

杨樱, 张世熔, 李婷, 等. 2009 铜、铅在车前草中的亚细胞分配 [J]. 环境科学学报, 29 (9): 1964– 1969
Yang Y, Zhang S R, Li T. 2009 Subcellular distributions of copper and lead in *Herba Plantaginis* [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 29 (9): 1964– 1969

铜、铅在车前草中的亚细胞分配

杨樱, 张世熔*, 李婷, 姜洪敏, 陈红琳

四川农业大学资源环境学院, 雅安 625014
收稿日期: 2008-12-26 修回日期: 2009-04-15 录用日期: 2009-07-07

摘要: 通过盆栽试验研究了四川荣经县宝贝函 (BBD) 和泸县 (LX) 车前草在铜 (Cu)、铅 (Pb) 单元素污染处理下叶片中 Cu 和 Pb 的亚细胞分布特征. 结果表明, BBD 车前草生物量和富集 Cu Pb 的能力均明显高于 LX. 不同处理下, BBD 车前草各亚细胞组分中 Cu 和 Pb 含量变化特征为细胞器最高, 细胞壁次之, 胞液最低; LX 车前草各亚细胞组分中 Cu 和 Pb 含量变化特征为细胞壁最高, 细胞器次之, 胞液最低. BBD 和 LX 车前草亚细胞各组分 Pb 含量均高于 Cu. 细胞器是细胞最重要的光合作用和呼吸作用的场所, 结合 Cu、Pb 的能力较强, 细胞壁对进入植物体内的 Cu 和 Pb 有极强的束缚作用, 这可能是车前草能够解毒的重要原因.
关键词: 车前草; 亚细胞; 铜; 铅

文章编号: 0253-2468 (2009) 09-1964-06 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Subcellular distributions of copper and lead in *Herba Plantaginis*

YANG Ying, ZHANG Shirong*, LI Ting, JIANG Hongmin, CHEN Honglin

College of Resources and Environment of Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014
Received 26 December 2008; **received in revised form** 15 April 2009; **accepted** 7 July 2009

Abstract We studied the subcellular distributions of Cu and Pb in leaves of *Herba Plantaginis* taken from sites at Baobeilang (BBD) and Luxian (LX) in Sichuan Province. The results indicate that the biomass and the content of Cu and Pb were higher in *H. Plantaginis* from BBD than that from LX. The levels of Cu and Pb in *H. Plantaginis* from BBD were highest in the cytoplasmic organelles, less in the cell wall and lowest in the cytoplasmic supernatant. The levels of Cu and Pb in *H. Plantaginis* from LX were highest in the cell wall, less in the cytoplasmic organelles and lowest in the cytoplasmic supernatant. The level of Pb was higher than that of Cu in all subcellular fractions. Cytoplasmic organelles include the important sites involved in photosynthesis and respiration and have the capacity to absorb Cu and Pb. The cell wall can form very strong bonds with Cu and Pb. These findings may explain why *H. Plantaginis* is capable of detoxification.
Keywords *Herba Plantaginis*; subcellular distribution; copper; lead

1 引言 (Introduction)

车前草 (*Herba Plantaginis*) 系车前草科车前草属多年生草本植物, 是中药和染料制作的重要原料. 由于它抗逆性强、生长迅速, 在四川铜矿、铅锌矿区广泛分布, 是一种矿山污染土壤的潜在修复植物 (陆引罡等, 2004). 本研究初步野外调查发现, 车前草对 Cu 和 Pb 有明显的富集作用, 但二者在车前草亚细胞水平分布的特征却并不清楚. 因此, 本文在 2007 年初步试验的基础上, 改进试验方法, 以两

种不同地方的车前草为研究对象, 采用亚细胞分级方法分离出细胞壁、细胞器和胞液组分 (Ramos *et al*, 2002; 肖细元等, 2006), 通过化学分析方法测定各亚细胞组分中 Cu 和 Pb 的含量, 以期从亚细胞水平揭示车前草中 Cu 和 Pb 的分布特征, 为解释车前草对 Cu 和 Pb 的解毒机理提供新的实验证据.

