

## 铜在狐尾藻中的积累及亚细胞分布和化学形态

吴晓梅, 叶美锋, 吴飞龙, 徐庆贤, 林代炎

### 引用本文:

吴晓梅, 叶美锋, 吴飞龙, 徐庆贤, 林代炎. 铜在狐尾藻中的积累及亚细胞分布和化学形态[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(5): 1114-1122.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2023-0899>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 不同植物组合人工湿地中磷去向特征研究

叶磊, 李希, 田日昌, 吴凤平, 孟岑, 夏梦华, 郭宁宁, 凡翔, 李裕元, 王辉  
农业环境科学学报. 2020, 39(10): 2409-2419 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0761>

#### 水生植物对不同氮磷水平养殖尾水的综合净化能力比较

冯优, 陈庆锋, 李金业, 郭贝贝, 刘婷, 李磊  
农业环境科学学报. 2020, 39(10): 2397-2408 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0816>

#### 镉在黄瓜幼苗中的化学形态及亚细胞分布

闫雷, 朱园辰, 陈辰, 张思佳, 丁宫尧, 喇乐鹏, 曲娟娟  
农业环境科学学报. 2019, 38(8): 1864-1871 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0395>

#### 乐果、铜和锌对水生生物的联合毒性研究

丁英杰, 诸寅, 沈玲金, 蔡佳玲  
农业环境科学学报. 2021, 40(12): 2634-2637 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0612>

#### 狐尾藻净化生猪养殖场沼液的研究

吴晓梅, 叶美锋, 吴飞龙, 黄薇, 林代炎  
农业环境科学学报. 2018, 37(4): 796-803 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1188>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

吴晓梅, 叶美锋, 吴飞龙, 等. 铜在狐尾藻中的积累及亚细胞分布和化学形态[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(5): 1114-1122.  
WU X M, YE M F, WU F L, et al. Accumulation, subcellular distribution, and chemical forms of copper in *Myriophyllum spicatum* L.[J].  
*Journal of Agro-Environment Science*, 2024, 43(5): 1114-1122.



开放科学 OSID

# 铜在狐尾藻中的积累及亚细胞分布和化学形态

吴晓梅, 叶美锋, 吴飞龙, 徐庆贤, 林代炎\*

(福建省农业科学院农产品加工研究所, 福州 350003)

**摘要:**为探索狐尾藻对重金属铜的积累和耐性机制,本研究通过水培试验,研究不同浓度铜处理(0、20、50 mg·L<sup>-1</sup>)对狐尾藻(*Myriophyllum spicatum* L.)生长生理特性以及叶片表皮细胞形态的影响,分析各器官中铜吸收转运及铜在各组织器官亚细胞中的分布和化学形态。结果表明:各浓度铜处理下狐尾藻均能存活,但铜浓度高于50 mg·L<sup>-1</sup>时,狐尾藻根、茎、叶生物量相比对照(铜0 mg·L<sup>-1</sup>)处理降低53.48%、36.99%和32.22%。铜处理后,狐尾藻根、茎和叶铜含量分别为11.81~186.34、1.32~7.89、2.11~11.99 mg·kg<sup>-1</sup>,根系中铜含量均高于叶片和茎部。铜在狐尾藻中的亚细胞分布主要位于根、茎、叶的细胞壁部分(36.49%~49.61%、45.44%~49.92%、41.45%~55.92%),其次是可溶性组分(21.65%~25.99%、23.03%~27.65%、18.01%~34.63%)。狐尾藻中铜的赋存化学形态以盐酸提取态、醋酸提取态和乙醇提取态为主,所占比例为76.34%~86.67%,均是活性较低的形态。因此,狐尾藻是铜富集较好的植物,其根部的耐性大于茎、叶。铜以吸附态或蛋白质、果胶酸盐等低活性形态赋存于细胞壁或可溶性组分(液泡)中是狐尾藻积累和耐受铜的重要机制。

**关键词:**狐尾藻;铜;亚细胞分布;化学形态;耐性机制

中图分类号:X17;X52 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2024)05-1114-09 doi:10.11654/jaes.2023-0899

## Accumulation, subcellular distribution, and chemical forms of copper in *Myriophyllum spicatum* L.

WU Xiaomei, YE Meifeng, WU Feilong, XU Qingxian, LIN Daiyan\*

(Institute of Food Science and Technology, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, China)

**Abstract:** To explore the accumulation and tolerance mechanism in *Myriophyllum spicatum* L., a hydroponic experiment was conducted to investigate its growth, physiological response, and copper uptake translocation. The subcellular distribution and chemical form of copper in roots, stems, and leave were further analyzed. *M. spicatum* could survive under different copper treatments. However, when the copper concentration exceeded 50 mg·L<sup>-1</sup>, the biomass of roots, stems, and leave of *M. spicatum* decreased by 53.48%, 36.99%, and 32.22%, respectively, compared to that under the control treatment (copper 0 mg·L<sup>-1</sup>). Following copper treatment, the copper contents in the roots, stems, and leave of *M. spicatum* were 11.81–186.34 mg·kg<sup>-1</sup>, 1.32–7.89 mg·kg<sup>-1</sup>, and 2.11–11.99 mg·kg<sup>-1</sup>, respectively, with higher contents in the roots than in the shoots. The subcellular distribution of copper in *M. spicatum* was mainly located in the cell wall parts of the roots, stems, and leave (36.49%–49.61%, 45.44%–49.92%, and 41.45%–55.92%, respectively), followed by the soluble component (21.65%–25.99%, 23.03%–27.65%, and 18.01%–34.63%, respectively). The copper existed in HCl-, HAc-, and ethanol-extracted forms in *M. spicatum*, accounting for 76.34% to 86.67%, all with low activity. These results show that *M. spicatum* has good copper accumulation, and its root tolerance is greater than that of stems and leaves. The primary resistance mechanism underlying copper accumulation and tolerance in *M. spicatum* might involve the presence of copper in the cell wall or soluble components (vacuoles) in an adsorbed state or a low-active form, such as protein or pectate.

**Keywords:** *Myriophyllum spicatum* L.; copper; subcellular distribution; chemical form; tolerance mechanism

收稿日期:2023-10-30 录用日期:2024-01-22

作者简介:吴晓梅(1988—),女,硕士研究生,助理研究员,主要从事农业废弃物资源化利用研究。E-mail:xiaomeizi163@126.com

\*通信作者:林代炎 E-mail:lindaiyan@126.com

基金项目:福建省自然科学基金项目(2021J01497);福建省省属公益类科研院所专项(2021R1032003,2021R1032004,2021R1032005)

Project supported: Science Foundation of the Fujian Province, China (2021J01497); Provincial Public Research Institute of Fujian Province, China (2021R1032003,2021R1032004,2021R1032005)

