

DOI: 10.5846/stxb201612092537

李瑞, 陈锦平, 陈红纯, 马文超, 王婷, 周翠, 魏虹. 水淹条件下秋华柳亚细胞中镉的分配特征. 生态学报, 2018, 38(1): 186-194.

Li R, Chen J P, Chen H C, Ma W C, Wang T, Zhou C, Wei H. Cadmium distribution in the subcellular fractions of *Salix variegata* under flooding conditions. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(1): 186-194.

## 水淹条件下秋华柳亚细胞中镉的分配特征

李 瑞<sup>1</sup>, 陈锦平<sup>1,2</sup>, 陈红纯<sup>1</sup>, 马文超<sup>1</sup>, 王 婷<sup>1</sup>, 周 翠<sup>1</sup>, 魏 虹<sup>1,\*</sup>

1 西南大学生命科学学院, 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆市三峡库区植物生态与资源重点实验室, 重庆 400715

2 广西农业科学院农业资源与环境研究所, 南宁 530007

**摘要:** 选取秋华柳 (*Salix variegata*) 扦插苗为研究对象, 通过设置 0、0.5、2、10 mg/kg 4 个镉胁迫浓度, 研究了水淹条件下秋华柳根、枝、叶亚细胞中镉的分配特征。结果表明: (1) 试验各处理组秋华柳存活率均为 100%, 表现出良好的镉和水淹耐受能力。(2) 与对照相比, 在水淹条件下, 各处理组秋华柳根、枝和叶的细胞壁仍是镉最主要的富集部位。各处理组植株细胞壁中的镉含量显著高于其他组分, 质体中镉含量次之, 细胞核和线粒体组分中的镉含量始终处于较低水平。(3) 水淹显著提高了秋华柳根细胞壁中的镉含量, 显著降低了高浓度镉处理 (10 mg/kg) 下萌枝细胞壁中的镉含量, 但对叶细胞壁中的镉含量没有显著影响。(4) 水淹显著提高了秋华柳根细胞中质体中的镉含量, 对萌枝、叶细胞质体中的镉含量没有显著影响。研究证明, 水淹条件下, 秋华柳根枝叶细胞壁仍然是镉积累富集的最主要部位, 从而减少了重金属对植物细胞的伤害。秋华柳适用于三峡消落带镉污染区域的植物修复。

**关键词:** 秋华柳; 镉; 水淹; 亚细胞组分

## Cadmium distribution in the subcellular fractions of *Salix variegata* under flooding conditions

LI Rui<sup>1</sup>, CHEN Jinpin<sup>1,2</sup>, CHEN Hongchun<sup>1</sup>, Ma Wenchao<sup>1</sup>, Wang Ting<sup>1</sup>, Zhou Cui<sup>1</sup>, WEI Hong<sup>1,\*</sup>

1 Key Laboratory of Eco-environments in Three Gorges Reservoir Region (Ministry of Education), Chongqing Key Laboratory of Plant Ecology and Resources Research in Three Gorges Reservoir Region, School of Life Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

2 Agricultural Resources and Environment Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China

**Abstract:** The altered water regime of the Three Gorges reservoir in the Yangtze River in China has formed a hydro-fluctuation zone that has caused many serious environmental problems, such as vegetation degradation, soil erosion, and landscape deterioration. After water impoundment, heavy metals in the soil can dissolve into the water, thereby increasing the risk of water pollution. Cadmium (Cd) contamination is one of the most serious heavy metal pollutions in the Three Gorges reservoir area. Cd shows high biological activity; it can easily enter the food chain via absorption by plants and affect the ecosystem health. Revegetation is an eco-friendly measure in restoring ecological integrity of the hydro-fluctuation zone. However, it is a great challenge to successfully revegetate the degraded hydro-fluctuation zone because the plants need to exhibit tolerance to the altered water regime and Cd contamination. *Salix variegata*, a native species in the Three Gorges reservoir, exhibits tolerance to both long-term flooding and heavy metal stress and therefore, is a promising candidate for revegetation in this area. However, the ability of this species to tolerate and accumulate Cd under flooding conditions is still unclear. To explore the effect of flooding on Cd distribution in subcellular fractions of *S. variegata*, 60-d long factorial

