

芹菜根对镉的累积及亚细胞和化学形态分布研究

邹 圆, 王 晓 龙, 陈 瑶 瑶, 陈 学 随, 徐 勃

(嘉兴学院 生物与化学工程学院, 浙江 嘉兴 314001)

摘 要:以芹菜品种“津南实芹 1 号”为试材,利用水培试验,对镉胁迫下芹菜生长、Cd 吸收及亚细胞分布和化学赋存形态变化进行了研究。结果表明:芹菜植株地上部在 Cd 胁迫下并没有表现出明显的受毒害症状,但在高浓度 Cd($40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)胁迫的环境下根系生长明显受到抑制。根系对 Cd 具有较强的积累能力,富集 Cd 的比例分配趋势表现为可溶性组分>细胞壁>细胞器,分析表明随着营养液中 Cd 浓度的增加,可溶性组分和细胞壁组分中 Cd 含量均显著增加,最高含量可达 $47.84 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ FW}$ 和 $113.60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ FW}$ 。Cd 浓度的变化对芹菜根组织中 Cd 化学形态分布的变化也有明显影响,当 Cd 浓度 $\leq 20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,NaCl 提取态 Cd 所占比例最高(32.45%~41.07%),说明与蛋白质、果胶酸类物质相结合或吸附的 Cd 比例较高;但当 Cd 浓度达到 $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 提取态 Cd 所占比例达到最高水平(62.30%),说明高 Cd 胁迫会造成细胞壁及质膜透性的增加,使 Cd 能以活性态存在于胞内;在所有 Cd 处理条件下 HCl 提取态 Cd 和 HAc 提取态 Cd 含量最低,说明芹菜根细胞壁中难溶性磷酸盐和草酸类物质含量较低,因而对 Cd 的固定化作用有限。

关键词:镉(Cd);芹菜;积累;化学形态;亚细胞分布

中图分类号:X 171.5;X 503.23 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)02-0031-07

随着我国经济建设的快速发展,由重金属造成的土壤环境污染问题正逐步凸显,其中镉(Cd)污染的问题显得尤为突出^[1-2]。与其它重金属相比,Cd 在环境体系中的移动性强且毒性大^[3],很容易在农产品中累积并对其产生毒害作用。如研究发现土壤中的 Cd 浓度与其在蔬菜中的含量水平间存在一定的正相关性^[4-5]。但仅利用重金属的总量分布则无法客观、全面地评估其生物有效性及对生物的毒性作用。而重金属在植株体内的迁移及其毒性作用与重金属在组织中的亚细胞分布及化学形态存在密切关

联。因此,开展重金属在植物不同器官组织中的亚细胞分布和存在形态研究有利于明晰其迁移转化机理,解释植物对其富集或耐性及解毒机制。目前有关 Cd 的活性形态、亚细胞分布及其影响已经成为研究的热点问题。如有研究发现低 Cd 累积型水稻品种其根中可溶性 Cd 的含量水平明显低于高 Cd 累积品种,而且水提取态 Cd、乙醇提取态 Cd 的含量百分比也较高 Cd 累积品种低,而盐酸和醋酸提取态 Cd 的含量则相对较高^[6-7];矿山生态型和非矿山生态型水蜈蚣草吸收的 Cd 绝大部分存在于细胞壁中,细胞器中 Cd 含量则较少^[8];对 Cd 具有耐性的大麦品种其组织细胞器中的 Cd 含量比敏感品种低,而细胞壁中的 Cd 含量水平则较敏感品种高,此外在敏感品种中 Cd 大部分是以水溶态形式存在,耐性品种中与蛋白质和果胶酸(盐)类物质相结合的 Cd 含量水平较敏感品种高,而无机和水溶态 Cd 含量则明显低于敏感品种^[9]。

目前关于蔬菜的重金属污染问题国内外已有大量研究报道,但这些研究工作更多的是侧重于对

第一作者简介:邹圆(1995-),女,江西抚州人,本科,研究方向为土壤重金属植物污染化学及农产品安全。E-mail: zouyuan132@sina.com

责任作者:徐勃(1975-),男,博士,讲师,现主要从事土壤重金属植物污染化学及农产品安全等研究工作。E-mail: xujie1688@126.com

基金项目:嘉兴市科技计划资助项目(2012AY1046);嘉兴学院重点“SRT 计划”资助项目(851715059)。

收稿日期:2016-09-26

蔬菜吸收重金属总量的调查研究。芹菜(*Apium graveolens* L.)属伞形科一二年生草本植物,在我国种植较广泛。段敏等^[10]的研究结果表明芹菜对Cd具有一定的富集能力。后续研究发现相较于地上部,芹菜根系对Cd的累积量更大^[11]。为此,该试验运用试剂逐提法和差速离心技术探究了Cd胁迫下芹菜根组织中Cd的化学形态特征和亚细胞分布,旨在为探究芹菜对Cd的适应性提供信息,同时也为蔬菜的重金属污染防治提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试芹菜品种为“津南实芹1号”。芹菜种子预先在温室内进行育苗,芹菜苗(长出6片真叶)先于1/2浓度的营养液中预培养,1周后选取长势较好且大小一致的芹菜苗移植于塑料小桶(每桶3株)改用全营养液培养,营养液配方参照文献^[3]。

