

# 镉对圆锥南芥锌的吸收、亚细胞分布和化学形态影响\*

于方明<sup>1</sup>, 汤叶涛<sup>1,2</sup>, 周小勇<sup>1</sup>, 何尔凯<sup>1</sup>,  
张涛<sup>1</sup>, 应蓉蓉<sup>1</sup>, 李清飞<sup>1</sup>, 仇荣亮<sup>1,2</sup>

(1. 中山大学环境科学与工程学院, 广东 广州 510275;  
2. 广东省环境污染控制与修复技术重点实验室, 广东 广州 510275)

**摘要:** 通过营养液培养并采用差速离心技术和化学试剂逐步提取法, 分析了 Cd 对圆锥南芥 *Arabis paniculata* Franch. 叶片和根系中 Zn 的吸收、亚细胞分布和化学形态的影响。结果表明, Cd 的添加不会抑制圆锥南芥的生长及对 Zn 的吸收。Zn 在圆锥南芥中以多种化学形态存在; 叶片中乙醇、水、NaCl、HAc 提取态 Zn 分配比例较均匀; 根系中主要以乙醇提取态和 NaCl 提取态为主, HAc 与 HCl 提取态 Zn 的绝对含量与所占的百分比均较低, 表明圆锥南芥中的 Zn 主要以无机酸盐以及氨基酸盐存在。对圆锥南芥 Zn 的亚细胞分布结果表明, 叶片和根系中的 Zn 主要贮存于细胞壁中其次为细胞核, 两者所占的比例分别为 65% ~ 83.5% 和 42.7% ~ 87.3%, 且 Cd 的添加提高了细胞壁中 Zn 的比例, 促进了 Zn 向细胞壁中的转移。但 Cd 的添加对 Zn 的化学形态变化不明显。

**关键词:** 圆锥南芥; 亚细胞分布; 化学形态; 锌

**中图分类号:** X53 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2010) 04-0118-07

## Effects of Cadmium on Uptake, Subcellular Distribution and Chemical Form of Zinc in *Arabis paniculata* Franch.

YU Fangming<sup>1</sup>, TANG Yetao<sup>1,2</sup>, ZHOU Xiaoyong<sup>1</sup>, HE Erkai<sup>1</sup>,  
ZHANG Tao<sup>1</sup>, YING Rongrong<sup>1</sup>, LI Qingfei<sup>1</sup>, QIU Rongliang<sup>1,2</sup>

(1. School of Environmental Science and Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

2. Guangdong Provincial Key Laboratory for Environmental Pollution Control and Remediation Technology, Guangzhou 510275, China)

**Abstract:** Using the differential centrifugation technique and sequential chemical extraction method, effects of Cd on subcellular distribution and chemical form of Zn in multi-metal hyperaccumulator *Arabis paniculata* Franch under nutrient solution culture were analyzed. Results show that the biomass of *A. paniculata* has no significant variance increased between before transplant and with Zn/Cd treated 21 days ( $p > 0.05$ ). The cadmium in the nutrient solution has no obvious influence on Zn absorption. NaCl-, ethanol-, water-, HAc-extractable Zn are the predominant fractions in leaves of the plant, NaCl-, ethanol-extractable Zn are predominant fractions in root. Other chemical forms are very low in content. Zn is mainly distributed in cell wall and in karyon which suggests that cell wall and karyon in the plant are major storage for Zn. The cadmium in the nutrient solution has heightened the percentage of Zn in the cell wall and promoted the transportation of Zn to the cell wall, but it has no obvious influence on subcellular

\* 收稿日期: 2009-04-20

**基金项目:** NFSC-广东联合基金重点资助项目 (U0833004); 国家自然科学基金资助项目 (40571144); 国家 863 计划资助项目 (2007-AA-06Z305); 教育部博士点专项科研基金资助项目 (20070558005); 广东省自然科学基金资助团队项目 (06202438)

**作者简介:** 于方明 (1975 年生), 男, 博士; **通讯作者:** 仇荣亮; E-mail: eesqrl@mail.sysu.edu.cn

distribution and chemical form of Zn in *A. paniculata* Franch.

**Key words:** *Arabis paniculata* Franch.; subcellular distribution; chemical form; zinc

超富集植物能够从土壤中吸收大量的金属贮藏于体内, 而不会对植物本身造成任何毒害, 这与其超强的解毒机制密不可分。目前, 对于超富集植物超强的内部解毒机制的报道很多, 如重金属与配位体的螯合, 液泡的区室化, 将重金属沉淀于植物的非生理活动区等<sup>[1-2]</sup>。重金属在细胞中的分布以及以何种化学形态存在是目前国内外研究的热点。重金属在植物中的亚细胞分布主要采用组织化学 (histochemistry)<sup>[3]</sup>、差速离心 (cell fractionation)<sup>[4-5]</sup>、X 射线微量分析<sup>[3,6-7]</sup>、微粒子诱导 X 射线发射 (micro-PIXE) 等技术来研究<sup>[8-9]</sup>。但目前超富集植物体内重金属亚细胞分布和化学形态多集中于单金属研究<sup>[6,10-12]</sup>, 材料也主要为单金属的超富集植物, 而有关重金属之间相互作用对超富集植物的耐性和富集机理的影响以及对多金属超富集植物的研究却鲜见报道。