**基金项目:** 国家国际科技合作专项 (2015DFA90900); 三峡后续工作库区生态与生物多样性保护专项项目 (5000002013BB5200002); 重庆市林业重点科技攻关项目 (渝林科研 2015-6)

收稿日期: 2016-12-09; 网络出版日期: 2017-09-12

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: weihong@swu.edu.cn

experimental treatments including two water regimes and four Cd concentrations were designed. The water treatments included ambient water supply (CK) and light flooding (FL), whereas the Cd treatments included control and low, middle, and high concentrations (0, 0.5, 2, and 10 mg/kg, respectively). Each treatment involved a group of planted *S. variegata* shoots. Plant cells were separated into subcellular fractions of cell walls, plastids, cell nuclei, and mitochondria and soluble fractions, by differential centrifugation. All subcellular fractions were digested using microwave digestion and the Cd content in different subcellular fractions was determined using an inductively coupled plasma-atomic emission spectrometer. The results showed that: (1) The survival rate of *S. variegata* in all treatments was 100%, which indicated high tolerance of this species to flooding and Cd stress. (2) Most of the accumulated Cd was more highly enriched in the cell walls of plant cells under FL than under CK. In contrast, the Cd content in the nucleus and mitochondria was always lower under FL than under CK. (3) Under FL, the Cd content significantly increased in root cell wall, decreased in stem cell wall under high Cd concentration, and showed no significant difference in leaf cell wall. (4) Flooding significantly increased Cd content in plastids of root cells; however, it did not affect the Cd content in plastids of stem and leaf cells. In conclusion, in *S. variegata* under flooding conditions, cell wall was still the main subcellular component enriched with Cd, which reduced the harmful effects of Cd stress on plants. These results indicated that there was no significant difference in the allocation strategy of Cd in subcellular fractions under flooding and ambient water supply for *S. variegata*, and that *S. variegata* could be suitable for phytoremediation of Cd in the hydro-fluctuation zone of the Three Gorges reservoir.

**Key Words:** *Salix variegata*; Cd; flooding; subcellular fractions

三峡工程是当今世界最大的水利枢纽工程。竣工后在每年汛期(6—9月),水库水位保持在145 m,而在汛期后(10月开始)开始蓄水至水位175 m,从而形成了垂直落差最高达30 m的消落带<sup>[1]</sup>。消落带是水陆生态交错带的一种类型,其面积变化和水位涨落幅度大;水位涨落违反自然洪枯规律,冬水夏陆<sup>[2]</sup>,造成原有河流消落带植被消亡,在水库四周形成明显的裸露带,对环境造成严重影响<sup>[3-4]</sup>。三峡水库蓄水后被淹的土壤中重金属可从土壤中溶出或因土壤有机质分解而进入水体,严重影响库区的生态环境<sup>[5]</sup>。研究表明,镉是三峡库区表层土壤中污染最严重的重金属元素<sup>[6]</sup>,具有生物活性的离子态  $Cd^{2+}$  所占比例较高<sup>[7]</sup>,易被植物所吸收,同时也极易进入食物链,从而对人体健康造成危害<sup>[8]</sup>。消落带土壤镉污染的治理成为人们关注的热点。植物修复是一种廉价、绿色的重金属修复技术,通过种植植物将土壤中的重金属吸收并富集到体内,达到降低土壤污染物浓度的目的<sup>[9]</sup>。在对三峡库区消落带进行植被重建的同时,联合重金属植物修复将达到事半功倍的效果<sup>[10]</sup>。

植物细胞应对重金属胁迫的最主要的机制之一就是通过把重金属元素从原生质体中转移到质外体部分(细胞壁和液泡)进行区室化,从而能够更好地保护对重金属毒性最敏感的原生质体部分<sup>[11]</sup>。植物耐受和富集重金属的能力与其在细胞和亚细胞水平上对重金属的区室化密切相关<sup>[12]</sup>,因此对重金属亚细胞分布的研究有助于进一步理解植物对重金属的植物耐受和积累的机制<sup>[13]</sup>。

秋华柳(*Salix variegata*)是三峡库区消落带优势灌木,可耐受长期水淹,是一种优良的护堤、护岸树种,可以广泛用于三峡库区消落带的植被恢复<sup>[14-15]</sup>。已有研究表明,秋华柳除对水淹有很强的适应能力,也表现出很好的镉耐受、镉转移能力及地上部分积累镉的能力<sup>[16]</sup>。曾成城等<sup>[10]</sup>发现,在水淹生境下,秋华柳对镉污染土壤仍具有较好的修复能力,预示着可将秋华柳用于镉污染的消落带土壤的植物修复中。张雯<sup>[17]</sup>在对秋华柳镉解毒机制的研究中发现,镉在细胞壁上的积累对其镉耐受性起着重要的作用。但在水淹条件下,秋华柳植株亚细胞中镉的分配特征是否会发生改变,从而影响秋华柳对镉的耐受和积累特性有待进一步研究。本试验以秋华柳扦插苗为研究对象,通过镉胁迫和模拟水淹,探究水淹是否会改变秋华柳根枝叶细胞壁对镉的积累特征,为秋华柳在消落带镉污染地区的应用提供更全面的理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料的处理和培养