1.2 试验方法

芹菜苗在全营养液体系中培养1周后开始进行Cd胁迫处理,共设5个处理组(每处理均3组重复)。Cd处理浓度依次为0、5、10、20、40 mg·L⁻¹,其中Cd以Cd(NO₃)₂形式加入。整个培养期内营养液的pH控制在5.5左右,每4d更换1次营养液并保持24h通气。培养14d后收获植株,用清水将植株根系冲洗干净,为去除根系表面吸附的Cd及其它离子再用预冷的25 mmol·L⁻¹ Na₂-EDTA溶液浸泡根系15 min^[12],随后连同地上部均用去离子水冲洗干净。清洗干净的植株分成根、茎、叶3个部分,部分新鲜根样用于Cd亚细胞组分分离及化学形态测试;其余新鲜样品(根、茎、叶)用于Cd含量分析测试。

1.3 项目测定

1.3.1 亚细胞组分分离 芹菜根组织亚细胞组分的分离和提取依照改进的差速离心法进行^[13-14]。精确称取芹菜根样品0.5000 g,先用20 mL提取液(250 mmol·L⁻¹蔗糖,50 mmol·L⁻¹ Tris-HCl(pH 7.5)和1.0 mmol·L⁻¹二硫苏糖醇(DTT))于研钵中将芹菜根组织匀浆化,浆液全部转移至50 mL离心管中,于3 000 r·min⁻¹条件下离心15 min,所得沉淀即为细胞壁组分(FI);随后上清液在15 000 r·min⁻¹条件下继续离心30 min,所得沉淀即为细胞器及膜组分(FII);最后离心所得上清液为可溶性组分(FIII)(包括细胞质及液泡),全部操作均在4℃条件下

进行。

1.3.2 镉化学结合形态分离提取 芹菜根组织中Cd形态的提取分离采用改进的化学试剂逐步提取法^[15]。将0.5000 g芹菜根样置于研钵中,加入20 mL提取剂研磨成匀浆后转入离心管,在25℃条件下进行恒温振荡浸提,18 h后离心分离(5 000 r·min⁻¹、10 min)并回收上清液。残渣再次加入等量提取剂后继续震荡提取,并每隔2 h更换1次提取剂(重复3次),合并4次的离心上清液于三角瓶中。依次采用的提取剂为80%乙醇、去离子水、1 mol·L⁻¹氯化钠(NaCl)溶液、2%醋酸(HAc)、0.6 mol·L⁻¹盐酸(HCl)。

1.3.3 样品镉含量的测定 分别称取根、茎、叶样品0.5000 g于150 mL三角瓶,利用HNO₃-HCl-HClO₄法消煮,消化完全后用1% HCl定容待测。经差速离心法和化学试剂逐步提取法分离的上清液和沉淀均转移至三角瓶,于电热板上加热至近干后,同样利用HNO₃-HCl-HClO₄法消煮、定容后待测。所有待测样品均用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-AES)(美国戴安公司,型号ICS-2000)进行Cd含量的测定,并换算成单位鲜质量的Cd含量(mg·kg⁻¹ FW)。测定结果相对标准偏差(RSD)<3%,分析误差在允许范围之内。

1.4 数据分析

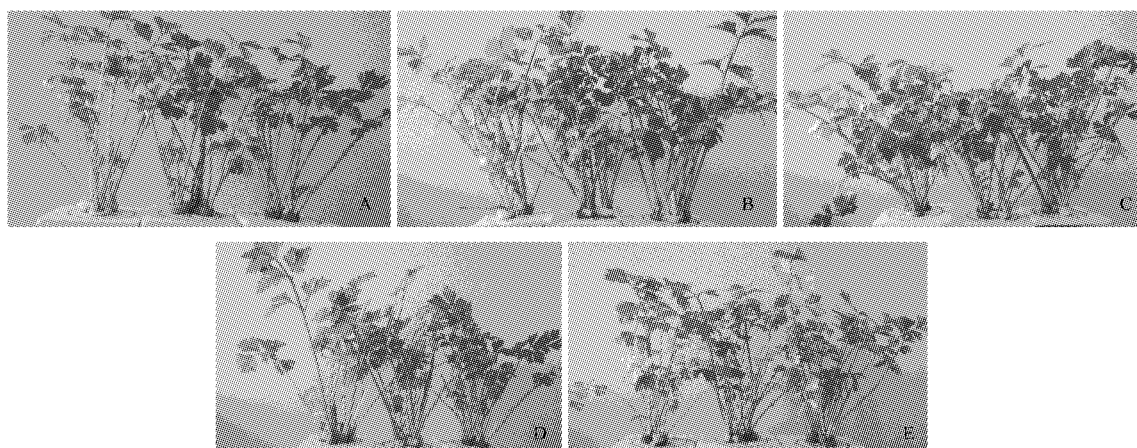
采用SPSS 13.0软件对数组间的差异显著性进行统计分析,显著性水平设定为 $\alpha=0.05$ 。试验数据均为3次重复样品测定结果的平均值±标准偏差。

