

硫对超积累东南景天镉累积、亚细胞分布和化学形态的影响

李会合^{1,2}, 杨肖娥^{1*}

(1 浙江大学环境与资源学院, 浙江杭州 310029; 2 重庆文理学院生命科学与技术学院, 重庆永川 402168)

摘要: 采用差速离心技术和化学试剂逐步提取法研究了硫对超积累东南景天镉累积、亚细胞分布和化学形态的影响。结果表明, 增硫处理(S2和S3)显著提高超积累东南景天根、茎和叶的镉含量、累积量及整株累积总量。镉在超积累东南景天根、茎和叶中的含量和分配比例为 F1(细胞壁) > F3(可溶性部分) > > F2(细胞器与膜), 细胞壁(F1)是 Cd 在超积累东南景天细胞内的主要结合位点; 超积累东南景天根、茎和叶 F1、F2、F3 组分中的镉含量随着硫水平的提高而增加, 但分配比例变化不一致; 超积累东南景天植物体内镉形态以氯化钠提取态(F_{NaCl})、醋酸提取态(F_{HAc})和水提取态(F_W)占优势。增施硫处理, 提高超积累东南景天根 F_{NaCl} 、 F_{HAc} 和 F_W 提取态镉含量和分配比例, 降低 F_E 和 F_{HCl} 提取态镉含量和分配比例; 茎 F_{NaCl} 和 F_{HAc} 提取态镉含量和分配比例增加, F_W 、 F_E 和 F_{HCl} 提取态镉分配比例降低; 叶 F_{NaCl} 、 F_{HAc} 和 F_W 提取态镉的含量增加, 但对其分配比例影响不大。

关键词: 超积累植物东南景天; 硫; 镉; 亚细胞分布; 化学形态

中图分类号: Q945

文献标识码: A

文章编号: 1008-505X(2009)02-0395-08

Effects of sulfur on accumulation, subcellular distribution and chemical forms of cadmium in hyperaccumulator-*Sedum alfredii* Hance

LI Hui-he^{1,2}, YANG Xiao-e^{1*}

(1 College of Environmental & Resource Sciences, Zhejiang University, Zhejiang, Hangzhou 310029, China;

2 College of Life Science & Technology, Chongqing University of Arts & Sciences, Chongqing, Yongchuan 402168, China)

Abstract: Differential centrifugation techniques and sequential chemical extraction method were used to study the effects of sulfur on accumulation, subcellular distribution and chemical forms of cadmium in hyperaccumulator-*Sedum alfredii* Hance. The results showed that Cd contents and amounts of Cd accumulated in leaves, stems and roots of *Sedum alfredii* Hance increased significantly with increasing S supplies from 1.5 to 2.25 mmol/L. The contents and percentage of Cd in roots, stems and leaves of hyperaccumulator-*Sedum alfredii* Hance decreased in the following pattern: cell wall (F1) > soluble fraction (F3) > > cell organ and membrane (F2) and most of Cd was bound to the cell wall of hyperaccumulator-*Sedum alfredii* Hance. The contents of Cd in F1, F2, F3 fraction of roots, stems and leaves of hyperaccumulator-*Sedum alfredii* Hance were increased and the change of percentage of Cd were different with increasing S supplies. As to Cd chemical forms, NaCl-, acetic acid- and water-extractable Cd forms were dominant. With increasing S supplies, contents and percentages of NaCl-, acetic acid- and water-extractable Cd forms in roots, NaCl- and acetic acid- extractable Cd forms in stems were increased, but ethanol- and HCl-extractable Cd forms in root and water-, ethanol- and HCl-extractable Cd forms in stem were decreased. Increasing S supplies enhanced contents of NaCl-, acetic acid- and water-extractable Cd forms in leaves, but little effect on their percentages.

Key words: *Sedum alfredii* Hance; sulfur; cadmium; subcellular distribution; chemical form

收稿日期: 2008-07-01 接受日期: 2008-11-10

基金项目: 中国博士后科学基金项目(20070421195); 国家自然科学基金项目(306330046); 重庆文理学院院内项目(Y2006SK67)资助。

作者简介: 李会合(1977—)男, 河南内乡人, 副教授, 博士后, 从事植物营养生理、环境生态等方面的研究。E-mail: lihuihe@163.com

* 通讯作者 Tel: 0571-86971907, E-mail: xyang@zju.edu.cn

镉(Cd)是生物毒性最强的重金属元素之一,在环境中的化学活性强、移动性大、毒性持久,容易通过食物链的富集作用危及人体健康^[1,2]。镉元素(Cd)为植物的非必需元素,植物对Cd的过量吸收将对植物本身造成严重伤害。但Cd超积累植物能够从土壤中吸收大量的Cd贮藏于体内,而不会对其本身造成任何毒害,这与其超强的解毒机制密不可分。植物对重金属胁迫的抗性可通过避性(Avoidance)和耐性(Tolerance)两种途径来实现^[3]。而对重金属的耐性,又包括金属排斥(Exclusion)和金属富集(Accumulation)两种途径,前者指重金属被植物吸收后又被排出体外,或者重金属在植物体内的运输受阻;后者主要指重金属在植物体内以不具生物活性的解毒形态存在,如结合到细胞壁、进入液泡、与有机酸或蛋白质络合等^[4]。超积累植物是一种极端的金属富集型,重金属在超积累植物体内的分布总是尽量避免损伤功能性组织、细胞和细胞器,表现出选择性分配的特点^[5]。