圆锥南芥 *Arabis paniculata* Franch. 是国内最新发现的 Pb、Zn、Cd 多金属超富集植物<sup>[13]</sup>, 但对其解毒机理的探讨较少。本文通过差速离心技术和化学试剂逐步提取法研究了 Cd 对 Zn 在圆锥南芥细胞内的亚细胞分布特征和结合形态的影响, 试图揭示圆锥南芥在 Zn/Cd 复合污染下的耐 Zn 机制, 从而为研究超富集植物重金属耐性机理的分子生物学机制提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物培养

圆锥南芥植物种子取自云南省兰坪县金顶镇的北厂铅锌矿区。在无污染的菜园土中萌发, 生长3个月后, 选择长势良好一致的幼苗, 移栽至 1/8 Hoagland 营养液中预培养2周后加入 Zn、Cd 继续培养21 d (营养液中  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  换成同浓度的  $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ )。Zn、Cd 各设3个质量浓度梯度 (采用完全正交试验), Cd 质量浓度为 0、1.0、10 mg/L, Zn 浓度为 0、10、100 mg/L (分别以  $CdCl_2 \cdot 2.5H_2O$  和  $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  加入, 按单 Cd 和单 Zn 计算, 未加 Zn 和 Cd 的处理为对照), 具体浓度设置见表1。每处理3次重复, 每重复4株苗, 连续通气, 每3天更换营养液一次, 并用 0.1 mmol/L NaOH 调节 pH 至 5.8 左右。收获时植株根系先用自来水冲洗, 再用 20 mmol/L  $Na_2-EDTA$  交换 20 min, 去除根系表面吸附的  $Cd^{2+}$ 、

$Zn^{2+}$ , 最后用去离子水洗净, 吸干表面水分, 置于  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  冰箱内供分析测定用。每个处理的植物样品分为叶片和根系2个部位, 分别用于测定亚细胞组分、化学形态和重金属含量。

表1 培养液中 Zn、Cd 添加质量浓度<sup>1)</sup>

Table 1 The addition of Zn and Cd to the culture medium

项目	CK	A	B	C	D	E	F	G	H
$\rho(Zn)$	0	0	0	10	10	10	100	100	100
$\rho(Cd)$	0	1	10	0	1	10	0	1	10

1) 质量浓度单位为 mg/L

### 1.2 试验方法

1.2.1 植物体内的亚细胞组分分离 按 Weigel 等<sup>[14]</sup>和 Gabbrielli 等<sup>[15]</sup>的方法改进后进行: 准确称取植株鲜样 0.500 0 g, 加入 20 mL 提取液 (0.25 mmol/L 蔗糖 + 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 7.5)), 研磨匀浆, 用尼龙纱布过滤, 滤渣为细胞壁部分; 滤液在 600 r/min 下离心 10 min, 沉淀为细胞核部分; 上清液在 2 000 r/min 下离心 15 min, 沉淀为叶绿体部分; 上清液在 10 000 r/min 下离心 20 min, 沉淀为线粒体部分; 上清液为含核糖体的可溶部分, 每组两次离心, 全部操作在  $4\text{ }^\circ\text{C}$  下进行。

1.2.2 Cd 在植物体内的化学形态分析 采用化学试剂逐步提取法<sup>[16]</sup>, 具体操作如下: 准确称取植株鲜样 0.500 0 g, 加入 20 mL 提取剂研磨匀浆后转入 50 mL 的塑料离心管, 在  $25\text{ }^\circ\text{C}$  恒温振荡 22 h 后, 5 000 r/min 离心 10 min。倒出上清液, 再加入 10 mL 的提取剂,  $25\text{ }^\circ\text{C}$  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 种提取剂依次逐步提取:  $\varphi = 80\%$  乙醇 (主要提取醇溶性蛋白质、氨基酸盐等为主的物质), 去离子水 (主要提取水溶性有机酸盐), 1 mol/L 氯化钠溶液 (主要提取果胶酸盐、与蛋白质结合态或吸附态的重金属等),  $\varphi = 2\%$  醋酸 (主要提取难溶于水的重金属磷酸盐), 0.6 mol/L 盐酸 (主要提取草酸盐等), 最后为残留态。

1.2.3 Zn 含量的测定 以提取剂作为空白, 上清液用原子吸收分光光度计 (AAS, HITACHI-Z 5000) 直接测定 Zn 含量; 残渣和沉淀部分分别用去离子水多次转入 100 mL 三角瓶中, 于电热板上

蒸干, 加入 5 mL 浓 HNO<sub>3</sub>, 消煮至澄清, 用去离子水定容后测定。所有数据用 SPSS11.5 软件处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 Zn/Cd 对圆锥南芥生物量的影响

