

侧柏和国槐叶片中铅的化学形态与分布研究

周芙蓉, 王进鑫*, 张 青, 邹 朋, 初江涛

(西北农林科技大学资源环境学院, 农业部西北植物营养与农业环境重点实验室, 陕西 杨凌 712100)

摘 要: 为了解铅在植物体内的迁移转化规律, 采用盆栽试验, 结合细胞组分分离和化学形态提取技术, 研究了不同外源铅浓度处理下(CK 0 mg·kg⁻¹, A 300 mg·kg⁻¹, B 500 mg·kg⁻¹, C 1000 mg·kg⁻¹, D 2000 mg·kg⁻¹)侧柏和国槐不同器官的铅含量及其在两种植物叶片细胞中的分布和化学结合形态。结果表明: 在铅胁迫下, 侧柏和国槐的生物量均发生显著变化; 两种植物体内的铅随着外源铅浓度的增加而显著增加, 且主要分布在根部。侧柏和国槐叶片亚细胞中铅的含量分布及结合形态存在差异。细胞壁是铅在侧柏和国槐叶片细胞内的主要分布位点, 其次是细胞核部分和叶绿体线粒体部分, 可溶性部分最少, 随着外源铅浓度的增加, 细胞核部分的分配增加, 可溶性部分减少, 但侧柏叶片中细胞壁部分所占比例大于国槐叶片中细胞壁部分的百分率。两种植物叶片内均以 NaCl 提取态、HAc 提取态和 HCl 提取态铅为主导形态, 水和乙醇两种提取态铅的分配很少; 随着外源铅浓度的增加, 侧柏叶片中 NaCl 提取态铅先增加后减少, 国槐叶片中 NaCl 提取态铅所占百分率不断增加。侧柏对铅的耐受能力强于国槐。

关键词: 侧柏; 国槐; 铅; 化学形态; 分布

中图分类号: X503.235 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2012)11-2121-07

Chemical Forms and Distribution of Pb in the Leaves of *Platycladus orientalis* and *Sophora japonica*

ZHOU Fu-rong, WANG Jin-xin*, ZHANG Qing, ZOU Peng, CHU Jiang-tao

(College of Resources and Environment, Northwest A & F University, Key Laboratory of Plant Nutrition and the Agri-environment in Northwest China, Ministry of Agriculture, Yangling 712100, China)

Abstract: A pot experiment combined with subcellular fractionation and chemical speciation sequential extraction techniques was carried out to study the lead (Pb) distribution and chemical forms in leaves of *Platycladus orientalis* and *Sophora japonica* under different Pb concentration (CK 0 mg·kg⁻¹, A 300 mg·kg⁻¹, B 500 mg·kg⁻¹, C 1000 mg·kg⁻¹, D 2000 mg·kg⁻¹). The result showed that the biomass of *Platycladus orientalis* and *Sophora japonica* changed significantly under Pb stress. Most of Pb was distributed in the roots of two plants, and which increased with the Pb concentration in soil. A difference was observed in subcellular distribution of Pb and its chemical forms between the two plants leaves under Pb stress. Most of Pb was found to be bound to cell wall in the leaves of *Platycladus orientalis* and *Sophora japonica* for all Pb treatments, and the proportion of Pb bound to cell wall was higher in *Platycladus orientalis* than *Sophora japonica*. Less Pb was distributed in soluble fractions for both plants. The proportion of cell nucleus raised with Pb concentration increased, whereas the proportion of soluble fractions decreased. For the chemical forms, NaCl, acetic acid and HCl-extractable Pb were predominated in the leaves of the two plants, while the proportion of water and ethanol-extractable Pb were little. Pb supply increased the proportion of NaCl-extractable Pb firstly, and which reduced in leaves of *Platycladus orientalis* thereafter. On the contrast, the proportion of NaCl-extractable Pb in leaves of *Sophora japonica* increased gradually with Pb supply increased. Based on these findings, *Platycladus orientalis* was likely to possess a higher tolerance to Pb than *Sophora japonica* did.

