

黑麦幼苗对铬的吸收与分布

田雨婷^a,吕金印^a,程永安^b,肖婷婷^a,高俊凤^a

(西北农林科技大学 a. 生命科学学院, b. 园艺学院蔬菜花卉所, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】 【目的】为重金属污染区的生物修复提供科学依据。【方法】采用含不同浓度 K_2CrO_4 (0(对照), 0.4, 0.8 和 1.2 mmol/L) 的 Hoagland 营养液处理黑麦幼苗, 测定 Cr 在黑麦体内的亚细胞分布、Cr 的化学形态及其不同部位的积累。【结果】黑麦幼苗地上部和根部 Cr 含量随 Cr 处理浓度的增加而显著增大, 并且根部的 Cr 含量均明显大于地上部。0.4, 0.8 和 1.2 mmol/L Cr 处理黑麦幼苗地上部 Cr 含量分别是对照的 3.3, 27.8 和 29.5 倍, 其根部 Cr 含量分别是对照的 8.8, 18.7 和 19.6 倍。Cr 在亚细胞中的分布表现为 F1(细胞壁及残渣) > F3(可溶性部分) > F2(细胞器及膜部分)。不同处理黑麦地上部和根部 F1(细胞壁及残渣)中的 Cr 含量所占比率均在 50% 以上。1 mol/L NaCl、体积分数 2% 醋酸和 0.6 mol/L 盐酸 3 种提取态 Cr 的比例较高。【结论】黑麦对 Cr 的吸收主要积累在根部和细胞壁中, Cr 在黑麦体内以多种形态存在, 其中在盐酸提取态的草酸盐类 Cr 含量相对较高。

【关键词】 黑麦; 铬; 亚细胞分布; 铬化学形态

【中图分类号】 X53

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2008)11-0130-04

Absorption and distribution of chromium in rye seedling

TIAN Yu-ting^a, Lü Jin-yin^a, CHENG Yong-an^b,

XIAO Ting-ting^a, GAO Jun-Feng^a

(a. College of Life Science, b. Institute of Vegetables and Flower, College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】The research about the absorption, distribution and accumulation of Cr in rye seedlings provides the theoretical basis for the phytoremediation of heavy metals in contaminated areas. 【Method】The different concentrations of K_2CrO_4 in Hoagland solution were adopted to study the accumulation, subcellular distribution and chemical forms of chromium in rye seedlings. 【Result】The results obtained show that the contents of chromium in aerial parts and roots increased, accompanying with the increment of concentration of K_2CrO_4 , and more in roots than aerial parts. With the different treatments of 0.4, 0.8 and 1.2 mmol/L Cr, the contents of chromium in aerial parts were 3.3, 27.8, and 29.5 times respectively as much as in the control, and 8.8, 18.7, and 19.6 times in roots. Chromium was mainly distributed in F1(cell wall and residue) and F3(soluble fraction), the distribution ratio of chromium in F2(cell organs and membrane) was the last. There were different distribution ratios of chromium in different extraction media, NaCl extractable-Cr, Acetic acid extractable-Cr and HCl extractable-Cr were dominant in roots and aerial parts in rye. 【Conclusion】Cr accumulates mainly in the cell wall and the roots in rye, and there are varieties of forms in the plant, the content of HCl extractable-Cr is higher than that of others.

* [收稿日期] 2007-11-16

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30471184)

[作者简介] 田雨婷(1981—), 女, 山东济宁人, 在读硕士, 主要从事植物微量元素吸收与代谢机理研究。

E-mail: yutingtian@163.com

[通讯作者] 吕金印(1960—), 男, 陕西岐山人, 教授, 主要从事植物抗逆生理研究。E-mail: jinyinlu@163.com

Key words: *Secale cereale*; Cr; subcellular distribution; chemical form of Cr

随着工农业生产的发展,工业“三废”的不合理排放及农药和化肥的大量使用已对环境造成了严重威胁,尤其是重金属污染对土壤、水体造成了极大危害^[1-2]。土壤中的有害重金属积累到一定程度就会对植物系统产生毒害,不仅导致土壤退化、农作物产量和品质的降低,而且会通过径流和淋洗作用污染地表水和地下水,使水资源受到严重破坏,并可能通过食物链等途径危及人类的健康。