硫作为植物生长的必需元素,主要以半胱氨酸和甲硫氨酸残基形式存在于蛋白质和许多小分子代谢物(如谷胱甘肽GSH、植物螯合肽PC等)中。近年来的研究表明,硫在植物对Cd的耐受机制中起着十分重要的作用,与植物对镉等重金属元素的胁迫反应机制有着密切关系^[6]。植物在镉胁迫下通过多种调节机制,增强对硫酸盐的吸收、转运和同化,迅速合成半胱氨酸和谷胱甘肽等代谢物,从而合成足够的植物螯合肽,以满足植物生理需要^[7]。硫的吸收、还原、同化途径中关键酶的表达量响应Cd胁迫,硫代谢产物如GSH和PC在植物对Cd的解毒过程中起着关键作用。由杨肖娥等首次发现的原产于我国的Zn/Cd超积累生态型东南景天(*Sedum alfredii* Hance),其地上部对锌、镉及铅等重金属有极强的积累能力,具有生长较快、生物量大、环境适应性较广、无性繁殖、多年生等优点,显示出良好的应用前景^[8-9]。营养液培养条件下,增加硫元素的供应对提高超积累东南景天Zn/Cd的积累有一定作用,GSH主要是解除体内游离态Zn/Cd的毒性^[10-11]。然而有关硫对镉在超积累东南景天亚细胞分布与化学形态的影响方面研究较少。本文在营养液培养条件下,采用差速离心技术和化学试剂逐步提取法研究了硫对超积累东南景天镉积累、亚细胞分布和化学形态的影响,以期阐明Cd在超积累东南景天体内的区域化分布特征,探讨硫对超积累东南景天Cd积累的效应及机理。

1 材料与方法

1.1 试验设计

超积累生态型东南景天取自浙江省衢州市的一废旧铅锌矿,用自来水冲洗干净,剪成大小一致的枝条,用带有顶芽的茎段进行预培养后备用。所供营养液的组成:2.00 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、0.10 mmol/L KH_2PO_4 、0.50 mmol/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.10 mmol/L KCl 、0.70 mmol/L K_2SO_4 、10.00 $\mu\text{mol/L}$ H_3BO_3 、0.50 mmol/L MnSO_4 、1.00 $\mu\text{mol/L}$ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.20 $\mu\text{mol/L}$ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、0.01 $\mu\text{mol/L}$ $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ 、100 $\mu\text{mol/L}$ Fe-EDTA。预培养方法为:自来水培养生根后,经1/4营养液培养1周、1/2营养液培养1周、正常营养液培养1周^[10]。待长出旺盛的根系后,设置2个镉浓度:10(Cd_{10})、100 $\mu\text{mol/L}$ (Cd_{100})以 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ 的形态加入,3个硫浓度:0.75(S1)、1.5(S2)、2.25 mmol/L(S3)(如果 SO_4^{2-} 处理浓度需要高出正常营养液水平,直接加入 K_2SO_4 ;若需要低于正常营养液水平,则减少营养液配方中 K_2SO_4 ,补充KCl以维持正常的 K^+ 浓度),共6个处理,每处理重复3次。

所有培养过程均在人工气候室内进行,相对湿度维持在70%~80%,白天温度26℃,夜间20℃,16 h光照8 h黑暗交替,每天调整1次pH值,pH用0.1 mol/L HCl或0.1 mol/L NaOH调节,维持在 5.5 ± 0.2 。每4 d更换一次营养液,保持连续温和通气。处理30 d后取样。待测样品用20 mmol/L $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 交换15 min以除去根表面吸附的 Cd^{2+} ,再用去离子水洗净,最后用无灰滤纸吸干,备用。

1.2 超积累东南景天根、茎和叶镉的亚细胞分布研究方法

采用差速离心法分离不同的细胞组分^[12]。准确称取鲜样1.000 g于石英研钵中,加入预冷的20 mL提取剂[0.25 mol/L蔗糖+50 mmol/L Tris-HCl缓冲液(pH 7.5)+1.0 mmol/L二硫赤鲜糖醇],缓慢振荡1 h,4000 r/min离心10 min,分出上清液,沉淀再提取2次后,作为细胞壁及破碎残渣部分(F1)。3次提取得到的上清液合并,16000 r/min离心45 min,下层的沉淀作为细胞膜及细胞器部分(F2),上清液作为细胞可溶性部分(F3)。全部操作在4℃下进行,并在相同条件下测定Cd全量以计算回收率。F1和F2部分用少量去离子水转移至100 mL三角瓶中,于电热板蒸干,加入2 mL浓硝酸和几滴高氯酸,

