

陈璐, 米艳华, 万小铭, 等. 砷胁迫下磷对三七砷的微区及亚细胞组织分布特征的影响[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(4): 654–660.

CHEN Lu, MI Yan-hua, WAN Xiao-ming, et al. Effects of phosphorus additions on micro- and sub-cellular distribution of As in *Panax notoginseng* under As stresses[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(4): 654–660.

砷胁迫下磷对三七砷的微区及亚细胞组织分布特征的影响

陈璐¹, 米艳华^{1*}, 万小铭², 尹本林¹, 袁志伟³, 和丽忠¹

(1. 云南省农业科学院质量标准与检测技术研究所, 昆明 650221; 2. 中国科学院地理科学与资源研究所, 北京 100101; 3. 昆明医学院第二附属医院, 昆明 650101)

摘要: 通过同步辐射 X 射线荧光分析(μ -SRXRF)和亚细胞组分分离技术相结合, 从植株各部位微区及亚细胞组分层面揭示了药用植物三七在外源磷素作用下砷吸收累积的分布特征。结果表明: 三七的根部和茎部是砷的主要富集部位, 添加外源磷素可以有效降低三七根部、茎部和叶片的砷含量, 降低幅度分别为 47%、80% 和 33%; 三七各部位的亚细胞组分砷的累积量不同, 其中细胞液是砷的主要富集组分, 具有一定的区隔化作用, 但不能有效地减少砷对植物细胞新陈代谢的影响和毒害; 外源磷素的加入可以显著降低三七不同部位亚细胞各组分中砷的累积量, 其降低幅度由高到低依次为细胞液>细胞壁>细胞器, 但分析表明, 外源磷素的添加对三七各部位的亚细胞组分砷累积量占植株总砷累积量比例的影响不大。

关键词: 三七; 砷; μ -SRXRF; 亚细胞组分

中图分类号: X503.23 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2016)04-0654-07 **doi:** 10.11654/jaes.2016.04.007

Effects of phosphorus additions on micro- and sub-cellular distribution of As in *Panax notoginseng* under As stresses

CHEN Lu¹, MI Yan-hua^{1*}, WAN Xiao-ming², YIN Ben-lin¹, YUAN Zhi-wei³, HE Li-zhong¹

(1. Agri-Food Quality Standard and Testing Technology Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650221, China; 2. Institute of Geographic Sciences and Natural Resources Research, CAS, Beijing 100101, China; 3. The Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, China)

Abstract: *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen is one of the traditional precious herbal medicines in China. Arsenic (As) pollution in *P. notoginseng* has attracted wide attention. In this study, we examined the effects of phosphorus additions on micro- and sub-cellular distribution of As in *P. notoginseng* using synchrotron radiation X-ray fluorescence (SRXRF) and subcellular separation methods. Results showed that large amounts of As was accumulated in roots and stems. Exogenous phosphorus effectively reduced As concentrations in roots, stems and leaves by 47%, 80% and 33%, respectively. The amount of As accumulation was different in different parts of subcellular components. Cytochylema was the main component of As enrichment, showing As compartmentation. However, such compartmentation did not effectively reduce As toxicity to plant cell metabolism. Additions of phosphorus significantly decreased the accumulation of As in various components, in order of cytochylema>cytoderm>organelle, but had little effect on the ratios of As in subcellular components to total As.

Keywords: *Panax notoginseng*; arsenic speciation; synchrotron radiation X-ray fluorescence (μ -SRXRF); subcellular component

收稿日期: 2015-11-15

基金项目: 云南省科技计划青年项目(2014FD063); 国家自然科学基金项目(21267024); 云南省创新人才培养计划项目(2014HB059)

作者简介: 陈璐(1984—), 女, 硕士, 从事农产品质量安全研究。E-mail: clce_006@163.com

* 通信作者: 米艳华 E-mail: zhoumiqu@163.com

三七(*Panax notoginseng*(Burk.)F.H. Chen)是五加科人参属多年生名贵草本中药材,是我国的特有种,其根、茎和花等部位具有显著的活血化淤、消肿止痛功效,主要用于冠心病、心绞痛等心脑血管系统疾病的治疗^[1-2],并在中医药研究中占有重要的位置。文山州已有400多年的栽培历史^[3-5],是公认的三七“道地产区”,位于云南省东南部,东经103°35′~106°12′,北纬22°40′~24°48′之间,具有低纬、高海拔的气候,年平均气温12.0~23.1℃(≥10℃),积温4500~7500℃;土壤以红壤、棕红壤类型为主,pH5~6呈弱酸性,养分含量不高,土壤有效磷含量极少。三七种植要求土壤疏松、排水良好,喜冬暖夏凉的环境,畏严寒酷热;喜潮湿但怕积水,土壤含水量要求保持22%~40%,现多栽培于海拔800~1000m的山脚斜坡或土丘缓坡上。这里气候、土壤条件有利于三七的生长、皂苷含量及其他有效成分的积累,因此形成了文山三七产量高、品质好的特点。

