



文章栏目: 水污染防治

DOI 10.12030/j.cjee.202110072 中图分类号 X703.1 文献标识码 A

郑萌盟, 谭艾娟, 吕世明, 等. 耐镉浮萍筛选、鉴定及其对镉的富集效果[J]. 环境工程学报, 2022, 16(2): 471-480. [ZHENG Mengmeng, TAN Aijuan, LV Shiming, et al. Screening, identification and enrichment effects of cadmium-tolerant duckweeds[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2022, 16(2): 471-480.]

## 耐镉浮萍筛选、鉴定及其对镉的富集效果

郑萌盟<sup>1</sup>, 谭艾娟<sup>1</sup>, 吕世明<sup>2</sup>, 冯丹<sup>1</sup>, 杨潇<sup>1</sup>, 罗菲<sup>1</sup>, 杨贵利<sup>1,3</sup>✉

1. 贵州大学生命科学学院/农业生物工程研究院, 山地植物资源保护与种质创新教育部重点实验室, 贵州省农业生物工程重点实验室, 贵阳 550025; 2. 贵州大学动物科学学院, 贵阳 550025; 3. 中国科学院地球化学研究所环境地球化学国家重点实验室, 贵阳 550025

**摘要** 近年来, 水体镉污染日益严峻, 筛选超富集植物用于其治理具有重要意义。本研究以 90 个浮萍株系为实验材料, 采用  $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的镉处理 7 d, 获得 7 个镉耐受优势株系。通过 Blast 比对和构建系统发育树鉴定这 7 个浮萍株系的种属, 确定为 *Spirodela polyrhiza*、*Lemna japonica*、*Lemna minor* 和 *Landoltia punctata*。通过低质量浓度 ( $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和高质量浓度 ( $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 镉处理 7 d, 进一步比较和研究了 7 个优势株系对镉的富集效果。结果表明, 低浓度镉处理后, 5 个株系的镉富集量超过  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ; 高浓度镉处理后, 7 个浮萍株系的镉富集量超过  $1200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 生物富集系数大于 120, 对水体中镉的去除率高于 70%。其中, 4 号株系 (*L. japonica*) 为本次筛选出的最佳株系, 其镉富集量、生物富集系数和对水体中镉的去除率分别达到  $2834.30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、283.43 和 82.50%。  
**关键词** 浮萍; 重金属镉; 品种鉴定; 超富集植物; 水体污染

近年来, 随着工业化进程的不断加快, 镉 (Cd)、汞 (Hg) 和铅 (Pb) 等重金属的污染问题愈加严重<sup>[1]</sup>。其中, 水体镉污染尤为严峻, 我国部分江河湖泊受到不同程度的镉污染<sup>[2]</sup>。例如, 龙江河发生的严重镉污染事件, 水体的镉含量超标 80 倍<sup>[3]</sup>。安宁河镉含量最高曾达  $0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 远远超过国家地表水 V 类标准 (GB 3838-2002)<sup>[4]</sup>。海河总镉含量也曾超过地表水 II 类标准的 16.7%~83.9%<sup>[5]</sup>。水体中的镉不仅能直接通过饮用水进入人体, 还会通过富集于水生动植物中再经食物链累积, 最终通过饮食被摄入人体。进入人体的镉会沉积在骨骼、皮肤和肾脏等组织中, 进而造成组织器官的损伤甚至癌变, 严重影响人体健康<sup>[6-9]</sup>。因此, 水体镉污染的治理至关重要。

去除水体重金属的方法常见的有物理方法、化学方法和生物方法<sup>[10]</sup>。与物理、化学方法相比, 生物修复方法具有低成本、无二次污染、高效率等优点<sup>[11]</sup>。其中, 植物修复技术通过超富集植物从污染水体中摄取重金属并将其富集在体内, 从而实现对污染水体的修复<sup>[12]</sup>, 具有巨大发展潜力。决定植物修复技术修复重金属污染效果和应用价值的最关键之处, 是找到合适的重金属超富集植物<sup>[13]</sup>。通常, 重金属超富集植物是指富集后重金属含量能超过  $1000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (干质量) 的植物, 而重金属含量仅需超过  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (干质量) 则可被定义为镉超富集植物<sup>[14]</sup>。

浮萍, 由于生长速度快、污染物去除效率高, 是一种理想的污染水体修复材料和研究污染物

收稿日期: 2021-10-15; 录用日期: 2021-12-20

基金项目: 国家自然科学基金青年资助项目 (32001203); 国家自然科学基金地区科学基金资助项目 (31760749); 贵州省科技支撑计划项目 (黔科合支撑 [2018]2276); 贵州大学人才引进项目 (贵大人基合字 [2019]60)

第一作者: 郑萌盟 (1998—), 女, 硕士研究生, [zmm18073198235@163.com](mailto:zmm18073198235@163.com); ✉通信作者: 杨贵利 (1991—), 女, 博士, 副教授, [glyang3@gzu.edu.cn](mailto:glyang3@gzu.edu.cn)

胁迫理论的模式植物<sup>[15]</sup>。浮萍共有5属36个种,生长速度快,其生物量每16~24 h增加1倍,有利于前期的育种扩繁<sup>[16-17]</sup>。浮萍是形态最简单的开花水生植物,仅有叶状体和根,可以避免离子的长距离运输,离子转运效率极高<sup>[18]</sup>。浮萍能在温度为10~40 ℃、pH为5.0~9.0条件下生长,环境适应能力强<sup>[19-20]</sup>。浮萍对Cu、Zn、Cd、Pb等重金属都有一定富集和耐受能力<sup>[21-22]</sup>,并在采集收获、加工应用等方面表现出较大优势,已受到广泛关注<sup>[23]</sup>。

然而,有关浮萍在重金属耐受和富集方面的研究目前都还主要集中在少数品种上,缺乏系统的研究<sup>[21,24-29]</sup>。多根紫萍(*Spirodela polyrrhiza*)对镉非常敏感,其相对生长速率和光合色素含量在1 μmol·L<sup>-1</sup>的镉胁迫7 d后显著降低,被认为是一种具有开发应用价值的重金属指示物<sup>[24-25]</sup>。而少根紫萍(*Landoltia punctata*)在3 mg·L<sup>-1</sup>的镉处理10 d后,富集系数和对水体中镉的去除率分别可达到770和72.43%,具有明显的高富集优势<sup>[26]</sup>。由此可见,由于基因型不同,不同种属的浮萍对重金属镉的富集效果差异较大。因此,比较不同浮萍种属间镉富集效果的差异,筛选最适合的浮萍品种,对进一步应用植物修复技术具有现实意义。

