

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2016.02.2015090201

吴朝波, 王蕾, 郭建春, 等. 镉在海雀稗体内的分布及化学形态特征[J]. 环境化学, 2016, 35(2): 330-336

WU Chaobo, WANG Lei, GUO Jianchun, et al. Distribution and chemical forms of Cd in *PASPALUM VAGINATUM* SW. [J]. Environmental Chemistry, 2016, 35(2): 330-336

## 镉在海雀稗体内的分布及化学形态特征\*

吴朝波<sup>1,2</sup> 王蕾<sup>1,3</sup> 郭建春<sup>1</sup> 符少萍<sup>1</sup> 刘姝<sup>1</sup> 李瑞梅<sup>1</sup> 江行玉<sup>2</sup> 段瑞军<sup>1\*\*</sup>

(1. 中国热带农业科学院/热带生物技术研究所, 海口, 571101; 2. 海南大学农学院, 海口, 570228,  
3. 海南大学园艺园林学院, 海口, 570228)

**摘 要** 通过盆栽试验,研究了不同浓度(0、1、10、50、100、200 mg·kg<sup>-1</sup>)镉处理下,海雀稗地上部与地下部的生物量受镉胁迫的影响及其体内镉的富集特征,进一步分析低镉处理(1 mg·kg<sup>-1</sup>)和高镉处理(50 mg·kg<sup>-1</sup>)镉在海雀稗根、茎、叶中的化学形态及根、叶中镉的亚细胞分布特征.结果表明,镉浓度≤50 mg·kg<sup>-1</sup>,海雀稗地上部、地下部生物量和耐性系数都未显著下降,海雀稗根部对镉的积累远大于地上部分;海雀稗根系细胞壁中镉含量分配比例>50%,其次为可溶部分,高镉处理中细胞壁、可溶部分中镉的分配比例比低镉处理增加6.14%、0.32%,细胞膜部分和原生质体部分镉分配比例下降;海雀稗镉形态主要为氯化钠、醋酸提取态,高镉处理降低了毒性较高的水提取态和乙醇提取态的比例总和,根中氯化钠和盐酸提取态,茎、叶中醋酸提取态、氯化钠提取态增加.研究表明,海雀稗中毒性较低、活性较弱的盐酸提取态、醋酸提取态和氯化钠提取态 Cd 分配比例增加,根中细胞壁固持和液泡区隔化可能是海雀稗应对镉胁迫的重要耐性机制.

**关键词** 海雀稗, 镉胁迫, 化学形态, 亚细胞分布.

## Distribution and chemical forms of Cd in *PASPALUM VAGINATUM* SW.

WU Chaobo<sup>1,2</sup> WANG Lei<sup>1,3</sup> GUO Jianchun<sup>1</sup> FU Shaoping<sup>1</sup> LIU Jiao<sup>1</sup>  
LI Ruimei<sup>1</sup> JIANG Xingyu<sup>2</sup> DUAN Ruijun<sup>1\*\*</sup>

(1. Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, China Academy of Tropical Agricultural Science, Haikou, 571101, China;  
2. College of Agriculture, Hainan University, Haikou, 570228, China; 3. College of Chemistry and Chemical Engineering,  
Hainan University, Haikou, 570228, China)

**Abstract:** A pot experiment was conducted to investigate the effects of stress responses of Cd and accumulation to Cd for the biomass in the root and leaf of *Paspalum vaginatum* Sw. with different Cd treatments (0, 1, 10, 50, 100, 200 mg·kg<sup>-1</sup>). Further analysis was conducted for the chemical forms of Cd in the root, stem and leaf of *Paspalum vaginatum* Sw., and the subcellular distribution of Cd in root and leaf with two different levels of Cd treatment. The results showed that the biomass and tolerance index of the root and leaf in *Paspalum vaginatum* Sw. did not reduce significantly when Cd concentration in solution was below 50 mg·kg<sup>-1</sup>. Most of the accumulated Cd was enriched in the cell wall and soluble fraction. The proportion of Cd located in cell wall is above 50% with the treatment of 50 mg·kg<sup>-1</sup>. The proportion of Cd in cell wall of root, soluble fraction and cell wall of leaf was increased and the proportion of Cd in cytomembrane of root and leaf was reduced. The chemical

2015年9月2日收稿(Received: September 2, 2015).

\* 中央公益性科研院所基本科研业务专项基金(ITBB2015ZD03, 1630052015038); 海南省重大科技专项(ZDZX2013023-1)资助.

**Supported by** the Central Level, Non-profit, Scientific Research Institutes for Basic R&D Operations Special Fund Program(ITBB2015ZD03, 1630052015038); Major Technology Project of Hainan (ZDZX2013023-1).