2 材料与方法 (Materials and methods)

2.1 试验材料

试验用的两种车前草种子分别采自生态环境

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划 (No. 2008BAK51B01); 四川公益性科技攻关专项 (No. 2007NGY006)
Supported by the National Key Technology R&D Program of the “11th Five-year” Plan of China (No. 2008BAK51B01) and the Non-profit Program for Science and Technology Development of Sichuan Province (No. 2007NGY006)
作者简介: 杨樱 (1984—), 女, E-mail: yinghuapiao@163.com; * 通讯作者 (责任作者), E-mail: rsz01@163.com
Biography: YANG Ying (1984—), female, E-mail: yinghuapiao@163.com; * **Corresponding author** E-mail: rsz01@163.com
© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

有一定差异的荣经县宝贝凼矿区 (BBD)和泸州市泸县 (LX). 宝贝凼采样区位于中山下部, 海拔 1520.0m, 年均温 10.3℃, 月最高温 18.8℃, 最低温 0.1℃, 年降水 2432.4mm, 年蒸发量 512.9mm. 泸县采样区地貌类型为中丘, 海拔 620.3m, 年均温 17.8℃, 月最高温 27.4℃, 最低温 7.4℃, 年降水 1047.6mm, 年蒸发量 728.9mm.

2.2 盆栽试验

挑选两种地方的车前草饱满种子, 分别用质量

分数 0.1% 的 NaClO 浸泡消毒 30min, 再用蒸馏水冲洗干净, 平铺于垫有多层滤纸的培养皿中, 并置于光照培养箱中催芽. 培养箱中植物生长条件为培养光周期 16h/8h (光/暗), 昼、夜温度分别为 25、20℃. 待长出 3~4 片幼叶后, 选取长势基本一致的幼苗移栽至盆栽土壤中 (塑料盆高 20cm, 每盆装土 1kg). 用于盆栽的土壤为黄壤, 风干后过 2mm 筛, 土壤基本理化性质如表 1 所示.

表 1 供试土壤基本理化性质
Table 1 Some basic physical and chemical properties of the tested soil

pH	有机质 / (g kg ⁻¹)	全氮 / (g kg ⁻¹)	碱解氮 / (mg kg ⁻¹)	速效磷 / (mg kg ⁻¹)	速效钾 / (mg kg ⁻¹)	CEC / (cmol kg ⁻¹)	总铜 / (mg kg ⁻¹)	总铅 / (mg kg ⁻¹)
5.02	24.75	1.68	174.46	13.48	44.32	9.86	29.63	35.94

预培养 10d 后, 对车前草进行 Cu 和 Pb 单金属胁迫处理, 实验共设置 1 个对照 (T₀) 和 6 个处理水平 (T₁~T₆), 每个处理 3 次重复, 各处理水平如表 2 所示. Cu、Pb 分别以 CuSO₄·5H₂O 和 Pb(CH₃COO)₂·3H₂O 形态添加. 生长期间, 每天浇无离子水以保持水分, 每周观察其生长状况. 50d 后收获植株, 参考试验方法进行重金属在车前草亚细胞中分布的研究 (Rathore *et al.*, 1972; Ute *et al.*, 2000; Ni *et al.*, 2003; 陈同斌等, 2005; Wang *et al.*, 2007).

表 2 Cu 和 Pb 单金属处理水平

处理水平	Cu	Pb
T ₀	0	0
T ₁	250	250
T ₂	500	500
T ₃	750	750
T ₄	1000	1000
T ₅	1250	1250
T ₆	1500	1500

2.3 研究方法

2.3.1 植物的观察和采集 处理 50d 后收获植株, 小心剪下车前草叶片, 先用自来水冲洗附着在叶片表面的土壤, 然后用去离子水冲洗 3 次.

2.3.2 车前草亚细胞组分分级 从各处理的车前草植株中分别称取 1.0000g 叶片鲜样用于亚细胞分级实验. 参照 Hans (1980) 等建立的亚细胞分级方法, 采用预冷的匀浆液将其在冰浴上研磨成匀浆状 (万敏等, 2003; Sokolova *et al.*, 2005; Fahmi *et al.*, 2007). 匀浆液组成为 0.25mol·L⁻¹ 蔗糖、0.05mol·L⁻¹ (Tris-HCl) 缓冲液 (pH = 7.5)、1mmol·L⁻¹

二硫赤藓糖醇 (C₄H₁₀O₂S₂)、pH 值为 7.5 所有匀浆过程和分离过程温度均控制在 4℃. 具体步骤如下: 取匀浆液及组织 15~20mL, 注入 50mL 离心管中, 高速冷冻离心机中以 3000r·min⁻¹ 离心 30s, 下部沉淀和底层碎片为细胞壁 (cell wall) 组分. 上清液以 15000r·min⁻¹ 离心 30min, 底层碎片为细胞器组分 (cytoplasmic organelle), 上层清液为胞液组分 (cytoplasmic supernatant), 包括细胞质及液泡内大分子有机物及无机离子.