Keywords: *Platycladus orientalis*; *Sophora japonica*; Pb; chemical form; distribution

收稿日期: 2012-05-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(31170579)

作者简介: 周芙蓉(1986—), 女, 四川德阳人, 在读博士, 主要从事生态环境工程方向研究。E-mail: zhoufurong19860730@126.com

* 通信作者: 王进鑫 E-mail: jwang118@126.com

铅不是植物的必需元素,植物体内铅的平均含量在 $0.5\sim 3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 间变动,长期生长在受大量铅污染的土壤上的植物会对铅产生抗性^[1]。植物对铅的抗性主要通过避性和耐性两种途径来实现。对铅的耐性包括对铅的排斥和对铅富集两种途径,前者指铅被植物吸收后又被排出体外,或者铅在植物体内的运输受阻,后者主要指铅在植物体内以不具生物活性的解毒形态存在,如结合到细胞壁、进入液泡、与有机酸或蛋白质络合等^[2-3]。已有研究表明^[4-6],铅经过植物吸收、转运后,会以不同的化学结合形态存在于不同的器官组织中,借以限制其在植物体内的移动,从而减轻其对植物的毒害。植物体内的重金属可以多种复杂的形态存在,不同的植物在不同生长发育阶段、植株不同部位的分布特征均不同,各种形态的迁移能力及毒性也有显著的差异。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具有重要意义^[7-8],目前主要集中于对超富集植物^[9-10]和蔬菜、茶树等^[11-13]体内重金属亚细胞分布和化学形态的研究,而在其他植物对重金属的耐性和富集机理的影响研究却鲜见报道。

侧柏和国槐都是较好的造林绿化树种,且对铅均有一定的耐性。因此,本试验选取侧柏和国槐为材料,研究铅胁迫下侧柏和国槐体内铅的组织分布和叶片中铅的亚细胞分布及形态,旨在揭示铅在这两种植物中的生物化学行为及迁移转化规律,以期对重金属污染的植物修复提供有益的参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验选取1年生的侧柏(平均苗高20.0 cm,平均地径3.00 mm)和国槐(平均苗高125.0 cm,平均地径12.00 mm)实生苗。供试土壤为杨凌当地壤土,基本理化性质为:pH值7.90,田间持水量22.3%,有机质含量 $13.70\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,全氮含量 $0.73\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,速效磷含量 $35.91\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,速效钾含量 $96.52\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,铅含量 $18.4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,全镉含量 $0.38\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,全铬含量 $65.56\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,全铜含量 $26.49\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

1.2 试验设计

试验在陕西杨凌西北农林科技大学南校区盆栽试验场进行。2011年1月初,土壤风干过筛,并将99%的分析纯 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 固体粉末充分混于土中,使土壤中外源Pb浓度分别为A($300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、B($500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、C($1000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、D($2000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),

同时设置对照CK($0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)。待土壤钝化1个月后装入塑料桶(内径27 cm、高30 cm),每桶装风干土约11.5 kg。3月底苗木萌动前移栽,浇灌充足的水以保证苗木成活和生长。试验共5个处理,每个处理重复3次。为防止水分蒸发过快,土壤表面用蛭石覆盖。试验期间栽培基质保持自然肥力,不施肥。到9月15日,收获侧柏和国槐植株,并分成根、茎、叶3部分。根用自来水冲洗后再用去离子水清洗,茎和叶直接用去离子水清洗后用吸水纸吸干水分。取两种植物部分新鲜叶样置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱内供铅的分布及形态分析测定用,其余的新鲜样品(根、茎、叶)置于 $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘箱杀青30 min, $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温烘至恒质量后称其干重,后将其用粉碎机磨细供分析测试。

1.3 样品分析

1.3.1 铅含量的测定

用万分之一电子天平称取植物干样0.5 g于聚四氟乙烯坩埚中,采用 $\text{HNO}_3\text{--HF--HClO}_4$ 法消解,最后定容到50 mL容量瓶中,用石墨炉原子吸收仪测定样品铅含量。

1.3.2 植物体内分布研究

取出上述预处理好的冰冻植物样,称取10 g叶(考虑分级步骤较多,量少不易检测),剪碎,用新鲜植物样与 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl缓冲提取液按1:10的比例,在冰浴中用玛瑙研钵将样品研磨成匀浆(温度大约 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$)。研磨时先放入少量缓冲提取液,将大块的叶尽量磨细后,再加入大量的缓冲液磨成匀浆,然后转移到25 mL离心管中,按下列步骤进行细胞组分逐级离心分离(g 为重力加速度)^[12]:

(1)将研磨匀浆液在 $200\text{ g}\times 20\text{ min}$ ($1500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$)离心分离,得残渣(F_1)和上清液。

(2)将(1)的上清液在 $600\text{ g}\times 10\text{ min}$ ($2500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$)离心分离,得残渣(F_2)和上清液。

(3)将(2)的上清液在 $10\text{ }000\text{ g}\times 20\text{ min}$ ($10\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$)离心分离,得残渣(F_3)和上清液(F_4)。

