

三叶鬼针草幼苗对镉污染的耐性及其吸收积累特征研究

孙约兵^{1,2}, 周启星^{1,3*}, 王林^{1,2}, 刘维涛^{1,2}, 刘睿¹
(1. 中国科学院沈阳应用生态研究所陆地生态过程重点实验室, 沈阳 110016; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049; 3. 南开大学环境科学与工程学院, 环境污染过程与基准教育部重点实验室, 天津 300071)

摘要:通过盆栽实验研究了镉(Cd)胁迫下三叶鬼针草(*Bidens pilosa* 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 的吸收积累特征. 结果表明, 当土壤中投加的 Cd 浓度为 ≤ 32 mg/kg 时, 三叶鬼针草植物的生长和发育没有受到抑制, 与对照相比, 地上部和根部生物量分别增加了 32.4% ~ 44.7% 和 29.1% ~ 57.6%, 其中, 当 Cd 处理浓度为 8 mg/kg 时, 地上部干重达到最大值, 为 0.22 g/pot. 在不同 Cd 处理下, 叶绿素(Chl)和可溶性蛋白(SP)含量下降, 分别比对照处理降低了 23.3% 和 41.5%; 超氧化物歧化酶(SOD)活性随着 Cd 浓度增加先有所抑制, 后逐渐增大; 过氧化物酶(POD)活性和丙二醛(MDA)含量随 Cd 处理浓度增加而增大, 分别比对照增加了 1.2 ~ 6.6 和 1.1 ~ 1.5 倍. 然而, 当 Cd 浓度为 50 ~ 100 mg/kg 时, 显示出对三叶鬼针草幼苗的生长发育和生理生化特征都产生了一定的负效应, 说明三叶鬼针草对 Cd 污染的耐性能力具有一定的阈值. 在梯度实验中, 植物体内 Cd 的富集系数和转移系数都大于 1.0. 当土壤中 Cd 含量达到 100 mg/kg 时, 地上部 Cd 含量达到 119.1 mg/kg, 具备了 Cd 超富集植物的基本特征. 以上表明, 三叶鬼针草幼苗对 Cd 有很强的耐性和累积 Cd 能力, 这对修复 Cd 污染土壤具有一定应用潜力和价值.

关键词: Cd 超富集植物; 三叶鬼针草; 植物修复; 耐性
中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)10-3028-08

Characteristics of Cadmium Tolerance and Bioaccumulation of *Bidens pilosa* L. Seedlings

SUN Yue-bing^{1,2}, ZHOU Qi-xing^{1,3}, WANG Lin^{1,2}, LIU Wei-tao^{1,2}, LIU Rui¹
(1. Key Laboratory of Terrestrial Ecological Process, Institute of Applied Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Key Laboratory of Pollution Process and Environmental Criteria, Ministry of Education, College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: *Bidens pilosa* L. has been identified as a newly found Cd-hyperaccumulator. In the present study, the characteristics of its Cd tolerance (growth response and physiological and biochemical characteristics) and accumulation were examined. The results showed that low Cd treatments (≤ 32 mg/kg) could enhance plant growth, the dry biomass of shoot and root increased by 32.4%-44.7% and 29.1%-57.6%, respectively, at Cd concentrations 8-32 mg/kg when compared with the control. The shoot dry biomass reached a maximum of 0.22 g/pot at a concentration 8 mg/kg of Cd. Meanwhile, under different Cd treatments, chlorophyll (Chl) and soluble protein contents in leaves slightly decreased, resulting in 23.3% and 41.5% reduction, respectively, compared with the control. The activities of superoxide dismutase (SOD) firstly decreased and then increased with increasing Cd concentration. Peroxidase (POD) activities and malondialdehyde (MDA) contents increased with increasing Cd concentration, with 1.2-6.6 and 1.1-1.5 times increase, respectively, relative to the control. However, the definite negative effects on the plant growth and characteristics of physiology and biochemistry were observed at higher Cd concentrations (50-100 mg/kg). In gradual experiments, the values of bioaccumulation and translocation were more than 1.0, furthermore, the concentration of Cd in shoots reached 119.1 mg/kg at the soil Cd level of 100 mg/kg, showing *B. pilosa* has the basic characteristics of a Cd-hyperaccumulator. The results above indicated that *B. pilosa* has strong capacity of Cd tolerance and accumulation, so it has potential and valuable application to phytoremediation of contaminated soils by Cd.

Key words: Cd-hyperaccumulator; *Bidens pilosa* L.; phytoremediation; tolerance

植物修复(phytoremediation)是通过植物系统及其根际圈微生物体系的吸收、挥发和转化、降解等作用机制来降低土壤中重金属的毒性,以期达到清除污染,修复和治理土壤为目的的新技术^[1-4]. 污染土壤植物修复技术以其不破坏土壤物理结构,能够维持土壤原有基本化学性状,保持土壤生物学活性和无二次污染等工艺特点而备受青睐^[5,6]. 污染土壤

收稿日期: 2008-03-30; 修订日期: 2009-05-11
基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2006AA06Z386); 中俄自然资源与生态环境联合研究中心项目
作者简介: 孙约兵(1978~), 博士研究生, 主要研究方向为污染土壤植物修复研究与生态治理.
* 通讯联系人, E-mail: Zhouqx@iae.ac.cn