在规模化、集约化养殖体系中,铜和锌等金属元素通常作为添加剂被频繁加入动物饲料中,目的是增强动物的免疫能力和促进其成长。但是,禽畜对这类添加剂的实际摄取率仅为10%~20%<sup>[1]</sup>,大部分以原形或其代谢产物形式随粪尿排入环境中。由于金属具有易沉积、难降解等特性,导致畜禽养殖废水中铜、锌等金属含量严重超标。据统计我国每年饲料中铜添加量已超10万t,而畜禽养殖业粪污中铜含量达2 397.23 t<sup>[2]</sup>。铜作为一种生物必需的微量营养元素,对于动植物的生长和发育具有重要作用,适量可促进动植物的生长代谢,过量(铜浓度升至某一阈值)则会抑制其生长发育,甚至毒害死亡<sup>[3]</sup>。研究也发现过量铜进入水体,会严重污染环境,影响人类健康<sup>[4-5]</sup>。

利用对某种或多种重金属具有超富集能力和耐受能力的植物修复重金属污染技术,其关键是植物对重金属的耐性和富集能力<sup>[6]</sup>。植物对重金属的耐性一般是通过两个途径,一是防止有毒金属过量被植物吸收并转运至地上部分,如凤眼莲<sup>[7]</sup>、旱柳<sup>[8]</sup>和马缨丹<sup>[9]</sup>等通过根系对铜的稳定作用,限制铜向地上部的运输,削弱铜对地上部的毒害。二是通过一系列的解毒机制降低重金属在植物体内活性或者毒性,如轮叶黑藻<sup>[10]</sup>将铜固定在细胞壁上,减少铜离子对细胞原生质体的毒害;紫鸭跖草<sup>[11]</sup>则借助细胞原生质体内的蛋白质、氨基酸等组分与铜相结合,从而减缓铜的生物毒性;苹果树<sup>[12]</sup>体内铜以盐酸、醋酸等低活性形态存在,降低铜对植物的损害。这表明,不同植物对重金属铜的耐性机制不同。植物中重金属在各组织器官亚细胞中的分布与化学形态同重金属毒性、迁移能力和生物有效性紧密相连<sup>[13]</sup>。目前不同植物对重金属的富集能力和解毒机制研究更多的是关注于土壤中的重金属,而沉水植物对畜禽养殖废水中重金属耐性机制研究较为少见。

狐尾藻(*Myriophyllum spicatum* L.),作为一种多年生、粗壮的沉水草本植物,根茎发达,生态适应性强,广泛应用于水体修复。本研究组前期研究发现,狐尾藻耐污染能力较强,对养殖废水中铜具有良好的富集能力,但其对铜的耐性机制尚不明确。对狐尾藻富集养殖废水中铜的作用机理开展进一步研究,明确铜在狐尾藻器官、亚细胞中分布特征与存在形态,对提高狐尾藻收割后作为鱼饲料的有效性与安全性具有十分重要的意义。因此,本文以狐尾藻为试验材料,通过水培试验,研究狐尾藻中铜的含量及分布特征;通过差速离心法和五步提取法,本研究分析了狐

尾藻亚细胞结构中铜的分布及其铜的化学形态特征,旨在探讨狐尾藻对铜的耐性机制,并为利用狐尾藻处理养殖废水提供理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

狐尾藻:从基地生物塘采集狐尾藻,用清水冲洗干净后安置于温室的玻璃缸内培育2~3个月。利用可自动调节光照、温度的培养箱培养狐尾藻。其具体参数设置:光照强度为115~120  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、25  $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度维持在55%~65%,光/暗为14 h/10 h。

试验所用水为模拟养殖废水,其配方如表1所示。

表1 模拟养殖废水基本理化性质

Table 1 Basic physicochemical properties of simulated livestock wastewater

化学试剂 Chemical agent	浓度 Concentration	化学试剂 Chemical agent	浓度 Concentration
葡萄糖	330 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	磷酸二氢钾	74 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
乙酸钾	540 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	磷酸氢二钾	40 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
丙酸钠	300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	碳酸氢钠	100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
硫酸铵	235.7 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	硫酸铜	0~50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
硫酸锌	8.6 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	pH	7.0

### 1.2 水培试验

试验为无土栽培,以模拟养殖废水为水培液。取驯化后狐尾藻,10 cm植物顶枝(20株)栽于15 L塑料培养箱(长×宽×高29 cm×20 cm×31 cm)中,添加10 L模拟养殖废水培养。在室外同一区域放置15个等体积的塑料水箱,在每个实验桶中分别种植长势良好、株高、茎粗、生物量较一致的10株狐尾藻,并持续稳定7 d。设置3种处理,重金属铜添加量分别为:0 (CK,不添加)、20  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (H1)和50  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (H2),每个处理设置5个重复。在整个实验过程中,植物生长环境温度为(20±5)  $^{\circ}\text{C}$ ,自然光照,相对湿度为43.52%左右。每间隔3 d用蒸馏水补给因蒸发作用而损失的水分,每周观察记录狐尾藻的生长状况,植物试验周期为28 d。在试验结束后将狐尾藻整株收获,先用预先曝气的自来水反复冲洗去除杂质,再用去离子水反复清洗去除吸附在植株上的培养液,最后将植株晾干保存。

### 1.3 测定方法

#### 1.3.1 生物量的测定

首先,所采集的植物样本置于去离子水中进行彻底冲洗,以去除潜在的杂质。随后,采用吸水纸将样本表面水分擦除。接着,将狐尾藻的叶、茎、根分别取

样并称质量,分别准确记录。最后,在105℃条件杀青0.5 h后,经60℃烘干至质量恒定,称量干质量。

### 1.3.2 叶绿素含量、丙二醛及超氧化物歧化酶的测定

叶绿素含量通过无水乙醇提取法测定;丙二醛(MDA)含量参照李玲等<sup>[14]</sup>的硫代巴比妥酸(TBA)法测定;超氧化物歧化酶(SOD)活性测定参照陈天等<sup>[15]</sup>的方法:取新鲜狐尾藻叶片(根系)0.10 g置于预冷(先用冰块或者放冰箱中处理)的研钵中,加入少许研磨珠与pH为7.8、浓度为0.05 mol·L<sup>-1</sup>的磷酸缓冲液,然后在冰浴中充分研磨匀浆。之后,将匀浆化的混合物在低温离心机中离心15 min,转速为4 000 r·min<sup>-1</sup>,温度保持在4℃,离心后收集上清液(酶粗提取液),冷藏待测。酶粗提取液经试剂盒(Solarbio,北京)处理后,用酶标仪(Thermo Multiskan FC,上海)统一测定。

### 1.3.3 亚细胞结构分级

狐尾藻各器官亚细胞结构分级参考罗浩文等<sup>[16]</sup>的方法:植物鲜样(叶、茎、根)经两次预冷存的提取缓冲液充分研磨匀浆混合,一起转入离心管中,利用差速离心法分离出细胞壁、原生质体、线粒体和可溶组分四个组分。上述所有过程在4℃条件下进行,分离的每个组分全部转移至消解管消解待测。