砂浴消煮至澄清,定容至 25 mL,用原子吸收分光光度计(BECKMAN J2-HS)测定 Cd 含量。F3 部分以提取剂为本底对照,直接上机测定。

1.3 超积累东南景天根、茎和叶镉的化学形态分析
采用化学试剂逐步提取法^[13]。具体操作如下:准确称取鲜样 4.000 g,加入提取剂(样品:提取剂为 1:10)研磨匀浆后转入 100 mL 的塑料离心管,在 25℃ 恒温振荡 22 h 后,5000 r/min 离心 10 min。倒出上清液,再加入 10 mL 的提取剂,按上述方法再提取 1 次。合并两次上清液于 150 mL 的三角瓶中,加入 10 mL 硝酸和 8 滴高氯酸,砂浴消煮至澄清,用 10% 的硝酸定容。最后用原子吸收分光光度计(BECKMAN J2-HS)测定 Cd 含量。采用下列 5 种提取剂依次逐步提取:80%乙醇(F_E ,主要提取醇溶性蛋白质、氨基酸盐等为主的物质);去离子水(F_W ,主要提取水溶性有机酸盐);1 mol/L 氯化钠溶液(F_{NaCl} ,主要提取果胶酸盐、与蛋白质结合态或吸附态的重金属等);2%醋酸(F_{HAc} ,主要提取难溶于水的重金属磷酸盐);0.6 mol/L 盐酸(F_{HCl} ,主要提取草酸盐等);其余为残留态(F_r)。

2 结果与分析

2.1 硫对超积累东南景天不同部位镉含量和累积量的影响

不同硫、镉水平对超积累东南景天根、茎和叶的镉含量、累积量及整株累积总量有显著影响,且硫与镉间有显著的交互作用(表 1)。不同处理下超积累东南景天的镉含量和累积量以叶 > 茎 > 根,叶、茎、根的镉累积量分别占整株累积总量的 74.6%~79.1%、15.4%~18.1%和 5.4%~7.6%,地上部(叶+茎)的镉累积量占整株累积总量的 92.4%~94.6%。地上部分镉累积量/地下部分镉累积量(S/R)为 12.2~17.4。在 2 个镉水平下,外界供硫增加,显著提高超积累东南景天根、茎和叶的镉含量、累积量及整株累积总量,3 个硫水平间差异显著。Cd10 水平下茎的镉含量和累积量、Cd100 水平下叶的镉含量和累积量在 3 个硫水平间有显著差异。相同硫水平下,超积累东南景天根、茎和叶的镉含量、累积量及整株累积总量以 Cd100 > Cd10,显示了超积累东南景天对镉的超累积特性^[8-9]。

2.2 硫对镉在超积累东南景天亚细胞分布的影响

不同处理下,超积累东南景天不同组分(F1、F2、F3)的镉含量在根、茎和叶中表现为叶 > 茎 > 根,与超积累东南景天根、茎和叶的镉含量及累积量变化

规律一致(表 1);镉在超积累东南景天根、茎和叶中的含量和分配比例为 $F1 > F3 > F2$,含细胞壁的组分 F1 分配比例最高,占 49.5%~67.5%,其次为可溶性组分 F3,占 22.1%~42.3%,含细胞器与膜的组分 F2 最小,占 8.2%~13.7%(表 2)。表明含细胞壁的部分是 Cd 在超积累东南景天细胞内的主要结合位点,其次为细胞质可溶性部分,只有少量的 Cd 分布在叶绿体、线粒体和细胞核等细胞器组分中。

2 个镉水平下,随着硫水平增加,超积累东南景天根、茎和叶 F1、F2、F3 组分中的镉含量增加,但分配比例变化不一致。Cd10 水平下,增施硫(S2 和 S3)处理增加根 F1 和 F2 组分、茎 F3 组分、叶 F2 组分的分配比例,降低根 F3 组分、茎 F1 和 F2 组分、叶 F3 组分的分配比例;而 Cd100 水平下,增施硫(S2 和 S3)处理增加根和叶 F2 组分的分配比例,降低根 F1、茎 F2 和叶 F3 组分的分配比例。相同硫水平下,增加镉水平,超积累东南景天根、茎和叶 F1、F2、F3 组分中的镉含量增加,增加 F1 组分中的分配比例,降低 F3 组分中的分配比例,而对 F2 组分的分配比例影响不大。可见,提高营养液供硫水平,超积累东南景天不同部位 F1、F2、F3 组分中镉含量增加,提高其不同部位的镉含量、累积量及整株累积总量(表 1)。镉胁迫条件下,通过增加在细胞壁组分 F1 的镉含量和分配比例,使细胞能正常发挥重要的生理功能,超积累东南景天可以忍受镉对根、茎、叶细胞组织的伤害,增强对镉的耐性,从而实现其对镉的超累积特性。

