

黑麦草幼苗对镉耐性能力及其吸收积累和细胞分布特点研究

张 尧¹, 田正贵^{1,2}, 曹翠玲¹, 刘建朝¹, 康靖全¹

(1.西北农林科技大学生命科学学院, 陕西 杨凌 712100; 2.陕西省丹凤中学, 陕西 丹凤 726200)

摘 要:通过盆栽试验研究了镉(Cd)胁迫下黑麦草(*Lolium perenne* L.)幼苗的耐性能力(包括生长反应和生理生化特性)以及对 Cd 的吸收、积累、分布特征。结果表明,当 Cd 浓度为 10 mg·kg⁻¹ 时,黑麦草的生长和发育没有受到明显抑制($P>0.05$),当 Cd 浓度为 20、60、100 mg·kg⁻¹ 时,黑麦草生物量、叶绿素含量、根系活性都显著降低($P<0.05$);超氧阴离子(O₂⁻)、MDA 含量显著增加($P<0.05$);SOD、POD 活性先增加后降低。黑麦草体内 Cd 积累量随着 Cd 浓度增加而显著增加($P<0.05$);Cd 在亚细胞内积累量:F1(细胞壁)>F3(可溶部分)>F2(细胞器)。黑麦草在 Cd 浓度为 10、20 mg·kg⁻¹ 时,富集系数>1.0,对 Cd 有较强的富集能力,转移系数<1,富集的 Cd 主要累积在根部,表明黑麦草能够有效富集土壤中的 Cd,且富集的 Cd 主要积累在根部。

关键词:镉;黑麦草;植物修复;耐性;积累;分布

中图分类号:X503.233 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2010)11-2080-07

Characteristics of Cadmium Tolerance, Accumulation and Cellular Distribution in *Lolium perenne* Seedlings

ZHANG Yao¹, TIAN Zheng-gui^{1,2}, CAO Cui-ling¹, LIU Jian-chao¹, KANG Jing-quan¹

(1.College of Life Science,Northwest A & F University,Yangling 712100, China; 2.Danfeng High School of Shaanxi Province,Danfeng 726200, China)

Abstract: To study the characteristics of cadmium(Cd) tolerance, accumulation and cellular distribution in *Lolium perenne*, seedlings were grown for 50 days in soils treated with 0, 10, 20, 60 and 100 mg Cd·kg⁻¹ soil, respectively, in a greenhouse experiment. Concentrations of chlorophylls a and b in leaves of *Lolium perenne* were similar between 10 mg Cd·kg⁻¹ soil and 0 mg Cd·kg⁻¹. Concentrations of chlorophyll a and total chlorophyll in leaves of *Lolium perenne* exposed to more than 20 mg Cd·kg⁻¹ soil markedly decreased in comparison with those in seedlings exposed to 0 mg Cd·kg⁻¹ soil. The root vigor of *Lolium perenne* seedlings exposed to 100 mg Cd·kg⁻¹ soil significantly declined in comparison with that of roots exposed to 0 mg Cd·kg⁻¹ soil. Concentrations of oxygen anion pronouncedly increased in seedlings exposed to more than 20 mg Cd·kg⁻¹ soil compared with that in seedlings grown under 0 mg Cd·kg⁻¹ soil. Concentrations of malonaldehyde(MDA) were significantly elevated in *Lolium perenne* seedlings exposed to more than 20 mg Cd·kg⁻¹ soil compared to that in seedlings exposed to 0 mg Cd·kg⁻¹ soil. The enzyme activities of SOD and POD decreased by 14.6% and 23.9 %, respectively, in seedlings exposed to 100 mg Cd·kg⁻¹ soil in comparison with those in seedlings exposed to 0 mg Cd·kg⁻¹ soil. Biomass markedly decreased in seedlings exposed to more than 20 mg Cd·kg⁻¹ soil compared to that in seedlings grown under 0 mg Cd·kg⁻¹ soil. Cadmium accumulation significantly increased in *Lolium perenne* seedling along with elevation of cadmium concentrations in soils. Cadmium concentration in cell walls was higher than that in soluble extract in which it was higher than that in cellular organelles. The translocation factor for cadmium was more than 1 when *Lolium perenne* seedlings were grown under 10 mg Cd·kg⁻¹ soil. These data indicate that *Lolium perenne* seedlings are tolerant to cadmium and this grass is promising for phyto-remediation in cadmium-contaminated farm land.

Keywords: cadmium; *Lolium perenne* L.; phytoremediation; tolerance; accumulation; distribution

收稿日期:2010-04-13

基金项目:农业部农业公益性行业科研专项“核技术农业应用”(200803034)

作者简介:张 尧(1984—),男,山东宁津人,在读硕士,主要从事植物营养生理研究。E-mail:qszhangyao@126.com

通讯作者:曹翠玲 E-mail:cuilinggao@163.com

土壤重金属污染是危害人类健康最为严重的环境问题之一。据报道,中国受污染的耕地面积达 2 000 万 hm^2 , 约占耕地总面积的 1/5, 其中重金属污染(主要是 Pb、Zn、Cd)约占污染面积的 30%~40%^[1]。对于污染面积较大的土壤, 人们寄希望于具有费用低廉、不破坏农田结构等优点的植物修复技术^[2]。