\*\* 通讯联系人: Tel: 13648614000; E-mail: lshjz6@163.com

**Corresponding author:** Tel: 13648614000, E-mail: lshjz6@163.com

forms. were FNaCl and FHAC. The Cd accumulation percentages in FNaCl and HAC extractable fractions decreased with the treatment of  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , whereas FNaCl and HCl in root and HAC and FNaCl in leaf were increased. It indicated that, the Cd accumulation percentages in FHCl, HAC and FNaCl extractable fractions increased. Therefore, cell wall binding of root and vacuolar compartmentalization were supposed to be the main tolerance mechanisms to Cd for *Paspalum vaginatum* Sw. with Cd stress.

**Keywords:** *Paspalum vaginatum* Sw, Cd, chemical form, subcellular distribution.

镉是植物生长的非必需元素,其毒性、迁移能力较强,易通过植物富集,是对动物及人体危害最严重的重金属元素之一.镉与汞、砷、铅、铬一起被称为环境污染的“五毒元素”<sup>[1-2]</sup>.镉的分布较为广泛,地壳中镉的平均含量为  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,同时也是我国土壤无机污染中超标率最高的金属<sup>[3-4]</sup>.近年来,利用植物修复镉污染土壤成为研究的热点,对镉污染土壤植物修复效果较好的植物大概有 10 余种,主要集中在十字花科、禾本科植物<sup>[5]</sup>.研究植物中镉的亚细胞分布及化学形态能为植物对重金属的富集和解毒机制提供必要信息,关于重金属在植物亚细胞中的分布和存在的化学形态人们做了诸多研究.王明新<sup>[6]</sup>等研究表明,各主要贮存于可溶部分,根系中的镉主要以乙醇提取态存在,叶片中镉主要以去离子水提取态和氯化钠提取态存在.赵晖等<sup>[7]</sup>研究表明,镉在甜高粱中主要富集于细胞壁上,其化学形态主要以醋酸提取态及盐酸提取态为主.Küpper 等<sup>[8]</sup>研究表明镉、铜主要分布于拟南芥的细胞壁中.郭天荣等<sup>[9]</sup>研究表明铝主要以毒性较小的酸溶性铝和腐殖酸铝存在,根际镉则主要以残留态形式存在.这些研究表明,植物中重金属在亚细胞中的分布与存在的化学形态与植物种类和金属元素有关.

海雀稗为多年生禾本科植物,多生长于滨海沙滩上,具有极强的耐旱、耐荫、耐湿、耐盐碱能力,是草坪、饲料及盐碱地改良的多用途草种<sup>[10-12]</sup>,是非常经典的抗逆研究材料.本实验室通过短期盆栽试验发现海雀稗有较强的镉耐性<sup>[13]</sup>;通过浓度梯度试验表明海雀稗在镉浓度为  $0-50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  范围内生长无差异,且能在  $0-200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  下完成生活史,具有极强的镉耐性能力.

本文以海雀稗为材料,研究镉对海雀稗生物量的影响及海雀稗对镉的富集特征,同时利用化学试剂逐步提取法和差速离心技术研究镉在海雀稗根、茎、叶中的结合形态及细胞内的亚细胞分布特征,旨在探索海雀稗对镉的积累特征和耐性机理,为利用该植物修复镉污染土壤提供科学依据.

## 1 材料与方法 (Materials and methods)

### 1.1 试验材料

海雀稗,采自文昌市铺前镇潭揽村潭榄桥入海口.培养基质为(土:沙:有机质 = 1:1:1),pH 6.53,基质中镉背景值为  $0.51 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ .

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 试验材料处理

本研究于 2015 年 3 月初在中国热带农业科学院热带生物技术研究所内进行,设置 6 个镉浓度,3 次重复.使用  $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$  水溶液处理培养基质,使土壤的镉浓度分别为 0、10、50、100、200  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,装入泡沫箱(60 cm×45 cm×25 cm),静置 1 周;2015 年 3 月 10 日将海雀稗截取 2 个茎段(长约 5 cm),3 个芽点,扦插于已处理好的土壤中,浇 1 次透水,使土壤的含水量达到田间最大含水量的 80%—90%,70 d 后,测定其生物量、镉含量、镉形态等.试验期间在早上 6:00—7:00 间土壤温度较低时进行浇水,每隔 20 d 浇 1 次 1/4 Hoagland 营养液,同时表层土壤 1—2 cm 发白时补浇自来水,使土壤含水量保持在 60%—70%.

#### 1.2.2 生物量测定

分别取 3 株各镉浓度处理的海雀稗,用去离子水冲洗干净,将地下部与地上部分开,在 105 °C 杀青 20 min,于 80 °C 烘干至恒重,称取地下部与地上部干重.

