

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

周小勇¹, 仇荣亮^{1,2*}, 胡鹏杰¹, 李清飞¹, 张涛¹, 于方明³, 赵璇¹

(1. 中山大学环境科学与工程学院, 广州 510275; 2. 广东省环境污染控制与修复技术重点实验室, 广州 510275; 3. 广西师范大学环境与资源学院, 桂林 541004)

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 和 Pb 及不同 Zn 盐对长柔毛委陵菜(*Potentilla griffithii* var. *velutina*) 叶片、叶柄和根中 Zn 的亚细胞分布和化学形态的影响. 结果表明, 除对照外, 长柔毛委陵菜体内 46% ~ 74% 和 16% ~ 33% 的 Zn 分别分布在细胞壁和可溶部分中; 在所有处理中, 细胞壁和可溶部分的 Zn 含量占总量的 74% ~ 95%, 这说明细胞壁和可溶部分是 Zn 在植物体内的 2 个主要分布位点. 与对照相比, Zn、Cd 和 Pb 的添加使 Zn 在细胞壁的分配比例显著增加 9% ~ 38% ($p < 0.05$), 而可溶部分的分配比例则显著减少 6% ~ 40% ($p < 0.05$). 与单 Zn 处理相比, Cd 和 Pb 虽然没有改变 Zn 亚细胞分布中“细胞壁 > 可溶部分 > 细胞核和叶绿体 > 线粒体”的格局, 但增加了在细胞壁或可溶部分的分配比例, 促进 Zn 向细胞壁或液泡中转移. Zn 在长柔毛委陵菜体内以多种化学形态存在: 在对照中植物各部位和单 Zn 处理的叶片中, Zn 的乙醇提取态和水提取态所占比例达到 61% ~ 87%; 在单 Zn 处理的叶柄和根中, Zn 的氯化钠提取态和乙醇提取态占总量的 62% ~ 73%; 在 Zn/Cd 和 Zn/Pb 复合处理中, 氯化钠提取态、乙醇提取态和水提取态等 3 种化学形态占总量的 70% ~ 89%. Zn、Cd 和 Pb 的添加大多提高了 Zn 的氯化钠提取态的分配比例, 而降低乙醇提取态的分配比例, 促进 Zn 向活性较弱的结合形态转移. 这些结果表明细胞壁固持、液泡区隔化和活性较强化学形态的减少是长柔毛委陵菜在单 Zn 处理、Zn/Cd 和 Zn/Pb 复合处理下耐 Zn 的主要机制. 此外, 不同 Zn 盐对长柔毛委陵菜的 Zn 亚细胞分布没有明显影响, 而硝酸锌处理使 Zn 的乙醇提取态成为优势形态.

关键词:长柔毛委陵菜; 亚细胞分布; 化学形态; 锌

中图分类号: X53; X503.23 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)07-2028-09

Effects of Cadmium and Lead on Subcellular Distribution and Chemical Form of Zinc in *Potentilla griffithii* var. *velutina*

ZHOU Xiao-yong¹, QIU Rong-liang^{1,2}, HU Peng-jie¹, LI Qing-fei¹, ZHANG Tao¹, YU Fang-ming³, ZHAO Xuan¹

(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; 3. College of Resource and Environment, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China)

Abstract: Using the differential centrifugation technique and sequential chemical extraction method, effects of Cd, Pb and different Zn salts on subcellular distribution and chemical form of Zn in Zn hyperaccumulator *Potentilla griffithii* var. *velutina* under nutrient solution culture were analyzed. Under all treatments except for the control, 46%-74% and 16%-33% of total Zn in the plants are distributed in cell wall and in soluble fraction, respectively. Further, 74%-95% of total Zn are localized in these two parts under all treatments, which suggest that cell wall and soluble fraction in the plant are major storage sites for Zn. Compared with the control, Zn percentage significantly increases by 9%-38% in the cell wall and decreases by 6%-40% in the soluble fraction with addition of Zn, Cd and Pb treatment ($p < 0.05$). Although the addition of Cd and Pb has no influence on the pattern of Zn subcellular distribution presenting cell wall > soluble fraction > karyon and chloroplast > mitochondrion, it generally reduces Zn percentage in the chloroplast, karyon and mitochondrion and increases that in the cell wall or soluble fraction, suggesting that Cd and Pb promote the transferring processes of Zn from organelle to either cell wall or vacuole. As to the chemical forms, 61%-87% of total Zn exist as ethanol- and water-extractable forms in plants under control and only leaves under Zn addition treatment; while 62%-73% of total Zn exist as NaCl- and ethanol-extractable forms in leafstalks and roots under Zn addition treatment. NaCl-, ethanol- and water-extractable forms are also the main chemical forms in the plants, occupied almost 70%-89% of total Zn under Zn/Cd and Zn/Pb compound treatments. The addition of Zn, Cd and Pb generally increases the percentage of NaCl-extractable Zn forms, but decreases that of ethanol-extractable Zn, which facilitates Zn chemical form transferring from relatively higher active forms to less active ones. These results mentioned above indicate that cell wall binding, vacuolar compartmentalization and reduction of total percentage in higher active chemical forms

收稿日期: 2007-07-24; 修订日期: 2007-10-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(40571144); 广东省自然科学基金重点项目(05101824); 广东省自然科学基金团队项目(06202438); 教育部“新世纪优秀人才支持计划”项目(NCET-04-0790); 985 二期“环境与污染控制技术创新平台”项目

作者简介: 周小勇(1976~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为重金属污染修复工程, E-mail: dhszy@hotmail.com

* 通讯联系人, E-mail: eesqrl@mail.sysu.edu.cn

are main tolerance mechanisms for Zn in *Potentilla griffithii* var. *velutina* in response to Zn, Zn/Cd and Zn/Pb treatments. Additionally, different Zinc salts have no obvious influence on Zn subcellular distribution in the plant, whereas the treatment of Zinc nitrate turns Zn ethanol-extraction to a dominant chemical form.

Key words: *Potentilla griffithii* var. *velutina*; subcellular distribution; chemical form; zinc

植物对重金属的抗性可通过避性和耐性 2 种途径来实现, 耐性又包括金属排斥和金属富集两个方面^[1]. 超富集植物富集重金属的特殊能力与其在细胞和亚细胞水平上对有毒金属的区隔化密切相关^[2], 所以研究亚细胞分布能为植物对重金属的解毒和生物富集机制提供必要信息^[3,4]. 迄今为止, 人们就重金属超富集植物的耐性和富集机制进行诸多研究. 在组织水平上, 重金属主要分布在表皮细胞、亚表皮细胞和表皮毛中^[2,5-7]; 在细胞水平上, 重金属则主要分布在细胞壁^[5,7,8]和液泡中^[6,9,10]. 国内外主要采用组织化学(histochemistry)^[11]、差速离心(cell fractionation)^[8,12]、X 射线微量分析(X-ray microanalysis)^[2,9,11]和微粒子诱导 X 射线发射(micro-PIXE)^[13]等技术研究重金属在植物组织、细胞和亚细胞水平上的分布, 其中差速离心技术因操作简单和能定量分析而得到较多应用^[8,12,14,15]. 重金属在植物体内结合形态的研究对揭示植物对重金属的毒理和耐性也有重要意义^[16,17]. 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^[2,4,18,19], 而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研究却鲜见报道.

