

蜈蚣草中砷的亚细胞分布与区隔化作用

陈同斌 阎秀兰 廖晓勇 肖细元 黄泽春 谢 华 翟丽梅

(中国科学院地理科学与资源研究所环境修复研究中心, 北京 100101. E-mail: chentb@igsrr.ac.cn)

摘要 通过对砷的亚细胞分布研究, 揭示砷超富集植物蜈蚣草中砷的区隔化效应, 及其对砷的耐性机理. 在不加砷条件下, 蜈蚣草吸收的少量砷主要被固定在细胞壁上; 在加砷条件下, 蜈蚣草羽片砷积累量占植株总砷量的 78%, 其中羽片积累的砷有 78% 分布在羽片胞液(cytoplasmic supernatant)中, 整株植物累积的砷有 61% 富集在羽片胞液中. 而细胞器组分始终维持较低的砷浓度水平. 研究发现, 蜈蚣草羽片胞液是砷的主要储存部位, 胞液对砷具有非常明显的区隔化作用, 这种区隔化作用可能是蜈蚣草能够解除砷毒的重要原因.

关键词 超富集植物 蜈蚣草 砷 亚细胞分级 区隔化作用 解毒

砷是有毒的类金属元素, 能抑制植物的生长发育, 甚至导致植物死亡. 普通植物尽量避免吸收介质中的砷, 并限制其向地上部转运^[1]. 一般植物地上部砷浓度为 0.01~5 mg/kg (DW), 砷转运系数(地上部砷浓度/地下部砷浓度)小于 1^[2]. 但砷超富集植物(hyper-accumulator)有极强的耐砷和向地上部转运砷的能力, 无论是室内盆栽还是野外条件下自然生长, 它们的砷转运系数都能达到相当高. 以国际上最早发现的砷超富集植物——蜈蚣草(*Pteris vittata* L.)为例, 其砷转运系数为 1~7, 砷浓度可达普通植物砷浓度的数十万倍^[3]; 羽片的砷浓度甚至超过 10000 mg/kg, 远高于其大量必需营养元素磷的浓度^[4,5]. 通过研究蜈蚣草对砷吸收、转运与分布的特殊机制^[6~11], 揭示其耐性与富集机理, 对认识砷超富集植物进化机制和挖掘其修复潜力均有重要意义.

研究元素在超富集植物中的微区分布有助于认识细胞中元素的生理活动和解释重金属富集/解毒机理. 本课题组曾采用透射电子能谱(TEM)和环境扫描电子显微镜(ESEM)等手段对砷平均含量高达 4000 mg/kg 的植物样品进行微区分析, 最终由于植物砷含量低于仪器检测下限而不能得到完整的砷微区分布信息^[12]. 利用能量分散 X-射线分析(EDXA)和基于正负电子对撞机的同步辐射 X 荧光(SRXRF)等方法虽可大幅度降低其检测下限, 但 X-射线扫描点的光斑仍偏大, 目前还不能进行亚细胞水平的砷定位和定量分析. 我们采用 SRXRF 技术的研究表明, 蜈蚣草羽叶中脉上砷浓度比两侧组织高, 这种分布差异在

叶尖表现最为明显, 羽叶中脉中砷具有较强的向两侧叶肉组织转运的趋势, 即具有较强的木质部卸载能力^[6]. Lombi 等人^[10]通过 EDXA 研究蜈蚣草羽叶中砷的微区分布, 发现砷主要分布在上下表皮细胞. 但黄泽春^[1]采用 SRXRF 方法研究砷在这种植物羽叶中微区分布发现, 近轴叶肉组织(栅栏组织)的砷浓度最高, 并由中心向近轴面方向砷浓度下降, 近轴面表皮砷浓度高于远轴面表皮, 但都低于相邻的叶肉组织. 我们通过相同方法研究另一种砷超富集植物——大叶井口边草(*Pteris cretica* L.)时也发现相同的现象, 即砷主要富集在叶肉细胞中, 叶表皮细胞砷浓度相对较低^[12]. 上述研究曾采用不同方法和手段揭示了砷超富集植物中砷的微观分布信息. 但是到目前为止, 对砷超富集植物中砷的亚细胞分布特征仍无人知晓.

