



请通过网上投稿系统投稿 网址:http://www.aes.org.cn

砷在铜藻中的亚细胞分布及细胞壁吸附作用研究

张鹏,刘玮,王朋云,王铁杆,钟晨辉,陶月良

引用本文:

张鹏,刘玮,王朋云,王铁杆,钟晨辉,陶月良. 砷在铜藻中的亚细胞分布及细胞壁吸附作用研究[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(2): 291-298.

在线阅读 View online: https://doi.org/10.11654/jaes.2022-0721

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于细胞壁吸附固定特性的小飞蓬耐Cd机制研究

张虹,罗洁文,胡华英,曹升,周垂帆,侯晓龙 农业环境科学学报.2019,38(5):980-990 https://doi.org/10.11654/jaes.2018-1231

镉胁迫下大生长的变化及镉积累、分布特征

黄蕊,辛建攀,田如男 农业环境科学学报.2022,41(9):2033-2042 https://doi.org/10.11654/jaes.2022-0008

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

水淹对秋华柳根茎细胞壁组分镉含量的影响

周翠,陈锦平,王婷,陈红纯,李瑞,马文超,魏虹 农业环境科学学报.2017,36(12):2421-2428 https://doi.org/10.11654/jaes.2017-0655

Zn对水稻吸收转运Cd的影响

陈仕淼, 辛子兵, 陆覃昱, 郑富海, 何冰 农业环境科学学报. 2019, 38(10): 2270-2277 https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0174



关注微信公众号,获得更多资讯信息

农业环境科学学报 Journal of Agro-Environment Science

张鹏,刘玮,王朋云,等. 砷在铜藻中的亚细胞分布及细胞壁吸附作用研究[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(2):291-298. ZHANG P, LIU W, WANG P Y, et al. Subcellular distribution of arsenic in *Sargassum horneri* and the role of the cell wall in arsenic biosorption[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(2): 291-298.



砷在铜藻中的亚细胞分布及细胞壁吸附作用研究

张鹏1,刘玮2*,王朋云3,王铁杆1,钟晨辉4,陶月良5

(1.浙江省海洋水产养殖研究所浙江省近岸水域生物资源开发与保护重点实验室,浙江 温州 325000; 2.山东省海洋科学研究院 (青岛国家海洋科学研究中心),山东 青岛 266104; 3.莆田市水产技术推广站,福建 莆田351100; 4.福建省水产研究所福建省 海洋生物增养殖与高值化利用重点实验室,福建 厦门 361000; 5.温州大学生命与环境科学学院,浙江 温州 325000)

摘 要:为揭示铜藻(Sargassum horneri)细胞壁在砷(As)生物吸附中的作用,以铜藻幼苗为研究对象,测定了不同 As 胁迫浓度(50、100、150、200、250 μmol·L⁻¹)下细胞亚组分中的 As 含量变化,并对细胞壁的吸附动力学、细胞壁多糖 As 吸附效果以及细胞壁 多糖傅里叶红外光谱进行了分析研究。结果表明:在低浓度(50 μmol·L⁻¹)As 胁迫时,50.0%的 As 分布于细胞壁,明显高于其他组分;而在高浓度(≥150 μmol·L⁻¹)As 胁迫时,As 优势分布由细胞壁转向细胞可溶组分,细胞壁中的 As 比例下降至 36.4%~37.3%。随着 As 胁迫浓度升高,细胞壁 As 含量呈上升趋势,当 As 胁迫浓度超过 100 μmol·L⁻¹时,细胞壁 As 含量上升趋于平缓。细胞壁吸附动力学实验表明酯化改性和甲基化改性可降低细胞壁 As 吸附的平衡容量,其降幅分别为 68.5%和 42.9%,同时细胞壁多糖红外光谱分析结果也表明羟基、氨基、羧基、硫酸盐基等官能团为细胞壁 As 吸附提供了结合位点。细胞壁多糖体外吸附实验表明随着多糖浓度的升高,多糖 As 吸附率呈上升趋势。研究表明铜藻细胞壁具有重要的 As 吸附能力,其中多糖官能团是细胞壁吸附 As 的关键因素,随多糖含量的升高细胞壁可吸附更多的 As。

关键词:细胞亚组分;细胞壁改性;吸附动力学;多糖;傅里叶红外光谱;铜藻 中图分类号:X173 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2023)02-0291-08 doi:10.11654/jaes.2022-0721

Subcellular distribution of arsenic in Sargassum horneri and the role of the cell wall in arsenic biosorption

ZHANG Peng¹, LIU Wei^{2*}, WANG Pengyun³, WANG Tiegan¹, ZHONG Chenhui⁴, TAO Yueliang⁵

(1. Zhejiang Key Laboratory of Exploitation and Preservation of Coastal Bio-resource, Zhejiang Mariculture Research Institute, Wenzhou 325000, China; 2. Marine Science Research Institute of Shandong Province (National Oceanographic Center, Qingdao), Qingdao 266104, China; 3. Aquaculture Technology Extension Station of Putian, Putian 351100, China; 4. Key Laboratory of Cultivation and High-value Utilization of Marine Organisms in Fujian Province, Fisheries Research Institute of Fujian, Xiamen 361000, China; 5. College of Life and Environmental Science, Wenzhou University, Wenzhou 325000, China)