植物修复的关键是选育出对污染元素有较强吸收能力的超富集植物(hyperaccumulator)。目前关于 Cd 超富集植物的衡量标准有以下 4 个方面:①临界含量标准,即植物茎或叶中(或地上部)重金属达到临界含量标准 100 mg/kg^[7],其重金属含量超过相同环境中的生长一般植物的 100 倍^[5,8,9];②富集系数标准,即富集系数 > 1.0,有时甚至高达 50 ~ 100^[10];③转移系数标准,即重金属在植物地上部含量大于根部^[7,11];④超富集植物对重金属污染有很强的耐性能力^[12~14]。根据以上标准,迄今为止,筛选出 Cd 超富集植物有 13 种,国外发现共有 4 种,分别是:天蓝遏蓝菜(*Thlaspi caerulescens*)^[15,16]、圆叶遏蓝菜(*Thlaspi rotundifolium*)^[17]、巴丽芥菜(*Cardaminossis halleri*)^[18]、*Thlaspi praecox*^[19,20]。而在我国镉超富集植物的筛选和确认研究也取得显著成就,如:宝山堇菜(*Viola baoshanensis*)^[21]、东南景天(*Sedum alfredii* H.)^[22,23]、龙葵(*Solanum nigrum* L.)^[11,24,25]、球果苳菜(*Rorippa globosa*)^[12,26]、商陆(*Phytolacca acinosa* Roxb.)^[27]、红苳菜(*Beta vulgaris* var. *cicla* L.)^[28]、水葱(*Scirpus tabernaemontani* G.)^[29]、紫茉莉(*Mirabilis jalapa*)^[30]和圆锥南芥(*Arabis paniculata* L.)^[31]等。然而,这些 Cd 超富集植物都不同程度存在着生长缓慢、植株矮小、地上部生物量较小和地域性分布等缺点,同时在基因工程培育理想的超富集植物方面进展也十分缓慢,这都严重制约了植物修复技术的有效性和广泛性应用^[1]。

三叶鬼针草为一年生草本植物,广泛分布于亚洲和美洲的热带和亚热带地区,是我国东北、华北、华东、西南等地主要农田杂草之一。其抗逆境能力强,具有较强的争光、争水和争肥能力,是修复重金属污染土壤较理想的种质资源。本研究拟采用盆栽试验,旨在探讨:①Cd 胁迫下三叶鬼针草幼苗的耐性能力,包括生长反应和生理生化特性;②三叶鬼针草幼苗对 Cd 超富集能力。

1 材料与方法

1.1 试验地点概况

试验地点设在中国科学院沈阳生态实验站内,地理位置为东经 123°41′、北纬 41°31′,海拔约 50 m,属温带半湿润大陆性气候,年平均温度 5 ~ 9℃,无霜期为 127 ~ 164 d,年降水量 650 ~ 700 mm。盆栽试验土壤采自该站休耕地表土(0 ~ 20 cm),土壤类型为草甸棕壤,其理化性质为 pH 值 6.56,有机质 12.26 g/kg,全 N 0.91 g/kg,全 P 0.4 g/kg,全 K 183

g/kg,总 Cd 0.17 mg/kg,总 Cu 32.9 mg/kg,总 Zn 28.1 mg/kg 和总 Pb 11.1 mg/kg。

1.2 试验方法

将供试土壤风干后过 4 mm 筛,每盆 2.5 kg,与一定量的污染物充分混匀后装入塑料盆($\phi = 20$ cm, $H = 15$ cm)。试验共设 6 个处理,分别为 CK、8、16、32、50 和 100 mg/kg,以 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 的形式加入。平衡 3 周后,选择生长一致的三叶鬼针草幼苗分别移栽入各盆中,每盆 3 棵苗,重复 3 次。为了使其在自然状况下生长,不施底肥且露天栽培,根据盆中土壤缺水情况,不定期浇水(水中未检出 Cd),使土壤含水量经常保持在田间持水量的 80% 左右。为防止污染物淋溶渗漏损失,在盆下放置塑料托盘并将渗漏液倒回盆中^[25]。植物生长 40 d 后分析。

1.3 生理生化指标的测定

叶片色素含量的测定:取 0.1 g 三叶鬼针草叶片加入质量分数 80% 丙酮溶液,浸提 24 h 后,于 665 和 645 nm 处测定光密度,单位为 mg/g ^[32](以鲜重计)。

称取 0.1 g 三叶鬼针草的叶片在液氮下研磨,加入预冷的磷酸盐缓冲液(pH 7.8),然后在 4℃ 下离心 30 min (10 000 r/min),上清液用作过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)和可溶性蛋白(SP)含量测定。

SOD 活性的测定:采用氮蓝四唑法,于 560 nm 处测定光密度,单位为 kU/kg ^[33](以鲜重计)。

POD 活性的测定:采用愈创木酚法,在 470 nm 测定光密度,单位为 kU/kg 表示^[34](以鲜重计)。

丙二醛(MDA)含量测定:采用硫代巴比妥酸显色法,单位为 mol/g ^[35](以鲜重计)。

可溶性蛋白(SP)含量测定:采用考马斯亮蓝法,单位为 mg/g ^[36](以鲜重计)。

1.4 生物量、植物和土壤中 Cd 含量的测定

植物样品分为根和地上部,分别用自来水充分冲洗以去除粘附于植物样品上的泥土和污物,然后再用去离子水冲洗,沥去水分,在 105℃ 杀青 10 min,然后在 70℃ 下烘干至衡重,将植物样品粉碎备用。植物和土壤样品采用 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ 法消化(体积比为 3:1),原子吸收分光光度计测定样品中的 Cd 含量。

1.5 统计分析

所有检测的数据都重复 3 次,在计算机上用 Microsoft Excel 2003 进行平均值和标准差的运算,以 $\text{Mean} \pm \text{SD}$ 形式表示,并利用最小显著性差异检验法

(LSD 方法)进行植物样品差异显著性分析.