试验观察表明, 在 Zn/Cd 培养的过程中, 圆锥南芥的叶片浓绿, 有光泽, 生长良好, 没有出现

任何的中毒症状。从图 1 中可以看出, 水培后圆锥南芥总的生物量、根系、直径均比水培前有一定程度的增长, 但方差分析与多重比较结果表明, 圆锥南芥水培前后处理间生物量、根系长、直径长差异不显著 ( $P > 0.05$ )。表明 Zn/Cd 复合污染不会影响圆锥南芥的生长, 同时也证明, 圆锥南芥对 Zn、Cd 有超强的耐性。

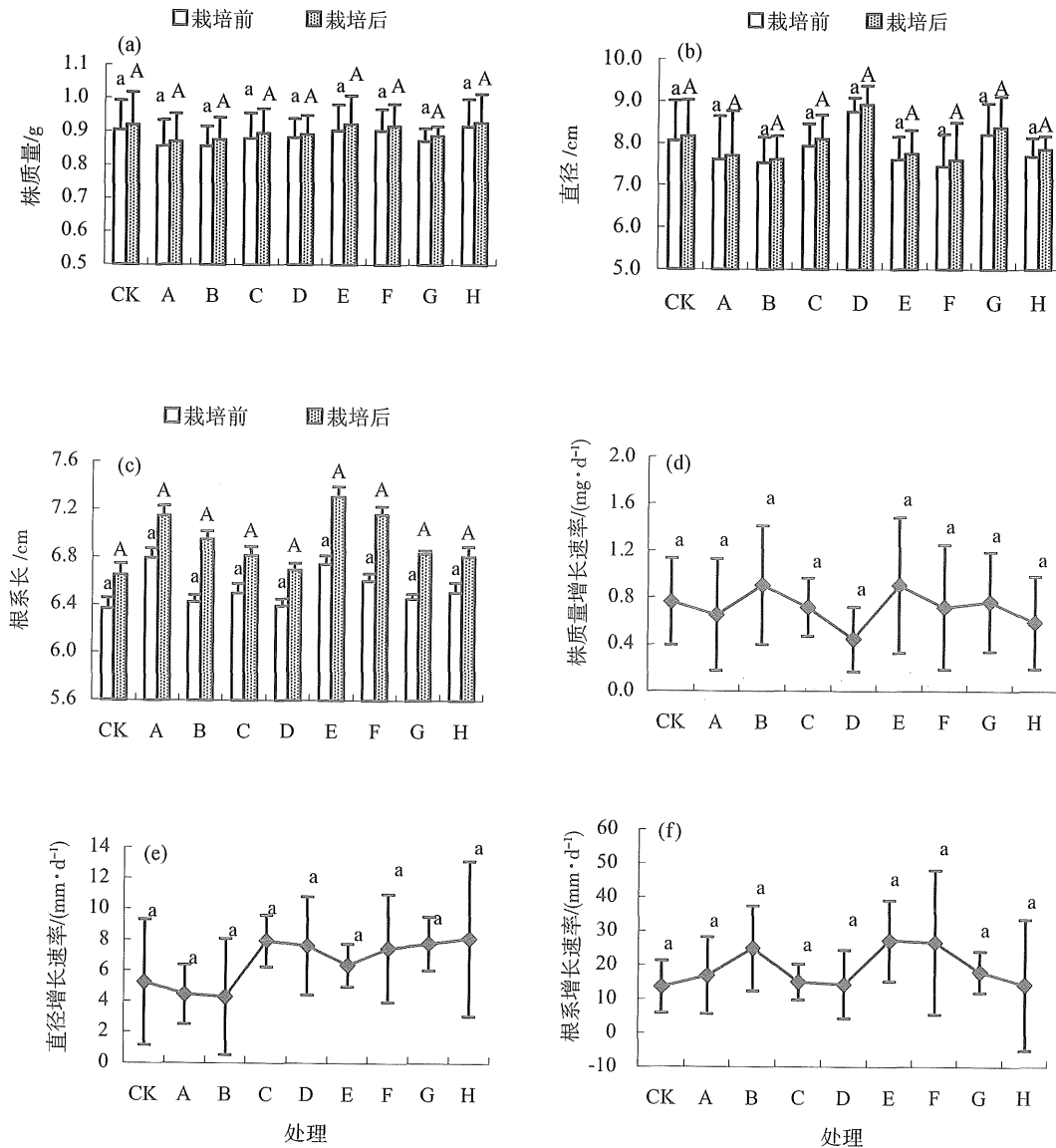


图 1 Zn/Cd 复合污染对圆锥南芥生物量的影响 (图中的相同字母表示差异不显著,  $P > 0.05$ )

Fig. 1 Effect of Zn/Cd compound pollution on biomass of *Arabis paniculata* Franch