按上述方法区分细胞组分,其中: F_1 为细胞壁及未破碎残渣, F_2 为细胞核为主的成分, F_3 为线粒体和叶绿体成分, F_4 为核蛋白成分和可溶性组分。

1.3.3 植物体内形态研究

植物体内重金属的化学形态分析一般采用类似于土壤中重金属形态分组的逐级提取法,即以不同的溶剂按一定顺序依次进行提取,而特定的溶剂会溶解前一个溶剂不能溶解的一定形态的重金属,并将不能溶解的形态留给下一个溶剂,由此完成逐级提取^[14-15]。

称取 10 g 预处理好的植物叶, 分别剪碎后加入 50 mL 的提取剂, 放入 35 ℃ 的恒温培养箱振荡。15 h 后换用等量的新鲜提取剂提取, 以后每隔 3 h 换一次, 再进行两次。合并 4 次的提取液, 浓缩后加几滴稀硝酸酸化后, 至溶液为澄清, 并且底部无沉淀, 按极性的升高依次进行下列浸提^[12]:

- (1) 80% 乙醇, 提取以硝酸盐、氯化物为主的无机盐及氨基酸等(F_E)。
- (2) 去离子水, 提取水溶性有机酸盐, 重金属的一代磷酸盐 $[M(H_2PO_4)_2]$ 等(F_W)。
- (3) 氯化钠溶液, 提取以果胶酸盐、与蛋白质呈结合态或吸着态的重金属等(F_{NaCl})。
- (4) 2% 醋酸, 提取难溶的重金属磷酸盐(F_{HAc})。
- (5) $0.6\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸, 提取草酸盐等(F_{HCl})。
- (6) 残渣态(FR)。

将利用差速离心法及化学试剂逐步提取法分离的上清液和沉淀组分, 于电热板上蒸发至近干后, 利用 $\text{HNO}_3\text{--HCl--HClO}_4$ 法消煮、定容后用石墨炉原子吸收仪测定铅含量。

1.4 数据处理

采用 SPSS 11.0 软件对数据进行处理, 采用最小显著差异法(LSD)进行数据组间的差异分析, 显著性水平设定为 $\alpha=0.05$ 。数据为 3 次重复样品测定结果的平均值。

2 结果与分析

2.1 铅对侧柏和国槐生物量的影响

从表 1 可以看出, 随着铅浓度的增加, 侧柏和国槐的各部分生物量和总的生物量均发生显著性变化

($P<0.05$)。侧柏的生物量随着铅含量的增加而逐渐增加, 且在铅浓度为 $2000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时达到最大值, 为对照的 165.8%, 侧柏叶的生物量在 $2000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时接近对照的 2 倍。国槐的总生物量随铅浓度的增加呈先增后减的趋势, 且在 $500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时达到最大值, 为对照的 156.5%, 叶的生物量始终低于对照, 但国槐根的生物量都明显高于对照。

2.2 侧柏和国槐不同器官中铅的累积对比

铅通过根进入植物体后, 一部分滞留于根细胞中, 一部分会通过根组织细胞间的运输向地上部转移, 最终在植物的茎、叶、果实等部位积累。不同浓度铅处理下, 侧柏和国槐各器官铅含量分布均表现为根>叶>茎(表 2), 其中根的铅含量是地上部(茎、叶)的 2~12 倍(侧柏在铅浓度为 $2000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时达到最大, 为地上部的 12 倍)。随着土壤中外源铅浓度的增加, 不同器官中铅含量均有增加趋势, 且根中铅含量增加得最为明显($P<0.05$)。两种植物比较, 侧柏根中铅含量随着土壤中铅浓度的增加量显著高于国槐。以上分析可以看出, 侧柏和国槐植株内的铅主要积累于根中, 转移到地上部的含量很少; 在相同外源铅浓度下, 侧柏体内总的铅含量要比国槐高, 说明侧柏对铅的富集能力要强于国槐。

2.3 侧柏和国槐叶片中铅的分布规律

在细胞水平上, 重金属的选择性分布可以避免或缓解重金属对植物的毒害作用。从表 3 可以看出, 侧柏和国槐叶片中的铅大部分主要分布在细胞壁部分。随着土壤中外源铅浓度的增加, 侧柏和国槐叶片细胞各组分中铅含量均有所增加, 其中细胞壁和细胞核中铅含量的增幅最大。对比发现, 在各个铅浓度下, 侧柏

表 1 铅对侧柏和国槐生物量的影响
Table 1 The effect of Pb to biomass of *Platycladus orientalis* and *Sophora japonica*