2 结果与分析

2.1 镉胁迫下芹菜的外观形态特征

Cd胁迫14 d后,芹菜地上部的外观形态特征见图1,芹菜根系的形貌特征见图2。

与对照组相比较(图1A),试验过程中发现经过14 d的水培处理即使在较高Cd浓度(40 mg·L⁻¹)(图1E)的胁迫条件下,芹菜地上部的生长并没有受到明显影响。但Cd胁迫对根系生长则存在一定的影响(图2);当Cd胁迫浓度较低时(图2B、C),根系形貌特征虽无明显变化,但根系总量相对减少;随着处理Cd浓度的提高(图2D、E),芹菜根尖的褐化或黑化现象更加明显,表明根系受毒害症状进一步加剧。



注: Cd 浓度处理分别为, A 对照; B $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; C $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; D $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; E $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 下同图 2。

Note: Treatment of Cd are as following, A CK, B $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; C $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; D $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; E $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the same as Fig. 2.

图 1 Cd 处理对芹菜地上部生长的影响

Fig. 1 Effect of Cd treatment on the growth of the aerial part of celery

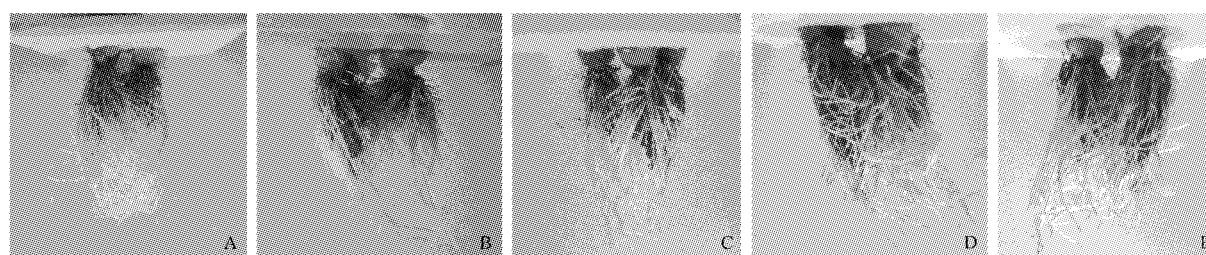


图 2 芹菜根部毒性观察

Fig. 2 Observation of Cd phytotoxicity to celery roots

2.2 芹菜不同器官中的镉累积

土壤或水环境体系中的重金属物质首先会借助根系的代谢作用进入植物体内,随后部分被根系组织截留,剩余部分则会通过根细胞间的运输作用转运至导管,最后外源重金属物质在蒸腾作用的驱动下迁移至地上部,并最终累积于果实、叶、茎中。胁迫处理 14 d 后,芹菜根、茎、叶中 Cd 含量分布结果见表 1。

表 1 不同处理条件下芹菜根、茎、叶中的镉含量

器官组织 Organs	Cd 浓度 Cd concentration/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)				$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{FW}$
	0	5	10	20	40
叶 Leaves N, D	2.42±0.51a	8.09±0.07b	11.57±1.30b	16.36±1.63c	
茎 Stems N, D	25.42±1.00a	50.24±0.58b	51.28±3.02b	65.78±4.87c	
根 Roots N, D	77.56±3.82a	94.69±4.36b	128.36±8.90c	213.06±15.00d	

注: N, D. 未检出, 不同字母表示同一器官组织不同 Cd 浓度处理间存在显著差异 ($P < 0.05$)。

Note: N, D. Not detected; different letters mean significant difference at 0.05 level among Cd treatments.

由表 1 可以看出, 经过 14 d 的水培处理, 不同浓度 Cd 胁迫处理下芹菜各器官中 Cd 含量的分布规律均表现为根 > 茎 > 叶, 根的 Cd 含量分别是茎和叶 Cd 含量的 1.9~3.2 倍和 11.7~32.1 倍。随着 Cd 胁迫浓度的逐步增大, 茎、叶中的 Cd 含量也随之升高。分析表明, 根中的 Cd 含量水平随 Cd 胁迫浓度的增大而显著增加。

2.3 芹菜根亚细胞中的镉分布

重金属污染物在亚细胞水平上进行选择性的区域分布可在一定程度上缓解或避免其对生物体的毒性作用。不同胁迫条件下, 芹菜根中 Cd 的亚细胞分布及其各部分含量所占比例见表 2。

从分配比例来看, 芹菜根组织中 Cd 的亚细胞分布均表现出一致的变化规律: Cd 含量分布最少的是细胞器(占总量的 15.48%~29.76%), 含量分布最多的是细胞可溶性组分(37.56%~59.47%), 细胞壁的 Cd 含量处于中间水平(25.05%~32.68%)。由表 2 还可以看出, 随着胁迫浓度的增大, Cd 在各亚细胞

