收随着浓度和时间的增加而增加,吸收的 Pb、Cd 主要分布在植物的根部,在相同浓度和时间处理下, 类芦体内的 Pb 明显比 Cd 含量高,但是对 Cd 的吸收有一定的潜力。类芦对 Pb、Cd 的吸收规律能够利用 Freundlich 方程和 Michaelis-Menten 方程进行拟合。

(2)细胞壁是 Pb、Cd 在类芦细胞内主要的分布位点,尤其是 Pb 在植物根中最高能达到 90.43%,其次是可溶组分,细胞核、叶绿体组分和线粒体组分含量较低。重金属在类芦体内的动态分布使得类芦对 Pb、Cd 有一定的耐性,维持了植物自身的稳态。

参考文献:

[1] Xu S S, Lin S Z, Lai Z X. Cadmium impairs iron homeostasis in *Arabidopsis thaliana* by increasing the polysaccharide contents and the iron-binding capacity of root cell walls[J]. *Plant and Soil*, 2015, 392(1):71-85.

[2] Lamhamdi M, Galiou O E, Bakrim A, et al. Effect of lead stress on mineral content and growth of wheat(*Triticum aestivum*) and spinach(*Spinacia oleracea*) seedlings[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2013, 20(1):29-36.

[3] 黄化刚, 李廷轩, 杨肖娥, 等. 植物对 Pb 胁迫的耐性及其解毒机制研究进展[J]. 应用生态学报, 2009, 20(3):696-704.
HUANG Hua-gang, LI Ting-xuan, YANG Xiao-e, et al. Research advances in plant lead tolerance and detoxification mechanism[J]. *Journal of Applied Ecology*, 2009, 20(3):696-704.

[4] 荆红梅, 郑海雷, 赵中秋, 等. 植物对镉胁迫响应的研究进展[J]. 生态学报, 2001, 21(12):2125-2130.
JING Hong-mei, ZHENG Hai-lei, ZHAO Zhong-qiu, et al. Progresses of plants response to cadmium[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(12):2125-2130.

[5] 王友生, 侯晓龙, 吴鹏飞, 等. 长汀稀土矿废弃地土壤重金属污染特征及其评价[J]. 安全与环境学报, 2014, 14(4):259-262.
WANG You-sheng, HOU Xiao-long, WU Peng-fei, et al. Characteristics and evaluation of heavy metal pollution in the waste land of Changting rare earth mine[J]. *Journal of Safety and Environment*, 2014, 14(4):259-262.

[6] 戴文娇, 宁　平, 刘晓海, 等. 类芦对铅的耐性及富集能力探讨[J]. 环境工程学报, 2008, 2(7):1004-1008.
DAI Wen-jiao, NING Ping, LIU Xiao-hai, et al. Tolerance and accumulation of *Neyraudia reynaudiana* for Pb[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2008, 2(7):1004-1008.

[7] 戴文娇. 类芦对铅的耐性及吸收富集研究[D]. 昆明:昆明理工大学, 2008.
DAI Wen-jiao. Lead tolerance and accumulation in *Neyraudia reynaudiana*(Kunth) Keng[D]. Kunming:Kunming University of Science and Technology, 2008.

[8] 蔡丽平, 吴鹏飞, 侯晓龙, 等. 类芦根系对不同强度干旱胁迫的形态学响应[J]. 中国农学通报, 2012, 28(28):44-48.
CAI Li-ping, WU Peng-fei, HOU Xiao-long, et al. Morphological response to different drought stress in the roots of *Neyraudia reynaudiana*[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2012, 28(28):44-48.

[9] 袁中友, 郭彦彪, 李　强, 等. 有机无机肥配施对生态重建先锋植物类芦生长的影响[J]. 水土保持学报, 2014, 25(5):302-308.
YUAN Zhong-you, GUO Yan-biao, LI Qiang, et al. Effects of organic-inorganic fertilizer application on pioneer plant *Neyraudia reynaudiana* on ecological restoration[J]. *Journal of Soil and Water Convervation*, 2014, 25(5):302-308.

[10] 周小勇, 仇荣亮, 胡鹏杰, 等. 镉和铅对长柔毛委陵菜体内锌的亚细胞分布和化学形态的影响[J]. 环境科学, 2008, 29(7):2028-2036.
ZHOU Xiao-yong, QIU Rong-liang, HU Peng-jie, et al. Effects of cadmium and lead on subcellular distribution and chemical form of zinc in *potentilla griffithii var. velutina*[J]. *Environmental Science*, 2008, 29(7):2028-2036.

[11] 安增莉, 侯艳伟, 蔡超水, 等. 水稻秸秆生物炭对 Pb(Ⅱ)的吸附特性[J]. 环境化学, 2011, 30(11):1851-1857.
AN Zeng-li, HOU Yan-wei, CAI Chao-shui, et al. Adsorption characteristics of Pb(Ⅱ) from rice straw biological carbon[J]. *Environmental Chemistry*, 2011, 30(11):1851-1857.

[12] 陈彩虹, 刘治昆, 陈光才, 等. 苏柳 172 和垂柳对 Cu^{2+}的吸收特性及有机酸影响[J]. 生态学报, 2011, 31(18):5255-5263.
CHEN Cai-hong, LIU Zhi-kun, CHEN Guang-cai, et al. Uptake kinetic characteristics of Cu^{2+} by *Salix jiangsuensis* CL J-172 and *Salix babylonica* Linn and the influence of organic acids[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(18):5255-5263.

[13] Zhao L, Li T, Yu H, et al. Changes in chemical forms, subcellular distribution, and thiol compounds involved in Pb accumulation and detoxification in *Athyrium wardii*(Hook.)[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22(16):12676-12688.

[14] Meyer C L, Juraniec M, Huguet S, et al. Intraspecific variability of cadmium tolerance and accumulation, and cadmium-induced cell wall modifications in the metal hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(11):3215-3227.

[15] Nie X, Dong F, Liu N, et al. Subcellular distribution of uranium in the roots of *Spirodela punctat*a and surface interactions[J]. *Applied Surface Science*, 2015, 347(30):122-130.

[16] Ni T H, Wei Y Z. Subcellular distribution of cadmium in mining ecotype *Sedum alfredii*[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2003, 45(8):925-928.

[17] 泰　兹. 植物生理学[M]. 五版. 北京:科学出版社, 2009.
Taiz L. Plant physiology[M]. Fifth edition. Beijing:Science Press, 2009.

[18] 徐　君, 贾　荣, 施国新, 等. 镉在水花生叶片中的亚细胞分布及其毒理学[J]. 应用生态学报, 2012, 23(4):1070-1076.
XU Jun, JIA Rong, SHI Guo-xin, et al. Subcellular distribution and phytotoxicity of cadmium in *Alternanthera philoxeroides* leaves[J]. *Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(4):1070-1076.

[19] 刘婷婷, 彭　程, 王　梦, 等. 海州香薷根细胞壁对铜的吸附固定机制研究[J]. 环境科学学报, 2014, 34(2):514-523.
LIU Ting-ting, PENG Cheng, WANG Meng, et al. Mechanism of fixation and adsorption of copper on root cell wall of *Elsholtzias plendens*[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2014, 34(2):514-523.