长柔毛委陵菜(*Potentilla griffithii* var. *velutina*) 是新发现的一种 Zn 超富集植物^[20], 同时对 Cd 和 Pb 也表现出较强的吸收能力. 前期曾对硫酸锌处理下长柔毛委陵菜的亚细胞分布和化学形态作过报道^[15], 在此基础上, 本研究进一步分析了 Cd 和 Pb 复合处理及不同 Zn 盐对长柔毛委陵菜体内 Zn 的亚细胞分布和结合形态的影响, 以揭示长柔毛委陵菜在复合污染下耐 Zn 机制.

1 材料与方法

1.1 植物培养

供试植物为 Zn 超富集植物长柔毛委陵菜. 用采自云南铅锌矿区的种子在营养土中萌发, 生长 100 d 后, 选择长势良好和生长一致的植株, 用自来水洗净后移至 Hogland 全营养液培养, 其中 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 换成同浓度的 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 在温室预培养 4 d 后进行处理. 单 Zn 设置 2 个处理($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$): 10 和 100; Zn/Cd 设置 4 个处理($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$): 10 Zn + 5 Cd、10 Zn + 20 Cd、100 Zn + 5 Cd 和 100 Zn + 20 Cd; Zn/Pb 也设置

4 个处理($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$): 10 Zn + 10 Pb、10 Zn + 40 Pb、100 Zn + 10 Pb 和 100 Zn + 40 Pb; 另设一个对照(未加 Zn、Pb 和 Cd). Zn、Pb、Cd 分别以 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、Pb(NO_3)₂ 和 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 加入营养液中. 每个处理 3 个重复, 每个重复 3 株苗, 连续曝气, 每 4 d 更换 1 次营养液, 并用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 或 NaOH 调节 pH 至 5.6 左右, 21 d 后收获. 植株先用自来水冲洗, 再用 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 交换 20 min, 去除根系表面吸附的 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Cd^{2+} , 最后用去离子水洗净, 吸干表面水分, 保存于 -20°C 冰箱内备用. 每个处理的植物样品先分成叶片、叶柄和根系 3 个部位, 每个部位又分成 3 部分, 分别用于测定亚细胞组分、化学形态和重金属全量.

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. 在 Weigel 等^[21]和 Gabbrielli 等^[22]的方法基础上加以改进: 准确称取鲜样 0.500 0 g, 加入 20 mL 提取液 [$0.25 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖 + $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl 缓冲液 (pH 7.5) + $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 二硫赤鲜糖醇], 研磨匀浆, 匀浆液在冷冻离心机 300 r/min 下离心 30 s, 沉淀为细胞壁组分(F1); 上清液在 2 000 r/min 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 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°C 下进行.

1.3 植物体内的化学形态分析

采用化学试剂逐步提取法^[16], 具体操作如下: 准确称取鲜样 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°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°C 恒温振荡 1 h, 5 000 r/min 离心 10 min, 倒出上清液. 合并 2 次上清液. 采用下列 5 种提取剂依次逐步提取: 80% 乙醇(F_E), 去离子水(F_W), $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 溶液(F_{NaCl}), 2% HAc(F_{HAc}), $0.6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl(F_{HCl}), 最后为残留态(F_R).

1.4 Zn 含量的测定

以提取剂作为空白, 上清液直接用 HITACHI 公司生产的原子吸收分光光度计(Z-5000)测定 Zn 含量; 沉淀和残渣部分用去离子水多次冲洗转入 100

mL三角瓶中,在电热板上蒸干,与测定植物重金属全量一样采用 HNO₃-HClO₄ 法,消煮至澄清,用去离子水定容后测定.采用 SPSS11.5 软件对数据进行方差分析,用 Dunan 新复极差法(SSR)在显著水平 0.05 时作多重比较分析.