本研究为筛选出最适于治理水体镉污染的浮萍品种,通过30 mg·L<sup>-1</sup>镉处理7 d初筛90株浮萍株系,以叶片颜色变化为判断标准,获得7株优势浮萍株系。对该7株浮萍株系进行了种属鉴定和进一步复筛,在0.5 mg·L<sup>-1</sup>(低质量浓度)和10 mg·L<sup>-1</sup>(高质量浓度)镉浓度下处理7 d,比较了7株浮萍株系的生长速率、叶绿素含量、对镉的富集效果和去除率,以期筛选出对镉富集效果最佳的浮萍品种,为今后利用最佳浮萍品种治理水体镉污染提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 浮萍材料和预培养

实验所用90株浮萍材料来源于贵州大学生命科学学院浮萍种质资源库。实验处理前,采用Hoagland培养液(含1.5%蔗糖)对资源库保存的浮萍株系进行预培养<sup>[30]</sup>。培养条件为温度25 ℃、光暗比16 h:8 h、湿度75%、光照强度为5 000 lx,培养时间为7 d。预培养后,挑选出生长状态良好的浮萍进行后续的实验处理。表1为初筛获得的7个优势浮萍株系材料的基本信息。

### 1.2 实验试剂和仪器

试剂: CdCl<sub>2</sub>标准溶液(北京北方伟业,北京), 巯基乙醇(Aladdin, 上海), CTAB(Aladdin, 上海), 95%乙醇, 浓硝酸, 核酸提取液(Acmec, 上海), 异丙醇(Aladdin, 上海), Taq酶(Trans Taq DNA Polymerase High Fidelity, 北京), 培养基组分参见Hoagland培养说明<sup>[30]</sup>。

仪器: 人工气候培养箱(Thermo GXZ-80, 美国), 超净台(孚夏SW-CJ-1D, 浙江), 灭菌锅(ZEALWAY DR60DA; 美国), pH仪(雷磁pHS-3C, 上海), 离心机(平凡TGL-205, 湖南), PCR仪(Thermo T100, 美国), 水平电泳仪(JUNYI JY1600C, 北京), 火焰原子分光光度计(Analytik Jena AG NovaAA 400P, 德国), 控温式远红外消煮炉(四平LWY84B, 吉林)。

### 1.3 实验处理和样品收集

1) 浮萍初筛。将90株浮萍在25 ℃、光暗比为16 h:8 h、湿度75%、光照强度5 000 lx的条件下用30 mg·L<sup>-1</sup> CdCl<sub>2</sub>处理7 d, 以浮萍叶片颜色变化为筛选指标进行初筛, 叶片颜色变化较小的浮萍为优势株系。

表1 浮萍株系编号和采集信息

Table 1 Duckweed species number and collection place

| 株系编号 | 采集地    | 经纬度                    |
|------|--------|------------------------|
| 1    | 北京市昌平区 | E116°42'47" N40°10'92" |
| 2    | 贵阳市花溪区 | E106°39'23" N26°26'59" |
| 3    | 贵阳市花溪区 | E106°39'57" N26°26'49" |
| 4    | 北京市昌平区 | E116°42'47" N40°10'92" |
| 5    | 重庆市大足区 | E105°51'1" N29°27'48"  |
| 6    | 重庆市大足区 | E105°45'28" N29°27'57" |
| 7    | 重庆市大足区 | E105°45'23" N29°27'55" |

2) 浮萍复筛实验处理。将预培养得到的浮萍材料按相同质量接种至含有  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{CdCl}_2$  的 1/5 Hoagland 培养基进行培养，以不含镉的 1/5 Hoagland 培养基为对照组。培养时间为 7 d，7 d 后收集样品进行后续分析。

3) 样品收集。7 d 后，取各组培养液 50 mL，以  $3\ 500 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min，取上清液置  $4\ ^\circ\text{C}$  冰箱待测；用流动的自来水、超纯水依次冲洗浮萍，滤纸吸干水分后记录鲜质量，于  $60\ ^\circ\text{C}$  烘箱中过夜烘干磨粉。称取 0.1 g 浮萍粉末于消解管中，加入 2 mL 浓硝酸过夜，再加入 4 mL 浓硝酸充分混匀，于  $280\ ^\circ\text{C}$  消解 4 h。每次消解均设置空白对照，以消除此过程产生的误差。消解完毕后，用去离子水将消解管中剩余冷却至室温的消解液全部洗出，定容至 50 mL 待分析；称取 0.5 g 新鲜浮萍样品于 15 mL 离心管中，于  $-20\ ^\circ\text{C}$  冷冻 1 h，加入 10 mL 预热至  $50\ ^\circ\text{C}$  的乙醇 (浓度为 95%)，充分混匀后暗置 3 h，收集上清液用于测定叶绿素含量。

#### 1.4 指标检测与数据处理

1) 分子生物学鉴定种属。CTAB 法提取浮萍 DNA<sup>[31]</sup>，叶绿体 *atpF-atpH* 间隔序列由引物 *atpF* ( $5'\text{-ACTCGCACACACTCCCTTTCC-3}'$ ) 和引物 *atpH* ( $5'\text{-GCTTTTATGGAAGCTTAAACAAT-3}'$ ) 扩增，*rpS16* 内含子序列由引物 *rpS16F* ( $5'\text{-AAACGATGTGGTARAAAGCAAC-3}'$ ) 和引物 *rpS16R* ( $5'\text{-AACATCWATTGCAASGATTCGATA-3}'$ ) 扩增，PCR 所用 DNA 聚合酶为高保真 Taq 酶，反应程序为： $95\ ^\circ\text{C}$  预热 5 min， $94\ ^\circ\text{C}$  变性 30 s， $50\ ^\circ\text{C}$  退火 30 s， $72\ ^\circ\text{C}$  延伸 45 s，30 个循环。引物合成和测序由北京擎科公司完成。通过 NCBI Blast 比对和 MegaX 构建系统发育树鉴定浮萍株系的种属。