### 1.3.4 重金属铜化学形态提取

狐尾藻体内不同形态铜的逐步提取参考许嘉琳等<sup>[17]</sup>的化学试剂逐步提取法:称量1.0 g狐尾藻(叶片、茎、根)各部位新鲜样品,利用干净的剪刀将其切碎,并放入50 mL的离心管中。加入提取剂(第一次40 mL、第二次10 mL)以充分浸泡样品实现提取。将两次提取的液体收集合并,存放在150 mL的锥形瓶中,以备后续分析使用。所用提取剂根据下列顺序进行逐步浸提:80%乙醇、去离子水、1 mol·L<sup>-1</sup>氯化钠溶液、2%醋酸和0.6 mol·L<sup>-1</sup>盐酸;上述提取剂极性按顺序依次升高,前3种(乙醇、去离子水和氯化钠)提取态铜活性较强,而醋酸和盐酸提取态铜活性较弱<sup>[18]</sup>。

### 1.3.5 狐尾藻叶片微观形态

取试验处理前后狐尾藻叶片(5 mm<sup>2</sup>)中段,置于4℃预冷的2.5%戊二醛固定液中。采用高分辨率透射电镜对叶片实现表面形态扫描,并通过Digital Micrograph软件完成数据分析。

## 1.4 植物铜含量分析

(1)植物干样:借鉴Zhang等<sup>[19]</sup>的湿灰化技术,对植物叶、茎、根三个器官中的铜含量进行定量分析。具体步骤为:取0.50 g混合均匀的植物干样放入锥形

瓶,加入4:1的硝酸和高氯酸混合液进行消化,直至溶液透明。消化后,将溶液转移到25 mL容量瓶中,用蒸馏水定容到刻度线,再过滤待测。利用原子吸收光谱仪(AA7700, Thermo Elemental, 美国, 检出限0.02 mg·kg<sup>-1</sup>)测定消煮液中的铜浓度。试验测得标准物质(灌木枝叶, GBW07602, GSV-1)的铜浓度(5.19±0.33) mg·kg<sup>-1</sup>,该数值处于标准物质设定的参考界限内[(4.90±0.30) mg·kg<sup>-1</sup>],说明该消解方法可靠。

(2)植物鲜样:将采集的亚细胞组分和提取液装入消解管,添加5 mL混酸(硝酸和高氯酸按4:1混合),密封后置于漏斗中过夜。次日将其置于电热板上进行完全消解,之后用去离子水对消解液进行定容处理。用原子吸收光谱仪(型号同上)测定样品中铜含量。

## 1.5 数据处理

收获植物根系、茎和叶,分别测量铜含量,计算植物各器官对铜的吸收及迁移系数。通过迁移系数来探讨铜在植物不同器官间的积累与分布能力。迁移系数<sup>[20]</sup>(transfer factor, TF)分为TF<sub>根-茎</sub>(茎部铜浓度/根部铜浓度)和TF<sub>茎-叶</sub>(叶片铜浓度/茎部铜浓度)。

试验结果以平均值±标准差表示。数据统计分析经Origin8.0和SPSS19.0软件处理,差异显著性利用单因子方差分析(ANOVA)来检验,设定显著性水平为P<0.05。

## 2 结果与分析

### 2.1 铜胁迫对狐尾藻生长的影响

从图1a分析可知,随着铜处理浓度的升高,狐尾藻的叶、茎和根的生物量表现出先上升后下降。当铜浓度为20 mg·L<sup>-1</sup>时,狐尾藻叶、茎和根的生物量相比对照组无明显差异,其生物量分别为(4.02±0.16)、(5.16±0.28) g和(2.46±0.14) g;铜处理浓度为50 mg·L<sup>-1</sup>时,狐尾藻叶、茎和根的生物量分别为对照的67.78%、63.01%和46.52%,其显著低于对照组。

叶绿素含量高低是反映叶片光合作用强弱的重要生理指标。从图1b中可知随着铜浓度的增加,狐尾藻叶绿素含量呈现先增加后降低的趋势,当铜浓度为20 mg·L<sup>-1</sup>时,叶绿素含量为(1.24±0.016) mg·g<sup>-1</sup>,相比CK处理提高了10.87%;当铜浓度为50 mg·L<sup>-1</sup>时,狐尾藻叶绿素含量为(0.80±0.019) mg·g<sup>-1</sup>,比CK处理减少了28.52%。由此说明,低浓度的铜对狐尾藻叶绿体色素合成具有促进作用,间接提升植物的光合效率,进而增加狐尾藻生物量,但铜浓度高于50

$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,则会削减叶绿素含量,出现部分叶子发黄脱落,狐尾藻生物量减少。

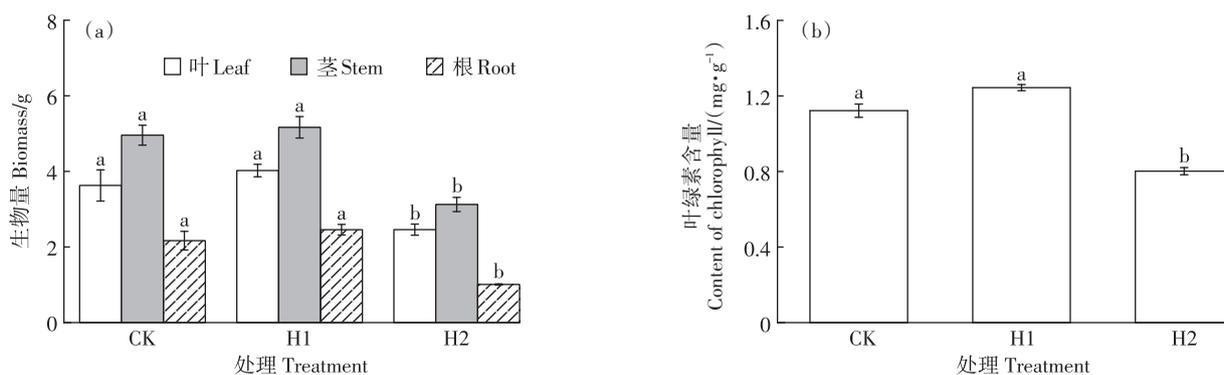
图2a显示,在受铜离子胁迫的情况下,狐尾藻叶片中MDA含量随着铜处理浓度的上升而显著增加,当铜浓度为 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,达到 $0.34\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,分别是CK、H1处理的1.33倍和1.51倍。铜胁迫使狐尾藻根部MDA含量显著增加, $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的铜处理分别使根部MDA含量较对照增加58.64%和109.26%,该结果表明植物根的膜脂过氧化程度比叶大。图2b显示狐尾藻根和叶在不同铜浓度处理后SOD活性变化,从图中可看出,在本实验设定浓度范围内,随着铜浓度升高,狐尾藻SOD活性呈上升趋势。铜浓度为 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,狐尾藻叶片SOD活性相比对照处理分别提高25.89%和81.46%,而其根部SOD活性分别提高39.07%和84.74%,根部SOD活性显著高于相应叶片。

## 2.2 铜胁迫前后狐尾藻外观变化与叶片表皮细胞形态

高浓度铜( $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )胁迫后,相比对照组,狐

尾藻叶片发黄,靠近根部叶片有所脱落;植株茎偏短偏细;根系须根少,主根短。而低浓度铜( $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )胁迫狐尾藻叶片和茎外观与对照组差别不大,但根系须根多且长,主根稍短而粗。图3为狐尾藻吸附 $\text{Cu}^{2+}$ 前后其叶片表皮细胞形态。观察图3可发现,受铜离子胁迫前狐尾藻植株健壮,其叶片表皮细胞规则,近似长方形,且细胞颗粒饱满,细胞壁平滑整齐。吸附 $\text{Cu}^{2+}$ 后,细胞内外发生离子交换,导致细胞出现明显凹陷、变形,细胞壁产生褶皱,叶片细胞受到损伤。

