

模拟镉污染对两个白菜品种生长、镉吸收累积及亚细胞分布的影响

韩 超¹, 申海玉¹, 叶 嘉¹, 李粉霞²

(1. 邯郸学院 生物科学系, 邯郸市资源植物重点实验室, 河北 邯郸 056005; 2. 邯郸市永年农业局, 河北 邯郸 057150)

摘 要:以“北京铁球小包”和“津青 75”2 个白菜品种为试材, 通过室内土培试验, 研究了模拟重金属镉(Cd)污染对邯郸市 2 个不同白菜品种的生长情况、Cd 吸收累积特征及亚细胞分布规律的影响。结果表明: Cd 浓度增加抑制了 2 个白菜品种的生长, 在 5 mg/kg Cd 浓度污染下, 与对照相比“北京铁球小包”和“津青 75”的总干重分别降低了 11.3% 和 40.12%, 相对而言, “北京铁球小包”受抑程度低; 2 个白菜品种所吸收的 Cd 主要集中于根部, 随 Cd 浓度增加, 2 个白菜品种对 Cd 的积累量均提高, 在 2 个 Cd 污染浓度下, “北京铁球小包”对 Cd 的总积累量分别比“津青 75”高 52% 和 47%, 且其根部对 Cd 的束缚量也较多; 综合而言, 2 个白菜品种中, “北京铁球小包”对土壤 Cd 的富集能力较强, 而其吸收的镉在细胞器中积累较少, 且其生长受 Cd 污染影响较小, 在土壤 Cd 的植物修复具有较强的应用潜力。

关键词:白菜; 镉; 吸收累积; 亚细胞; 分布

中图分类号:S 634.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)10-0009-04

重金属镉(Cd)对生物而言是非必需元素, 其对植物的毒性强且极易被植物吸收, 而食用产品中的 Cd 是动物及人体 Cd 的主要来源。不同种植物甚至同种植物不同品种由于结构和生理基础不同, 吸收 Cd 的生理生化机制各异, 其对 Cd 的积累能力也有显著差异^[1], 可以作为重金属富集植物筛选的参考标准。据报道, 十字花科芸薹属植物具有较强的 Cd 吸收累积能力^[2]。

植物避免 Cd 对自身的毒害, 会从器官、组织、细胞和亚细胞水平上表现出选择分布性。有研究表明, 细胞壁对重金属有一定的吸附作用能将大量重金属阻拦在细胞原生质的外面^[3-4], 另据李德明等^[5]报道, 细胞吸收重金属后, 细胞质中的胞液能将重金属元素分隔化, 使其不再与其它生物分子接触, 从而起到保护细胞中其它细胞器免受损伤的作用。因此, 研究重金属在植物亚细胞的分布情况对于了解植物对重金属的响应具有重要

意义。白菜是十字花科芸薹属叶用蔬菜, 相对于其它蔬菜而言具有生长速度快且生物量大的优势, 对 Cd 的富集潜力大, 它对 Cd 吸收累积的品种差异及其体内亚细胞水平 Cd 的分布有待研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试白菜(*Brassica pekinensis* Rupr.)种子为邯郸市农业科学院的“北京铁球小包”和“津青 75”2 个品种。试验用土取自邯郸学院小树林下表层土壤, pH 6.8, 全氮、全磷、全钾含量分别为 0.93、0.80、17.58 g/kg, 有机质含量 14.54 g/kg, 有效镉含量 0.01 mg/kg。

1.2 试验方法

试验设 0、1.0、5.0 mg/kg 3 个 Cd 浓度水平, 以不添加 Cd 的处理为对照(CK)。土壤过 5 mm 筛, 装盆(塑料盆, 直径 25 cm), 每盆装土 5 kg, 施入形态分别为 NH_4NO_3 、 KH_2PO_4 、 K_2SO_4 做底肥, N: 0.30 g/kg, P_2O_5 : 0.20 g/kg, K_2O : 0.30 g/kg。Cd 以 CdSO_4 溶液形式加入。各物质与土壤混合均匀以后稳定 2 周, 每处理 5 次重复。精选成熟饱满的白菜种子, 以 10% H_2O_2 浸泡消毒 30 min, 弃表层漂浮种子, 用无菌水反复冲洗, 播种于各处理花盆中。待白菜幼苗长至 5 cm 高时进行间苗, 留生长一致的幼苗 4 株/盆。试验过程中, 按需浇去离子水。