2 结果与分析

2.1 不同浓度 Cd 处理对三叶鬼针草生物量的影响

图 1 表示的是不同 Cd 处理下三叶鬼针草地上部和地下部生物量的变化.从中可以看出,当 Cd 处理浓度 ≤ 32 mg/kg,投加 Cd 对三叶鬼针草的生长和发育有一定的促进效应.与对照相比,在土壤中 Cd 含量为 8~32 mg/kg时,植物地上部和根部生物量分

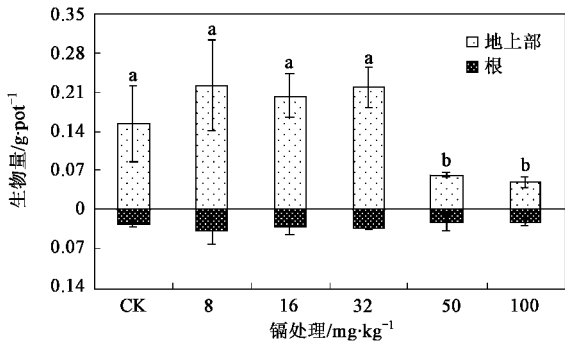


图 1 不同 Cd 处理下三叶鬼针草根部长地上部干重
Fig.1 Root and shoot dry biomass of *B. pilosa* grown in different Cd treatments

别增加了 32.4%~44.7%和 29.1%~57.6%,其中当 Cd 处理浓度为 8 mg/kg时,地上部干重达到最大值,为 0.22 g/pot.然而,随着土壤中 Cd 投加量的进一步提高,三叶鬼针草的生长发育也逐渐受到抑制.当 Cd 处理浓度增加到 50 和 100 mg/kg时,地上部生物量呈极显著下降($p < 0.01$),与对照相比,分别减少了 59.1%和 67.4%.所以,从 Cd 污染条件下三叶鬼针草幼苗生长来看,三叶鬼针草忍耐 Cd 胁迫的临界浓度为 32 mg/kg,说明了三叶鬼针草具备了 Cd 超富集植物基本的耐性特征.

2.2 Cd 胁迫对三叶鬼针草生理生化特性的影响

由表 1 可知,三叶鬼针草的叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素 a + b 的含量以及叶绿素 a/b 比值基本上具有相一致的变化规律,都随着 Cd 处理浓度的增加而出现降低.然而,在各浓度 Cd 处理中,仅有叶绿素 a 含量在土壤 Cd 浓度达到 100 mg/kg时显著下降.尽管叶绿素 b 和叶绿素 a + b 的含量没有显著受到抑制,但当 Cd 处理浓度 ≥ 50 mg/kg时,都呈现降低趋势,分别较对照下降了 12.7%~14.5%和 22.2%~23.3%.而叶绿素 a/b 比值则在 Cd 浓度为 32 mg/kg 时降到最低.

表 1 不同 Cd 处理对三叶鬼针草的叶绿素含量的影响

Table 1 Effect of Cd treatments on chlorophyll content in the leaves of *B. pilosa*

Cd 浓度/mg·kg ⁻¹	叶绿素 a/mg·g ⁻¹	叶绿素 b/mg·g ⁻¹	叶绿素 a + b/mg·g ⁻¹	叶绿素 a/b
CK	1.24 ± 0.22a	0.55 ± 0.18a	1.80 ± 0.40a	2.30 ± 0.36a
8	1.11 ± 0.06ab	0.54 ± 0.02a	1.65 ± 0.09a	2.07 ± 0.03a
16	1.05 ± 0.25ab	0.50 ± 0.08a	1.55 ± 0.33a	2.09 ± 0.17a
32	0.98 ± 0.19ab	0.77 ± 0.44a	1.75 ± 0.44a	1.54 ± 0.75a
50	0.92 ± 0.04ab	0.48 ± 0.05a	1.40 ± 0.08a	1.95 ± 0.19a
100	0.91 ± 0.15b	0.47 ± 0.05a	1.38 ± 0.20a	1.93 ± 0.14a

POD 和 SOD 酶活性的变化与植物体内氧化胁迫有直接关系^[37,38].一般认为 Cd 胁迫会诱导植物 SOD 的表达,但这种促进及其持续时间因处理浓度、植物种类和处理植株的大小等而异^[39].本实验中,随着 Cd 的浓度增加,SOD 酶活出现先减少后升高的变化趋势,当土壤中 Cd 浓度为 32 mg/kg时,三叶鬼针草叶片中 SOD 酶活性降到最低.POD 酶活性随着 Cd 浓度增加而增加,呈显著正相关(图 2),相关系数 $R^2 = 0.81$,回归方程为 $y = 0.35x - 0.35$.但当土壤中 Cd 投加浓度 ≤ 16 mg/kg时,与对照相比,POD 酶活性增加不大.然而,当 Cd 含量 ≥ 32 mg/kg时,POD 酶活性分别比对照增加了 1.1、3.0 和 5.7 倍.可见这 2 种保护性酶均可被激活以抵抗 Cd 胁迫,SOD 活性先减后增,可能是因为对 Cd 胁迫较为敏感从而导

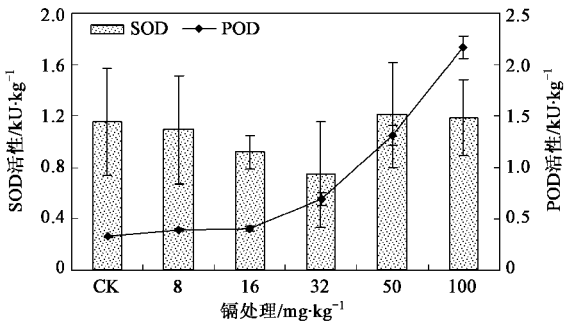


图 2 不同 Cd 处理下三叶鬼针草叶片中 SOD 和 POD 活性
Fig.2 SOD and POD activities in leaves of *B. pilosa* under the treatments of Cd

致胁迫反应滞后,而 POD 活性在此浓度梯度条件下,一直处于增长趋势,在抗逆性中起主要作用,这

与前人研究结果相同^[36,40].