2 结果与分析

2.1 长柔毛委陵菜中 Zn 的亚细胞分布

表 1 Cd 对 Zn 在长柔毛委陵菜叶、柄和根中的亚细胞分布的影响¹⁾

Table 1 Effect of Cd on Zn subcellular distribution of leaves, leafstalks and roots in <i>Potentilla griffithii</i> var. <i>velutina</i>												
处理/mg·L ⁻¹		部 位	Zn 含量/mg·kg ⁻¹				回收率	分配比例/%				
Zn	Cd		F1	F2	F3	F4		全量	%	F1	F2	F3
0	0	叶	33.27 ± 8.89b	11.60 ± 2.31c	3.95 ± 1.59c	62.57 ± 5.11a	106.47 ± 9.62	94.86	29.61b	10.34ab	3.49bc	56.56a
		柄	21.18 ± 3.70a	8.51 ± 1.79b	5.04 ± 1.13b	25.52 ± 5.63a	57.20 ± 2.40	95.60	35.30d	14.11a	8.34abc	42.26a
		根	27.86 ± 2.84a	9.10 ± 0.56b	7.50 ± 1.43b	24.93 ± 5.31a	75.60 ± 2.68	88.71	40.13c	13.19b	11.00a	35.67a
10	0	叶	191.42 ± 14.38a	36.68 ± 7.30b	13.59 ± 1.70c	49.02 ± 3.25b	318.94 ± 15.04	91.15	65.79a	12.66a	4.67bc	16.89c
		柄	132.12 ± 9.09a	24.96 ± 1.84b	13.00 ± 1.60c	33.33 ± 4.52b	246.45 ± 25.12	82.53	64.92ab	12.30ab	6.41cd	16.37c
		根	135.52 ± 17.52a	40.33 ± 2.09b	19.17 ± 4.34c	45.53 ± 2.10b	275.50 ± 28.59	87.32	56.20c	16.83a	7.98b	18.99cd
	5	叶	146.57 ± 16.04a	19.98 ± 3.37c	20.93 ± 9.06c	55.63 ± 9.48b	269.09 ± 17.55	90.97	60.39a	8.25bc	8.58a	22.78bc
		柄	126.74 ± 8.52a	23.75 ± 7.47c	18.58 ± 1.94c	36.26 ± 1.56b	211.05 ± 22.04	97.41	61.80bc	11.41abc	9.06a	17.74c
		根	130.51 ± 14.86a	17.56 ± 3.19c	8.61 ± 1.63c	45.74 ± 8.81b	218.53 ± 9.67	92.81	64.46b	8.64c	4.30d	22.61c
	20	叶	152.60 ± 24.55a	24.22 ± 5.25c	13.99 ± 4.44c	62.94 ± 11.19b	259.32 ± 21.00	98.36	60.19a	9.51bc	5.46b	24.85b
		柄	136.77 ± 14.67a	20.77 ± 5.68c	15.48 ± 1.65c	44.73 ± 9.32b	231.96 ± 19.78	94.08	62.76abc	9.46bc	7.12bc	20.65c
		根	89.62 ± 16.10a	26.76 ± 2.01c	16.80 ± 2.50c	49.07 ± 2.93b	191.99 ± 11.82	94.96	48.94d	14.79ab	9.27ab	27.01b
100	0	叶	401.78 ± 18.82a	43.33 ± 5.58c	21.14 ± 2.85d	177.38 ± 10.73b	806.88 ± 27.13	79.77	62.42a	6.75cd	3.28bc	27.56b
		柄	591.95 ± 16.94a	92.31 ± 15.73c	42.04 ± 13.67d	142.22 ± 2.27b	1060.10 ± 14.43	81.93	68.19a	10.61bc	4.82d	16.37c
		根	605.69 ± 31.91a	146.72 ± 2.67b	48.16 ± 3.51c	160.10 ± 7.21b	1016.43 ± 37.89	94.51	63.03b	15.28ab	5.03cd	16.67d
	5	叶	818.01 ± 51.94a	57.18 ± 32.67c	34.63 ± 5.62c	307.73 ± 101.11b	1427.17 ± 215.09	85.55	67.77a	4.53de	2.85bc	24.86b
		柄	822.42 ± 172.24a	113.02 ± 25.54c	71.85 ± 5.17c	409.75 ± 88.81b	1639.41 ± 109.06	85.99	57.94c	8.07cd	5.17d	28.83b
		根	536.50 ± 64.37a	144.94 ± 7.19c	70.26 ± 10.15d	214.60 ± 13.19b	1058.26 ± 102.48	91.45	55.43c	15.05ab	7.26bc	22.26c
	20	叶	498.42 ± 63.64a	19.30 ± 5.02c	15.79 ± 3.14c	218.63 ± 33.19b	816.82 ± 110.07	92.45	66.19a	2.63e	2.13c	29.06b
		柄	508.57 ± 37.16a	53.84 ± 10.79c	18.34 ± 5.83c	285.17 ± 78.54b	949.18 ± 125.63	91.26	59.03c	6.34d	2.09e	32.53b
		根	522.60 ± 35.46a	45.16 ± 4.84c	15.46 ± 4.79c	122.89 ± 7.65b	786.99 ± 33.44	89.85	73.98a	6.40d	2.17d	17.44d

1) F1 为细胞壁组分,F2 为细胞核和叶绿体组分,F3 为线粒体组分,F4 为可溶组分.表中 Zn 含量为植株鲜重含量,表中数据为平均值±标准差(n=3),Zn 含量中同一行的不同字母和分配比例中同一列中的相同部位的不同字母表示有显著差异(p<0.05),下同

分的分布最高,占 46%~74%,其次是可溶组分 F4,占 16%~33%,两者占全量的 74%~95%,F2 和 F3 组分的分布都较低.同时,与对照相比,单 Zn 处理和 Zn/Cd 和 Zn/Pb 复合处理都使 F1 组分的分配显著增加 9%~38%,而 F4 组分的分配比例显著下降 6%~40%.以上结果说明细胞壁和含核糖体的可溶组分是 Zn 在长柔毛委陵菜体内的主要分布位点,只有少量的 Zn 分布在细胞核、叶绿体和线粒体等细胞器中;也说明 Zn、Cd 和 Pb 的添加使细胞壁对 Zn 的滞留作用在显著增强.同时,与单 Zn 处理相比,Zn/Cd 和 Zn/Pb 复合处理对 Zn 亚细胞的分布 F1>F4>F2>F3 格局没有改变,但对 Zn 在各亚细胞组分的分配产生不同影响.

与对照相比,单 Zn 处理(表 1)使植物各部位的

Zn 在长柔毛委陵菜中的亚细胞分布如表 1 和表 2 所示.在植物的亚细胞组分分离中,Zn 的回收率达 80%~100%,说明差速离心法能较好用于 Zn 的亚细胞水平分布研究.

从表 1 和表 2 可知,除在对照中植物地上部(叶片和叶柄)呈现 F4>F1 外,在其它处理中植物各部位的 Zn 亚细胞组分的含量或分配比例都呈现 F1>F4>F2>F3 的分布格局,即均以含细胞壁的 F1 组

F1 组分的分配比例显著增加 16%~36%,而 F4 组分的分配比例却显著减少 17%~39%;并且高 Zn 处理(100 mg·L⁻¹)使植物各部位的 F1 和 F4 分配比例之和都高于对照.这说明植物细胞壁对 Zn 滞留作用随 Zn 处理浓度的增加而增强,同时高 Zn 处理减少 Zn 在细胞核、叶绿体和线粒体等细胞器中的分配比例,有利于植物进行正常的生理活动.

在 Zn/Cd 复合处理中(表 1),在叶片中,低 Zn (10 mg·L⁻¹)时 Cd 的添加使 Zn 在可溶组分 F4 的分配比例增加 6%以上,在高 Cd(20 mg·L⁻¹)处理时达到显著水平;同时,Zn 在 F1 和 F4 中的分配比例之和随 Cd 处理浓度的增加而增加.在叶柄中,高 Zn 时 Cd 的添加分别使 F1 组分的分配比例显著减少 9%以上,而 F4 组分的分配比例显著增加 12%以上,其

它 2 个组分的分配比例在高 Cd 处理中都显著下降. 在根中,低 Zn 时添加低 Cd($5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)和高 Zn 时添加高 Cd 一样,分别使 F1 组分的分配比例显著增加 8%和 11%,同时显著降低 F2 和 F3 组分的分配比例;低 Zn 时添加高 Cd 和高 Zn 时添加低 Cd 一样,分别显著降低 F1 的分配比例达 7%和 8%,同时分别显著增加 F4 的分配比例达 8%和 6%.上述结果表明 Cd 对 Zn 的亚细胞分布的影响主要表现在减少 Zn 在 F2 和 F3 组分的分布,增加向 F1 或 F4 组分中的分布,即 Cd 能促进 Zn 向细胞壁或可溶组分转移.

同样,在 Zn/Pb 复合处理中(表 2),在叶片中,加

Pb 使低 Zn 处理的 F1 组分的分配比例下降 5%以上,而使 F4 组分的分配比例显著增加 11%以上.在叶柄中,Pb 的添加使低 Zn 处理的 F1 组分的分配比例显著下降 11%~19%,而 F4 组分的分配比例显著上升 10%~14%;高 Zn 时 Pb 的添加导致 F1 组分的分配比例最大下降 12%,而 F4 组分的分配比例显著提高 4%~10%.在根中,低 Pb 使 F4 组分的 Zn 分配比例显著增加 10%.以上结果表明加 Pb 导致 Zn 在植物各部位的 F4 组分的分配比例增加和 F1 组分的分配比例下降,即 Pb 能促进 Zn 向可溶组分转移.