组分的含量均有所上升。其中细胞器及膜组分中 Cd 含量变化不大,为 26.20~29.58 mg·kg⁻¹ FW。细胞壁组分中 Cd 含量的变化则表现出不同的规律:当 Cd 胁迫浓度较低(≤ 10 mg·L⁻¹)时,细胞壁组分中 Cd 含量水平变化无显著性差异;当 Cd 浓度 ≥ 20 mg·L⁻¹时,细胞壁组分中 Cd 含量则随 Cd 浓度的提高而显著增加。Cd 在根细胞可溶性组分

的含量则随 Cd 浓度的提高而显著增加,尤其是当 Cd 浓度为 40 mg·L⁻¹时,其可溶性组分中的 Cd 含量分别是 5、10、20 mg·L⁻¹ Cd 胁迫处理的 3.43、3.00、2.08 倍。总体来看芹菜根系累积的 Cd 大部分储存于胞液和细胞壁等活性较低的区域,而具有生命活动的细胞器及膜中 Cd 含量则相对较少,从而在一定程度上降低了 Cd 对细胞器的伤害。

表 2 不同胁迫条件下 Cd 在芹菜根亚细胞组分中的含量分布

Table 2 Cd contents in the subcellular fractions of celery roots under different treatments

亚细胞组分 Subcellular fraction	Cd 5 mg·L ⁻¹		Cd 10 mg·L ⁻¹		Cd 20 mg·L ⁻¹		Cd 40 mg·L ⁻¹	
	(mg·kg ⁻¹ FW)	%	(mg·kg ⁻¹ FW)	%	(mg·kg ⁻¹ FW)	%	(mg·kg ⁻¹ FW)	%
F _I	28.77±0.98a	32.68	29.85±1.00a	32.10	39.73±1.72b	32.22	47.84±0.93c	25.05
F _{II}	26.20±0.37a	29.76	26.33±0.01a	28.31	29.16±2.25b	23.64	29.58±0.88b	15.48
F _{III}	33.07±2.27a	37.56	36.82±1.81b	39.59	54.44±1.42c	44.14	113.60±2.05d	59.47

注:F_I为细胞壁组分,F_{II}为细胞器及膜组分,F_{III}为可溶性组分,表中 Cd 含量为植株鲜质量含量,不同 Cd 浓度下相同组分内不同小写字母表示浓度间存在显著差异(P<0.05)。

Note:F_I is cell wall,F_{II} is cell organ and membrane fraction,F_{III} is soluble fraction. The content of Cd in the Table is based on fresh weight of plant. Different letters within the same fraction of the different Cd level indicated significant difference at 0.05 level.

2.4 芹菜根中镉的化学形态特征

由表 3 可以看出,Cd 处理浓度为 5、10、20 mg·L⁻¹时,芹菜根系中 NaCl 提取态 Cd 含量最高,占各化学形态总量的 32.45%、41.07%、35.89%,之后是 C₂H₅OH 提取态和 H₂O 提取态;但当 Cd 胁迫浓度达到 40 mg·L⁻¹时,根系中 C₂H₅OH 提取态 Cd 所

占比例显著上升,占各形态总量的 62.30%,达到最高比例水平,而 NaCl 提取态和 H₂O 提取态比例则有所降低。在所有 Cd 胁迫条件下,HAc 提取态 Cd 和 HCl 提取态 Cd 含量最低,其中 HAc 提取态 Cd 所占各化学形态总量的比例为 1.68%~2.85%,HCl 提取态 Cd 所占比例为 0.97%~2.27%。

表 3 芹菜根中不同镉形态的分布

Table 3 Cd distribution of chemical forms in celery roots

提取形态 Extraction forms	Cd 5 mg·L ⁻¹		Cd 10 mg·L ⁻¹		Cd 20 mg·L ⁻¹		Cd 40 mg·L ⁻¹	
	(mg·kg ⁻¹ FW)	%	(mg·kg ⁻¹ FW)	%	(mg·kg ⁻¹ FW)	%	(mg·kg ⁻¹ FW)	%
F _{eth}	20.93±0.34a	27.32	21.19±0.83a	21.52	28.22±0.44b	23.35	118.81±1.78c	62.30
F _{H₂O}	15.84±0.94b	20.67	22.45±0.83c	22.80	23.62±0.25c	19.54	9.98±0.11a	5.23
F _{NaCl}	24.86±0.06a	32.45	40.43±0.92c	41.07	43.39±0.11c	35.89	32.15±0.61b	16.86
F _{HAc}	2.19±0.38a	2.85	2.62±0.15a	2.66	3.14±0.33a	2.60	3.19±0.44a	1.68
F _{HCl}	1.20±0.21a	1.57	2.24±0.05a	2.27	1.28±0.22a	1.06	1.85±0.32a	0.97
F _{res}	11.60±0.67a	15.14	9.53±0.73a	9.68	21.23±0.42b	17.56	24.72±0.74c	12.96

注:F_{eth}、F_{H₂O}、F_{NaCl}、F_{HAc}、F_{HCl}和 F_{res}分别表示 80%乙醇、去离子水、1 mol·L⁻¹氯化钠、2%醋酸、0.6 mol·L⁻¹盐酸及残渣态提取部分。不同 Cd 浓度下相同组分内不同小写字母表示浓度间存在显著差异(P<0.05)。

Note:F_{eth}、F_{H₂O}、F_{NaCl}、F_{HAc}、F_{HCl} and F_{res} represent the fractions extracted by 80% ethanol, distilled water, 1 mol·L⁻¹ NaCl, 2% HAc, 0.6 mol·L⁻¹ HCl and residue, respectively. Different letters within the same fraction of the different Cd level indicate significant difference at 0.05 level.