2.3.3 样品分析 分离后的细胞壁、细胞器和胞液组分经硝酸和高氯酸消化处理后, 采用美国热电公司的 CP-AES (RS In trip II) 光谱测定仪测定其中 Cu 和 Pb 的含量.

2.4 数据处理与分析

采用 SPSS 13.0 统计分析软件对数据进行统计分析.

3 结果 (Results)

3.1 车前草地上部生物量和铜铅含量

BBD 和 LX 车前草地上部生物量均随铜、铅处理水平的增加而呈现递减的趋势 (图 1). 在 Cu 单独处理下, 两地车前草在处理水平大于 250mg·kg⁻¹ 时, 均出现毒害作用. 当处理水平为 500mg·kg⁻¹ 时, 两地车前草生物量分别为 1.49mg·kg⁻¹ 和 1.24mg·kg⁻¹, 比其对照降低 61.10% 和 31.11%; 当处理水平为 1500mg·kg⁻¹ 时, 两地车前草生物量分别为 0.43mg·kg⁻¹ 和 0.74mg·kg⁻¹, 比其对照降低 88.77% 和 58.89%, 达到最小值. 在 Pb 单独处理下, 当处理水平为 0mg·kg⁻¹ 时, 两地车前草生物量

分别为 3.83mg kg^{-1} 和 1.80mg kg^{-1} ; 当处理水平为 1500mg kg^{-1} 时, 两地车前草生物量均为 1.18mg kg^{-1} , 比其对照降低 69.19% 和 34.44%, 达到最

小值. 总体而言, 高含量的 Cu、Pb 处理均对车前草的生长产生了明显的抑制作用, 植株矮小且叶色暗黄. BBD 车前草地上部生物量明显高于 LX

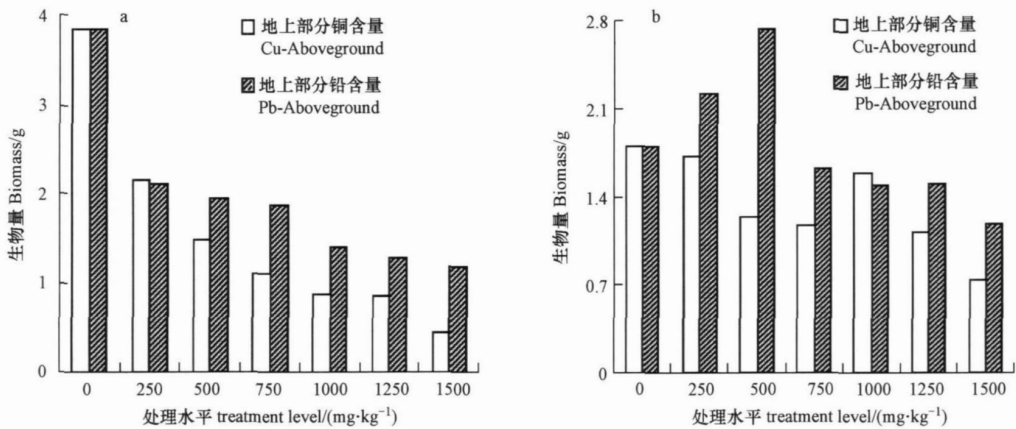


图 1 Cu 和 Pb 对 BBD 和 LX 地上部生物量的影响 (a BBD, b LX)
Fig. 1 Effects of Cu and Pb on Biomass from BBD and LX (a BBD, b LX)