狐尾藻吸附 $\text{Cu}^{2+}$ 前后叶片扫描能谱如图4所示,从图中可知狐尾藻富含碳、氧、钠、镁、钾及钙等元素,其中碳、氧等元素是羟基、羧基等官能团的组成成分,可络合重金属。从能谱图看出狐尾藻吸附铜后,钠、镁、钾、钙等矿质元素含量明显减少,而铜含量增加,表明铜因发生离子交换而被转化吸收,其中钙含量下降最明显,推测其相较其他矿质元素更易于与 $\text{Cu}^{2+}$ 发生离子交换作用。



不同小写字母表示同一器官不同处理间差异显著( $P<0.05$ )。下同。

Different lowercase letters indicate significant differences among different treatments of the same organ ( $P<0.05$ ). The same below.

图1 不同浓度铜胁迫下狐尾藻生物量与叶绿素含量

Figure 1 Biomass and chlorophyll content of *Myriophyllum spicatum* L. under different Cu concentrations

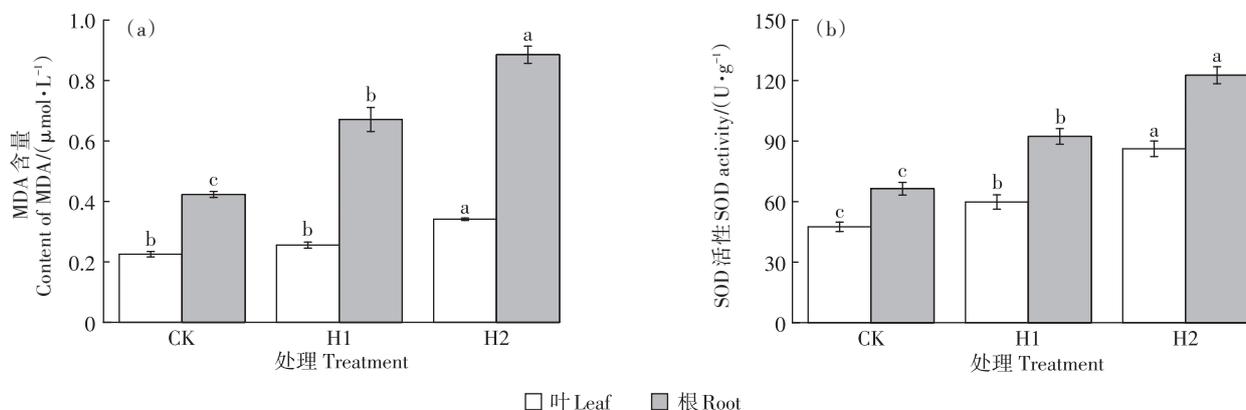


图2 不同浓度铜胁迫下狐尾藻MDA含量和SOD活性

Figure 2 MDA content and SOD activity in roots and leaf of *Myriophyllum spicatum* L. under different Cu concentrations

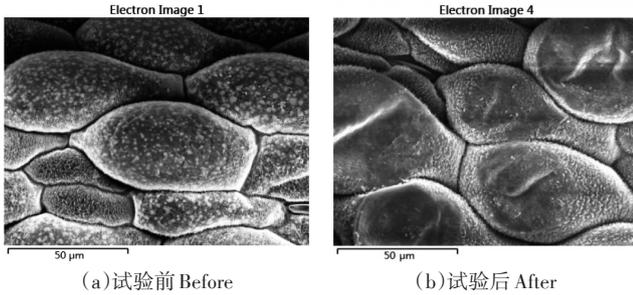


图3 狐尾藻试验前后电镜扫描图

Figure 3 Scanning electron microscopy (SEM) images of epidemis cells in *Myriophyllum spicatum* L.

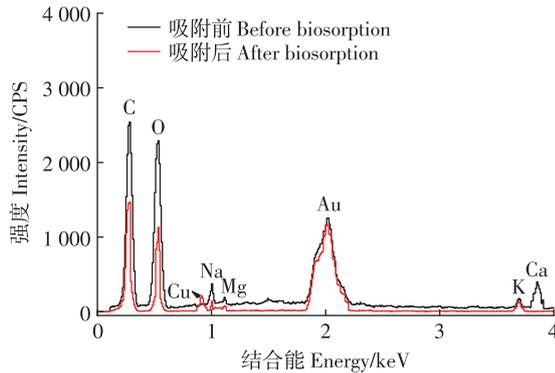
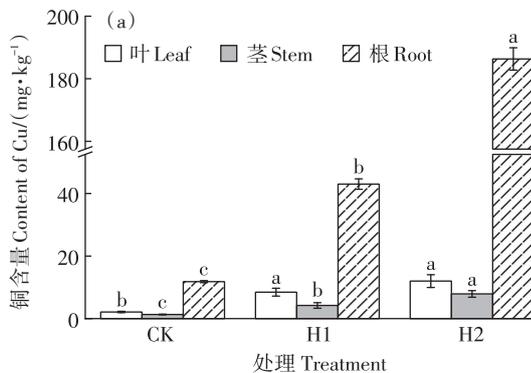


图4 吸附 Cu<sup>2+</sup>前后狐尾藻叶片扫描能谱

Figure 4 Energy spectra of *Myriophyllum spicatum* L. before and after biosorption of Cu

### 2.3 铜在狐尾藻各器官间的分布与迁移特征

从图5a可知,在外源铜处理下,狐尾藻根、茎和叶中铜含量随着铜浓度增加而增加,且狐尾藻根系中铜含量显著高于其茎、叶部分含量。试验结束,H2处理狐尾藻根系铜含量可达(186.34±3.56) mg·kg<sup>-1</sup>,分别是H1、CK的4.33倍和15.78倍。从狐尾藻各器官对铜迁移能力分析结果(图5b)来看,铜从根到茎(TF<sub>根-茎</sub>)的迁移系数为0.04~0.11,从茎到叶(TF<sub>茎-叶</sub>)的迁移系数均大于1,且TF<sub>根-茎</sub>要比TF<sub>茎-叶</sub>小很多,由此说



