

蜈蚣草的超微结构和砷、钙的亚细胞分布

廖晓勇, 谢华, 陈同斌*, 肖细元, 阎秀兰, 翟丽梅, 武斌

(中国科学院地理科学与资源研究所环境修复中心, 北京 100101)

摘要: 本文对砷和钙处理下蜈蚣草羽叶中砷、钙的亚细胞分布、超微结构变化及钙定位进行了研究。无砷处理下, 各亚细胞组分中砷的分布为: 细胞壁 > 胞质 > 细胞器。0.2 mmol/L 砷处理下, 羽叶各亚细胞组分中砷的分布为: 胞质 >> 细胞壁 > 细胞器。不同处理下, 各亚细胞组分中钙含量变化规律相似: 细胞壁最高, 胞质其次, 而细胞器远低于前两者。5 mmol/L 钙处理对蜈蚣草羽叶细胞超微结构产生破坏, 使细胞出现明显的质壁分离。在高砷高钙环境中, 钙可能会增强砷对蜈蚣草的毒害效应, 导致羽叶细胞的超微结构受到破坏。

关键词: 砷; 钙; 亚细胞; 超微结构; 超富集植物; 蜈蚣草

中图分类号: Q248

文献标识码: A

文章编号: 1008-505X(2007)02-0305-08

Ultrastructure and subcellular distributions of arsenic and calcium in *Pteris vittata* L.

LIAO Xiao-yong; XIE Hua; CHEN Tong-bin*; XIAO Xi-yuan; YAN Xiur-lan; ZHAI Li-mei; WU Bin

(Center for Environmental Remediation, Institute of Geographic Sciences and Natural Resource Research, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: The purpose of this research was to understand the effects of As and Ca concentrations (As: 0 and 0.2 mmol/L; Ca: 0.03 and 5 mmol/L) on cellular ultrastructure, Ca localization and elemental subcellular distributions in *Pteris vittata* L., an As-hyperaccumulator. When the plants were grown in a nutrient solution without additional As, the As concentration in each fraction decreased in the following pattern: cell wall > cytoplasmic supernatant > cell organelle. However, most of the As was localized in the cytoplasmic fraction of the pinna in plants treated with 0.2 mmol/L As. The results suggested that the plant cell of pinna had been capable of self-improvement when it was intimidated by arsenic. In all the treatments, subcellular distribution of Ca present similarly as: cell wall > cytoplasmic supernatant >> organelle. When the plant was grown in a nutrient solution with 5 mmol/L of Ca, the cellular ultrastructure was damaged and plasmolysis was appeared. As toxicity to the plant was strengthened by high addition of Ca, therefore the cellular ultrastructure was heavily damaged and it resulted in a decrease of As accumulation by the plant.

Key words: arsenic; calcium; subcellular; ultrastructure; hyperaccumulator; *Pteris vittata* L.

蜈蚣草 (*Pteris vittata* L.) 是一种生物量大的砷超富集植物 (As-hyperaccumulator)^[1], 在修复砷污染环境方面具有广阔的应用前景^[2]。多项研究都表明, 羽叶是蜈蚣草储存砷的主要部位。Lombi 等^[3]研究表明, 砷主要分布在蜈蚣草羽叶表皮, 并且为上表皮 > 下表皮 > 海绵组织 > 栅栏组织。黄泽春^[4]对其羽叶横切面中砷的微区分布进行研究, 发现表皮

组织中的砷浓度都低于相邻的叶肉组织, 其中以栅栏组织中的砷浓度最高, 羽叶横切面砷浓度分布由中心向近轴面方向下降。陈同斌等^[5]研究表明, 蜈蚣草羽叶中脉上砷浓度比两侧组织高, 羽叶有较强的木质部运输和卸载能力。陈同斌等^[6]进一步对蜈蚣草中砷的亚细胞分布进行研究, 发现整株植物累积的砷有 61% 富集在羽片胞液中。开展砷超富集

收稿日期: 2006-01-19 修改稿收到日期: 2006-08-06

基金项目: 国家杰出青年基金(40325003)资助。

作者简介: 廖晓勇(1977—), 男, 湖南衡阳人, 博士, 主要从事植物修复研究。Email: liaoxy@igsnr.ac.cn

* 通讯作者 Email: chentb@igsnr.ac.cn

植物微观水平的研究有助于更深入地了解这类特殊植物对砷的耐性、吸收和累积机理,但相关研究并不太多,掌握的知识与信息都还不够,需从植物营养、生理生化等多个角度进行研究与分析。

传统观点认为,蜈蚣草是钙质土壤指示植物^[7]。钙是植物必需的中量营养元素,对于稳定细胞膜起着重要的作用,并广泛参与调节植物体内的生理生化反应^[8]。细胞内钙浓度的微小变化就会影响细胞的伸长、分裂、代谢、运输及分泌过程^[9]。钙可减轻重金属及其他元素对普通植物的毒害,如在培养溶液中添加钙,可抑制镉进入植物体内,降低镉对玉米^[10]和菜豆^[11]的毒性。廖晓勇等^[12]的盆栽试验结果表明,在一定范围内提高培养介质中的砷浓度可促进砷向蜈蚣草的地上部运输,而钙却明显抑制砷向地上部转运。肖细元等^[13]的研究表明,蜈蚣草羽叶中的钙与K、Mg、Mn和Zn浓度呈显著负相关。由此可见,钙与蜈蚣草生长、砷富集、转运行有紧密联系。