研究表明,MDA 含量增加是重金属胁迫一个普遍症状^[41,42]. MDA 的形成表明了氧化胁迫的发生,它可与蛋白质、核酸、氨基酸等活性物质交联,形成不溶性化合物沉淀,进而干扰细胞正常生命活动^[43]. $\text{O}_2^{\cdot-}$ 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^[44]. 三叶鬼针草叶片内 MDA 含量总体随着 Cd 浓度增加而增加,呈极显著相关性(图 3),相关系数 $R^2 = 0.87$,回归方程为 $y = 0.47x - 3.31$. 但直到 Cd 浓度 $\geq 50 \text{ mg/kg}$ 时,MDA 含量才出现显著增加,与对照相比,分别增加了 50.9%和 51.1%.

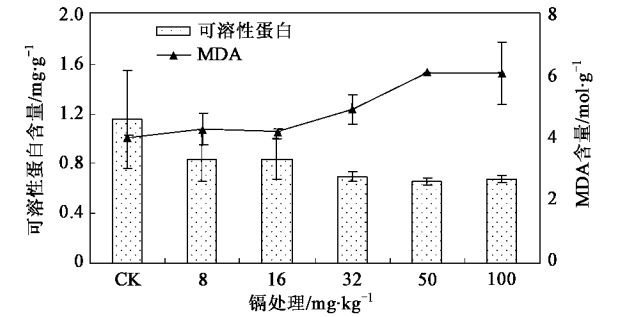


图 3 Cd 处理下三叶鬼针草叶片中 SP 和 MDA 含量变化

Fig.3 Changes of SP and MDA contents in leaves of *B. pilosa* with Cd treatments

生物体内蛋白质含量的变化是外界胁迫下生物生长发育受到影响的直接指示^[37]. 受土壤中 Cd 浓度的影响,SP 含量总体处于下降趋势.当 Cd 含量 $\geq 32 \text{ mg/kg}$ 时,SP 含量才出现显著下降.与对照相比,分别降低了 39.7%、43.1%和 41.4%.

2.3 苗期三叶鬼针草对 Cd 的吸收和积累能力

图 4 表示的是不同浓度 Cd 处理对三叶鬼针草体内 Cd 含量的影响.从中可以看出,地上部和根部 Cd 含量随着土壤中 Cd 浓度呈极显著的线性增加关系.通过一元线性回归分析可得回归方程分别为:根部 $y = 14.74x - 8.86$, $R^2 = 0.98$ ($p < 0.01$); 地上部 $y = 22.07x - 14.89$, $R^2 = 0.97$ ($p < 0.01$). 在本实验中,当三叶鬼针草幼苗地上部干重没有受到抑制时(Cd 32 mg/kg),地上部的 Cd 含量达到 43.8 mg/kg ,随着土壤中 Cd 投加浓度增加到 100 mg/kg ,地上部 Cd 含量达到 119.1 mg/kg ,超过 Cd 超富集植物临界含量标准,即 100 mg/kg ^[7,45]. 虽然在土壤中 Cd 浓度为 32 mg/kg 时,三叶鬼针草幼苗体内 Cd 浓度没有达到 Cd 超富集植物临界含量标准,但在开花期和成熟期其地上部 Cd 含量分别达到 178.0 mg/kg

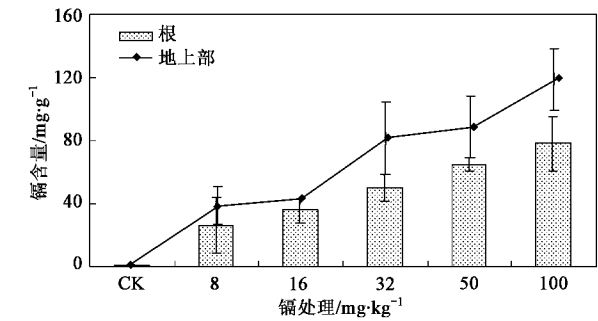


图 4 不同 Cd 处理下三叶鬼针草体内 Cd 含量

Fig.4 Concentration of Cd in *B. pilosa* grown in different Cd treatments

和 163.8 mg/kg ^[46].

富集系数(bioaccumulation factor, BF)也称吸收系数,是指植物中重金属含量与土壤中含量之比^[1,10,47].富集系数是表征土壤-植物系统中重金属元素的迁移的难易程度,也是反映植物将重金属通过吸收转移到体内能力大小的评价指标,即富集系数越高,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.同时,一种植物具有超富集植物基本特征,其富集系数必须 > 1.0 . 由表 2 可以看出,在各浓度 Cd 处理中三叶鬼针草的富集系数介于 1.19~4.83,都大于 1.0,具备了 Cd 超富集植物富集系数特征^[1,45]. 然而,随着土壤中 Cd 浓度的增大,其富集系数逐渐减少,说明了高浓度 Cd 处理抑制了植物对 Cd 的吸收和积累.

表 2 不同 Cd 处理下三叶鬼针草的富集系数、转移系数、吸收量和提取率

Table 2 Bioaccumulation factor, transfer factor, accumulation and extraction ratios of Cd in <i>B. pilosa</i> under different Cd treatments				
Cd 浓度 / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	富集系数 (BF)	转移系数 (TF)	吸收量 / $\mu\text{g}\cdot\text{pot}^{-1}$	提取率 /%
CK		2.28	0.34	
8	4.83	1.47	8.59	0.048
16	2.74	1.21	8.95	0.05
32	2.55	1.64	17.92	0.10
50	1.78	1.37	5.58	0.031
100	1.19	1.52	5.95	0.033

转移系数(translocation factor, TF)是指地上部重金属元素的含量与地下部同种重金属元素含量的比值^[1,3],用来评价植物将重金属从地下向地上部运输和富集能力.转移系数越大,则重金属从根系向地上部器官转运能力就越强^[12],作为超富集植物,其转移系数应该 > 1.0 . 由表 2 可以看出,三叶鬼针草的转移系数介于 1.21~2.28,具备了 Cd 超富集植物转移系数特征^[1,45]. 然而,随着土壤中 Cd 投加浓度