黑麦草(*Lolium perenne* L.)冬牧 70 是从美国引进的高效牧草, 属一年生或越年生草本植株, 它适应性强, 耐旱、耐寒、耐瘠, 分蘖再生能力强, 生长速度快, 产量高。有报道称黑麦草对 Zn、Cd、Pb 具有一定的富集能力^[3-5], 试验主要研究了 Cd 对黑麦草种子发芽率、幼苗生理生化的影响及在体内积累和转移, 植物细胞亚细胞 Cd 分布的研究主要集中在水稻和部分蔬菜方面^[6-8], 而 Cd 在黑草麦中亚细胞分布还缺少报道。

本文采取向空白土壤中添加不同浓度 Cd 的方式, 形成具有不同 Cd 浓度梯度的盆栽土, 就 Cd 胁迫下黑麦草幼苗的耐性能力, 包括生长反应和生理生化特性及黑麦草对 Cd 的吸收积累及亚细胞分布趋势进行研究, 为植物修复重金属技术提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

一年生黑麦草(*Lolium perenne* L.)冬牧 70。

1.2 试验处理设计

本试验于 2009 年 7 月在西北农林科技大学(北纬 34°27'、东经 108°08')进行。采用盆栽土培, 试验用盆为直径 24 cm、高 15 cm 的塑料盆。供试土壤取自西北农林科技大学北校园内, 土壤的理化性质如表 1。

表 1 供试土壤的基本理化性状

Table 1 Basic properties of the test soil

项目	pH	有机质/ %	速效氮/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	速效磷/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	速效钾/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	全磷/ %	总镉/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
土壤	8.02	1.12	86.93	39.13	81.54	1.71	0.125

每盆装风干土(过 2 mm 筛)4.18 kg, 加尿素 0.347 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 过磷酸钙 0.2 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。试验设 5 个不同浓度 Cd 处理: 0(CK)、10、20、60、100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (以纯 Cd^{2+} 计), 每处理设 3 个重复。试剂为 $3\text{CdSO}_4\cdot 8\text{H}_2\text{O}$, 用去离子水配成母液, 逐级稀释成处理浓度, 均匀浇入盆中, 室温下放置 10 d。然后选择籽粒饱满的黑麦草种子, 用 0.5% 的 KMnO_4 消毒 10 min, 蒸馏水洗净, 在 25 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱催芽 24 h 后, 选择萌发一致的种子, 点播于盆中, 每盆 15 粒, 置于西北农林科技大学北校园

网室内。试验过程中, 土壤水分保持充足状态。幼苗到三叶期时, 定苗, 每盆 12 棵。播种后 50 d 取样测定。

1.3 测定分析方法

1.3.1 生理生化指标的测定

叶绿素含量测定: 丙酮浸提法^[9]; 根系活力测定: TTC 法^[10]; SOD 活性测定: 氮蓝四唑法^[10]; POD 活性测定: 愈创木酚法^[10]; 丙二醛(MDA)含量测定: 硫代巴比妥酸显色法^[10]; 超氧阴离子自由基($\text{O}_2\cdot$)含量测定: 盐酸羟胺氧化反应法^[11]。

1.3.2 生物量及植物样品中镉含量测定

每个处理(3 次重复)选取 5 株长势一致的黑麦草, 用自来水充分冲洗以去除粘着于植物样品上的泥土和污物, 再用去离子水冲洗, 沥去水分, 在 105 $^{\circ}\text{C}$ 下杀青 30 min, 80 $^{\circ}\text{C}$ 烘干至恒重, 分为根、茎、叶 3 部分, 分别称干重、磨碎备用, 通过计算获得 5 株植株总重。植物样品采用 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ 法, 沙浴消化(体积比为 4:1), Z-5000 原子吸收分光光度计测定 Cd 含量。

1.3.3 黑麦草镉富集能力计算

富集系数(bioaccumulation factor, BF)=植物中 Cd 含量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)/土壤中 Cd 含量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)^[12-14]

转移系数(translocation factor, TF)=地上部 Cd 含量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)/地下部 Cd 含量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)^[12, 15]

1.3.4 细胞各部分镉含量测定

新鲜植株收获后在 20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 EDTA-Na_2 中浸泡 3 h 去除根系表面吸附的 Cd^{2+} , 然后以去离子水冲洗 3~4 次, 分根、叶取样。根、叶亚细胞组分的分离参照倪天华等的方法^[16]并加以改进, 采用差速离心法(4 $^{\circ}\text{C}$)分离不同的细胞组分, 最后得到 F1(细胞壁)、F2(细胞器)以及 F3(可溶性部分)3 部分。分离后置于三角瓶中, 80 $^{\circ}\text{C}$ 烘干, 采用 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ 法, 沙浴消化(体积比为 4:1)。Cd 测定方法同 1.3.2。

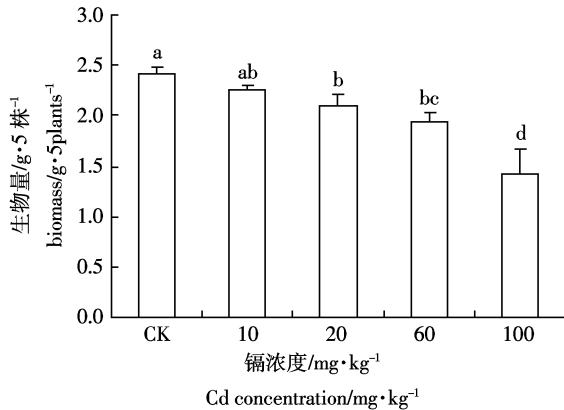
1.3.5 数据统计

试验数据用 Excel 2003 和 SPSS18.0 软件进行方差分析(LSD 检验), 数值表示采用 3 次重复的平均值 $\pm$ 标准差。

2 结果与分析

2.1 不同浓度镉对黑麦草生物量的影响

试验结果(图 1)表明, 随着 Cd 浓度增加黑麦草的生物量依次降低。与 CK 相比, 当 Cd 浓度为 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 黑麦草生物量降低幅度较小, 仅降低 7.3%; 当 Cd 浓度达到 20、60、100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 其生物量分别比 CK 降低了 13.8%、19.9% 和 41.0%。表明黑麦草对低



注:数据标有不同字母的表示差异具有显著性(LSD 检验, $P=0.05$)。下同。

Note: Values with different letter in the same column indicate a significant difference at $P=0.05$ level according to LSD test. The same as below.