通过亚细胞分级方法分离出亚细胞组分后用化学分析手段测定重金属元素的浓度, 可以提供重金属元素的亚细胞分布信息. 国内外研究者曾先后采用该方法对植物体内重金属的分布进行了研究^[13~17]. 如万敏等人^[14]采用亚细胞分级方法揭示了不同镉积累类型小麦中镉的亚细胞分布存在差异; Ramos 等人^[17]曾采用这类方法对莴苣中 Cd 的亚细胞分布及 Cd-Mn 交互作用进行了研究. 本研究拟采用亚细胞分级方法分离出各个亚细胞组分之后, 采用化学分析方法测定各亚细胞组分中砷的浓度, 以期从亚细胞水平揭示超富集植物中砷的分布特征, 并探讨其与砷耐性的关系, 为解释蜈蚣草对砷的解毒机理提

1) 黄泽春. 砷超富集植物的筛选及其富集机理研究. 中国科学院地理科学与资源研究所博士论文, 2003

供新的线索.

1 材料与方法

(i) 实验方案. 供试植物为蜈蚣草. 以改进的 Hoagland 营养液为基础培养液. 各元素浓度(mmol/L) 为: N, 4.8; P, 0.4; K, 2.0; Ca, 2.5; Mg, 0.25; Na, 0.2; Fe, 2.24×10^{-2} ; Mn, 2.3×10^{-3} ; B, 1.15×10^{-2} ; Zn, 1.9×10^{-4} ; Cu, 8×10^{-5} ; Mo, 5×10^{-5} ; Cl, 0.2; S, 0.28. 实验共设 3 个处理: (1) 对照(不添加砷): 由于化学试剂带入极微量的含砷杂质, 使该处理营养液中也含有极微量的砷(5.3×10^{-5} mmol/L); (2) 添加砷 0.1 mmol/L; (3) 添加砷 0.2 mmol/L. 各处理重复 4 次. 配置的营养液用 0.1 mol/L NaOH 或 0.1 mol/L HCl 将 pH 调至 6.5.

(ii) 植物栽培. 将蜈蚣草孢子(采自湖南)撒在盛土的塑料盆中, 覆上薄膜, 保持湿润, 在温室中育苗. 待长出 5~6 片幼叶后, 移栽到砂培介质(石英砂于稀盐酸中浸泡 24 h 后, 自来水洗净, 再用去离子水冲洗 2 遍, 将砂装入塑料盆)中, 每盆移栽 4 株苗. 盆的直径为 12 cm, 高 10 cm. 蜈蚣草苗在人工气候箱(RXZ-300C 型号)中培养, 每天光照 14 h, 白天温度为 26°C, 夜间温度为 20°C, 相对湿度 85%. 预培养 30 d 后开始进行加砷处理. 每周更换 1 次营养液, 每 3 d 加 50 mL 营养液, 每隔 1 d 加 80 mL 去离子水, 以补充损失的水分. 3 个月后收获植株.

(iii) 蜈蚣草亚细胞组分的分离. 植株收获后先用自来水洗净, 再用超纯水冲洗 2 遍. 从各处理的蜈蚣草植株中分别称取根、叶柄、羽叶各 0.5000 g 鲜样用于亚细胞分级实验, 剩余样品烘干 24 h 后测定总砷. 参照 Hans^[18]及 Pathore 等人^[19]建立的亚细胞分级方法, 采用预冷的匀浆液将其在玻璃匀浆器中匀浆.

匀浆液组成为: 0.25 mmol/L 蔗糖、50 mmol/L 顺丁烯二酸盐(Tris-maleate)缓冲液(pH 7.8)、1 mmol/L MgCl_2 和 10 mmol/L 半胱氨酸. 匀浆液的 pH 为 7.8. 所有匀浆过程和分离过程温度均控制在 4°C. 具体步骤如下: 匀浆液及组织的体积在 15~20 mL, 然后转入 50 mL 离心管中, 将组织匀浆液在高速冷冻离心机中于 $300 \times g$ 离心 30 s, 下部沉淀、底层碎片为细胞壁(cell wall)组分. 上清液在 $20000 \times g$ 离心 45 min, 底层碎片为细胞器组分(cytoplasmic organelles), 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^[15]). 分离出的各组分见图 1.