BBD 和 LX 车前草地上部分 Cu 含量均随处理水平的增加呈现递增的趋势 (表 3). 从表 3 可以看出, 当处理水平为 1500mg kg^{-1} 时, 两地车前草地上部 Cu 含量分别为 1661.75mg kg^{-1} 和 1129.46mg kg^{-1} , 富集量达到最大, 分别比对照增加 55.06 倍和 61.08 倍. 方差分析表明, BBD 车前草各处理的 Cu 含量间存在极显著差异 ($F_{(6,14)} = 9.940^{**}, p = 0$). 采用最小显著差数法对它们平均值比较结果发现, T_6 除与 T_3 间差异达显著外 ($p < 0.05$), 与对照及其他处理之间的差异达极显著 ($p < 0.01$). LX 车前草各处理的 Cu 含量间存在显著差异 ($F_{(6,14)} = 4.184^*, p = 0.013$). 它们的平均值采用最小显著差数法比较的结果为: T_6 与 T_1 和 T_0 , T_5 与 T_0 间差异极显著 ($p < 0.01$), T_6 与 T_3 和 T_2 , T_5 与 T_2 和 T_1 , T_4 与 T_0 之间的差异显著 ($p < 0.05$), 其余浓度间差异

不显著 ($p > 0.05$).
BBD 和 LX 车前草 Pb 含量均随处理水平的增加呈现递增的趋势 (表 3). 当处理浓度为 1500mg kg^{-1} 时, 两地车前草 Pb 含量分别为 1511.55mg kg^{-1} 和 1341.79mg kg^{-1} , 富集量达到最大, 分别比对照增加 32.44 倍和 48.39 倍. 方差分析表明, BBD 车前草各处理的 Pb 含量间存在极显著差异 ($F_{(6,14)} = 27.207^{**}, p = 0$). 采用最小显著差数法对它们的平均值进行多重比较的结果发现, T_6 与 T_0 , T_1 , T_2 , T_3 之间的差异极显著 ($p < 0.01$). LX 车前草各处理的 Pb 含量间存在极显著差异 ($F_{(6,14)} = 9.649^{**}, p = 0$). 它们的平均值采用最小显著差数法比较的结果为: T_6 与 T_0 , T_1 , T_2 之间的差异达极显著 ($p < 0.01$), T_6 与 T_3 差异显著 ($p < 0.05$).

表 3 BBD 和 LX 车前草中 Cu 和 Pb 含量的统计特征
Table 3 Statistical characteristics of Cu and Pb contents from BBD and LX

处理水平	设定值	BBD 地上部分含量		LX 地上部分含量	
		Cu	Pb	Cu	Pb
T ₀	0	30.18 (Cd)	46.60 (Dd)	17.14 (Cd)	27.73 (Dd)
T ₁	250	124.38 (Ccd)	241.39 (dD)	274.85 (BCcd)	304.20 (C dD)
T ₂	500	269.11 (BCcd)	286.06 (dD)	340.31 (ABCcd)	367.76 (BC dD)
T ₃	750	507.55 (BlCcd)	489.40 (C dD)	506.20 (A BbCcd)	701.68 (A BlC c)
T ₄	1000	652.20 (BlC c)	925.48 (BbC)	595.32 (A aBlC c)	962.92 (A aBb)
T ₅	1250	928.25 (A Bb)	1201.24 (A aBb)	940.93 (A aBb)	1100.89 (A ab)
T ₆	1500	1661.75 (A a)	1511.55 (A a)	1129.46 (A a)	1341.79 (A a)

注: 多重比较采用最小显著差数法, 小写字母代表 0.05 显著水平, 大写字母代表 0.01 显著水平, 处理之间有相同字母者差异不显著.
© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

总体而言,两地车前草对 Cu Pb均有明显的富集能力,且 BBD 车前草对 Cu Pb的富集能力大于 LX,因此,车前草是一种治理 Cu Pb污染的潜在修复植物.

3 2 Cu的亚细胞分布

BBD 和 LX车前草叶片中 Cu的亚细胞分布主要从各亚细胞组分 Cu含量的变化趋势、各组分间 Cu含量的相关关系和两地车前草各组分间 Cu含量的差异比较进行分析.

3 2 1 各亚细胞组分 Cu含量的变化趋势 Cu在 T₀(对照)车前草叶片各组分的含量均很低(表 4);

在 T₁处理下,两地车前草各组分的 Cu 含量都有显著增加;在 T₃处理下,两地车前草各组分的 Cu 含量亦有显著增加;在 T₆处理下,两地车前草各组分 Cu 浓度达到了最大值. BBD 车前草叶片中各组分 Cu 含量大小为细胞器 >细胞壁 > 胞液,其中,细胞器、细胞壁和胞液组分 Cu 含量的最大值分别为 238.65、151.83和 66.80mg kg⁻¹. LX车前草叶片中各组分 Cu 含量大小为细胞壁 > 细胞器 > 胞液,其中,细胞壁、细胞器和胞液组分 Cu 含量的最大值分别为 133.93、111.42和 64.71mg kg⁻¹.