Abstract: In order to reveal the mechanism of arsenic (As) biosorption of the cell wall of *Sargassum horneri*, we used *S. horneri* seedlings to determine the variations of As distribution in cell subfraction under different As stress concentrations (50, 100, 150, 200 μ mol·L⁻¹, and 250 μ mol·L⁻¹). Experiments on the kinetics of the cell wall biosorption, As sorption effect of the polysaccharides extracted from the cell wall, and FTIR analysis were also carried out. The results showed that 50% of As was distributed in the cell wall fraction which was significantly higher than in other cell subfractions under a low level of As stress(50 μ mol·L⁻¹). However, with increasing As stress(≥150

收稿日期:2022-07-18 录用日期:2022-09-08

作者简介:张鹏(1982—),男,山东新泰人,硕士研究生,高级工程师,从事大型藻类遗传育种、增养殖及生态修复研究。

E-mail:zhangpeng20011918@163.com

^{*}通信作者:刘玮 E-mail:liuwei_mbi@163.com

基金项目:农业部藻类产业技术体系项目(CARS-50);温州市科技特派员专项项目(X20210057)

Project supported : China Agriculture Research System (CARS-50); Special Project of Wenzhou Science and Technology Commissioner (X20210057)

 μ mol·L⁻¹), As was dominantly distributed in the soluble fraction instead of the cell wall, in which less deposition was observed (36.4%– 37.3%). Although there was no notable increase in the As content of the cell wall fraction when As stress concentration was above 100 μ mol·L⁻¹, the As content of the cell wall fraction tended to increase with increasing As stress overall. Results from the kinetic analysis showed that both the esterification and the methylation of the cell wall decreased the equilibrium capacity of As sorption, which declined by 68.5% and 42.9%, respectively. Moreover, FTIR analysis revealed that functional groups such as hydroxyl, amino, carboxyl, and sulphate on the polysaccharide of the cell wall potentially provided binding sites for As. Sorption experiment *in vitro* showed that the rate of As sorption gradually increased with the increasing concentration of polysaccharides extracted. Our findings suggest that the cell wall of *S. horneri* has an important biosorption capacity of As, in which the functional groups on polysaccharides play key roles, and the cell wall can adsorb more As with increasing of polysaccharide content.

Keywords: cell subfraction; cell wall chemical modification; sorption kinetics; polysaccharide; FTIR; Sargassum horneri

砷(As)是一种生物非必需类金属元素,具有广 泛的毒性和生物积累效应。近年来随着人类活动的 加剧,As在地表径流、大气沉降等作用下汇聚近海生 态系统,不仅造成了严重的生态环境问题,而且通过 食物链积累对人类健康构成威胁^{III}。为应对近海 As 污染,基于大型海藻生物吸附的生态修复研究开始受 到人们关注,研究表明马尾科海藻具有金属离子生物 吸附特性,在金属离子污染水体的生物修复方面有广 阔的应用前景[2-3]。近年来漂浮马尾藻(金潮)的出现 成为继浒苔(绿潮)之后的又一海洋生态灾害,如何充 分利用这一巨量海藻资源成为目前亟待解决的重要 问题。针对金潮海藻开展As生物吸附相关研究,有 助于深入了解其吸附As的机理及生物特征,继而推 动定植海藻污水处理技术或具有As吸附能力的生物 制品的研发,为金潮灾害变废为宝提供科学转化途 径,同时也为减轻近海As污染提供解决方案。

铜藻(Sargassum horneri)是马尾藻科经济褐藻, 也是形成金潮灾害的主要马尾藻种类,相较于海带、 裙带等大型褐藻具有更强的无机 As吸附能力^[4],因而 铜藻在As污染水体修复中具有重要的研究价值。植 物的生物吸附能力主要源自细胞壁吸附和液泡区隔 作用[5-6],而细胞壁吸附特性则极具生态修复应用潜 力四。目前已有细胞壁生物吸附方面的研究报道,但 细胞壁吸附性却表现出物种特异性和离子吸附差异 性的特点[8-9],甚至不同生长条件下细胞壁的吸附效 果也不同^[10]。虽然对铜藻 As 胁迫已开展了相关研 究^[8,11],但是铜藻细胞壁对As的吸附效果却仍不清 楚。由于近海铜藻体内通常具有环境本底 As 富 集^[12],为排除藻体内外源As干扰,实验选取室内人工 培育的铜藻幼苗为研究对象。本研究通过As的亚细 胞分布变化、吸附动力学分析、细胞壁多糖体外As吸 附效果以及细胞壁多糖傅里叶红外光谱分析等方面 研究,探寻As在铜藻中亚细胞分布特点及细胞壁As 吸附作用,以期为利用铜藻作为As污染海洋水体的 生态修复治理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

铜藻幼孢子体采用人工繁育获得,在培养瓶悬浮 充气培养幼孢子体,培养密度25 ind・L⁻¹,温度20℃, 光强2500 lx。待幼苗平均长度为2 cm时,挑选大小 均匀的个体用于实验。在培养液中加入 NaAsO₂溶液 进行 As 胁迫处理,As浓度分别为50、100、150、200、 250 μmol・L⁻¹,胁迫处理4h,温度25℃,光强2500 lx。 胁迫处理后的样品80℃烘干磨碎后备用。