树种 Tree species	土壤中外源铅浓度 Pb concentration/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	干重 Dry weight of plants/ $\text{g}^{-1}\cdot\text{DW}$			总重 Total biomass/g
		根 Roots	茎 Stems	叶 Leaves	
侧柏 <i>Platycladus orientalis</i>	0	1.45±0.01d	2.58±0.02d	3.83±0.02d	7.86±0.52d
	300	2.85±0.02a	4.18±0.01a	4.91±0.03d	11.94±0.04b
	500	2.39±0.01c	3.77±0.02c	5.57±0.01b	11.73±3.02b
	1000	2.36±0.05c	3.77±0.04c	5.11±0.00bc	11.24±2.87c
	2000	2.53±0.02b	3.95±0.01b	6.56±0.01a	13.03±1.04a
国槐 <i>Sophora japonica</i>	0	66.21±4.31c	55.18±4.88b	20.43±1.98a	141.83±6.72c
	300	94.21±8.44b	51.93±7.12c	13.087±0.90b	159.22±9.23b
	500	141.88±6.40a	61.41±3.43a	18.67±3.17a	221.96±10.67a
	1000	97.54±8.41b	62.97±8.77a	19.22±2.64a	179.73±7.96b
	2000	92.71±7.26b	52.09±3.69bc	18.90±2.07a	163.70±7.42b

注: 不同字母表示各处理间差异显著($P<0.05$)。Different letters meant significant difference at 0.05 level between Pb treatments.

叶片中细胞壁中的铅含量都要高于国槐,且侧柏叶片铅含量增幅要大于国槐叶片铅含量增量。

侧柏叶片亚细胞组分中铅含量的百分率顺序均为 $F_1>F_2>F_3>F_4$, 在土壤中铅浓度为 $1000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时顺序为 $F_1>F_3>F_2>F_4$ 。国槐叶片亚细胞组分中铅含量的百分率在低浓度时(低于 $500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)顺序均为 $F_1>F_3>F_2>F_4$, 在土壤中铅浓度为 500 、 $1000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $2000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,顺序均为 $F_1>F_2>F_3>F_4$ 。侧柏和国槐比较,侧柏叶片中 F_1 所占比例比国槐叶片中 F_1 所占比例高,但均在土壤中铅浓度为 $300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时 F_1 所占百分率达到最大值,分别为 76.17% 和 62.31% 。

2.4 侧柏和国槐叶片中铅的形态研究

化学形态指的是元素的化学价态、元素的结合状

态、元素所在化合物或化合物与基质的结合状态。化学形态直接关系到元素的活性、毒性、迁移能力、与基质分离的难易。

从表 4 可以看出,侧柏和国槐叶片中的铅主要以活性低的 NaCl 提取态铅、HAc 提取态铅和 HCl 提取态铅存在,具有较高活性的乙醇态和水溶态含量很低,所占比例很小,两者之和不超过 10% 。随着土壤中外源铅浓度的增加,侧柏和国槐叶片中各种提取态的铅含量均较对照有显著增加,而 NaCl 提取态铅的含量百分率也显著增加。

侧柏叶中各提取态铅的含量百分率高低顺序总体为 $F_{\text{HAc}}>F_{\text{NaCl}}>F_{\text{HCl}}>F_{\text{E}}>F_{\text{W}}$ 。国槐叶片中各提取态铅的含量百分率总体呈现为 $F_{\text{NaCl}}>F_{\text{HAc}}>F_{\text{HCl}}>F_{\text{E}}>F_{\text{W}}$ 。随着土

表 2 侧柏和国槐器官组织中的铅含量
Table 2 Pb concentration in different plant organs of *Platycladus orientalis* and *Sophora japonica*

树种 Tree species	土壤中外源铅浓度 Pb concentration/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	树木组织器官中的铅含量 Pb content in organs of plant/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DW		
		根 Roots	茎 Stems	叶 Leaves
侧柏 <i>Platycladus orientalis</i>	0	1.45±0.00e	1.41±0.00e	1.43±0.01d
	300	114.25±14.82d	15.76±2.43c	24.11±0.84c
	500	144.84±10.00c	18.34±1.12b	28.50±0.92b
	1000	328.01±1.22b	12.11±1.09d	28.21±1.72b
	2000	634.71±10.02a	20.97±2.32a	31.84 ±2.62a
国槐 <i>Sophora japonica</i>	0	1.77±0.01e	0.73±0.01d	1.05±0.01d
	300	45.63±5.02d	4.75±0.01c	13.06±0.68c
	500	58.60±0.026c	5.94±0.13c	24.89±1.32b
	1000	91.85±9.04b	11.36±0.05b	26.13±0.70b
	2000	153.65±12.02a	23.35±2.02a	41.88±1.02a

注:不同字母表示各处理间差异显著($P<0.05$)。Different letters meant significant difference at 0.05 level between Pb treatments.

