

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 distributions 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
[免审稿件] 责任编辑提示: 本刊欢迎广大读者针对免审稿件提出各种意见

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

肖细元^{1, 2}, 廖晓勇¹, 陈同斌^{1, *}, 阎秀兰^{1, 2}, 谢 华^{1, 2}, 翟丽梅^{1, 2}, 武 斌^{1, 2}

1. 中国科学院地理科学与资源研究所环境修复中心, 北京 100101

2. 中国科学院研究生院, 北京 100049

收稿日期: 2005-12-12 修回日期: 2006-04-04 录用日期: 2006-04-28

摘要: 为了在研究砷超富集植物蜈蚣草中磷和钙的亚细胞分布, 并探讨其与蜈蚣草耐砷毒的关系进行了试验研究. 结果表明, 蜈蚣草吸收的磷主要分布在胞质组分中 (平均占各部位总磷含量的 44% 以上), 吸收的钙主要分布在细胞壁组分中 (平均占各部位总钙含量的 48% 以上). 与低钙 (0.03 和 $2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 处理相比, 高钙 ($5.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 处理时, 根部的胞质组分和叶柄的细胞器组分中磷含量较高. 各器官的亚细胞组分中钙含量随着介质中添加钙浓度的提高而增加. 介质钙浓度过高会抑制蜈蚣草的生长. 在加砷处理下, 根部和叶柄细胞壁组分的磷含量有所减少, 但地上部细胞器组分的磷含量及其含磷总量占植株含磷总量的相对比例、根部细胞壁组分的钙含量增加. 蜈蚣草自主调节磷和钙的亚细胞水平分布可能是其耐砷毒的机制之一.

关键词: 砷; 磷; 钙; 蜈蚣草; 毒害; 亚细胞定位

文章编号: 0253-2468(2006)06-0954-08

中图分类号: X171.5

文献标识码: A

Subcellular distributions of phosphorus and calcium in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and its tolerance to phytotoxicity of arsenic

XIAO Xiyuan^{1, 2}, LIAO Xiaoyong¹, CHEN Tongbin^{1, *}, YAN Xiulan^{1, 2}, XIE Hua, ZHAO Limei, WU Bin

1. Center for Environmental Remediation, Institute of Geographic Sciences and Natural Resources Research, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101

2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049

Received 12 December 2005;

received in revised form 4 April 2006;

accepted 28 April 2006

Abstract: The subcellular distributions of phosphorus (P) and calcium (Ca) in *Pteris vittata* L., an arsenic (As) hyperaccumulator, were examined to explore the mechanisms of As tolerance of these plants grown under sand culture conditions. The results indicated that more than 44% of P was localized in the cytoplasmic supernatant fractions in roots, petioles and pinnae, and 48% of the absorbed Ca was localized in the plant cell walls. Calcium treatments ($5.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) enhanced significantly P contents in root cytoplasmic supernatants and in petiole organelle fractions. Moreover, the Ca contents in each *P. vittata* L. subcellular fraction were enhanced with subsequent Ca additions to the culture media. These findings indicate that Ca may interfere with the normal physiological nutrient metabolism of P and Ca, and with plant growth rates. The amount of P bound to the organelles aboveground increased with additional As treatments, and the percentage of P accumulation in the shoot organelle fractions of *P. vittata* L. was also enhanced. However, the P contents in the root and petiole cell wall fractions decreased to some extent. Added As also increased the Ca content root cell wall fractions, which may help maintain cell wall stability. Thus, the subcellular distributions of P and Ca acclimated to As stress may help *P. vittata* L. tolerate As phytotoxicity, and maintain its normal growth rate.

Keywords: arsenic; phosphorus; calcium; *Pteris vittata* L.; phytotoxicity; subcellular localization

蜈蚣草 (*Pteris vittata* L.) 是一种富集砷能力强、(hyperaccumulator) (陈同斌等, 2002a). 目前, 对蜈蚣草耐砷毒能力和砷富集机制等问题已开展了相

基金项目: 国家杰出青年科学基金项目 (No. 40325003)

Supported by the National Science Foundation for Distinguished Young Scholar (No. 40325003)

作者简介: 肖细元 (1973—), 博士生, E-mail: xiaoxy@igsrr.ac.cn; *通讯作者 (责任作者), E-mail: chentb@igsrr.ac.cn

Biography: XIAO Xiyuan (1973—), Ph. D. candidate, E-mail: xiaoxy@igsrr.ac.cn; * Corresponding author, E-mail: chentb@igsrr.ac.cn

关研究(陈同斌等, 2004;李文学等, 2004; 2005). 田间试验结果证明,蜈蚣草在砷污染土壤修复方面有良好的应用前景(廖晓勇等, 2004).

钙是植物必需的中量营养元素,可参与并调节细胞的生理生化反应,维持细胞壁的结构及细胞膜的正常功能,增强植物抵御环境胁迫的能力(Kauss *et al*, 1987).室内条件下,添加一定浓度的砷能明显促进普通植物 *Spartina alterniflora* (Carbonell *et al*, 1998)、菜豆 (*Phaseolus vulgaris* L.) (Carbonell *et al*, 1997)和水稻(Marin, 1992)对钙的吸收.Cox(1995)指出,欧洲油菜(*Brassica napus* L.)地上部钙含量与添加有机胂酸盐(MSMA和DSMA)浓度呈直线相关.这些研究表明,当普通植物受砷毒害时可通过改善钙营养达到解毒的目的.蜈蚣草是钙质土壤的指示植物,加砷处理可促进其对钙的吸收及钙由叶柄向羽叶的转运(廖晓勇等, 2003),其成熟羽叶中钙含量随砷处理浓度的增加而显著增加(Li *et al*, 2006).但也有报道指出,介质中高浓度的钙明显抑制蜈蚣草对钾、镁、锰等营养元素的吸收和转运(肖细元等, 2003),增加根部的磷含量并抑制植株生长(廖晓勇等, 2003).