### 2.2 Cd 对圆锥南芥中 Zn 含量的影响

从表 2 中可以看出, 随着 Zn 处理质量浓度的增加, 圆锥南芥叶片与根系中的 Zn 含量呈增加趋势。在 Zn 处理质量浓度一定的情况下, 随着 Cd 处理质量浓度的增加, 圆锥南芥叶片和根系中 Zn

含量间无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 表明 Cd 对圆锥南芥 Zn 吸收的影响不显著。在对照中, 植物中 Zn、Cd 含量较高的原因可能是在幼苗培育过程中从土壤中吸收了 Zn 与 Cd, 同时在预培养的过程中营养液中还含有一定浓度的 Zn 也将影响 Zn 的含量。

表 2 Zn、Cd 复合污染对圆锥南芥 Zn 含量的影响<sup>1)</sup>

Table 2 The content of Zn in the *A. paniculata* mg/kg

$\rho(\text{Zn})$ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$\rho(\text{Cd})$	地上部	根系
0	0	659.1 ± 743.2 c	247.6 ± 19.4 C
0	1	440.6 ± 25.9 bc	434.4 ± 243.0 C
0	10	685.7 ± 54.1 bc	672.0 ± 493.6 BC
10	0	4 835.2 ± 426.1 b	2 482.6 ± 696.8 B
10	1	4 451.4 ± 719.9 bc	2 945.4 ± 941.3 B
10	10	4 118.5 ± 170.2 bc	3 165.8 ± 1 257.3 B
100	0	15 105.4 ± 3 452.9 a	15 054.6 ± 1 479.9 A
100	1	14 645.8 ± 3 036.7 a	15 775.8 ± 1 030.2 A
100	10	15 857.7 ± 1 245.9 a	15 530.1 ± 2 140.9 A

1) 同列的不同字母表示在 5% 水平上的差异显著

### 2.3 Cd 对圆锥南芥 Zn 化学形态的影响

从表 3 中还可以看出，圆锥南芥新鲜叶片中 Zn 含量随着 Zn 处理质量浓度的增加而增加，最高含量（鲜质量）达到 2 514.8 mg/kg。在圆锥南芥叶片中 Zn 的残渣态以及 HCl 提取态含量较低，两者共同所占的比例小于 8.3%。而 Zn 的乙醇、水、NaCl、HAc 提取态在圆锥南芥叶片中的分配比例

较均匀。但在 Zn 质量浓度一定时，随着 Cd 质量浓度的增加，分配比例有所变化。这可能与植物体内的有机配位体以及 Zn、Cd 的竞争吸附存在着紧密联系。

圆锥南芥根系中的 Zn 主要以乙醇提取态和 NaCl 提取态为主（见表 4），HAc 与 HCl 提取态 Zn 的绝对含量与所占的百分比含量均较低。表明圆锥南芥根系中的 Zn 主要以无机酸盐以及氨基酸盐存在，并有相当大的一部分 Zn 与蛋白质、果胶酸等结合，而与有机酸、草酸以及含磷化合物结合的 Zn 较少。在 Zn 添加质量浓度为 0 mg/L 时，乙醇提取态 Zn 随着 Cd 处理质量浓度的增加呈下降趋势，但水提取态 Zn 呈增加的变化趋势。在 Zn 处理质量浓度为 10 mg/L 时，以 NaCl 提取态 Zn 占优，其次为乙醇提取态，乙醇态含量随着 Cd 处理质量浓度的增加而增加，NaCl 提取态含量随着 Cd 处理质量浓度的增加而增加，但所占的比例却呈下降的趋势。在 Zn 添加质量浓度为 100 mg/L 时，也以 NaCl、乙醇提取态 Zn 占优，占总量的 87% 以上。

表 3 Zn 化学形态在圆锥南芥叶片中的分布<sup>1)</sup>

Table 3 Effect of Cd on the chemical forms of Zn in leaves of *A. paniculata* mg/kg