2.3 硫对镉在超积累东南景天植物体中化学形态的影响

由表 3 可知,镉在超积累东南景天根、茎和叶中都有其存在形态,并且保持基本稳定。不同硫、镉水平下,根中的镉以 1 mol/L 氯化钠提取态(F_{NaCl})和 2% 醋酸提取态(F_{HAc})为优势形态,分别占 26.6%~28.3%和 24.8%~28.2%,其次为 80% 乙醇提取态(F_E)、去离子水提取态(F_W)和 0.6 mol/L 盐酸提取态(F_{HCl}),分别占 16.5%~18.6%、11.4%~14.7%和 9.5%~12.0%。残留态(F_r)所占比例较少,仅为 2.4%~6.2%。2 个镉水平下,增施硫(S2 和 S3)处理,超积累东南景天根 F_{NaCl} 、 F_{HAc} 和 F_W 提取态镉含量和分配比例增加, F_E 和 F_{HCl} 提取态镉含量和分配比例降低,且以 Cd100 > Cd10。上述结果表明,镉在超积累东南景天根中主要以果胶酸盐、与蛋白质结合态或吸附态、难溶于水的重金属磷酸盐类形态存在,降低镉在植物体内的移动性,减轻镉对超

表 1 超积累东南景天不同部位镉含量和累积量
 Table 1 Concentration and accumulation of cadmium in different parts of hyperaccumulator-*Sedum alfredii* Hance

镉水平 Cd level	硫水平 S level	镉含量 Cadmium content (mg/kg, F _w)						镉累积量 Content of accumulated cadmium(μg/plant)					
		根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	累积总量 Total	S/R	
Cd10	S1	120.4 ± 13.7 cC	172.6 ± 10.4 cC	221.9 ± 20.5 bB	49.12 ± 5.98 c C	159.48 ± 14.58 cC	693.66 ± 71.22 bB	902.26 ± 109.84 cC	17.4				
	S2	135.6 ± 15.3 bB	199.0 ± 9.7 bB	253.4 ± 29.2 aA	68.88 ± 7.26 bB	193.23 ± 21.93 bB	992.82 ± 110.54 aA	1254.93 ± 116.81 bB	17.2				
	S3	168.3 ± 19.2 aA	219.4 ± 11.9 aA	261.7 ± 21.4 aA	101.82 ± 9.59 aA	213.04 ± 20.89 aA	1035.02 ± 134.50 aA	1388.27 ± 146.70 aA	12.6				
Cd100	S1	170.5 ± 20.3 cC	212.6 ± 22.3 bB	317.3 ± 24.8 cB	91.56 ± 10.33 cC	251.43 ± 26.48 bB	1027.42 ± 98.76 cC	1325.41 ± 176.32 cC	13.5				
	S2	190.6 ± 11.0 bB	269.2 ± 26.4 aA	346.6 ± 35.5 bAB	116.84 ± 12.29 bB	286.43 ± 32.43 aA	1218.65 ± 143.46 bB	1621.92 ± 150.21 bB	12.9				
	S3	217.8 ± 26.5 aA	270.2 ± 28.1 aA	363.8 ± 34.6 aA	137.65 ± 14.70 aA	280.47 ± 26.71 aA	1402.45 ± 121.50 aA	1820.57 ± 172.33 aA	12.2				
ANOVA	S	21.37**	43.12**	49.88**	20.45**	54.76**	87.42**	105.49**					
F ratio	Cd × S	3.56*	5.29**	5.91*	4.75**	7.20**	9.57**	12.33**					

注：不同大写和小写字母分别代表 1% 和 5% 显著水平，* 代表 5% 显著水平，** 代表 1% 显著水平。

Note: The values followed by different small letter are significantly different at $P < 0.05$ and by different capital very significantly different at $P < 0.01$; * indicate significantly level at $P < 0.05$, ** indicate significant level at $P < 0.01$.

表 2 镉在超积累东南景天根、茎和叶的亚细胞中的分布

Table 2 Subcellular distribution of cadmium in root, stem and leaf of hyperaccumulator-*Sedum alfredii* Hance