本文开展蜈蚣草砷、钙的亚细胞分布、超微结构和钙定位研究,从微观层次揭示这种植物在砷、钙胁迫下的生理反应,以探讨蜈蚣草富集砷的机制和特点。

1 材料与方法

1.1 植物材料的培养

盆栽试验的供试土壤取自北京,为不添加砷的褐土(含砷6 mg/kg)。将采自湖南郴州石灰性水稻土上生长的蜈蚣草孢子撒在该盆栽土壤上,覆上薄膜,保持湿润,在温室中育苗。待长出2片幼叶后,移栽到砂培介质中(石英砂经稀盐酸浸泡、洗净),盆的直径12 cm、高10 cm,每盆移栽4株苗。预培养1个月后,开始进行添加砷、钙处理,每处理设4个重复。试验处理的蜈蚣草苗在人工气候箱中培养,每天光照14 h,温度为昼夜26/20,相对湿度为85%。每周更换一次营养液,期间每隔1 d加80 mL去离子水,以补充植物蒸腾所耗水分,每3 d添加50 mL营养液。3个月后进行采样、制片。

砂培的营养液以Hoagland缺钙营养液为基础。各元素浓度(mmol/L)为:N 4.8、P 0.4、K 2.0、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。试验设2个砷水平:0、0.2 mmol/L(以下称为无砷和高砷)和2个钙水平:0.03、5 mmol/L(以下称为微钙和高钙)。配置的营养液用0.1

mol/L NaOH或0.1 mol/L HCl调节pH至6.5。由于化学试剂(分析纯)带入极其微量的杂质,使无砷处理的营养液中也含有极微量的砷(5.3×10^{-5}),钙是植物必需营养元素,本试验最低钙水平参照微量元素Fe的浓度,设为0.03 mmol/L。钙源为Ca(NO₃)₂,砷源为Na₂HAsO₄·7H₂O。

1.2 超微结构及细胞钙定位观察

超微结构观察:选取成熟的展开叶片(从尖部数第5羽叶),取近叶尖的羽叶1/3处进行观察。制片过程参照Quartacci等^[14]的方法并略有改进:样品经0.1 mol/L巴比妥钠配制的6%戊二醛初固定和2%四氧化锇固定后,乙醇系列脱水,环氧树脂Epon812包埋,用LKB-8800III型超薄切片机切片。切片经醋酸铀和柠檬酸铅双染色后,在TEM-7500型透射电镜(Hitachi)下观察和拍照。

钙定位对照切片的处理:将在电镜下已确定有焦锑酸钙沉淀的定位切片漂浮在100 mmol/L的EGTA(pH 8.0)溶液中,60℃处理0.5~1.0 h,使EGTA与钙螯合,脱去原沉淀中的钙,再置于电镜下观察拍照^[15]。

细胞钙定位观察:选取成熟展开叶片(从尖部数第5羽叶),取近叶尖的羽叶1/3处进行观察。制片过程参照Slocum等^[16]的方法并略有改进:样品用2%焦锑酸钾(pH 7.6)配制的3%戊二醛初固定,其余过程同超微结构观察。切片用醋酸双氧铀染色。

1.3 亚细胞组分的分离

收获植株后,取各处理的蜈蚣草羽叶鲜样,均称取0.5000 g,先用自来水洗净,再用超纯水冲洗两遍。参照Hans^[17]及Rathore等^[18]的方法,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顺乙二醇盐缓冲液(pH 7.8)、1 mmol/L MgCl₂和10 mmol/L半胱氨酸。匀浆液的pH值调整到7.8。所有匀浆过程和分离过程均控制在4℃下进行。具体步骤如下:匀浆液及组织的体积在15~20 mL左右,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2200 r/min条件下离心30 s,下部沉淀和底层碎片为细胞壁组分(包括胞间隙),上清液在5500 r/min条件下离心45 min,底层碎片为细胞器组分,上层清液为胞质组分(包括细胞质及液泡)。

1.4 化学分析与数据处理

分离后的细胞壁、胞质和细胞器采用HNO₃-HClO₄法消化^[2]。样品中的砷用氢化物发生-原子

荧光光谱仪(海光 AFS - 2202)测定,钙用原子吸收光谱仪 (Analytik Jena AG; AAS Vario 6) 测定。分析中采用优级纯试剂,并用国家标准参比物质 (GBW - 07403) 进行分析质量控制。实验数据的处理及显著性检验用 SPSS 10.0 统计软件完成。

2 结果与讨论

2.1 细胞超微结构

在无砷微钙处理下,蜈蚣草的细胞结构完全正常,叶绿体为长椭圆形,基粒类囊体垛叠整齐而致

密,基质类囊体片层排列整齐,线粒体为椭圆形,嵴突明显,双层外膜清晰,无质壁分离现象(图 1-1)。无砷高钙处理下,细胞器形态正常,但细胞中质壁分离现象明显,液泡中存在大片电子密度较高的物质(图 1-2)。高砷微钙处理下对羽叶细胞超微结构破坏较小,细胞核核膜清晰、核仁明显,叶绿体、线粒体形态结构基本完整,无明显质壁分离现象(图 1-3)。高砷高钙处理下,细胞结构受到较大的损害,部分细胞解体、无结构(图 1-4)。