第一作者简介:韩超(1978-), 女, 博士, 副教授, 现主要从事植物生理生态等研究工作。E-mail: chaohan@126.com

责任作者:叶嘉(1963-), 女, 硕士, 教授, 现主要从事植物学相关研究工作。E-mail: yejia630819@126.com

基金项目:河北省教育厅高等学校科学技术研究资助项目(Z2012105); 邯郸市科学技术研究与发展计划资助项目(1227101070, 1327101065-3); 邯郸学院硕博启动资金资助项目(2009010)。

收稿日期:2014-01-26

1.3 项目测定

1.3.1 亚细胞组分中 Cd 含量的测定 在白菜幼苗生长 60 d 后,随机选取各处理 10 株白菜幼苗,将幼苗拔出,自来水冲洗干净后再用去离子水冲洗 3 次,吸干水分,分为地上部分和地下部分,分别进行亚细胞组分中 Cd 含量的测定。亚细胞提取参照宋阿琳等^[6]和周卫等^[7]方法,称量新鲜样品加入预冷匀浆液(匀浆液组成为:蔗糖 250 mmol/L、Tris-HCl 缓冲液(pH 7.5) 50 mmol/L 和 DTT 1 mmol/L),叶片料液比 1:2,根系料液比为 1:4,在低温下(0~4℃)研磨。将研磨充分的组织匀浆分别在 300 r/min 下离心 30 s,底层碎片为细胞壁组分;然后将上层悬浮液在 20 000 r/min 下离心 45 min,底层碎片为细胞器组分,上层悬浮液为细胞质组分(含胞质及液泡内高分子和大分子有机物质及无机离子)。2 次离心后的底层碎片(细胞壁和细胞器)采用 HNO₃-HClO₄ 混合消化,原子吸收分光光度计测定消解液中 Cd 含量;细胞质悬浮液中 Cd 含量由原子吸收分光光度计直接测定。

1.3.2 生物量的测定 亚细胞组分 Cd 含量测定取样完成后,将各处理剩余幼苗拔出,用直尺测定株高和根长,自来水冲洗干净后再用去蒸馏水冲洗 3 次,分为地上部分和地下部分,105℃下杀青 30 min 后于 75℃下烘

至恒重,测定小白菜地上部分与地下部分干重。将干样品磨碎,备测。

1.3.3 地上部分和地下部分 Cd 含量的测定 将各处理地上部分与地下部分干样品用 HNO₃-HClO₄ 进行混合消化,原子吸收分光光度计测定样品中 Cd 含量。

1.4 数据分析

采用 SPSS 11.5 分析软件进行单因素方差分析,用 Duncan 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 Cd 污染对白菜幼苗生长的影响

由表 1 可知,Cd 污染抑制了 2 个白菜品种的生长,表现为株高、根长和总干重均随 Cd 浓度的增加而降低,相比较而言,在 1.0 mg/kg Cd 浓度下,“北京铁球小包”与“津青 75”相比降低幅度较小,较耐 Cd 污染,“北京铁球小包”和“津青 75”的总干重分别降低了 1.7%和 1.5%;而在 5.0 mg/kg Cd 浓度下,“北京铁球小包”和“津青 75”的总干重分别降低了 11.3%和 40.12%;在 2 个 Cd 污染浓度下,“北京铁球小包”的长势均好于“津青 75”;综合而言,Cd 浓度增加对“北京铁球小包”生长的影响较小。

表 1 Cd 污染对 2 个白菜品种生长的影响

Table 1 Effect of Cd pollution on growth of two varieties of *Brassica pekinensis* Rupr.