3 讨论

3.1 镉对芹菜生长的影响

Cd 作为植物生长的非必需元素,其在体内的累积会对植株产生一定的毒害作用。大量研究表明由于植物种类不同,因而 Cd 对植物的毒性作用会存在较大差异,甚至同一植株的不同器官组织,Cd 的毒性作用也会有所变化。相对于植株地上部,土壤或水体中的 Cd 会最先对植物的根系产生毒害作用,表现为根系出现发黑及坏死现象,进而出现水分和养分摄入功能的丧失并逐步对植株地上部的生长产生抑制作用。但由于地上部(茎、叶、果实)中 Cd 的含

量相对根系组织而言较低,所以不会产生较致命的伤害。

该试验中即使在高浓度 Cd(40 mg·L⁻¹)的胁迫作用下,芹菜苗经过 14 d 的水培处理后地上部仍没有表现出明显的受 Cd 毒害症状;但与空白对照组相比,根系生长的抑制作用却越来越明显,而且在较高 Cd 浓度的胁迫环境下(图 2 D、E),根系褐化或黑化的现象更加突出,仔细观察发现局部根尖出现膨胀甚至弯曲。其原因可能是因为在胁迫下,重金属离子能置换出根细胞壁上的 Ca 离子^[16],从而影响根细胞的分裂和伸长^[17-18]。

3.2 芹菜对镉的吸收及其累积特征

Cd 进入植物体内后,通过在根部的富集可在一定程度上限制其向地上部迁移从而提高植物对 Cd 的耐性。如研究发现对于毛葱^[14]、向日葵^[19]、红薯^[20]而言,进入体内的 Cd 基本上固定于根系组织中。该研究中芹菜不同器官中的 Cd 含量分布为根>茎>叶,与前人研究结果相似。相对于地上部而言,Cd 在芹菜根系内的过量累积可适当减少其对地上部器官组织的伤害,这是芹菜在一定条件下自我保护的一种耐受方式。但是,随着胁迫浓度的提高 Cd 在芹菜叶中的含量也显著性增加(表 1),说明在高浓度 Cd 的胁迫作用下,芹菜根系质膜透性损伤程度较大,导致根系吸收的 Cd 更容易转运到叶片。

3.3 芹菜根中镉的亚细胞分布和化学结合形态特征

3.3.1 镉在芹菜根系亚细胞中的分布特征 对植物而言,在重金属由细胞外向胞内的转运过程中细胞壁可发挥一定的屏障功能^[21]。杨亚洲等^[22]研究发现,Cd 胁迫下滨藜和碱蓬不同器官组织中 Cd 均主要累积于细胞壁;WENG 等^[23]的研究结果也表明,56%~60%的 Cd 主要累积于秋茄叶片的细胞壁上;同样对于菱蒿的根和叶,Cd 也主要累积于细胞壁中^[24]。该研究结果也表明,在不同 Cd 浓度胁迫处理条件下,芹菜根组织中的 Cd 在细胞壁中也有较大的累积量,分配比例介于 25.05%~32.68%,而且随着 Cd 暴露浓度的提高($\geq 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),细胞壁中 Cd 含量也显著增加。这主要是因为细胞壁带负电,而 Cd 离子带正电,因而较易在细胞壁处被络合而累积。而且植物细胞壁因含有大量各种多糖类、蛋白质类、果胶酸类物质而富含亲金属离子的配位基团,这些配位基团的存在对重金属离子有很好的络合作用^[25]。由于重金属在生物非代谢活性组织中的分布可以减轻其对代谢过程的干扰,从而在一定程度上缓解重金属对功能性结构单元的损伤^[26],所以重金属在植物根组织细胞壁上的沉淀、累积是植物对重金属毒性具有一定耐受甚至是抗性能力的原因之一^[27]。但对于大多数重金属的非超积累或非耐性植物而言,根细胞壁对重金属的这种截留能力有限。当外界环境体系中生物有效态重金属离子浓度处于较高水平时,根细胞壁结合重金属离子的能力已趋于极限;另一方面高浓度重金属的胁迫作用也会导致根细胞所受毒性作用的加剧,造成根细胞壁透性增大,细胞壁对重金属向胞内转运的截留能力逐步丧失,最终使得重金属离子得以更容易地向胞内进