处理 Treatments	部位 Parts	Cd 含量 Cd content (mg/kg, FW)			回收率 Rec. (%)	分配比例 Percentage (%)			
		F1	F2	F3		F1	F2	F3	
Cd10	S1	根 Root	66.65 ± 3.25	10.11 ± 1.66	31.96 ± 2.20	90.3	61.3	9.3	29.4
		茎 Stem	83.79 ± 5.62	18.05 ± 2.45	52.46 ± 4.78	89.4	54.3	11.7	34.0
		叶 Leaf	102.37 ± 12.34	16.96 ± 1.76	87.48 ± 6.13	93.2	49.5	8.2	42.3
	S2	根 Root	77.09 ± 8.39	12.58 ± 0.98	32.50 ± 3.11	90.1	63.1	10.3	26.6
		茎 Stem	88.95 ± 7.21	19.41 ± 1.33	71.34 ± 5.47	90.3	49.5	10.8	39.7
		叶 Leaf	118.45 ± 12.43	24.06 ± 2.75	88.84 ± 9.21	91.3	51.2	10.4	38.4
	S3	根 Root	96.19 ± 8.27	15.06 ± 1.25	42.41 ± 3.58	91.3	62.6	9.8	27.6
		茎 Stem	102.80 ± 11.56	21.29 ± 1.98	75.62 ± 4.55	90.7	51.3	10.7	38.0
		叶 Leaf	120.99 ± 13.68	30.55 ± 2.60	92.88 ± 9.32	93.4	49.5	12.5	38.0
Cd100	S1	根 Root	105.31 ± 13.35	14.98 ± 1.34	35.73 ± 2.89	91.5	67.5	9.6	22.9
		茎 Stem	105.91 ± 8.20	25.91 ± 2.56	58.67 ± 4.69	89.6	55.6	13.6	30.8
		叶 Leaf	144.44 ± 15.47	27.28 ± 2.44	115.44 ± 10.09	90.5	50.3	9.5	40.2
	S2	根 Root	113.27 ± 10.53	19.62 ± 1.21	37.70 ± 2.66	89.5	66.4	11.5	22.1
		茎 Stem	126.37 ± 11.35	27.41 ± 3.12	88.77 ± 7.83	90.1	52.1	11.3	36.6
		叶 Leaf	166.43 ± 19.28	37.27 ± 4.51	117.60 ± 14.43	92.7	51.8	11.6	36.6
	S3	根 Root	129.64 ± 14.45	20.92 ± 2.00	46.77 ± 4.65	90.6	65.7	10.6	23.7
		茎 Stem	142.73 ± 17.58	30.74 ± 1.56	70.51 ± 6.53	90.3	58.5	12.6	28.9
		叶 Leaf	167.99 ± 16.55	45.75 ± 3.32	120.23 ± 11.77	91.8	50.3	13.7	36.0

注: F1—细胞壁组分, F2—细胞器与膜组分, F3—可溶性组分, 表中 Cd 含量为植株鲜重含量; 表中数据为平均值 ± 标准差 (n = 3)。

Note: F1—Cell wall fraction; F2—Cell organ and membrane; F3—Soluble fraction. The content of Cd in the table is based on fresh weight of plant, values are means ± SD (n = 3).

积累东南景天的危害。增施硫和提高镉水平, 超积累东南景天根中以果胶酸盐、与蛋白质结合态或吸附态、难溶于水的重金属磷酸盐类及水溶性有机酸盐形态存在的 Cd 含量比例增加, 以醇溶性蛋白质、氨基酸盐及草酸盐形态存在的 Cd 含量比例较少。

镉在超积累东南景天茎的形态分布与根中相似, 茎中镉以 F_{NaCl} 、 F_{HAc} 和 F_W 提取态为优势, 分配比例分别占 23.4%~28.1%、22.6%~27.6% 和 18.9%~22.2%, F_E 和 F_{HCl} 提取态镉分配比例占 14.1%~16.8% 和 8.1%~12.9%, F_r 态镉分配比例占 1.2%~2.7%。增施硫 (S2 和 S3) 处理, 超积累东南景天茎 F_{NaCl} 和 F_{HAc} 提取态镉含量和分配比例增加, F_W 、 F_E 和 F_{HCl} 提取态镉分配比例降低, 且以 Cd100 > Cd10。镉在超积累东南景天叶的形态分布与根、茎中有所不同, 叶中镉的形态以 F_{NaCl} 提取态含量和分配比例最高, 占 29.9%~32.8%, 其次为 F_{HAc} 和 F_W 提取态, 分别占 26.9%~29.6% 和 17.9%~20.6%, 而 F_E 、 F_{HCl} 提取态和 F_r 占的比例相近, 均低于 9.6%。提高硫、镉处理水平, 东南景天叶 F_{NaCl} 、 F_{HAc} 和 F_W 提取态镉的含量增加, 但分配比例变化不大。

3 讨论

东南景天是我国首次发现的原生态镉超积累植物, 它对镉具有高度耐性和极强的超积累能力, 是实施植物修复和研究超积累机制的良好材料^[8]。在供镉水平达 500 $\mu\text{mol/L}$ 时, 植株体内镉含量达到最高, 但东南景天仍可正常生长, 并无明显外部中毒症状, 说明东南景天对镉具有较强的耐受力, 且东南景天根对镉的吸收和向地上部的转运能力较强, 显示了东南景天对镉的超积累特性^[9]。硫是植物必需的 6 种大量元素之一, 在植物体内的含量为 3%~5%, 是含硫氨基酸 (Met 和 Cys)、GSH 和 PC 等重要组成成分, 而小分子硫醇有机物如 GSH、PC、金属硫蛋白、有机酸等对于植物重金属耐性和积累能力方面有重要作用^[6]。硫转运蛋白、硫还原相关酶类以及半胱氨酸、GSH 和 PC 合成基因的表达受镉调控, 同时这些基因的过量表达也能提高植物对 Cd 的耐性^[14]。Sirguy 等^[15]报道, 土壤培养条件下, 适当的施用硫肥可以提高遏蓝菜对土壤镉的修复效率。我们在研究中发现, GSH 在解除超积累东南景天体内游离态镉的毒性方面有重要作用, 增加硫元素的供