(iv) 化学分析. 称取粉碎后的植物样品 0.1~0.2 g 于 100 mL 三角瓶中, 加入 10 mL HNO_3 和 0.5 mL HClO_4 , 摇匀过夜, 在电热板上缓慢加热消煮至清亮, 用超纯水定容至 50 mL^[20]. 分离后的细胞壁、胞液和细胞器组分也采用同样方法消煮后待测. 样品中的 As 用原子荧光光谱仪(海光 AFS-2202)测定. 植物样品分析中所用试剂均为优级纯, 并采用国家标准参比物质(植物: GBW-07403)进行分析质量控制, 分析误差均在允许的范围内. 亚细胞分离过程的总回收率为 91%~105%.

(v) 数据处理. 实验数据的处理、相关性分析、显著性检验和交互效应分析用 SAS 6.0 统计软件完成.

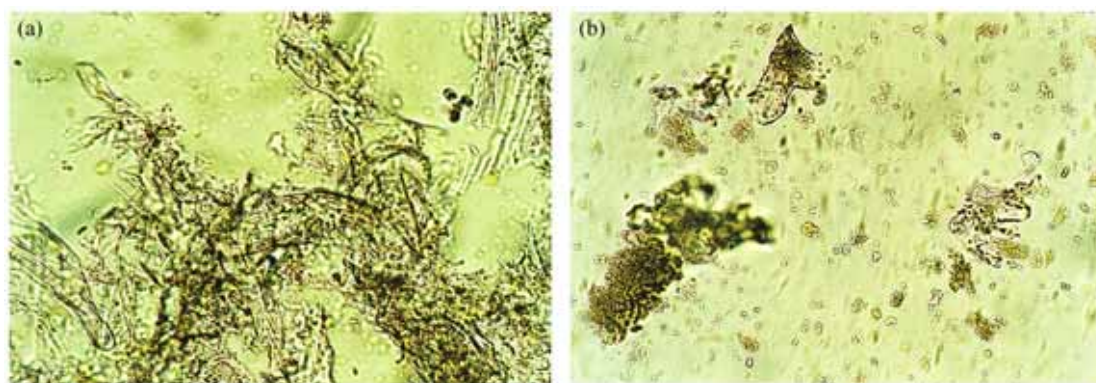


图1 蜈蚣草亚细胞分级的显微照片

(a) 细胞壁组分, 在显微镜下主要呈现为纤维状物质; (b) 细胞器组分, 在显微镜下主要呈现为绿色块状物, 同时在缓冲液中有许多绿色椭圆形物质游离. 胞液组分在显微镜下呈澄清透明的胶状物质. 200×

2 结果与分析

2.1 蜈蚣草中砷的亚细胞分布

表 1 所示为蜈蚣草不同部位亚细胞组分中砷的分布. 在不添加砷的对照处理中, 砷在根部各组分的分布浓度很低且比较接近, 均为 1 mg/kg 左右. 在添加 0.1 mmol/L 砷处理中, 各组分的砷浓度都有显著提高, 其中胞液组分砷浓度增加了 425 倍, 幅度最大; 细胞器组分砷浓度增加得最少, 为对照的 71 倍. 随着介质中砷浓度的进一步升高(添加 0.2 mmol/L 砷), 细胞壁和细胞器组分的砷仍有明显提高, 胞液中砷并无显著增加. 出现这种情况的可能原因是根部胞液贮存砷的能力有限, 超过其容量之后则难以进一步贮存砷.

叶柄是蜈蚣草中砷由地下部向羽片运输的“通道”, 同时也具有一定的砷贮存能力. 叶柄胞液的砷浓度比根部胞液的砷浓度平均高 0.5 倍, 但 2 个添加砷的处理之间差异并不显著(表 1). 在添加 0.1 mmol/L 砷的处理中, 叶柄细胞壁和细胞器中砷浓度比根部要略高; 但当添加 0.2 mmol/L 砷时, 这两组分的砷浓度却低于其根部的相应组分, 与添加 0.1 mmol/L 砷处理中相应部位的砷浓度相近. 叶柄胞液中的平均砷浓度分别是细胞壁砷浓度的 2.6 倍和细胞器砷浓度的 10 倍.