土壤-植物系统中的砷、磷关系是一个比较受关注的问题.磷是植物必需的大量营养元素,是磷脂、核苷酸、核酸、核蛋白、ATP酶等物质的重要组分,在植物能量转化及物质代谢等方面有重要作用.在化学元素周期表中,砷与磷同属第ⅤA族元素; AsO_4^{3-} 在结构上与 PO_4^{3-} 很相似,它可通过磷转运途径进入细胞,干扰植物体内的氧化磷酸化过程而产生毒害(Wickes *et al*, 1976).在普通植物小麦(Asher *et al*, 1979)及砷耐性植物绒毛草(*Holcus lanatus* L.) (Merharg *et al*, 1994)中,砷、磷之间表现为竞争作用.因此,目前学术界的流行观点认为,在土壤和植物系统中的砷、磷呈竞争关系(Merharg *et al*, 1992; Heeraman *et al*, 2001).但本研究小组的室内和田间试验结果最新发现,添加适量的磷肥可以提高蜈蚣草对砷的吸收效率,在蜈蚣草中磷、砷之间呈现协同效应(陈同斌等, 2002b; 廖晓勇等, 2004).后来, Tu(2005)等人对蜈蚣草的研究也进一步证实了我们所发现的现象.

现有研究已证明,磷和钙会影响普通植物和蜈蚣草体内砷的行为.本文则主要研究蜈蚣草中磷、钙的亚细胞分布特征及其耐砷毒的可能机制.

1 材料与方法 (Materials and methods)

将来自湖南的蜈蚣草孢子撒在盛土的塑料盆中育苗.长出2片幼叶后,预培养30d,移栽到干净的石英砂介质中,每盆4株苗.移栽后放在人工气候箱中于26/20℃下培养,每天光照14h,相对湿度85%.以改进的Hoagland缺钙营养液进行培养.试验采用2因素3水平的完全设计,添加砷浓度为:0、0.1、0.2 mmol·L⁻¹,添加钙浓度为:0.03、2.5、5.0 mmol·L⁻¹,共9个处理,各处理重复4次.其中砷源为 $\text{Na}_2\text{HAsO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$,钙源为 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$.蜈蚣草培养3个月后收获植株.

参照Hans(1980)及Rathore(1972)等人的方法进行各亚细胞组分的分离.取根、叶柄和羽叶0.5000 g鲜样,在玻璃匀浆器中匀浆,冷冻离心机300 g下离心30 s,下部沉淀,底层碎片为细胞壁组分.上清液再在20000 g下离心45 min以沉淀细胞器.底层碎片为细胞器组分,上层清液为胞质组分.所有的匀浆过程和以后的分离过程均控制在4℃条件下操作.详细的实验方法可参见文献(陈同斌等, 2005).

分离后的细胞壁、胞质和细胞器组分分别加入10 mL HNO_3 和2 mL HClO_4 消煮,用钒钼磺法测定磷(廖晓勇等, 2004),原子吸收法测定钙(廖晓勇等, 2003).亚细胞分离过程中磷、钙的总回收率为91%~105%.根、叶柄和羽叶亚细胞各组分的元素含量均以相应器官的干物重计.数据处理由SPSS 11.0统计软件完成.

2 结果与分析 (Results and analysis)

2.1 蜈蚣草中磷的亚细胞分布

从总体趋势来看(表1),根部的3个亚细胞组分中,除高砷中钙(As 、 Ca 分别为0.2、2.5 mmol·L⁻¹)处理外,其余处理均以胞质的磷含量最高,达2445~5299 mg·kg⁻¹,占根部总磷含量的43%~60%,平均为51%.其次为细胞壁,其磷含量为1237~2374 mg·kg⁻¹,占根部总磷含量的22%~41%,平均为33%.而细胞器中仅为694~2368 mg·kg⁻¹,占根部总磷含量的11%~25%.在9个处理中,高砷中钙处理中根部胞质组分的磷含量都低于其它处理.统计分析表明,添加 As 浓度为0.1、0.2 mmol·L⁻¹处理中,细胞器组分的磷含量分别是对照(不加砷)的66%和62%(表2).因此,加砷处

理显著影响根部细胞器组分的磷含量. 5 0 mmol·L⁻¹钙处理中,其胞质组分的磷含量分别比 0.03、2.5 mmol·L⁻¹钙处理增加 72%和 109%. 细胞器中的磷含量随钙处理浓度的增加而提高,特别在 5 0 mmol·L⁻¹钙处理下,细胞器中的磷含量显著高于 0.03 mmol·L⁻¹钙处理 (表 2).

表 1 蜈蚣草各器官中磷的亚细胞分布
Table 1 P contents of the various subcellular fractions in *P. vittata* L.