图 1 不同 Cd 处理下黑麦草干重

Figure 1 Dry biomass of *Lolium perenne* L. grown in different Cd treatments

浓度($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)Cd 有一定的耐性,降低不显著($P>0.05$),随着 Cd 浓度增加,黑麦草生长发育受到影响,生物量显著降低($P<0.05$)。

2.2 镉胁迫对黑麦草生理生化特性的影响

2.2.1 镉胁迫对黑麦草叶绿素含量的影响

重金属胁迫影响叶绿素的含量。如表 2 所示,随着土壤中 Cd 浓度的增加,叶绿素逐渐降低。当 Cd 浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,黑麦草叶绿素 a(Chl a)、叶绿素 b(Chl b)、总叶绿素(Chl)含量几乎无变化,但是当 Cd 浓度增加到 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 及其之后,与 CK 相比,Chl a 及总 Chl 含量显著降低,且均与 CK 差异显著($P<0.05$);但是 Chl b 在土壤 Cd 浓度增加到 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 后,其含量才降低到与 CK 有显著差异($P<0.05$)。说

表 2 不同 Cd 处理对黑麦草叶绿素含量的影响

Table 2 Effect of Cd treatments on chlorophyll content in the leaves of *Lolium perenne* L.

镉浓度/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	叶绿素 a/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	叶绿素 b/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	叶绿素/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	叶绿素 a/b
CK	$1.95 \pm 0.07\text{a}$	$0.65 \pm 0.06\text{a}$	$2.59 \pm 0.10\text{a}$	$3.04 \pm 0.31\text{a}$
10	$1.90 \pm 0.04\text{ab}$	$0.63 \pm 0.03\text{a}$	$2.53 \pm 0.07\text{ab}$	$3.00 \pm 0.10\text{a}$
20	$1.75 \pm 0.07\text{b}$	$0.59 \pm 0.03\text{a}$	$2.34 \pm 0.10\text{b}$	$2.97 \pm 0.06\text{a}$
60	$1.40 \pm 0.19\text{c}$	$0.50 \pm 0.05\text{b}$	$1.90 \pm 0.24\text{c}$	$2.82 \pm 0.10\text{a}$
100	$1.02 \pm 0.10\text{d}$	$0.34 \pm 0.01\text{c}$	$1.36 \pm 0.11\text{d}$	$2.99 \pm 0.19\text{a}$

注:表中数据为均值±标准差;同列数据标有不同字母的表示差异具有显著性(LSD 检验, $P=0.05$)。下同。

Note: Data are shown as mean $\pm$ SD of three replicates; Values with different letter in the same column indicate a significant difference at $P=0.05$ level according to LSD test. The same as below.

明 Chl a 对 Cd 胁迫的响应阈值较低, Cd 胁迫下 Chl a/b 值变化,主要是 Cd 胁迫影响了 Chl a 值。

2.2.2 镉胁迫对黑麦草根系活力的影响

根系活力是反映植物根系吸收能力和合成代谢强弱的一个生理指标。从图 2 可以看出,当 Cd 浓度为 10 、 20 、 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,与 CK 相比,根系活力逐渐降低,但不显著($P>0.05$),表明黑麦草根对 Cd 胁迫具有一定的耐性;而 Cd 浓度增加到 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,比 CK 降低了 51.0% ,根系活力显著降低($P<0.05$),Cd 对黑麦草的毒害作用显现,黑麦草的根系受到严重伤害。

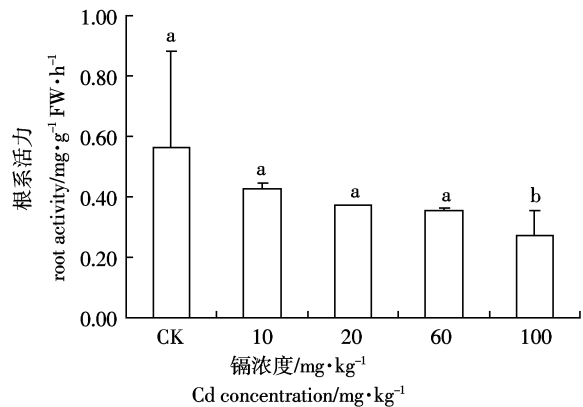


图 2 不同 Cd 处理下黑麦草根系活力

Figure 2 Root activity of *Lolium perenne* L. grown in different Cd treatments

2.2.3 镉胁迫对黑麦草超氧阴离子和 MDA 含量的影响

超氧阴离子(O_2^-)是生物体受到氧胁迫后首先生成的氧自由基,可以经过一系列反应生成其他类型的活性氧。从图 3 可以看到,当 Cd 浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, O_2^- 含量仅比 CK 增加了 5.9% ,随着 Cd 浓度逐渐增加, O_2^- 含量显著增加($P<0.05$),分别比 CK 增加了 30.2% 、 53.2% 和 83.4% 。表明低浓度 Cd($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)胁迫,黑麦草体内产生的 O_2^- 能够及时得到清除,随着 Cd 浓度增加,黑麦草体内积累了大量的 O_2^- ,严重影响植物生长和发育。