2.2 Zn 在长柔毛委陵菜中的化学形态分布

表 2 Pb 对 Zn 在长柔毛委陵菜叶、柄和根中的亚细胞分布的影响

Table 2 Effect of Pb on Zn subcellular distribution of leaves, leafstalks and roots in *Potentilla griffithii* var. *velutina*

处理/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$		部 位	Zn 含量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$					回收率		分配比例/%			
Zn	Pb		F1	F2	F3	F4	全量	/%		F1	F2	F3	F4
0	0	叶	33.27±8.89b	11.60±2.31c	3.95±1.59c	62.57±5.11a	106.47±9.62	94.86	29.61b	10.34ab	3.49b	56.56a	
		柄	21.18±3.70a	8.51±1.79b	5.04±1.13b	25.52±5.63a	57.20±2.40	95.60	35.30d	14.11a	8.34ab	42.26a	
		根	27.86±2.84a	9.10±0.56b	7.50±1.43b	24.93±5.31a	75.60±2.68	88.71	40.13d	13.19b	11.00a	35.67a	
0		叶	191.42±14.38a	36.68±7.30b	13.59±1.70c	49.02±3.25b	318.94±15.04	91.15	65.79a	12.66a	4.67b	16.89c	
		柄	132.12±9.09a	24.96±1.84b	13.00±1.60c	33.33±4.52b	246.45±25.12	82.53	64.92a	12.30abc	6.41bc	16.37e	
		根	135.52±17.52a	40.33±2.09b	19.17±4.34c	45.53±2.10b	275.50±28.59	87.32	56.20bc	16.83a	7.98b	18.99c	
10	10	叶	165.17±20.93a	18.39±6.41c	14.39±2.48c	77.50±15.25b	276.87±26.01	99.79	59.86a	6.62b	5.25ab	28.28b	
		柄	138.46±11.36a	28.53±3.97c	21.62±1.13c	67.30±13.20b	257.98±13.18	99.04	54.21b	11.12bc	8.55ab	26.12c	
		根	124.72±16.38a	21.33±2.86c	18.44±1.72c	67.42±3.62b	235.78±38.77	99.08	53.66c	9.18c	7.98b	29.18b	
	40	叶	150.62±50.91a	23.19±3.89bc	13.82±5.17c	70.71±12.90b	266.95±54.15	96.62	57.48a	9.40ab	5.57ab	27.55b	
		柄	90.14±15.06a	25.69±7.08c	19.56±5.66c	59.38±8.13b	198.67±51.03	99.54	46.25c	13.05ab	10.05a	30.65b	
		根	88.73±11.92a	22.91±6.01b	17.98±2.40b	29.20±3.16b	167.30±24.87	95.37	55.88bc	14.33ab	11.41a	18.39c	
100	0	叶	401.78±18.82a	43.33±5.58c	21.14±2.85d	177.38±10.73b	806.88±27.13	79.77	62.42a	6.75b	3.28b	27.56b	
		柄	591.95±16.94a	92.31±15.73c	42.04±13.67d	142.22±2.27b	1060.10±14.43	81.93	68.19a	10.61c	4.82c	16.37e	
		根	605.69±31.91a	146.72±2.67b	48.16±3.51c	160.10±7.21b	1016.43±37.89	94.51	63.03a	15.28ab	5.03cd	16.67c	
	10	叶	418.59±101.08a	78.49±3.98bc	33.95±7.04c	187.75±62.28b	789.91±119.88	90.69	58.00a	11.22a	4.73b	26.05b	
		柄	517.52±48.09a	100.80±11.91c	59.08±18.76c	244.77±18.76b	1029.64±138.82	89.97	56.14b	10.92bc	6.33bc	26.61c	
		根	490.59±131.90a	73.62±3.83c	28.00±13.79c	216.06±20.03b	869.92±211.65	93.87	60.08ab	9.27c	3.64d	27.00b	
	40	叶	369.11±76.92a	56.84±17.40c	46.49±13.23c	152.24±45.47b	679.37±82.73	91.27	59.29a	9.13ab	7.43a	24.16bc	
		柄	504.08±19.84a	63.16±14.98c	44.67±0.65c	158.82±16.24b	791.42±50.98	97.47	65.47a	8.14d	5.81bc	20.57d	
		根	538.13±111.87a	77.40±20.51c	53.59±14.21c	159.37±23.29b	844.73±122.58	97.56	64.92a	9.27c	6.42c	19.39c	

Zn 在长柔毛委陵菜中的化学形态分布如表 3 和表 4 所示.在植物的化学形态提取中,Zn 的回收率为 82%~100%,说明化学试剂逐步提取法也能很好的用于 Zn 的化学形态研究.

由表 3 可知,对照中植物叶片、叶柄和根的 Zn 化学形态都以乙醇提取态和水提取态为主,两者分别占总量的 87%、72%和 63%,表明植物体内的 Zn 主要以活性较强的结合形态存在,这可能与其体内 Zn 含量较低有关;单 Zn 处理中的叶片也以乙醇提取态和水提取态为主,两者分别占总量的 61%和 69%,而叶柄和根中却以氯化钠提取态和乙醇提取态为主,两者占总量的 62%~73%.与对照相比,单 Zn 处理使叶片和叶柄的乙醇提取态的分配比例显

著减少 18%~30%,根中的水提取态也分别显著减少 17%和 23%,而各部位的氯化钠提取态的分配比例却显著增加 6%~27%,并使叶片和根中的醋酸提取态分别显著增加 13%和 5%以上.总之,单 Zn 处理使植物各部位中活性较强的乙醇提取态和水提取态的所占比例之和比对照减少 15%~25%.

在 Zn/Cd 复合处理中(表 3),与单 Zn 处理不同的是,水提取态取代醋酸提取态与乙醇提取态和氯化钠提取态一起成为优势形态,三者占总量的 70%~88%,其中叶片中以乙醇提取态的含量最高,而叶柄和根中以氯化钠提取态的含量最高.同时,Cd 对 Zn 的化学形态分布产生不同影响.在叶片中,低 Zn 时添加 Cd 对 Zn 的乙醇、水、氯化钠提取态等主要形

表 3 Cd 对 Zn 在长柔毛酸模叶、柄和根中的化学形态分布的影响¹⁾
Table 3 Effect of Cd on Zn chemical form of leaves, leafstalks and roots in *Potentilla Griffithii* var. *velutina*