处理浓度 (mmol·L ⁻¹)		w _p / (mg·kg ⁻¹)								
As	Ca	根			叶柄			羽叶		
		胞质	细胞壁	细胞器	胞质	细胞壁	细胞器	胞质	细胞壁	细胞器
0	0.03	2738 ±479	2374 ±353	741 ±593	2091 ±322	800 ±502	438 ±118	1443 ±115	766 ±174	354 ±89
0	2.5	3083 ±1022	2225 ±1628	1266 ±211	1985 ±244	875 ±338	250 ±146	1248 ±343	540 ±167	834 ±145
0	5.0	5299 ±3029	2337 ±1617	2368 ±168	1546 ±268	874 ±77	793 ±237	1034 ±95	969 ±312	569 ±99
0.1	0.03	2634 ±892	1959 ±227	694 ±136	1173 ±277	1168 ±167	970 ±119	926 ±219	920 ±213	623 ±239
0.1	2.5	2445 ±1182	2097 ±231	966 ±273	2206 ±555	397 ±33	298 ±133	1031 ±303	759 ±272	971 ±333
0.1	5.0	4385 ±2952	1458 ±306	1217 ±315	1414 ±680	551 ±192	1011 ±53	1077 ±537	1098 ±223	659 ±118
0.2	0.03	2810 ±2320	1237 ±1091	1019 ±265	2073 ±102	342 ±76	575 ±53	1113 ±98	656 ±156	755 ±50
0.2	2.5	1200 ±344	1783 ±361	831 ±110	1085 ±219	350 ±6	913 ±91	932 ±172	486 ±17	869 ±120
0.2	5.0	4416 ±2222	1920 ±501	873 ±101	1770 ±621	629 ±18	1247 ±374	1532 ±401	440 ±43	778 ±724

注:所有数值均为平均值±标准差 (n=4).

叶柄中的磷也主要分布于胞质组分 (1085 ~ 2206 mg·kg⁻¹)中,占叶柄总磷含量的 35% ~ 75% (表 1). 与对照相比,加砷处理的细胞壁组分中磷含量显著减少:加砷 0.2 mmol·L⁻¹时,其磷含量仅为对照处理的一半左右 (表 2). 细胞器组分的磷含量随介质中砷水平的提高而增加:0.2 mmol·L⁻¹砷处

理的细胞器组分中磷含量比对照增加 85%. 钙处理对叶柄中各亚细胞组分的磷含量的影响不及砷处理明显. 介质中钙浓度只对细胞器组分的磷含量产生明显影响:5.0 mmol·L⁻¹钙处理中,细胞器组分的磷含量分别为 0.03、2.5 mmol·L⁻¹钙处理的 1.5和 2.0倍.

表 2 蜈蚣草各器官中磷的亚细胞分布的统计分析结果
Table 2 P contents of the various subcellular fractions in *P. vittata* L.

处理浓度 / (mmol·L ⁻¹)	w _p / (mg·kg ⁻¹)								
	根			叶柄			羽叶		
	胞质	细胞壁	细胞器	胞质	细胞壁	细胞器	胞质	细胞壁	细胞器
ANOVA Test									
As									
0	3707 ^a	2312 ^a	1458 ^a	1874 ^a	846 ^a	494 ^b	1242 ^a	758 ^{ab}	586 ^a
0.1	3155 ^a	1838 ^a	959 ^a	1598 ^a	705 ^{ab}	760 ^{ab}	1011 ^a	926 ^a	751 ^a
0.2	2808 ^a	1647 ^a	908 ^a	1643 ^a	441 ^b	912 ^a	1192 ^a	527 ^b	801 ^a
Ca									
0.03	2727 ^b	1857 ^a	818 ^b	1779 ^a	770 ^a	661 ^b	1161 ^a	781 ^{ab}	577 ^b
2.5	2243 ^b	2035 ^a	1021 ^{ab}	1759 ^a	541 ^a	487 ^b	1070 ^a	595 ^b	892 ^a
5.0	4700 ^a	1905 ^a	1486 ^a	1577 ^a	686 ^a	1017 ^a	1214 ^a	836 ^a	669 ^{ab}
F test									
As	NS	NS	*	NS	*	*	NS	*	NS
Ca	*	NS	*	NS	NS	* *	NS	NS	NS
Ca ×As	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS

NS: $p \geq 0.05$; *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$; 所有的数值均为平均值 (n=12); 平均值后标注不同小写字母表示各处理水平之间存在显著差异.

从总体趋势来看,磷在羽叶亚细胞组分中的分布主要是在胞质组分中,占羽叶总磷含量的 36% ~ 58%,平均为 44% (表 1). 加砷处理对羽叶胞质组分的磷含量无明显影响. 细胞壁组分的磷含量在 0.2 mmol·L⁻¹ 砷处理下最低,显著低于 0.1 mmol·L⁻¹ 砷处理. 这表明,介质中砷浓度较高时,羽叶细胞壁组分对磷的固持减少. 与叶柄相似,随介质中砷浓度的提高,羽叶细胞器组分的磷含量也呈上升趋势:0.2 mmol·L⁻¹ 砷处理下,细胞器组分的磷含量较对照提高 37%. 2.5 mmol·L⁻¹ 钙处理下,细胞壁组分的磷含量较低,分别为 0.03、5.0 mmol·L⁻¹ 钙处理的 76%和 71%;而细胞器组分的磷含量高于其它 2 个钙处理. 这说明,在正常钙水平下,蜈蚣草细胞壁对磷的束缚较弱,有更多的磷可以进入细胞器中以维持植物的正常生理功能.

从不同器官的比较来看,在相同砷或钙处理水平下,蜈蚣草胞质组分的磷含量均为从根 → 叶柄 →

羽叶而呈下降的趋势 (表 1和表 2).