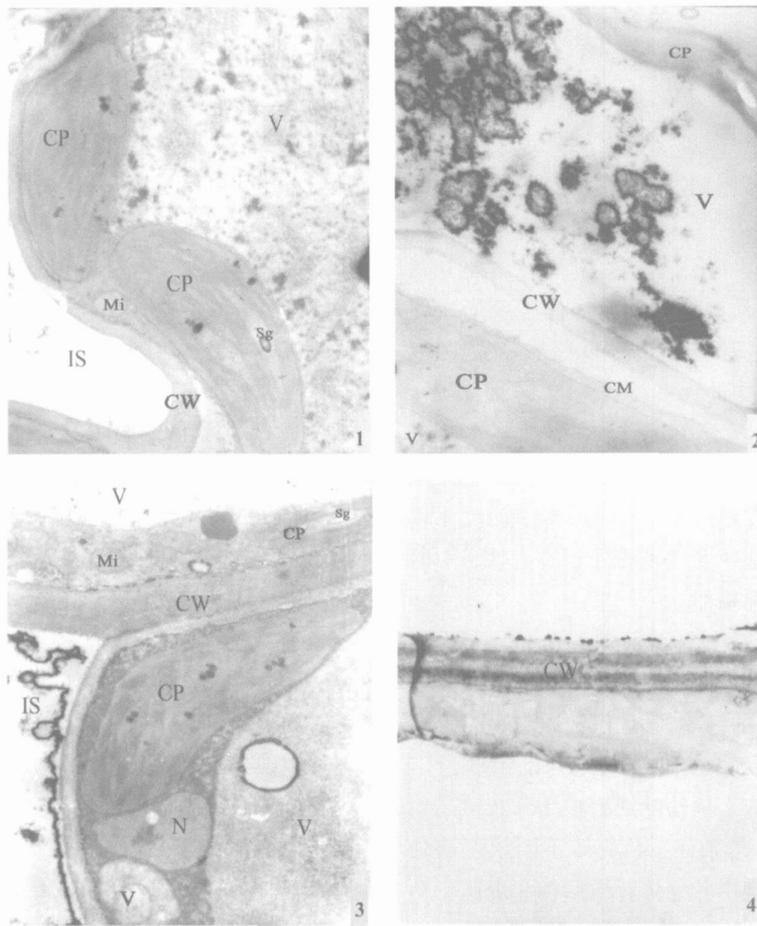


图 1 不同砷、钙处理下蜈蚣草羽叶细胞超微结构

Fig.1 Ultrastructure in pinnate cell of *Pteris vittata* L. treated with As and Ca

[CM—细胞质膜 Cytoplasma membrane; CP—叶绿体 Chloroplast; CW—细胞壁 Cell wall; IS—胞间隙 Intercellular space; Mi—线粒体 Mitochondria; Sg—淀粉粒 Starch grain; V—液泡 Vacuole. 1. 无砷微钙处理叶细胞,示正常细胞,叶绿体、线粒体形态完整(×8000); 2. 无砷高钙处理叶细胞,示叶绿体形态正常,细胞中质壁分离现象明显(×10000); 3. 高砷微钙处理叶细胞,示细胞结构正常,细胞核、叶绿体、线粒体形态完整(×8000); 4. 高砷高钙处理叶细胞,示细胞解体,无结构(×10000)。

1. Ultrastructure of pinnate cell treated with 0 mmol/L As and 0.03 mmol/L Ca, showing the normal cell structure (×8000); 2. Pinnate cell treated with 0 mmol/L As and 5 mmol/L Ca, showing the normal chloroplast but plasmolysis (×10000); 3. Pinnate cell treated with 0.2 mmol/L As and 0.03 mmol/L Ca, showing the normal cell structure and organelle are all complete (×8000); 4. Pinnate cell treated with 0.2 mmol/L As and 5 mmol/L Ca, showing the disintegration of cell (×10000).]

在无砷高钙和高砷高钙处理下,蜈蚣草羽叶细胞都出现不同程度的形态破坏,羽叶的生物量和砷浓度与无砷微钙处理相比都明显降低^[12],说明过高的钙浓度会使其生理作用受到一定程度的抑制,最终影响其生长和对砷的吸收。高浓度砷对普通植物叶细胞超微结构可产生较严重的破坏,如使黑藻的叶细胞中核仁消失、核膜破损,叶绿体出现膨胀及外膜破损,线粒体嵴突损失^[19]。但本研究中,单一的高砷环境对蜈蚣草羽叶细胞超微结构的破坏很小(图 1-3)。高砷高钙处理下,蜈蚣草羽叶细胞超微结构的破坏最大(图 1-4)。这说明,高钙环境对蜈蚣草产生毒害作用,砷和钙的协同胁迫使其羽叶细胞受损更加严重,致使部分细胞完全解体。