表 4 Cu在车前草叶片亚细胞中的分布
Table 4 Cu content in subcellular fractions in leaves ofH. Plantaginis mg kg⁻¹

地点	亚细胞组分	处理水平下 Cu含量						
		T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
BBD	CW	8.53 (28.86%)	44.35 (36.63%)	42.91 (25.03%)	66.91 (36.94%)	54.50 (29.76%)	49.35 (23.90%)	151.83 (35.05%)
	CO	14.97 (50.63%)	55.47 (45.81%)	96.52 (56.30%)	95.93 (52.96%)	61.83 (33.76%)	118.27 (57.28%)	238.65 (55.09%)
	CS	6.06 (20.51%)	21.26 (17.56%)	32.01 (18.67%)	18.28 (10.09%)	66.80 (36.48%)	38.86 (18.82%)	42.71 (9.86%)
LX	CW	5.43 (31.88%)	67.37 (43.03%)	75.47 (41.32%)	87.37 (41.73%)	103.24 (45.08%)	124.05 (43.46%)	133.93 (45.49%)
	CO	7.36 (43.23%)	71.98 (46.06%)	67.94 (37.20%)	75.47 (36.06%)	76.36 (33.34%)	96.68 (33.87%)	111.42 (37.84%)
	CS	4.24 (24.89%)	17.14 (10.93%)	39.23 (21.48%)	46.45 (22.20%)	49.44 (21.59%)	64.71 (22.67%)	49.09 (16.67%)

注: CW 为细胞壁, CO 为细胞器, CS为胞液;括号中的数值为各组分中 Cu的质量分数.

3 2 2 亚细胞组分间 Cu含量的相关关系 BBD 车前草叶片中,细胞壁与细胞器中 Cu含量的关系呈显著正相关($r=0.945^{**}$, $p<0.01$),其余各亚

表 5 亚细胞组分间 Cu含量的相关分析

亚细胞组分	BBD		LX	
	CW	CO	CW	CO
CO	0.945**	-	0.974**	-
CS	0.404	0.359	0.906**	0.820*

注: * $p<0.05$ ** $p<0.01$ CW 为细胞壁, CO 为细胞器, CS为胞液;“-”表示同种细胞器组分不作比较,下同.

细胞组分间 Cu含量的关系均不显著($p>0.05$)(表 5). LX 车前草叶片的细胞壁与细胞器、细胞壁与胞液中 Cu含量的关系显著正相关,其相关系数 r 分别为 0.974** 和 0.906* ($p<0.01$),细胞器与胞液中 Cu含量显著正相关($r=0.820^{*}$, $p<0.05$).

3 2 3 两地车前草各组分间 Cu含量的差异比较 在 T处理下,细胞壁和细胞器的 Cu含量以 LX 车前草较高,胞液的 Cu含量以 BBD 较高;在 T₆处理下,细胞壁和细胞器的 Cu含量以 BBD 车前草较高. Cu处理水平与 BBD和 LX车前草亚细胞各组分中 Cu含量的回归分析结果如表 6所示.

表 6 Cu处理下 BBD和 LX车前草 Cu含量的分布
Table 6 Cu content in subcellular fractions in leaves ofH. Plantaginis from BBD and LX

亚细胞组分	BBD		LX	
	方程	R ²	方程	R ²
CW	$Y=5.0\times10^{-5}X^2-0.0046X+25.799$	0.5991*	$Y=-4.0\times10^{-5}X^2+0.1292X+17.601$	0.9430**
CO	$Y=8.0\times10^{-5}X^2-0.0081X+40.102$	0.7524*	$Y=-3.0\times10^{-5}X^2+0.0931X+24.434$	0.8025**
CS	$Y=11.34e^{0.001X}$	0.5991*	$Y=-4.0\times10^{-5}X^2+0.0872X+1.8878$	0.9430**

注: Y表示车前草各亚细胞组分累积 Cu量 (mg kg⁻¹), X表示 Cu处理水平 (mg kg⁻¹); F 检验: * $p<0.05$ ** $p<0.01$; CW 为细胞壁, CO为细胞器, CS为胞液.