1.2 细胞亚组分实验

1.2.1 亚细胞组分分离及As含量测定

称取 1.0 g样品液氮预冷后加入 15 mL 4 ℃预冷 提取液[250 mmol·L⁻¹ 蔗糖、50 mmol·L⁻¹ Tris-HCl(pH 7.5)、1 mmol·L⁻¹ β – 巯基乙醇]研磨匀浆。匀浆液在 300×g下4℃离心2 min,沉淀为细胞壁组分(F1)。上 清液在 10 000×g下4℃离心30 min,沉淀为细胞器组 分(F2),上清液为可溶组分(F3)。所得各组分分别 消解定容后,每组设置3组平行,采用双道原子荧光 仪测定As含量(以鲜质量计)。此外,收集细胞壁组 分(F1)冻干保存,以备后续实验。

1.2.2 细胞壁改性实验

细胞壁改性是通过化学法改变细胞壁中关键成 分以验证其功能的一种方法,其中酯化改性改变了细 胞壁中的羧基或羟基,而甲基化改性则改变了细胞壁 中的氨基。本研究细胞壁改性方法参考曹升等^[13]的 方法并改进。细胞壁酯化改性:取1.0gF1粉末与 140 mL无水甲醇及2 mL浓HCl在烧瓶中混合均匀, 混悬液在130 r·min⁻¹下振荡12 h。离心分离沉淀物

2023年2月 张鹏,等:砷在铜藻中的亚细胞分布及细胞壁吸附作用研究

以去离子水洗涤3次,冷冻干燥备用。细胞壁甲基化 改性:取1.0gF1粉末与80mL甲酸及40mL甲醛在 烧瓶中混合均匀,在130r·min⁻¹下振荡混旋6h。离 心分离所得沉淀物经去离子水洗涤后,冷冻干燥 备用。

1.2.3 细胞壁As吸附动力学

分别采用改性实验组、未改性空白实验组粉末进 行吸附动力学实验,实验参考徐劼等¹¹⁴的方法。取 0.03 g样品置于带滤纸的微型滤器中,用蠕动泵以 0.5 mL·min⁻¹的速度将吸附液(100 μmol·L⁻¹ NaAsO₂、 10 mmol·L⁻¹ NaNO₃)泵入滤器,滤出液进入自动收集 器,样品收集间隔为10 min。用双道原子荧光仪测定 各收集样品的As浓度,实验重复3次,由于标准差在 5%以内,为绘图显示清晰,仅以平均值绘制曲线。

分别使用吸附动力学准一级方程模型及准二级 方程模型¹¹⁵对各实验组As吸附过程进行拟合,其公 式为:

准一级动力学模型:

 $q_t = q_e \times \left(1 - \mathrm{e}^{-k_1 \times t}\right)$

准二级动力学模型:

$$q_{i} = \frac{q_{e}^{2} \times k_{2} \times t}{1 + k_{2} \times q_{e} \times t}$$

式中: q_t 为t时细胞壁对As的吸附量, mg·g⁻¹; q_e 为细胞 壁对As的平衡吸附量, mg·g⁻¹; k_1 、 k_2 为吸附速率常数; t为吸附时间, min。

1.3 细胞壁多糖实验

1.3.1 细胞壁多糖提取

提取未经As胁迫的细胞壁组分,取4.0g细胞壁 粉末液氮研磨后,加入5%氢氧化钾(W/V)搅拌24h。 将溶液在4000×g下离心20min,取上清液加入70% (V/V)乙醇沉淀多糖,离心分离沉淀物,冷冻干燥后 4℃保存备用。

1.3.2 多糖As吸附

在盛有 100 mL As 溶液(250 μmol·L⁻¹ NaAsO₂)的 三角瓶中加入不同剂量的细胞壁多糖(0.10、0.15、 0.20、0.25、0.30 g·L⁻¹),25 ℃下以 180 r·min⁻¹混匀 2 h, 18 000×g下离心 10 min。分别测定吸附前后溶液中 As 浓度以计算多糖对 As 的吸附率,实验设置 3 组平 行。吸附率计算公式^[3]如下:

$$S = \frac{\left(C_i - C_f\right)}{C_i} \times 100\%$$

式中:S为多糖对溶液中As的吸附率,%,C_i为多糖吸附前溶液As浓度,μmol·L⁻¹,C_f为多糖吸附后溶液As

浓度,µmol·L⁻¹。

1.3.3 红外光谱测定

分别对 As吸附前后的多糖样品进行红外光谱测定。称取 1 mg多糖与 100 mg KBr于玛瑙研钵中研磨 混匀,压片后进行傅里叶红外光谱扫描。光谱测定范 围为4 000~500 cm⁻¹,光谱分辨率为4 cm⁻¹。