#### 1.2.3 镉含量测定

将样品于 80 °C 烘干至恒重,称取样品 0.5 g,置于 100 mL 聚四氟乙烯材料的微波消解罐中,加入

4 mL硝酸(北化 65% BV-III 微电子级)和 2 mL 双氧水(北化 30% BV-III 微电子级),密封,进行消化处理.将消解后的溶液移至石英试管中,在天平上定重至 20 g,摇匀待测,利用原子吸收光谱仪检测镉含量.亚细胞分离与化学形态提取后的样品,上清液定容过滤后直接测定镉含量,残渣和沉淀部分微波消解后测定镉含量.

#### 1.2.4 海雀稗根系和叶片亚细胞分离

采用 Wu 等<sup>[14]</sup>和 Li 等<sup>[15]</sup>的方法分离根系、叶片亚细胞组分,取出预处理好的冷冻海雀稗根系,称取 1 g 根,加入 10 mL 提取液(200 mmol·L<sup>-1</sup>蔗糖+1 mmol·L<sup>-1</sup>二硫赤藓糖醇+50 mmol·L<sup>-1</sup>+Tris-HCl 缓冲液(pH7.5)),于钢化玻璃中冰浴研磨至匀浆,迅速转移到 50 mL 离心管,在高速冷冻离心机中 300 r·min<sup>-1</sup>离心 30 min,沉淀为细胞壁和残渣(F1);得到上清液以 2500 r·min<sup>-1</sup>(根)1500 r·min<sup>-1</sup>(叶)离心 20 min,沉淀部分为原生质体(根)和叶绿素(叶)(F2);上清液再以 15000 r·min<sup>-1</sup>离心 35 min,沉淀为细胞膜(F3),最后上清液为可溶部分(F4).所有步骤在 4 °C 下操作.

#### 1.2.5 海雀稗体内镉化学形态分析

采用不同化学试剂逐步提取法,参照 Wang 等<sup>[16]</sup>和白雪等<sup>[17]</sup>的方法上改进,称取烘干至恒重的海雀稗各部位(根、茎、叶)各 0.5 g 于 100 mL 离心管中,加入提取剂,样品与提取剂的比例为 1:100,在 25 °C 浸泡 22 h 后,25 °C 振荡 1 h,于 5000 r·min<sup>-1</sup>离心 10 min,倒出上清液,再加入 10 mL 提取剂,振荡 1 h,5000 r·min<sup>-1</sup>离心 10 min,倒出上清液,合并两次上清液于 150 mL 的三角瓶中,电炉上蒸发近干,微波消解,检测镉含量.采用以下 5 种提取剂逐步连续提取:80%乙醇(FE)、去离子水(FW)、1 mol·L<sup>-1</sup>氯化钠(FNaCl)、2%醋酸(FHAc)、0.6 mol·L<sup>-1</sup>的盐酸(FHCl)、最后为残渣态(Fres);不同化合物提取不同形态的化合物:乙醇提取硝酸盐、氯化物为主的无机盐及氨基酸盐结合态的重金属;去离子水提取水溶性的一代磷酸盐和有机酸盐结合态的重金属;氯化物主要提取果胶酸盐等吸附态的重金属等;醋酸提取二代正磷酸盐、正磷酸盐等难溶于水的重金属磷酸盐;盐酸提取较难溶的重金属草酸盐等.

#### 1.3 数据分析

耐性指数=镉处理植物生物量/对照植物的生物量×100%;富集系数=地上部镉含量/土壤中镉含量;转移系数=地上部镉含量/地下部镉含量;根冠比=地下部干重/地上部干重×100%.

实验数据用 Excel 2003 整理实验数据、绘制图标;用 SPSS13.0 进行方差分析和多重比较,于  $P<0.05$  水平进行统计显著性检验.

## 2 结果与讨论(Results and discussion)

### 2.1 镉胁迫对海雀稗生物量的影响

植物生物量直接影响其对重金属的修复效果,重金属处理下植物生物量未显著下降是满足富集植物的条件之一,因而生物量可以作为对重金属耐性的间接指标<sup>[18]</sup>.镉胁迫对海雀稗生物量的影响(表 1).

表 1 不同镉处理下海雀稗的生长指标( $n=3$ )

Table 1 Growth index of *Paspalum vaginatum* Sw under different Cd treatments ( $n=3$ )

镉浓度 Cd Concentration/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	地下部 Root (RT)		地上部 Stem and leave (SL)		根冠比 Root top ratio (RTR)/%	相对增量 Relative increases (RI)/%	耐性指数 Tolerance index (TI)
	干重	相对增量	干重	相对增量			
	Dry weight/g	RI/%	Dry weight/g	RI/%			
0	0.321±0.029 ab	—	4.598±0.162 a	—	6.982±0.474 b	—	—
1	0.338±0.020 a	5.30	4.543±0.167 a	-1.19	7.463±0.687 b	6.88	0.994±0.066 a
10	0.314±0.006 ab	-2.18	4.353±0.189 a	-5.34	7.216±0.438 b	3.35	0.95±0.068 a
50	0.300±0.008 b	-6.54	3.977±0.386 a	-13.51	7.567±0.473 b	8.37	0.871±0.055 a
100	0.236±0.021 c	-26.48	2.887±0.615 b	-37.20	7.502±1.381 b	7.44	0.704±0.137 b
200	0.148±0.007 d	-53.89	1.504±0.192 c	-67.29	9.931±0.858 a	42.24	0.335±0.027 c

注:不同字母表示有显著差异( $P<0.05$ ),下同. Different small letters indicated  $P<0.05$ , The same below.