处理/mg·L ⁻¹		部 位	Zn 含量/mg·kg ⁻¹					回收率 /%	分配比例/%						
Zn	Cd		F _E	F _W	F _{NaCl}	F _{HAcl}	F _{HCl}	F _R	/%	F _E	F _W	F _{NaCl}	F _{HAcl}	F _{HCl}	F _R
0	0	叶	71.67 ± 10.13a	20.75 ± 2.25b	6.01 ± 1.58c	4.48 ± 2.16c	1.80 ± 0.53c	1.76 ± 0.41c	90.67	67.13a	19.48bc	5.66d	4.34d	1.71d	1.68a
		柄	30.28 ± 3.29a	10.76 ± 1.60b	5.76 ± 1.54c	4.75 ± 1.43c	3.20 ± 0.72c	2.44 ± 0.31c	90.78	52.83a	18.89a	10.14b	8.25a	5.62ab	4.27a
		根	25.22 ± 1.62a	22.58 ± 1.16a	11.14 ± 0.80de	9.33 ± 0.61cd	4.19 ± 0.89b	3.14 ± 0.93e	96.63	33.35ab	29.86a	14.72d	12.33b	5.55c	4.17b
10	5	叶	114.79 ± 8.61a	74.74 ± 13.08b	50.91 ± 13.45c	60.67 ± 7.81bc	4.74 ± 1.15d	2.28 ± 1.86d	96.61	37.22bc	24.17abc	16.62bc	19.71a	1.53d	0.74bc
		柄	63.77 ± 5.35a	45.03 ± 1.65b	71.92 ± 17.65a	24.56 ± 6.78c	8.08 ± 3.93d	6.52 ± 2.79d	89.22	29.17b	20.51a	32.47a	11.25a	3.66bc	2.94b
		根	96.41 ± 2.68a	34.47 ± 4.45c	73.74 ± 17.70b	45.53 ± 11.36c	15.40 ± 2.67d	5.62 ± 0.60d	98.43	35.55a	12.70cd	27.15c	16.83a	5.69c	2.07cd
20	20	叶	97.00 ± 23.37a	70.08 ± 16.92b	54.52 ± 6.79bc	34.95 ± 9.07c	8.20 ± 2.38d	2.25 ± 1.04d	99.62	36.26bc	26.27ab	20.43b	13.14bc	3.06c	0.84bc
		柄	58.14 ± 0.77ab	44.95 ± 17.27b	62.33 ± 10.03a	24.15 ± 6.09c	9.22 ± 0.36cd	5.56 ± 1.35d	96.97	28.56b	21.69a	30.48a	12.04a	4.53abc	2.70bc
		根	44.74 ± 2.59b	28.95 ± 5.88c	92.90 ± 7.92a	15.45 ± 4.28d	18.83 ± 6.30d	13.61 ± 2.33d	98.31	20.92c	13.54cd	43.32b	7.15c	8.70b	6.36a
100	5	叶	103.22 ± 15.43a	40.14 ± 13.07ab	54.01 ± 0.45b	31.60 ± 6.19c	11.95 ± 1.77d	1.98 ± 0.91d	94.16	42.55b	16.48c	22.24b	13.00bc	4.92b	0.81bc
		柄	57.52 ± 16.59ab	45.46 ± 4.12b	68.92 ± 5.29a	13.89 ± 3.44c	14.02 ± 5.23c	3.66 ± 0.40c	88.59	27.90b	22.40a	34.37a	6.77a	6.76a	1.80cd
		根	30.82 ± 4.73b	23.74 ± 4.75c	77.60 ± 3.36a	23.71 ± 4.40c	22.40 ± 2.27c	10.73 ± 2.37d	98.44	16.27d	12.49d	41.23b	12.49b	11.87a	5.66a
200	5	叶	331.79 ± 33.83a	189.83 ± 38.49b	86.90 ± 22.33c	130.29 ± 23.52c	15.71 ± 3.61d	4.62 ± 0.89d	94.09	43.73b	24.92ab	11.44c	17.24ab	2.07cd	0.61bc
		柄	342.38 ± 47.36a	177.75 ± 38.83b	362.53 ± 30.92a	69.61 ± 12.87c	11.77 ± 3.50d	8.37 ± 2.32d	91.73	35.12b	18.17a	37.39a	7.22a	1.23d	0.87de
		根	293.12 ± 16.80b	60.61 ± 6.27d	357.11 ± 36.94a	175.82 ± 9.90c	12.29 ± 2.42e	9.51 ± 0.56e	89.38	32.30ab	6.67e	39.27b	19.37a	1.36d	1.05d
200	5	叶	446.87 ± 63.35a	354.55 ± 85.00b	246.24 ± 25.86c	145.07 ± 21.17d	14.53 ± 0.78e	3.36 ± 0.97e	85.08	36.89bc	29.02a	20.38b	12.22bc	1.21d	0.28c
		柄	415.99 ± 115.94b	339.45 ± 43.77b	516.34 ± 21.63a	124.41 ± 54.80c	33.61 ± 12.99cd	7.55 ± 0.71d	88.01	28.72b	23.55a	36.09a	8.72a	2.38cd	0.54e
		根	173.91 ± 14.86b	160.37 ± 38.67b	556.34 ± 45.07a	114.39 ± 11.93c	40.90 ± 5.56d	8.34 ± 2.31d	99.71	16.50d	15.12c	52.81a	10.85bc	3.92cd	0.80d
200	20	叶	200.59 ± 34.43a	145.13 ± 30.82b	198.07 ± 27.52a	65.80 ± 17.93c	51.93 ± 9.39c	8.64 ± 1.55d	82.17	29.92c	21.55abc	29.74a	9.72c	7.78a	1.29ab
		柄	245.06 ± 74.60a	158.59 ± 38.31b	285.03 ± 14.80a	95.09 ± 12.32bc	49.39 ± 15.74cd	5.06 ± 1.46d	88.44	28.91b	18.79a	34.25a	11.36a	6.09ab	0.60e
		根	152.43 ± 19.36b	150.11 ± 13.80b	298.61 ± 13.34b	129.15 ± 12.51a	29.48 ± 10.99c	20.26 ± 4.27c	99.37	19.49c	19.22b	38.33b	16.65a	3.73cd	2.58c