在添加 0.1 和 0.2 mmol/L 砷的处理中, 羽片胞液中砷浓度分别为 3019 和 4812 mg/kg, 为根部胞液的 5.4 和 5.9 倍, 叶柄胞液的 3.1 和 4.7 倍(表 1); 细胞壁

砷浓度比根部和叶柄细胞壁提高 1 倍左右; 而细胞器中砷浓度仍维持在相对较低的水平.

在 2 个加砷处理中, 根、叶柄和羽叶中各组分的砷浓度均为: 胞液>>细胞壁>>细胞器. 羽叶胞液贮存砷的能力远高于根或叶柄胞液, 其细胞壁砷浓度也有明显提高.

2.2 各亚细胞组分中砷分布的相对比例

图 2 表示分别添加 0.1 和 0.2 mmol/L 砷处理下, 各亚细胞组分累积砷量占植株总累积砷量的百分比. 植物各部位的砷积累量自上而下变化幅度非常大, 其中羽片砷积累量占植株总砷积累量的 78%, 这是叶柄和根两个部位砷积累量的 7 倍左右. 羽片胞液的砷积累量占植株总砷积累量的 61%, 远高于植物其他亚细胞组分中砷积累量, 是植物储存砷的关键部位. 羽片细胞壁砷积累量占植株总砷积累量的 13%, 接近或高于叶柄或根中砷的总积累量. 叶柄和根部胞液中的砷积累量分别占植株总砷积累量的 7.7%和 5.2%, 是除前两组分之外积累砷量最高的两组分. 根和叶柄细胞器的砷积累量非常低, 分别占植株总砷积累量的 2.1%和 0.7%.

图 3 表示在植物羽叶、叶柄和根部, 不同亚细胞组分中的砷的相对分布比例(某部位一组分的砷浓度占该部位三组分砷浓度之和的比例). 在对照处理中, 根部各组分中砷的相对比例较均匀, 都在 35%左右; 在叶柄和羽叶中都以细胞壁中砷所占比例最高(46%和 53%), 而这两个部位的细胞器中砷所占相对比例

表 1 蜈蚣草中砷的亚细胞分布^{a)}

砷添加量/mmol·L ⁻¹	元素浓度/mg·kg ⁻¹ DW			
	胞液	细胞壁	细胞器	总计
根				
0	1.3±1.3 B a	1.4±1.0 C a	1.0±0.2 C a	3.4±1.7 C
0.1	554.1±79.4 A a	297.6±68.4 B b	70.9±8.2 B c	895.9±95.1 B
0.2	811.0±381.6 A a	564.1±129.4 A a	326.3±72.7 A b	1770±406 A
叶柄				
0	2.8±0.8 B a	3.3±2.7 B a	1.1±0.7 B b	8.6±2.1 B
0.1	963.8±79.6 A a	305.9±35.0 A b	100.2±19.4 A c	1301±112 A
0.2	1014±16 A a	442.2±134.4 A b	98.4±24.1 A c	1617±155 A
羽叶				
0	4.8±0.1 C a	7.9±3.3 C a	2.3±1.6 C b	14.7±3.2 C
0.1	3019±306 B a	683.5±274.5 B b	158.8±57.6 B c	4016±549 B
0.2	4813±12 A a	1035±64 A b	274.3±83.3 A c	5634±71 A

a) 大写字母代表相同组分不同砷处理的显著性检验结果; 小写字母代表相同砷处理, 不同组分的显著性检验结果. 有相同字母表示无显著差异; 无相同字母表示存在显著差异