O_2^- 含量的增加可促使 MDA 积累,而 MDA 积累越多,表明组织的保护能力越弱^[7]。图 4 所示,黑麦草叶片内 MDA 含量总体随着 Cd 浓度增加而增加,直到 Cd 浓度为 20 、 60 、 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时 MDA 含量才显著增加($P<0.05$),与 CK 比,分别增加了 28.8% 、 33.3% 和 63.1% ,这与 O_2^- 的变化趋势一致,这也说明 MDA 积累与 O_2^- 的增加密切相关。

2.2.4 镉胁迫对黑麦草 SOD 和 POD 活性的影响

SOD 和 POD 活性的变化与植物体内氧化胁迫有

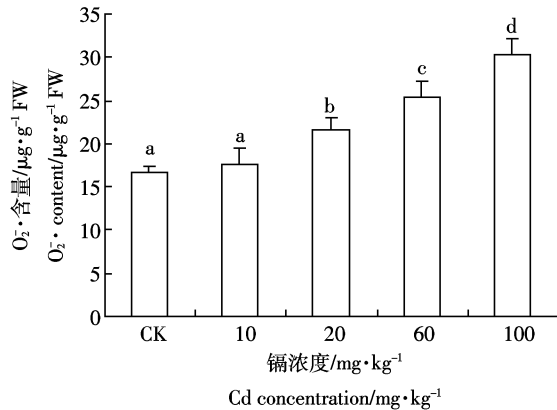


图 3 Cd 处理下黑麦草叶片中超氧阴离子含量变化

Figure 3 Changes of O₂·⁻ contents in leaves of *Lolium perenne* L. with Cd treatments

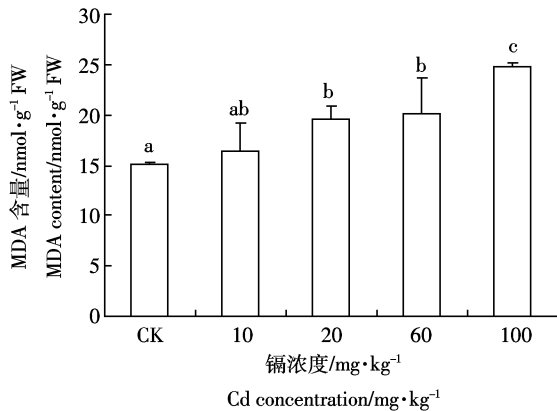


图 4 Cd 处理下黑麦草叶片中 MDA 含量变化

Figure 4 Changes of MDA contents in leaves of *Lolium perenne* L. with Cd treatments

直接关系^[18-19]。本试验中,Cd 浓度为 10 mg·kg⁻¹ 时,SOD 活性增加了 6.2%(图 5),Cd 浓度为 20、60 mg·kg⁻¹ 时,SOD 活性分别比 CK 降低了 2.0%和 2.9%,变化不显著($P>0.05$),当 Cd 浓度增大到 100 mg·kg⁻¹ 时,SOD 活性比 CK 降低了 14.6%,活性显著降低($P<0.05$)。SOD 活性呈现先增加后降低的趋势,表明低浓度 Cd 胁迫促进 SOD 活性增加,高浓度 Cd 抑制 SOD

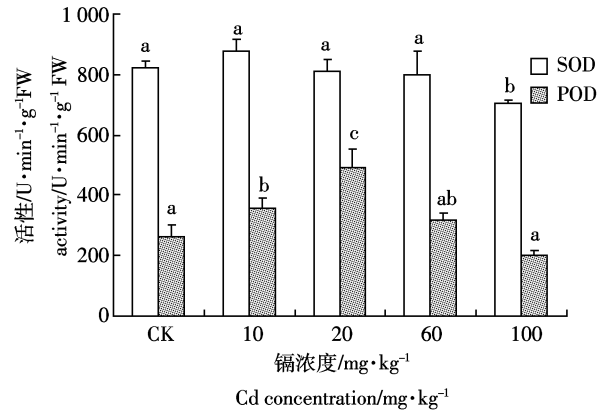


图 5 Cd 处理下黑麦草叶片中 SOD 和 POD 活性

Figure 5 SOD and POD activities in leaves of *Lolium perenne* L. with Cd treatments

活性,与前人研究结果一致^[20-21]。POD 活性随着Cd 浓度增加呈现先增加后降低的趋势。Cd 浓度为 10、20、60 mg·kg⁻¹ 时,分别比 CK 增加了 34.2%、85.0%和 19.9%,且 Cd 浓度为 20 mg·kg⁻¹ 时,POD 活性最高,直到 Cd 浓度达到 100 mg·kg⁻¹ 时,POD 活性才比 CK 降低了 23.9%。表明 POD 活性在抗逆性方面起主要作用,这与前人研究结果一致^[3,22-23]。