铬是重金属污染物之一^[3],其中 Cr^{6+} 是重要的环境污染物和生物致畸、致突变剂^[4]。有毒重金属在土壤系统中的污染过程具有隐蔽性、长期性和不可逆性。污染土壤的生物修复是当今环境保护技术领域的热点问题,也是最具挑战的研究方向之一。现阶段对土壤重金属的植物修复主要有植物提取(Phytoextraction)、植物转化(Phytotransformation)和植物固定(Phytostabilization)等几种^[5]。目前,我国的生物修复研究尚处于起步阶段,有关的研究尚不多见,Tang 等^[6]通过水培试验发现,鸭跖草能从溶液中吸收大量 Cr^{4+} 来源的铬;韩志萍^[7]对 Cr、Cu、Ni 在芦竹中的富集与分布进行了研究。

重金属在植物体内的代谢吸收机理较为复杂,目前虽然有一些关于累积和超累积植物的报道,但对于重金属在植物体内的转运吸收及代谢机理还不是很清楚,尤其对重金属 Cr 的相关研究报道还较少。

黑麦是一年生禾本科牧草,具有适应性强、生物量大、易种植、好管理等特点,是一种种植面积比较大的优质牧草。目前,有关黑麦在重金属胁迫下的生理适应机制还未见报道。为此,本研究采用水培试验,研究了 Cr^{6+} 对黑麦幼苗生长特性的影响及 Cr 在黑麦幼苗中的分布,旨在为重金属污染区的植物修复提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试作物 冬牧 70 黑麦(*Secale carcle*),由杨凌华星种子公司提供。

1.1.2 Hoagland 营养液 含硝酸钙 945 mg/L,硝酸钾 607 mg/L,磷酸铵 115 mg/L,硫酸镁 493 mg/L,铁盐溶液 2.5 mL/L,微量元素 5 mL/L。

1.2 方法

1.2.1 黑麦幼苗的培养 选择籽粒饱满均匀的冬牧 70 黑麦种子,用体积分数 0.1% HgCl_2 消毒 10

min,再在自来水中浸泡 6~8 h 后,摆放于培养皿中,下面铺一层滤纸,上覆纱布,保持湿润,置 25 ℃ 恒温培养箱内催芽,待根长至 3.0 cm 左右时,转移至光照培养箱内用 Hoagland 营养液培养,培养温度为 25 ℃/18 ℃(昼/夜),光照时间为 12 h,光强为 $80 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。每天间歇性通气 4~6 h,每 2 d 更换 1 次营养液。

1.2.2 试验处理 待黑麦幼苗长至两叶一心时,选用生长一致的植株,分别于含 K_2CrO_4 浓度为 0 (CK),0.4,0.8,1.2 mmol/L 的 Hoagland 营养液中培养,每浓度设 3 个重复,培养 7 d 后取样测定。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 Cr 含量的测定 取整株黑麦,用蒸馏水冲洗干净,吸水纸吸干表面水分,然后分成根部和地上部两部分,于 85 ℃ 烘干,加入硝酸-高氯酸混合液(V(硝酸):V(高氯酸)=4:1),沙浴消化,用二苯碳酰二肼比色法测定 Cr 含量^[8]。

1.3.2 Cr 在黑麦幼苗体内的亚细胞分布 为了比较低浓度和高浓度 Cr 处理对 Cr 在亚细胞中分布的影响,选用 0.4 和 1.2 mmol/L 的 Cr 处理,将处理后的黑麦幼苗在自来水中培养 24 h,其间换水 2 次,以使根系质外体空间的铬酸离子完全析出,然后用蒸馏水浸泡 3 h,再用去离子水冲洗整个植株,分离根和地上部亚细胞组分,其分离方法参照倪天华等^[9]的方法并加以改进:采用差速离心法(4 ℃)分离不同的细胞组分,最后得到 F1(细胞壁及破碎残渣)、F2(细胞器及膜部分)以及 F3(可溶性部分)3 部分。分离后置于三角瓶中,80 ℃ 烘干,加入硝酸-高氯酸混合液(V(硝酸):V(高氯酸)=4:1),沙浴消化,测定 Cr 含量^[8]。