2 结果与分析

2.1 亚细胞组分As含量

As胁迫对铜藻各亚细胞组分As含量的影响如图 1所示。总体上,随着As胁迫浓度的升高,各细胞亚 组分As含量均呈不同程度的上升趋势。其中F2中 As含量随胁迫浓度升高虽有上升趋势但变化并不显 著。F1中As含量仅在较低胁迫水平(50~100 µmol· L⁻¹)时有明显差异,在高胁迫水平(100~250 µmol· L⁻¹)时F1中As含量的增加并不明显。F3与F1中As 含量随胁迫浓度升高变化趋势相似,但对比50 µmol· L^{-1} 与250 μ mol· L^{-1} 胁迫浓度实验组发现,F3中As含 量由 0.23±0.06 mg·kg⁻¹提高至 0.96±0.12 mg·kg⁻¹,高 于F1中As含量的增长量。另外,在同等As胁迫浓度 下, F1 中 As 含量明显高于 F2 中 As 含量。在 50 µmol·L⁻¹胁迫浓度时F3与F2中As含量差异并不明 显,但当As胁迫浓度高于50 µmol·L⁻¹时F3中As含 量显著高于F2。在较低胁迫水平(50~100 µmol·L⁻¹) 时,F1与F3中As含量差异并不显著,但在高胁迫水 平(150~250 µmol·L⁻¹)时F1中As含量显著低于F3。

随着As胁迫浓度的增加,铜藻各细胞组分中As



F1:细胞壁组分,F2:细胞器组分,F3:可溶组分。不同小写字母代表 存在显著差异(P<0.05)。下同

F1: Cell wall fraction, F2: Organelle fraction, F3: Soluble fraction. Different lowercase letters indicate significant differences (*P*<0.05). The same below

图1 As胁迫下铜藻各亚细胞组分As含量变化

Figure 1 Variations in As content of cell subfractions in S. horneri under As stress

www.aer.org.cn

的分配比例有不同变化(图2)。当As胁迫浓度在 50~150 μmol·L⁻¹时,随着As浓度的升高,F1中As的 比例呈下降走势,由50.0%降至36.8%;F3中As的比 例则呈上升趋势,由最初的33.8%升至49.2%;F3中 As的比例在13.0%~16.2%范围内,变化并不明显。 当As胁迫浓度大于150 μmol·L⁻¹时,各组分As的比 例变化不明显,各组分As比例排序为F3>F1>F2。总 体来看,F2中As比例变化不明显,一直处于最低水平, 而F1与F3中的As的比例随As胁迫浓度变化互换优势





Figure 2 Distribution of As in different cell subfractions in S. horneri

农业环境科学学报 第42卷第2期

地位。当As胁迫浓度处于较低水平(50 μ mol·L⁻¹)时, F1中As的比例最高;当As胁迫浓度处于较高水平(100~250 μ mol·L⁻¹)时,F3中As的比例最高。

2.2 细胞壁As吸附动力学

铜藻细胞壁及其改性处理实验组As吸附动力学 曲线如图3所示。未经改性处理的对照组在吸附初 期0~130 min时,As吸附量快速增长,之后As吸附速 率逐渐降低,在400 min时As吸附量增长趋于平缓。 各细胞壁改性实验组在吸附初期也呈As吸附量快速 增长趋势,但相较于对照组其As吸附快速增长期较 短,均在100 min以内,且各改性实验组的吸附速率也 均低于对照组。与对照组相似,各改性实验组400 min时As吸附量变化趋于平缓,但对照组的As吸附 总量高于其他改性实验组,以As吸附总量排序为对 照组>甲基化改性实验组>酯化改性实验组。

两种吸附模型拟合结果对比发现(表1),准二级 动力学模型总体上对各实验组As吸附过程拟合较为 准确。两种吸附模型仅在对照组中具有相近的r²值, 而在其他实验组中准二级动力学模型具有较高的r² 值。两种模型k值及q。值大小排列相同,其中k值均 为酯化改性实验组>甲基化改性实验组>对照组,而q。 大小排列顺序与k值排序相反。改性实验组的平衡



图3 铜藻细胞壁改性对As吸附的影响

Figure 3 Effects of chemical modification on As biosorption by the cell wall of S. horneri

表1 不同实验组As吸附动力学参数

| Table 1 | Kinetic | parameters | of As | biosorption | in | different | test | groups |
|---------|---------|------------|-------|-------------|----|-----------|------|--------|
|---------|---------|------------|-------|-------------|----|-----------|------|--------|

| 实验组 | 准一级动力学模型 Pseudo-first order kinetics model | | | 准二级动力学模型 Pseudo-second order kinetics model | | | |
|-----------------------|--|---|---------|---|---|---------|--|
| Test group | $k_1/{ m min}^{-1}$ | $q_e/(\mathrm{mg} \cdot \mathrm{g}^{-1})$ | r^2 | $k_2/(\mathrm{mg}\cdot\mathrm{g}^{-1}\cdot\mathrm{min}^{-1})$ | $q_{e}/(\mathrm{mg} \cdot \mathrm{g}^{-1})$ | r^2 | |
| 对照组 Control group | 0.007 6 | 19.64 | 0.995 7 | 0.000 26 | 26.23 | 0.995 0 | |
| 甲基化组 Methylized group | 0.009 0 | 11.78 | 0.974 7 | 0.000 60 | 14.98 | 0.988 2 | |
| 酯化组 Esterified group | 0.011 3 | 6.78 | 0.969 2 | 0.001 52 | 8.27 | 0.989 2 | |