$\rho(\text{Zn})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ $\rho(\text{Cd})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	0			0			100		
	0	1	10	0	1	10	0	1	10
乙醇	23.9 ± 8.8 <sup>a</sup>	41.6 ± 6.2	21.2 ± 9.5	57.2 ± 16.1	42.0 ± 17.2	64.6 ± 8.8	437.9 ± 19.6	455.5 ± 78.5	452.8 ± 102.1
	25.0 <sup>b</sup>	47.5	20.5	13.2	10.0	15.7	24.0	20.6	21.2
水	13.4 ± 1.1	14.3 ± 5.7	11.6 ± 3.4	74.8 ± 13.3	63.0 ± 7.7	68.4 ± 2.5	481.7 ± 17.6	601.1 ± 92.1	608.7 ± 150.2
	14.0	16.3	11.2	17.3	15.0	16.6	26.4	27.2	28.6
NaCl	24.5 ± 12.0	11.5 ± 0.3	15.8 ± 1.1	91.5 ± 5.2	93.2 ± 10.6	88.7 ± 15.2	560.2 ± 69.5	592.5 ± 94.3	530.5 ± 86.9
	25.7	13.1	15.2	21.2	22.2	21.5	30.7	26.8	24.9
HAc	26.1 ± 1.2	13.0 ± 1.6	48.1 ± 5.9	183.4 ± 12.4	190.0 ± 21.3	157.9 ± 18.8	318.5 ± 41.5	527.9 ± 84.6	501.1 ± 79.9
	27.4	14.8	46.5	42.5	45.2	38.3	17.5	23.9	23.5
HCl	3.4 ± 0.4	3.6 ± 0.6	4.6 ± 0.9	18.8 ± 5.5	23.9 ± 2.8	8.8 ± 1.6	18.1 ± 3.1	25.0 ± 2.8	31.4 ± 13.5
	3.5	4.1	4.5	4.3	5.7	2.1	1.0	1.1	1.5
残渣态	4.1 ± 1.2	3.7 ± 1.6	2.1 ± 0.7	6.3 ± 1.3	8.2 ± 0.1	23.8 ± 5.9	8.9 ± 0.4	6.1 ± 0.6	7.5 ± 1.1
	4.3	4.2	2.1	1.4	2.0	5.8	0.5	0.3	0.4
总量	95.4	87.6	103.5	431.7	420.4	412.3	1 825.2	2 208.0	2 131.9
实测值	105.3 ± 10.8	100.5 ± 12.3	112.1 ± 13.4	455.8 ± 34.3	452.5 ± 32.9	461.2 ± 41.6	2 107.6 ± 116.2	2 514.8 ± 325.6	2 408.9 ± 129.0
回收率/%	90.6	87.2	92.3	94.7	92.9	89.4	86.6	87.8	88.5

1) a 所在行的数字表示绝对含量；b 所在行的数字表示占总量的百分率，含量均为鲜质量含量，下同

### 2.4 Cd 对圆锥南芥 Zn 亚细胞分布的影响

从表 5 可知，圆锥南芥叶片中的 Zn 主要贮存于细胞壁其次为细胞核中，两者所占的比例大于 65%，最大时达到 83.5%，核糖体中 Zn 的含量也较高，线粒体中的 Zn 含量最低。在 Zn 处理质量浓度为 100 mg/L 时，随着 Cd 处理质量浓度的增加，细胞壁中 Zn 所占比例增加，而核糖体中 Zn 所占的比例减少，表明 Cd 促进了 Zn 向细胞壁等非生理

活动区的转运，减少了生理活动区中 Zn 的含量，这有利于植物新陈代谢的正常进行。

从表 6 中可以看出，圆锥南芥根系中的 Zn 在线粒体和核糖体的分布相对较少，主要贮存在细胞壁和细胞核中，两者共占全量的 42.7% ~ 87.3%。在 Zn 质量浓度一定时，随着 Cd 处理质量浓度的增加，Zn 在细胞壁中所占比例也有不同程度的升高，表明 Cd 对 Zn 的吸收、分布有一定的影响。

表4 Zn化学形态在圆锥南芥根中的分布

Table 4 Effect of Cd on the chemical forms of Zn in roots of *A. paniculata*

mg/kg

$\rho(\text{Zn})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	0			0			100		
	0	1	10	0	1	10	0	1	10
乙醇	37.3±3.4	32.7±3.9	25.0±3.0	106.6±15.2	119.8±12.6	95.8±7.5	1 059.6±181.2	630.6±99.1	1 467.6±397.6
	38.1	33.8	24.6	27.0	28.6	27.6	41.7	23.5	57.1
水	10.1±0	17.6±1.2	32.4±4.3	10.9±0.7	10.2±0.9	7.5±2.1	10.4±1.1	16.2±1.7	8.3±1.5
	10.3	18.1	32.0	2.7	2.4	2.2	0.4	0.6	0.3
NaCl	22.7±9.1	17.4±1.6	27.7±2.3	206.9±20.7	208.7±29.9	152.6±20.5	1 292.2±235.1	1 726.8±108.1	943.5±107.8
	23.2	17.9	27.3	52.4	49.8	43.9	50.8	64.2	36.7
HAc	0.1±0	0.8±0.5	2.4±0.1	21.0±1.4	21.0±6.1	14.3±4.6	113.4±27	186.2±17.2	91.6±13.1
	0.1	0.8	2.4	5.3	5.0	4.1	4.5	6.9	3.6
HCl	4.9±0.1	6.8±0.9	2.4±0.9	9.0±1.2	7.2±0.8	7.8±0.7	9.2±1.8	22.8±2.8	9.1±0.9
	5.1	7.0	2.3	2.3	1.7	2.2	0.4	0.8	0.4
残渣态	22.8±4.8	21.7±3.9	11.5±2.7	40.7±10.8	52.0±11.5	69.3±9.8	58.6±13.1	105.2±15.7	49.2±10.2
	23.3	22.4	11.3	10.3	12.4	20.0	2.3	3.9	1.9
总量	97.7	96.9	101.4	395.0	418.8	347.4	2 543.4	2 688.0	2 569.2
实测值	108.3±6.7	105.6±10.7	112.3±10.2	399.8±17.2	432.2±32.7	411.6±9.7	2 700.2±251.1	2 999.9±289.1	2 816.9±345.7
回收率/%	90.2	91.8	90.3	98.8	96.9	84.4	94.2	89.6	91.2