的增加抑制了 Cd 由土壤向植物地上部的转移,其转移系数随之降低。

重金属的吸收量(metal accumulation)和提取率(metal extraction ratio)是评价超富集植物提取修复重金属污染土壤潜力的重要指标之一。从表 2 可以看出,当土壤中 Cd 浓度达到 32 mg/kg 时,三叶鬼针草对 Cd 的吸收量和提取达到最大,分别为 17.92 $\mu\text{g}/\text{pot}$ 和 0.1%。

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。对于一般对 Cd 耐性较差植物, Cd 可以结合叶绿体中蛋白质上的一SH或取代其中的 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 等,从而破坏叶绿体结构和功能活性^[48],或者可能导致叶绿素分解加快,叶绿素含量减少,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。由表 1 和图 1 可知,三叶鬼针草地上部干重和叶绿素含量存在着基本相似的变化规律,所以叶绿素含量可以反映植物对重金属耐性特征^[32,49]。

研究表明超富集植物对重金属具有较强的耐性机制,一方面在于液泡的区室化作用和植物体内某些有机物(如 MTs、PCs 和有机酸等)对重金属的螯合作用,降低了重金属的毒性^[50-52]。另一方面可能在于某些抗氧化酶系统如超氧化物歧化酶(SOD)等的反应^[38,53]。SOD 和 POD 能够有效清除细胞内氧自由基和过氧化物。SOD 是一种重要的活性氧防御酶,在消除超氧物自由基、减轻脂质过氧化作用和膜伤害方面起重要作用^[54]。它能把 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 转化成 H_2O 和 O_2 ,抑制高活性的 $\cdot\text{OH}$ 等的形成。作为一种诱导酶,在重金属胁迫下,植物体内 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量的增加在一定程度上能诱导该酶活性上升,保持植物体清除自由基的正常功能, SOD 活性的提高是相应于 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量增加的应急解毒措施,从而使植物细胞免受毒害的调节反应^[55]。Sun 等^[38]研究发现, Cd 处理能够显著提高超富集植物龙葵的根部 SOD 和叶中 POD 活性,而且其活性也显著高于同属非超富集植物-茄子。同样,在低 As (< 20 mg/kg)浓度处理条件下, As 超富集植物蜈蚣草体内抗氧化酶(SOD 等)活性随土壤中 As 投加浓度增加而增大,但是,当土壤中 As 投加浓度超过 20 mg/kg 时,抗氧化酶活性随之降低^[51]。刘美青等^[56]通过相关分析发现 2 种生态型 *Thlaspi caerulescens* 地上部 Zn 浓度与 SOD 活性极显著正相关,进而认为 SOD 活性的提高是 *T.*

Caerulescens 超积累 Zn 的内在机制之一。POD 是植物体内清除活性氧伤害的酶保护系统,在清除超氧自由基、控制膜脂的过氧化作用和保护细胞膜的正常代谢方面起重要作用,将 H_2O_2 催化形成 H_2O ,从而有效阻止 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 的积累,限制这些自由基对膜脂过氧化的启动^[57]。Van Assche 等^[58]研究发现,许多植物对重金属的共同响应为组织中的 POD 活性明显升高,说明其抗氧化酶系统在加强植物抗性方面起到重要作用。然而,酶的保护作用是有一定限度的,即使是耐性植物,其酶活性也存在一个阈值,超过这个范围,它们的活性则要下降^[59]。

在人为控制实验条件下,土壤中重金属浓度高到足以使植物地上部重金属达到超富集植物应达到的临界含量标准时地上部生物量没有下降是评价超富集植物耐性一个重要指标^[11,60,61]。刘威等^[21]研究表明,在 0~30 mg/L 的 Cd 营养液培养条件下, Cd 超富集植物宝山堇菜生物量随 Cd 浓度增加逐渐增加, Cd 浓度在 30 mg/L 时生物量达到最大值,与对照相比,生物量增加将近 300%。进一步增大 Cd 浓度,植物生物量则急剧下降,甚至叶片枯死。Zn 超富集植物东南景天也具有相似的规律,在 Zn 浓度 < 80 mg/kg 时,地上部和根部干重随着 Zn 投加含量增加而增加,但当生长介质中 Zn 浓度 > 160 mg/kg 时,东南景天的生长开始受到抑制,地上部和根部干重随 Zn 供应水平增加而显著下降^[23]。同样,当土壤中 Cd 浓度超过 25 mg/kg 时, Cd 的投加抑制了 Cd 超富集植物龙葵的生长,生物量出现了一定程度下降^[11,62]。以上说明了超富集植物对重金属胁迫的耐性有一定的限度,其在修复重金属污染土壤的技术层面上有一定的浓度上限要求和限值。总之,三叶鬼针草地上部生物量和生理生化特性没有受到显著抑制,故可以认为 Cd 投加量为 32 mg/kg 是三叶鬼针草应对 Cd 胁迫的临界浓度。同时,三叶鬼针草在 $\text{Cd} \leq 32$ mg/kg 的土壤中显示出对 Cd 有很强的耐性能力,表现出超富集植物基本的耐性特征。

然而,对重金属具有很强耐性的植物并不一定就是超富集植物,一些排异性植物和指示型植物对重金属具有也有很强的耐性能力^[63-65]。超富集植物与这些植物的本质区别在于其体内,尤其是地上部能够累积大量的重金属。同时,重金属富集系数和转移系数都 > 1.0(表 3)。超富集植物之所以能够大量吸收和积累 Cd,是由于液泡的区室化作用和某些有机物(如 GSH、MTs、PCs 和有机酸等)对 Cd 的螯合作用。有机酸是一类重要的重金属配位体,参与重金属