2.2 蜈蚣草中钙的亚细胞分布

蜈蚣草根部分各亚细胞组分的钙含量均以细胞壁组分最大,为 4571 ~ 12788 mg·kg⁻¹,占根部总钙含量的 45% ~ 73% (表 3);其次为胞质组分,其钙含量占根部总钙含量的 16% ~ 40%;而细胞器组分仅占 9% ~ 28%. 统计分析表明,0.1、0.2 mmol·L⁻¹ 砷处理下,细胞壁组分的平均钙含量分别比对照提高 38%和 34% (表 4). 因此,加砷处理显著增加根部细胞壁组分的钙含量,使更多的钙束缚在根部细胞壁上. 与微钙 (0.03 mmol·L⁻¹) 处理比较,2.5、5.0 mmol·L⁻¹ 钙处理下胞质和细胞器组分中钙含量均提高 1.0 倍左右. 2.5 mmol·L⁻¹ 钙处理中,细胞壁组分的钙含量显著高于其它 2 个钙处理水平. 砷、钙处理与根部细胞壁和细胞器组分的钙含量分别呈显著和极显著的正交互效应 (表 4).

表 3 蜈蚣草各器官中钙的亚细胞分布
Table 3 Ca contents of the various subcellular fractions in *P. vittata* L.

处理浓度 (mmol·L ⁻¹)		w _{Ca} / (mg·kg ⁻¹)								
As	Ca	根			叶柄			羽叶		
		胞质	细胞壁	细胞器	胞质	细胞壁	细胞器	胞质	细胞壁	细胞器
0	0.03	1461 ±113	4571 ±513	915 ±158	751 ±48	1664 ±2204	423 ±71	2299 ±184	4434 ±1408	1300 ±1174
0	2.5	3689 ±328	6030 ±94	3536 ±1533	2000 ±400	3615 ±1230	748 ±15	7424 ±1335	8272 ±1116	1794 ±21
0	5.0	4884 ±857	5967 ±161	1526 ±164	3552 ±811	4348 ±1237	1356 ±460	7995 ±2453	8193 ±615	1206 ±35
0.1	0.03	1713 ±68	7443 ±817	1185 ±8	583 ±125	1228 ±241	426 ±19	4528 ±903	5243 ±741	1040 ±744
0.1	2.5	3101 ±1421	10841 ±234	1124 ±417	1506 ±58	2276 ±575	719 ±199	9222 ±1324	7320 ±171	1899 ±174
0.1	5.0	3904 ±1195	8849 ±1613	1602 ±716	2285 ±732	3292 ±1566	738 ±101	8146 ±1049	10079 ±28	1265 ±712
0.2	0.03	2772 ±79	6340 ±2566	948 ±498	472 ±56	972 ±104	453 ±85	3038 ±440	3364 ±297	876 ±588
0.2	2.5	4360 ±477	12788 ±1122	1719 ±1186	1918 ±323	3264 ±495	306 ±129	8811 ±350	8919 ±594	1450 ±221
0.2	5.0	3794 ±2062	6072 ±77	3759 ±912	6216 ±3536	5616 ±3205	650 ±369	8227 ±2500	8770 ±54	2321 ±1142

注:所有数值均为平均值 ±标准差 (n=4).

叶柄各亚细胞组分的钙含量分布与根部的规律相似. 总体来看,除高砷高钙 (As、Ca 浓度分别为 0.2、5.0 mmol·L⁻¹) 处理外,钙主要分布在细胞壁组分中,其含量为 972 ~ 4348 mg·kg⁻¹,占叶柄总钙含量的 46% ~ 72%,平均为 56%. 其次是胞质组分,其钙含量为 472 ~ 3552 mg·kg⁻¹,占叶柄总钙含量的 25% ~ 39% (表 3). 0.1、0.2 mmol·L⁻¹ 砷处理下,细胞器组分的钙含量较对照分别减少 25%和 45%. 可见,加砷处理明显抑制细胞器组分中钙的分布. 高砷 (0.2 mmol·L⁻¹) 处理下,胞质组分的钙含量比对

照和 0.1 mmol·L⁻¹ 砷处理分别提高 37%和 1.0 倍左右 (表 4). 叶柄中各亚细胞组分的钙含量随介质中钙水平的提高而明显增加:5.0 mmol·L⁻¹ 钙处理下,胞质组分的钙含量分别是 0.03、2.5 mmol·L⁻¹ 钙处理的 6.7和 2.2 倍,细胞器组分的钙含量分别是 0.03、2.5 mmol·L⁻¹ 钙处理的 2.1和 1.5 倍.

羽叶中各亚细胞组分的钙含量分布不同于根部和叶柄. 在 9 个处理中,羽叶细胞壁和胞质组分的钙含量分别占羽叶总钙含量的 40% ~ 56%和 28% ~ 50%,平均为 48%和 42% (表 3). 加砷处理对羽

叶各亚细胞组分的钙含量没有显著影响. 在 2.5、5.0 mmol·L⁻¹钙处理下,胞质和细胞壁组分的钙含量分别比 0.03 mmol·L⁻¹钙处理提高 1.5和 1.0倍. 因此,提高钙处理浓度,则胞质和细胞壁组分的钙含量显著增加 (表 4).

表 4 蜈蚣草各器官中钙的亚细胞分布的统计分析结果
Table 4 Ca contents of the various subcellular fractions in *P. vittata* L.