2.3 黑麦草对镉的吸收和积累能力

由表 3 可知,黑麦草各部分 Cd 含量随着土壤中 Cd 浓度增加而显著增加($P<0.05$)。当 Cd 浓度为 100 mg·kg⁻¹ 时,黑麦草根、茎和叶 Cd 含量都达到最高值,分别为 291.64、29.00 mg·kg⁻¹ 和 17.71 mg·kg⁻¹。同一 Cd 浓度胁迫下,根、茎、叶部分 Cd 积累量:根>茎>叶。

富集系数越高,表明植物对重金属的吸收累积能力就越强,越有利于植物提取、修复污染土壤^[22]。从表 3 可以看出,Cd 浓度为 10、20 mg·kg⁻¹ 时,黑麦草富集系数大于 1,当 Cd 浓度达到 60、100 mg·kg⁻¹ 时,黑麦草富集系数小于 1^[22]。表明黑麦草在 10、20 mg·kg⁻¹ Cd 浓度胁迫下,有很强的 Cd 积累能力,随着 Cd 胁迫浓度增加,黑麦草积累 Cd 能力降低。研究表明,不少植物对 Cd 的吸收存在饱和现象^[24],可能高浓度 Cd 胁迫

表 3 不同 Cd 处理下黑麦草的 Cd 含量、富集系数、转移系数

Table 3 Concentration of Cd, bioaccumulation factor, transfer factor of Cd in *Lolium perenne* L. under different Cd treatments

Cd 浓度/mg·kg ⁻¹	Cd 含量/mg·kg ⁻¹ DW Cd content/mg·kg ⁻¹ DW			富集系数(BF)	转移系数(TF)
	根 root	茎 stem	叶 leaf		
CK	0.90±0.09a	0.19±0.09a	0.00±0.00a	1.91	0.23
10	107.72±0.95b	11.08±0.42b	7.72±0.45b	3.27	0.26
20	171.30±2.10c	16.90±0.97c	11.71±0.98c	2.62	0.24
60	238.87±3.31d	22.16±0.48d	14.71±0.32d	0.95	0.32
100	291.64±5.20e	29.00±1.03e	17.71±0.32e	0.74	0.30

下,黑麦草吸收 Cd 的量接近饱和值,黑麦草吸收 Cd 的增加量远低于土壤中高浓度 Cd 胁迫时 Cd 的增加量,从而导致高浓度 Cd 下,黑麦草的富集系数逐渐降低。

转移系数越大,表明重金属从根系向地上部器官转运能力就越强^[22]。表 3 所示,黑麦草的转移系数介于 0.23~0.32 之间,随着 Cd 浓度增加,黑麦草从根系向地上部器官转运 Cd 能力呈增强的趋势。Clemens S 认为,根系吸收的 Cd 主要通过木质部运输到地上部,其运输效率取决于根系细胞壁和液泡对 Cd 的吸收、固定以及根部细胞间共质体通道的运输效率以及跨越内皮层的能力,根系 Cd 转运能力的高低还与木质部的装载能力有关^[25]。可能是随着 Cd 胁迫浓度增加,黑麦草细胞壁和液泡对 Cd 的吸收、固定能力降低,更多的 Cd 进入到木质部中,运往地上部的 Cd 含量增加,最终导致转运系数呈增加的趋势。

2.4 镉在黑麦草根和叶片细胞中的分布特点

由表 4 可以看出,不同浓度 Cd 胁迫下,黑麦草根、叶细胞各组分中 Cd 含量都是 F1(细胞壁)>F3(可溶部分)>F2(细胞器),且 Cd 含量都远高于 CK 的相应组分。随着 Cd 浓度增加,黑麦草细胞壁 Cd 含量百分比逐渐降低,黑麦草细胞内可溶物、细胞器含量的百分比呈上升趋势,表明了细胞壁是 Cd 积累的主要部位,随着 Cd 浓度加大,细胞壁积累 Cd 的能力达到阈值,更多的 Cd 进入到细胞内。细胞内某些可溶性物质能够与 Cd 形成无毒或低毒的络合物,降低细胞内 Cd 浓度,F1、F3 是细胞活性较低的区域,这两部分积累大量的 Cd 可以有效降低其对细胞器的伤害,有

利于减轻对植物细胞的伤害。

3 讨论

叶绿素是植物光合作用的物质基础,其含量高决定植物光合作用水平。Cd 可以结合叶绿体中蛋白质上的-SH 或取代其中的 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} ,从而破坏叶绿体结构和功能活性^[26],或者使叶绿素分解加快,含量减少,从而导致光合作用效率下降,影响植物正常的生长和发育,最终表现为植物生物量降低。

根系是植物吸收水分、营养物质的主要部位,根系活力的强弱直接影响植株的生长和发育。由表 2 和图 1、图 2 可知,黑麦草干重和叶绿素含量、根系活力存在着基本相似的变化规律,都随着 Cd 浓度增加而逐渐降低,叶绿素含量、根系活力一定程度上可以反映黑麦草对 Cd 的耐性特征。

正常情况下,植物细胞中活性氧的产生和清除两个过程处于平衡状态,植物受到 Cd 胁迫,其体内的氧代谢失调,加快活性氧(AOS)的产生,致使活性氧在体内大量积累。活性氧能够直接或间接地启动膜脂的过氧化作用,导致膜的损伤和破坏,其重要产物之一是 MDA^[27]。MDA 能与蛋白质、核酸、氨基酸等活性物质交联,形成不溶性的化合物(脂褐素)沉积,破坏膜的结构,干扰细胞的正常生命活动,因此被用作衡量脂质过氧化损伤的指标^[28]。MDA 积累越多,表明活性氧、自由基等含量越高。本试验中,较高浓度 Cd 引起 $\text{O}_2\cdot$ 含量显著增加,MDA 含量也随着增加。表明 Cd 胁迫导致黑麦草根和叶中产生大量活性氧自由基,引发膜质过氧化作用,使膜的正常结构和功能受损,这