1.3.3 Cr 在黑麦中的化学形态分析 为了弄清黑麦在未受伤害和受伤害时,其体内 Cr 化学形态的变化,选用 0 和 0.8 mmol/L Cr 处理黑麦幼苗后,用逐步提取法测定黑麦根部和地上部 Cr 的化学形态^[10-12]。提取剂及提取顺序为:(1)用体积分数 80% 乙醇(F_{Ethanol})提取以硝酸盐、氯化物为主的无机盐及氨基酸盐等。(2)用去离子水(F_{Water})提取水溶性有机酸盐、重金属的一代磷酸盐 $[\text{M}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2]$ 等。(3)用 1 mol/L NaCl (F_{NaCl})溶液提取果胶酸盐、蛋白质结合态或吸附态的重金属等。(4)用体积分数 2% 醋酸(F_{HAc})提取难溶于水的重金属磷酸盐,包括二代磷酸盐(MHPO_4)、正磷酸盐

[M₃(PO₄)₂]等。(5)用 0.6 mol/L 的盐酸(*F*_{HCl})提取草酸盐等。

称取黑麦幼苗根部和地上部新鲜样品,剪成1~2 mm² 碎片,置于烧杯中,加入提取剂(*V*(样品):*V*(提取剂)=1:10),在 30 ℃ 恒温箱中放置过夜(17~18 h),次日回收提取剂,再加入同体积该提取剂,浸提 2 h 后再回收提取液,重复 2 次,即在 24 h 内提取 4 次,合并 4 次提取液于烧杯中,蒸发近干,加入硝酸-高氯酸混合液(*V*(硝酸):*V*(高氯酸)=4:1),沙浴消化,测定 Cr 含量^[8]。

1.4 数据处理

测定项目均设 3 个重复,用 SPSS 13.0 统计分析软件计算平均值和标准差,并进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 Cr 在黑麦幼苗体内的分布

从图 1 可以看出,随 Cr 浓度的增加,黑麦幼苗根部和地上部的 Cr 含量均呈升高趋势,但 Cr 在根中的分布明显高于地上部。0.4 mmol/L Cr 处理时,黑麦地上部的 Cr 含量与对照差异不显著,0.8 和 1.2 mmol/L Cr 处理时,其地上部 Cr 含量与对照有显著差异。0.4、0.8、1.2 mmol/L Cr 处理时,黑麦根部的 Cr 含量与对照均有显著差异。1.2 mmol/L Cr 处理时,黑麦幼苗地上部的 Cr 含量较对照增加了近 30 倍,根部 Cr 含量较对照增加了近 20 倍。

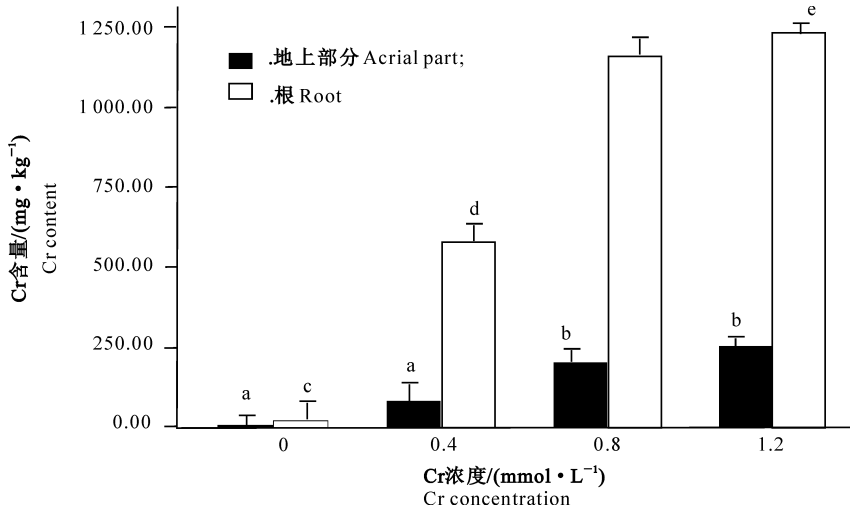


图 1 黑麦幼苗不同部位的 Cr 含量比较

Fig. 1 Comparison of the contents of Cr in different parts of *Secale cereale* seedlings

2.2 Cr 在黑麦幼苗体内的亚细胞分布

由表 1 可以看出,0.4 和 1.2 mmol/L Cr 处理的黑麦幼苗,根部和地上部各细胞组分的 Cr 含量均表现为 F1(细胞壁及残渣)>F3(可溶性部分)>F2(细胞器及膜部分)。可知,黑麦幼苗中的 Cr 主