分析可知,镉胁迫下,除镉浓度为  $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  时地下部生物量较对照增加 5.3%,随镉浓度的升高,海雀稗地上部与地下部生物量均呈下降趋势,在镉浓度  $\leq 50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  时,地下部和地上部生物量都未显著下降,当镉浓度为  $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  时,地下部和地上部生物量分别较对照显著下降 26.48%、37.2%;当镉浓度为  $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  时,地上部和地下部生物量较对照分别下降 53.89%和 67.29%;海雀稗根冠比随镉胁迫浓度的增加而增加,当镉浓度为  $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  时,根冠比增加显著,较对照增加 42.24%。低浓度镉胁迫下,海雀稗耐性指数、生物量、根冠比未受到明显影响;高浓度镉胁迫下海雀稗生物量显著下降,且过高浓度的镉对地上部分茎、叶的影响比对根系的影响大,刘杰<sup>[19]</sup>在研究镉对紫苏的胁迫时也得出相似的结论,这可能是由于镉影响了海雀稗根系对养分的运输,进而造成地上部分受到镉和养分的双重胁迫,此推测还需要进一步的研究。

## 2.2 镉胁迫对海雀稗镉积累特征的影响

图 1 所示,镉胁迫下,海雀稗地上部镉积累量在各镉浓度下皆低于地下部;地下部分镉积累量在各浓度处理下都显著上升;当镉浓度  $\geq 1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  时,海雀稗镉转移系数在 0.03—0.10 范围内,远低于对照的 0.35;当镉浓度  $\geq 10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  时,海雀稗镉富集系数在 0.20—0.31 之间,远小于对照的 1.64;当镉浓度  $\geq 1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  时,镉在海雀稗根部的滞留率大于 90%,较对照增加量大于 25.79%;说明镉主要富集在根部,茎叶中积累量较小。海雀稗与目前已经报道耐性较强,且以地下部富集为主的植物相比,其地下部镉富集量较大,镉胁迫浓度为  $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  时,海雀稗根部富集量  $543.1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,以根富集为主的小飞蓬地下部镉富集量为  $67.45 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ <sup>[20]</sup>,印度芥菜地下部富集量为  $441.66 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ <sup>[21]</sup>,兴芋-1 地下部富集量为  $90.28 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ <sup>[22]</sup>。海雀稗有极强的耐旱、耐荫、耐湿、耐盐碱能力,易水培、沙培、土培,可以将其用作水体镉的提取及土壤镉的固定。

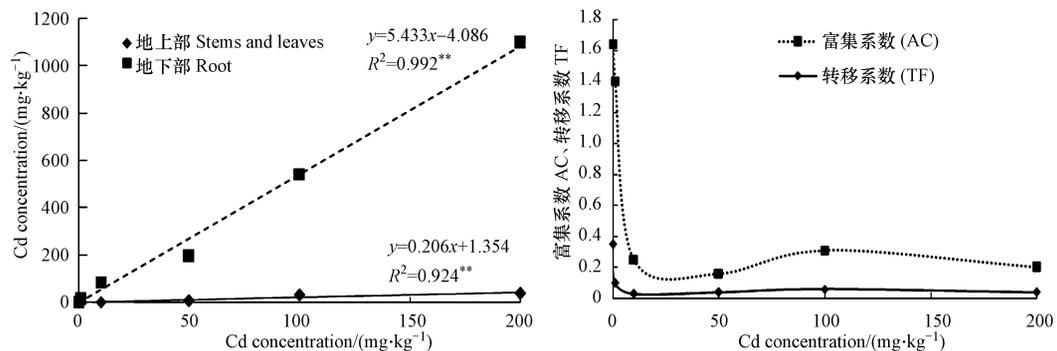


图 1 镉在海雀稗体内的富集特征

Fig.1 Enrichment characteristics of Cd in *Paspalum vaginatum* Sw. under different Cd treatments