生长指标 Growth index	品种 Variety	Cd 施用量 Cadmium application/mg · kg ⁻¹		
		0	1.0	5.0
株高 Plant height/cm	“北京铁球小包”	12.76±0.12a	11.73±0.18a	10.43±0.22a
	“津青 75”	12.33±0.12a	9.73±0.38b	6.93±0.34b
根长 Root length/cm	“北京铁球小包”	10.50±0.26a	8.23±0.19a	7.27±0.15a
	“津青 75”	7.93±0.34b	7.77±0.12a	5.37±0.38b
总干重 Total dry weight/mg	“北京铁球小包”	900.20±4.49a	884.57±6.82a	798.90±6.20a
	“津青 75”	608.17±10.39b	598.90±30.25b	364.17±12.83b

注:每个浓度下,同一列不同字母代表 2 个品种之间差异显著($P<0.05$)。表 2 同。

Note: Under each concentration, different letters in same column mean significant difference at 0.05 level between two varieties. The same as table 2.

2.2 Cd 污染对 2 个白菜品种 Cd 吸收累积的影响

由表 2 可知,2 个白菜品种所吸收的 Cd 主要集中于根部,随 Cd 浓度增加,2 个白菜品种地上部分、地下部分和总 Cd 含量均提高。其中,在 1.0 mg/kg 和 5.0 mg/kg 浓度下,“北京铁球小包”对 Cd 的总积累量分别是对照的 2.6 倍和 3.8 倍,而“津青 75”分别比对照高出 2.4 倍

和 3.6 倍,且根中 Cd 的分配比例也有所增加;在每个 Cd 浓度下,“北京铁球小包”对 Cd 的积累量均显著高于“津青 75”,且其根部对 Cd 的束缚量也较多;在 2 个 Cd 污染浓度下,“北京铁球小包”对 Cd 的总积累量分别比“津青 75”高 52%和 47%。综合而言,“北京铁球小包”对 Cd 的富集能力较强。

表 2 Cd 污染对 2 个白菜品种镉吸收累积的影响

Table 2 Effect of Cd pollution on Cd accumulation of two varieties of *B. pekinensis*

镉吸收累积量 Cd accumulation	品种 Variety	Cd 施用量 Cd application/mg · kg ⁻¹		
		0	1.0	5.0
地下部分 Cd 含量 Cd content of under ground part/mg · kg ⁻¹	“北京铁球小包”	1.58±0.02a(71%)	4.60±0.15a(80%)	6.80±0.16a(80%)
	“津青 75”	1.14±0.04b(71%)	2.79±0.05b(74%)	4.33±0.17b(74%)
地上部分 Cd 含量 Cd content of upper ground part/mg · kg ⁻¹	“北京铁球小包”	0.63±0.01a	1.15±0.04a	1.74±0.04a
	“津青 75”	0.46±0.02b	1.00±0.02b	1.49±0.06b
总镉含量 Total Cd content/mg · kg ⁻¹	“北京铁球小包”	2.22±0.03a	5.75±0.19a	8.54±0.20a
	“津青 75”	1.60±0.06b	3.79±0.07b	5.82±0.22b

注:括号中的数字表示占总镉含量的比率。

Note: The figures in the parenthesis show the ratio of total cadmium content.

2.3 Cd 污染对 2 个白菜品种亚细胞中 Cd 含量和分配的影响

由表 3 和表 4 可以看出,在 3 个 Cd 浓度下,2 个白菜品种地上部分和地下部分所积累的 Cd 在细胞壁中分配最多;在 2 个外施 Cd 浓度之下,“北京铁球小包”地上部分各亚细胞组分中 Cd 的分配比率均为细胞壁>细胞质>细胞器,地下部分的细胞质和细胞器中分配比率没有显著差异,“津青 75”中 Cd 的亚细胞组分分配比率均为细胞壁>细胞器>细胞质,地上部分和地下部分均是