表 3 侧柏和国槐叶片中各细胞组分铅含量
Table 3 Pb concentration in the subcellular fractions of *Platycladus orientalis* and *Sophora japonica*

树种 Tree species	土壤中外源铅浓度 Pb concentration/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	细胞组分 Subcellular fraction							
		F ₁		F ₂		F ₃		F ₄	
		$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	%	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	%	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	%	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	%
侧柏 <i>Platycladus orientalis</i>	0	0.95±0.04a	66.56	0.20±0.02b	13.95	0.16±0.01b	11.25	0.12±0.00b	8.24
	300	18.37±0.90a	76.17	2.12±0.02b	8.81	1.87±0.22b	7.77	1.75±0.20b	7.25
	500	19.44±1.02a	68.23	3.03±0.09b	10.63	2.74±0.10b	9.62	3.28±0.06b	11.52
	1000	15.59±2.14a	55.27	3.91±0.10c	13.87	8.63±0.69b	30.60	0.07±0.01d	0.26
	2000	20.84±1.92a	65.46	6.77±0.43b	21.26	2.66±0.00c	8.35	1.57±0.42d	4.92
国槐 <i>Sophora japonica</i>	0	0.37±0.00a	35.62	0.09±0.00c	8.83	0.36±0.00a	34.27	0.22±0.06b	21.29
	300	8.14±0.14a	62.31	1.23±0.01c	9.40	1.40±0.13c	10.69	2.30±0.61b	17.60
	500	10.64±0.71a	42.74	8.56±0.05b	34.38	4.26±0.47c	17.12	1.43±0.90d	5.75
	1000	11.27±1.57a	43.13	7.86±0.52b	30.10	5.38±0.05c	20.59	1.62±0.30d	6.19
	2000	19.52±0.98a	46.61	9.89±0.20b	23.62	9.02±0.80b	21.53	3.45±0.50c	8.24

F₁:细胞壁及未破碎残渣 cell wall and not broken scraps;F₂:细胞核为主的成分 cell nucleus;F₃:线粒体和叶绿体成分 mitochondria and chloroplast;F₄:核蛋白成分和可溶性组分 ribonucleoprotein and soluble composition. 不同字母表示同一铅浓度下各组分间差异显著 ($P<0.05$). Different letters meant significant difference at 0.05 level under the same Pb concentration ,the same below.

表 4 侧柏和国槐叶片中各提取形态的铅含量

树种 Tree species		土壤中外源铅浓度 Pb concentration/ mg·kg ⁻¹		提取形态 Extraction forms											
				F _E		F _W		F _{NaCl}		F _{HAc}		F _{HCl}		F _R	
				μg·g ⁻¹	%	μg·g ⁻¹	%	μg·g ⁻¹	%	μg·g ⁻¹	%	μg·g ⁻¹	%	μg·g ⁻¹	%
侧柏 <i>Platycladus orientalis</i>	0			0.05±0.02c	3.47	0.04±0.00c	2.68	0.53±0.02a	36.84	0.47±0.04a	32.63	0.27±0.22b	18.61	0.08±0.01c	5.78
	300			0.14±0.02d	0.59	0.06±0.02d	0.25	7.13±0.30b	29.58	6.96±1.12b	28.85	8.20±0.42a	34.02	1.62±0.82c	6.70
	500			0.16±0.01d	0.56	0.21±0.06d	0.74	12.97±0.82a	45.51	8.35±0.55b	29.32	5.96±1.01c	20.92	0.84±0.94d	2.95
	1000			0.20±0.00c	0.73	0.11±0.01c	0.41	16.39±1.44a	58.10	6.52±0.79b	23.12	4.80±0.42b	17.01	0.18±0.02c	0.63
	2000			0.20±0.01e	1.27	0.20±0.08e	1.27	3.93±0.22b	33.69	4.90±0.43a	42.00	1.54±0.01c	15.14	1.06±0.00d	6.63
国槐 <i>Sophora japonica</i>	0			0.07±0.02c	6.89	0.01±0.00d	1.32	0.19±0.02b	17.89	0.31±0.01a	29.93	0.09±0.02c	8.29	0.37±0.01a	35.68
	300			0.17±0.03c	1.28	0.01±0.00d	0.05	5.21±0.41a	39.93	3.64±0.62b	27.85	3.23±0.92b	24.70	0.81±0.22c	6.20
	500			0.27±0.02e	1.08	0.02±0.01e	0.10	13.35±0.92a	53.64	3.17±0.22c	12.73	6.15±0.27b	24.72	1.92±0.70d	7.73
	1000			0.24±0.01d	0.91	0.02±0.00d	0.10	11.61±1.65a	44.43	5.31±0.51b	20.33	5.76±0.72b	22.04	3.19±0.41c	12.20
	2000			0.11±0.03d	0.25	0.03±0.00d	0.06	24.57±4.02a	58.68	9.05±0.63b	21.62	4.37±0.02c	10.43	3.75±0.94c	8.96