表 3 目前在我国新发现的 Cd 富集植物
Table 3 Newly found Cd-hyperaccumulating plants in China

植物	生长条件	部位	含量	富集系数	转移系数	文献来源
龙葵(<i>Solanum nigrum</i> L.)	25 mg/kg 土培	地上部	101.1 mg/kg	2.02	1.04	[11,24,25]
东南景天(<i>Sedum alfredii</i> Hance)	400 μmol/L 水培	叶	9 000 mg/kg			[22,23]
紫茉莉(<i>Mirabilis jalapa</i>)	100 mg/kg 土培	地上部	113.5 mg/kg	1.13	2.25	[31]
宝山堇菜(<i>Viola baoshanensis</i>)	矿区	地上部	981 mg/kg	2.38	1.32	[21]
	30 mg/L 水培	地上部	4 825 mg/kg		1.67	[21]
圆锥南芥(<i>Arabis paniculata</i> L.)	30 mg/L 水培	地上部	3 569 mg/kg		2.15	[32]
球果堇菜(<i>Rorippa globosa</i>)	25 mg/kg 土培	地上部	104.5 mg/kg	4.8	1.82	[12,26]
商陆(<i>Phytolacca acinosa</i> Roxb)	20 mg/kg 土培	地上部	149.78 mg/kg	7.49	3.08	[30]
	20 mg/kg	地上部	199.37 mg/kg	9.97	2.54	[30]
红苕菜(<i>Beta vulgaris</i> var. <i>cicla</i> L.)	20 mg/kg 土培	叶	159.79 mg/kg	7.99	2.83	[28]
水葱(<i>Scirpus tabernaemontani</i> G.)	pH 4.7, 25 mg/L 水培	地上部	264.71 mg/kg		1.13	[29]

的吸收、运输、贮存和解毒等功能.孙瑞莲等^[66]研究发现,苗期龙葵叶中酒石酸含量与 Cd 含量呈极显著相关,成熟期则乙酸和柠檬酸与叶片中 Cd 含量呈极显著相关.PCs 和 MTs 通过巯基与 Cd²⁺ 相结合,减少细胞内游离的重金属离子,从而减轻重金属对植物的毒害.由于缺少 PCs 合成酶,拟南芥 *cad1* 突变体对 Cd 胁迫非常敏感^[67].MTs 对 Zn²⁺ 和 Cu²⁺ 的解毒效果非常明显,Murphy 等^[68]证实 Cu²⁺ 诱导拟南芥 MT2 表达,而且其表达强度与不同基因型抗 Cu 胁迫的能力密切相关.这些物质一方面降低了 Cd 对植物体的毒害,另一方面促进了 Cd 在植物体内的吸收、运输和积累.例如,目前研究最多的 Cd 超富集植物 *T. Caerulescen*,其体内积累的 Cd 含量达到 2 500 mg/kg,尽管随着生态型的不同,Cd 的吸收效率具有明显差异^[69,70].刘威等^[21]研究发现矿区宝山堇菜地上部 Cd 平均含量为 1 168 mg/kg,转移系数和富集系数分别为 1.32 和 2.38.在水培实验中,当 Cd 浓度为 50 mg/L 时,地上部达到 4 825 mg/kg.而当 Cd 处理浓度为 400 μmol/L 时,东南景天叶中 Cd 含量达到 9 000 mg/kg^[23],富集系数和转移系数都 > 1.0.本研究中,从三叶鬼针草对镉的吸收和积累特点来看,其符合镉超富集植物临界含量特征、富集系数和转移系数特征,是一种新的镉超富集植物.

4 结论

(1)在 Cd 胁迫条件下,低浓度 Cd 处理(≤ 32 mg/kg)促进三叶鬼针草幼苗的生长和发育,当 Cd 投加量为 8 ~ 32 mg/kg 时,与对照相比,植物地上部和根部生物量分别增加了 32.4% ~ 44.7% 和 29.1% ~ 57.6%,其中当 Cd 处理浓度为 8 mg/kg 时,地上部干重达到最大值,为 0.22 g/pot.随着 Cd 投加浓度增高(50 ~ 100 mg/kg),植物生长受到明显抑制,地上部生

物量呈极显著下降($p < 0.01$).说明了三叶鬼针草对 Cd 污染有很强的耐性能力,同时其耐性存在一定的阈值.

(2)Cd 污染对三叶鬼针草幼苗的生理生化指标产生一系列的影响.低浓度 Cd 处理(≤ 32 mg/kg)条件下,随着土壤中 Cd 浓度的增加,叶绿素含量随之降低,但不太显著;POD 酶活性被诱导而激活,随 Cd 投加浓度增加而增加;SOD 酶活性先减少后增加,从而有效保护植物细胞免受活性氧的损伤;丙二醛(MDA)含量随 Cd 浓度增加而增大,当 Cd 浓度 > 32 mg/kg 时,其含量呈极显增加;SP 含量总体处于下降趋势,当 Cd 含量增加到 32 mg/kg 时,SP 含量显著下降.显示出在高浓度 Cd 处理(50 ~ 100 mg/kg)对三叶鬼针草幼苗的生理生化特征产生一定的负效应.

(3)在苗期,三叶鬼针草具有 Cd 超富集植物基本特征,在各梯度实验中,富集系数和转移系数都大于 1.0.地上部 Cd 含量随着 Cd 投加量增加而呈线形增加,当土壤中 Cd 浓度增加到 100 mg/kg 时,地上部 Cd 含量达到 119.1 mg/kg.

参考文献:

[1] 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.

[2] 孙铁珩,李培军,周启星.土壤污染形成机理与修复技术[M].北京:科学出版社,2005.

[3] 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.

[4] Barceló J, Poschenrieder C. Phytoremediation: principles and perspectives [J]. Contrib Sci, 2003, 2(3): 333-344.

[5] Salt D E, Smith R D, Raskin I. Phytoremediation [J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1998, 49(5): 643-668.

[6] Li Y M, Chaney R, Brewer E, et al. Development of a technology for commercial phytoextraction of nickel: economic and technical considerations [J]. Plant and Soil, 2003, 249: 107-115.