2015 年 10 月在重庆市嘉陵江同兴街 段河岸采集秋华柳枝条,超纯水冲洗后,剪成 15 cm,茎径 0.8—1 cm 的小段扦插到花盆(上径 13 cm×下径 18 cm×高 15 cm),每盆 1 株。每盆装入经自然风干去除杂质土壤 2 kg,试验土壤的理化性质见表 1。试验期间保持常规田间管理,适时浇水除草。2016 年 4 月底选取生长基本一致无病虫害的秋华柳扦插苗随机分组。以镉胁迫和水分条件为考察因素设计双因素完全随机试验,具体设计见表 2。按 0、0.5、2、10 mg/kg 设置 4 个镉处理浓度。将  $\text{CdCl}_2 \cdot 2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  按浓度梯度配成水溶液后,均匀浇灌于盆土中,将渗出液反复回收浇灌,直到  $\text{Cd}^{2+}$  与盆钵中土壤均匀混合。在水分条件控制上,一组进行常规供水管理(对照组),另一组则放入塑料盆(上径 26 cm×下径 19.5 cm×高 17 cm)进行水淹处理(水淹组),各水淹盆里放置 1 个花盆,水淹组始终保持水位处于土壤表面以上 5 cm 处<sup>[18-19]</sup>。将所有盆栽试验用苗置于西南大学生态试验园的遮雨棚下(棚顶透明,四面敞开),适时补充水分,保证各处理组水分条件处于试验所设置的水平。于处理 60 d 后进行取样测试,每个处理 15 株,指标测定以随机抽取的 5 株苗木的平均值作为一个重复,共 3 个重复。

表 1 土壤基本理化性质

Table 1 The basic physico-chemical characteristics of soils

pH	有机质 Organic matter/ (g/kg)	全氮 Total N/ (g/kg)	全磷 Total P/ (g/kg)	全钾 Total K/ (g/kg)	碱解氮 Alkali hydrolysable N/ (mg/kg)	有效磷 Available P/ (mg/kg)	速效钾 Available K/ (mg/kg)	总 Cd Total Cd/ (mg/kg)
7.83	15.23	0.99	0.78	12.21	81.27	11.83	186.27	0.53

表 2 试验设计

Table 2 Experimental design

镉浓度/(mg/kg) Cd concentrations	水分处理 Water treatments		镉浓度/(mg/kg) Cd concentrations	水分处理 Water treatments	
	对照组 Control group (CK)	水淹 Flooding group (FL)		对照组 Control group (CK)	水淹 Flooding group (FL)
0	T0	WT0	2	T2	WT2
0.5	T1	WT1	10	T3	WT3

### 1.2 亚细胞组分分离方法

采用差速离心法分离不同的细胞组分:分别取根、茎和叶鲜样 0.5 g,用预冷的匀浆液匀浆化 6—8 mL,匀浆液组成为:蔗糖 250 mmol/L,Tris-HCl(pH 7.5) 50 mmol/L,二硫赤藓糖醇( $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}_2\text{S}_2$ ) 1.0 mmol/L。匀浆液用 80  $\mu\text{m}$  的尼龙布过滤,残渣即为细胞壁组分(I);滤液以 1500 g 离心力离心 10 min(根则用 2500 g 离心 20 min),沉淀为质体组分(II);上清液再以 5000 g 离心 20 min,沉淀为核组分(III);上清再用 15000 g 离心 30 min,沉淀为线粒体组分(IV),上清则为可溶成分(V)<sup>[20]</sup>。通过镜检确认亚细胞组分符合分离要求,再将各组分进行微波消解后用 ICP 测定各组分的镉含量。

### 1.3 数据分析

利用统计分析软件 SPSS 22.0 进行数据处理,运用单因素方差分析(One-way ANOVA)分析相同处理条件下植株根茎叶中不同亚细胞组分之间的差异,双因素方差分析(Two-way ANOVA)分析不同水分处理和不同镉浓度处理对秋华柳镉亚细胞分布的影响,Duncan 多重比较(Duncan's multiple range test)检验各处理之间的差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 水淹对秋华柳根亚细胞组分镉含量的影响