## 2.3 海雀稗体内镉化学形态分析

通过化学试剂的逐步提取法,研究重金属在植物中的存在形态,有助于解释植物对重金属的富集与解毒机制,其中乙醇提取态和水提取态活性最强,迁移能力最强,毒害作用最大,氯化钠提取态相对乙醇提取态和水提取态较弱,醋酸提取态、盐酸提取态和残渣态最弱。介于海雀稗在镉处理浓度为  $\geq 100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  时,海雀稗地上部生物量和耐性系数都显著下降,笔者选取了相对低镉的处理 ( $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 和相对高镉的处理 ( $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 的海雀稗作镉形态及亚细胞组分含量的分析(表 2)。低镉处理根、茎、叶中以醋酸提取态较多,其次是氯化钠提取态,水提取态;在高镉处理的海雀稗中,各提取态的绝对含量比低镉处理增加,根中以氯化钠提取态最多,其次是醋酸提取态、盐酸提取态、水提取态;茎中醋酸提取态最多,其次是氯化钠提取态、水提取态;叶片中以醋酸提取态最多,其次是氯化钠提取态、盐酸提取态。

乙醇提取态和水提取态所提取的重金属形态其活性较高、毒性较大,通常称为“活性态”,醋酸提取态、盐酸提取态、残渣态活性较低、毒性小,称为“惰性态”。从各形态分配比例来看,乙醇提取态与水提取态的分配比例总和在高镉处理后均下降,根、茎、叶中分配比例分别比低镉处理下降了 0.18%、1.17%、15.05%。高镉处理下,根中醋酸提取态分配比例根中下降 13.68%,氯化钠提取态、盐酸提取态分别增加 4.2%、9.77%。茎、叶中醋酸提取态分配比例比低镉处理增加 6.27%、2.05%,茎、叶氯化钠提取态分配比

例分别较低镉处理增加 4.31%、2.73%。

海雀稗中镉的化学形态主要以醋酸提取态、盐酸提取态和氯化钠提取态为主。镉在海雀稗根、茎、叶中的化学形态分析可知,相对于  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的低镉处理,在  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时的高镉处理,根中活性较强的乙醇提取态和水提取态分配比例总和降低,醋酸提取态比例下降,但氯化钠提取态和盐酸提取态比例增加。盐酸提取态为活性较弱的草酸盐形态,氯化钠提取态主要为果胶酸盐等,两者的增加减少了游离镉含量,减轻了镉向地上部分的迁移能力,是植物对重金属胁迫的一种解毒机制<sup>[23]</sup>。镉浓度为  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时,茎中水提取态和乙醇提取态的总和下降,而以醋酸提取的难溶的重金属磷酸盐、氯化钠提取的果胶酸盐分配比例的增加,进一步限制了游离镉的含量,减轻镉向叶片迁移的能力。海雀稗叶片中当镉浓度为  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,毒性较强的乙醇提取态和水提取态下降 15.05%,醋酸提取态和盐酸提取态总和增加 19.34%,进一步减少了游离镉含量,同时低毒性镉分配比例的增加,有利于减弱镉直接对植物叶片的伤害。从根、茎、叶中镉形态含量较高的氯化钠提取态、醋酸提取态、盐酸提取态对镉积累总量来看,根中镉含量分别是茎中的 3.88 倍,叶中的 44.47 倍,进一步表明,乙醇提取态和水提取态的降低,根中盐酸提取态、氯化钠提取态的增加,茎中醋酸提取态的增加,叶中醋酸提取态、盐酸提取态的增加都对降低镉的迁移能力具有重要作用,可能与海雀稗根系富集能力较强有关。

表 2 镉在海雀稗中化学形态分布

Table 2 Distribution of Cd chemical forms in roots, stems and leaves of *Paspalum vaginatum* Sw.

镉浓度 Cd concentration/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	器官 Organs	镉含量 Cd concentration/( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )					
		FE	FW	FNaCl	FHAc	FHCl	Fres
低镉 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	根 Root	0.90±0.31 c (3.88)	2.49±0.58 b (10.75)	8.18±1.03 a (35.30)	9.94±1.12 a (42.90)	1.56±0.72 b (6.73)	0.10±0.03 d (0.43)
	茎 Stem	0.37±0.12 bc (7.06)	0.78±0.20 ab (14.89)	1.53±0.37 a (29.20)	1.76±0.52 a (33.59)	0.53±0.12 b (10.11)	0.27±0.08 c (5.15)
	叶 Leave	0.11±0.06 d (6.36)	0.32±0.06 bc (18.50)	0.4±0.11 b (23.12)	0.64±0.21 a (36.99)	0.04±0.23 e (2.31)	0.22±0.05 c (12.72)
高镉 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	根 Root	4.95±0.97 d (2.00)	30.8±2.18 c (12.45)	97.7±5.92 a (39.50)	72.26±6.57 b (29.22)	40.81±3.53 c (16.50)	0.8±0.15 e (0.32)
	茎 Stem	4.66±0.88 c (6.70)	9.8±1.11 b (14.08)	23.39±3.32 a (33.61)	27.74±3.09 a (39.86)	3.26±0.63 d (4.68)	0.74±0.02 e (1.06)
	叶 Leave	0.31±0.04 d (5.53)	0.24±0.06 d (4.28)	1.45±0.31 b (25.85)	2.19±0.92 a (39.04)	1.1±0.25 c (19.61)	0.32±0.05 d (5.70)

注:FE, FW, FNaCl, FHAc, FHCl and Fres 分别表示乙醇、去离子水、氯化钠、醋酸、盐酸和残渣态提取部分;括号内值为分配比例(%).FE, FW, FNaCl, FHAc, FHCl and Fres represented the fractions extracted by ethanol, distilled water, NaCl, HAc, HCl and residue, respectively. The data in bracket are percentage.