2) 相关指标的计算方法。植物生长速率根据式 (1) 计算；使用火焰原子分光光度计测定浮萍及培养液中重金属镉含量<sup>[26]</sup>，再根据式 (2) 计算镉含量；浮萍对水体中镉的去除率根据式 (3) 计算；生物富集系数 (bioconcentration factors, BCF) 是植物组织与水环境中重金属的浓度比，反映了浮萍对重金属镉的富集能力，是常用的超富集植物评价指标<sup>[32]</sup>，生物富集系数根据式 (4) 计算；叶绿素 a 含量和叶绿素 b 含量分别根据式 (5) 和式 (6) 计算。

$$v = \Delta m / t \quad (1)$$

式中： $v$  为植株生长速率， $\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ ； $\Delta m$  为浮萍培养前后鲜质量变化， $\text{g}$ ； $t$  为浮萍培养周期， $\text{d}$ <sup>[33]</sup>。

$$w = (C_1 - C_2) V / m \quad (2)$$

式中： $w$  为单位重量样品中镉含量， $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ； $C_1$ 、 $C_2$  分别为样品消解液中镉含量和空白消解液镉质量浓度， $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ； $V$  为样品消解液总体积， $\text{mL}$ ； $m$  为消解时称取干粉总质量， $\text{g}$ 。

$$R_r = \frac{(C_0 - C_t)}{C_0} \times 100\% \quad (3)$$

式中： $C_0$ 、 $C_t$  分别为初始镉质量浓度及处理结束后残留镉质量浓度， $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

$$R_{\text{BCF}} = C_p / C_w \quad (4)$$

式中： $R_{\text{BCF}}$  为生物富集系数； $C_p$  为植物中镉的质量浓度， $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ； $C_w$  为培养溶液中镉的质量浓度， $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

$$C_{\text{chla}} = 12.7A_1 - 2.69A_2 \quad (5)$$

$$C_{\text{chlb}} = 22.9A_1 - 4.68A_2 \quad (6)$$

式中： $C_{\text{chla}}$ 、 $C_{\text{chlb}}$  分别为叶绿素 a、叶绿素 b 的质量浓度， $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ； $A_1$  和  $A_2$  分别为叶绿素溶液在 663 nm 和 645 nm 处的吸光度，根据提取液中的叶绿素浓度，换算成每克鲜叶中叶绿素含量， $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

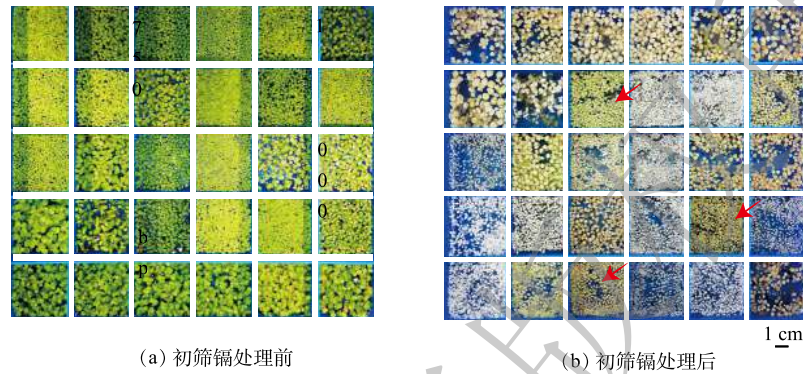
#### 1.5 实验数据统计分析

采用 Excel 和 GraphPad Prism 6.0 软件进行数据处理，采用 Multiple t tests 法进行分析比较。数据均为平均值  $\pm$  SD，重复 3 次。与对照组比较，\* 表示在  $P < 0.05$  水平下差异显著，\*\* 表示在  $P < 0.01$  水平下差异显著。

## 2 结果与讨论

### 2.1 浮萍初筛结果

90个浮萍株系经过  $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  镉处理 7 d 后, 有 7 个株系叶片颜色变化较小, 仍然保持绿色, 生长状况受镉影响较小。因此, 初步确定以上 7 个浮萍株系为镉耐受优势株系, 整体的浮萍株系耐受率为 7.78%。图 1 为部分筛选结果, 红色箭头所指的浮萍株系为经过镉处理前后叶片仍然保持绿色的株系, 为初筛的优势株系。



(a) 初筛镉处理前

(b) 初筛镉处理后

图 1 初筛镉处理前后对比

Fig. 1 Comparison of duckweed species before and after Cd treatment in the preliminary screening process

### 2.2 浮萍种属鉴定

图 2 为 PCR 扩增的凝胶电泳图, *atpF-atpH* 间隔序列长度在 600~700 bp, *rpS16* 内含子序列长度在 1 000~1 100 bp。根据 NCBI Blast 比对 (表 2), 确定了 7 个优化浮萍的种属, 包括 3 个属 4 个种。7 个浮萍中, 1 号株系为 *Spirodela polyrhiza*, 2 号和 3 号株系为 *Lemna minor*, 4 号和 5 号株系为 *Lemna japonica*, 6 号和 7 号株系为 *Landoltia punctata*。根据 *atpF-atpH* 序列比对结果, 最高相似性达到了 99.70%, 为 4 号株系; 最低相似性达到了 97.25%, 为 7 号株系。根据 *rpS16* 序列比对结果, 最高相似性达到了 99.70%, 为 6 号株系; 最低相似性达到了 94.80%, 为 4 号和 5 号株系。7 个浮萍株系与参考序列 Blast 比对整体相似性较高。

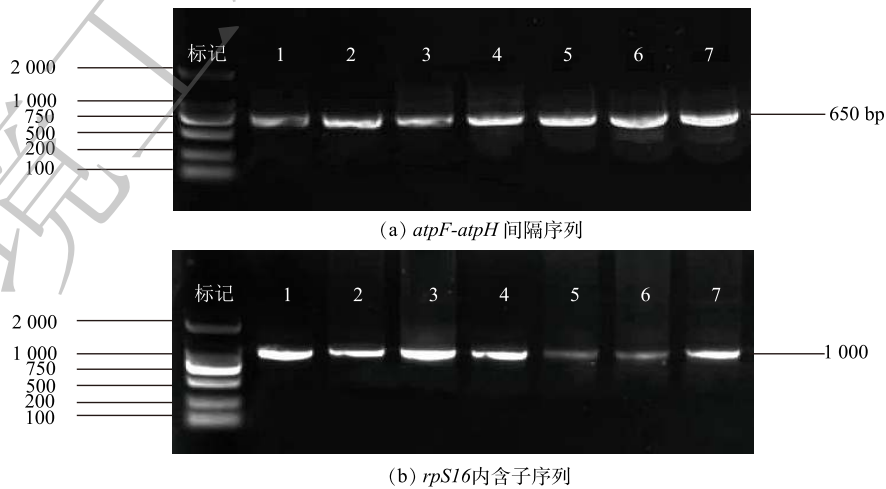
(a) *atpF-atpH* 间隔序列(b) *rpS16* 内含子序列图 2 7 个浮萍株系 *atpF-atpH* 序列和 *rpS16* 序列 PCR 扩增的凝胶电泳图