2.2 细胞中钙定位

蜈蚣草在正常条件(即无砷微钙处理)下,钙沉淀主要分布于液泡和胞间隙中,在细胞质和叶绿体中也有少量分布(图 2-1)。

在无砷高钙处理下,大量钙沉淀颗粒主要分布于细胞质内,并沿着质膜内侧和叶绿体外膜形成钙沉淀圈,有少量钙沉淀颗粒分布于叶绿体、液泡和胞间隙中,其中叶绿体中的钙沉淀数量增多(图 2-2)。辣椒^[20]、胡椒^[21]、小麦^[22]和董棕^[23]的细胞在胁迫状态下,液泡和胞间隙中钙沉淀大量消失,钙沉淀很少;细胞质中出现大量钙沉淀;叶绿体中钙沉淀增加。本研究结果与这些普通植物处于胁迫状态中的细胞钙沉淀分布情况相似。

在高砷微钙处理下,钙沉淀颗粒主要分布于液泡中,质膜内侧和叶绿体外膜上也有大量钙沉淀分布,而液泡作为细胞的钙库,其钙沉淀颗粒在靠近液泡膜处较液泡中心密集(图 2-3),这与低温胁迫下保持正常超微结构的水稻幼叶细胞中钙分布情况相同^[24]。Li 等^[25]在土培条件下研究了不同浓度砷处理对蜈蚣草羽叶细胞中叶绿体超微结构和细胞中钙定位的影响,该研究表明,当土壤中砷浓度达到 800 mg/kg 时,其细胞就出现严重的质壁分离现象,叶绿体超微结构产生严重变形。在出现质壁分离现象的细胞内,细胞间隙和细胞质中钙沉淀增加,而液泡中钙沉淀显著降低。本研究高砷微钙处理下,叶绿体中的钙沉淀并未出现明显增多,在一定程度上蜈蚣草对砷胁迫具有自主协调适应的功能,在可忍耐的高砷条件下仍能保证细胞功能的正常运行。

在高砷高钙处理下,钙沉淀颗粒主要分布于液泡中,同时叶绿体中的钙沉淀数量比无砷高钙处理还要多(图 2-4),这表明,尽管部分细胞的叶绿体的

形态未受破坏,但其膜透性有所增加,并受到一定程度的毒害,甚至可能对其生理功能产生不良影响。蜈蚣草叶片中细胞器的钙沉淀颗粒相对于细胞质和液泡要少,在蜈蚣草羽叶未解体细胞中细胞器仍能进行生理活动。

以上观察到的钙沉淀颗粒经过 EGTA 处理后,沉淀物即被消除,在原有钙定位的部位上(如液泡、质膜内侧等处)表现出与原沉淀物形态相同的电子透明区域(图 2-5),这一现象证明,切片中的钙定位反应是真实的^[16]。

2.3 元素的亚细胞分布

2.3.1 砷分布 在无砷微钙处理下,细胞中胞质、细胞壁和细胞器组分的砷含量分别为 6.6、11.5 和 2.4 mg/kg;在无砷高钙处理下,细胞中的胞质、细胞壁和细胞器组分砷含量分别为 2.0、7.7 和 1.0 mg/kg。两处理下砷含量的分布均表现为:细胞壁 > 胞质 > 细胞器,但各组分砷含量的差异均不显著($P > 0.05$)。两个无砷处理下,细胞壁的砷含量均为细胞组分中的最高值,这与传统观点认为的细胞壁具有重金属的束缚作用和解毒能力一致^[26]。

高砷处理下的砷分布规律则有所不同:高砷微钙处理下,细胞中的胞质、细胞壁和细胞器组分的砷含量分别为 6473、1819 和 257 mg/kg;高砷高钙处理下,细胞中胞质、细胞壁和细胞器组分的砷含量分别为 5802、1109 和 285 mg/kg;砷分布规律变为胞质 > 细胞壁 > 细胞器,其中胞质与细胞壁中砷含量的差异达到极显著水平($P < 0.01$),细胞壁与细胞器中的砷含量的差异不显著($P > 0.05$)(图 3-A)。

本课题组对不同砷浓度处理下蜈蚣草各部位的亚细胞砷分布进行研究,认为在低砷浓度下蜈蚣草的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,当体内砷浓度过高时,绝大部分砷都会向地上转移,聚集到羽叶的胞质中^[6]。蜈蚣草对砷的解毒、富集很可能与液泡的区隔化有关。本研究的高砷环境下,蜈蚣草羽叶细胞中贮藏砷的部位为胞质(包括细胞质及液泡),液泡可起到隔离毒性离子的作用,使细胞质避免受其伤害。例如,耐镉植物将吸收的镉多数贮藏于液泡中^[27];镍超富集植物 *Alyssum murale* 叶表皮细胞的液泡也起到对镍的区隔作用^[28]。