#### 2.4 镉在海雀稗根系、叶片中的亚细胞分布

分析镉在海雀稗根系、叶片中的亚细胞分布(表 3),低镉( $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )处理的细胞壁中镉含量为  $0.974 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,其含量是可溶部分、原生质体、细胞膜的 4.09、1.41、42.35 倍,各亚细胞组分之间差异显著;高镉( $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )时,细胞壁镉含量为  $46.645 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,分配比例占 56.68%,较低镉处理增加了 6.24%,可溶部分镉分配比例较对照增加 0.32%,原生质体、细胞膜中镉分配比例较低镉处理分别减少 6.22%、0.24%。海雀稗叶片中镉的亚细胞分布,低镉胁迫下叶片细胞壁镉含量为  $0.708 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,其含量是可溶部分、原生质体、细胞膜的 1.99、4.66、47.2 倍;高镉浓度处理时,细胞壁镉含量为  $4.049 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,分配比例占 61.82%,较低镉处理增加了 4.25%;膜组分和可溶部分镉的分配比例较低镉有所下降。

海雀稗对镉具有较强的耐性,其体内必存在某种解毒机制,细胞内的区隔化被认为是植物重要的解毒机制之一。研究表明细胞壁能够富集大量的金属离子,阻止金属离子向细胞内迁移,进而减少了原生质体组分的金属离子浓度,减轻对植物的毒害<sup>[24]</sup>。因为细胞壁具有多糖、果胶酸、磷酸和蛋白质等成分为金属离子的结合提供了众多离子交换点,从而将重金属固定,使其失去活性<sup>[25]</sup>。细胞壁中金属结合位点饱和时,大量金属离子将被转移到可溶组分(主要为液泡)中,与液泡中的醋酸、苹果酸和柠檬酸等有机酸络合进而达到区隔化作用<sup>[26]</sup>。本研究镉处理下 >50% 的镉存在于细胞壁中,且镉浓度增加,其细胞壁

中镉分配比例增加,表明,镉主要储存于海雀稗细胞壁中,这可能是海雀稗耐性之一。

当细胞壁镉积累量达到饱和时,镉将透过细胞膜进入植物原生质体中,镉进入原生质体或跨膜运输时可以同一些小分子有机化合物结合后运送到液泡中,液泡中有有机酸、有机碱和多种蛋白质能与金属离子结合,使金属离子在液泡被区隔化,避免了金属离子对胞质中各种酶的毒害<sup>[27]</sup>。研究表明,镉在液泡中大量分布,白雪等<sup>[17]</sup>研究发现三色堇地下部镉主要分布于可溶组分,其次为细胞壁中。本研究除细胞壁外,相当一部分镉储存于液泡中(F4),且同一镉浓度下,其根部液泡中分配比例多于叶片。镉被束缚于细胞壁及储存于液泡中,使代谢较强的细胞膜及细胞器中镉含量减少,这可能也是海雀稗耐性之一。

表 3 镉在海雀稗根、叶中亚细胞分布

Table 3 Subcellular distribution of Cd in roots and leaves of *Paspalum vaginatum* Sw.

亚细胞分布 Subcellular distribution (SD)	根 Root				叶 Leave			
	低镉 Cd	百分比 Percentage	高镉 Cd	百分比 Percentage	低镉 Cd	百分比 Percentage	高镉 Cd	百分比 Percentage
	(1 mg·kg <sup>-1</sup> )	/%	(50mg·kg <sup>-1</sup> )	/%	(1mg·kg <sup>-1</sup> )	/%	(50 mg·kg <sup>-1</sup> )	/%
F1	0.974±0.091 a	50.44	46.645±2.519 a	56.68	0.708±0.023 a	57.57	4.049±0.008 a	61.82
F2	0.238±0.097 c	12.35	5.045±0.328 c	6.13	0.152±0.042 c	12.33	0.934±0.105 c	14.25
F3	0.023±0.01 d	1.19	0.786±0.059 d	0.95	0.015±0.003 d	1.19	0.064±0.011 d	0.97
F4	0.692±0.002 b	35.91	29.814±1.896 b	36.23	0.356±0.083 b	28.91	1.504±0.102 b	22.96

注:;F1、F2、F3 和 F4 分别表示细胞壁组分、原生质体组分(根)/叶绿体(叶)、细胞膜组分和可溶组分。F1, F2, F3 and F4 denote metal in cell walls, trophoplasts (root) or chloroplasts (leave) membranes and organelles, soluble fraction, respectively.