Fig. 2 Gel electrophoresis of 7 duckweed strains *atpF-atpH* and *rpS16* sequences amplified by PCR

表 2 7 个浮萍 Blast 种属鉴定结果  
Table 2 Species identification of 7 duckweed strains by Blast

| 株系编号 | atpF-atpH 比对序列 | atpF-atpH 序列相似性/% | rpS16 比对序列 | rpS16 序列相似性/% | 种属                         |
|------|----------------|-------------------|------------|---------------|----------------------------|
| 1    | MN419335       | 99.28             | KJ503285   | 99.69%        | <i>Spirodela polyrhiza</i> |
| 2    | KX212888       | 99.00             | KX212891   | 99.38%        | <i>Lemna minor</i>         |
| 3    | KX212888       | 98.49             | KX212891   | 99.69%        | <i>Lemna minor</i>         |
| 4    | KJ921747       | 99.70             | EU568887   | 94.80%        | <i>Lemna japonica</i>      |
| 5    | KJ921747       | 99.11             | EU568887   | 94.80%        | <i>Lemna japonica</i>      |
| 6    | KJ630555       | 99.30             | KJ503327   | 99.70%        | <i>Landoltia punctata</i>  |
| 7    | KJ630555       | 97.25             | KJ503327   | 99.60%        | <i>Landoltia punctata</i>  |

根据 *atpF-atpH* 间隔序列、*rpS16* 序列和拼接序列通过 Mega-X 构建系统发育树 (图 3)，1 号株系与 *S. polyrhiza* 聚为一类；2 号、3 号株系与 *L. minor* 聚为一类；根据拼接序列系统发育树，4 号、5 号株系与 *L. japonica* 聚为一类；6 号、7 号株系与 *L. punctata* 聚为一类。系统发育树的聚类结果与 Blast 比对结果一致。

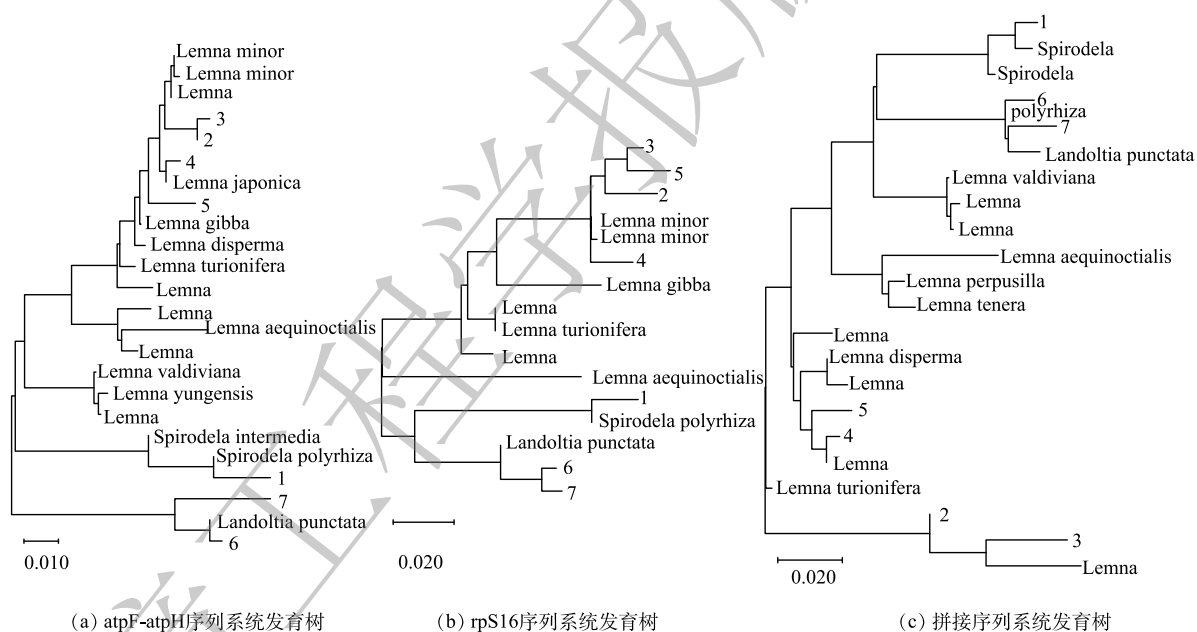


图 3 7 个浮萍株系的系统发育树

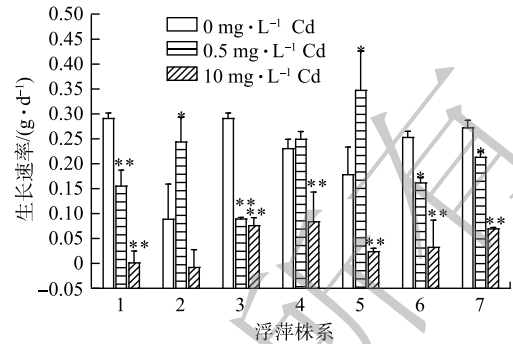
Fig. 3 Phylogenetic trees of 7 duckweed strains

### 2.3 不同镉浓度下浮萍的生长速率

由图 4 可以看出，在低浓度镉处理后，7 个浮萍株系均可正常生长。其中，2 号和 5 号株系的平均生长速率甚至高于对照组。这可能与植物内生菌能促进植物生长和提高植物解毒能力有关<sup>[34-35]</sup>。在高浓度镉处理后，2 号株系生长受到抑制，而其余 6 个浮萍株系仍能继续生长，但生长速率均降低。这与 KHAN 等<sup>[27]</sup>的研究结果一致，即  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  是浮萍耐受镉的最大质量浓度，超过后浮萍生长会受到抑制。唐利萍等<sup>[26]</sup>的研究表明，浮萍的镉最适生长质量浓度为  $0\sim 0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，在  $0.5\sim 10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  镉胁迫下造成的氧化损伤超过了浮萍自身解毒能力，导致浮萍的生长受到抑制，这也支持了本研究的结果。