### 2.5 铜在狐尾藻体内的化学形态分布特征

明狐尾藻经一段时间培养,铜主要积累于狐尾藻根部。2.4 铜在狐尾藻亚细胞内的分布特征

由图6可知,狐尾藻不同器官(叶、茎、根)的亚细胞组分中铜的分配比例和变化趋势存在差异。在叶片中,铜的主要分布区域是细胞壁,占总量的41.45%~55.92%;其次是可溶性组分,约占总量的18.01%~34.63%,而原生质体和线粒体中铜含量较少。随着铜浓度的升高,可溶性组分中的铜比例有所上升,而细胞壁中铜分配比例相应减少,线粒体和原生质体中铜分配比例变化幅度较小,稍有降低。在茎部,铜的分布同样以细胞壁为主,占总量的45.44%~49.92%,其次也是可溶性组分,占总量23.03%~27.65%,再者为原生质体和线粒体,分别占总量的10.78%~17.65%和9.10%~14.87%;随着铜浓度的增加,细胞壁中铜分布含量降低,线粒体和可溶性组分部分比例稍有增加。根中铜也主要分布在细胞壁中,占总量的36.49%~49.61%,可溶性组分与原生质体分配比例相当,分别为21.65%~25.99%和20.49%~25.39%,比例最低的为线粒体部分,占总量的6.30%~17.02%;随着铜浓度的增加,细胞壁和原生质体中的分配比例升高,而线粒体和可溶性组分比例降低。由此说明外源铜浓度的高低会影响铜在植株各器官亚细胞中的分配比例。

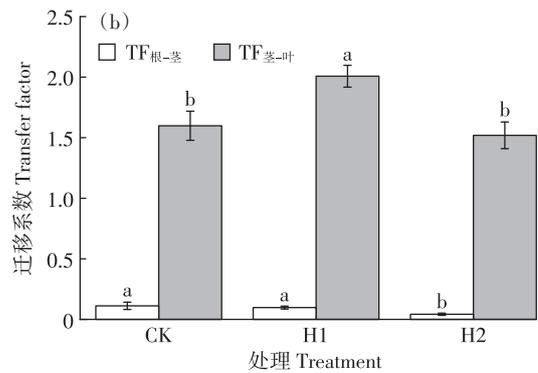


图5 不同铜浓度处理狐尾藻各组织器官中铜含量和迁移系数

Figure 5 Cu content and transfer factor (TF) of *Myriophyllum spicatum* L. under different Cu concentrations

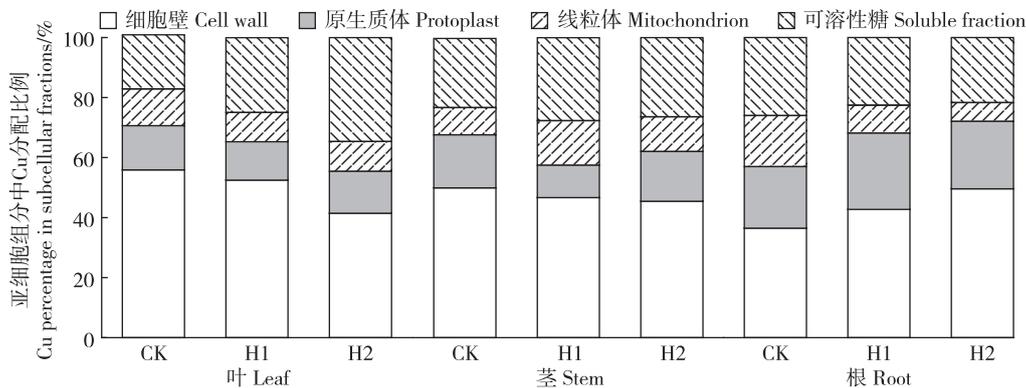


图6 不同铜浓度处理狐尾藻各器官亚细胞组分中铜的分配比例

Figure 6 Percentages of Cu in different subcellular fractions of *Myriophyllum spicatum* L. organs under different Cu concentrations

叶,而氯化钠提取态铜含量占比高于茎、叶,且外源铜浓度越高,氯化钠提取态含量增加幅度越大,该研究结果说明氯化钠提取态铜比例的提高可能是狐尾藻富集器官根部对铜污染在提取态上的响应特征之一。

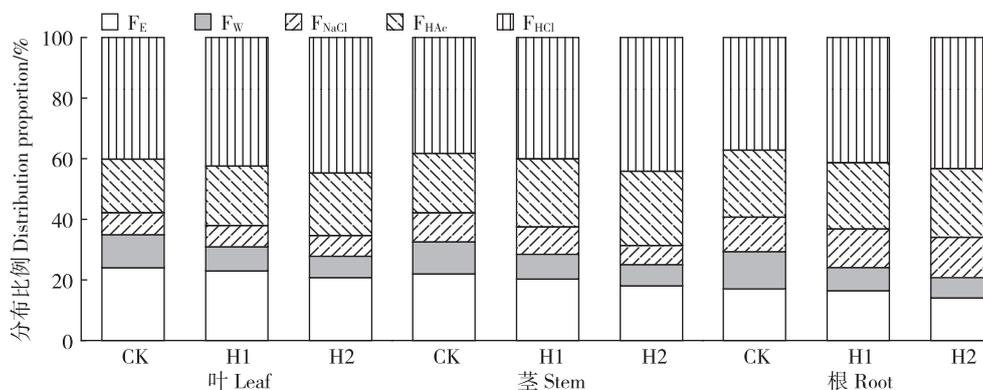
### 3 讨论

#### 3.1 狐尾藻对铜的胁迫响应

铜是植物生长必需的微量元素,是多种酶(如多酚氧化酶、抗坏血酸氧化酶、细胞色素氧化酶等)的组成成分,对氧化还原反应起关键作用;同时,它在叶绿体的质体蓝素中发挥作用,参与光合作用电子传递,调节植物生长<sup>[21]</sup>。许多研究学者发现植物受重金属胁迫会引起植物色素含量降低<sup>[22]</sup>,主要是因为重金属胁迫会影响叶绿素所需酶的合成,并可能损伤叶绿素分子所结合的叶绿体膜结构<sup>[23]</sup>。因此,适宜浓度的铜对植物生长具有促进作用,而超量铜则会对植物造成毒害。主要是因为过量铜可能与氮、硫、氧等配体过度络合,引起酶及部分功能性金属蛋白活性降低,对

植物细胞造成伤害<sup>[24]</sup>;而且,微量元素的过量摄入将诱发植物氧化应激,损害植物细胞活性,大部分植物适宜的铜含量在 $5\sim 20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间<sup>[25]</sup>。因此,植物对重金属的吸附量不仅影响植物生长,也会影响其各器官细胞形态<sup>[26]</sup>。本研究发现,狐尾藻在外源铜浓度 $0\sim 20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理条件下,生物量和叶绿素含量相比对照组都有所提高;而浓度为 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的铜处理,狐尾藻根、茎、叶生物量显著减低,相比CK处理分别降低了 $53.48\%$ 、 $36.99\%$ 和 $32.22\%$ ,这也说明狐尾藻受到高浓度铜胁迫抑制了其生长,特别是根,这与Tripathi等<sup>[21]</sup>的研究结果相似。其原因可能:一是铜浓度高于 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时狐尾藻叶片细胞干瘪,叶绿体合成受损,进一步影响植物光合作用;二是根对高浓度铜胁迫响应引起极性提取态铜比例增加,进而毒害到植株,导致其生长受到抑制。

植物受到铜胁迫时,会影响细胞内ROS的代谢平衡,使细胞质发生过氧化或降解反应,进而导致植物代谢紊乱<sup>[27-28]</sup>。MDA是一种高活性的植物细胞膜



$F_E$ 、 $F_W$ 、 $F_{NaCl}$ 、 $F_{HAc}$ 和 $F_{HCl}$ 分别表示乙醇提取态、水提取态、氯化钠提取态、醋酸提取态和盐酸提取态铜。

$F_E$ ,  $F_W$ ,  $F_{NaCl}$ ,  $F_{HAc}$  and  $F_{HCl}$  stand for ethanol,  $H_2O$ ,  $NaCl$ ,  $HAc$  and  $HCl$  extractable fraction.