由表 3 可知,非水淹情况下,在 T0 和 T1 镉处理浓度下,秋华柳根系细胞壁和质体中的镉含量显著高于其他组分,在 T2 和 T3 镉处理浓度下,细胞壁中的镉含量显著高于其他所有组分。在水淹条件下,在所有镉处理浓度下,细胞壁和质体中的镉含量均显著高于其他各组分,可溶成分中的镉含量次之,细胞核和线粒体组分中的镉含量始终处于较低水平。由此可见,细胞壁是秋华柳根细胞贮存镉元素最主要的部位。正常供水和水淹条件下,随着镉胁迫浓度的增加,秋华柳根细胞壁中的镉含量占总细胞镉含量的比例逐渐增加(正常供水分别为:24.0%、38.9%、39.1%和 46.4%;水淹处理则依次是 13.7%、43.1%、44.1%和 45.0%)。

表 3 水淹及不同镉处理浓度下秋华柳根亚细胞组分的镉含量/( $\mu\text{g/g}$  鲜重)

处理 Treatments	I (细胞壁) I (Cell wall)	II (质体) II (Plastids)	III (细胞核) III (Cell nucleus)	IV (线粒体) IV (Mitochondrion)	V (可溶成分) V (Soluble fractions)
T0	0.26±0.10ab	0.50±0.14a	0.11±0.03b	0.06±0.01b	0.15±0.05b
T1	0.81±0.08a	0.67±0.20a	0.22±0.05b	0.09±0.03b	0.29±0.10b
T2	1.15±0.24a	0.59±0.09bc	0.28±0.05bc	0.17±0.08b	0.72±0.12b
T3	2.66±0.36a	1.10±0.04c	0.08±0.00d	0.07±0.00d	1.81±0.31b
WT0	0.14±0.04b	0.36±0.02c	0.057±0.01a	0.06±0.00a	0.37±0.02c
WT1	1.23±0.34a	1.19±0.20a	0.16±0.05b	0.03±0.00b	0.18±0.05b
WT2	2.52±0.29a	2.57±0.56a	0.17±0.06b	0.19±0.02b	0.38±0.06b
WT3	3.12±0.15a	2.34±0.21b	0.10±0.01d	0.14±0.04d	1.25±0.26c

T0、T1、T2、T3 分别为常规供水条件下 0、0.5、2、10 mg/kg Cd<sup>2+</sup> 组,WT0、WT1、WT2、WT3 为水淹条件下的 0、0.5、2、10 mg/kg Cd<sup>2+</sup> 组。表中数值为平均值±标准误。同行不同小写字母表示相同处理条件下不同亚细胞组分之间镉含量差异显著( $P<0.05$ )

从双因素方差分析结果(表 4)可知,水淹处理和镉胁迫浓度对秋华柳根系细胞壁和质体中的镉含量有显著影响,二者的交互作用仅对质体中的镉含量有显著影响。图 1 显示,与常规供水相同镉处理组相比,水淹处理显著提高了秋华柳根系细胞壁和质体中的镉含量,对细胞核、线粒体以及可溶成分中的镉含量则无显著影响。不同镉胁迫浓度对细胞壁、质体和可溶成分和细胞核中的镉含量有显著影响,对线粒体中的镉含量无显著影响。

表 4 水淹及不同镉处理浓度对秋华柳根亚细胞组分镉含量的方差分析结果

处理 Treatments	I (细胞壁) I (Cell wall)	II (质体) II (Plastids)	III (细胞核) III (Cell nucleus)	IV (线粒体) IV (Mitochondrion)	V (可溶成分) V (Soluble fractions)
浓度处理 Cd concentrations	*	*	*	ns	*
水分处理 Water treatment	*	*	ns	ns	ns
水分×浓度 Water × Concentrations	ns	*	ns	ns	ns

\* :  $P<0.05$ ; ns:  $P>0.05$

### 2.2 水淹对秋华柳枝亚细胞组分镉含量的影响

从表 5 可以看出,无论是水淹还是非水淹条件下,秋华柳萌枝细胞细胞壁中的镉含量处于较高水平,为枝细胞贮存镉元素最主要的部位。质体中镉含量次之,线粒体、细胞核和可溶成分中的镉含量则始终处于较低水平。正常供水和水淹条件下,随着镉胁迫浓度的增加,秋华柳萌枝细胞壁中的镉含量占总细胞镉含量的比例总体有所下降(正常供水分别为 26.3%、44.8%、46.1%和 66.2%,水淹条件下则依次是 39.8%、41.3%、38.9%和 50.5%)。