#### 2.4 不同镉浓度下浮萍的叶绿素含量

在低浓度镉处理7 d后,除了3号和6号株系,其他株系叶绿素 a 含量未出现明显下降。在高浓度镉处理7 d后,除7号株系外,其他株系叶绿素 a 含量均降低,其中3号株系下降最多,降低了97.70% ( $P < 0.01$ ) (图 5(a))。在低浓度镉处理后,包括1号、4号和7号在内的3个株系叶绿素 b 含量未出现明显下降。在高浓度镉处理后,7个株系叶绿素 b 含量全部降低 (图 5(b))。在低浓度镉处理后,2号株系叶绿素 a 含量与叶绿素 b 含量的比值升高。在高浓度镉处理后,2号、4号、5号和7号株系叶绿素 a 含量与叶绿素 b 含量的比值升高,表明此4个株系叶绿素 a 降幅小于叶绿素 b,叶绿素 b 含量受镉胁迫影响更大 (图 5(c))。在低浓度镉处理后,包括1号、4号和7号在内的3个株系总叶绿素含量未明显下降。在高浓度镉处理后,7个株系总叶绿素含量都呈现下降的趋势。3号株系与对照组相比总叶绿素含量下降最多,降低了96.99% ( $P < 0.001$ ) (图 5(d))。



注: \*表示差异显著性水平  $P < 0.05$ , \*\*表示差异显著性水平  $P < 0.01$ 。

图 4 7个浮萍株系在不同镉浓度处理后的生长速率  
Fig. 4 The growth rates of 7 duckweed strains under different Cd treatments

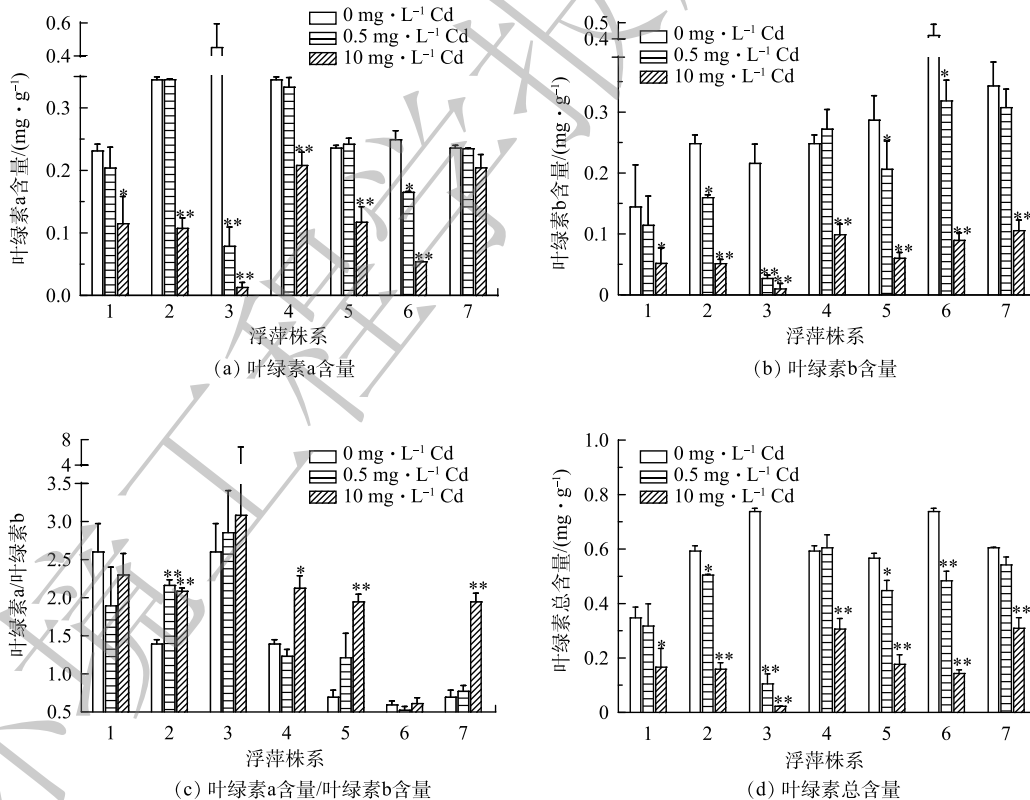


图 5 7个浮萍株系在不同镉浓度处理后叶绿素含量的变化

Fig. 5 Changes in chlorophyll content of 7 duckweed strains under different Cd treatments

镉对浮萍叶绿素含量的影响结果表明:在  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  镉胁迫下,7个浮萍株系中叶绿素含量变化不大;在  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  镉胁迫下,叶绿素含量随生长速率一同下降,表明  $0.5 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  镉不仅能抑制浮萍的生长,也能降低浮萍叶绿素含量。有研究<sup>[36]</sup>表明,镉作为非生物胁迫因素,能刺激植物

产生氧化应激作用。随着镉浓度升高，植物体内积累的活性氧自由基不断增多，诱导膜脂质过氧化，从而破坏叶绿素膜结构，这可能是导致本研究高浓度镉处理后叶绿素含量下降的原因<sup>[37-38]</sup>。值得注意的是，在7个优势株系中，4号株系 (*L. japonica*) 和7号株系 (*L. punctata*) 浮萍在低浓度镉和高浓度镉胁迫下仍保持较高的叶绿素含量且较为稳定，在一定程度上能维持自身正常生理生化活动，有耐受镉胁迫的巨大潜力。

## 2.5 不同镉浓度下浮萍的镉富集效果

如图6(a)所示，在低浓度镉处理7d后，3号、4号、5号、6号和7号株系镉富集量均大于 $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，达到了镉超富集植物的标准<sup>[13]</sup>；在高浓度镉处理后，7个株系的镉富集量均超过 $1200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，均远远超过超富集植物马缨丹 (*Lantana camara L.*) 的最大富集量 ( $423 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )<sup>[39]</sup>，也超过了水生超富集植物有翅星蕨 (*Microsorium pteropus*) 的最大富集量 ( $1160.72 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )<sup>[40]</sup>。目前，已发表文献<sup>[26]</sup>中的植物最高镉富集量为  $2544.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。本研究中的3号和4号株系分别可达  $3259.55 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  和  $2834.30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，均超过目前已知植物的最高镉富集量。