F_E、F_W、F_{NaCl}、F_{HAc}、F_{HCl} 和 F_R 分别表示 80%乙醇、去离子水、1 mol·L⁻¹ 氯化钠、2%醋酸、0.6 mol·L⁻¹ 盐酸及残渣态提取部分;F_E、F_W、F_{NaCl}、F_{HAc}、F_{HCl} 和 F_R represented the fractions extracted by 80% ethanol, distilled water, 1 mol·L⁻¹ NaCl, 2% HAc, 0.6 mol·L⁻¹ HCl and residue, respectively.

壤中外源铅浓度的增加,侧柏 NaCl 提取态铅先增加后减少,且在土壤中铅浓度为 1000 mg·kg⁻¹ 时所占百分比达到最大为 58.10%;国槐 NaCl 提取态铅随着土壤中外源铅浓度的增加所占百分率不断增加,当土壤中铅浓度为 2000 mg·kg⁻¹ 时,国槐 NaCl 提取态铅所占百分率达到 58.68%。但侧柏 HAc 提取态铅和 HCl 提取态铅的含量百分率要大于国槐。

3 讨论

3.1 铅对侧柏和国槐的毒性作用及其组织分布

铅对植物生长代谢的毒性作用随植物种类、品种、器官组织部位的不同而呈现出差异性,大量研究表明,一定浓度范围内的铅能刺激一些植物的生长,当浓度超过一定值时就会对植物造成伤害(如生长衰退),且浓度越高,抵制作用越明显,而植物的生物量与其生长发育密切相关。夏建国等^[16]和兰海霞等^[17]的研究结果表明,铅胁迫处理下,春茶生物量有缓慢增加的趋势。本试验表明,在土壤中外源铅浓度为 0~2000 mg·kg⁻¹ 条件下,铅对侧柏和国槐的生物量生长均有促进作用,但最适浓度二者不同,侧柏为 2000 mg·kg⁻¹,国槐为 500 mg·kg⁻¹。

不同种类植物以及不同植物器官对重金属的吸收、累积能力不同。大量报道说明铅进入植物体内后绝大部分累积在根部,石元值等^[18]研究发现,茶树中的铅主要积累部位是吸收根,其次是茎秆;徐劼等^[13]研究发现,铅在迎霜和龙井 43 两个茶树品种器官中的含量分布均为根>茎>新叶>老叶。本试验发现,侧

柏和国槐器官中的铅含量分布均为根>叶>茎,各器官铅含量均随着土壤中铅浓度的增加而增加,且差异性显著。这与人前做的结果有所差别,原因可能是植物种类不同。Seregin 等^[19]认为铅在根系中过量积累,主要原因是根系组织的内皮层细胞起到了横向截留作用,限制了铅向地上部转运,从而导致植物地上部与根系中铅的分布差异,而导致这种分布差异的机理,还有待于进一步研究。

3.2 侧柏和国槐叶片中铅的分布规律

重金属在细胞壁的沉淀及细胞内的区隔化分布是植物内部解毒的两个重要途径^[20-21]。植物细胞壁含有蛋白质和多糖(诸如纤维素、半纤维素、木质素等),含有大量的羟基、羧基、醛基、氨基或磷酸基等亲金属离子配位结合,在细胞壁部位形成沉淀,从而降低了原生质体中的金属离子浓度,避免损伤功能相对重要的组织、细胞和细胞器,因此细胞壁是重金属进入细胞内部的第一道屏障^[22-23]。Ramos 等^[24]发现,莴苣组织的亚细胞分布中,铅主要分布在细胞壁中。本研究表明,侧柏和国槐叶片中铅主要分布在细胞壁,与前人的研究结果一致,表明细胞壁是两种植物富集铅的重要部位。铅从植物体外先通过细胞壁,再穿过细胞膜进入原生质体,铅离子带正电,在带负电的细胞壁处会被大量络合而沉积,同时,由于细胞膜的保护作用,只有少量的铅才能进入细胞内部,而进入细胞内的铅对植物的生理构成危害。在铅浓度达到 1000 mg·kg⁻¹ 时,尽管细胞壁的截留仍起主导作用,但两种植物叶片中细胞核和线粒体、叶绿体中铅的百分率增加,且