表 4 不同镉浓度下黑麦草根和叶片亚细胞组分中镉含量及分布百分率
Table 4 Concentration and percent distribution(%) of Cd in subcellular fractions from roots and leaf of *Lolium perenne* seedlings exposed to different levels of Cd

Cd ²⁺ / mg·kg ⁻¹	F1(细胞壁)/mg·kg ⁻¹ FW(cell wall)		F2(细胞器)/mg·kg ⁻¹ FW(cell organs)		F3(可溶部分)/mg·kg ⁻¹ FW(soluble fraction)	
	叶片 leaf	根 root	叶片 leaf	根 root	叶片 leaf	根 root
0	0.015±0.003 (100.00%)	0.034±0.003 (64.28%)	0.000±0.000 (0.00%)	0.006±0.003 (11.90%)	0.000±0.000 (0.00%)	0.013±0.003 (23.81%)
10	0.625±0.022 (89.03%)	5.611±0.013 (89.87%)	0.025±0.003 (3.51%)	0.188±0.016 (3.01%)	0.052±0.003 (7.46%)	0.444±0.011 (7.12%)
20	0.963±0.019 (88.42%)	9.572±0.331 (86.65%)	0.040±0.003 (3.67%)	0.466±0.019 (4.22%)	0.086±0.003 (7.91%)	1.008±0.031 (9.12%)
60	1.247±0.035 (87.09%)	14.140±0.800 (86.65%)	0.062±0.003 (4.30%)	0.886±0.057 (5.43%)	0.123±0.017 (8.60%)	1.299±0.019 (7.96%)
100	1.560±0.024 (78.36%)	19.169±0.265 (83.31%)	0.071±0.017 (3.55%)	1.487±0.011 (6.46%)	0.360±0.014 (18.08%)	2.354±0.014 (10.23%)

注:括号中为黑麦草幼苗根和叶片中亚细胞各组分镉含量分布百分率,F1 百分率=F1/(F1+F2+F3),F2、F3 同理。

Note: percent distribution of Cd in subcellular fractions from roots and leaf of *Lolium perenne* seedlings in parenthesis.

与 Hegedus 等^[9]的研究结果一致。

SOD 和 POD 能够有效清除细胞内氧自由基和过氧化物。SOD、POD 能把 $O_2\cdot$ 和 H_2O_2 转化成 H_2O 和 O_2 , 抑制高活性的 $\cdot OH$ 等的形成。在重金属胁迫下, 植物体内 $O_2\cdot$ 含量的增加在一定程度上能诱导 SOD 活性上升, 保持植物体清除自由基的正常功能, 从而使植物细胞免受毒害的调节反应; POD 能将 H_2O_2 催化形成 H_2O , 从而有效阻止 $O_2\cdot$ 和 H_2O_2 的积累, 限制这些自由基对膜脂过氧化的启动^[21]。本试验中 Cd 浓度低时, 黑麦草 SOD、POD 活性增加, 清除活性氧的能力增强, 维持黑麦草体内的活性氧的产生与清除处于相对平衡状态。随着 Cd 浓度的增加, 黑麦草体内对 Cd 产生的危害的抵御能力下降, SOD、POD 活性逐渐降低, 不能及时清除植物体内产生的过量的活性氧, 造成细胞膜受到伤害, 最终影响植物的正常生长。

富集系数 > 1.0, 即重金属在植物地上部含量大于根部, 是衡量植物是富集重金属能力的重要标准^[22]。本试验中, 黑麦草在 Cd 浓度为 10、20 $mg\cdot kg^{-1}$ 时, 富集系数 > 1.0, Cd 浓度为 60、100 $mg\cdot kg^{-1}$ 时, 富集系数 < 1; 黑麦草地下部分 Cd 积累量明显高于地上部分积累量。表明黑麦草在 10、20 $mg\cdot kg^{-1}$ Cd 胁迫下, 具有较强的富集 Cd 的能力, 且吸收的 Cd 主要富集在根部。

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运输、各部位的分配、以及与植物体内物质的结合形态等因素有关^[29]。王芳、Ramos 等研究表明, Cd 在植物细胞壁分配率最高, 细胞质次之, 细胞器最低^[7, 30]。本试验与王芳、Ramos 等研究结果相同。可能是细胞壁表面带有较多的 COO^- , 能与 Cd^{2+} 结合使其处在膜外; 其次, 细胞壁中较多的磷能与镉形成不溶性的磷酸盐^[31], 所以细胞壁积累了大量的 Cd。

4 结论

(1) 在 Cd 胁迫下, 低浓度 (10 $mg\cdot kg^{-1}$) Cd 处理对黑麦草的生长和发育影响较小, 当 Cd 浓度逐渐增加, 黑麦草生物量显著降低, 表明其能够耐受 10 $mg\cdot kg^{-1}$ 的 Cd 胁迫。

(2) Cd 污染对黑麦草幼苗的生理生化指标产生一系列的影响。10 $mg\cdot kg^{-1}$ Cd 处理, 黑麦草叶绿素含量、根系活力略有降低, $O_2\cdot$ 含量、MDA 含量、SOD 活性有所增加, 与 CK 相比无显著变化, POD 活性显著增加; 随着浓度增加, 叶绿素含量、根系活力均显著降低, $O_2\cdot$ 含量、MDA 含量显著升高, SOD 活性、POD 活