吸附量均低于对照组,以准二级动力学模型拟合结果为例,酯化改性实验组q。值与对照组q。值相比下降了68.5%,而甲基化改性实验组的q。值与对照组相比下降了42.9%。

2.3 细胞壁多糖As吸附

细胞壁多糖的浓度可以显著影响As吸附效果 (图4)。结果表明当多糖浓度由0.10g·L⁻¹增加至 0.30g·L⁻¹时,As吸附率由36.8%上升至54%,As吸附 率随多糖浓度增加而显著上升(P<0.01)。在0.10g· L⁻¹至0.30g·L⁻¹范围内,As吸附率随多糖浓度升高平 缓上升,多糖浓度变化在0.05g·L⁻¹时As吸附率变化 并不明显,但多糖浓度变化大于0.10g·L⁻¹时As吸附 率变化达到显著水平。

2.4 细胞壁多糖红外光谱

红外光谱分析共发现8个多糖特征吸收峰(图 5)。3438 cm⁻¹处为一OH、一NH2形成的宽带吸收 峰^[16],2940 cm⁻¹出现的吸收峰对应甲基特征吸收峰





Figure 4 Effects of cell wall polysaccharide concentration on As sorption *in vitro*





的 C—H伸缩振动^[17]。在1638 cm⁻¹和1421 cm⁻¹处的 吸收峰分别对应 COO⁻的非对称伸缩振动和对称伸缩 振动^[18]。1034 cm⁻¹为对应糖环 C—O 伸缩振动^[19]。并 未发现1380 cm⁻¹处的马尾藻多糖特征峰^[20]。1254 cm⁻¹处的矮峰与620 cm⁻¹处的弱峰对应多糖硫酸盐中 S=O 的伸缩振动和弯曲振动^[16,20-21],816 cm⁻¹处的吸 收峰对应 C—O—S 的不对称伸缩振动^[22],这表明细胞 壁多糖中可能含有硫酸化岩藻聚糖。

铜藻细胞壁多糖As吸附后,部分吸收峰发生偏移(表2)。对波数偏移量大于5 cm⁻¹的吸收峰分析发现,有50%的吸收峰存在偏移,其中一OH、一NH2伸缩振动峰、COO⁻的非对称伸缩振动峰、COO⁻的对称伸缩振动峰向高波数方向偏移,而S=O 伸缩振动峰则向低波数方向偏移。一OH、一NH2伸缩振动峰偏移量最大为19 cm⁻¹,S=O 伸缩振动峰偏移量最小为5 cm⁻¹,这表明—OH、—NH2、COO⁻、S=O 官能团可能参与了As吸附过程。

3 讨论

3.1 As 在铜藻中的亚细胞分布

细胞抵御重金属胁迫通常采取细胞壁吸附、胞质内区隔、胞质内络合与转化等方式,而细胞壁作为细胞防御的首道屏障,其对重金属的吸附能力关系到胞内细胞器正常功能的维持因而具有重要意义^[23]。细胞壁具有结合、固持重金属能力已在高等植物中得到 广泛证实^[24-26],而近来在马尾藻科海藻中也有相关发现^[8,20],本研究表明铜藻细胞壁具有重要的As吸附功能。铜藻细胞各组分吸附的As随As胁迫浓度升高均呈上升趋势,其中细胞壁和细胞可溶组分的As含量升高较为明显(*P*<0.05),但两者变化存在一定差

表2 多糖官能团及其对应的红外吸收频率(cm⁻¹)

Table 2 Function groups of polysaccharide and the corresponding infrared sorption frequencies(cm⁻¹)

| 编号 Number | 官能团 Function group | 对照组 Control | As胁迫组 As treated | 偏移量 Offset |
|--------------|--------------------------|----------------|---------------------|---------------|
| 1 | —OH、—NH₂伸缩振动 | 3 438 | 3 457 | 19 |
| 2 | 一CH ₃ 伸缩振动 | 2 940 | 2 939 | -1 |
| 3 | COO ⁻ 非对称伸缩振动 | 1 638 | 1 646 | 8 |
| 4 | COO ⁻ 对称伸缩振动 | 1 421 | 1 428 | 7 |
| 5 | S=O伸缩振动 | 1 254 | 1 249 | -5 |
| 6 | C—O伸缩振动 | 1 034 | 1 033 | -1 |
| 7 | C—O—S不对称伸缩振动 | 816 | 816 | 0 |
| 8 | S=O不对称弯曲振动 | 620 | 618 | -2 |