要分布于细胞壁和可溶性部分,在进行生命活动的细胞器及膜部分的 Cr 含量较低。当 Cr 浓度由 0.4 mmol/L 增加至 1.2 mmol/L 时,各细胞组分的 Cr 含量均有所增加。

表 1 Cr 在黑麦幼苗根部和地上部的亚细胞分布

Table 1 Subcelluar distribution of Cr in the roots and aerial parts of *Secale cereale* seedlings mg/kg

细胞组分 Fraction	处理 Treatment			
	0.4 mmol/L		1.2 mmol/L	
	根部 Root	地上部 Aerial	根部 Root	地上部 Aerial
F1	96.13±4.87	22.17±3.33	162.54±6.37	51.34±1.62
F2	9.23±1.07	1.36±0.21	15.79±1.48	4.16±0.2
F3	68.47±4.87	11.41±0.93	118.64±5.43	39.36±1.84
总 Cr 含量 Total Cr content	173.83±5.24	34.94±1.03	296.97±8.62	94.86±2.58

2.3 Cr 处理对黑麦幼苗根部和地上部 Cr 化学形态的影响

从表 2 可以看出,在对照中,黑麦幼苗根部 HCl

提取态的草酸盐类 Cr(46.78%)和 NaCl 提取态的蛋白质结合态或吸附态 Cr(28.03%)所占比例较高。而在 0.8 mol/L Cr 处理下,黑麦幼苗根部则以

HCl 提取态的草酸盐类 Cr(30.07%)和 HAc 提取态的难溶于水的重金属磷酸盐类 Cr(23.28%)所占比例较高。因为 Cr 的草酸盐和磷酸盐均不溶于水,

所以 Cr 向黑麦地上部的迁移率很小,大部分 Cr 积累在根部。

表 2 Cr 处理对黑麦幼苗根部和地上部 Cr 化学形态的影响

Table 2 Effect of chemical forms of Cr in the roots and aerialof Secale Cereale seedlings treated with Cr

组分 Fraction	根部 Root				地上部 Aerial			
	0 mmol/L		0.8 mmol/L		0 mmol/L		0.8 mmol/L	
	Cr 含量/ (mg·kg ⁻¹)	比例/%	Cr 含量/ (mg·kg ⁻¹)	比例/%	Cr 含量/ (mg·kg ⁻¹)	比例/%	Cr 含量/ (mg·kg ⁻¹)	比例/%
<i>F</i> _{Ethanol}	0.31±0.07	2.67	74.46±1.10	15.21	0.02±0.01	1.04	3.56±0.17	3.59
<i>F</i> _{Water}	0.49±0.04	4.21	68.49±0.90	13.99	0.17±0.07	8.85	18.47±0.14	18.61
<i>F</i> _{NaCl}	3.26±0.34	28.03	81.09±0.76	16.57	0.74±0.02	38.54	16.86±0.21	16.99
<i>F</i> _{HAc}	1.12±0.05	9.63	113.97±0.41	23.28	0.58±0.07	30.21	17.08±0.1	17.21
<i>F</i> _{HCl}	5.44±0.20	46.78	147.18±0.69	30.07	0.37±0.01	19.27	40.89±0.17	41.21
<i>F</i> _{Residue}	1.01±0.01	8.68	4.32±0.14	0.88	0.04±0.01	2.08	2.37±0.02	2.39
总 Cr 含量 Total Cr content	11.63	100	489.51	100	1.92	100	99.23	100

从表 2 还可以看出,随着 Cr 处理浓度的增加,黑麦幼苗地上部各化学形态的 Cr 含量均有所增大。在黑麦幼苗的地上部,对照处理以 NaCl 提取态的蛋白质结合态或吸附态 Cr 和 HAC 提取态的难溶于水的重金属磷酸盐类 Cr 占优势,所占比例分别为 38.54%和 30.21%。而在 0.8 mmol/L Cr 处理条件下,则以 HCl 提取态占优势。