性先升高后降低, 表明 SOD、POD 在植物抗逆过程中起主要作用, 特别是 POD 起主导作用, 但是体内保护酶系统清除活性氧的能力是有限的, 当 Cd 胁迫浓度增大到一定程度时, SOD、POD 活性降低, 清除活性氧的能力降低, 植物受到伤害。

(3) 黑麦草幼苗期, 10、20 $mg\cdot kg^{-1}$ Cd 处理下, 富集系数 > 1.0; 60、100 $mg\cdot kg^{-1}$ Cd 处理下, 富集系数 < 1.0。表明黑麦草对 10、20 $mg\cdot kg^{-1}$ Cd 浓度能够起到有效的富集作用, 随着 Cd 浓度增加, 黑麦草富集系数逐渐降低, 富集能力降低。黑麦草转移系数远 < 1, 表明黑麦草富集的 Cd 主要累积在根部。1995 年我国发布《土壤环境质量标准》(GB 15618—1995), 规定 Cd 含量 $\leq 1.0 mg\cdot kg^{-1}$ 为保障农林业生产和植物正常生长的土壤临界值。10、20 $mg\cdot kg^{-1}$ Cd 浓度远大于该标准, 有报道称, 我国 Cd 污染耕地面积为 1.33×10^4 hm^2 , 土壤 Cd 含量为 2.5~23.0 $mg\cdot kg^{-1}$, 涉及 11 个省市的 25 个地区^[32], 表明黑麦草具有修复耕地的现实意义。

(4) 黑麦草根、叶细胞中镉主要积累在细胞壁, 其次在细胞可溶性部分, 细胞器部分含量最少。

参考文献:

- [1] 韦朝阳, 陈同斌. 重金属超富集植物及植物修复技术研究进展[J]. 生态学报, 2001, 21(7): 1196–1204.
WEI Chao-yang, CHEN Tong-bin. Hyperaccumulators and phytoremediation of heavy metal contaminated soil: A review of studies in China and abroad[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(7): 1196–1204.
- [2] 魏树和, 周启星, 刘 睿. 重金属污染土壤修复中杂草资源的利用[J]. 自然资源学报, 2005, 20(3): 432–440.
WEI Shu-he, ZHOU Qi-xing, LIU Rui. Utilization of weed resource in the remediation of soils contaminated by heavy metals[J]. *Journal of Natural Resources*, 2005, 20(3): 432–440.
- [3] 徐卫红, 王宏信, 王正银, 等. 锌、镉复合污染对重金属蓄集植物黑麦草养分吸收及锌、镉积累的影响[J]. 生态毒理学报, 2006, 1(1): 70–74.
XU Wei-hong, WANG Hong-xin, WANG Zheng-yin, et al. Effects of zinc, cadmium and their combined pollution on nutrient uptake and Zn, Cd accumulation in ryegrass (*Lolium perenne* L.). [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2006, 1(1): 70–74.
- [4] 姚 婧, 王友保, 李文良, 等. 黑麦草对土壤中 Pb 的富集作用及耐受性研究[J]. 水土保持通报, 2008, 28(2): 17–21.
YAO Jing, WANG You-bao, LI Wen-liang, et al. A Study on Pb accumulation and tolerance of *Lolium Perenne* L. in soil[J]. *Bulletin of Soil and Water Conservation*, 2008, 28(2): 17–21.
- [5] 李文一, 徐卫红, 胡小凤, 等. Zn 胁迫对黑麦草幼苗生长、生理生化及 Zn 吸收的影响[J]. 农业工程学报, 2007, 23(5): 190–194.
LI Wen-yi, XU Wei-hong, HU Xiao-feng, et al. Effects of zinc stress on growth, physiological and biochemical and Zn uptake of ryegrass (*Loli-*