行迁移^[28]。该研究发现,在高浓度 Cd($40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的胁迫下,芹菜根细胞可溶性组分中 Cd 的含量水平均明显增加,说明在高浓度的胁迫环境下 Cd 更容易进入根细胞的内部。细胞质和液泡为胞内主要的可溶性组分,其中液泡如同细胞壁一样,可容纳植物细胞在新陈代谢过程中产生的废物。研究发现大麦根细胞中可溶性部分的 Cd 含量占 51%^[9];三色堇根细胞可溶组分中的 Cd 含量比例也可高达 72.8%^[29]。该研究中,芹菜在高 Cd 处理($40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的条件下,Cd 在可溶组分的分配比例显著增加,达到 59.47%。这可能因为当细胞壁对 Cd 的络合能力达到极限后,跨细胞壁进入胞内的 Cd 可在一定程度上转运至液泡内,与其中的各种有机酸物质络合而达到区隔化作用^[26,30]。此外该研究还发现在所有 Cd 胁迫处理条件下,细胞器组分中的 Cd 累积量及所占比例均最小。这主要是因为细胞器属于植物细胞代谢中较活跃的组分,也最容易受到重金属的毒害作用,降低重金属在细胞器组分中的累积是提高植物对重金属耐性的一种自我调节方式。而细胞器组分中重金属含量的增加则是敏感性植物缺乏对重金属耐受能力的原因之一。

3.3.2 镉在芹菜根系中的化学形态特征 植物对重金属的累积、耐性机制与重金属在植株体内的存在形态密切相关。存在于植株各器官组织中的重金属多与胞内某些配体物质发生络合作用从而以不同的化学结合形态区域化分布,这在一定程度上能进一步弱化植物所受到的伤害。由于各形态重金属在特定化学提取剂中的溶解度差异较大,所以借助具有极性差异的提取剂可以有针对性地将植株体内各形态镉化合物加以提取分离。如利用 80%的乙醇溶液可以提取与醇溶解性蛋白质、氨基酸盐结合的 Cd;有机酸盐结合态 Cd 可用超纯水进行提取;与果胶酸盐、蛋白质结合或吸附的 Cd 可以用一定浓度的氯化钠溶液提取;磷酸盐结合态 Cd 可以用一定浓度的醋酸溶液提取;一定浓度的盐酸溶液则可提取与草酸结合的 Cd^[31]。这其中醋酸和盐酸提取态 Cd 迁移能力最弱,毒性作用最小;去离子水和乙醇提取态 Cd 的迁移能力最强,毒性作用也最大;而氯化钠提取态 Cd 迁移能力和毒性均处于中间水平。FU 等^[15]研究发现商陆根、茎、叶组织中 $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 提取态 Cd 所占比例最大;WANG 等^[27]研究发现不同 Cd 处理水平下秋茄根、茎、叶中 NaCl 及 HAc 提取态的 Cd 所占比例达到 63.6%~83.6%,其中 NaCl 提取态 Cd 所占比例最高。WU 等^[9]以大麦作为受试材

料,通过研究发现 HAc 和 HCl 提取态 Cd 在根部比例最大,NaCl 和 HAc 提取态 Cd 在小麦地上部的比例最大。王俊丽等^[32]研究发现薤菜根、茎中以 C₂H₅OH 和 NaCl 提取态 Cd 为主,叶中以 C₂H₅OH 提取态 Cd 为主。该研究结果发现,Cd 胁迫对薤菜根中 Cd 的化学形态变化存在明显的影响,当 Cd 处理浓度为 5、10、20 mg·L⁻¹时,根中 NaCl 提取态 Cd 所占百分比最大,分别占到各化学形态总量的 32.45%、41.07%和 35.89%。说明根中与果胶酸和蛋白质相结合或吸附的 Cd 所占比例较高,这主要是因为蛋白质等有机化合物中的巯基与 Cd 亲和力较强的缘故^[33],此结果与对水稻和小飞杨草的研究结果一致^[6,34]。Cd 以 NaCl 提取态形式存在于薤菜根组织中即可降低根内游离态 Cd 的含量又可使其活性降低(主要与细胞壁发生结合作用),从而可弱化 Cd 向地上部运输的能力,避免其对植株产生进一步的伤害作用,说明果胶酸、氨基酸、蛋白质等配体在减轻 Cd 对薤菜的毒害方面发挥了作用。有研究也已证实植物组织中 NaCl 提取态重金属的比例与其对重金属的耐受性之间存在较大的关联^[35]。C₂H₅OH 提取态 Cd 迁移活性最强,该研究发现当 Cd 处理水平升高到 40 mg·L⁻¹时,根系中 C₂H₅OH 提取态 Cd 所占比例显著上升并达到最高比例(62.30%)。这主要是因为薤菜属于 Cd 的非耐性植物,因而根细胞壁对 Cd 的屏蔽作用有限。当外界环境体系中 Cd 浓度过高时(40 mg·L⁻¹),其对薤菜根细胞的毒性作用将进一步加剧,造成细胞壁、原生质膜透性的增加,截留功能、选择透性遭受破坏,最终使得 Cd 离子得以更容易地以活性态存在于胞内^[28]。在所有胁迫处理条件下,HAc 和 HCl 提取态 Cd 所占百分比均处于最低水平且变化不大,说明难溶性磷酸盐和草酸类物质在薤菜根细胞壁中的含量有限。