### 3 结论 (Conclusion)

(1) 海雀稗根系对镉具有很强的富集能力,利用根系对土壤中镉的富集能力来固定土壤中的镉污染,减轻土壤中镉的淋溶及污染土壤的流失,控制镉污染的扩散。

(2) 海雀稗细胞壁、可溶组分的液泡区隔化和镉主要以活性较弱的氯化钠提取态、醋酸提取态及盐酸提取态存在是其应对镉胁迫的重要机制;随镉浓度增加,细胞壁的固持作用增强,活性较强的乙醇提取态和水提取态镉分配比例减少。

(3) 海雀稗镉化学形态与亚细胞分布不仅反映了其对镉的耐性机制,对于镉在海雀稗体内不同器官中的富集与迁移也有影响。

### 参考文献 (References)

- [ 1 ] RAMAKRISHNAN S, SULOCHANA K N, SELVARAJ T, et al. Smoking of beedies and cataract: Cadmium and vitamin C in the lens and blood[J]. British journal of ophthalmology, 1995, 79(3): 202-206.
- [ 2 ] 陈志良,莫大伦,仇荣亮. 镉污染对生物有机体的危害及防治对策[J]. 环境保护科学,2001,27(4):37-39.  
CHEN Z L, MO D L, QIU R L. Biological damage of soil cadmium (Cd) pollution and its control. Environmental Protection Science, 2001,27(4):37-39(in Chinese).
- [ 3 ] LALOR G C, RATTRAY R, WILLIAMS N, et al. Cadmium levels in kidney and liver of Jamaicans at autopsy[J]. The West Indian Medical Journal, 2004, 53(2): 76-80.
- [ 4 ] 王玉军,刘存,周东美,等. 客观地看待我国耕地土壤环境质量的现状——关于《全国土壤污染状况调查公报》中有关问题的讨论和建议[J]. 农业环境科学学报, 2014,33(8):1465-1473.  
WANG Y J, LIU C, ZHOU D M, et al. A critical view on the status quo of the farmland soil environmental quality in china: Discussion and suggestion of relevant issues on report on the national general survey of soil contamination[J]. Journal of Agro-Environment Science. 2014,33(8):1465-1473(in Chinese).
- [ 5 ] 易泽夫,余杏,吴景. 镉污染土壤修复技术研究进展[J]. 现代农业科技,2014,43(9):251-253.  
YI Z F, YU X, WU J. Advances in technology cadmium contaminated soil remediation[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2014,43(9):251-253(in Chinese).
- [ 6 ] 王明新,陈亚慧,白雪,等. 孔雀草对镉胁迫的响应及其积累与分布特征[J]. 环境化学,2014,33(11):1878-1884.  
WANG M X, CHEN Y H, BAI X, et al. Cd stress, accumulation and distribution characteristics in *Tagetes patula* L.[J]. Environmental Chemistry, 2014, 33(11): 1878-1884(in Chinese).