云南省被誉为“有色金属王国”,已发现各类矿产150多种,其中25种矿产储量位居全国前三名,54种矿产储量居前十位。随着各类矿业的大规模开采,土壤母质中的金属元素得到释放,加上农业耕种中大量施用化肥农药,改变了土壤pH、有机质含量降低及不合理的耕作方式,使土壤存在普遍的砷污染^[6-9]。调查中三七种植地66.7%的土壤砷超过国家土壤健康质量标准,60%的土壤镉超标,33.3%的铬超标^[10]。三七主根、须根、茎、叶、花(或果实)砷超标率分别为24%、81%、14%、57%和44%,其中须根、主根和剪口的砷含量较高^[11-12]。闫秀兰等^[12]对三七中砷的累积特征和健康风险进行了评价,认为云南文山三七种植区砷污染及其导致的药物砷超标现状已不容忽视。

磷和砷同属第V族元素,在自然界中往往是共生,形成相似的磷酸盐(PO_4^{3-})和砷酸盐(AsO_4^{3-})。两者在土壤中存在竞争吸附关系^[13],在植物中主要表现为拮抗和协同效应^[14]。砷超富集植物蜈蚣草在高磷或高砷条件下会表现出协同作用,即磷肥的添加提高了蜈蚣草对砷的吸收^[15-16]。三七不属于重金属富集植物^[10],其适宜生长的土壤中有效磷的背景值含量较低,磷素的施用在三七生长过程中是否可以抑制砷的毒害效应尚不清楚。因此,本研究通过外源磷素的施入试验,利用同步辐射X射线荧光分析($\mu\text{-SRXRF}$)技术进行植物样品中的砷元素微区分布扫描,以差速离心法分离三七各部位亚细胞组分中的砷并进行分析测定,深入研究外源磷素对三七吸附砷的微区和亚细胞组分

分布特征,为降低三七的砷含量和提高三七品质提供理论基础和参考依据。

1 材料与方法

1.1 植物培养

选取试验基地生长环境良好,株高18~20cm、茎粗0.5~0.8cm、叶片宽约1.5cm长约3cm,且植株健壮的一年生三七进行水培试验。设置高砷($\text{As}50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)和高砷添加外源磷素($\text{As}50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+\text{P}100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)两组试验处理,添加的五价砷化合物为 $\text{Na}_2\text{HAsO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 。水培试验采用“完全营养液”配方^[17],并结合三七生长特性进行了适当调整,配置营养液的试剂均为分析纯,各处理3次重复。放置于遮阴避光、透光率8%~12%、温湿度适宜、通风条件较好的环境中,为保证三七根系在营养液中正常呼吸,每3d更新营养液1次。在加砷处理前5d进行预培养,在第3d更新营养液一次,第5d更换为试验处理营养液,试验进行3d后取样。

1.2 X射线吸收光谱测定

选取新鲜三七幼苗的主根、茎(地上3~5cm处)和叶片中部,选用进口包埋剂OCT(Optimum cutting temperature compound)包埋后,在LEICA CM1950冷冻切片-20℃下制片^[18],切片厚度为10 μm 。将冷冻切片黏附于迈拉膜固定在样品框上,-80℃冷冻干燥后用于 $\mu\text{-SRXRF}$ 扫描。 $\mu\text{-SRXRF}$ 分析在北京正负电子对撞机同步辐射实验室(BSRF)4W1B应用微束光束线站进行。试验条件:储存环电子能量为2.5 GeV,束流强度为150~200 mA,调节水平和垂直两个狭缝,使入射光斑大小为20 $\mu\text{m}\times 20\mu\text{m}$,探测器为Si(Li)固体探测器及能谱仪系列。样品与入射光线成45°,扫描步长为200 μm ,每个扫描点的时长为60 s^[19]。