3 讨 论

Cr 是重金属元素之一,虽然低浓度 Cr 能促进植物的生长,但是超过一定浓度范围后,会对植物的生长产生负面影响^[13]。重金属对植物的毒害作用及植物的耐受性,主要与植物对重金属的吸收与运输、重金属在植物体内各部位的分配及其与植物体内物质的结合形态等因素有关^[14]。本研究结果表明,在 Cr 胁迫下,进入黑麦幼苗体内的大部分 Cr 富集在其根部,迁移至其他部位的较少,该结果与杨德等^[15]在南瓜中的研究结果相似。由于大部分 Cr 积累在黑麦根部,从而减轻了其对地上部分各器官的毒害作用,在一定程度上提高了黑麦的耐 Cr 性。

植物耐金属毒害的机制较为复杂,包括细胞壁钝化、跨膜运输减少、主动外排、区域化分布、螯合、合成逆境蛋白及产生乙烯等^[16]。其中最主要、最普遍的机制是通过诱导金属配位体的合成,形成金属配位体复合物,并在器官、细胞和亚细胞水平呈区域化分布^[17]。杨德等^[18]的研究表明,南瓜对铬的吸收即呈区域化分布。细胞壁中的多糖分子和蛋白质分子含有大量羟基、羧基、氨基和醛基等亲金属离子的配位基团,当植物接触到高浓度的金属离子时,这些金属配位体与进入植物的金属离子配位结合,从而

减少了金属离子的跨膜运输,降低了原生质体内的金属离子浓度,有利于维持植物细胞的正常代谢,所以细胞壁是植物体内重金属解毒的主要部位。本研究结果表明,在 0.4 和 1.2 mmol/L Cr 处理下,大部分的 Cr 都积累在 F1(细胞壁及残渣),其次为 F3(可溶部分),F2(细胞器及膜)中的 Cr 含量很低。由于 Cr 被局限在细胞活性较低的区域,阻止了过多的 Cr 进入细胞器等原生质体,从而使细胞质内的一些重要物质和代谢活动,在一定程度上免受了 Cr 的毒害。

在本研究中,从 Cr 的化学形态来看,Cr 的化学提取态主要以 1 mol/L NaCl 溶液提取的蛋白质结合态类、体积分数 2%醋酸提取的难溶于水的重金属磷酸盐类和 0.6 mol/L HCl 提取的草酸盐类为主,这表明进入黑麦体内的 Cr 除了与蛋白质结合外,还与一些物质结合形成了难溶于水的重金属磷酸盐,与草酸结合形成了一些复合物。Cr 与蛋白质的结合,一方面可以减少游离 Cr 的含量,使其毒性和移动性降低,从而避免其对植物产生伤害;但另一方面,Cr 也可能与植物体内的酶和功能蛋白结合,干扰它们的功能,造成生理生化代谢紊乱,影响植物的生长发育。Cr 与其他物质结合形成了难溶于水的磷酸盐和草酸盐,减少了自由态 Cr 的含量,使其毒性减小,由于一部分 Cr 以难溶于水的形态存在,所以就不容易由根部向地上部迁移。Cr 在根中的富集,可防止叶片、花等重要器官受到 Cr 的毒害,以上原因在一定程度上提高了黑麦的耐 Cr 性。

植物耐铬的机理比较复杂,对铬与那些配位体基团结合及其具体结合方式等目前还不清楚。另外,土壤中绝大多数铬以难溶的 Cr³⁺形式存在,植

物对铬产生超积累涉及到一系列氧化还原过程,包括土壤中铬的溶解、植物对溶解铬的吸收与转移、铬在植物体内的分室效应及解毒机制等,这些过程均有待于进一步探讨。

4 结 论

黑麦对 Cr 的吸收积累主要在其根和细胞壁部位;Cr 在黑麦幼苗体内以多种形态存在,其中以草酸盐类 Cr 含量相对较高。

重金属离子在细胞内的区域化分布,是植物体内解毒的主要机制之一,通过这一途径,可大幅度减轻或避免重金属离子对植物体内功能性单位的损伤和对其代谢过程的干扰。

[参考文献]

[1] 周启星. 复合污染生态学[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1995:32-34.
Zhou Q X. Ecology of combined pollution [M]. Beijing: China Environmental Science Press, 1995:32-34. (in Chinese)

[2] 孙铁珩, 周启星, 李培军. 污染生态学[M]. 北京: 科学出版社, 2001:3-4.
Sun T H, Zhou Q X, Li P J. Pollution ecology [M]. Beijing: Science Press, 2001:3-4. (in Chinese)