295

www.ger.org.cn

异。在As胁迫浓度大于100 µmol·L⁻¹时,细胞壁As 含量变化并不显著,而细胞可溶组分As含量则呈现 明显上升的趋势。这表明随着As胁迫浓度上升,铜 藻细胞壁对As的吸附可能已趋于饱和状态,大量外 源As突破细胞壁防护向细胞质渗透,类似现象在凤 尾蕨科及景天科植物的相关研究中也有报道[7.27]。而 在较低浓度 As 胁迫时(50 μ mol·L⁻¹),铜藻细胞壁是 固持As的优势细胞组分,细胞壁吸附可以拦截50.0% 的As进入细胞内部,从而保持胞内较低的As含量, 以维持正常细胞功能。当As胁迫浓度较高时(≥150 µmol·L⁻¹),细胞可溶组分As含量明显上升,As在细 胞中的优势分布由细胞壁转向细胞可溶组分(图2), 细胞器中的As分布比例则未出现明显波动。这可能 是铜藻细胞壁饱和吸附后,过量的As进入细胞质,部 分As被抗氧化物络合或在液泡区隔后外排⁶¹,部分 As被甲基化降低毒性^[8],但由于丧失了细胞壁防护, 细胞可溶组分As含量上升。有研究表明在高浓度As 胁迫下可溶细胞组分中的 As 含量具有明显优 势^[25,27-28],赵艳芳等^[29]也发现马尾藻科羊栖菜中As主 要在液泡中富集,但也有研究显示细胞壁在细胞As 吸附中始终发挥重要作用^[23,30],本研究表明在As浓度 低于50 µmol·L⁻¹时,铜藻细胞壁是生物吸附As的优 势组分。

3.2 铜藻细胞壁的As吸附位点

细胞壁中特殊的官能团及负电生物组分为吸附 重金属提供了潜在结合位点,细胞壁改性通过对这些 潜在结合位点进行化学修饰以分析其在重金属吸附 中的作用。酯化改性可将细胞壁组分中的羧基或羟 基进行酯化修饰,甲基化改性则可将细胞壁组分中的 氨基进行甲基化修饰,细胞壁改性后减少了重金属结 合位点可导致其重金属吸附能力的下降14,这在细胞 壁对Cd、Pb等重金属吸附研究中均有报道[31,13]。本研 究发现,铜藻细胞壁酯化或甲基化改性均能降低细胞 壁As吸附的 q_a 值,这表明铜藻细胞壁中的羧基或羟 基、氨基等官能团的减少或缺失会减弱细胞壁的As 吸附效果。同时,铜藻多糖吸附As前后的红外光谱 也表明羧基、羟基或氨基等官能团可能参与As吸附 过程,这在其他高等植物中也有类似发现[23]。这些官 能团容易带负电,从而通过离子吸附方式吸引带有正 电的As离子固持在细胞壁中^[32]。这种类似离子交换 的吸附方式并不稳固,可在一定条件下产生解吸四, 但正是这种细胞壁的As吸附特性,为以铜藻为原料 开发相关海洋污水处理产品提供了思路。

中文核川期刊

农业环境科学学报 第42卷第2期

3.3 铜藻细胞壁多糖在As吸附中的作用

多糖是细胞壁的重要组成成分,细胞壁的纤维骨架和包埋基质大多由多糖组成。本研究对铜藻细胞壁多糖红外光谱分析共发现8个特征吸收峰,其中有4个吸收峰在As吸附前后发生波数位移,这表明对应的官能团可能参与了As吸附过程,这些官能团主要包括羟基或氨基、羧基以及硫酸盐基团。在铜藻细胞壁改性实验中已证明羟基、羧基和氨基是As吸附的重要位点,而硫酸盐基团具有金属阳离子吸附能力的类似现象在其他种类马尾藻对La和Al吸附的研究中也有发现^[3,20]。细胞壁多糖不仅含有重金属吸附位点,甚至还可形成特殊的蛋盒结构以络合金属离子^[2],因此细胞壁多糖在细胞壁生物吸附过程中发挥着重要作用。

褐藻细胞壁多糖主要由纤维素、海藻酸及岩藻聚 糖组成,其中纤维素构成细胞壁骨架,而海藻酸和岩 藻聚糖则作为细胞壁基质包埋于骨架中^{117]}。从参与 As吸附的官能团来看,海藻酸及岩藻聚糖分别含有 氨基、羧基以及硫酸盐基团等重要吸附位点,因此很 可能是参与As吸附的重要多糖组分,这在其他种类 马尾藻的研究中也有类似发现^{120]}。此外,不同海藻种 类海藻酸组成存在差异^{117]},这种差异可能影响了参与 重金属结合的官能团种类或数量,从而导致不同海藻 种类间重金属吸附的差异。

体外实验发现铜藻细胞壁多糖浓度可影响As吸 附率,随着多糖浓度升高As吸附率呈上升趋势,当多 糖浓度增加超过0.10g·L⁻¹时,As吸附率显著上升,这 与在其他植物中的相关研究结果一致。Yang等^[33]对 虫草多糖体外研究发现,随着多糖浓度的升高,Pb²⁺ 吸附量呈上升趋势。体内实验也发现,细胞壁多糖 含量较高的水稻品系其Al³⁺的吸附量也较高^[34]。 Muschitz等^[26]发现番茄在Zn胁迫下细胞壁会增厚且 离子吸附量增加。这表明细胞壁多糖具有重要的 重金属吸附能力,其离子吸附量随多糖含量升高而 增长。