表5 Zn在圆锥南芥叶片中亚细胞分布

Table 5 Effect of Cd on the subcellular distribution of Zn in leaves of *A. paniculata*

mg/kg

$\rho(\text{Zn})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	0			0			100		
	0	1	10	0	1	10	0	1	10
细胞壁	31.9±5.1	28.6±6.1	45.9±3.3	220.3±14.7	174.3±10.8	235.8±20.8	840.5±335.5	1 161.3±343.3	1 135.1±239.2
	33.4	29.2	45.8	55.4	39.7	55.0	43.2	50.5	55.1
细胞核	30.4±5.3	36.3±3.9	30.5±7.8	111.6±10.6	168.3±19.1	99.4±29.7	519.5±101.1	505.7±103.5	564.1±160.1
	31.8	37.1	30.4	28.1	38.3	23.2	26.7	22.0	25.4
叶绿体	13.1±0.2	13.4±3.2	9.1±1.4	27.7±9.9	33.5±3.7	27.2±5.7	75.4±14.2	78.6±13.1	112.9±21.4
	13.7	13.7	9.1	7.0	7.6	6.3	3.9	3.4	5.1
线粒体	3.0±0.6	3.0±0.7	4.0±0.9	8.7±1.4	13.6±1.6	11.0±6.0	34.5±16.9	39.3±10.1	32.1±19.9
	3.2	3.0	4.0	2.2	3.1	2.6	1.8	1.7	1.4
核糖体	17.1±0.9	16.6±1.4	10.6±0.6	29.1±1.3	49.4±3.0	55.8±17.6	475.3±166.0	516.3±211.6	375.8±53.8
	17.9	16.9	10.6	7.3	11.3	13.0	24.4	22.4	16.9
总量	95.5	97.8	100.1	397.4	439.1	429.2	1 945.1	2 301.1	2 220.0
实测值	105.3±10.8	100.5±12.3	112.1±13.4	455.8±34.3	452.5±32.9	461.2±41.6	2 107.6±116.2	2 514.8±325.6	2 408.9±129.0
回收率/%	90.7	97.3	89.7	87.2	97.1	93.1	92.3	91.5	92.2

表6 Zn在圆锥南芥根系中的亚细胞分布

Table 6 Effect of Cd on the subcellular distribution of Zn in roots of *A. paniculata*

mg/kg

$\rho(\text{Zn})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	0			0			100		
	0	1	10	0	1	10	0	1	10
细胞壁	21.8±1.5	15.0±5.8	10.2±1.7	149.0±31.9	161.7±23.4	171.4±11.2	1 521.4±319.0	1 387.8±287.2	2 086.5±662.8
	21.4	15.4	10.2	39.4	39.9	42.3	58.6	48.7	73.3
细胞核	42.8±6.9	26.7±2.2	42.1±8.7	146.4±24.6	145.4±15.5	65.2±13.3	498.4±91.1	763.6±185.7	399.6±41.8
	42.0	27.3	42.0	38.7	35.9	16.1	19.2	26.8	14.0
叶绿体	31.6±6.3	18.9±2.4	28.9±4.5	51.8±8.9	33.6±11.3	25.5±4.5	252.6±43.1	293.6±43.5	126.9±56.5
	31.0	19.4	28.8	13.7	8.3	6.3	9.7	10.3	4.5
线粒体	3.3±0.4	2.0±0.8	2.9±0.5	25.8±5.8	29.0±5.5	4.5±1.7	109.4±14.5	196.0±26.7	56.8±16.7
	3.2	2.1	2.9	6.8	7.1	1.1	4.2	6.9	2.0
核糖体	2.4±0.4	34.9±5.0	16.1±4.8	5.0±0.1	35.9±11.1	139.0±17.8	214.4±51.4	209.8±23.5	176.3±33.9
	2.4	35.8	16.1	1.3	8.9	34.3	8.3	7.4	6.2
总和	102.0	97.5	100.3	378.2	405.7	405.6	2 596.2	2 850.8	2 846.1
实测值	108.3±6.7	105.6±10.7	112.3±10.2	399.8±17.2	432.2±32.7	411.6±9.7	2 700.2±251.1	2 999.8±289.1	2 816.9±345.7
回收率/%	94.2	92.3	89.3	94.6	93.9	98.5	96.1	95.0	101.0