1.3 亚细胞组分分离

培养5d后,分别剪取生长良好植株的根、茎和叶组织各2.00g用于亚细胞组分分级实验。参照Weigel等^[20]及Pathore等^[21]建立的亚细胞分级方法,将预冷的匀浆液在玻璃匀浆器中匀浆。匀浆液组成:0.25 $\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖、50 $\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl缓冲液(pH7.8)和1 $\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 赤藓糖醇,匀浆液pH7.8。匀浆和分离过程温度均控制在4℃,具体步骤如下:将15~20 mL的匀浆液及组织放入50 mL离心管,组织匀浆液在高速冷冻离心机中于225 $\times g$ 离心10 min,下部沉淀中底层碎片为细胞壁(F1)组分;上清液在18 450 $\times g$ 离心90 min,底层碎片为细胞质(Cytoplasmic or-

ganelles)(F2)组分,主要指各种细胞器的膜结构;上层清液为细胞液(Cytoplasmic supernatant)(F3)组分,包括细胞质及液泡内大分子有机物及无机离子^[22]。将亚细胞组分 F1、F2 和 F3 转入陶瓷坩埚中,70 °C 烘干至恒重,加入 10 mL HNO₃ 和 0.5 mL HClO₄, 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。样品中的 As 用电感耦合等离子体质谱仪(ELAN DRC-e)测定,植物样品分析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,分析误差均在允许范围内。

1.4 数据处理

同步辐射 X 荧光射线微束激发三七样品的能量数据,使用 X 射线能量分析软件 PyMCA 进行荧光数据处理,结果通过 OriginPro8.0 软件绘制砷元素分布图。植株各部位亚细胞组分中砷的含量通过 SPSS17.0 软件进行相关分析。

2 结果与分析

2.1 三七各部位砷元素微区分布特点

三七根部、茎部和叶片横切面上元素的荧光吸收光谱分析结果见图 1。图中绿色至红色依次表示检测到元素的荧光强度由弱到强,说明检测区域砷元素相对含量由低到高。图 1 左侧 A、C、E 对应的是高砷浓度 As 50 mg·L⁻¹ 的三七叶片、茎部和根部砷元素荧光强度分布图,右侧 B、D、F 对应的是高砷添加外源磷素 As 50 mg·L⁻¹+P 100 mg·L⁻¹ 的三七叶片、茎部和根部的砷元素荧光强度分布图。

从高砷处理的砷元素荧光分布图可以看到,砷元素在叶片中检测强度非常弱,峰值为 6.78,说明砷元素的含量很少;在茎部出现砷元素的荧光强度增高,峰值达 27.8;根部也同样出现检测荧光强度较高的区域,且分布均匀,但峰值为 13.66(约为茎部峰值的 1/2),说明三七茎部和根部的砷元素含量都高于叶片,且茎部的砷含量最高。从高砷添加外源磷素处理的砷元素荧光分布图可以看出,叶片砷元素的荧光检测强度非常弱,平均强度仅为 4.5,略低于高砷处理;茎部的砷元素检出峰值为 5.8,平均强度为 5;根部的荧光检测强度略高于茎部,最高达 7.25。对比可知,添加外源磷素后显著减弱了茎部和根部砷元素的荧光强度,其中茎部表现最为显著;高砷处理的叶片中砷元素荧光强度仅略高于添加外源磷素试验处理。

荧光强度的高低可以反映出相应检测区域的砷

元素含量的高低^[23-24]。添加外源磷素可以有效降低三七根部、茎部和叶片中砷元素的含量,降低幅度分别为 47%、80%和 33%。

2.2 不同处理三七各部位亚细胞组分砷累积量的分布特征

高砷处理和高砷添加外源磷素的试验处理中,三七不同部位的亚细胞组分砷累积量各不相同。从表 1 可以看出,高砷处理三七各部位砷的累积量均显著高于高砷添加外源磷素处理,其中根部砷的累积量表现最高,茎部次之,叶片砷累积量最低;试验中亚细胞组分砷的总累积量均表现为根>茎>叶。在两组试验处理下,除高砷处理的叶片各组分砷累积量表现为细胞液>细胞器>细胞壁外,其余砷累积量均表现为细胞液>细胞壁>细胞器;三七叶片中细胞壁和细胞器两组分间的砷累积量无差异,但低于细胞液组分。分析表明三七各部位中不同亚细胞组分对砷的赋存能力不同,细胞液是三七吸收累积砷的主要亚细胞组分,其含砷量约为细胞壁和细胞器的总和。对比两组试验发现,三七生长介质中添加外源磷素后,可以显著降低各部位亚细胞组分的砷累积量:根部细胞壁、细胞器和细胞液的降幅分别为 29%、49%和 43%;茎部细胞壁、细胞器和细胞液的降幅分别为 34%、28%和 43%;叶片细胞壁、细胞器和细胞液的降幅分别为 32%、52%和 42%。