在国槐叶片中细胞核和线粒体、叶绿体中铅的百分率要大于侧柏叶片,说明铅更容易进入国槐叶细胞的内部,对其细胞器产生毒害,从而破坏植物细胞正常的生理代谢,这可能是侧柏比国槐耐铅的机理之一。

3.3 侧柏和国槐叶片中铅的形态研究

铅在植物器官组织中的化学形态与其在植物体内的迁移能力密切相关,其中乙醇提取态和水溶态迁移活性最强,氯化钠提取态次之,醋酸和盐酸提取态迁移活性最弱^[25]。房江育等^[26]研究发现,茶树叶片以不溶性铅为主要化学形态,可溶性与潜在可溶性铅含量仅占10%左右。本研究结果发现,侧柏和国槐叶片中主要以氯化钠提取态、醋酸和盐酸提取态存在,而这部分移动性较差的铅主要与细胞壁发生结合作用。随着铅浓度的增加,氯化钠提取态所占比例增加,在土壤中铅浓度达到 $500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,国槐叶片中的氯化钠提取态所占比例已超过50%,侧柏叶片中氯化钠提取态所占比例小于国槐叶片中的氯化钠提取态所占比例。氯化钠提取态铅含量百分率越大,说明叶片中果胶酸铅、与蛋白质呈结合态或吸附态铅的比例越高。这种结合形态的差异可能是导致两种树对铅表现出不同耐性的原因。

4 结论

当土壤中外源铅浓度不超过 $2000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,铅对侧柏和国槐的生物量增长均表现出促进作用,且吸收的铅主要分布在根部,并随着外源铅浓度的增加而显著增加。细胞壁是铅在侧柏和国槐叶片细胞内的主要分布位点,其比例最大时可占到76.17%,且在相同铅浓度下,侧柏叶片中细胞壁部分所占比例大于国槐叶片中细胞壁部分的百分率。其次是细胞核部分以及叶绿体和线粒体部分,可溶性部分最少。化学形态上,两种植物叶片内以NaCl提取态、HAc提取态和HCl提取态铅为主导形态,侧柏叶中各提取态铅的含量百分率高低顺序总体为 $F_{\text{HAc}} > F_{\text{NaCl}} > F_{\text{HCl}} > F_{\text{E}} > F_{\text{W}}$,国槐叶片中各提取态铅的含量百分率总体上呈现为 $F_{\text{NaCl}} > F_{\text{HAc}} > F_{\text{HCl}} > F_{\text{E}} > F_{\text{W}}$ 。

参考文献:

- [1] 陈怀满,等. 土壤-植物系统中的重金属污染[M]. 北京:科学出版社, 1996.
CHEN Huai-man, et al. Heavy metals in soil-plant system[M]. Beijing: Science Press, 1996.
- [2] Baker A J M. Metal tolerance[J]. *New Phytologist*, 1987, 106: 93-111.
- [3] 杨居荣,黄 翌. 植物对重金属的耐性机理[J]. 生态学杂志, 1994, 13(6): 20-26.
YANG Ju-rong, HUANG Yi. Mechanism of heavy metal tolerance of plants[J]. *Chinese Journal Ecology*, 1994, 13(6): 20-26.
- [4] 孙贤斌,李玉成,王 宁. 铅在小麦和玉米中活性形态和分布的比较研究[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(4): 666-669.
SUN Xian-bin, LI Yu-cheng, WANG Ning. Comparisons on active chemical form and distribution of lead in wheat and corn[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2005, 24(4): 666-669.
- [5] 刘云惠,魏显有. 土壤中铅镉的作物效应研究[J]. 河北农业大学学报, 1999, 22(1): 24-28.
LIU Yun-hui, WEI Xian-you. Research on crop effects of lead and cadmium in soil[J]. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 1999, 22(1): 24-28.
- [6] Angelova V, Ivanov K, Ivanov R. Effect of chemical forms of lead, cadmium, and zinc in polluted soil on their uptake by tobacco[J]. *Plant Nutrition*, 2004, 27: 757-773.
- [7] Hall J L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53: 1-11.
- [8] Liu D H, Kottke I. Subcellular localization of copper in the root cells of *Allium sativum* by electron energy loss spectroscopy (EELS)[J]. *Biore-source Technology*, 2004, 94: 153-158.
- [9] 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.
YANG Ju-rong, BAO Zi-ping, ZHANG Su-qin. The distribution and soluble fractions of Cd and Pb in plant cell[J]. *China Environmental Science*, 1993, 13(4): 263-268.
- [10] 周小勇,仇荣亮,胡鹏杰,等. 镉和铅对长柔毛委陵体内锌的亚细胞分布和化学形态的影响[J]. 环境科学, 2008, 29(7): 2028-2036.
ZHOU Xiao-yong, QIU Rong-liang, HU Peng-jie, et al. Effects of cadmium and lead on subcellular distribution and chemical form of zinc in *Potentilla griffithii* var. *velutina*[J]. *Environment Science*, 2008, 29(7): 2028-2036.
- [11] 殷宪强,王昌钊,易 磊,等. 小青菜酶活性与铅形态关系的研究[J]. 干旱地区农业研究, 2010, 28(5): 133-137.
YIN Xian-qiang, WANG Chang-zhao, YI Lei, et al. Study on relationship between Pb chemical forms and enzyme activity in *Brassica Chinensis*[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2010, 28(5): 133-137.
- [12] 刘 军,李先恩,王 涛,等. 药用植物中铅的形态和分布研究[J]. 农业环境保护, 2002, 11(2): 143-145.
LIU Jun, LI Xian-en, WANG Tao, et al. Chemical form and distribution of lead in medical plants[J]. *Agro-Environmental Protection*, 2002, 11(2): 143-145.
- [13] 徐 勃,于明革,陈英旭,等. 铅在茶树体内的分布及化学形态特征[J]. 应用生态学报, 2011, 22(4): 891-896.
XU Jie, YU Ming-ge, CHEN Ying-xu, et al. Characteristic of distribution and chemical forms of Pb in tea plant varieties[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, 22(4): 891-896.
- [14] 杨学荣. 植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社, 1981.
YANG Xue-rong. Plant physiology[M]. Beijing: Higher Education Press, 1981.