综上所述,薤菜对 Cd 的毒害作用具有一定的适应机制,可以通过调整 Cd 在器官组织亚细胞组分中的分配加以实现。在不同浓度 Cd 处理下,薤菜根富集 Cd 的比例分配趋势表现为可溶性组分>细胞壁>细胞器,其中可溶性组分、细胞壁组分中 Cd 含量水平随 Cd 浓度的增大而显著提高,表明薤菜根细胞壁和可溶性组分对 Cd 的区隔化作用可在一定程度上降低 Cd 对新陈代谢活跃部位(如细胞核、线粒体等)的伤害。Cd 浓度变化会对薤菜根中 Cd 化学形态的分布变化产生一定的影响,当 Cd 胁迫浓度≤20 mg·L⁻¹时,根系中 NaCl 提取态 Cd 所占比例最高,说明根中与果胶酸和蛋白质相结合或吸附的 Cd

含量较高;但当 Cd 处理水平升高到 40 mg·L⁻¹时,C₂H₅OH 提取态 Cd 所占比例达到最高水平,说明高浓度 Cd 胁迫会造成细胞壁、原生质膜透性增加,部分 Cd 最终以活性态存在于胞内;在所有 Cd 处理条件下 HCl 提取态 Cd 和 HAc 提取态 Cd 含量最低,说明薤菜根细胞壁中难溶性磷酸盐和草酸类物质含量较低,因而对 Cd 的固定化作用有限。

参考文献

- [1] 余德彪,王建平,徐乐,等.中国镉资源现状分析及可持续发展建议[J].中国矿业,2015,24(4):5-8.
- [2] 王燕燕,何加芬,徐岷,等.华中某省农村妇女膳食中的镉暴露调查分析[J].中国食品卫生杂志,2016,28(1):89-93.
- [3] 徐劫,保积庆.薤菜根细胞壁对镉的吸附固定机制及其 FTIR 表征研究[J].环境科学学报,2015,35(8):2605-2612.
- [4] 刘杨,张薇,吉普辉,等.沈阳张士灌区六种蔬菜的镉污染[J].生态学杂志,2011,30(6):1229-1233.
- [5] 丁平,庄萍,李志安,等.镉在土壤-蔬菜-昆虫食物链的传递特征[J].应用生态学报,2012,23(11):3116-3122.
- [6] 于辉,杨中艺,杨知建,等.不同类型镉积累水稻细胞镉化学形态及亚细胞和分子分布[J].应用生态学报,2008,19(10):2221-2226.
- [7] 李枝.Cd 胁迫下杂交水稻不同部位 Cd 的化学形态和亚细胞分布研究[D].成都:四川农业大学,2009.
- [8] HAO X Q,LI T X,YU H Y,et al. Cd accumulation and subcellular distribution in two ecotypes of *Kyllinga brevifolia* Rottb as affected by Cd treatments[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2015 (22):7461-7469.
- [9] 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,2005,60:1437-1446.
- [10] 段敏,马往校,李岚.17 种蔬菜中铅铬镉元素含量分析研究[J].干旱区资源与环境,1999,13(4):74-80.
- [11] 廖琴,王胜利,南忠仁,等.干旱区绿洲土壤中 Cd、Pb、Zn、Ni 复合污染对薤菜的影响及其富集迁移规律[J].干旱区资源与环境,2011,25(7):173-177.
- [12] DU R J,HE E K,TANG Y T,et al. How phytohormone IAA and chelator EDTA affect lead uptake by Zn/Cd hyperaccumulator *Picris divaricate*[J]. International Journal of Phytoremediation,2011(13):1024-1036.
- [13] GEFFARD A,SARTELET H,GARRICC J,et al. Subcellular compartmentalization of cadmium,nickel,and lead in *Gammarus fossarum*: comparison of methods[J]. Chemosphere,2010,78:822-829.
- [14] 邹金华,张忠贵,魏爱琪.毛葱的镉吸收积累及亚细胞分布特征[J].天津师范大学学报(自然科学版),2014,34(1):72-77.
- [15] FU X P,DOU C M,CHEN Y X,et al. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Phytolacca americana* L. [J]Journal of Hazardous Materials,2011,186:103-107.
- [16] GODBOLD D L,KETTNER C. Lead influences root growth and mineral nutrition of *Picea abies* seedlings[J]. Journal of Plant Physiology, 1991,139:95-99.
- [17] EUN S O,YOUN H S,LEE Y S. Lead disturbs microtubule organization in the root meristem of *Zea mays*[J]. Physiologia Plantarum,

2000,110,357-365.

[18] MALKOWSKI E, KITA A, GALAS W, et al. Lead distribution in corn seedlings (*Zea mays* L.) and its effect on growth and the concentrations of potassium and calcium[J]. Plant Growth Regulation, 2002, 37: 69-76.

[19] CORNU J Y, BAKOTO R, BONNARD O, et al. Cadmium uptake and partitioning during the vegetative growth of sunflower exposed to low Cd^{2+} concentrations in hydroponics[J]. Plant and Soil, 2016(1): 1-13.