图 2 表示高砷处理和高砷添加外源磷素处理下,三七各部位亚细胞组分砷累积量占整株砷总累积量的百分比。可以看出三七各部位的砷累积量自上而下变化幅度非常大。两组试验处理的叶片亚细胞组分中砷累积量占植株总砷累积量的 10%以下,茎部和根部亚细胞组分砷累积量占植株总砷累积量的百分比相差不大,但根部略高。高砷处理下根部、茎部和叶片的细胞液组分中砷累积量占植株总砷累积量分别为 25%、24%和 4%;高砷添加外源磷素处理下根部、茎部和叶片的细胞液组分中砷累积量占植株总砷累积量分别为 23%、23%和 4%。添加外源磷素对亚细胞组分砷累积量占植株总砷累积量的比例影响不大。细胞液的砷累积量约是相同处理下对应部位细胞壁和细胞器两个组分砷累积量之和,是三七吸收累积砷的关键组分。对比高砷和高砷添加外源磷素两组试验处理发现,添加外源磷素对三七各部位亚细胞组分的砷累积比例影响较小,说明三七的亚细胞组分对砷的吸收累积比例不会随着生长介质中磷元素浓度的改变而改变。

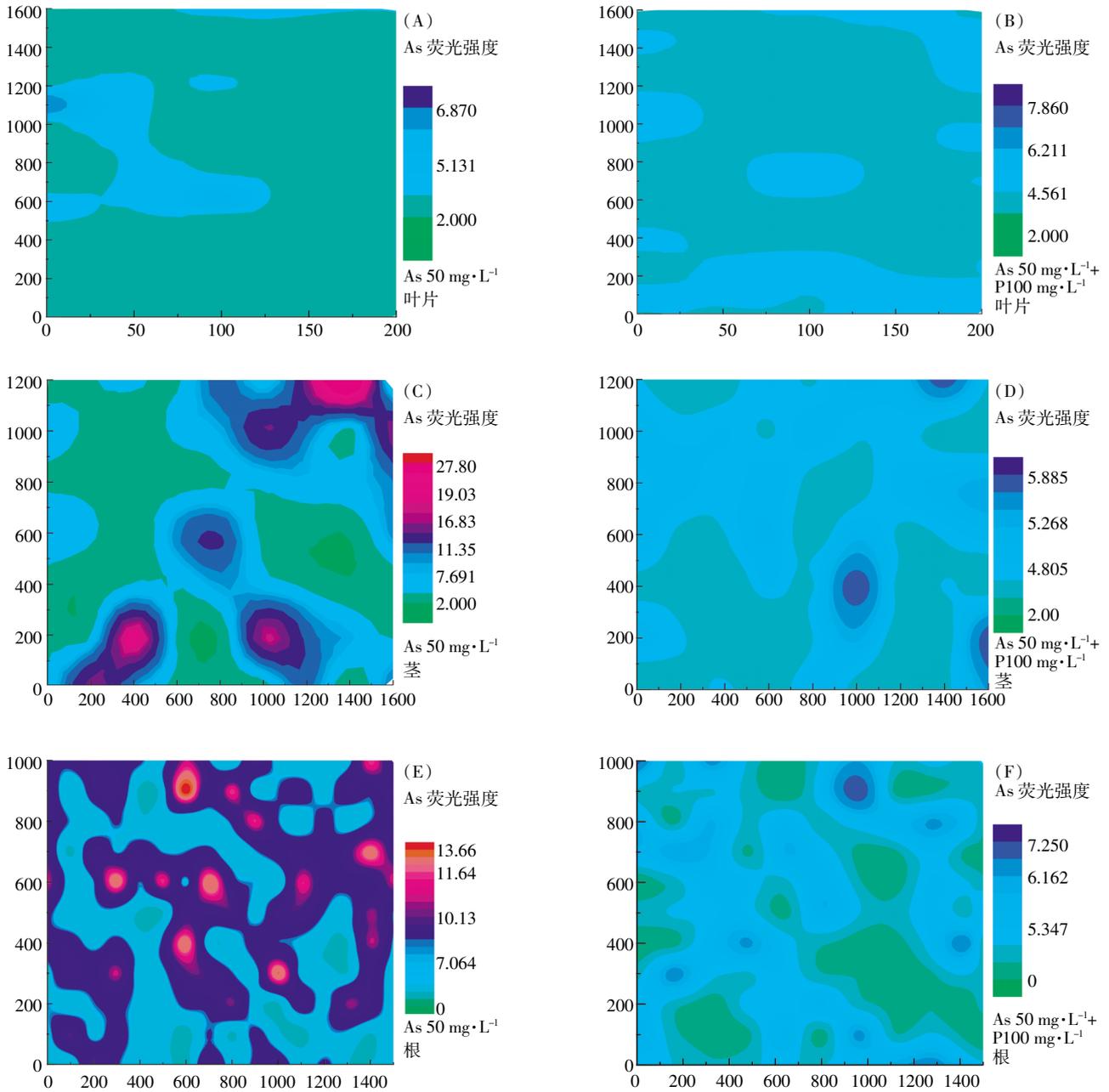


图1 不同处理三七各部位横切片中砷元素荧光分布图

Figure 1 X-ray fluorescence microscopy(XRF) maps of arsenic concentrations in transverse sections of different parts of *P. notoginseng* under different treatments

3 讨论

植物根部吸收的砷90%以上都会向上运输^[25-26], 介质中的砷通过三七根部表皮组织进入体内并通过维管束组织转运^[27];对土壤-三七系统重金属污染调查中,三七各部位砷累积特征表现为根条>剪口>块根>叶>茎^[10]。本研究结果显示,三七叶片中砷元素的荧光检测强度最弱,且添加外源磷素可以降低叶片

中砷的含量,但降低不显著。添加外源磷素条件下,茎部砷元素的荧光强度可从27.8降至5.8,降幅达80%;根部的荧光强度从13.66降至7.25,降幅达47%;叶片中的降低幅度最低,仅为33%。三七的根部和茎部是砷的主要富集部位,添加外源磷素可以有效降低三七根部、茎部和叶片中砷的含量,其中茎部的降幅最大,叶片中砷的含量分布略有下降,但不显著。