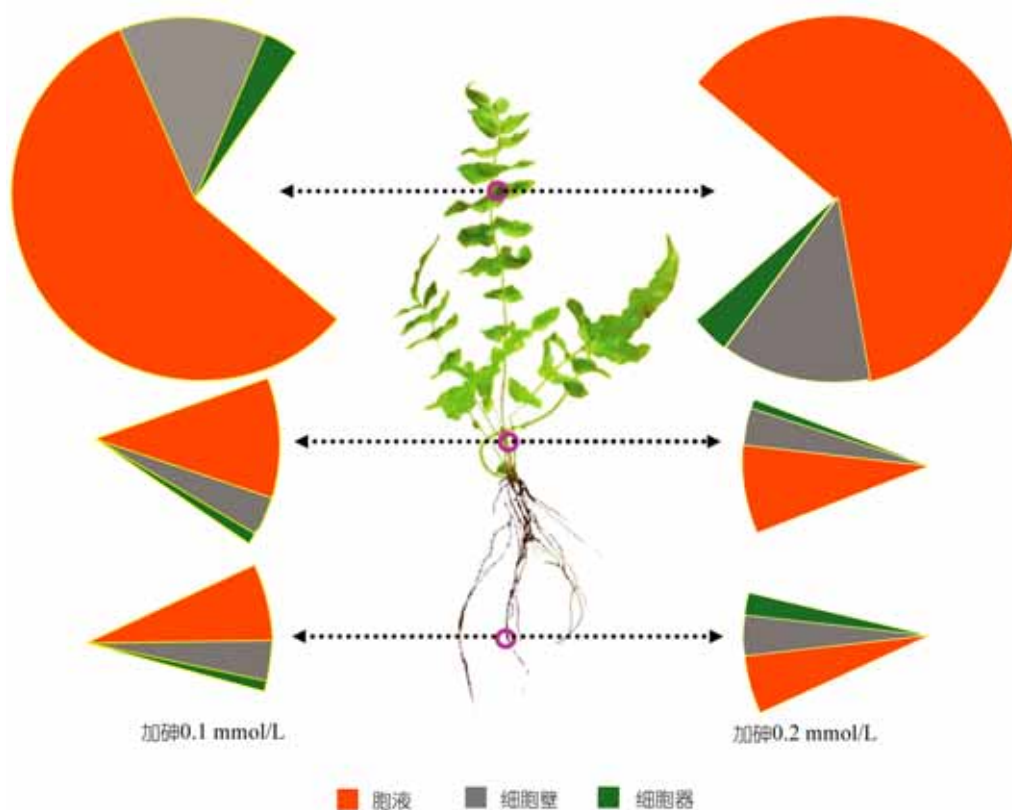


图2 加砷处理中各亚细胞组分的砷含量占植株总砷量的百分比(%)

都仅为 15%。在添加砷的处理中,各部位都以胞液组分中砷的相对比例最高,在根、叶柄和羽叶中所占平均相对比例分别为 54%, 68%和 78%,即由下到上分配比例逐渐增加;与其相反,砷在细胞壁和细胞器组分的相对比例从根部到羽叶逐渐降低,在根部,这两组分的相对比例分别为 32.8%和 13.5%,而在羽叶中,这两组分的相对比例则分别降至 17.3%和 4.3%(图 3)。由此可见,蜈蚣草吸收少量砷进入体内时,砷被主要固定在细胞壁上;当蜈蚣草生长在高砷介质中,被吸收的砷主要分布在胞液组分中;细胞器中的砷始终维持相对较低的水平。

3 讨论

蜈蚣草中的砷有较强的向地上部转运的趋势,从介质中吸收的砷 90%以上都会向上运输并富集在羽叶中^[11,21]。本研究及以前的研究结果都表明,蜈蚣草中砷的分布规律为:根<叶柄<羽叶^[22]。室内盆栽结果表明,蜈蚣草羽叶砷积累量占植株总砷积累量的 75%~80%^[23]。羽片中的砷浓度又以叶肉组织最高,叶表皮细胞的砷浓度相对较低^[21]。在这个部位中还存在着一个特殊器官——羽片毛状体。它富集的砷是叶表皮细胞和叶肉细胞砷含量的 2~4 倍^[7]。本文通

过研究蜈蚣草亚细胞水平的砷分布,发现羽片胞液是该种植物聚集砷的最主要组分。富集在羽片中的砷有 78%分布在胞液中,羽片胞液聚集的砷占整个植株总积累砷量的 61% (图 2 和 3)。在胞液组分中分布如此高量的砷,说明羽片胞液是蜈蚣草对砷进行富集和解毒的关键部位。因此,针对其羽片胞液中砷的转运机制和赋存形态进行深入研究,可以进一步揭示超富集植物的耐砷毒和砷富集机理。