处理浓度 (mmol·L ⁻¹)	$w_{Ca} / (mg \cdot kg^{-1})$								
	根			叶柄			羽叶		
	胞质	细胞壁	细胞器	胞质	细胞壁	细胞器	胞质	细胞壁	细胞器
ANOVA Test									
As									
0	3345a	5524 ^b	1992 ^a	2101 ^a	3209 ^a	842 ^a	5906 ^a	6966 ^a	1433 ^a
0.1	2906 ^a	9044 ^a	1304 ^a	1458 ^a	2266 ^a	628 ^{ab}	7299 ^a	7547 ^a	1401 ^a
0.2	3642 ^a	8401 ^a	2142 ^a	2869 ^a	3284 ^a	466 ^b	6692 ^a	7018 ^a	1549 ^a
Ca									
0.03	1982 ^b	6118 ^b	1016 ^b	602 ^b	1288 ^b	434 ^b	3289 ^b	4347 ^b	1072 ^a
2.5	3717 ^a	9886 ^a	2126 ^a	1808 ^b	3052 ^a	591 ^b	8486 ^a	8170 ^a	1714 ^a
5.0	4194 ^a	6962 ^b	2296 ^a	4018 ^a	4418 ^a	915 ^a	8123 ^a	9014 ^a	1597 ^a
F test									
As	NS	**	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS
Ca	*	**	NS	**	**	**	***	***	NS
Ca×As	NS	*	**	NS	NS	NS	NS	**	NS

NS: $p \geq 0.05$; *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$; ***: $p < 0.001$. 所有的数值均为平均值 ($n = 12$);平均值后标注不同小写字母表示各处理水平之间存在显著差异.

从总趋势来看,加砷处理对各亚细胞组分中钙含量的影响为:从根→叶柄→羽叶逐渐减弱,而钙处理对其影响表现为由根到地上部逐渐增强的趋势 (表 4).

2.3 蜈蚣草各器官的亚细胞组分中磷和钙的相对比例

图 1为不同砷、钙处理下蜈蚣草根、叶柄和羽叶的各亚细胞组分中含磷总量占整株植物含磷总量的相对比例 (含磷总量=磷含量×生物量,下同). 总的来看,蜈蚣草各器官平均含磷总量的相对比例表现为:根>羽叶>叶柄. 其中,根部含磷总量占植株含磷总量的比例为 44%~56%,羽叶为 29%~36%,叶柄为 15%~23%. 这表明,蜈蚣草积累的磷主要分布在根部. 从亚细胞层次来看,各亚细胞组分的含磷总量占相应部位含磷总量的相对比例为:胞质>细胞壁≥细胞器. 0.1和 0.2 mmol·L⁻¹砷处理下,叶柄细胞器组分含磷总量的相对比例分别为对照的 2.5和 2.6倍,羽叶细胞器组分中含磷总量的相对比例为对照的 1.4和 1.7倍. 因此,加砷处理提高蜈蚣草地上部细胞器组分的含磷总量. 5.0

mmol·L⁻¹钙处理下,根部胞质组分含磷总量的相对比例达到 32%,分别是 0.03和 2.5 mmol·L⁻¹钙处理的 1.3和 1.8倍. 胞质组分含磷总量的相对比例以 2.5 mmol·L⁻¹钙处理为最高 (达 16%),分别为 0.03和 5.0 mmol·L⁻¹钙处理的 1.6和 1.9倍. 2.5 mmol·L⁻¹钙处理下,羽叶细胞器组分含磷总量的相对比例显著高于微钙 (0.03 mmol·L⁻¹)处理 ($p < 0.05$),但与高钙 (5.0 mmol·L⁻¹)处理差异不显著. 这表明,钙显著影响叶柄胞质组分和羽叶细胞器组分含磷总量所占的相对比例.

蜈蚣草羽叶含钙总量 (含钙总量=钙含量×生物量,下同)占整株植株含钙总量的比例为 48%~65%,根部为 27%~48%,叶柄仅占 6%~9% (图 2),因此不同器官含钙总量所占的比例表现为:羽叶>根>叶柄. 根部各亚细胞组分含钙总量所占的比例为:细胞壁 (15%~31%)>胞质 (6%~11%)>细胞器 (1%~6%),而在地上部为:细胞壁≈胞质>细胞器. 在各亚细胞组分含钙总量所占的比例中,均以细胞壁组分最高. 在 2个加砷处理中,其根部细胞壁含钙总量所占的比例高于对照,

而羽叶细胞壁组分含钙总量所占的比例低于对照。高砷 ($0.2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 处理下, 叶柄细胞器组分含钙总量所占的比例显著减少 ($p < 0.05$), 分别是对照和 $0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 砷处理的 62% 和 63%。2.5、5.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 钙处理下, 根部细胞壁中含钙总量的相对

比例分别为 $0.03\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 钙处理的 65% 和 46%。因此, 根部细胞壁含钙总量所占的相对比例随钙处理浓度的提高而显著减少, 叶柄胞质组分及羽叶细胞壁组分含钙总量所占的比例随介质中钙处理浓度的增加而明显增加 ($p < 0.05$)。