表1 三七各部位亚细胞组分中砷的浓度

Table 1 Arsenic concentrations in subcellular fractions of *P. notoginseng*

处理	部位	As 浓度/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$			
		细胞壁	细胞器	细胞液	总和
$\text{As}50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	根	$30.93\pm0.56\text{Ab}$	$26.75\pm0.66\text{Ab}$	$64.64\pm0.26\text{Aa}$	$123.80\pm0.48\text{A}$
	茎	$28.66\pm0.36\text{Ab}$	$23.23\pm0.12\text{Ab}$	$61.99\pm0.36\text{Aa}$	$114.12\pm0.6\text{A}$
	叶	$5.63\pm0.07\text{Bb}$	$6.47\pm0.08\text{Bb}$	$10.97\pm0.54\text{Ba}$	$23.07\pm0.69\text{B}$
$\text{As}50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+\text{P}100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	根	$21.96\pm0.10\text{Ab}$	$13.74\pm0.23\text{Ab}$	$36.98\pm0.03\text{Aa}$	$72.68\pm0.36\text{A}$
	茎	$19.01\pm0.50\text{Ab}$	$16.73\pm0.16\text{Ab}$	$35.81\pm0.14\text{Aa}$	$71.55\pm0.80\text{A}$
	叶	$3.83\pm0.63\text{Ba}$	$3.10\pm0.33\text{Ba}$	$6.46\pm0.08\text{Ba}$	$13.39\pm1.04\text{B}$