3 3 Pb的亚细胞分布

BBD 和 LX 车前草叶片中 Pb的亚细胞的分布主要从各亚细胞组分 Pb 含量的变化趋势、各组分间 Pb含量的相关关系和两地车前草各组分间 Pb含量的差异比较进行分析。

3 3 1 各亚细胞组分 Pb的变化趋势 Pb在 T₀ (对照)车前草叶片各组分的含量均很低 (表 7); 在 T₁处理下, 两地车前草各组分的 Pb含量都有显著增加; 在 T₃处理下, 两地车前草各组分的 Pb含量亦有

显著增加; 在 T₆处理下, 两地车前草各组分 Pb含量达到了最大值。BBD 车前草叶片中各组分 Pb 含量大小为细胞器>细胞壁>胞液, 其中, 细胞器、细胞壁和胞液组分 Pb 含量的最大值分别为 369 72 225 59和 42 19mg kg⁻¹。LX 车前草叶片中各组分 Pb含量大小为细胞壁>细胞器 >胞液, 其中, 细胞壁、细胞器和胞液组分 Pb 含量的最大值分别为 297 89 237 41和 127 98mg kg⁻¹。两地车前草各亚细胞组分中 Pb含量均高于 Cu

表 7 Pb在车前草叶片中的亚细胞分布
Table 7 Pb content in subcellular fractions in leaves of*H. Plantaginis* mg kg⁻¹

地点	亚细胞组分	各处理水平 Pb含量						
		T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
BBD	CW	15. 52 (33. 71%)	69 22 (52 17%)	109 88 (50 48%)	61. 90 (22 24%)	131 47 (34 51%)	206 28 (38 39%)	225 59 (35 39%)
	CO	20. 94 (45. 47%)	53 37 (40 23%)	82 72 (38 00%)	193. 38 (69. 49%)	229 89 (60 34%)	304 78 (56 72%)	369 72 (58 00%)
	CS	9. 59 (20. 82%)	10 08 (7 60%)	25 08 (11 52%)	23. 00 (8 27%)	19 64 (5 16%)	26 27 (4 89%)	42 19 (6 62%)
LX	CW	9. 15 (33. 58%)	59 84 (35 79%)	110 04 (43 15%)	156. 44 (50 12%)	199 92 (41 91%)	231 09 (47 18%)	297 89 (44 91%)
	CO	11. 63 (42 68%)	64 62 (38 63%)	75 55 (29 62%)	125. 26 (40 14%)	206 15 (43 22%)	192 63 (39 33%)	237 41 (35 79%)
	CS	6. 47 (23 73%)	42 73 (25 56%)	69 44 (27 23%)	30 40 (9 74%)	70 91 (14 87%)	66 09 (13 49%)	127 98 (19 29%)

注: CW 为细胞壁, CO为细胞器, CS为胞液; 括号中的数值为各组分中 Pb的质量分数。

3 3 2 亚细胞组分间 Pb含量的相关关系 BBD 车前草叶片中, 细胞壁与细胞器中 Pb 含量显著正相关 ($r=0.893^{**}$, $p<0.01$); 细胞壁与胞液、细胞器与胞液中 Pb含量显著正相关, 其相关系数 r 分别为 0.837^{*} 和 0.846^{*} ($p<0.05$) (表 8)。LX车前草

叶片中, 细胞壁与细胞器中 Pb 含量呈显著正相关 ($r=0.975^{**}$, $p<0.01$); 细胞壁与胞液、细胞器与胞液中 Pb含量呈显著正相关, 其相关系数 r 分别为 0.846^{*} 和 0.802^{*} ($p<0.05$)。

3 3 3 两地间车前草各组分 Pb含量的差异比较 Pb对照处理的细胞壁、细胞器和胞液中 Pb 含量均以 BBD 车前草较高; 在 T₁处理中, 细胞壁的 Pb含量以 BBD车前草较高, 细胞器和胞液的 Pb含量以 LX 车前草较高; 在 T₆处理中, 细胞壁和胞液中 Pb含量以 LX 车前草较高, 细胞器中 Pb含量以 BBD 车前草较高。Pb处理浓度与 BBD和 LX车前草亚细胞各组分中 Pb含量的回归分析结果如表 9所示。