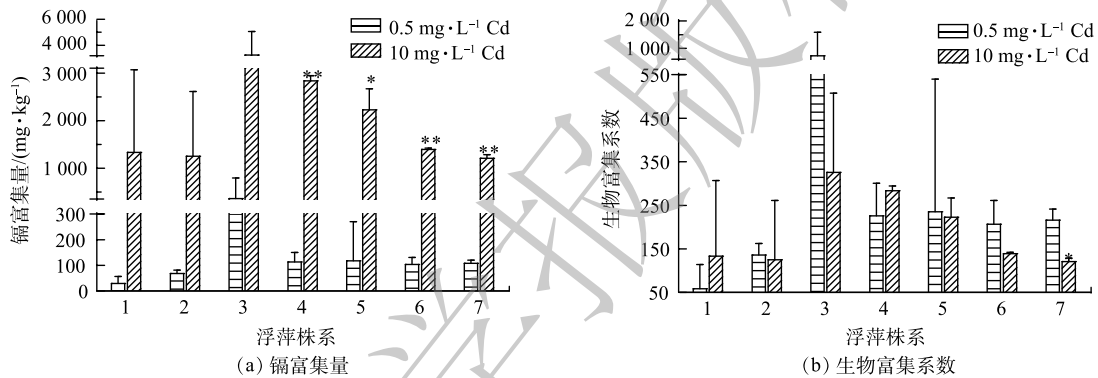


图6 7个浮萍株系在不同镉浓度处理后镉富集量和生物富集系数

Fig. 6 The cadmium concentration and bioconcentration factor of 7 duckweed strains under different Cd treatments

生物富集系数是用来衡量植物富集能力的重要指标，也是鉴定超富集植物的标准之一<sup>[32]</sup>。一般来说，BCF大于1表明植物能从环境中吸收并富集重金属，可使环境中的重金属浓度低于植物体内重金属浓度<sup>[4,41]</sup>。由图6(b)可看出，7个浮萍株系在低浓度镉和高浓度镉处理后的BCF均大于50，远远高于超富集植物马缨丹 (*L. camara*)<sup>[39]</sup>、多裂翅果菊 (*Pterocypsela laciniata*)<sup>[42]</sup> 和忍冬 (*Lonicera japonica Thunb*)<sup>[43]</sup> 的最大BCF(3.14、4.55和25.41)。其中，4号株系BCF变化不大，维持在200~300，在低浓度镉和高浓度镉胁迫下富集能力仍然保持稳定。综上所述，7个浮萍株系在高浓度镉处理后富集量大于 $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，表明浮萍是一种优良的镉超富集植物。此外，4号株系 (*L. japonica*) 受镉影响较小，在低浓度镉和高浓度镉胁迫下仍能维持较大的BCF，在镉污染水体修复方面具有更广泛的实际应用价值。

## 2.6 不同镉浓度下浮萍对水体中镉的去除率

由图7可以看出，在低浓度镉处理后，4号株系对水体中镉的去除率最高，为75.00%；在高浓度镉处理后，7个浮萍株系对水体中镉的去除率均高于70%。其中，3号和4号株系

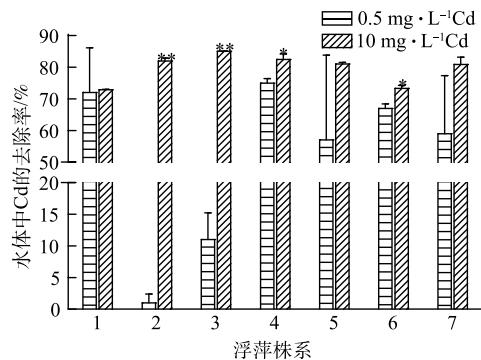


图7 7个浮萍株系在不同镉浓度处理后对水体中镉的去除率

Fig. 7 Cd removal rates of 7 duckweed strains under different cadmium treatments

对水体中镉的去除率分别为 85.05% 和 82.50%，去除效果较好。在其他水生植物对水体中镉的去除研究中，茭白 (*Zizania latifolia Turcz.*) 在处理 6 d 后仅能去除水体中 50% 的镉<sup>[44]</sup>，超富集植物有翅星蕨 (*M. pteropus*) 在 10 mg·L<sup>-1</sup> 镉处理 7 d 后对水体中镉的去除率为 39.12%~53.99%<sup>[45]</sup>。在相同处理时长下，大叶珍珠草 (*Micranthemum umbrosum S.F Blake*) 对水体中镉的去除率最高为 70.4%<sup>[46]</sup>，低于本研究结果。在另一项有关浮萍去除镉的研究中，经 3 mg·L<sup>-1</sup> 镉处理同样时长，浮萍对水体中镉的去除率最高为 72.43%<sup>[26]</sup>，低于本研究中 10 mg·L<sup>-1</sup> 镉处理后 7 个株系对水体中镉的去除率。以上结果说明，在相同处理条件或处理时长下，浮萍与其他水生植物相比，镉耐受和富集能力更为突出<sup>[29]</sup>，表明浮萍是一种可用于去除水体重金属镉污染且效果良好的水生植物。在国内外的研究中，浮萍中的绿萍属 (*Lemna*) 和少根紫萍属 (*Landoltia*) 对水体中镉的最高去除率均在 70% 以上<sup>[27,40]</sup>。本实验中的 7 个浮萍株系在高浓度镉胁迫后对水体中镉的去除率也保持在了 70% 以上，3 号和 4 号株系对水体中镉的去除率分别达到了 85.05% 和 82.50%，最高富集量和最大 BCF 分别为 3 259.55 mg·kg<sup>-1</sup> 和 727.05。这表明初筛、品种鉴定和复筛的筛选系统与普通的少数品种筛选相比具有明显的优势。

目前国内外关于 *L. japonica* 的研究较少，有关其在水体重金属富集与去除方面的研究更是鲜有报道。4 号和 5 号株系作为 *L. japonica*，在高浓度镉胁迫下，镉富集量分别为 2 834.30 mg·kg<sup>-1</sup> 和 2 226.06 mg·kg<sup>-1</sup>，对水体中镉的去除率分别达到了 82.50% 和 81.00%，具有优良的镉耐受和富集效果，为 *L. japonica* 在应用于重金属污染水体修复方面提供了基础。在本研究中，4 号株系 (*L. japonica*) 在镉胁迫下不仅能维持自身正常生长，还拥有优良的镉富集能力，在去除水体镉方面效果显著，是本研究筛选出的最优株系。