重金属的亚细胞分布研究有助于确定该元素对细胞活动的影响及其生物化学作用。本研究结果表明,胞液组分是蜈蚣草体内砷的主要贮存部位。植物的胞液组分由细胞液和液泡液两部分组成。细胞液是细胞新陈代谢的主要场所^[24];液泡的主要功能是参与细胞的水分代谢,同时也是植物细胞代谢副产品及废物囤积的场所^[25]。Hall^[26]认为,细胞液中的重金属浓度应低于液泡液,以保证细胞正常的生理代谢活动。前人在研究镍、锌等超富集植物的解毒机理时发现:超富集植物 *Alyssum serpyllifolium* 细胞中 72%的镍分布在液泡中^[27];通过比较超富集植物 *Thlaspi goesingense* Hálácsy 和非超富集植物 *T. ar-*

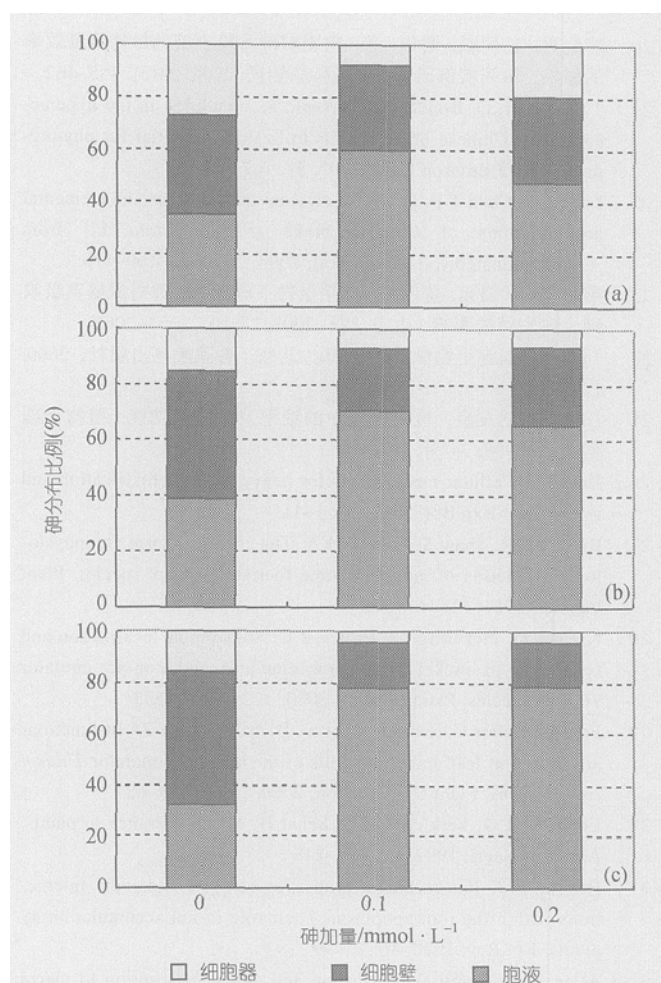


图 3 蜈蚣草中砷在不同亚细胞组分中分布的相对比例
(a) 根; (b) 叶; (c) 羽叶

vense L.的液泡对镍的区隔化效应发现,前者液泡内的镍含量是后者 2 倍^[28]; 锌在超富集植物 *T. caerulescens* 中主要分布于表皮细胞的液泡中^[29]。砷是一种类金属,其在砷超富集植物中主要以无机的阴离子形态存在^[10],而镍、锌等金属离子在其超富集植物中主要以阳离子形态存在。虽然砷与金属元素的性质明显不同,但是本研究也认为,蜈蚣草胞液组分中储存的砷可能也是大量被隔离在液泡中。因此,与上述金属超富集植物一样,砷的区隔化作用(compartmentalization)可以降低砷对植物细胞新陈代谢的影响,从而保证其正常生长和发育。

蜈蚣草的细胞壁具有一定固持砷的能力:在微量砷供应时,细胞壁表现出对进入植物体内的砷有极强的“吸持作用”,限制其进入细胞内部;在高砷条件下,根部中 30%以上的砷都被固定在细胞壁上,即使在羽叶中也有 17%左右的砷赋存于其中。过去,学