[3] 王三根, 王西瑶. 植物生理学 [M]. 成都: 成都科技大学出版社, 1997:344.
Wang S G, Wang X Y. Plant Phydiology [M]. Chengdu: Chengdu Science and Technology University Press, 1997:344. (in Chinese)

[4] 顾公望, 张宏伟. 微量元素与性肿瘤 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1993:199-205.
Gu G W, Zhang H W. Trace Elements and Cancer [M]. Shanghai: Science and Technology Publishing House, 1993:199-205. (in Chinese)

[5] 韩 阳, 李雪梅, 朱延姝. 环境污染与植物功能 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005:174.
Han Y, Li X M, Zhu T S. Environmental pollution and plant functional [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005:174. (in Chinese)

[6] Tang S R, Fang Y H. Copper accumulation by *Polygonum microcephalum* D. Don and *Rumex hastatus* D. Don from copper mining spoils in Yunnan Province [J]. PR China Environmental Geology, 2001, 40(7):902-907.

[7] 韩志萍. 铬铜镍在芦竹中的富集与分布 [J]. 环境科学与技术, 2006, 29(5):106-108.
Han Z P. Accumulation and distribution of Chromium, Copper and Nickel in *Arundo donax* [J]. Environmental Science &

Technology, 2006, 29(5):106-108. (in Chinese)

[8] 水和废水监测分析方法编写组. 水和废水监测分析方法 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1998:157-160.
Editorial Group of Water and Wastewater Monitoring and Analysis Methods. Water and Wastewater Monitoring and Analysis Methods [M]. Beijing: China Environmental Science Press, 1998:157-160. (in Chinese)

[9] 倪天华, 魏幼璋. 镉在东南景天中的亚细胞分配 [J]. 植物学报, 2003, 45(8): 925-928.
Ni T H, Wei Y Z. Subcellular distribution of cadmium in mining ecotype *Sedum alfredii* [J]. Acta Botanica Sinica, 2003, 45(8):925-928. (in Chinese)

[10] 杨居荣, 贺建群, 张国祥, 等. 农作物对 Cd 毒害的耐性机理探讨 [J]. 应用生态学报, 1995, 6(1):87-91.
Yang J R, He J Q, Zhang G X, et al. Tolerance mechanism of crop to Cd pollution Chinese [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 1995, 6(1):87-91. (in Chinese)

[11] Ouariti O, Gouia H, Ghorbal M H. Response of bean and tomato plants to cadmium, mineral nutritrion and nitrate reduction [J]. Plant Physiol Biochem, 1997, 35:347-354.

[12] Antonovilles I, Bradshaw A D, Turner R G. Heavy metal tolerance in plant [J]. Adv Ecol Res, 1971, 7:1-11.

[13] Adel Z. Chromium in the environment; factors affecting biological remediation [J]. Plant and Soil, 2003, 24(9):139-156.

[14] 杨居荣, 鲍国平, 张素芹. 铅、镉在植物细胞内的分布及其可溶性结合态 [J]. 中国环境科学, 1993, 13(4):236-268.
Yang J R, Bao G P, Zhang S Q. The distribution and binding of Cd and Pb in plant cell [J]. China Environmental Science, 1993, 13(4):236-268. (in Chinese)

[15] 杨 德, 程永安, 吕金印. 铬在南瓜体内的分布与积累 [J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(5):958-960.
Yang D, Cheng Y A, Lü J Y. Distribution and accumulation of chromium in pumpkin [J]. Plant Physiology Communications, 2006, 42(5):958-960. (in Chinese)

[16] 骆永明. 金属污染土壤的植物修复 [J]. 土壤, 1999(5):261-265.
Luo Y M. Phytoremediation of soil contaminated by heavy metals [J]. Soils, 1999(5):261-265. (in Chinese)

[17] Feng X H, Yi S. Distribution, transformation and bioavailability of trivalent and hexavalent chromium in contaminated soil [J]. Plant and Soil, 2004, 26(5):243-252.

[18] 杨 德, 吕金印, 程永安, 等. 铬在南瓜中的亚细胞分布及对某些酶活性的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(4):1352-1355.
Yang D, Lü J Y, Cheng Y A, et al. Subcsular distribution of chromium and effects on some enzyme activities in pumpkin [J]. Journal of Agro-environment Science, 2007, 26(4):1352-1355. (in Chinese)