- [15] 康孟利, 薛旭初, 骆耀平, 等. 茶树与土壤中铅的存在形态与分布[J]. 浙江农业科学, 2006, 3: 280–282.
- KANG Meng-li, XUE Xu-chu, LUO Yao-ping, et al. Chemical form and distribution of lead in tea tree and soil[J]. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 2006, 3: 280–282.
- [16] 夏建国, 兰海霞, 吴德勇. 铅胁迫对茶树生长及叶片生理指标的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(1): 43–48.
- XIA Jian-guo, LAN Hai-xia, WU De-yong. Lead stress on growth of tea trees and physiological index in leaves of tea[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(1): 43–48.
- [17] 兰海霞, 夏建国. 川西蒙山茶树中铅、镉元素的吸收累积特性[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(3): 1077–1083.
- LAN Hai-xia, XIA Jian-guo. Absorption and accumulation of lead and cadmium in Mengshan tea plant[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(3): 1077–1083.
- [18] 石元值, 马立峰, 阮建云. 铅在茶树中的吸收累积特性[J]. 中国农业科学, 2003, 36(11): 1272–1278.
- SHI Yuan-zhi, MA Li-feng, RUAN Jian-yun. Studies of the absorption and accumulation of lead in tea plant[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2003, 36(11): 1272–1278.
- [19] Seregin I V, Ivanov V B. Histochemical investigation of cadmium and lead distribution in plants[J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 1997, 44: 791–796.
- [20] Verkleij J A C, Schat H. Mechanisms of metal tolerance in higher plants[M]. Boca Raton, Florida: CRC Press, Inc. 1990: 179–194.
- [21] Brune A, Urbach W, Dietz K J. Compartment and transport of zinc in barley leaves as basic mechanism involved in zinc tolerance[J]. *Plant Cell Environ*, 1994, 17: 153–162.
- [22] Allen D L, Jarrell W M. Proton and copper adsorption to maize and soybean root cell walls[J]. *Plants Physiol*, 1989, 89: 823–832.
- [23] Rauser W E. Structure and function of metal chelators produced by plants[J]. *Cell Biochem and Biophys*, 1999, 31: 19–48.
- [24] Ramos I, Esteban E, Lucena J J, et al. Cadmium uptake and subcellular distribution in plants of *Lactuca* sp. Cd–Mn interaction[J]. *Plant Science*, 2002, 162: 761–767.
- [25] 许嘉琳, 鲍子平, 杨居荣. 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.
- XU Jia-lin, BAO Zi-ping, YANG Ju-rong. Chemical forms of Pb, Cd and Cu in crops[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1991, 2(3): 244–248.
- [26] 房江育, 宛晓春. 茶树叶片中铅的化学形态与分布研究[J]. 植保与安全, 2006: 438–442.
- FANG Jiang-yu, WAN Xiao-chun. Chemical speciation and distribution of lead in *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze leaves[J]. *Eppo and Security*, 2006: 438–442.