表 3 镉在超积累东南景天根、茎和叶的形态分布(mg/kg, FW)

Table 3 Cd distribution of chemical forms in root, stem and leaf of hyperaccumulator-*Sedum alfredii* Hance

部位 Parts	化学形态 Chemical forms	Cd10			Cd100		
		S1	S2	S3	S1	S2	S3
根 Root	F _E	21.34 ± 1.34 (14.7)	20.61 ± 3.66 (12.2)	21.15 ± 2.23 (11.4)	25.98 ± 1.11 (13.9)	23.77 ± 1.55 (11.5)	27.63 ± 2.34 (12.3)
	F _W	23.96 ± 3.52 (16.5)	29.22 ± 2.11 (17.3)	33.58 ± 2.11 (18.1)	32.89 ± 2.34 (17.6)	38.24 ± 2.87 (18.5)	41.78 ± 3.19 (18.6)
	F _{NaCl}	38.62 ± 2.88 (26.6)	47.12 ± 1.53 (27.9)	48.97 ± 5.87 (26.4)	51.21 ± 3.67 (27.4)	58.50 ± 4.76 (28.3)	63.56 ± 5.77 (28.3)
	F _{HAc}	36.01 ± 1.98 (24.8)	43.41 ± 2.77 (25.7)	51.01 ± 4.65 (27.5)	49.34 ± 3.78 (26.4)	57.67 ± 4.44 (27.9)	63.34 ± 7.76 (28.2)
	F _{HCl}	17.28 ± 1.11 (11.9)	18.07 ± 2.83 (10.7)	18.36 ± 1.34 (9.9)	22.43 ± 1.99 (12.0)	19.64 ± 1.07 (9.5)	22.91 ± 1.11 (10.2)
	F _r	7.99 ± 0.98 (5.5)	10.47 ± 0.99 (6.2)	12.43 ± 0.98 (6.7)	5.05 ± 0.32 (2.7)	8.89 ± 0.93 (4.3)	5.39 ± 0.45 (2.4)
	总量 Total	145.2 ± 12.23	168.9 ± 19.96	185.5 ± 14.44	186.9 ± 21.76	206.7 ± 26.98	224.6 ± 21.34
茎 Stem	F _E	31.23 ± 2.48 (16.5)	32.96 ± 3.76 (16.1)	31.47 ± 2.43 (14.1)	41.21 ± 2.49 (16.8)	43.38 ± 3.56 (15.5)	43.10 ± 3.56 (14.3)
	F _W	42.02 ± 2.16 (22.2)	43.60 ± 4.55 (21.3)	47.10 ± 3.45 (21.1)	52.98 ± 3.63 (21.6)	52.90 ± 4.90 (18.9)	58.77 ± 3.50 (19.5)
	F _{NaCl}	44.30 ± 2.65 (23.4)	53.84 ± 4.89 (26.3)	60.71 ± 6.65 (27.2)	60.83 ± 5.61 (24.8)	76.69 ± 9.21 (27.4)	84.69 ± 3.43 (28.1)
	F _{HAc}	42.78 ± 4.34 (22.6)	50.15 ± 3.21 (24.5)	58.70 ± 4.76 (26.3)	58.63 ± 3.44 (23.9)	74.73 ± 5.33 (26.7)	83.19 ± 7.30 (27.6)
	F _{HCl}	24.42 ± 2.00 (12.9)	21.70 ± 1.11 (10.6)	21.43 ± 1.43 (9.6)	25.02 ± 3.78 (10.2)	26.87 ± 1.19 (9.6)	24.41 ± 1.42 (8.1)
	F _r	4.54 ± 0.54 (2.4)	2.46 ± 0.59 (1.2)	3.79 ± 0.23 (1.7)	6.62 ± 0.75 (2.7)	5.32 ± 3.22 (1.9)	7.23 ± 5.56 (2.4)
	总量 Total	189.3 ± 23.37	204.7 ± 26.78	223.2 ± 27.76	245.8 ± 29.90	279.9 ± 25.89	301.4 ± 32.46
叶 Leaf	F _E	19.64 ± 1.99 (8.7)	22.31 ± 1.66 (8.4)	22.45 ± 2.11 (8.1)	30.27 ± 2.76 (9.6)	26.07 ± 2.77 (7.3)	37.10 ± 2.23 (9.3)
	F _W	41.32 ± 3.67 (18.3)	54.71 ± 3.27 (20.6)	49.60 ± 2.54 (17.9)	62.11 ± 4.33 (19.7)	70.71 ± 4.49 (19.8)	72.20 ± 5.58 (18.1)
	F _{NaCl}	70.45 ± 8.60 (31.2)	81.54 ± 7.88 (30.7)	90.89 ± 5.32 (32.8)	94.27 ± 7.77 (29.9)	107.8 ± 11.32 (30.2)	124.46 ± 15.44 (31.2)
	F _{HAc}	62.55 ± 5.44 (27.7)	71.45 ± 9.21 (26.9)	82.02 ± 7.88 (29.6)	90.81 ± 7.40 (28.8)	102.49 ± 13.36 (28.7)	110.10 ± 9.27 (27.6)
	F _{HCl}	19.42 ± 13.32 (8.6)	21.78 ± 1.05 (8.2)	16.90 ± 3.39 (6.1)	23.02 ± 1.19 (7.3)	30.00 ± 2.11 (8.4)	29.92 ± 1.15 (7.5)
	F _r	12.42 ± 1.67 (5.5)	13.81 ± 2.71 (5.2)	15.24 ± 0.88 (5.5)	14.82 ± 0.76 (4.7)	20.00 ± 1.29 (5.6)	25.13 ± 1.27 (6.3)
	总量 Total	225.8 ± 29.90	265.6 ± 32.64	277.1 ± 31.11	315.3 ± 39.98	357.1 ± 40.03	398.9 ± 42.68