表 8 亚细胞组分间 Pb含量的相关分析
Table 8 The correlation analysis of Pb content in subcellular fractions in leaves of*H. Plantaginis*

亚细胞组分	BBD		LX	
	CW	CO	CW	CO
CO	0.893 ^{**}	-	0.975 ^{**}	-
CS	0.837 [*]	0.846 [*]	0.846 [*]	0.802 [*]

注: * $p<0.05$ ** $p<0.01$ CW 为细胞壁, CO 为细胞器, CS 为胞液。

表 9 Pb处理下 BBD和 LX车前草 Pb含量的分布
Table 9 Pb content in subcellular fractions in leaves of*H. Plantaginis* from BBD and LX

亚细胞组分	BBD		LX	
	方程	R ²	方程	R ²
CW	$Y=0.1323X+17.917$	0.8591 ^{**}	$Y=-4.0\times10^{-6}X^2+0.1913X+11.7$	0.9952 ^{**}
CO	$Y=5.0\times10^{-5}X^2+0.1732X+11.903$	0.9851 ^{**}	$Y=-2.0\times10^{-5}X^2+0.1808X+10.457$	0.9417 ^{**}
CS	$Y=10.307e^{0.0009X}$	0.7802 ^{**}	$Y=2.0\times10^{-5}X^2+0.0219X+22.638$	0.7058 [*]

注: Y表示车前草各亚细胞组分累积 Pb量 (mg kg⁻¹), X表示 Pb处理水平 (mg kg⁻¹); F 检验: * $p<0.05$, ** $p<0.01$; CW 为细胞壁, CO为细胞器, CS为胞液。

4 讨论 (Discussion)

BBD车前草生物量和富集 Cu、Pb的能力均明显高于 LX。BBD车前草种子取自雅安市大相岭山区的宝贝沟矿区, LX车前草种子取自泸州市泸县农田, 采样地生态环境的差异可能是影响车前草对重金属富集能力的原因之一。两地车前草在高处理水平时 Cu、Pb含量均超过 1000mg kg^{-1} , 由此推断, 车前草是一种治理 Cu、Pb污染的潜在修复植物。

盆栽试验表明, 细胞器和细胞壁是车前草对 Cu 和 Pb进行富集和解毒的关键部位, 且两地车前草细胞壁与细胞器中 Cu和 Pb含量均显著正相关。细胞器是重要的光合作用和呼吸作用场所, 它由细胞核、核糖体、高尔基体、内质网、溶酶体、叶绿体、线粒体等组合而成, 结合 Cu、Pb的能力较强。但细胞器中 Cu和 Pb含量过高, 可能对生理功能产生一定的不良影响 (Nietal, 2005; Liaoetal, 2007)。细胞壁对进入植物体内的 Cu和 Pb有极强的束缚作用, 限制其进入细胞质内部。何冰 (2003) 等研究表明, 在以细胞壁为主体的非原生质体中, 多糖分子和蛋白质分子含有大量羟基、羧基、醛基和磷酸基等亲金属离子的配位基团, 可与金属离子配位而贮藏部分金属, 减少这些离子的跨膜运输, 降低细胞代谢中心——原生质体的金属含量, 以维持细胞的正常生理代谢 (Chouetal, 2007)。亚细胞水平的 Cu、Pb分布研究结果表明, 细胞器和细胞壁组分是车前草聚集 Cu、Pb的主要组分, 它们可能是车前草对铜铅进行富集和解毒的关键部位。

5 结论 (Conclusions)

1) BBD车前草生物量和富集 Cu、Pb的能力均明显高于 LX。2) 不同处理水平下, BBD车前草各亚细胞组分中 Cu和 Pb含量变化特征为细胞器最高, 细胞壁次之, 胞液最低; LX车前草各亚细胞组分中 Cu和 Pb含量变化特征为细胞壁最高, 细胞器次之, 胞液最低。3) BBD和 LX车前草亚细胞各组分中 Pb含量高于 Cu。

责任作者简介: 张世熔 (1963—), 男, 教授 (博士)。主要研究方向为土壤污染修复。

参考文献 (References):