4 结论

(1) 铜藻细胞壁在砷(As) 吸附过程中发挥了重要作用。As浓度较低时(50 µmol·L⁻¹), 铜藻细胞壁可吸附拦截50%的As; 但当As浓度较高时(≥150 µmol·L⁻¹), 铜藻细胞壁As吸附处于饱和状态, As主要分布于细胞可溶组分中, 细胞壁中的As比例为36.4%~42.7%, 仅次于可溶组分。

(2)细胞壁中的羧基或羟基、氨基、硫酸盐基团等 官能团为As吸附提供了结合位点,这些官能团的种 类和数量影响着细胞壁对As的吸附效果。

(3)体外实验也表明细胞壁多糖可吸附As,且随 着多糖含量的上升As吸附量也明显提高,这表明铜 藻细胞壁多糖是细胞壁吸附As的关键组分。

参考文献:

- SMEDLEY P L, KINNIBURGH D G. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters[J]. *Applied Geochemistry*, 2002, 17(5):517–568.
- [2] DAVIS T A, VOLESKY B, MUCCI A. A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae[J]. Water Research, 2003, 37 (18):4311-4330.
- [3] COSTA H P S, SILVA M G C, VIEIRA M G A. Fixed bed biosorption and ionic exchange of aluminum by brown algae residual biomass[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2021, 42:102117.
- [4] 陈露, 嵇晶, 金佳颖, 等. 高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法 测定海藻中5种砷形态[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(15):270-275. CHEN L, JI J, JIN J Y, et al. Determination of five arsenic species in seaweed by HPLC-ICP-MS[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(15):270-275.
- [5] FENG R, WANG X, WEI C, et al. The accumulation and subcellular distribution of arsenic and antimony in four fern plants[J]. International Journal of Phytoremediation, 2014, 17(4):348-354.
- [6] BORA M S, GOGOI N, SARMA K P. Tolerance mechanism of cadmium in *Ceratopteris pteridoides*: Translocation and subcellular distribution[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 197:110599.
- [7] PENG J S, WANG Y J, DING G, et al. A pivotal role of cell wall in cadmium accumulation in the crassulaceae hyperaccumulator *Sedum plumbizincicola*[J]. *Molecular Plant*, 2017, 10(5):771–774.
- [8] MAMUN M A A, OMORI Y, MIKI O, et al. Comparative biotransformation and detoxification potential of arsenic by three macroalgae species in seawater: Evidence from laboratory culture studies[J]. *Chemosphere*, 2019, 228:117–127.
- [9] GU S, LAN C Q. Biosorption of heavy metal ions by green alga Neochloris oleoabundans: Effects of metal ion properties and cell wall structure [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 418:126336.
- [10] SOTO RAMIREZ R, LOBOS M G, CÓRDOVA O, et al. Effect of growth conditions on cell wall composition and cadmium adsorption in *Chlorella vulgaris*: A new approach to biosorption research[J]. *Journal* of Hazardous Materials, 2021, 411:125059.
- [11] 张鹏,刘玮, 王铁杆, 等. 无机砷短期胁迫对铜藻幼苗氧化损伤,抗 氧化酶及抗氧化物的影响[J]. 生态环境学报, 2021, 30(5):1034-1041. ZHANG P, LIU W, WANG T G, et al. Impacts of short-term inorganic arsenic stress on oxidative damage, antioxidant enzymes and antioxidant in germlings of Sargassum horneri[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2021, 30(5):1034-1041.
- [12] 杨承虎, 蔡景波, 张鹏, 等. 南麂列岛大型海藻重金属元素含量特征分析[J]. 海洋环境科学, 2017, 36(3): 372-378. YANG CH,

CAI J B, ZHANG P, et al. Determination of heavy metal contents in macroalgae from the Nanji Islands, China[J]. *Marine Environmental Science*, 2017, 36(3):372-378.