### 3 讨论

细胞壁固持和液泡区室化在植物对重金属的解毒、耐性和超富集方面起着重要作用<sup>[17-18]</sup>, 但不同的金属在不同植物细胞壁中所占的比例不同。在 *Agrostis tenuis* 中, 细胞壁贮存、螯合 Zn 的能力与 Zn 的存储量成正相关<sup>[19]</sup>, 东南景天茎叶中 50% ~ 62% Zn 分布在细胞壁中<sup>[20]</sup>, 长柔毛委陵菜体内 40% ~ 55% 的 Zn 分布于细胞壁中<sup>[16]</sup>, Salt 等<sup>[21]</sup>证明在超富集植物 *Thlaspi caerulescens* 的根系中 30% 的 Zn 贮存于细胞壁中, 而地上部 80% 以上贮藏于细胞壁中。本实验结果与上述结果类似, 圆锥南芥根系与叶片中的 Zn 主要分布在细胞壁中, 而在细胞核、叶绿体和线粒体中分布较少, 表明细胞壁是圆锥南芥的储存 Zn 的最重要部位。这与细胞壁中含有丰富的蛋白质和多糖物质, 如纤维素, 半纤维素, 木质素等, 这些物质富含羟基、羧基, 氨基等配位体有关, 因为这些基团可以螯合重金属, 降低植物原生质中重金属的毒性<sup>[22-23]</sup>, 因此, 细胞壁也被认为是植物抵抗重金属毒害的第一道屏障<sup>[24]</sup>。另外, 在 Zn 处理质量浓度一定时, 随着 Cd 处理质量浓度的增加, 圆锥南芥细胞壁中 Zn 所占比例增加, 这与 Cd 添加使 Zn 在长柔毛委陵菜细胞壁的分配比例显著增加, 而可溶部分的分配比例则显著减少的结果一致, 表明 Cd 促进了 Zn 向细胞壁等非生理活动区的转运, 减少了生理活动区中 Zn 的含量, 而有利于植物的生长<sup>[9]</sup>。

在圆锥南芥叶片中, Zn 主要以乙醇、水、NaCl 提取态为主, 根系中主要以乙醇和 NaCl 提取态为主, 表明氨基酸盐、果胶酸、蛋白质在解毒 Zn 毒害过程中起重要作用。这与超富集植物长柔毛委陵菜 Zn 以氯化钠提取态、水提取态和乙醇提取态占优势的研究结果一致<sup>[16]</sup>。另外, Zn 在植物体中能与多种金属配位体结合, 这些配位体通过联合作用, 共同参与植物体内 Zn 的分布(包括器官、组织和亚细胞水平分布)和解毒, 其中水溶态和酯溶态有机配位体可能在 Zn 超富集中起关键作用。而水提取态主要提取与水溶性有机酸结合的 Zn, 乙醇主要提取与醇溶性蛋白质、氨基酸盐等结合的 Zn, NaCl 则为与果胶酸、蛋白质结合的 Zn。这表明有机酸、蛋白质以及氨基酸等这些水溶态和酯溶态有机配位体在圆锥南芥解毒 Zn 毒害过程中起重要作用。且 Zn 与氨基酸盐、果胶酸、蛋白质结合形成的螯合物可限制金属在体内的移动性, 从而减轻 Zn 离子的毒害<sup>[25]</sup>。在 Zn 浓度一定

时, 随着 Cd 的添加, 圆锥南芥中 Zn 的化学形态变化不明显, 这与低 Cd、Pb 处理对超富集植物长柔毛委陵菜 Zn 的化学形态分布的研究结果一致, 与高浓度 Cd、Pb 能够提高氯化钠提取态 Zn 的结果相反<sup>[9]</sup>, 这可能与 Cd 在圆锥南芥中与 Zn 竞争吸附位点有关, 也可能是 Pb/Zn/Cd 多金属超富集植物圆锥南芥与单一 Zn 超富集植物长柔毛委陵菜等在解毒机制上的区别, 这还值得深入探讨。

### 4 结论

1) 在 Zn/Cd 复合污染处理下, 圆锥南芥对 Cd 的吸收不会阻碍圆锥南芥对 Zn 的吸收。这证明圆锥南芥是修复 Zn/Cd 复合污染土壤不可多得的材料。

2) 细胞壁是圆锥南芥 Zn 主要结合位点。叶片与根系中的 Zn 主要分布在细胞壁和细胞核中。表明圆锥南芥将大部分的 Zn 贮存于圆锥南芥的非生理活动区, 这大大降低了 Zn 对圆锥南芥的毒害。且 Cd 的添加提高了细胞壁中 Zn 的比例, 促进了 Zn 向细胞壁中的转移。

3) 圆锥南芥中的 Zn 主要以 NaCl 提取态为主。说明圆锥南芥中的 Zn 易于与蛋白质、氨基酸以及水溶性有机酸等结合, 形成毒性更小的化合物, 从而降低了 Zn 对圆锥南芥的毒害, 有利于植物的生长。但 Cd 的添加对 Zn 化学形态的影响不明显。