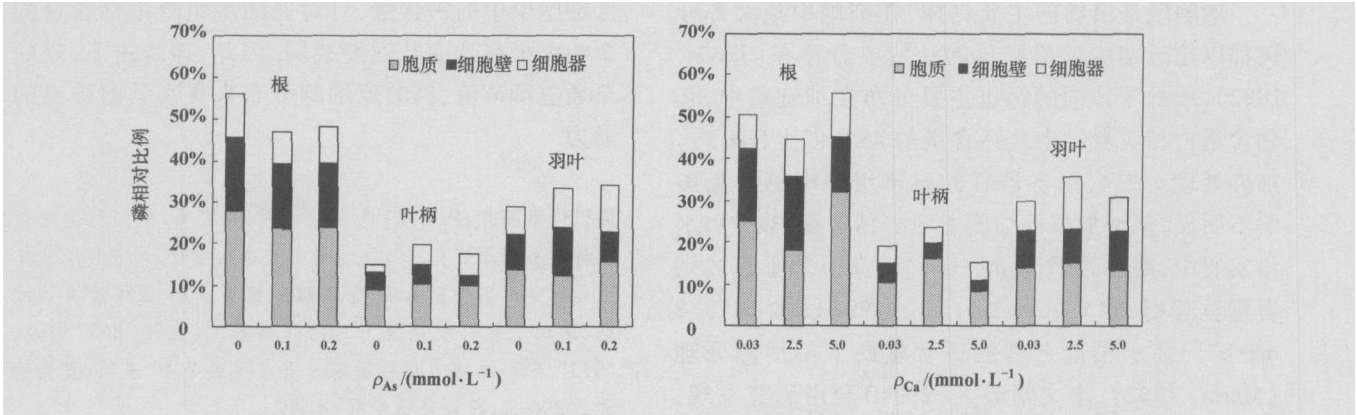


图 1 砷、钙处理下蜈蚣草各亚细胞组分的含磷总量与植株含磷总量比 (ANOVA Test)

Fig 1 Percentage of P accumulation in the various subcellular fractions of *P. vittata* L. treated with As and Ca (ANOVA Test)

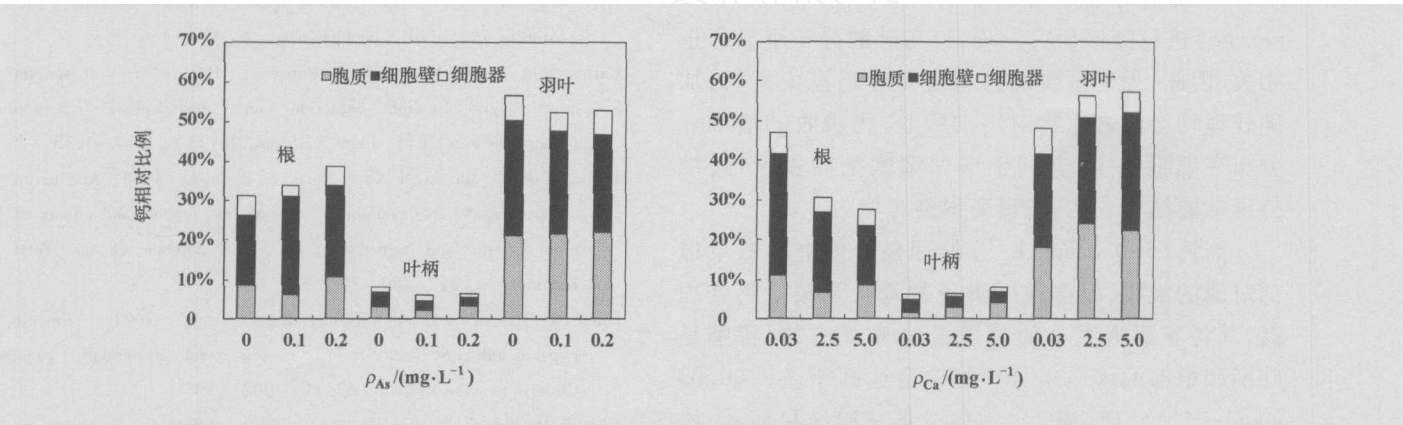


图 2 砷、钙处理下蜈蚣草各亚细胞组分的含钙总量与植株含钙总量比 (ANOVA Test)

Fig 2 Percentage of Ca accumulation in the various subcellular fractions of *P. vittata* L. treated with As and Ca (ANOVA Test)

3 讨论 (Discussion)

蜈蚣草吸收的磷主要分布在胞质组分中, 各器官的胞质组分的磷含量占相应器官中总磷含量的比例达 44% 以上 (表 1)。加砷条件下, 根部和叶柄中细胞壁组分的磷含量呈下降趋势, 地上部细胞器中的磷含量有所增加 (表 2)。李文学等人 (2004) 利用配备 EDX 的环境扫描电镜 (ESEM) 研究发现, 在加砷处理的水培条件下, 蜈蚣草羽叶上毛状体的磷的相对质量比不加砷处理提高近 80%, 但表皮细胞和叶肉细胞中磷的分布则显著减少, 与砷的分布规律相似; 而且磷和砷在毛状体不同细胞上的分布也基本相似: 节细胞和基细胞分布较多, 冒细胞较少。

采用同步辐射 X 射线荧光方法 (SRXRF) 的研究表明, 在另一种凤尾蕨属的砷超富集植物 (大叶井口边草) 的羽叶、叶脉和叶柄中, 磷与砷含量的微区分布也存在极显著的正相关 (陈同斌等, 2003)。这些研究都表明, 在砷超富集植物中, 磷、砷之间并不存在拮抗效应, 而是呈协同效应 (陈同斌等, 2002b)。

陈同斌等人 (2005) 研究蜈蚣草中砷的亚细胞分布发现, 加砷处理下其羽叶富集的砷有 78% 分布在胞质组分中, 羽叶胞质的砷占整株植物含砷总量的 61%; 而且在高砷 ($0.2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 条件下, 细胞器组分的砷含量始终保持在较低水平。本研究显示, 加砷处理中蜈蚣草地上部呈现出细胞壁组分磷含量减少、而细胞器中磷含量相应增加的趋势。这

表明,砷胁迫可使蜈蚣草通过调节磷在亚细胞水平上的分布,阻止过多的砷进入细胞器,避免其细胞器受到伤害.这可以在一定程度上起到保护植物正常生命活动的作用,有利于提高蜈蚣草的耐砷毒能力.