术界关于细胞壁对重金属的束缚作用和解毒能力颇有争议^[30]。但越来越多的证据表明,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、氨基和磷酸基等亲金属离子的配位基团^[31],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——原生质体的金属浓度,以维持细胞的正常生理代谢^[31,32]。Turner 和 Marshall 观察到, *Agrostis tenuis* 耐 Zn 胁迫能力与其细胞壁的结合能力呈显著正相关^[33]。Nishizono 等人^[34]发现,进入蹄盖蕨属植物(*Athyrium yokoscense*)的 Cu, Zn, Cd 大约有 70%~90%储存在根细胞壁中,其中大部分以离子形态存在或结合到纤维素、木质素等壁结构物质上。细胞壁在黄花茅(*Anthoxanthum odoratum*)抗 Pb 胁迫中起到重要的作用^[28]。对 Cd 的超富集植物 *T. caerulescens* 及非超富集植物 *Nicotiana tabacum* 的根毛细胞研究表明,大部分 Cd 分布在细胞壁中^[35]。本研究也发现,在低砷浓度时,细胞壁会优先与砷结合,将砷固定在细胞壁上,限制其向内部转运。但蜈蚣草细胞壁对砷的贮存能力有限,因此当体内砷浓度过高时,绝大部分砷都会向上转移,通过区隔化作用将砷大量聚集到羽叶中——尤其是羽叶的胞液中。这种区隔化作用很可能是蜈蚣草对砷解毒的一个重要原因。

4 结论

蜈蚣草中砷的亚细胞分布研究发现,蜈蚣草富集的砷主要是贮存在胞液中。在加砷处理中,羽片中积累的砷有 78%是分布在羽片胞液中,整株植物累积的砷有 61%是富集在这个组分中。蜈蚣草细胞壁对砷的贮存能力有限,胞液对砷具有非常明显的区隔化作用。这种区隔化作用是蜈蚣草中砷的重要解毒机制。

致谢 本工作为国家杰出青年科学基金(批准号:40325003)、国家自然科学基金(批准号:40232022)和国家高技术研究发展计划(批准号:2003AA645010)资助项目。

参 考 文 献

- 1 Berry W L. Plant and factors influencing the use of plant analysis as a tool for biogeochemical prospecting. In: Carlisle D, Berry W L, Kaplan I R, et al. eds. Mineral Exploration: Biogeochemical Systems and Organic Matter. New Jersey: Prentice-Hall, Englewood Cliffs, 1986. 5: 13
- 2 Feed Additive Compendium (FAC). Munneapolis, Miller Publishing Company, 1975, 13: 330
- 3 陈同斌, 韦朝阳, 黄泽春, 等. 砷超富集植物蜈蚣草及其对砷的