### 3 结论

1) 经过 0.5 mg·L<sup>-1</sup> 镉处理 7 d 后，3 号、4 号、5 号、6 号和 7 号 5 个浮萍株系的镉富集量均大于 100 mg·kg<sup>-1</sup>，生物富集系数均超过 50；在 10 mg·L<sup>-1</sup> 镉处理 7 d 后，7 个株系的镉富集量均超过 1 200 mg·kg<sup>-1</sup>，对水体中镉的去除率均高于 70%。上述结果表明浮萍是一种镉超富集植物。

2) 在经 10 mg·L<sup>-1</sup> 镉处理后，*L. japonica* 品种的镉富集量超过了 2 200 mg·kg<sup>-1</sup>，对水体中镉的去除率超过了 80.00%，表明其具有优良的镉耐受和富集特性。

3) 4 号株系在经过 0.5 mg·L<sup>-1</sup> 和 10 mg·L<sup>-1</sup> 镉处理后，其生物富集系数分别为 226.15 和 283.43，对水体中镉的去除率分别为 75.00% 和 82.50%；在 10 mg·L<sup>-1</sup> 镉胁迫后，镉富集量达 2 834.30 mg·kg<sup>-1</sup>，是本研究筛选出的用于修复水体镉污染的最优株系。

### 参 考 文 献

- [1] 周建军, 周桔, 冯仁国. 我国土壤重金属污染现状及治理战略[J]. 中国科学院院刊, 2014, 29(3): 315-320.
- [2] 毛智勇, 李大勇, 龙迪勇, 等. 重金属污染与生态修复问题研究——以江西省新余市为例[J]. 鄱阳湖学刊, 2013, 3: 5-15.
- [3] 王俊能, 赵学敏, 胡国成, 等. 广西龙江鱼类镉含量分布特征及生物积累特性分析[J]. 环境科学, 2019, 40(1): 488-495.
- [4] 朱泊丞, 施泽明, 王新宇, 等. 安宁河水体中重金属空间分布特征及来源识别[J]. 四川冶金, 2018, 40(4): 24-31.
- [5] 朱映川, 刘雯, 周遗品, 等. 水体重金属污染现状及其治理方法研究进展[J]. 广东农业科学, 2008, 8: 143-146.
- [6] CHENG C H, MA H L, DENG Y Q, et al. Oxidative stress, cell cycle arrest, DNA damage and apoptosis in the mud crab (*Scylla paramamosain*) induced by cadmium exposure[J]. *Chemosphere*, 2021, 263: 128277.
- [7] PAITHANKAR J G, SAINI S, DWIVEDI S, et al. Heavy metal associated health hazards: An interplay of oxidative stress and signal transduction[J]. *Chemosphere*, 2021, 262: 128350.
- [8] PINHEIRO J E G, MORAES P Z, RODRIGUEZ M D, et al. Cadmium exposure activates NADPH oxidase, renin-angiotensin system and cyclooxygenase 2 pathways in arteries, inducing hypertension and vascular damage[J]. *Toxicology letters*, 2020, 333: 80-89.
- [9] THÉVENOD F, CHAKRABORTY P K. The role of wnt/beta-catenin signaling in renal carcinogenesis: Lessons from cadmium toxicity studies[J]. *Current Molecular Medicine*, 2010, 10(4): 387-404.