细胞壁是植物的主要钙库,在细胞中绝大部分钙都以构成细胞壁果胶质的结构成分存在 (Jarvis, 1982).蜈蚣草体内的钙也主要分布在细胞壁中,其钙含量占相应器官中总钙含量的 48%以上 (表 3).加砷处理对蜈蚣草各器官的胞质组分中钙含量影响不明显,但增加根部细胞壁中的钙含量 (表 4).水培实验中,高砷处理 ($5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)使菜豆地上部的钙含量显著提高 (Carbonell *et al*, 1997),加砷 ($0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)使水稻地上部的钙含量高于不加砷处理 (Marin, 1992).李文学等人 (2004)利用研究发现,在 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 砷处理下,蜈蚣草羽叶毛状体中钙的相对质量比对照增加 50%.陈同斌等人 (2003)利用 SRXRF 技术对砷超富集植物大叶井口边草 (*Pteris nervosa*)进行微区研究发现,钙与砷的分布呈显著正相关.因此,无论是普通植物还是砷超富集植物,加砷处理均会促进植物对钙的吸收.钙吸收的增多并分布在细胞壁中,有利于增加细胞壁的稳定性,维持正常的结构和功能,提高耐砷毒能力.

高钙 ($5.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)处理显著促进蜈蚣草根对磷的吸收,根部胞质组分的磷含量较低钙处理高,其各亚细胞组分的钙含量也显著增加,特别是叶柄和根部的胞质组分中钙含量远高于微钙 ($0.03 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)处理 (表 2).室内土培试验结果显示,添加 $800 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 砷处理时,在表现出砷中毒症状的蜈蚣草羽叶中,其细胞内钙出现异常分布,细胞间隙及细胞质中钙含量增加,甚至在细胞质中还出现钙颗粒 (Li *et al*, 2006).通过蜈蚣草超微结构的研究也发现,在高钙浓度处理下,其羽叶的细胞质中有大量的钙沉淀颗粒 (廖晓勇等, 2006).在普通植物中,细胞质内 Ca^{2+} 浓度过高会与细胞质中的磷酸根形成沉淀,扰乱以无机磷为基础的能量代谢系统 (Hepler, 1985).从亚细胞层次来看,钙浓度过高同样也会干扰蜈蚣草体内磷的正常生理活动.

4 结论 (Conclusion)

1)在蜈蚣草体内,磷主要存在于胞质组分中,钙主要分布在细胞壁组分中;加砷处理使磷趋于优先分布在细胞器组分中.

2)高钙 ($5.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)处理下,根部胞质的磷含量显著高于低钙处理,且根部和叶柄胞质组分中的钙含量较高,干扰其体内磷和钙的正常生理代谢.加砷处理使蜈蚣草地上部细胞器组分的磷含量和根部细胞壁的钙含量呈上升趋势,提高蜈蚣草根细胞壁中的钙含量,且对亚细胞组分中钙含量的影响由根部到羽叶逐渐减弱.因此,砷胁迫下,蜈蚣草通过调节磷、钙的亚细胞分布来提高其耐砷毒的能力.

通讯作者简介:陈同斌,博士生导师、研究员,中国科学院地理科学与资源研究所环境修复研究中心主任、地表环境化学过程与健康实验室主任.主要从事植物修复、固体废弃物堆肥、区域土壤环境质量与风险评估研究.主持“863 课题”、“973 课题、国家自然科学基金重点项目等 40 多项,发表论文近 200 篇,获得发明专利 18 项.

References:

- Asher C J, Reay R J. 1979. Arsenic uptake by barley seedlings [J]. Australian Journal of Plant Physiology, 6: 459—466
- Carbonell A A, Burló F, Mataix-Beneyto J. 1997. Effect of sodium arsenic and sodium chloride on bean plant nutrition (macronutrients) [J]. Plant Nutrition, 20(11): 1617—1633
- Carbonell A A, Aarabi M A, Delaune R D, *et al* 1998. Arsenic in wetland vegetation: availability, phytotoxicity, uptake and effects on plant growth and nutrition [J]. The Science of the Total Environment, 217: 189—198
- Chen T B, Wei C Y, Huang Z C, *et al* 2002a. Arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and its arsenic accumulation [J]. Chinese Science Bulletin, 47(11): 902—905
- Chen T B, Fan Z L, Lei M, *et al* 2002b. Effect of phosphorus on arsenic accumulation in As-hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and its implication [J]. Chinese Science Bulletin, 47(22): 1876—1879
- Chen T B, Huang Z C, Huang Y Y, *et al* 2003. Cellular distribution of arsenic and other elements in hyperaccumulator *Pteris nervosa* and their relations to arsenic accumulation [J]. Chinese Science Bulletin, 48(15): 1586—1591
- Chen T B, Huang Z C, Huang Y Y, *et al* 2005. Distributions of arsenic and essential elements in pinna of arsenic hyperaccumulator *pteris vittata* L. [J]. Science in China (Series C - Life Sciences), 48(1): 18—24
- Chen T B, Yan X L, Liao X Y, *et al* 2005. Subcellular and compartmentalization of arsenic in *Pteris vittata* L. [J]. Chinese Science Bulletin, 50(24): 2843—2849
- Cox M C. 1995. Arsenic characterization in soil and arsenic effects on canola growth [D]. Baton Rouge, Louisiana: Louisiana State University, 102
- Hans J W, Hang J J. 1980. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plants [J]. plant physiology, 46: 480—482