注: F_E—乙醇提取态, F_W—水提取态, F_{NaCl}—氯化钠提取态, F_{HAc}—醋酸提取态, F_{HCl}—盐酸提取态, F_r—残留态; 表中 Cd 含量为植株鲜重含量; 表中数据为平均值 ± 标准差 (n = 3) 括号内的数值为分配比例 (%)。

Note: F_E—Ethanol-extractable form; F_W—Water extractable form; F_{NaCl}—NaCl extractable form; F_{HAc}—HAc extractable form; F_{HCl}—HCl extractable form; F_r—Residual form. The content of Cd in the table is based on fresh weight of plant, values are means ± SD (n = 3). The values in brackets are percentage.

可以提高其对镉的累积^[10-11]。本试验中,超积累东南景天不同部位的镉含量和累积量随着镉、硫水平增加而显著增加,且地上部(叶+茎)镉累积量占整株累积总量的92.4%~94.6%,地上部分镉累积量/地下部分镉累积量(S/R)为12.2~17.4,远远大于1,表明增施硫可促进东南景天对镉的吸收及向地上部的转运和积累,东南景天体内可能存在“增硫诱导镉需求”现象^[16],而从植物修复角度来说,利用增硫手段提高超积累东南景天生长和地上部镉的积累能力具有重要的应用价值。

细胞壁固持和液泡区隔化可能在植物对重金属的解毒、耐性和超富集方面起着主要作用^[17]。细胞壁含有多种能与进入植物体的金属离子配位结合的多糖、蛋白质等物质,从而减少金属离子的跨质膜运输,降低原生质体中的金属离子浓度,维持细胞的正常生理代谢,细胞壁是植物体内重金属解毒的主要部位^[18]。超积累植物东南景天中的镉也主要分布在细胞壁,其次在可溶性部分中^[4]。本结果与上述研究结果相似。在不同硫、镉水平下,镉在超积累东南景天根、茎和叶中的含量和分配比例为 F1 > F3 > F2, F1、F3 和 F2 组分的分配比例分别占 49.5%~67.5%、22.1%~42.3% 和 8.2%~13.7%。随着供硫水平的增加,超积累东南景天根、茎和叶 F1、F2、F3 组分中的镉含量增加,但分配比例变化在不同部位中各异;镉水平增加,超积累东南景天不同部位 F1、F2、F3 组分中的镉含量增加,分配比例在 F1 中增加, F3 中降低, F2 中变化不大。可见,增加硫水平,提高超积累东南景天不同部位 F1、F2、F3 组分中的镉含量,从而提高其对镉的累积;细胞壁结合大部分的镉而有效降低镉毒害,很可能是超积累东南景天能够忍耐高镉的一个有效途径。

在超积累植物体内,85%~90%的重金属离子是与极性化合物相结合的,金属离子和这些极性化合物结合所形成的螯合物可限制金属在体内的移动性。这些极性化合物一般是水溶性的、醇溶性的和酸溶性的低分子量的金属螯合物,它们含有大量的金属离子的配位基团,这些金属配位体在维持细胞金属离子的微量稳态方面起着重要作用^[19-20]。东南景天属景天科植物,有机酸含量丰富,植物吸收的一部分镉可能与有机酸类等物质结合,从而解除毒性。本研究中,超积累东南景天根、茎和叶组织的 F_{NaCl} 、 F_{HAc} 和 F_W 提取态镉含量较高,说明超积累东南景天植物体内的镉主要以果胶酸盐、与蛋白质结合态或吸附态、难溶于水的重金属磷酸盐类及水溶

性有机酸盐形态存在。增施硫可提高超积累东南景天不同部位组织的 F_{NaCl} 和 F_{HAc} 提取态镉含量和分配比例。而镉在细胞质中与多肽、有机酸和无机硫、磷化合物结合,然后储存在液泡中的途径已被认为是植物耐镉的一个重要机制^[4]。结合本试验结果可以认为,镉在细胞质中与基团结合形成镉复合物,然后被转运到液泡内的方式,很可能也是东南景天积累或忍耐镉的有效途径。