陈同斌, 阎秀兰, 廖晓勇, 等. 2005 蜈蚣草中砷的亚细胞分布与区隔化作用 [J]. 科学通报, 50(24): 2739—2744

Chen T B, Yan X L, Liao X Y, et al. 2005 Subcellular distribution and compartmentalization of arsenic in *Pteris vittata* L. [J]. Chinese

Science Bulletin, 50(24): 2739—2744 (in Chinese)

Chou K C, Shen H B. 2007 Recent progress in protein subcellular location prediction [J]. Analytical Biochemistry, 370: 1—16

Fahmi C J. 2007. Biological applications of X-ray fluorescence microscopy: Exploring the subcellular topography and speciation of transition metals [J]. Bioinorganic Chemistry, 111: 121—127

Hans JW, Hans JJ. 1980 Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plants [J]. Plant Physiology, 65: 480—482

He B, Yang X E, Ni W Z, et al. 2003 Pb uptake accumulation subcellular distribution in a Pb-accumulating ecotype of *Salvinia alfredii* (Hance) [J]. Journal of Zhejiang University Science, 4(4): 474—479

Li T Q, Yang X E, Yang J Y, et al. 2006 Zn accumulation and subcellular distribution in the Zn hyperaccumulator *Salvinia alfredii* Hance [J]. Pedosphere, 16(5): 616—623

廖晓勇, 谢华, 陈同斌, 等. 2007 蜈蚣草的超微结构和砷、钙的亚细胞分布 [J]. 植物营养与肥料学报, 13(2): 305—312

Liao X Y, Xie H, Chen T B, et al. 2007. Ultrastructure and subcellular distributions of arsenic and calcium in *Pteris vittata* L. [J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 13(2): 305—312 (in Chinese)

陆引罡, 黄建国, 滕应, 等. 2004 重金属富集植物车前草对镍的响应 [J]. 水土保持学报, 18(1): 108—114

Lu Y G, Huang J G, Teng Y, et al. 2004. Growth and uptake response to Ni by hyperaccumulator plantain [J]. Journal of Soil and Water Conservation, 18(1): 108—114 (in Chinese)

Ni C Y, Chen Y X, Lin Q, et al. 2005. Subcellular localization of copper in tolerant and non-tolerant plant [J]. Journal of Environmental Science, 17(3): 452—456

Ni T H, Wei Y Z. 2003. Subcellular distribution of cadmium in mining ecotype *Salvinia alfredii* [J]. Acta Botanica Sinica, 45(8): 925—928

Ramos I, Esteban E, Lucena J J, et al. 2002. Cadmium uptake and sub-cellular distribution in plants of *Lactuca* sp. Cd-Mn interaction [J]. Plant Science, 162: 761—767

Rathore V S, Bajaj Y P, Wrttwer S H. 1972. Subcellular localization of zinc and calcium in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) tissues [J]. Plant Physiology, 49: 207—211

Sokolova I M, Ringwood A H, Johnson C. 2005. Tissue-specific accumulation of cadmium in subcellular compartments of eastern oysters *Crassostrea virginica* Gmelin (Bivalvia: Ostreidae) [J]. Aquatic Toxicology, 74: 218—228

Ute K, Ingrid J P, Roger C P, et al. 2000. Subcellular localization and speciation of nickel in hyperaccumulator and non-accumulator *Thlaspi* species [J]. Plant Physiology, 122: 1343—1353

万敏, 周卫, 林葆. 2003. 镉积累不同类型的小麦细胞镉的亚细胞和分子分布 [J]. 中国农业科学, 36(6): 671—675

Wan M, Zhou W, Lin B. 2003. Subcellular and molecular distribution of cadmium in two wheat genotypes differing in shoot/root Cd partitioning [J]. Scientia Agricultura Sinica, 36(6): 671—675 (in Chinese)

Wang X, Lin Y G, Zeng G M, et al. 2007. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Bedmeria niva* (L.) Gaud [J]. Environmental and Experimental Botany, 10: 1016—1032

肖细元, 廖晓勇, 陈同斌, 等. 2006 砷超富集植物蜈蚣草中磷和钙的亚细胞分布及其与耐砷毒的关系 [J]. 环境科学学报, 26(6): 954—961

Xiao X Y, Liao X Y, Chen T B, et al. 2006. Subcellular distribution of phosphorus and calcium in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and its tolerance to phytotoxicity of arsenic [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 26(6): 954—961 (in Chinese)