- [13] 曹升,罗洁文,胡华英,等.类芦根细胞壁对铅的吸附固定机制[J]. 农业环境科学学报,2020,39(3):496-503. CAO S, LUO J W, HU H Y, et al. Lead adsorption and fixation mechanisms in root cell walls of Neyraudia reynaudiana[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2020, 39(3):496-503.
- [14] 徐劼, 保积庆, 于明革, 等. 茶树根细胞壁对铅的吸附作用[J]. 应用 生态学报, 2014, 25(2):427-432. XU J, BAO J Q, YU M G, et al. Lead adsorption by the root cell wall of tea plant[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2014, 25(2):427-432.
- [15] BEKTAŞ N, AĞİM B A, KARA S. Kinetic and equilibrium studies in removing lead ions from aqueous solutions by natural sepiolite[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2004, 112(1):115-122.
- [16] 张雅洁, 陈晨, 陈曦, 等. 小麦-水稻秸秆还田对土壤有机质组成及 不同形态氮含量的影响[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(11): 2155-2161. ZHANG Y J, CHEN C, CHEN X, et al. Effects of wheat and rice straw returning on soil organic matter composition and content of different nitrogen forms in soil[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2015, 34(11):2155-2161.
- [17] MOHD FAUZIEE N A, CHANG L S, WAN MUSTAPHA W A, et al. Functional polysaccharides of fucoidan, laminaran and alginate from Malaysian brown seaweeds (*Sargassum polycystum*, *Turbinaria ornata* and *Padina boryana*) [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 167:1135-1145.
- [18] YE H, ZHOU C, LI W, et al. Structural elucidation of polysaccharide fractions from brown seaweed Sargassum pallidum[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 97(2):659-664.
- [19] 刘文霞,李佳昕,王俊丽,等.改性泡桐树叶吸附剂对水中铅和镉的吸附特性[J].农业环境科学学报,2014,33(6):1226-1232. LIUWX,LIJX,WANGJL, et al. Adsorption characteristics of Pb²⁺ and Cd²⁺ by modified paulownia leaf powder from aqueous solution[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(6):1226-1232.
- [20] OLIVEIRA R C, HAMMER P, GUIBAL E, et al. Characterization of metal-biomass interactions in the lanthanum(III) biosorption on Sargassum sp. using SEM/EDX, FTIR, and XPS: Preliminary studies[J]. Chemical Engineering Journal, 2014, 239:381-391.
- [21] LI S, CHEN Y, LI K, et al. Characterization of physicochemical properties of fermented soybean curd residue by *Morchella esculenta*[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2016, 109:113–118.
- [22] 张海霞, 汪秋宽, 何云海, 等. 马尾藻褐藻多糖硫酸酯的分离纯化及 结构研究[J]. 大连海洋大学学报, 2016, 31(5):559-562. ZHANG H X, WANG Q K, HE Y H, et al. Purification and structure of fucoidan from Sargasso weed Sargassum[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2016, 31(5):559-562.
- [23] 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.
- [24] 朱光旭, 肖化云, 郭庆军, 等. 铅锌尾矿污染区 3 种菊科植物体内 重金属的亚细胞分布和化学形态特征[J]. 环境科学, 2017, 38(7):

www.aer.org.cn

3054–3060. ZHU G X, XIAO H Y, GUO Q J, et al. Subcellular distribution and chemical forms of heavy metals in three types of compositae plants from lead–zinc tailings area[J]. *Environmental Science*, 2017, 38(7): 3054–3060.

- [25] 张晋龙,黄颖,吴丽芳,等.不同物候期水烛中砷、磷的亚细胞分布 及其生理响应[J]. 植物生理学报, 2021, 57(4):815-826. ZHANG J L, HUANG Y, WU L F, et al. Subcellular distribution and physiological response of arsenic and phosphorus in *Typha angustifolia* at different phenological stages[J]. *Plant Physiology Journal*, 2021, 57(4): 815-826.
- [26] MUSCHITZ A, FAUGERON C, MORVAN H. Response of cultured tomato cells subjected to excess zinc: Role of cell wall in zinc compartmentation[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2009, 31:1197-1204.
- [27] FENG R, WEI C, TU S, et al. Simultaneous hyperaccumulation of arsenic and antimony in Cretan brake fern: Evidence of plant uptake and subcellular distributions[J]. *Microchemical Journal*, 2011, 97(1): 38-43.
- [28] MISHRA S, ALFELD M, SOBOTKA R, et al. Analysis of sublethal arsenic toxicity to *Ceratophyllum demersum*: Subcellular distribution of arsenic and inhibition of chlorophyll biosynthesis[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(15):4639–4646.
- [29] 赵艳芳, 尚德荣, 宁劲松, 等. 羊栖菜中微量金属元素的亚细胞分 区分布[J]. 渔业科学进展, 2013, 34(6): 118-123. ZHAO Y F,

SHANG D R, NING J S, et al. Subcellular distributions of trace metals in *Sargassum fusiforme*[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2013, 34 (6):118-123.

- [30] FAROOQ M A, GILL R A, ALI B, et al. Subcellular distribution, modulation of antioxidant and stress-related genes response to arsenic in *Brassica napus* L.[J]. *Ecotoxicology and Environment Safety*, 2015, 25 (2):350–366.
- [31] 张虹, 罗洁文, 胡华英, 等. 基于细胞壁吸附固定特性的小飞蓬耐Cd 机制研究[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(5):980-990. ZHANG H, LUO J W, HU H Y, et al. Cadmium tolerance mechanism of *Conyza canadensis* based on cell wall adsorption and fixation characteristics[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(5):980-990.
- [32] 郭军康,周冉,任心豪,等.不同年限设施菜地番茄细胞壁果胶Cd 积累的研究[J].农业环境科学学报,2018,37(1):45-51. GUO J K, ZHOU R, REN X H, et al. Accumulation of Cd in cell wall pectin of tomato plants grown in greenhouse soil of different planting years [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2018, 37(1):45-51.
- [33] YANG H, WU Z, HE D, et al. Enzyme-assisted extraction and Pb²⁺ biosorption of polysaccharide from *Cordyceps militaris*[J]. Journal of Polymers and the Environment, 2017, 25(4):1033-1043.
- [34] YANG J L, LI Y Y, ZHANG Y J, et al. Cell wall polysaccharides are specifically involved in the exclusion of aluminum from the rice root apex[J]. *Plant Physiology*, 2008, 146(2):602–611.

(责任编辑:叶飞)