- [10] 张坤, 罗书. 水体重金属污染治理技术研究进展[J]. *中国环境管理干部学院学报*, 2010, 20(3): 62-64.
- [11] 魏欢欢. 重金属污染水体生物修复治理技术[J]. *化工管理*, 2020, 30: 100-101.
- [12] SALT D E, BLAYLOCK M, KUMAR N P, et al. Phytoremediation: A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants[J]. *Biotechnology (N Y)*, 1995, 13(5): 468-474.
- [13] LI J T, GURAJALA H K, WU L H, et al. Hyperaccumulator plants from China: A synthesis of the current state of knowledge[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(21): 11980-11994.
- [14] KÜPPER H, LEITENMAIER B. Cadmium-accumulating plants[J]. *Metal Ions in Life Sciences*, 2013, 11: 373-393.
- [15] EKPERUSI A O, SIKOKI F D, NWACHUKWU E O. Application of common duckweed (*Lemna minor*) in phytoremediation of chemicals in the environment: State and future perspective[J]. *Chemosphere*, 2019, 223: 285-309.
- [16] BAEK G, SAEED M, CHOI H K. Duckweeds: Their utilization, metabolites and cultivation[J]. *Applied Biological Chemistry*, 2021, 64(1): 73.
- [17] YANG G L, FENG D, LIU Y T, et al. Research progress of a potential bioreactor: Duckweed[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(1).
- [18] DUFF R B. The occurrence of apiase in *Lemna* (duckweed) and other angiosperms[J]. *Biochemical Journal*, 1965, 94(3): 768-772.
- [19] 王兴利, 吴晓晨, 王晨野, 等. 水生植物生态修复重金属污染水体研究进展[J]. *环境污染与防治*, 2020, 42(1): 107-112.
- [20] 种云霄, 胡洪营, 钱易. pH及无机氮化合物对细脉浮萍生长的影响[J]. *生态学报*, 2003, 11: 2293-2298.
- [21] 李菲菲. 重金属元素铅(Pb)和镉(Cd)对浮水植物紫背浮萍(*Spirodela polyrrhiza*)的毒理学效应研究[D]. 南京: 南京师范大学, 2016.
- [22] 李玥. 镉、铜、锌对四种水生植物的毒性效应[D]. 长春: 东北师范大学, 2007.
- [23] 崔姜伟, 崔卫华, 郝春博. 浮萍在环境保护领域的应用研究进展[J]. *环境工程*, 2015, 33(S1): 306-309.
- [24] CHEN D, ZHANG H, WANG Q, et al. Intraspecific variations in cadmium tolerance and phytoaccumulation in giant duckweed (*Spirodela polyrrhiza*) [J]. *Journal of hazardous materials*, 2020, 395: 122672.
- [25] ROLLI N M, SUVARNAKHANDI S S, MULGUND G S, et al. Biochemical responses and accumulation of cadmium in *Spirodela polyrrhiza* [J]. *Journal of Environmental Biology*, 2010, 31(4): 529-532.
- [26] 唐利萍, 方扬, 靳艳玲, 等. 重金属镉超富集浮萍品种筛选及其对水体中镉的去除效果[J]. *应用与环境生物学报*, 2015, 21(5): 830-836.
- [27] KHAN M A, WANI G A, MAJID H, et al. Differential bioaccumulation of select heavy metals from wastewater by *Lemna minor* [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2020, 105(5): 777-783.
- [28] WANG X, ZHANG B, WU D, et al. Chemical forms governing Cd tolerance and detoxification in duckweed (*Landoltia punctata*) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 207: 111553.
- [29] CHAUDHURI D, MAJUMDER A, MISRA A K, et al. Cadmium removal by *Lemna minor* and *Spirodela polyrrhiza* [J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2014, 16(7-12): 1119-1132.
- [30] HOAGLAND D R, Davis A R. The composition of the cell sap of the plant in relation to the absorption of ions [J]. *Journal of General Physiology*, 1923, 5(5): 629-646.
- [31] 李荣华, 夏岩石, 刘顺枝, 等. 改进的CTAB提取植物DNA方法[J]. *实验室研究与探索*, 2009, 28(9): 14-16.
- [32] DOUCETTE W J, SHUNTHIRASINGHAM C, DETTENMAIER E M, et al. A review of measured bioaccumulation data on terrestrial plants for organic chemicals: Metrics, variability, and the need for standardized measurement protocols [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2018, 37(1): 21-33.
- [33] NAUMANN B, EBERIUS M, APPENROTH K J. Growth rate based dose-response relationships and EC-values of ten heavy metals using the duckweed growth inhibition test (ISO 20079) with *Lemna minor* L. clone St [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164(12): 1656-1664.
- [34] KHAN AR, ULLAH I, WAQAS M, et al. Host plant growth promotion and cadmium detoxification in *Solanum nigrum*, mediated by endophytic fungi [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, 136: 180-188.
- [35] HALIM M A, RAHMAN M M, MEGHARAJ M, et al. Cadmium immobilization in the rhizosphere and plant cellular detoxification: role of plant-growth-promoting rhizobacteria as a sustainable solution [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(47): 13497-13529.
- [36] YANG G L, ZHENG M M, TAN A J, et al. Research on the mechanisms of plant enrichment and detoxification of cadmium [J]. *Biology (Basel)*, 2021, 10(6).
- [37] 宇克莉, 孟庆敏, 邹金华. 镉对玉米幼苗生长、叶绿素含量及细胞超微结构的影响 [J]. *华北农学报*, 2010, 25(3): 118-123.
- [38] 朱志勇, 郝玉芬, 李友军, 等. 镉对小麦旗叶叶绿素含量及籽粒产量的影响 [J]. *核农学报*, 2011, 25(5): 1010-1016.
- [39] LIU S, ALI S, YANG R, et al. A newly discovered Cd-hyperaccumulator *Lantana camara* L [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 371: 233-242.
- [40] LAN X Y, YAN Y Y, YANG B, et al. Subcellular distribution of cadmium in a novel potential aquatic hyperaccumulator - *Microsorium pteropus* [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 248: 1020-1027.
- [41] ZHANG C, ZHANG P, MO C, et al. Cadmium uptake, chemical forms, subcellular distribution, and accumulation in *Echinodorus osiris Rataj* [J]. *Environmental Science Processes & Impacts*, 2013, 15(7): 1459-1465.
- [42] ZHONG L, LIN L, LIAO M, et al. Phytoremediation potential of *Pterocypselia laciniata* as a cadmium hyperaccumulator [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2019,

- 26(13): 13311-13319.
- [43] LIU Z, HE X, CHEN W, et al. Accumulation and tolerance characteristics of cadmium in a potential hyperaccumulator-*Lonicera japonica* Thunb[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 169(1-3): 170-175.
- [44] 单丹, 黄宝成, 冯华军, 等. 两种水生植物对镉净化潜能研究[J]. *科技通报*, 2012, 28(7): 173-175.
- (责任编辑: 曲娜)
- [45] 兰心宇, 王军军, 阎蕴运, 等. 水生植物有翅星蕨(*Microsorium pteropus*)对镉的超富集能力及抗性生理研究[J]. *中国科学: 生命科学*, 2017, 47(10): 1113-1123.
- [46] ISLAM M S, UENO Y, SIKDER M T, et al. Phytofiltration of arsenic and cadmium from the water environment using *Micranthemum umbrosum* (J. F. Gmel) S. F. Blake as a hyperaccumulator[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2013, 15(10): 1010-1021.

## Screening, identification and enrichment effects of cadmium-tolerant duckweeds

ZHENG Mengmeng<sup>1</sup>, TAN Aijuan<sup>1</sup>, LV Shiming<sup>2</sup>, FENG Dan<sup>1</sup>, YANG Xiao<sup>1</sup>, LUO Fei<sup>1</sup>, YANG Guili<sup>1,3,\*</sup>

1. Key laboratory of Plant Resources Conservation and Germplasm Innovation in Mountainous Region (Ministry of Education), Guizhou Key Lab of Agro-Bioengineering, College of Life Sciences/Institute of Agro-bioengineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. College of Animal Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 3. State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550025, China

\*Corresponding author, E-mail: glyang3@gzu.edu.cn

**Abstract** In recent years, the cadmium pollution in water has become severe, and it is of great significance to screen hyperaccumulators for its treatment. In this study, 90 duckweed strains were taken as experimental materials and treated with  $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  cadmium for 7 days, then 7 cadmium-tolerant dominant strains were obtained. Through Blast comparison and construction of phylogenetic trees, the species of these 7 duckweed strains were identified as *Spirodela polyrhiza*, *Lemna japonica*, *Lemna minor* and *Landoltia punctata*. After treatment with low concentration ( $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) and high concentration ( $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) cadmium for 7 days, the enrichment effects of 7 dominant strains were further studied and compared. Under low concentration cadmium treatment, the cadmium concentration of 5 duckweed strains exceeded  $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Under high concentration cadmium treatment, the cadmium concentration of 7 duckweed strains exceeded  $1\ 200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . The bioconcentration factors were higher than 120, and the water cadmium removal rates were higher than 70%. Among them, 4 duckweed strain (*L. japonica*) was the best strain selected in this study, and its cadmium concentration, bioconcentration factor and water cadmium removal rate reached  $2834.30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 283.43 and 82.50, respectively.

**Keywords** duckweed; heavy metal cadmium; species identification; hyperaccumulators; water pollution