#### 参考文献:

- [1] CLEMENS S, PALMGREN M G, KRAMER U, et al. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation[J]. Trends Plant Science, 2002, 7: 309 - 315.
- [2] HALL J L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance[J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53:1 - 11.
- [3] VAZQUEZ M D, POSCHENRIEDER Ch, BARCELO J, et al. Ultrastructural effects and localization of low cadmium concentrations in bean roots[J]. New Phytologist, 1992, 120: 215 - 226.
- [4] LI T Q, YANG X E, YANG J Y. Zn accumulation and subcellular distribution in the Zn hyperaccumulator *Sedum alfredii* Hance [J]. Pedosphere, 2006, 16(5): 616 - 623.
- [5] LOZANO-RODRIGUEZ E, HEMANDEZ L E, BONAY P, et al. Distribution of cadmium in shoot and root tissues of maize and pea plants: physiological disturbances [J]. Journal of Experimental Botany, 1997, 48: 123 -

- 128.
- [6] KUPPER H, ZHAO F J, McGRANTH S P, et al. Cellular compartmentation of zinc in leaves of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* [J]. *Plant Physiology*, 1999, 119:305 - 311.
- [7] VAZQUEZ M D, BARCELO J, POSCHENRIEDER C H, et al. Localization of zinc and cadmium in *Thlaspi caerulescens* (*Brassicaceae*), a metallophyte that can accumulate both metals [J]. *Journal of Plant Physiology*, 1992, 140:350 - 355.
- [8] AGER F J, YNSA M D, DOMINGUEZ-SOLIS J R, et al. Cadmium localization and quantification in the plant *Arabidopsis thaliana* using micro-PIXE [J]. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 2002, 189: 494 - 498.
- [9] 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.
- [10] LIU D H, KOTTKE I. Subcellular localization of copper in the root cells of *Allium sativum* by electron energy loss spectroscopy (EELS) [J]. *Bioresource Technology*, 2004, 94: 153 - 158.
- [11] KRAMER U, PICKERING I J, PRINCE R C, et al. Subcellular localization and speciation of nickel hyperaccumulator and non-accumulator *Thlaspi* species [J]. *Plant Physiology*, 2000, 122: 1343 - 1353.
- [12] WU F B, DONG J, QIAN Q Q. Subcellular distribution and chemical form of Cd and Cd-Zn interaction in different barley genotypes [J]. *Chemosphere*, 2005, 60: 1437 - 1446.
- [13] 汤叶涛, 仇荣亮, 曾晓雯, 等. 一种新发现的多金属超富集植物——圆锥南芥 [J]. *中山大学学报: 自然科学版*, 2005, 44(4): 135 - 136.
- [14] WEIGEL H J, JAGER H J. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean [J]. *Plant Physiology*, 1980, 65: 480 - 482.
- [15] GABBRIELLI R, PANDDFINI T, VERGNANO O, et al. Comparison of two serpentine species with different nickel tolerance strategies [J]. *Plant and Soil*, 1990, 22: 271 - 277.
- [16] 吴箐, 杜锁军, 曾晓雯, 等. 锌在长柔毛委陵菜细胞内的分布和化学形态研究 [J]. *生态环境*, 2006, 15(1): 40 - 44.
- [17] COSIO C, MARTINOIA E, KELLER C. Hyperaccumulation of cadmium and zinc in *Thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis halleri* at the leaf cellular level [J]. *Plant Physiology*, 2004, 134: 716 - 725.
- [18] BIDWELL S D, CRAWFORD S A, WOODROW I E, et al. Subcellular localization of Ni in the hyperaccumulator *Hybanthus floribundus* (Lindley) F. Muell [J]. *Plant, Cell and Environment*, 2004, 27: 705 - 716.
- [19] TURNER R G, MARSHALL C. The accumulation of Zn by subcellular fractions of *Agrostis tenuis* Sibth, in relation to zinc tolerance [J]. *New Phytologist*, 1972, 71: 671 - 675.
- [20] 熊愈辉, 杨肖娥, 叶正钱, 等. 两种生态型东南景天锌吸收与分布特性的研究 [J]. *浙江大学学报: 农业与生命科学版*, 2003, 29: 614 - 620.
- [21] SALT D E, PRINCE R C, BAKER A J, et al. Zinc legends in the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* as determined using X-ray absorption spectroscopy [J]. *Environmental Science Technology*, 1999, 33: 713 - 717.
- [22] ALLEN D L, JARRELL W M. Proton and copper adsorption to maize and soybean root cell walls [J]. *Plants Physiology*, 1989, 89:823 - 832.
- [23] HAYGENS R J. Ion exchange properties of roots and ionic interactions within the root POPL. Sn; their role in ion accumulation by plants [J]. *Botanical Review*, 1980, 46:75 - 99.
- [24] RAUSER W E. Structure and function of metal chelators produced by plants [J]. *Cell Biochem and Biophys*, 1999, 31:19 - 48.
- [25] BOOMINATHAN R, DORAN P M. Organic acid complexation, heavy metal distribution and the effect of ATPase inhibition in hairy roots of hyperaccumulator plant species [J]. *Journal of Biotechnology*, 2003, 101: 131 - 146.