值得注意的是,细胞器作为细胞进行各种生理活动的部位,其砷含量在各处理下均能保持在相对较低的水平,对于保证其正常的生理活动具有重要

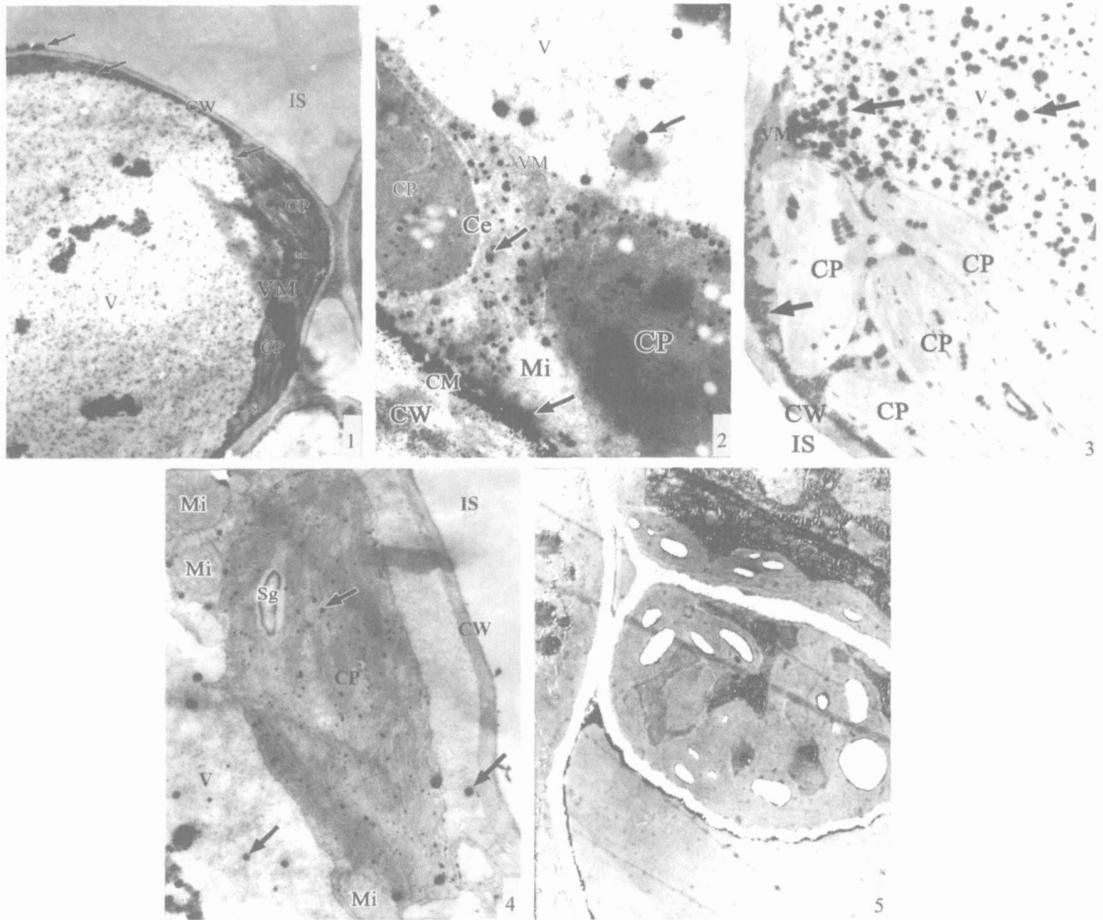


图2 不同砷、钙处理下蜈蚣草羽叶细胞钙定位

Fig.2 Ca cellular localization in pinnate cell of *Pteris vittata* L. treated with As and Ca

[Ce—叶绿体被膜 Chloroplast envelope; CM—细胞质膜 Cytoplasma membrane; CP—叶绿体 Chloroplast; CW—细胞壁 Cell wall; IS—胞间隙 Intercellular space; Mi—线粒体 Mitochondria; Sg—淀粉粒 Starch grain; V—液泡 Vacuole; 箭头指向钙沉淀颗粒 Arrows point to calcium precipitations.

1. 无砷微钙处理叶细胞,示正常细胞中的钙沉淀分布,主要分布于液泡和胞间隙中,细胞质和细胞器中有少量分布(×4200); 2. 无砷高钙处理叶细胞,示质膜内侧、细胞质中有大量钙沉淀颗粒,液泡和细胞器中有少量钙沉淀(×20000); 3. 高砷微钙处理叶细胞,示液泡、质膜内侧和细胞质中有大量钙沉淀颗粒,叶绿体内部有少量钙沉淀(×8000); 4. 高砷高钙处理叶细胞,示叶绿体内钙沉淀增加(×12000); 5. 经EGTA处理后的对照切片,在原来形成沉淀的部位形成与原来沉淀物形态相同的电子透明区域(×2500)。

1. Pinnate cell treated with 0 mmol/L As and 0.03 mmol/L Ca, showing the calcium precipitations in normal cell, main in vacuole and intercellular space, some in cytoplasm and organelle (×4200); 2. Pinnate cell treated with 0 mmol/L As and 5 mmol/L Ca, showing large quantity calcium precipitations are inside cytoplasma membrane, some in vacuole and organelle (×20000); 3. Pinnate cell treated with 0.2 mmol/L As and 0.03 mmol/L Ca, showing large quantity calcium precipitations are in vacuole, inside cytoplasma membrane and cytoplasm, some inside chloroplast (×8000); 4. Pinnate cell treated with 0.2 mmol/L As and 5 mmol/L Ca, showing calcium precipitations are increasing chloroplast (×12000); 5. The slice after treated with EGTA, showing the transparent area in the original calcium precipitation position.]