[7] Baker A M J, Brooks R R. Terrestrial higher plants which

- hyperaccumulate metallic elements-a review of their distribution, ecology and phytochemistry [J]. *Biorecovery*, 1989, **1**(4): 811-826.
- [8] Chaney R L, Malik K M, Li Y M, *et al.* Phytoremediation of soil metals [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 1997, **8**: 279-284.
- [9] Raskin I, Ensley B D. Phytoremediation of toxic metals using plants to clean up the environment [M]. New York: Wiley, 2000. 316.
- [10] Brooks R R. Plants that hyperaccumulate heavy metals: their role in phytoremediation, microbiology, archaeology, mineral exploration and phytomining [M]. Oxford, UK: CAB International, 1998.
- [11] 魏树和,周启星,王新,等. 一种新发现的镉超积累植物龙葵 (*Solanum nigrum* L.) [J]. *科学通报*, 2004, **49** (24): 2568-257.
- [12] 孙约兵,周启星,任丽萍. 镉超富集植物球果堇菜对镉-砷复合污染的反应及其吸收积累特征[J]. *环境科学*, 2007, **28**(6): 1355-1360.
- [13] 周启星,魏树和,刁春燕. 污染土壤生态修复基本原理及研究进展[J]. *农业环境科学学报*, 2007, **26**(2): 419-424.
- [14] Wei S H, Zhou Q X. Identification of weed species with hyperaccumulative characteristics of heavy metals [J]. *Prog Nat Sci*, 2004, **14**(6): 495-503.
- [15] Perronet K, Schwartz C, More J L. Distribution of cadmium and zinc in the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* grown on multicontaminated soil [J]. *Plant and Soil*, 2003, **249**: 19-25.
- [16] Brown S L, Chaney R L, Angle J S, *et al.* phytoremediation potential of *Thlaspi caerulescens* and bladder campion for zinc- and cadmium-contaminated soil [J]. *J Environ Qual*, 1994, **23**: 1151-1157.
- [17] Wenzel W W, Jockwer F. Accumulator of heavy metals in plants grown on mineralised soils of the Austrian Alps [J]. *Environ Pollut*, 1999, **104**: 145-155.
- [18] Dahmani-Muller H, van Oort F, Gélis B, *et al.* Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter [J]. *Environ Pollut*, 2000, **19**: 231-238.
- [19] Vogel-Mikuš K, Pongrac P, Kump P, *et al.* Localisation and quantification of elements within seeds of Cd/Zn hyperaccumulator *Thlaspi praecox* by micro-PIXE [J]. *Environ Pollut*, 2007, **147**: 50-59.
- [20] Tolrà R, Pongrac P, Poschenrieder C, *et al.* Distinctive effects of cadmium on glucosinolate profiles in Cd hyperaccumulator *Thlaspi praecox* and non-hyperaccumulator *Thlaspi arvense* [J]. *Plant and Soil*, 2006, **288**: 333-341.
- [21] 刘威,束文圣,蓝崇钰. 宝山堇菜 (*Viola baoshanensis*)——一种新的镉超富集植物[J]. *科学通报*, 2003, **48**(19): 2046-2049.
- [22] 熊愈辉,杨肖娥,叶正钱,等. 东南景天对镉、铅的生长反应与积累特性比较[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2004, **32**(6): 101-106.
- [23] Yang X E, Long X X, Ye H B, *et al.* Cadmium tolerance and hyperaccumulation in a new Zn-hyperaccumulating plant species (*Sedum alfredii* Hance) [J]. *Plant and Soil*, 2004, **259**: 181-189.
- [24] Wei S H, Zhou Q X, Koval P V. Flowering stage characteristics of cadmium hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and their significance to phytoremediation [J]. *Sci Total Environ*, 2006, **369**: 441-446.
- [25] 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.
- [26] 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.
- [27] 聂发辉. 镉超富集植物商陆及其富集效应 [J]. *生态环境*, 2006, **15**(2): 303-306.
- [28] 李玉双,孙丽娜,孙铁珩,等. 超富集植物叶用红苋菜及其对 Cd 的富集特征[J]. *农业环境科学学报*, 2007, **26**(4): 1386-1389.
- [29] 李硕,刘云国,李永丽,等. 水葱修复土壤镉污染潜力的研究 [J]. *环境污染与防治*, 2006, **28**(2): 84-86.
- [30] 周启星,刘家女. 一种利用紫茉莉花卉植物修复重金属污染土壤的方法[P]. 发明专利, 200610046244.9.
- [31] 汤叶涛,仇荣亮,曾晓雯,等. 一种新的多金属超富集植物——圆锥南芥 (*Arabis paniculata* L.) [J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2005, **44**(4): 135-136.
- [32] Hegedüs A, Erdei S, Horváth G. Comparative studies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barley seedling under cadmium stress [J]. *Plant Sci*, 2001, **60**: 1085-1093.
- [33] 李合生. 植物生理生化实验原理与技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2000.
- [34] 朱广廉. 植物生理学实验指导[M]. 北京:北京大学出版社, 1990.
- [35] 陈建勋,王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州:华南理工大学出版社, 2002.
- [36] Wang M E, Zhou Q X. Joint stress of chlorimuron-ethyl and cadmium on wheat *Triticum aestivum* at biochemical levels [J]. *Environmental Pollution*, 2006, **144**: 572-580.
- [37] 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.
- [38] Sun R L, Zhou Q X, Sun F H, *et al.* Antioxidative defense and proline/phytochelatin accumulation in a newly discovered Cd-hyperaccumulator, *Solanum nigrum* L. [J]. *Environ Exp Bot*, 2007, **60**: 468-476.
- [39] 邵国胜, Hassan M J, 章秀福,等. 镉胁迫对不同水稻基因型植株生长和抗氧化酶系统的影响[J]. *中国水稻科学*, 2004, **18** (3): 239-241.
- [40] 徐文卫,王宏信,李文一,等. 重金属富集植物黑麦草对 Zn 的响应[J]. *水土保持学报*, 2006, **20**(3): 43-46.
- [41] Mallick N. Copper-induced oxidative stress in the chlorophycean microalga *Chlorella vulgaris*: Response of the antioxidant system [J]. *J Plant Physiol*, 2004, **161**: 591-597.
- [42] Singh S, Eapen S, D'Souza S F. Cadmium accumulation and its influence on lipid peroxidation and antioxidative system in an aquatic plant, *Bacopa monnieri* L. [J]. *Chemosphere*, 2006, **62**: 233-246.
- [43] 徐勤松,施国新,杜开和. 镉胁迫对水车前叶片抗氧化酶系统和亚显微结构的影响[J]. *农村生态环境*, 2001, **17**(2): 30-34.