注:大写字母代表同一处理下相同组分各部位的显著性检验结果;小写字母代表同一处理下相同部位不同组分间的显著性检验结果。字母不相同表示存在显著差异。

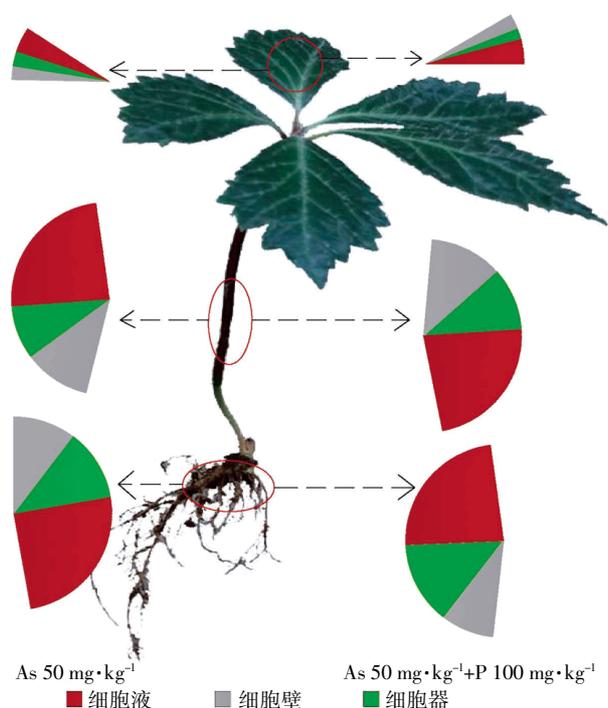


图2 不同处理亚细胞组分的砷含量占植株总砷量的百分比(%)

Figure 2 Percentages of As accumulation in various subcellular fractions over total As in *P. notoginseng* under different treatments

三七主根部亚细胞组分的研究中,砷积累量为细胞液>细胞壁>细胞质^[27]。细胞液是三七体内的主要贮存部位,是细胞新陈代谢的主要场所^[28],也是植物细胞代谢副产品及废物囤积的场所^[29]。细胞壁具有一定固持砷的能力,在高砷处理下,根部中21%以上的砷被固定在细胞壁上。这应该与组成细胞壁的大量羟基、羧基、醛基、氨基和磷酸基等亲金属离子的配位基团可与金属离子配位而贮存部分金属有关,从而减少金属离子的跨膜运输,降低细胞原生质体的金属浓度,从而维持细胞的正常生理代谢^[30-31]。前人在对超

富集植物的解毒机理研究时发现^[32-33],金属元素主要分布在细胞液液泡中,具有明显的区隔化作用。陈同斌等^[22]认为,超富集植物吸收砷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(蜈蚣草)羽叶的细胞液中。本研究也得出,细胞液中砷的累积量最高,细胞壁次之,细胞器最少,但不同于超富集植物细胞液累积率可达60%以上^[22],三七各部位的细胞液砷累积率最高仅为24%。因此,三七的细胞液组分具有一定的区隔化作用,但不能有效地减少砷对植物细胞新陈代谢的影响和毒害。添加外源磷素对三七各部位的亚细胞组分砷累积量占植株总砷累积量的比例影响不大,说明三七不同部位各亚细胞组分吸附固持砷的能力是有限的,不会随生长介质的变化而变化。

4 结论

三七的根部和茎部是砷的主要富集部位,添加外源磷素可以有效降低三七根部、茎部和叶片的砷含量,降幅分别为47%、80%和33%。三七各部位亚细胞组分中,细胞液砷累积量最高,细胞壁次之,细胞器最少;三七茎部和根部细胞液组分砷累积量占植株总砷累积量的比例最高为24%,具有一定的区隔化作用,但不能有效地减少砷对植物细胞新陈代谢的影响和毒害。添加外源磷素对三七各部位的亚细胞组分砷累积量占植株总砷累积量的比例影响不大。

致谢:本研究工作得到北京正负电子对撞机国家实验室BSRF的4W1B应用微束光束线站的支持。

参考文献:

- [1] 魏均娟, 杜元冲. 三七现代科学与应用[M]. 昆明: 云南科技出版社, 1996: 248-253.
WEI Jun-xian, DU Yuan-chong. *Panax notoginseng*: The modern science and its application[M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Press, 1996: 248-253.
- [2] 国家药典委员会. 中国药典: 1部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 81-95.
National Pharmacopoeia Commission. Chinese pharmacopoeia: 1 [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2000: 81-95.
- [3] 崔秀明, 徐珞珊, 王强, 等. 云南三七道地产区地质背景及土壤理化状况分析[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(5): 332-335.
CUI Xiu-ming, XU Luo-shan, WANG Qiang, et al. Analysis on the geologic background and physicochemical properties of soil for the cultivation of *Panax notoginseng* in Yunnan Province[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2005, 30(5): 332-335.
- [4] 文山州三七研究所, 云南省文山农业学校. 三七栽培学[M]. 文山: 文山三七科学技术研究所, 2001: 5-6.
Wenshan Sanqi Research Institute, Wenshan Agricultural School of Yunnan Province. *Panax notoginseng* cultivation[M]. Wenshan: Wenshan Sanqi Research Institute, 2001: 5-6.
- [5] 陈中坚, 杨莉, 王勇, 等. 三七栽培研究进展[J]. 文山学院学报, 2012, 25(6): 1-12.
CHENG Zhong-jian, YANG Li, WANG Yong, et al. Research advances in cultivation of *Panax notoginseng*[J]. *Journal of Wenshan University*, 2012, 25(6): 1-12.
- [6] Dudka S, Adriano D C. Environmental impacts of metal ore mining and processing: A review[J]. *Journal of Environmental Quality*, 1997, 26(3): 590-602.
- [7] 翁焕新, 张霄宇, 邹乐君, 等. 中国土壤中砷的自然存在状况及其成因分析[J]. 浙江大学学报: 工学版, 2000, 34(1): 88-92.
WENG Huan-xin, ZHANG Xiao-yu, ZOU Le-jun, et al. Natural existence of arsenic in soil of China and its cause of formation[J]. *Journal of Zhejiang University(Engineering Science)*, 2000, 34(1): 88-92.
- [8] 冯光泉, 刘云芝, 张文斌, 等. 三七植物体重金属残留特征研究[J]. 中成药, 2006, 28(12): 1796-1798.
FENG Guang-quan, LIU Yun-zhi, ZHANG Wen-bin, et al. Study on the characteristics of *Panax notoginseng* plant body weight metals[J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2006, 28(12): 1796-1798.
- [9] 李卫东. 文山州三七 GAP 种植区环境质量状况调查[J]. 云南环境科学, 2004, 23(增刊): 168-170.
LI Wei-dong. Investigation on environmental quality of pseudo-ginseng GAP planting areas in Wenshan District[J]. *Yunnan Environmental Science*, 2004, 23(Suppl): 168-170.
- [10] 陈璐, 米艳华, 林昕, 等. 土壤-三七系统重金属污染调查及相关分析[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(14): 2608-2613.
CHEN Lu, MI Yan-hua, LIN Xin, et al. Investigation and analysis of heavy metal pollution related to the soil-*Panax notoginseng* system[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2014, 39(14): 2608-2613.
- [11] 张文斌, 曾鸿超, 冯光泉, 等. 不同栽培地区的三七总砷及无机砷含量分析[J]. 中成药, 2011, 33(2): 291-293.
ZHANG Wen-bin, ZENG Hong-chao, FENG Guang-quan, et al. Analysis of total arsenic and inorganic arsenic content of three seven different cultivation areas[J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2011, 33(2): 291-293.
- [12] 阎秀兰, 廖晓勇, 于冰冰, 等. 药用植物三七对土壤中砷的累积特征及其健康风险[J]. 环境科学, 2011, 32(3): 880-885.
YAN Xiu-lan, LIAO Xiao-yong, YU Bing-bing, et al. Accumulation of soil arsenic by *Panax notoginseng* and its associated health risk[J]. *Environmental Science*, 2011, 32(3): 880-885.
- [13] 雷梅, 陈同斌, 范稚连, 等. 磷对土壤中砷吸附的影响[J]. 应用生态学报, 2003, 14(11): 1989-1992.
LEI Mei, CHEN Tong-bin, FAN Zhi-lian, et al. Effect of phosphorus on arsenic adsorption by three different soils[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(11): 1989-1992.
- [14] 陈静, 方萍. 土壤-植物系统中磷和砷相互作用关系的研究进展[J]. 四川环境, 2010, 29(6): 118-121.
CHEN Jing, FANG Ping. Research progress of interaction of phosphorus and arsenic in soil-plant system[J]. *Sichuan Environment*, 2010, 29(6): 118-121.
- [15] 陈同斌, 范稚连, 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[J]. 科学通报, 2002, 47(5): 1156-1159.
CHEN Tong-bin, FAN Zhi-lian, LEI Mei, et al. Phosphorus on arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* absorption effect and its scientific significance[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2002, 47(5): 1156-1159.
- [16] Tu S, Ma L Q. Interactive effects of pH, arsenic and phosphorus on uptake of As and P and growth of the arsenic hyper accumulator *Pteris vittata* L. under hydroponic conditions[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2003, 50(4): 243-251.
- [17] 冯光泉, 金航, 陈中坚, 等. 不同营养元素对三七生长的影响研究[J]. 现代中药研究与实践, 2003(增刊): 18-21.
FENG Guang-quan, JIN Hang, CHEN Zhong-jian, et al. Study on the effect of different nutrient elements on the growth of three seven[J]. *Research and Practice of Chinese Medicine*, 2003(Suppl): 18-21.
- [18] Ager F J, Ynsa M D, Dominguez-Solis J R, et al. Cadmium localization and quantification in the plant *Arabidopsis thaliana* using Micro-PIXE[J]. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 2002, 189: 494-498.
- [19] Solé V A, Papillon E, Cotte M, et al. A multiplatform code for the analysis of energy-dispersive X-ray fluorescence spectra[J]. *Spectrochim Acta B*, 2007, 62(1): 63-68.
- [20] Weigel H J, Jäger H J. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plants[J]. *Plant Physiol*, 1980, 65(3): 480-482.
- [21] 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(2): 207-211.
- [22] 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, 2005, 50(24): 2739-2744.
CHEN Tong-bin, YAN Xiu-lan, LIAO Xiao-yong, et al. The subcellular distribution of arsenic in the centipede grass and separation effect[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2005, 50(24): 2739-2744.