[20] HUANG B F, XIN J L, DAI H W, et al. Identification of low-Cd cultivars of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) after growing on Cd-contaminated soil: uptake and partitioning to the edible roots[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2015(22): 11813-11821.

[21] 刘清泉, 陈亚华, 沈振国, 等. 细胞壁在植物重金属耐性中的作用[J]. 植物生理学报, 2014, 50(5): 605-611.

[22] 杨亚洲, 张春华, 郑青松, 等. 碱蓬和滨藜对镉和钠吸收、转运及亚细胞分布特性的比较研究[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(4): 619-626.

[23] WENG B S, XIE X Y, WEISS D J, et al. *Kandelia obovata* (S., L.) yong tolerance mechanisms to cadmium: Subcellular distribution, chemical forms and thiol pools[J]. Marine Pollution Bulletin, 2012, 64: 2453-2460.

[24] 董萌, 赵运林, 库文珍, 等. 菱蒿对镉的富集特征及亚细胞分布特点[J]. 植物学报, 2013, 48(4): 381-388.

[25] 郑绍建. 细胞壁在植物抗营养逆境中的作用及其分子生理机制[J]. 中国科学(生命科学), 2014, 44(4): 334-341.

[26] 周守标, 徐礼生, 吴龙华, 等. 镉和锌在皖景天细胞内的分布及

化学形态[J]. 应用生态学报, 2008, 19(11): 2515-2520.

[27] WANG X, LIU Y G, ZENG G M, et al. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Beckmannia nivea* (L.) Gaud[J]. Environmental and Experimental Botany, 2008, 62: 389-395.

[28] SHARMA P, DUBEY R S. Lead toxicity in plants[J]. Brazilian Journal of Plant Physiology, 2005(17): 35-52.

[29] 白雪, 陈亚慧, 耿凯, 等. 镉在三色堇中的积累及亚细胞与化学形态分布[J]. 环境科学学报, 2014, 34(6): 1600-1605.

[30] ZHANG J, TIAN S K, LU L L, et al. Lead tolerance and cellular distribution in *Elsholtzia splendens* using synchrotron radiation micro-X-ray fluorescence[J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 197: 264-271.

[31] 陆仲烟, 刘仲齐, 宋正国, 等. 大麦中镉的亚细胞分布和化学形态及 PCs 合成的基因型差异[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(11): 2125-2131.

[32] 王俊丽, 任建国. 镉在不同类型蕹菜 (*Ipomoea aquatica* Forsk.) 中的积累及其化学形态和分子分布[J]. 生态学杂志, 2014, 33(6): 1594-1600.

[33] ALARCON A L, MADRID R, ROMOJARO F, et al. Calcium forms in leaves of muskmelon plants grown with different calcium compounds[J]. Journal of Plant Nutrition, 1998(21): 1897-1912.

[34] 钟海涛, 潘伟斌, 张太平, 等. 小飞杨草 (*Euphorbia thymifolia* L.) 中镉的亚细胞分布及化学形态[J]. 环境保护科学, 2013, 39(3): 50-54.

[35] HE S Y, WU Q L, HE Z L. Effect of DA-6 and EDTA alone or in combination on uptake, subcellular distribution and chemical form of Pb in *Lolium perenne*[J]. Chemosphere, 2013, 93: 2782-2788.

Accumulation, Subcellular Distribution and Chemical Forms of Cadmium in Celery (*Apium graveolens* L.) Roots

ZOU Yuan, WANG Xiaolong, CHEN Yaoyao, CHEN Xuesui, XU Jie

(College of Biological, Chemical Sciences and Engineering, Jiaxing University, Jiaxing, Zhejiang 314001)

Abstract: A hydroponics experiment combined with subcellular fractionation and sequential extraction was conducted to study the Cd concentration in different organs of celery and the Cd subcellular distribution and chemical forms in the roots with different Cd doses in nutrient solution. The results showed that no apparent injuries could be observed in the aerial part of celery. However, root growth was restrained greatly under high Cd treatment. The roots demonstrated high accumulation capacity of Cd, the Cd subcellular distribution was in the order of soluble fraction > cell wall > organelle. In addition, the Cd content in both the soluble fraction ($47.84 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ FW}$ to the at most) and the cell wall ($113.60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ FW}$ to the at most) showed increasing trend with elevated Cd supply. Chemical forms of Cd in root changed with the Cd concentration as well. When the Cd concentration in solution was less than or equal to $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the NaCl-extractable Cd was the highest (32.45%—41.07%), which indicated that the combination of Cd with protein and pectic acid might play the dominant role; when Cd supply level was up to $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ -extractable Cd was the highest (62.30%), which suggested that because of the high concentration of Cd stress, the cell wall and the membrane permeability increased, so the Cd ions were active in the cell, the HCl-extractable Cd and HAc-extractable Cd were the lowest under all Cd treatments, which indicated that the content of insoluble phosphate and oxalic acid in celery root cell wall was supposed to be relatively lower, contributing to the limited immobilization of Cd.

Keywords: cadmium (Cd); celery (*Apium graveolens* L.); accumulation; chemical form; subcellular distribution