图7 不同化学形态铜在狐尾藻器官中的分布比例

Figure 7 Distribution proportion of different forms of Cu in *Myriophyllum spicatum* L.

脂过氧化产物,可与核酸、蛋白质等发生交联,对细胞膜结构具有破坏作用。因此,可以通过测定MDA含量来评估植物在逆境胁迫下细胞膜脂过氧化的程度,从而间接判断植物细胞膜系统的损伤程度及其对重金属污染的抗性<sup>[29]</sup>。研究发现狐尾藻在铜胁迫下,各处理MDA含量均增加,尤其是根部MDA含量,该现象表明铜胁迫会对植物体内的活性氧代谢平衡产生影响,破坏细胞膜的完整性,导致过氧化损伤。为了消除活性氧自由基、缓和膜损伤和减轻脂质过氧化物作用,植物启动植物体内抗氧化酶系统中保护酶SOD,利用SOD作用将超氧阴离子歧化为 $H_2O_2$ ,并催化芬顿反应产生更多的 $\cdot OH$ <sup>[30]</sup>。有研究表明,铜胁迫下,美人蕉<sup>[31]</sup>、麻疯树<sup>[32]</sup>和滨藜<sup>[33]</sup>体内过氧化物酶含量较对照均有所增加。在本实验中,狐尾藻叶片和根系中SOD的活性均随着铜处理浓度的增加而出现不同程度的升高,这是植物对重金属胁迫反应的典型特征。当铜浓度逐渐增加时,狐尾藻激活其自身的抗氧化防御机制,特别是在根系中,SOD活性和MDA含量显著高于对照组,反映其根系抗氧化能力较强,且对铜浓度的响应更为敏感,这也是狐尾藻根系耐性较强的原因。这与许钟丹等<sup>[34]</sup>对香草的研究结果相似。

### 3.2 狐尾藻体内铜分布与迁移特征

不同植物对重金属的吸收转运途径不同。对于完全淹没在水体中的沉水植物黑藻,植物的茎、叶和根都可能从水溶液中吸收重金属,且向上运输能力大于向下运输<sup>[35]</sup>。对于部分淹水(根系和部分茎部沉浸于水中)的沉水植物狐尾藻,水下部分(根系和部分茎部)成为重金属吸收转运的首要器官。狐尾藻在铜胁迫下其叶、茎和根中铜含量为 $1.32\sim 186.34\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,根中铜的含量大于茎和叶。铜从根到茎( $TF_{\text{根-茎}}$ )的迁移系数远小于从茎到叶( $TF_{\text{茎-叶}}$ )的迁移系数,与前人研究发现镉在粉绿狐尾藻<sup>[36]</sup>、褐藻<sup>[37]</sup>和铜在苦草<sup>[38]</sup>体内的积累分布类似,即重金属主要滞留在根部,这说明狐尾藻体内铜可能大部分也富集于根部。狐尾藻根部相比茎叶具有更强铜富集能力,原因可能是狐尾藻根系在外源重金属刺激下,通常会分泌草酸、柠檬酸等有机酸使根际形成酸性环境,促进水体中的重金属溶解而被吸收;同时狐尾藻根系分泌物容易和重金属络合形成可溶性复合物,利于重金属在植物体内富集。

### 3.3 铜在狐尾藻各器官亚细胞中的分布

植物细胞抵御重金属胁迫通常采取细胞壁吸附、液泡区隔化、胞质内络合与转化等方式,而细胞壁通

常被认为是植物原生质体对抗金属离子危害的首道屏障<sup>[39]</sup>。本试验研究发现铜在狐尾藻亚细胞组分中分布关系总体表现为:细胞壁>可溶性组分>原生质体>线粒体,该结果与众多学者研究结论相符<sup>[36,40]</sup>。其原因可能是细胞壁的结构特性(多糖基质、独特的官能团以及带有负电的生物大分子)为重金属离子提供了可利用的结合位点,限制金属离子的跨膜扩散过程,从而有效减轻其对原生质体的毒性作用<sup>[10]</sup>。随着铜浓度增加,原生质体中铜比例增加,可溶性组分(液泡为主)占比先增后减,说明当铜浓度持续增加时,细胞壁中重金属的结合位点趋于饱和,铜则进入原生质体,而后转运至液泡,与液泡中的蛋白质和有机酸等物质相互作用形成稳定复合物,而被隔离在植物液泡内,从而形成液泡内区隔化现象,降低铜在其他细胞器中的分布,减少铜对植物生理损伤<sup>[5]</sup>。由此可推断,狐尾藻利用细胞壁的固定作用及液泡区隔化来抵御铜的毒害,这构成了其关键的防御机制。

### 3.4 铜在狐尾藻体内的化学形态特征

植物吸收重金属后,通常以多种化学形态存在于植物体内。研究发现<sup>[41]</sup>重金属在不同极性提取剂中的溶解度存在显著差异,随着提取剂(80%乙醇、去离子水、氯化钠、2%醋酸和盐酸)极性增加,重金属活性和毒性逐步降低,所以植物对重金属的耐性程度与重金属在植物体内的存在形态和可流动性息息相关。在本研究中,外源铜胁迫下狐尾藻各器官组织中,铜主要以盐酸提取态、醋酸提取态和乙醇提取态存在,而水提取态与氯化钠提取态铜含量比例相对较少,这同司江英等<sup>[42]</sup>和李裕红等<sup>[7]</sup>的研究结果相似。在狐尾藻叶和茎中,随着铜浓度增加,盐酸提取态和醋酸提取态铜含量比例增加,而其他提取态铜含量比例减少。在植物体内,盐酸提取态和醋酸提取态主要代表的是同草酸与磷酸相互反应形成的重金属形态<sup>[43]</sup>,该部分结合态的铜移动性和毒性较低。植物中含有丰富的有机酸,草酸就是其中之一,草酸与铜结合生产稳定且毒性较低的草酸铜复合物,之后被植物各器官的细胞壁固定或是被液泡区隔离,防止过多铜侵入原生质体,干扰植物细胞代谢过程,由此实现植物对铜的解毒<sup>[44-45]</sup>。在狐尾藻根部,随着外源铜浓度的升高,氯化钠提取态和盐酸提取态铜含量比例呈现上升趋势,乙醇提取态和水提取态铜含量比例则呈现下降趋势,而其醋酸提取态铜含量变化不明显。其原因可能是,在植物体内铜主要和蛋白质、果胶盐或金属配位体络合形成复合物,这些复合物容易被氯化钠提取