- [ 7 ] 赵晖,张海燕,冯伟,张国印,等. Cr<sup>6+</sup>对不同生育期甜高粱生物量的影响及其器官形态分布[J]. 西北农业学报,2014,23(9):77-83.  
ZHAO H, ZHANG H Y, ZHANG G Y, et al. Effect of Cr<sup>6+</sup> on biomass at different stages and distribution in organs of sweet sorghum[J]. *Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2014,23(9):77-83 (in Chinese).
- [ 8 ] KÜPPER H, LOMBI E, ZHAO F J, et al. Cellular compartmentation of cadmium and zinc in relation to other elements in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*[J]. *Planta*, 2000, 212(1): 75-84.
- [ 9 ] 郭天荣,王元元,刘金川,等. 铝、镉胁迫下不同大麦品种根际的铝、镉形态分析[J]. 麦类作物学报,2013,33(2):377-381.  
GUO T R, WANG Y Y, Liu J C, et al. Forms of Al and Cd in the rhizosphere of two barley genotypes with Al tolerances under Al and Cd stress[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2013,33(2):377-381 (in Chinese).
- [ 10 ] 罗小波,向佐湘,胡立群. 09-1海滨雀稗草坪坪用性状评价[J]. 作物研究,2013,S1:57-61.  
LUO X B, XIANG Z X, HU L Q, et al. Turf quality of seashore paspalum line 09-1[J]. *Crop Research*, 2013,S1:57-61 (in Chinese).
- [ 11 ] 邹轶. 海盐胁迫下海滨雀稗生理特性及建坪方法的研究[D]. 南京:南京农业大学硕士学位论文,2008.  
ZOU Y. Studies on physiological characteristic and turf establishment under sea-salt stress in *Paspalum Vaginatam*[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2008(in Chinese).
- [ 12 ] 常盼盼. 海滨雀稗体细胞突变体 SP2008-3 特性分析及诱导机制初探[D]. 南京:南京农业大学硕士学位论文,2011.  
CHANG P P. Characteristic analysis and primary research on induction mechanism of mutant SP 2008-3 in seashore *Paspalum*[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011(in Chinese).
- [ 13 ] 吴朝波,段瑞军,王蕾,等.对 11 种热带滨海植物 Cd 富集能力的初步评价[J]. 海南大学学报(自然科学版),2015,33(3):234-240.  
WU C B, DUAN R J, WANG L, et al. Preliminary evaluation on Cd enrichment ability of eleven species of tropical coastal plants[J]. *Natural Science Journal of Hainan University*, 2015,33(3):234-240(in Chinese).
- [ 14 ] 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(10): 1437-1446.
- [ 15 ] LI Z, WU L, HU P, et al. Copper changes the yield and cadmium/zinc accumulation and cellular distribution in the cadmium/zinc hyperaccumulator *Sedum plumbizincicola*[J]. *Journal of hazardous materials*, 2013, 261(20): 332-341.
- [ 16 ] WANG X, LIU Y, Zeng G, et al. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Bechmeria nivea* (L.) Gaud [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2008, 62(3): 389-395.
- [ 17 ] 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.  
BAI X, CHEN Y H, GENG K, et al. Accumulation, subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Viola tricolor* L [J]. *Scientiae Circumstantiae*, 2014,34(6):1600-1605 (in Chinese).
- [ 18 ] 牛之欣,孙丽娜,孙铁珩. 水培条件下四种植物对 Cd、Pb 富集特征[J]. 生态学杂志,2010,29(2):261-268.  
NIU Z X, SUN L N, SUN T H. Enrichment characteristics of Cd and Pb by four kinds of plant under hydroponic culture [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2010,29(2):261-268 (in Chinese).
- [ 19 ] 刘杰. 紫苏耐镉胁迫的生理响应及其土壤重金属镉修复潜力评价[D]. 福州:福建农林大学硕士学位论文,2012.  
LIU J. Physiological response in *Perilla frutescens* under cadmium stress condition and evaluation of phytoremediation potentials on soil cadmium pollution [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2012 (in Chinese).
- [ 20 ] 张凯. 镉富集植物小飞蓬对镉的耐性机制研究[D]. 福州:福建农林大学硕士学位论文,2010.  
ZHANG K. Study on tolerance mechanism of hyperaccumulator plant *Conyza canadensis* to cadmium [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2012 (in Chinese).
- [ 21 ] 郭艳杰,李博文,杨华. 印度芥菜对土壤 Cd、Pb 的吸收富集效应及修复潜力研究[J]. 水土保持学报,2009,23(4):130-135.  
GUO Y J, LI B W, YANG H. Study on the effects of cadmium and lead absorption and accumulation by *Brassica juncea* and its phytoremediation efficiency [J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2009,23(4):130-135 (in Chinese).
- [ 22 ] 张文娥. 2 种美人蕉属植物对镉的积累及其耐受生理机制的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学博士学位论文,2013.  
ZHANG W E. Physiological mechanism on cadmium accumulation and tolerance in two *Canna* species [D]. Yangling: Shanxi Northwest A&F University, 2013 (in Chinese).
- [ 23 ] 李兆君,马国瑞,徐建民,等. 植物适应重金属 Cd 胁迫的生理及分子生物学机理[J]. 土壤通报,2004,35(2):234-238.  
LI Z J, MA G R, XU J M, et al. Physiological and biological mechanism of plant for adapting the stress by cadmium [J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2004,35(2):234-238 (in Chinese).
- [ 24 ] ALLEN D L, JARRELL W M. Proton and copper absorption to maize and soybean root cell walls [J]. *Plant Physiology*, 1989, 89(3): 823-832.
- [ 25 ] WÓJCIK M, VANGRONSVELD J, D HAEN J, et al. Cadmium tolerance in *Thlaspi caerulescens* II. Localization of cadmium in *Thlaspi caerulescens* [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2005, 53(2): 163-171.
- [ 26 ] KRÄMER U. Cadmium for all meals- plants with an unusual appetite [J]. *New Phytologist*, 2000, 145(1): 1-3.
- [ 27 ] 秦建桥,夏北成,赵鹏,等. 镉在五节芒 (*Miscanthus floridulus*) 不同种群细胞中的分布及化学形态 [J]. 生态环境学报,2009,18(3):817-823.  
QIN J Q, XIA B C, ZHAO P, et al. Subcellular distribution and chemical forms of Cd in two *Miscanthus floridulus* populations [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2009,18(3):817-823 (in Chinese).