意义。在同等砷水平下,细胞的总砷含量及各组分砷含量分布几乎均为微钙处理 > 高钙处理,说明高浓度的钙使蜈蚣草在细胞中富集砷的能力降低。唯一例外的是,在高砷处理下,当高钙处理的细胞总砷含量和其他各组分砷含量都比微钙处理低时,细胞器中的砷含量却比微钙处理高 10.9%。结合上述超微结构观察结果,推测其原因可能是:由于高钙使膜透性增加而引起的砷含量升高,可能对细胞器

行使生理功能产生一定不良影响,进而影响蜈蚣草羽叶细胞的富砷能力,最终会使整株的富砷能力减弱^[12]。

2.3.2 钙分布 在无砷微钙处理下,细胞中的胞质、细胞壁和细胞器组分钙含量分别为 2299、4434 和 1300 mg/kg; 在无砷高钙处理下分别为 7995、8193 和 1206 mg/kg; 在高砷微钙处理下分别为 3038、3364 和 876 mg/kg; 高砷高钙处理下分别为 8227、8770 和

2321 mg/kg。各处理下细胞中的钙分布规律基本相似,即细胞壁略高于胞质,而这两者都远高于细胞器。胞质与细胞壁中的钙含量差异不显著 ($P >$

0.05),细胞壁与细胞器中的钙含量差异达到显著水平 ($P < 0.05$) (图 3-B)。

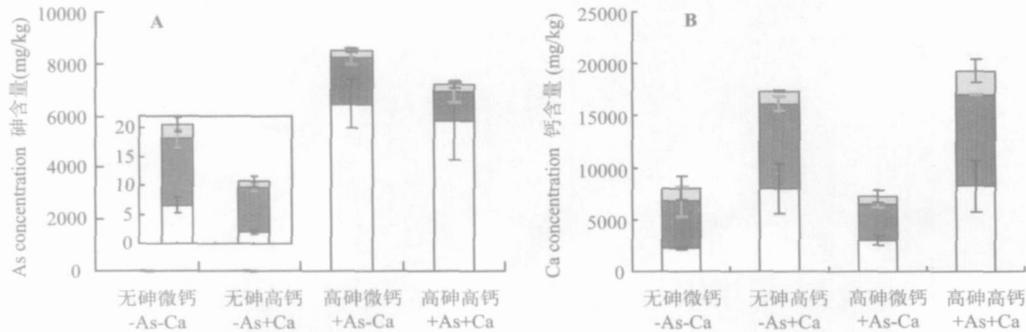


图 3 不同砷、钙处理下蜈蚣草羽叶细胞中砷、钙的亚细胞分布

Fig. 3 As and Ca subcellular distribution in pinna of *Pteris vittata* L. treated with arsenic and calcium

在高砷高钙处理中,细胞各组分的钙含量均高于无砷高钙处理,尤其是细胞器中的钙含量要高近 2 倍,这在本文的细胞钙定位研究中也有所表现 (图 2-4)。细胞器中钙含量的激增,有可能影响羽叶细胞的正常生理功能^[29]。细胞内钙水平过高,会与细胞质中的磷酸根发生沉淀反应,扰乱以无机磷为基础的能量代谢系统^[30],诱发多种生理反应,最终导致细胞内物质代谢的不平衡^[31]。对于一般植物而言,1~10 mmol/L 钙可提高叶绿体的光还原活性;而钙含量超过 10 mmol/L (约为 4000 mg/kg, DW) 时,对光还原活性的促进作用下降^[31]。微钙处理下,蜈蚣草叶细胞中胞质钙含量尚能维持在正常水平。而在本研究的两个高钙处理下,胞质中的钙均超过了一般植物正常生理活动的适宜浓度 (4000 mg/kg, DW),介质中的钙浓度过高时,会干扰蜈蚣草中磷和钙的正常生理代谢^[32]。胞质组分包括细胞质及液泡,其中液泡是植物细胞中的钙库,在调节细胞中钙含量方面起关键作用^[33]。液泡调节钙的功能正常运行是蜈蚣草细胞维持正常生理活动的重要条件之一。高钙处理中,细胞内胞质含量偏高,则细胞的生理功能有可能会受到干扰,羽叶生长可能因此受到抑制,进而使羽叶生物量降低^[12],最终将降低对砷的富集量。

尽管蜈蚣草是钙质土壤的指示植物,但从本试验结果来看,其在羽叶细胞的超微结构变化、细胞钙定位和砷、钙亚细胞分布上与普通植物相比并无明显差异。相反,在高钙处理下,蜈蚣草也会表现出受钙胁迫的现象,尤其在砷高钙处理下,胁迫现象更

为明显。从砷、钙亚细胞分布和超微结构来看,蜈蚣草作为砷的超富集植物,对于单纯的高砷环境具有很强的耐性,但高砷高钙处理时,钙会增强砷对蜈蚣草的胁迫效应,且使细胞对砷的富集量减少。高钙处理甚至可使蜈蚣草地上部和总生物量均显著下降 ($P < 0.001$)^[12],严重减弱蜈蚣草对砷的富集能力。因此,在用蜈蚣草修复砷污染土壤时,应考虑避免使土壤中的钙活性过高。