1) FE 为乙醇提取态, FW 为水提取态, FNaCl 为氯化钠提取态, FHAcl 为醋酸提取态, FHCl 为盐酸提取态, FR 为残留态,下同

表 4 Pb 对 Zn 在长柔毛委陵菜叶、柄和根中的化学形态分布的影响¹⁾

Table 4 Effect of Pb on Zn chemical form of leaves, leafstalks and roots in <i>Potentilla griffithii</i> var. <i>velutina</i>															
处理/mg·L ⁻¹		部 位		Zn 含量/mg·kg ⁻¹					回收率 /%		分配比例/%				
Zn	Pb	F _E	F _W	F _{NaCl}	F _{HAc}	F _{HCl}	F _R			F _E	F _W	F _{NaCl}	F _{HAc}	F _{HCl}	F _R
0	叶	71.67 ± 10.13a	20.75 ± 2.25b	6.01 ± 1.58c	4.48 ± 2.16c	1.80 ± 0.53c	1.76 ± 0.41c	90.67		67.13a	19.48bc	5.66e	4.34d	1.71c	1.68b
	柄	30.28 ± 3.29a	10.76 ± 1.60b	5.76 ± 1.54c	4.75 ± 1.43c	3.20 ± 0.72c	2.44 ± 0.31c	90.78		52.83a	18.89abc	10.14d	8.25a	5.62a	4.27a
	根	25.22 ± 1.62a	22.58 ± 1.16a	11.14 ± 0.80de	9.33 ± 0.61cd	4.19 ± 0.89b	3.14 ± 0.93e	96.63		33.35a	29.86a [*]	14.72d	12.33b	5.55ab	4.17a
10	叶	114.79 ± 8.61a	74.74 ± 13.08b	50.91 ± 13.45c	60.67 ± 7.81bc	4.74 ± 1.15d	2.28 ± 1.86d	96.61		37.22c	24.17bc	16.62cd	19.71a	1.53c	0.74c
	柄	63.77 ± 5.35a	45.03 ± 1.65b	71.92 ± 17.65a	24.56 ± 6.78c	8.08 ± 3.93d	6.52 ± 2.79d	89.22		29.17bc	20.51abc	32.47c	11.25a	3.66bc	2.94b
	根	96.41 ± 2.68a	34.47 ± 4.45c	73.74 ± 17.70b	45.53 ± 11.36c	15.40 ± 2.67d	5.62 ± 0.60d	98.43		35.55a	12.70d	27.15c	16.83a	5.69a	2.07bc
40	叶	97.22 ± 6.73a	51.07 ± 8.72c	71.14 ± 5.16b	41.99 ± 4.60c	8.30 ± 1.79d	4.01 ± 1.25d	99.14		35.51c	18.59c	26.00bc	15.40a	3.02a	1.47bc
	柄	62.44 ± 2.46b	32.29 ± 4.25c	89.44 ± 13.58a	24.74 ± 3.63c	12.16 ± 2.68d	5.03 ± 1.33d	87.67		27.66c	14.32c	39.45bc	10.99a	5.35ab	2.22b
	根	35.61 ± 12.05bc	43.36 ± 4.65b	89.92 ± 12.79a	22.17 ± 4.05cd	12.04 ± 2.77de	6.39 ± 3.65e	89.50		16.88c	20.78b	42.97b	10.55b	5.76a	3.06ab
	叶	90.64 ± 11.13a	60.61 ± 14.54b	54.26 ± 6.26b	36.79 ± 13.69c	5.66 ± 1.58d	8.47 ± 1.55d	97.17		35.37c	23.51abc	21.23c	14.36a	2.22abc	3.31a
	柄	49.18 ± 8.68b	46.94 ± 8.98b	67.57 ± 11.40a	14.37 ± 2.33c	5.88 ± 0.76c	8.82 ± 0.39c	99.57		25.47c	24.22a	35.09c	7.55a	3.08cd	4.59a
	根	37.88 ± 4.76b	21.30 ± 1.94c	73.64 ± 14.66a	19.33 ± 2.29c	6.20 ± 2.55d	6.87 ± 0.53d	98.84		22.97b	12.95d	44.33b	11.78b	3.79bc	4.18a
0	叶	331.79 ± 33.83a	189.83 ± 38.49b	86.90 ± 22.33c	130.29 ± 23.52c	15.71 ± 3.61d	4.62 ± 0.89d	94.09		43.73b	24.92ab	11.44d	17.24a	2.07bc	0.61c
	柄	342.38 ± 47.36a	177.75 ± 38.83b	362.53 ± 30.92a	69.61 ± 12.87c	11.77 ± 3.50d	8.37 ± 2.32d	91.73		35.12b	18.17bc	37.39c	7.22a	1.23d	0.87c
	根	293.12 ± 16.80b	60.61 ± 6.27d	357.11 ± 36.94a	175.82 ± 9.90c	12.29 ± 2.42e	9.51 ± 0.56e	89.38		32.30a	6.67e	39.27b	19.37a	1.36d	1.05c
100	叶	200.59 ± 34.43a	145.13 ± 30.82b	198.07 ± 27.52a	65.80 ± 17.93c	51.93 ± 9.39c	8.64 ± 1.55d	88.13		20.63d	28.89a	29.10b	18.88a	1.69c	0.81bc
	柄	245.06 ± 74.60a	158.59 ± 38.31b	285.03 ± 14.80a	95.09 ± 12.32bc	49.39 ± 15.74cd	5.06 ± 1.46d	98.88		20.07d	20.44abc	46.14ab	11.07a	1.69d	0.59c
	根	152.43 ± 19.36b	150.11 ± 13.80b	298.61 ± 13.34b	129.15 ± 12.51a	29.48 ± 10.99c	20.26 ± 4.27c	99.40		16.88c	14.83cd	54.27a	9.16b	2.76cd	2.10bc
40	叶	141.81 ± 11.48b	200.18 ± 31.80a	200.63 ± 18.36a	131.42 ± 30.84b	11.62 ± 0.05c	5.65 ± 2.82c	99.30		20.51d	21.96bc	38.57a	15.20a	2.61ab	1.17bc
	柄	203.79 ± 32.80b	210.71 ± 68.80b	465.17 ± 27.36a	111.81 ± 31.52c	16.87 ± 4.70d	5.85 ± 0.95d	97.45		18.17d	21.69ab	49.38a	8.46a	1.55d	0.75c
	根	141.73 ± 3.71b	124.53 ± 5.64bc	459.43 ± 64.75a	77.24 ± 6.31c	23.42 ± 4.20d	18.19 ± 8.61d	97.45		11.80d	16.73c	56.18a	10.37b	2.93cd	1.98bc

态无显著影响;高 Zn 时添加 Cd 使乙醇提取态的分配比例降低 7% ~ 14%,而氯化钠提取态的分配比例显著增加 9% ~ 18%。在叶柄中,添加 Cd 对 Zn 的主要化学形态没有显著影响,但在根中,添加 Cd 使 Zn 的氯化钠提取态的分配比例显著增加,同时导致乙醇提取态显著下降 13% ~ 19%;虽然在高 Zn 时 Cd 的添加使水提取态的分配比例显著上升,但乙醇提取态和水提取态的分配比例之和比单 Zn 处理时低。以上结果说明 Cd 的添加促进植物体内的 Zn 向活性较弱的形态转移。