如此,2 个品种之间有差异;对“北京铁球小包”而言地上部分 3 个亚细胞组分中细胞器中 Cd 的分配比率最低,分别为 7.0%、14.6%和 22.7%,而“津青 75”细胞器中 Cd 的分配比率较高分别占 22.6%、25.2%和 31.3%,其地上部分细胞器中 Cd 含量和分配比例均高于“北京铁球小包”;综合而言,在 2 个 Cd 污染浓度下,“津青 75”细胞器中 Cd 的累积量明显高于“北京铁球小包”,其对重金属 Cd 的耐性不如“北京铁球小包”强。

表 3 Cd 污染下 2 个白菜品种地上部分亚细胞组分中 Cd 含量及分配

Table 3 Cd contents and its subcellular distribution in shoots of *B. pekinensis*

Cd 施用量 Cd application/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	品种 Variety	亚细胞组分中 Cd 含量 Cd contents and distribution rates in subcellular fraction/ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (分配比率/%)		
		细胞壁 Cell wall	细胞质 Cytoplasm	细胞器 Cell organ
0	“北京铁球小包”	21.2 \pm 0.34a (70.6)	6.7 \pm 0.19b (22.3)	2.1 \pm 0.80c (7.0)
	“津青 75”	19.0 \pm 0.38a (59.8)	5.6 \pm 0.34b (17.6)	7.2 \pm 0.03b (22.6)
1.0	“北京铁球小包”	56.7 \pm 0.05a (49.1)	41.9 \pm 0.19b (36.3)	16.8 \pm 0.16c (14.6)
	“津青 75”	60.0 \pm 0.56a (55.9)	20.3 \pm 0.3c (18.9)	27.0 \pm 0.22b (25.2)
5.0	“北京铁球小包”	65.6 \pm 0.13a (38.9)	64.6 \pm 0.37a (38.4)	38.2 \pm 0.49b (22.7)
	“津青 75”	80.5 \pm 0.62a (50.0)	30.1 \pm 0.28c (18.7)	50.3 \pm 0.78b (31.3)

注:同一行不同字母代表不同亚细胞组分之间差异显著($P<0.05$)。表 4 同。

Note: Different letter in the same row represent significant difference at 0.05 level. The same as table 4.

表 4 Cd 污染下 2 个白菜品种地下部分亚细胞组分中 Cd 含量及分配

Table 4 Cd contents and its subcellular distribution in roots of *B. pekinensis*

Cd 施用量 Cd application/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	品种 Variety	亚细胞组分中 Cd 含量 Cd contents and distribution rates in subcellular fraction/ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (分配比率/%)		
		细胞壁 Cell wall	细胞质 Cytoplasm	细胞器 Cell organ
0	“北京铁球小包”	34.9 \pm 0.03a (57.3)	10.9 \pm 0.00c (17.9)	15.1 \pm 0.00b (24.8)
	“津青 75”	39.5 \pm 0.06a (63.9)	15.1 \pm 0.03b (24.4)	7.2 \pm 0.03c (11.7)
1.0	“北京铁球小包”	96.8 \pm 0.03a (48.3)	52.5 \pm 0.03b (26.2)	50.9 \pm 0.06b (25.4)
	“津青 75”	115.8 \pm 0.01a (56.9)	28.2 \pm 0.03c (13.9)	59.2 \pm 0.03b (29.2)
5.0	“北京铁球小包”	211.4 \pm 0.31 a (45.8)	121.9 \pm 0.01b (26.4)	128.2 \pm 0.03b (27.8)
	“津青 75”	247.8 \pm 0.13a (52.9)	62.9 \pm 0.01c (13.4)	158.0 \pm 0.24b (33.7)

3 讨论与结论

有研究表明,蔬菜对 Cd 富集能力的品种间差异远远高于锌和铜^[8],而且芥菜、小白菜等与白菜近源的蔬菜种类均有较强的吸收 Cd 的差异性^[9];此外,还有研究表明小白菜对土壤中锌的富集在品种间也存在显著差异^[10],而 Cd 与 Zn 同属锌分族,植物对 Cd 的富集很有可能也存在品种间差异。该研究结果表明,2 个白菜品种中,在对照组以及 1.0、5.0 mg/kg Cd 浓度水平下,“北京铁球小包”对 Cd 的富集量均高于“津青 75”。