- Heeraman D A, Classen V P and Zasoski R J. 2001. Interaction of lime, organic matter and fertilizer on growth and uptake of arsenic and mercury by Zorro fescue (*Vulpia myuros* L.) [J]. Plant and Soil, 234: 215—231
- Hepler P K, Wayne R O. 1985. Calcium and plant development [J]. Annual Review of Plant Physiology, 36, 397—439
- Jarvis M C. 1982. The proportion of calcium bound pectin in plant cell walls [J]. Planta, 154: 340—344
- Kauss H. 1987. Some aspects of calcium-dependent regulation in plant metabolism [J]. Annual Review of Plant Physiology (Plant Molecular Biology), 38: 47—72
- Li W X, Chen T B, Chen Y, et al. 2005. Role of trichome of *Pteris vittata* L. in arsenic hyperaccumulation [J]. Science in China (Series C - Life Sciences), 48(2): 148—154
- Li W X, Chen T B, Liu Y R. 2005. Effects of harvesting on As accumulation and removal efficiency of As by Chinese brake (*Pteris vittata* L.) [J]. Acta Ecologica Sinica, 25(3): 538—542 (in Chinese)
- Li W X, Chen T B, Huang Z C, et al. 2006. Effect of Arsenic on chloroplast ultrastructure and calcium distribution in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. [J]. Chemosphere, 62: 803—809
- Liao X Y, Xiao X Y, Chen T B. 2003. Effects of Ca and As addition on As, P and Ca uptake by hyperaccumulator *Pteris vittata* L. under sand culture [J]. Acta Ecologica Sinica, 23(10): 2057—2065 (in Chinese)
- Liao X Y, Chen T B, Xie H, et al. 2004. Effect of application of P fertilizer on efficiency of As removal from As-contaminated soil using phytoremediation: Field study [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 24(3): 455—462 (in Chinese)
- Marin A R. 1992. Effect of soil redox potential and pH on nutrient uptake by rice with special reference to arsenic forms and uptake [D]. Baton Rouge, Louisiana: Louisiana State University, 67—68
- Merharg A A, Macnair M R. 1992. Suppression of the high-affinity phosphate-uptake system: a mechanism of arsenate tolerance in *Holcus lanatus* L. [J]. Journal of Experiment Botany, 43: 519—524
- Merharg A A, Bailey J, Breadmore K, et al. 1994. Biomass allocation, phosphorus nutrition and vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in clones of Yorkshire Fog, *Holcus lanatus* L. (Poaceae) that differ in their phosphate uptake kinetics and tolerance to arsenate [J]. Plant and Soil, 160(1): 11—20
- Rathore V S, Bajat Y P S, Wittwer S H. 1972. Subcellular localization of zinc and calcium in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) tissues [J]. Plant Physiology, 49: 207—211
- Tu C, Ma L Q. 2005. Effects of arsenic on concentration and distribution of nutrients in the fronds of the arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. [J]. Environmental Pollution, 135: 333—340
- Wickes W A, Wiskich J T. 1976. Arsenate uncoupling oxidative phosphorylation in isolated plant mitochondria [J]. Australian Journal of Plant Physiology, 3: 153—162
- Xiao X Y, Liao X Y, Chen T B, et al. 2003. Effects of arsenic and calcium on the metal accumulation and translocation in *Pteris vittata* L. [J]. Acta Ecologica Sinica, 23(8): 1477—1487 (in Chinese)

中文参考文献:

- 陈同斌, 韦朝阳, 黄泽春, 等. 2002a. 砷超富集植物蜈蚣草及其对砷的富集特征 [J]. 科学通报, 47(3): 207—210
- 陈同斌, 范稚莲, 雷梅, 等. 2002b. 磷对超富集植物蜈蚣草吸收砷的影响及其科学意义 [J]. 科学通报, 47(15): 1156—1159
- 陈同斌, 黄泽春, 黄宇营, 等. 2003. 砷超富集植物中元素的微区分布及其与砷富集的关系 [J]. 科学通报, 48(11): 1163—1168
- 陈同斌, 黄泽春, 黄宇营, 等. 2004. 蜈蚣草羽叶中砷及植物必需营养元素的分布特点 [J]. 中国科学 (C辑: 生命科学), 34(4): 304—309
- 陈同斌, 阎秀兰, 廖晓勇, 等. 2005. 蜈蚣草中砷的亚细胞定位与砷的区隔化作用 [J]. 科学通报, 50(24): 2739—2744
- 李文学, 陈同斌, 陈阳, 等. 2004. 蜈蚣草毛状体对砷的富集作用及其意义 [J]. 中国科学 (C辑: 生命科学), 34(5): 402—408
- 李文学, 陈同斌, 刘颖茹. 2005. 刈割对蜈蚣草的砷吸收和植物修复效率的影响 [J]. 生态学报, 25(3): 538—542
- 廖晓勇, 肖细元, 陈同斌. 2003. 砂培条件下施加钙、砷对蜈蚣草吸收砷、磷和钙的影响 [J]. 生态学报, 23(10): 2057—2065
- 廖晓勇, 陈同斌, 谢华, 等. 2004. 磷肥对砷污染土壤的植物修复效率的影响: 田间实例研究 [J]. 环境科学学报, 24(3): 455—462
- 肖细元, 廖晓勇, 陈同斌, 等. 2003. 砷、钙对蜈蚣草中金属元素吸收和转运的影响 [J]. 生态学报, 23(8): 1477—1487