在 Zn/Pb 复合处理中(表 4),与 Zn/Cd 复合处理一样,植物各部位的化学形态以氯化钠提取态、乙醇提取态和水提取态为主导形态,三者占总量的 79% ~ 89%。同时,Pb 对 Zn 的化学形态分布也造成不同影响。在叶片和叶柄中,低 Zn 时添加 Pb 对 Zn 的氯化钠提取态、乙醇提取态和水提取态等主导形态无显著影响;高 Zn 时添加 Pb 使乙醇提取态的分配比例降低 15% ~ 23%,而氯化钠提取态的分配比例显著增加 9% ~ 27%;与 Cd 相比,高 Zn 时添加 Pb 使叶片和叶柄中的乙醇提取态的分配比例多减少 9% ~ 16%,而氯化钠提取态的分配比例多增加 9% ~ 15%。其中叶片中的高 Zn 时添加 Pb 使氯化钠提取态成为含量最高的形态,而乙醇提取态由首位形态跌至第 3 位,位于水提取态之后。在根中,Pb 的添加使根中 Zn 的氯化钠提取态的分配比例显著增加 15% ~ 17%,同时导致乙醇提取态显著下降 14% ~ 21%;虽然 Pb 的添加使根中水提取态的分配比例上升,但乙醇提取态和水提取态的分配比例总和比单 Zn 处理时低 7% ~ 12%。这些结果说明 Pb 的添加也促进植物体内的 Zn 向活性较弱的形态转移。

同时从表 3 和表 4 可知,所有处理中,植物各部位 Zn 的乙醇提取态和水提取态的分配比例之和呈现叶片 > 叶柄 > 根的格局,其分配比例的平均值分别为 60%、50% 和 38%;而氯化钠提取态却相反,即总体上表现为叶片 < 叶柄 < 根,其分配比例的平均值依次为 22%、35% 和 41%,这表明 Zn 在根中主要与蛋白质等结合向地上部运输,而在地上部以活性较强的形态存在,可能与有机酸等络合储存在液泡中。此外,Zn 的各种化学形态中,没有一种占绝对优势的形态存在,这说明植物各部位中的细胞中有多种配位基团与 Zn 结合。

3 讨论

3.1 关于长柔毛委陵菜的亚细胞分布

细胞壁固持和液泡区室化可能在植物对重金属的解毒、耐性和超富集方面起着主要作用^[23,24]。Zn 超富集植物 *Thlaspi caerulescens* 内的 Zn 主要富集在叶和根的液泡中,其次分布在叶的非原生质体中^[2,6,9];Zn 超富集植物 *Arabidopsis halleri* 中的 Zn 主要富集在根部表皮的细胞壁和叶肉细胞的液泡中^[5,7];同样,Zn 超富集植物东南景天(*Sedum alfredii*)中的 Zn 主要分布在细胞壁中,其次在可溶部分^[8]。在非超富集植物玉米中,Zn 也主要分布在细胞壁和以液泡为主的可溶部分中,只有少量的分布在叶绿体、线粒体、细胞核等细胞器中^[14]。本结果与上述结果类似,从表 1 和表 2 可知,长柔毛委陵菜各部位的 Zn 主要分布在细胞壁和可溶部分中,而在细胞核、叶绿体和线粒体中分布较少,表明细胞壁和以液泡为主的可溶部分是长柔毛委陵菜的储存 Zn 的 2 个最重要部位。Zn²⁺ 可能与长柔毛委陵菜细胞壁上的果胶质、多糖和蛋白质等成分结合,束缚大量的 Zn²⁺,减少其跨膜运输和向细胞内的迁移,从而降低原生质部分的 Zn²⁺ 浓度,细胞壁可能是保护原生质体免受 Zn 毒害的第一道屏障;进入细胞内的大部分 Zn²⁺ 与柠檬酸、苹果酸和草酸等有机酸络合,富集在以液泡为主的可溶部分^[18],使其它细胞器免受毒害。因此,Zn 在细胞壁沉淀和可溶部分的液泡区隔化可能是长柔毛委陵菜耐 Zn 的机制之一。

同时,从表 1 和表 2 可知,Cd 和 Pb 的添加基本上使植物各部位的 Zn 在细胞核、叶绿体和线粒体中的分配比例没有显著增加,大多数情况下反而显著下降,细胞壁或可溶部分的分配比例在大多数处理下显著上升,这表明在 Zn/Cd 和 Zn/Pb 复合污染下,非必需元素 Cd 和 Pb 一定会分布于植物的细胞核、叶绿体和线粒体中,导致这些器官中的重金属离子浓度高于单 Zn 处理时的 Zn²⁺ 浓度,但通过减少 Zn 在这些器官中的分布,并向细胞壁或以液泡为主的可溶部分转移,以此减轻 Cd 和 Pb 对植物的危害,这也许是长柔毛委陵菜适应 Zn/Cd 和 Zn/Pb 复合污染的一种防卫表现。

此外,本试验以相同的单 Zn 处理浓度(10 和 100 mg·L⁻¹)和培养时间(21 d)来比较不同 Zn 盐对长柔毛委陵菜亚细胞分布的影响。ZnSO₄·7H₂O 处理使植物各部位的 Zn 主要分布在细胞壁部分(40% ~ 55%),其次是可溶部分(17% ~ 27%),在叶绿体和线粒体中分布较少^[15]。而 Zn(NO₃)₂·6H₂O 处理使植物各部位的 Zn 也主要分布细胞壁部分(56% ~ 68%),其次是可溶部分(16% ~ 28%),其它细胞器

中也分布较少(表 1). 这说明不同 Zn 盐处理对 Zn 在长柔毛委陵菜的亚细胞分布格局没有明显影响.

3.2 关于长柔毛委陵菜的化学形态分布

采用乙醇、去离子水、氯化钠、醋酸和盐酸等不同提取剂, 顺序性提取植物组织中的不同结合形态的重金属, 随着上述提取剂极性的增强, 所提取出的重金属活性和在植物体内的迁移能力不断降低^[16, 25]. 东南景天的超累积生态型在 $\text{Zn} = 0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理时, 其叶和茎中的 Zn 以乙醇提取态、水提取态和氯化钠提取态为主导形态, 并认为 Zn 在植物体内与多种金属配位体结合^[26]. 本研究结果(表 3 和表 4)与对东南景天的研究结果相似, 叶片中也以乙醇提取态和水提取态占优势, 而在叶柄和根中基本上以氯化钠提取态、乙醇提取态和水提取态为主要结合形态. 但与青菜和玉米中 Zn 的化学形态分布有所差异, 青菜地上部和根部的 Zn 分别以醋酸提取态和氯化钠提取态、醋酸提取态为主^[25]; 而玉米根中的 Zn 以水提取态为主, 在叶和茎中以氯化钠提取态、醋酸提取态和水提取态为主要形态^[27]. 这说明 Zn 的化学形态分布与植物种类有关.

同时, 在 Zn/Cd 和 Zn/Pb 复合处理中, Cd 和 Pb 对高 Zn 处理时的叶片、Pb 对高 Zn 处理时的叶柄以及 Cd 和 Pb 对单 Zn 处理的根一样, 都显著降低了乙醇提取态的分配比例, 而显著提高了氯化钠提取态的分配比例(表 3 和表 4). 与此类似, 玉米在 NTA 诱导下, 叶和茎中的 Cu 和 Zn 的氯化钠提取态所占比例有所增加^[27]. 这说明在 Cd 和 Pb 对 Zn 化学形态的影响主要表现在减少活性较强形态的分布, 使 Zn 向活性较弱的结合形态转移, 从而增强植物对 Zn 的耐性. 这也许是长柔毛委陵菜适应复合污染的一种积极响应.