- 富集特征. 科学通报, 2002, 47(3): 207~210
- 4 Ma L Q, Komar K M, Tu C, et al. A fern that hyperaccumulates arsenic. *Nature* (London), 2001, 409: 579
- 5 陈同斌, 范稚莲, 雷梅, 等. 磷对超富集植物蜈蚣草吸收砷的影响及其科学意义. 科学通报, 2002, 47(15): 1156~1159
- 6 陈同斌, 黄泽春, 黄宇营, 等. 蜈蚣草羽叶中砷及植物必需营养元素的分布特点. 中国科学, C 辑, 2004, 34 (4): 304~309
- 7 李文学, 陈同斌, 陈阳, 等. 蜈蚣草毛状体对砷的富集作用及其意义. 中国科学, C 辑, 2004, 34 (5): 402~408
- 8 Caille N, Zhao F J, McGrath S P. Comparison of root absorption, translocation and tolerance of arsenic in the hyperaccumulator *Pteris vittata* and the nonhyperaccumulator *Pteris tremula*. *New Phytol*, 2005, 165 (3): 755~761
- 9 Duan G L, Zhu Y G, Tong Y P, et al. Characterization of arsenate reductase in the extract of roots and fronds of Chinese brake fern, an arsenic hyperaccumulator. *Plant Physiol*, 2005, 138 (1): 461~469
- 10 Lombi E, Zhao F J, Fuhrmann M, et al. Arsenic distribution and speciation in the fronds of the hyperaccumulator *Pteris vittata*. *New Phytol*, 2002, 156: 195~203
- 11 Zhang W, Cai Y, Tu C, et al. Arsenic speciation and distribution in an arsenic hyperaccumulating plant. *Sci Total Environ*, 2002, 300: 167~177
- 12 陈同斌, 黄泽春, 黄宇营, 等. 砷超富集植物中元素的微区分布及其与砷富集的关系. 科学通报, 2003, 48(11): 1163~1168
- 13 廖斌, 邓冬梅, 杨兵, 等. 铜在鸭跖草细胞内的分布和化学形态研究. 中山大学学报(自然科学版), 2004, 43(2): 72~80
- 14 万敏, 周卫, 林葆. 镉积累不同类型的小麦细胞镉的亚细胞和分子分布. 中国农业科学, 2003, 36(6): 671~675
- 15 周卫, 汪洪, 林葆. 镉胁迫下钙对镉在玉米细胞中分布及对叶绿体结构与酶活性的影响. 植物营养与肥料学报, 1999, 5(4): 335~340
- 16 Ni T H, Wei Y Z. Subcellular distribution of cadmium in mining ecotype *Sedum alfredii*. *Acta Bot Sin*, 2003, 45(8): 925~928
- 17 Ramos I, Esteban E, Lucena J J, et al. Cadmium uptake and subcellular distribution in plants of *Lactuca* sp. Cd-Mn interaction. *Plant Sci*, 2002, 162: 761~767
- 18 Hans J W. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plant. *Plant Physiol*, 1980, 46: 480~482
- 19 Pathore V S, Bajat Y P S, Wittwer S H. Subcellular localization of zinc and calcium in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) tissues. *Plant Physiol*, 1972, 49: 207~211
- 20 廖晓勇, 陈同斌, 谢华, 等. 磷肥对砷污染土壤的植物修复效率的影响: 田间实例研究. 环境科学学报, 2004, 24(3): 455~462
- 21 Tu C, Ma L Q, Bondada B. Arsenic accumulation in the hyperaccumulator Chinese brake and its utilization potential for phytoremediation. *J Environ Qual*, 2002, 31: 1671~1675
- 22 Liao X Y, Chen T B, Lei M, et al. Root distributions and elemental accumulations of Chinese brake (*Pteris vittata* L.) from As-contaminated soils. *Plant Soil*, 2004, 261(1-2): 109~116
- 23 廖晓勇, 肖细元, 陈同斌. 砂培条件下施加钙、砷对蜈蚣草吸收砷、磷和钙的影响. 生态学报, 2003, 23(10): 2057~2065
- 24 郑国锷. 细胞生物学. 第2版. 北京: 高等教育出版社, 2000. 127
- 25 汪良驹, 刘友良. 植物细胞中的液泡及其生理功能. 植物生理学通讯, 1998, 34(5): 394~400
- 26 Hall J L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *J Exp Bot*, 2002, 53: 1~11
- 27 Brooks R R, Shaw S, Asensi M A. The chemical form and physiological function of nickel in some Iberian *Alyssum* species. *Plant Physiol*, 1981, 51: 167~170
- 28 Kramer U, Pickering I J, Prince R C. Subcellular localization and speciation of nickel in hyperaccumulator and non-accumulator *Thlaspi* species. *Plant Physiol*, 2000, 122: 1343~1353
- 29 Frey B, Keller C, Zierold K, et al. Distribution of Zn in functionally different leaf epidermal cells of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Cell Environ*, 2000, 23(7): 675~687
- 30 Ernst W H O, Verkleij J A C, Schat H. Metal tolerance in plants. *Acta Bot Neerl*, 1992, 41: 229~248
- 31 Hayens R J. Ion exchange properties of roots and ionic interactions within the root apoplasm: Their role in ion accumulation by plants. *Bot Rev*, 1980, 46: 75~99
- 32 Allen D L, Jarrell W M. Proton and copper adsorption to maize and soybean root cell walls. *Plant Physiol*, 1989, 89: 823~832
- 33 Turner R G, Marshall C. The accumulation of zinc by subcellular fractions of roots of *Agrostis tenuis* Sibth, in relation to zinc tolerance. *New Phytol*, 1972, 71: 671~675
- 34 Nishizono H, Ichikawa H, Suzuki S, et al. The role of the root cell wall in the heavy metal tolerance of *Athyrium yokoscense*. *Plant Soil*, 1987, 101: 15~20
- 35 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 Biotechnol*, 2003, 101: 131~146

(2005-06-14 收稿, 2005-11-14 收修改稿)