参 考 文 献:

- [1] Halim M, Conte P, Piccolo A. Potential availability of heavy metals to phytoextraction from contaminated soils induced by exogenous humic substances[J]. Chemosphere, 2003, 52(1): 265-275.
- [2] Kirkham M B. Cadmium in plants on polluted soils: Effects of soil factors, hyperaccumulation, and amendments[J]. Geoderma, 2006, 137: 19-32.
- [3] Baker A M. Metal tolerance[J]. New Phytol., 1987, 106: 93-111.
- [4] Ni T H, Wei Y Z. Subcellular distribution of cadmium in mining ecotype *Sedum alfredii* [J]. Acta Bot Sin, 2003, 29(8): 925-928.
- [5] Ramos I, Esteban E, Lucena J J *et al.* Cadmium uptake and subcellular distribution in plants of *Lactuca* sp. Cd-Mn interaction[J]. Plant Sci, 2002, 162: 761-767.
- [6] Leustek T, Saito K. Sulfate transport and assimilation in plants[J]. Plant Physiol., 1999, 120: 637-643.
- [7] 孙雪梅, 杨志敏. 植物的硫同化及其相关酶活性在镉胁迫下的调节[J]. 植物生理与分子生物学报, 2006, 32(1): 9-16.
Sun X M, Yang Z M. Plant sulfate assimilation and regulation of the activity of related enzymes under cadmium stress[J]. J. Plant Physiol. Molec. Biol., 2006, 32(1): 9-16.
- [8] Xiong Y H, Yang X E, Ye Z Q *et al.* Characteristics of cadmium uptake and accumulation by two contrasting ecotypes of *Sedum alfredii* Hance[J]. J. Environ. Sci. Health, 2004, 39: 2925-2940.
- [9] Yang X E, Ye H B, Long X X *et al.* Uptake and accumulation of cadmium and zinc by *Sedum alfredii* Hance at different Cd/Zn supply level[J]. J. Plant Nutr., 2004, 27: 1963-1977.
- [10] 晁岳恩, 张敏, 卢玲丽 等. 谷胱甘肽在东南景天 Zn/Cd 超积累过程中的作用[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2007, 33(6): 597-601.
Chao Y N, Zhang M, Lu L L *et al.* Role of reduced glutathione in Zn and Cd hyperaccumulation in *Sedum alfredii* [J]. J. Zhejiang Univ. (Agric. & Life Sci.), 2007, 33(6): 597-601.
- [11] Sun Q, Ye Z H, Wang X R *et al.* Increase of glutathione in mine population of *Sedum alfredii*: a Zn hyperaccumulator and Pb accumulator[J]. Phytochemistry, 2005, 66(21): 2549-2556.
- [12] Hans J W, Hans J J. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plants[J]. Plant Physiol., 1980, 65: 480-482.
- [13] Peronnet K, Schwartz C, Mbrel J L. Distribution of cadmium and zinc in the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* grown on multiconaminated soil[J]. Plant Soil, 2003, 249: 19-25.
- [14] Harada E, Yamaguchi Y, Koizumi N *et al.* Cadmium stress induces

- production of thiol compounds and transcripts for enzymes involved in sulfur assimilation pathways in *Arabidopsis*[J]. *J. Plant Physiol.* , 2002 , 159 : 445-448.
- [15] Catherine S , Christophe S , Louis M J . Response of *Thlaspi caerulescens* to nitrogen phosphorus and sulfur fertilization[J]. *J. Phytoremed.* , 2006 , 8 (2) : 149-161.
- [16] 孙琴 ,倪吾钟 ,杨肖娥 ,等 . 磷对超积累植物 - 东南景天生长和积累锌的影响[J]. *环境科学学报* , 2003 , 23 (6) : 818-824.
Sun Q , Ni W Z , Yang X E *et al.* Effects of phosphorus on the growth , zinc absorption and accumulation in hyperaccumulator-*Sedum alfredii* Hanc[J]. *Acta Sci. Circumst.* , 2003 , 23 (6) : 818-824.
- [17] 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 : 75-84.
- [18] Cosio C , Martinoia E , Keller C . Hyperaccumulation of cadmium and zinc in *thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis halleri* at the leaf cellular level[J]. *Plant Physiol.* , 2004 , 134 : 716-725.
- [19] Rauser W E . Structure and function of metal chelators produced by plants[J]. *Cell Biochem. Biophys.* , 1999 , 31 : 19-48.
- [20] 杨居荣 ,鲍子平 ,张素芹 . 镉、铅在植物体细胞内的分布和可溶性结合形态[J]. *中国环境科学* , 1993 , 13 (4) : 263-268.
Yang J R , Bao Z P , Zhang S Q . The distribution and binding of Cd and Pb in plant cell[J]. *China Environ. Sci.* , 1993 , 13 (4) : 263-268.