此外, 长柔毛委陵菜在 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 处理下的化学形态以氯化钠提取态和水提取态为主导形态, 这 2 种形态所占比例除在低 Zn 处理的叶片中较低外, 其它都在 55% ~ 72% 之间^[15]. 而在相同浓度的 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 处理下(表 3), 植物叶片中以乙醇提取态和水提取态为主, 两者占总量的 61% ~ 69%, 叶柄和根中都以氯化钠提取态和乙醇提取态为最高形态, 2 种形态占总量的 62% ~ 73%. 从中可以看出, $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 处理使乙醇提取态成为优势形态, 说明不同 Zn 盐对长柔毛委陵菜化学形态产生显著影响, 这与乙醇提取剂主要浸提的是以硝酸锌、氯化锌为主的无机盐及氨基酸盐有关^[16].

4 结论

(1) 长柔毛委陵菜的细胞壁和含核糖体的可溶部分是 Zn 在细胞内的主要结合位点, 而在其它 2 个组分的分布较少; 单 Zn 处理、Zn/Cd 和 Zn/Pb 复合处理都显著促进 Zn 在细胞壁的富集($p < 0.05$), 同时显著减少 Zn 在可溶部分的分布($p < 0.05$); 与单 Zn 处理相比, 虽然 Cd 和 Pb 没有改变 Zn 在各亚细胞组分所呈现的 $\text{F1} > \text{F4} > \text{F2} > \text{F3}$ 的分布总体格局, 但基本上减少 Zn 在细胞核、叶绿体和线粒体中的分布, 增加在细胞壁或可溶部分的比例, 从而促进 Zn 向细胞壁或液泡中转移.

(2) 不同处理对长柔毛委陵菜体内的 Zn 化学形态的影响不尽相同: 对照中的各部位和单 Zn 处理的叶片中都以乙醇提取态和水提取态为主, 单 Zn 处理的叶柄和根中主要以氯化钠提取态和乙醇提取态为优势形态; 而复合处理中植物各部位的 Zn 都以氯化钠提取态、乙醇提取态和水提取态占优势; 在所有处理中, Zn 的盐酸提取态和残留态的所占比例都较低; Zn、Cd 和 Pb 的添加大多能显著提高 Zn 的氯化钠提取态的分配比例, 而显著降低其乙醇提取态的分配比例, 从而促进 Zn 向活性较弱的结合形态转移.

(3) 不同 Zn 盐处理对长柔毛委陵菜体内 Zn 的亚细胞分布格局没有明显影响, 而硝酸锌处理使乙醇提取态变为优势形态.

参考文献:

[1] Baker A J M. Metal tolerance[J]. New Phytologist, 1987, **106**: 93-111.

[2] Küpper H, Zhao F J, McGrath S P. Cellular compartmentation of zinc in leaves of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* [J]. Plant Physiology, 1999, **119**: 305-311.

[3] Hall J L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance [J]. Journal of Experimental Botany, 2002, **53**: 1-11.

[4] 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.

[5] Küpper H, Lombi E, Zhao F J, et al. Cellular compartmentation of cadmium and zinc in relation to other elements in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri* [J]. Planta, 2000, **212**: 75-84.

[6] Frey B, Keller C, Zierold K, et al. Distribution of Zn in functionally different leaf epidermal cells of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* [J]. Plant, Cell and Environment, 2000, **23**: 675-687.

[7] Zhao F J, Lombi E, Brendon T, et al. Zinc hyperaccumulation and cellular distribution in *Arabidopsis halleri* [J]. Plant, Cell and Environment, 2000, **23**: 507-514.

- [8] Li T Q, Yang X E, Yang J Y, *et al.* Zn accumulation and subcellular distribution in the Zn hyperaccumulator *Sedum alfredii* Hance [J]. *Pedosphere*, 2006, **16**(5): 616-623.
- [9] Vázquez M D, Barceló 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.
- [10] Ma J F, Ueno D, Zhao F J, *et al.* Subcellular localisation of Cd and Zn in the leaves of a Cd-hyperaccumulating ecotype of *Thlaspi caerulescens* [J]. *Planta*, 2005, **220**: 731-736.
- [11] Vázquez M D, Poschenrieder C H, Barceló J. Ultrastructural effects and localization of low cadmium concentrations in bean roots[J]. *New Phytologist*, 1992, **120**: 215-226.
- [12] Lozano-Rodríguez E, Hernandez 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.
- [13] Ager F J, Ynsa M D, Domínguez-Solís 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.
- [14] 周建民, 党志, 陶雪琴, 等. NTA 对玉米体内 Cu、Zn 的积累及亚细胞分布的影响[J]. *环境科学*, 2005, **26**(6): 126-130.
- [15] 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.
- [16] 许嘉琳, 鲍子平, 杨居荣, 等. 农作物体内铅、镉、铜的化学形态研究[J]. *应用生态学报*, 1991, **2**(3): 244-248.
- [17] 杨居荣, 鲍子平, 张素芹. 镉、铅在植物体细胞内的分布和可溶性结合形态[J]. *中国环境科学*, 1993, **13**(4): 263-268.
- [18] Krämer 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.
- [19] Wu F B, Dong J, Qian Q Q, *et al.* Subcellular distribution and chemical form of Cd and Cd-Zn interaction in different barley genotypes [J]. *Chemosphere*, 2005, **60**: 1437-1446.
- [20] Qiu R L, Fang X H, Tang Y T, *et al.* Zinc Hyperaccumulation and Uptake by *Potentilla griffithii* Hook [J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2006, **8**(4): 299-310.
- [21] Weigel H J, Jäger H J. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean [J]. *Plant Physiology*, 1980, **65**: 480-482.
- [22] Gabbrielli R, Panddini T, Vergnano O, *et al.* Comparison of two serpentine species with different nickel tolerance strategies [J]. *Plant and Soil*, 1990, **22**: 271-277.
- [23] 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.
- [24] Bidwell S D, Crawford S A, Woodrow I E, *et al.* Sub-cellular localization of Ni in the hyperaccumulator, *Hybanthus floribundus* (Lindley) F. Muell [J]. *Plant, Cell and Environment*, 2004, **27**: 705-716.
- [25] 王学锋, 杨艳琴. 重金属镉锌铜在蔬菜体内的形态分布研究[J]. *环境科学与技术*, 2005, **28**(1): 34-35, 60.
- [26] 龙新宪. 东南景天(*Sedum alfredii* Hance)对锌的耐性和超积累机制的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2002. 71-78.
- [27] 周建民, 党志, 陈能场, 等. NTA 对玉米体内 Cu、Zn 的积累及化学形态的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2007, **26**(2): 453-457.