在土壤重金属污染的植物修复中,对于富集植物的要求,除了具有较强的积累能力,其对重金属的防御和抵抗能力还要强,且要求生长受抑制程度小。从亚细胞的水平上看,植物为了避免镉的毒害作用,会表现出选择性分布。近年来,关于 Cd 在植物体内亚细胞水平分布的研究结果不尽相同:Ramos 等^[11]的试验结果表明,镉在莴苣体内大部分分布在莴苣细胞壁中(63%),仅少量存在于叶绿体中(1%~4%);而 Hans 等^[12]和万敏等^[13]试验结果分别验证了大豆和小麦体内吸收的 Cd 只

有少部分在细胞壁或细胞器中,大部分 Cd 都分布在叶片和根系的原生质中。该试验结果表明,在 0、1.0、5.0 mg/kg Cd 浓度处理下,小白菜地上和地下均以细胞壁组分中 Cd 积累最多,分配比率最高,随土壤 Cd 浓度增加,细胞壁分配比率呈下降趋势,说明在低 Cd 浓度时,小白菜首先将 Cd 吸附在细胞壁中。因为重金属镉以 Cd^{2+} 离子的形式被细胞吸收,植物的细胞壁表面带有较多的无机负离子,可能会与重金属阳离子结合^[14-15],细胞壁还可以通过络合、螯合作用^[16]将镉离子沉积固定,使其处在膜外,不易向细胞内转移,细胞壁的这些作用可能是植物体提高对 Cd 的抗性作用之一。但该试验还发现小白菜细胞壁对 Cd 的吸收能力有限,高 Cd 浓度时,Cd 开始向其它亚细胞组分中转移,2 个小白菜品种,细胞器和细胞质中 Cd 的含量及分配比率随土壤 Cd 浓度的升高而升高,细胞器中分配比率升高尤为明显,但相比较而言,“津青 75”细胞器中 Cd 的分配比例高于“北京铁球小包”,而“北京铁球小包”生长受 Cd 污染的抑制较小,在 5 mg/kg Cd 浓度下,与对照相比,“北京铁球小包”和“津青 75”总干重分别降低了 11.3%和 40.12%,

“北京铁球小包”生长受 Cd 污染影响较小。

综合而言,2 个白菜品种中,“北京铁球小包”对土壤 Cd 的富集能力较强,而其吸收的镉主要积累于细胞壁中,相对而言在细胞器中积累较少,且其生长受 Cd 污染影响较小,在土壤 Cd 的植物修复中具有较强的应用潜力。