并沉积在细胞壁中<sup>[36]</sup>;当细胞壁的结合位点饱和后,铜离子会转移到原生质体中,并最终储存于液泡中,该过程也解释了铜在根系中富集的现象;且这种积累减弱了铜向根部其他关键细胞器以及植物茎叶部分的转移,进而减少铜对植物体的毒害,由此表明铜在植物体内的赋存形态也是植物的一种解毒机制。细胞壁固持和液泡区贮存的铜,以络合物为主迁移性较弱,短期释放能力有限<sup>[10]</sup>,而狐尾藻中铜的长期释放能力后续还需深入研究探讨。

## 4 结论

(1)狐尾藻对水体铜具有较强的吸收和积累能力,是修复铜污染水体的先锋植物材料。当铜浓度低于 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,可促进狐尾藻的生长,当铜浓度为 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,则显著影响狐尾藻生物量的积累。在高浓度铜胁迫下,狐尾藻叶片受到氧化应激损伤,而根系显示较高的抗氧化防御能力,这是狐尾藻对铜耐性较强的一个重要生理机制。

(2)狐尾藻根系中铜含量高于茎、叶部分。狐尾藻各器官亚细胞组分中有36%以上的铜被固定于细胞壁,其次是可溶性组分。狐尾藻各器官细胞壁和可溶性组分(液泡)对铜的固定、区隔化有效阻止了铜向细胞膜、细胞器内转运,是狐尾藻重要的防御机制。

(3)狐尾藻中铜以盐酸提取态、醋酸提取态和乙醇提取态3种化学形态为主。盐酸提取态占主导地位表明,植物内部的草酸盐、果胶酸及蛋白质等多种重金属配位体可与铜络合,减少其在细胞内的迁移性和活性,这也是狐尾藻耐铜的重要机制。

## 参考文献:

- [1] SINGH R, BIRRU R, SIBI G. Nutrient removal efficiencies of *Chlorella vulgaris* from urban wastewater for reduced eutrophication[J]. *Journal of Environmental Protection*, 2017, 8:1-11.
- [2] 曹雷鹏. 养猪废水中氮磷回收铜锌去除技术及水培空心菜食品安全性的研究[D]. 南昌:南昌大学, 2019:3-4. CAO L P. Study on the technology of N, P recovery and Cu(II), Zn(II) removal from swine wastewater and food safety of hydroponic water[J]. Nanchang: Nanchang University, 2019:3-4.
- [3] HU B F, SHAO S, FU Z Y, et al. Identifying heavy metal pollution hot spots in soil-rice systems: a case study in South of Yangtze River Delta, China[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 656:614-625.
- [4] 陈璐, 李威, 王敏, 等. 刺苦草对铜胁迫的耐受性及其恢复能力研究[J]. *水生态学杂志*, 2018, 39(5):104-110. CHEN L, LI W, WANG M, et al. Tolerance and recovery capability of *Vallisneria spirulosa* exposed to copper[J]. *Journal of Hydroecology*, 2018, 39(5):104-110.
- [5] SALAR R, BEHNAZ A, SINA M, et al. Heavy metal bioavailability and accumulation in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) irrigated with treated wastewater in calcareous solids[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 656:261-269.
- [6] SAATZ J, STRYHANYUK H, VETTERLEIN D, et al. Location and speciation of gadolinium and yttrium in roots of *Zea mays* by LA-ICP-MS and ToF-SIMS[J]. *Environmental Pollution*, 2016, 216:245-252.
- [7] 李裕红, 林荣强, 杨逸娴, 等.  $\text{Cu}^{2+}$ 在凤眼莲中的积累及提取态[J]. 泉州师范学院学报, 2015, 33(2):21-26. LI Y H, LIN R Q, YANG Y X, et al. Accumulation and extractable forms of  $\text{Cu}^{2+}$  in *Eichhornia crassipes*[J]. *Journal of Quanzhou Normal University*, 2015, 33(2):21-26.
- [8] WU H F, WANG J Y, LI B B, et al. *Salix matsudana* Koidz tolerance mechanisms to cadmium: uptake and accumulation, subcellular distribution, and chemical forms[J]. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2016, 25(4):1739-1747.
- [9] 张春梅, 张长锋, 朱青青, 等. 马缨丹对铜的生理响应及亚细胞分布特征[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(1):21-28. ZHANG C M, ZHANG C F, ZHU Q Q, et al. Physiological response and subcellular distribution of copper in *Lantana camara* L.[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(1):21-28.
- [10] 薛培英, 李国新, 赵全利. 轮叶黑藻和穗花狐尾藻对铜的吸收机制研究[J]. 环境科学, 2014, 35(5):1878-1883. XUE P Y, LI G X, ZHAO Q L. Mechanisms of copper uptake by submerged plant *Hydrilla verticillata* (L. f.) Royle and *Myriophyllum spicatum* L.[J]. *Environmental Science*, 2014, 35(5):1878-1883.
- [11] 黄长干, 付凌, 梁英, 等. 紫鸭跖草细胞中铜的分配和化学形态特征研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(33):14499-14502. HUANG C G, FU L, LIANG Y, et al. Study on distribution and chemical characteristics of copper in cells of *Setcreasea purpurea* Boom[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2008, 36(33):14499-14502.
- [12] WANG Q Y, LIU J S, HU B. Integration of copper subcellular distribution and chemical forms to understand copper toxicity in apple trees[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2016, 123:125-131.
- [13] SAATZ J, STRYHANYUK H, VETTERLEIN D, et al. Location and speciation of gadolinium and yttrium in roots of *Zea mays* L. by LA-ICP-MS and ToF-SIMS[J]. *Environmental Pollution*, 2016, 216:245-252.
- [14] 李玲, 李娘辉, 蒋素梅, 等. 植物生理学模块实验指导[M]. 北京:科学出版社, 2009:87-90. LI L, LI N H, JIANG S M, et al. The plant-physiology module experiment instructs[M]. Beijing: Science Press, 2009:87-90.
- [15] 陈天, 刘云根, 王妍, 等. 外源磷对神胁迫下挺水植物抗氧化酶系统的影响[J]. 江苏农业学报, 2019, 35(5):1040-1046. CHEN T, LIU Y G, WANG Y, et al. Effects of exogenous phosphorus on antioxidant enzyme system of emergent plants under arsenic stress[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2019, 35(5):1040-1046.
- [16] 罗洁文, 黄玫英, 殷丹阳, 等. 类芦对铅镉的吸收动力特性及亚细胞分布规律研究[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(8):1415-1457. LUO J W, HUANG M Y, YIN D Y, et al. Uptake kinetic characteristics and subcellular distribution of  $\text{Pb}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$  in *Neyruudia reynaudiana*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(8):1415-1457.
- [17] 许嘉琳, 鲍子平, 杨居荣, 等. 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 J L, BAO Z P, YANG J R, et al. Chemical form of Pb, Cd and Cu in crop[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1991, 2(3):244-248.