- [23] 姚焜, 康士秀, 孙霞, 等. 同步辐射讲座第二讲 同步辐射 X 射线荧光及其在植物微量元素分析中的应用[J]. 物理, 2002, 31(2): 105-112.
YAO Kun, KANG Shi-xiu, SUN Xia, et al. The use of synchrotron radiation X-ray fluorescence in microelemental analysis in plants[J]. *Physics*, 2002, 31(2): 105-112.
- [24] 袁静, 罗立强. 同步辐射微区 X 射线荧光和吸收谱技术在大气、土壤和动植物分析中的应用[J]. 核技术, 2014, 37(8): 1-11.
YUAN Jing, LUO Li-qiang. Synchrotron μ -XRF and XAFS in element distribution and speciation of air, soil and biological samples[J]. *Nuclear Techniques*, 2014, 37(8): 1-11.
- [25] Kertulis-Tartar G, Ma L Q, Macdonald G E, et al. Arsenic speciation and transport in *Pteris vittata* L. and the effects on phosphorus in the xylem sap[J]. *Environ Exp Bot*, 2005, 54(3): 239-247.
- [26] Zhang W, Cai Y, Tu C, et al. Arsenic speciation and distribution in an arsenic hyperaccumulating plant[J]. *Sci Total Environ*, 2002, 300(1-3): 167-177.
- [27] 陈璐, 米艳华, 万小铭, 等. 砷在药用植物三七根部组织及亚细胞分布特征[J]. 植物学报, 2015, 50(5): 591-597.
CHEN Lu, MI Yan-hua, WAN Xiao-ming, et al. Characteristics of arsenic in medicinal plants *Panax notoginseng*'s taproots tissue and sub-cellular distribution[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2015, 50(5): 591-597.
- [28] 郑国辑. 细胞生物学[M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2000: 127.
ZHENG Guo-chang. Cell biology[M]. Version 2. Beijing: Higher Education Press, 2000: 127.
- [29] 汪良驹, 刘友良. 植物细胞中的液泡及其生理功能[J]. 植物生理学通讯, 1998, 34(5): 394-400.
WANG Liang-ju, LIU You-liang. Vacuole of plant cells and their physiological functions[J]. *Plant Physiology Communications*, 1998, 34(5): 394-400.
- [30] Hayens R J. Ion exchange properties of roots and ionic interactions within the root apoplasm; Their role in ion accumulation by plants[J]. *Bot Rev*, 1980, 46(1): 75-99.
- [31] Allen D L, Jarrell W M. Proton and copper adsorption to maize and soybean root cell walls[J]. *Plant Physiol*, 1989, 89(3): 823-832.
- [32] Hall J L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance[J]. *J Exp Bot*, 2002, 53: 1-11.
- [33] Frey B, Keller C, Zierold K, et al. Distribution of Zn in functionally different leaf epidermal cells of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* [J]. *Plant Cell Environ*, 2000, 23(7): 675-687.