[44] 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.

[45] Brooks R R. Plants that hyperaccumulate heavy metals: their role in phytoremediation, microbiology, archaeology, mineral exploration and phytomining [M]. Oxford, UK: CAB International, 1998.

[46] Sun Y B, Zhou Q X, Wang L, *et al.* Cadmium tolerance and accumulation characteristics of *Bidens pilosa* L. as a potential Cd-hyperaccumulation [J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, **161**: 808-814.

[47] 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.

[48] 孙赛初,王焕校,李启任. 水生维管植物受镉污染后生理变化及受害机制初探[J]. 植物生理学报,1985, **11**(2): 113-121.

[49] 孙瑞莲. 镉超积累植物的生态特征及污染耐性机理分析[D]. 沈阳:沈阳应用生态研究所,2006.

[50] 孙瑞莲,周启星. 高等植物重金属耐性与超积累特性及其分子机理研究[J]. 植物生态学报, 2005, **29**(3): 497-504.

[51] Alkorta J, Hernández A J M, Becerril I, *et al.* Chelate-enhanced phytoremediation of soils polluted with heavy metals [J]. Environ Sci Bio/Technol, 2004, **3**(1): 55-70.

[52] Vazquez M D, Poschenrieder C, Bareelo J, *et al.* Compartment of zinc in roots and leaves of the zinc hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* [J]. Botany Acta, 1994, **107**: 243-250.

[53] Cao X D, Ma Lena Q, Tu C. Antioxidative responses to arsenic in the arsenic-hyperaccumulator Chinese brake fern (*Pteris vittata* L.) [J]. Environ Pollut, 2004, **128**: 317-325.

[54] 施国新,杜开和,解凯彬,等. 汞、镉污染对黑藻叶细胞伤害的超微结构研究[J]. 植物学报,2000, **42**: 373-378.

[55] 罗广华,王爱国,邵从本,等. 高浓度氧对种子萌发和幼苗生长的伤害[J]. 植物生理学报,1987, **13**(2): 161-167.

[56] 刘美青,江荣风,赵方杰. Zn 对 Zn 超积累植物遏蓝菜 (*Thlaspi caerulescens* L.)超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, **25**: 465-470.

[57] 张太平,潘伟斌. 重金属污染环境来源的玉米 POD 对 Pb²⁺ 的胁迫反映[J]. 华南理工大学学报(自然科学版),2003, **31**(2): 5-8.

[58] Van Assche F, Clijsters H. Effects of metal on enzyme activity in plants [J]. Plant Cell Environ, 1990, (13): 195-206.

[59] 王美娥,周启星. 重金属 Cd、Cu 对小麦 (*Triticum aestivum*) 幼苗生理生化过程的影响及其毒性机理研究[J]. 环境科学学报, 2006, **26**(12): 2033-2038.

[60] Ernst W H O, Nelissen H J M. Life-cycle phases of a zinc- and cadmium-resistant ecotype of *Silene vulgaris* in risk assessment of polymetallic mine soils [J]. Environ Pollut, 2000, **107**: 329-338.

[61] Wei S H, Zhou Q X. Identification of weed species with hyperaccumulative characteristics of heavy metals [J]. Prog Nature Sci, 2004, **14**: 1259-1265.

[62] 魏树和,周启星,王新. 超积累植物龙葵及其对镉的富集特征[J]. 环境科学, 2005, **26**(3): 167-171.

[63] Wenzel W W, Bunkowski M, Puschenreiter M, *et al.* Rhizosphere characteristics of indigenously growing nickel hyperaccumulator and excluder plants on serpentine soil [J]. Environ Pollut, 2003, **123**: 131-138.

[64] Wei S H, Zhou Q X, Wang X. Identification of weed plants excluding the uptake of heavy metals [J]. Environ Int, 2005, **21**: 829-834.

[65] Peer W A, Baxter I R, Richards E L, *et al.* Phytoremediation and hyperaccumulator plants [A]. In: Topics in Current Genetics. Molecular Biology of Metal Homeostasis and Detoxification [C]. Verlag Berlin Heidelberg, 2005.

[66] 孙瑞莲,周启星,王新. 镉超积累植物龙葵叶片中镉的积累与有机酸含量的关系[J]. 环境科学,2006, **27**(4): 765-769.

[67] Howden R, Goldsbrough P B, Anderson C R, *et al.* Cadmium-sensitive cad1 mutants of *Arabidopsis thaliana* are phytochelatin deficient [J]. Plant Physiol, 1995, **107**: 1059-1066.

[68] Murphy A, Zhou J, Goldsbrough P B, *et al.* Purification and immunological identification of metallothioneins 1 and 2 from *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Physiol, **113**: 1293-1301.

[69] Lombi E, Zhao F J, Dunham S J, *et al.* Cadmium accumulation in populations of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi goesingense* [J]. New Phytol, 2000, **145**: 11-20.

[70] Schwartz C, Morel J L, Saumier S, *et al.* Root development of the zinc hyperaccumulator plant *Thlaspi caerulescens* as affected by metal origin, content and localisation in soil [J]. Plant and Soil, 1999, **208**: 103-115.