3 结论

在无砷处理下,蜈蚣草羽叶细胞各组分中砷分布表现为:细胞壁 > 胞质 > 细胞器;高砷处理下,砷分布表现为:胞质 > 细胞壁 > 细胞器。在不同处理中,细胞各组分中钙分布以细胞壁最高,其次是胞质,细胞器最低。高砷处理可对蜈蚣草羽叶细胞超微结构和钙分布有一定影响,但细胞对该胁迫具有自主协调适应的能力,表现出对砷的高耐性。高钙处理可破坏蜈蚣草羽叶细胞的超微结构,使细胞出现明显的质壁分离;砷和钙的共同作用下,导致蜈蚣草羽叶细胞严重破坏,部分细胞完全解体,降低其羽叶细胞的砷积累量。

参考文献:

- [1] 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[J]. 科学通报, 2002, 47(3): 207-210.
Chen T B, Wei C Y, Huang Z C et al. Arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and its arsenic accumulation [J]. Chin. Sci. Bull., 2002, 47(11): 902-905.
- [2] 廖晓勇,陈同斌,谢华,肖细元. 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, 2004, 24(3): 455-462.
- Liao X Y, Chen T B, Xie H, Xiao X Y. Effect of application of P fertilizer on efficiency of As removal from As-contaminated soil using phytoremediation: Field study [J]. Acta Sci. Circumstantiae, 2004 (3): 455-462.
- [3] Lombi E, Zhao F J, Fuhrmann M *et al.* Arsenic distribution and speciation in the fronds of the hyperaccumulator *Pteris vittata* [J]. New Phytol., 2002, 156(2): 195-203.
- [4] 黄泽春. 砷超富集植物的筛选及富集机理研究[D]. 北京:中国科学院地理科学与资源研究所, 博士学位论文, 2003.
- Huang Z C. Screening of arsenic hyperaccumulator and its accumulation mechanisms [D]. Beijing: PhD thesis, Institute of Geographical Sciences and Natural Resources Research, Chinese Academy of Sciences, 2003.
- [5] 陈同斌, 黄泽春, 黄宇莹, 雷梅. 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), 2004, 34(4): 304-309.
- Chen T B, Huang Z C, Huang Y Y, Lei M. Distributions of arsenic and essential elements in pinna of arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L [J]. Sci. China (Series C-Life Sci.), 2005, 48(1): 18-24.
- [6] 陈同斌, 阎秀兰, 廖晓勇, 等. 蜈蚣草中砷的亚细胞分布与区隔化作用[J]. 科学通报, 2006, 50(24): 2739-3744.
- Chen T B, Yan X L, Liao X Y *et al.* Subcellular and compartmentalization of arsenic in *Pteris vittata* L. [J]. Chin. Sci. Bull., 2005, 50(24): 2843-2849.
- [7] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第三卷第一分册)[M]. 北京: 科学出版社, 1990. 37.
- Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae Agendae Academiae Sinicae Edita. Flora reipublicae popularis sinicae, [Tomus 3(1)] [M]. Beijing: Science Press, 1990. 37.
- [8] Kaus H. Some aspects of calcium-dependent regulation in plant metabolism [J]. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 1987, 38: 47-72.
- [9] Sotiropoulos T E, Therios I N, Dimassi K N. Calcium application as a means to improve tolerance of kiwifruit (*Actinidia deliciosa* L.) to boron toxicity [J]. Sci. Hort., 1999, 81(4): 443-449.
- [10] 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[J]. 植物营养与肥料学报, 1999, 5(4): 335-340.
- Zhou W, Wang H, Lin B. Effects of calcium supply on subcellular distribution of cadmium, chloroplast ultrastructure, RuBPC and PEPC activity in maize under cadmium stress [J]. Plant Nut. Fert. Sci., 1999, 5(4): 335-340.
- [11] Skorzynska-Pohl E, Tukendorf A, Selstam E, Baszynski T. Calcium modifies Cd effect on runner bean plants [J]. Environ. Exper. Bot., 1998, 40(3): 275-286.
- [12] 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[J]. 生态学报, 2003, 23(10): 2057-2065.
- Liao X Y, Xiao X Y, Chen T B. Effects of Ca and As addition on As, P and Ca uptake by hyperaccumulator *Pteris vittata* L. under sand culture [J]. Acta Ecol. Sin., 2003, 23(10): 2057-2065.
- [13] 肖细元, 廖晓勇, 陈同斌, 张杨珠. 砷、钙对蜈蚣草中金属元素吸收和转运的影响[J]. 生态学报, 2003, 23(8): 1477-1487.
- Xiao X Y, Liao X Y, Chen T B, Zhang Y Z. Effects of arsenic and calcium on the metal accumulation and translocation in *Pteris vittata* L. [J]. Acta Ecol. Sin., 2003, 23(8): 1477-1487.
- [14] Quartacci M F, Pinzino C, Sgheri C L M *et al.* Growth in excess copper induces changes in the lipid composition and fluidity of PSII-enriched membranes in wheat [J]. Physiol. Plant., 2002, 108: 87-93.
- [15] 简令成, 孙龙华, 李积宏, 等. 低温逆境中不同抗寒性植物细胞内 Ca^{2+} 稳定平衡的区别[J]. 植物学报, 2000, 42(4): 358-366.
- Jian L C, Sun L H, Li J H *et al.* Ca^{2+} -homeostasis differs between plant species with different cold-tolerance at 4 hilling [J]. Acta Bot. Sin., 2000, 42(4): 358-366.
- [16] Slocum R D, Roex S J. An improved method for the subcellular localization of calcium using a modification of the antimonite precipitation technique [J]. J. Histochem. Cytochem., 1982, 30: 617-629.
- [17] Hans J W. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plant [J]. Plant Physiol., 1980, 46: 480-482.
- [18] Rathore V S, Bajat Y P S, Wittwer S H. Subcellular localization of zinc and calcium in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) tissues [J]. Plant Physiol., 1972, 49: 207-211.
- [19] 施国新, 解凯彬, 杜开和, 等. Cr^{6+} 、 As^{3+} 污染对黑藻叶细胞伤害的超微结构研究[J]. 南京师大学报(自然科学版), 2001, 24(4): 93-97.
- Shi G X, Xie K B, Du K H *et al.* Ultrastructural study of leaf cells damaged from Cr^{6+} and As^{3+} pollution in *Hydrilla verticillata* [J]. J. Nanjing Normal Univ. (Nat. Sci. Edn.), 2001, 24(4): 93-97.
- [20] 张宗申, 利容干, 王建波. 草酸处理对热胁迫下辣椒叶片膜透性和钙分布的影响[J]. 植物生理学报, 2001, 27(2): 109-113.
- Zhang Z S, Li R Q, Wang J B. Effects of oxalate treatment on the membrane permeability and calcium distribution in pepper leaves under heat stress [J]. Acta Photophysiol. Sin., 2001, 27(2): 109-113.
- [21] Yan C L, Wang J B, Li R Q. Effect of heat stress on calcium ultrastructural distribution in pepper anther [J]. Environ. Exper. Bot., 2002, 48(2): 161-168.
- [22] 王凤茹, 张晓红. 干旱逆境下小麦幼苗细胞叶绿体内钙离子浓度变化的电镜细胞化学研究[J]. 电子显微学报, 2002, 21(2): 106-109.
- Wang F R, Zhang X H. Cytochemistry of Ca^{2+} in the chloroplast of the wheat seedling under water stress [J]. J. Chin. Electr. Microsc. Soc., 2002, 21(2): 106-109.
- [23] 谢潮添, 杨盛昌, 廖启斗, 等. 低温胁迫下董棕 (*Garyota urens* L.) 幼苗叶肉细胞内 Ca^{2+} 水平及细胞超微结构的变化[J]. 植物学通报, 2003, 20(2): 212-217.
- Xie C T, Yang S C, Liao Q D *et al.* The changes in Ca^{2+} level and ultrastructure in the leaf cells of *Garyota urens* L. under low temperature stress [J]. Chin. Bull. Bot., 2003, 20(2): 212-217.
- [24] 王红, 简令成, 张举仁. 低温胁迫下水稻幼叶细胞内 Ca^{2+} 水平