参考文献

- [1] Alexander P D, Alloway B J, Dourado A M. Genotypic variations in the accumulation of Cd, Cu, Pb and Zn exhibited by six commonly grown vegetables[J]. Environmental Pollution, 2006, 144(3): 736-745.
- [2] Brown S L, Chaney R L, Angle J S, et al. Zinc and Cadmium uptake by hyper accumulator *Thlaspi caerulescens* and metal tolerant *Silene vulgaris* grown on sludge-amended soils[J]. Environmental Science and Technology, 1995, 29: 1581-1585.
- [3] 魏成熙, 张旭. 土壤镉污染对小白菜硝酸盐含量的影响[J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2005, 27(4): 436-438.
- [4] 陈同斌, 黄泽春, 黄宇营, 等. 砷超富集植物中元素的微区分布及其与砷富集的关系[J]. 科学通报, 2003, 48(11): 1163-1168.
- [5] 李德明, 朱祝军. 镉在不同品种小白菜中的亚细胞分布[J]. 科技通报, 2004, 20(4): 278-282.
- [6] 宋阿琳, 李萍, 李兆君, 等. 镉胁迫下两种不同小白菜的生长、镉吸收及其亚细胞分布特征[J]. 环境化学, 2011, 30(6): 1075-1080.
- [7] 周卫, 汪洪, 林葆. Cd 胁迫下 Ca 对 Cd 在玉米细胞中分布及对叶绿体结构与酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 1999, 5(4): 335-340.
- [8] 林君峰, 高树芳, 陈伟平, 等. 蔬菜对土壤镉铜锌富集能力的研究[J]. 土壤与环境, 2002, 11(3): 248-251.
- [9] Brown S L, Angle J S, Chaney R L, et al. Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* grown in nutrient solutions[J]. Soil Science Society of America Journal, 1995, 59(3): 125-133.
- [10] 苏德纯, 黄焕忠. 油菜作为超级累植物修复镉污染土壤的潜力[J]. 中国环境科学, 2002, 22(1): 48-51.
- [11] 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(5): 761-767.
- [12] Hans J W, Hans J J. Subcellular distribution and chemical form of Cadmium in bean plants[J]. Plant Physiology, 1980, 65: 480-482.
- [13] 万敏, 周卫, 林葆. 镉积累不同类型的小麦细胞镉的亚细胞和分子分布[J]. 中国农业科学, 2003, 36(6): 671-675.
- [14] Sela M, Telor E, Fritz E. Localization and toxic effects of Cadmium, copper and uranium in *Azolla*[J]. Plant Physiology, 1988, 88(1): 30-36.
- [15] Hayens R J. Ion exchange properties of roots and ionic interactions within the root apoplasm: Their role in ion accumulation by plants[J]. Botanic Review, 1980, 46: 75-99.
- [16] 王宏斌, 王焕校, 文传浩, 等. 镉处理下不同小麦品种几种解毒机制探讨[J]. 环境科学学报, 2002, 22(4): 523-528.

Effect of Simulation of Cadmium Pollution on Growth, Cadmium Accumulation and Its Subcellular Distribution in Two Varieties of *Brassica pekinensis* Rupr.

HAN Chao¹, SHEN Hai-yu¹, YE Jia¹, LI Fen-xia

(1. Key Laboratory of Resource Plant in Handan, Department of Biological Science, Handan College, Handan, Hebei 056005; 2. Yongnian Department of Agriculture of Handan, Handan, Hebei 057150)

Abstract: Taking two varieties of *Brassica pekinensis* Rupr. ‘Beijing Tieqiu Xiaobao’ and ‘Jinqing 75’ as materials, by soil test, the growth, cadmium(Cd) accumulation and its subcellular distribution in two varieties of *Brassica pekinensis* Rupr. were studied. The results showed that the increasing of Cd concentration inhibited the growth of *B. pekinensis*, and compared with the control, the total dry weights of variety ‘Beijing Tieqiu Xiaobao’ and ‘Jinqing 75’ were reduced by 11.3% and 40.12% at 5 mg/kg Cd, respectively. Comparatively, the inhibited degree of Cd on variety ‘Beijing Tieqiu Xiaobao’ was lower than variety of ‘Jinqing 75’. The absorbed Cd was mainly accumulated in roots of the two varieties of *B. pekinensis*. Absorbed dose was increased with the increasing of Cd application rate. Moreover, the total Cd accumulation in variety of ‘Beijing Tieqiu Xiaobao’ were 52% and 47% higher than variety of ‘Jinqing 75’, respectively, under 1.0 and 5.0 mg/kg Cd. The distribution of Cd was more in roots of ‘Beijing Tieqiu Xiaobao’. On the whole, Cd accumulation in variety of ‘Beijing Tieqiu Xiaobao’ was higher, the distribution rate in cell organ was lower and the inhibited degree in growth was lower than those in variety of ‘Jinqing 75’. Therefore, the variety of ‘Beijing Tieqiu Xiaobao’ had stronger utilization potentiality in phytoremediation of soil Cd pollution.

Key words: *Brassica pekinensis* Rupr.; calcium; absorption and accumulation; subcellular fraction; distribution