- um Perenne L.) [J]. *Transactions of the CSAE*, 2007, 23(5): 190–194.
- [6] 赵 雄, 李福燕, 张冬明, 等. 水稻土壤镉污染与水稻镉含量相关性研究[J]. *农业环境科学学报*, 2009, 28(11): 2236–2240.
- ZHAO Xiong, LI Fu-yan, ZHANG Dong-ming, et al. Relationship between paddy soils cadmium pollution and cadmium content in rice[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(11): 2236–2240.
- [7] 王 芳, 杨 勇, 张 燕, 等. 不同蔬菜对镉的吸收累积及亚细胞分布[J]. *农业环境科学学报*, 2009, 28(1): 44–48.
- WANG Fang, YANG Yong, ZHANG Yan, et al. Accumulation and subcellular distribution of cadmium in vegetables grown in hydroponic solution[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(1): 44–48.
- [8] 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.
- LI De-ming, ZHU Zhu-jun. Cadmium subcellular distribution in plants of *Brassica campestris* ssp. *Chinensis* L. [J]. *Bulletin of Science and Technology*, 2004, 20(4): 278–282.
- [9] Hegedűs A, Erdei S, Horváth G. Comparative studies of H_2O_2 detoxifying enzymes in green and greening barley seedling under cadmium stress[J]. *Plant Sci*, 2001, 60: 1085–1093.
- [10] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000.
- GAO Jun-feng. The experimental manual for plant physiology[M]. Xi'an: The World Book Press, 2000.
- [11] 孙 群, 胡景江. 植物生理学研究技术[M]. 杨凌: 西北农林科技大学出版社, 2006.
- SUN Qun, HU Jing-jiang. Research technology of plant physiology[M]. Yangling: Northwest A & F University Press, 2006.
- [12] 周启星, 宋玉芳. 污染土壤修复原理与方法[M]. 北京: 科学出版社, 2004.
- ZHOU Qi-xing, SONG Yu-fang. Contaminated soil repair principle and method[M]. Beijing: Science Press, 2004.
- [13] Brooks R R. Plants that hyperaccumulate heavy metals: Their role in phytoremediation, microbiology, archaeology, mineral exploration and phytomining[M]. Oxford, UK: CAB International, 1998.
- [14] Zhang W H, Cai Y, Tu C, et al. Arsenic speciation and distribution in an arsenic hyperaccumulating plant[J]. *Sci Total Environ*, 2002, 300: 167–177.
- [15] 周启星, 魏树和, 张倩茹, 等. 生态修复[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2006.
- ZHOU Qi-xing, WEI Shu-he, ZHANG Qian-ru, et al. Ecological restoration[M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2006.
- [16] Ni Tian-Hua, Wei You-Zhang. Subcellular distribution of cadmium in mining ecotype sedum alfredii[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2003, 45(8): 925–928.
- [17] 王友保, 张 莉, 刘 惠, 等. 铜对狗牙根生长及活性氧清除系统的影响[J]. *草业学报*, 2007, 16(1): 52–57.
- WANG You-bao, ZHANG Li, LIU hui, et al. Effects of Cu on the growth and scavenging system of activated oxygen of *Cynodon dactylon* [J]. *Acta Pratacul Turae Sinica*, 2007, 16(1): 52–57.
- [18] Ruley A T, Sharma N C, Sahi S V. Antioxidant defense in a lead accumulating plant, *Sesbania drummondii* [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2004, 42: 899–906.
- [19] Sun R L, Zhou Q X, Sun F H, et al. Antioxidant defense and proline/phytochelatin accumulation in a newly discovered Cd-hyperaccumulator, *Solanum nigrum* L. [J]. *Environ Exp Bot*, 2007, 60: 468–476.
- [20] 刘周莉, 何兴元, 陈 玮. 镉胁迫对金银花生理生态特征的影响[J]. *应用生态学报*, 2009, 20(1): 40–44.
- LIU Zhou-li, HE Xing-yuan, CHEN Wei. Effects of cadmium stress on the growth and physiological characteristics of *Lonicera japonica* [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, 20(1): 40–44.
- [21] 罗立新, 孙铁珩, 靳月华. 镉胁迫下小麦叶中超氧阴离子自由基的积累[J]. *环境科学学报*, 1998, 18(5): 495–499.
- LUO Li-xin, SUN Tie-heng, JIN Yue-hua. Accumulation of superoxide radical in wheat leaves under cadmium stress [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1998, 18(5): 495–499.
- [22] 孙约兵, 周启星, 王 林, 等. 三叶鬼针草幼苗对镉污染的耐性及其吸收积累特征研究[J]. *环境科学*, 2009, 30(10): 3028–3035.
- SUN Yue-bing, ZHOU Qi-xing, WANG Lin, et al. Characteristics of cadmium tolerance and bioaccumulation of *Bidens pilosa* L. seedlings [J]. *Environmental Science*, 2009, 30(10): 3028–3035.
- [23] Wang M E, Zhou Q X. Joint stress of chlorimurorurethyl and cadmium on wheat *Triticum aestivum* at biochemical levels[J]. *Environmental Pollution*, 2006, 144: 572–580.
- [24] Hagemeyer J, Waisel Y. Uptake of Cd^{2+} and Fe^{2+} by excised roots of *Tamarix aphylla* [J]. *Physoil Plant*, 1989, 77: 247–253.
- [25] Clemens S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanism of tolerance in plant[J]. *Biochimie*, 2006, 88: 1707–1719.
- [26] Ouzounidou G, Moustakas M, Eleftheriou E P. Physiological and ultrastructural effect of cadmium on wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1997, 32(2): 154–160.
- [27] Sun Y B, Zhou Q X, Diao C Y. Effects of cadmium and arsenic on growth and metal accumulation of Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. [J]. *Bioresource Technol*, 2008, 99: 1103–1110.
- [28] Wei S H, Zhou Q X. Phytoremediation of cadmium-contaminated soils by *Rorippa globosa* using two-phase planting[J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2006, 13: 151–155.
- [29] 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.
- WANG H B, WANG H X, WEN C H, et al. Some detoxication mechanisms of different wheat varieties under cadmium treatment[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2002, 22(4): 523–528.
- [30] 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.
- [31] Sela M, Tel-Or E, Fritz E. Localization and toxic effects of cadmium, copper and uranium in *Azolla* [J]. *Plant Physiology*, 1988, 88(1): 30–36.
- [32] 王凯荣. 我国农田镉污染现状及其治理利用对策[J]. *农业环境保护*, 1997, 16(6): 274–278.
- WANG Kai-rong. Cadmium pollution of farmland and treatment utilization[J]. *Agro-environmental Protection*, 1997, 16(6): 274–278.

致谢:感谢西北农林科技大学张增强教授为测定样品镉含量提供的帮助, 感谢罗志斌教授帮助修改本文英文摘要, 同时感谢柳玲同学提供供试土壤理化性质。