- [18] WU F B, DONG J, QIAN Q Q, et al. Subcellular distribution and chemical form of Cd and Cd-Zn interaction in different barley genotypes[J]. *Chemosphere*, 2005, 60(10):1437-1446.
- [19] ZHANG S R, LIN H C, DENG L J, et al. Cadmium tolerance and accumulation characteristics of *Siegesbeckia orientalis* L. [J]. *Ecological Engineering*, 2013, 51(2):133-139.
- [20] BAKER A, PROCTOY J, REEVES R. Proceedings of the first international conference on serpentine ecology[J]. *Intercept Limited*, 1996: 291-303.
- [21] TRIPATHI D K, SINGH S, SINGH S, et al. Micro-nutrients and their diverse role in agricultural crops: advances and future prospective[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2015, 37:139.
- [22] 颜昌宙, 曾阿妍. 沉水植物对重金属 Cu<sup>2+</sup> 的生物吸附及其生理反应[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(2):366-370. YAN C Z, ZENG A Y. Biosorption of Cu<sup>2+</sup> by *Submerged macrophytes* and their physiological responses[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(2):366-370.
- [23] 潘瑞炽, 董愚得. 植物生理学[M]. 第三版. 北京: 高等教育出版社, 1997: 65-66. PAN R C, DONG Y D. *Plant physiology*[M]. Third Edition, Beijing: Higher Education Press, 1997:65-66.
- [24] GUPTA D, CORPAS F, PALMA J. Heavy metal stress in plants[M]. Heidelberg: Springer, 2013:118-120.
- [25] KOPITTKER P M, BLAMEY F P C, MCKENNA B A, et al. Toxicity of metals to roots of cowpea in relation to their binding strength[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2011, 30(8):1827-1833.
- [26] WITEK-KROWIAK A. Analysis of temperature-dependent biosorption of Cu<sup>2+</sup> ions on sunflower hulls: kinetics, equilibrium and mechanism of the process[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2012, 192:13-20.
- [27] AMARI T, GHAYAT T, ABDELLELY C. Nickel, cadmium and lead phytotoxicity and potential of halophytic plants in heavy metal extraction[J]. *South African Journal of Botany*, 2017, 111:99-110.
- [28] TIWARI, LATA. Heavy metal stress, signaling, and tolerance due to plant-associated microbes: an overview[J]. *Front Plant*, 2018, 9:452-470.
- [29] 陈柳君, 冯海峰, 朱雪梅, 等. 铜锌复合污染对铜富集植物大聚藻抗氧化酶活性的影响[J]. 西北植物学报, 2014, 34(10):2056-2062. CHEN L J, FENG H F, ZHU X M, et al. Effect of Cu and Zn compound pollution on antioxidant enzyme activity of Cu-enrichment plant *Myriophyllum aquaticum*[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2014, 34(10):2056-2062.
- [30] GOLAM J A, RUAN Y P, ZHOU J, et al. Brassinosteroid alleviates polychlorinated biphenyls-induced oxidative stress by enhancing antioxidant enzymes activity in tomato[J]. *Chemosphere*, 2013, 90(11):2645-2653.
- [31] 吴灵琼, 成水平, 杨立华, 等. Cd<sup>2+</sup>和Cu<sup>2+</sup>对美人蕉的氧化胁迫及抗性机理研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(4):1365-1369. WU L Q, CHENG S P, YANG L H, et al. Stress responses and resistance mechanism of *Canna indica* Linn. to cadmium and copper[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(4):1365-1369.
- [32] 周运鸿, 曾小飏, 高丽梅, 等. 铜胁迫对麻疯树幼苗生理生化特性的影响[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(20):89-91, 119. ZHOU Y H, ZENG X B, GAO L M, et al. Effects of copper stress on physiological and biochemical indexes of *Jatropha curcas* seedlings[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2018, 46(20):89-91, 119.
- [33] BRAHIM L, MOHAMED M. Effects of copper stress on antioxidative enzymes, chlorophyll and protein content in *Atriplex halimus*[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2011, 10(50):10143-10148.
- [34] 许钟丹, 郝俊, 陈超, 等. 香根草种植年限对煤矸石土壤重金属的吸收与富集能力[J]. 西南农业学报, 2020, 33(6):1241-1246. XU Z D, HAO J, CHEN C, et al. Effects of different planting years of *Vetiveria zizanioides* on its absorption and enrichment capacity for soil heavy metals in coal *Gangue Piles*[J]. *Journal of Southwest University*, 2020, 33(6):1241-1246.
- [35] XUE P Y, LI G X, LIU W J, et al. Copper uptake and translocation in a submerged aquatic plant *Hydrilla verticillata* (L. f.) Royle[J]. *Chemosphere*, 2010, 81:1098-1103.
- [36] 杨登, 张昊, 邹慧玲, 等. 镉在水生植物中的富集与亚细胞分布及其化学形态特征[J]. 西北植物学报, 2018, 38(4):682-689. YANG D, ZHANG H, ZOU H L, et al. Accumulation, subcellular distribution and chemical forms of cadmium in aquatic plants[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2018, 38(4):682-689.
- [37] FIGUEIRA M M, VOLESKY B, CIMINELLI V S T, et al. Biosorption of metals in brown seaweed biomass[J]. *Water Research*, 2000, 34:196-204.
- [38] 周志龙. 鄱阳湖区三种沉水植物对铜的富集试验[D]. 南昌: 南昌工程学院, 2017:16-23. ZHOU Z L. Copper enrichment test of three submerged plants in Poyang Lake region[D]. Nanchang: Nanchang Institute of Technology, 2017:16-23.
- [39] HUANG W X, CHEN X W, WU L, et al. Root cell wall chemistry remodelling enhanced arsenic fixation of a cabbage cultivar[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 420:126165.
- [40] KUPPERT H, ZHAO F J, MCCGATH S P. Cellular compartmentation of zinc in leaves of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*[J]. *Plant Physiology*, 1999, 119:305-311.
- [41] XU Q S, MIN H L, CAI S J, et al. Subcellular distribution and toxicity of cadmium in *Potamogeton crispus* L. [J]. *Chemosphere*, 2012, 89(1):114-120.
- [42] 司江英, 赵海涛, 汪晓丽. 不同铜水平下玉米细胞内铜的分布和化学形态的研究[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(2):452-456. SI J Y, ZHAO H T, JIANG X L. Effects of different copper levels on subcellular distribution and chemical forms of copper in maize cells[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(2):452-456.
- [43] 唐敏, 张欣, 谭欣蕊, 等. 锌在3种乔木中的积累及其亚细胞分布和化学形态[J]. 生态应用学报, 2021, 32(12):4298-4306. TANG M, ZHANG X, TAN X R, et al. Accumulation, subcellular distribution, and chemical forms of zinc in three tree species[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2021, 32(12):4298-4306.
- [44] CHEN S, LIN R Y, LU H L, et al. Effects of phenolic acids on free radical scavenging and heavy metal bioavailability in *Kandelia obovata* under cadmium and zinc stress[J]. *Chemosphere*, 2020, 249:126341.
- [45] 何玉君, 孙梦荷, 沈亚婷, 等. 超富集植物与重金属相互作用机制及应用研究进展[J]. 岩矿测试, 2020, 39(5):639-657. HE Y J, SUN M H, SHEN Y T, et al. Research progress on the interaction mechanism between hyperaccumulator and heavy metals and its application[J]. *Rock and Mineral Analysis*, 2020, 39(5):639-657.

(责任编辑:叶飞)