- 的变化[J]. 植物学报, 1994, 36(8): 587-591.
- Wang H, Jian L C, Zhang J R. Changes of the level of Ca^{2+} in cells of rice seedlings under low temperature stress [J]. Acta Bot. Sin., 1994, 36(8): 587-591.
- [25] Li W X, Chen T B, Huang Z C *et al.* Effect of arsenic on chloroplast ultrastructure and calcium distribution in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. [J]. Chemosphere, 2006, 62(5): 803-809.
- [26] Ernst W H O, Verkleij J A C, Schat H. Metal tolerance in plants [J]. Acta Bot. Neerlandica, 1992, 41(3): 229-248.
- [27] Salt D E, Rauser W E. Mg ATP - dependent transport of phytochelatins across the tonoplast of oat roots [J]. Plant Physiol., 1995, 107(4): 1293-1301.
- [28] Broadhurst C L, Chaney R L, Angle J S *et al.* Nickel localization and response to increasing Ni soil levels in leaves of the Ni hyperaccumulator *Alyssum murale* [J]. Plant Soil, 2004, 265(1-2): 225-242.
- [29] Belyavskaya N A. Ultrastructure and calcium balance in meristem cells of pea roots exposed to extremely low magnetic fields [J]. Adv. Space Res., 2001, 28(4): 645-650.
- [30] Hepler P K, Wayne R O. Calcium and plant development [J]. Ann. Rev. Plant Physiol., 1985: 397-439.
- [31] Bowler C, Neuhaus G, Yamagata H, Chua N H. Cyclic - Gmp and calcium mediate phytochrome phototransduction [J]. Cell, 1994, 77(1): 73-81.
- [32] 肖细元, 廖晓勇, 陈同斌, 等. 砷超富集植物蜈蚣草中磷和钙的亚细胞分布与耐砷毒机理[J]. 环境科学学报, 2006, 26(6): 954-961.
- Xiao X Y, Liao X Y, Chen T B *et al.* Subcellular distribution of phosphorus and calcium in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and its mechanism of tolerance to arsenic phytotoxicity [J]. Acta Sci. Circumstantiae, 2006, 26(6): 954-961.
- [33] 汪良驹, 刘友良. 植物细胞中的液泡及其生理功能[J]. 植物生理学通报, 1998, 34(5): 394-400.
- Wang L J, Liu Y L. Vacuoles of plant cells and their physiological functions [J]. Commun. Plant Physiol., 1998, 34(5): 394-400.