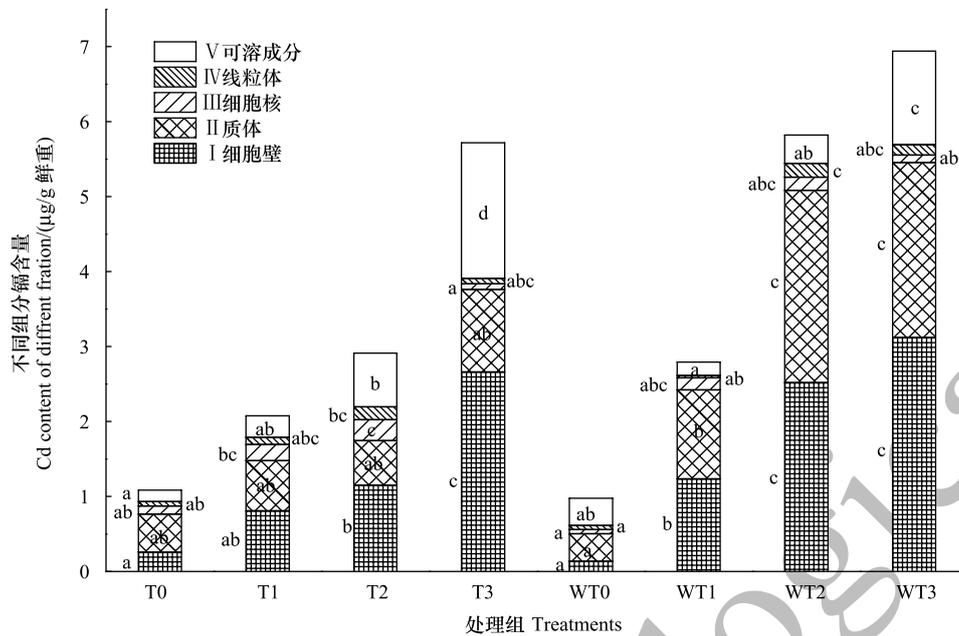


图 1 不同处理下秋华柳根亚细胞组分的镉含量/( $\mu\text{g/g}$  FW)

Fig.1 Cd concentrations in subcellular fractions from the roots of *Salix variegata* under different treatments

T0、T1、T2、T3 分别为常规供水条件下 0、0.5、2、10  $\text{mg/kg}$   $\text{Cd}^{2+}$  组, WT0、WT1、WT2、WT3 为水淹条件下的 0、0.5、2、10  $\text{mg/kg}$   $\text{Cd}^{2+}$  组;不同小写字母表示相同组分在不同处理组之间镉含量差异显著( $P < 0.05$ )

表 5 水淹及不同镉处理浓度下秋华柳枝亚细胞组分的镉含量/( $\mu\text{g/g}$  鲜重)

Table 5 Cd concentrations in subcellular fractions from the shoots of *Salix variegata* under different Cd and water treatments

处理 Treatments	I (细胞壁) I (Cell wall)	II (质体) II (Plastids)	III (细胞核) III (Cell nucleus)	IV (线粒体) IV (Mitochondrion)	V (可溶成分) V (Soluble fractions)
T0	0.17±0.01a	0.16±0.02a	0.10±0.02a	0.08±0.01a	0.15±0.06a
T1	0.69±0.09a	0.58±0.07a	0.13±0.05b	0.07±0.02b	0.08±0.01b
T2	1.14±0.06a	0.82±0.12b	0.20±0.07c	0.26±0.11c	0.12±0.03c
T3	2.65±0.46a	0.85±0.06b	0.23±0.03bc	0.09±0.02c	0.16±0.05c
WT0	0.37±0.06a	0.31±0.03a	0.09±0.01b	0.06±0.01b	0.08±0.02b
WT1	0.61±0.07a	0.61±0.06a	0.10±0.02b	0.06±0.01b	0.08±0.01b
WT2	0.59±0.06a	0.52±0.03a	0.14±0.03b	0.12±0.03b	0.15±0.04b
WT3	1.10±0.06a	0.60±0.02b	0.16±0.05c	0.25±0.08c	0.08±0.01c

从双因素方差分析结果(表 6)可知,水淹对秋华柳细胞壁中的镉含量有显著影响,二者交互对细胞壁和质体中的镉含量有显著影响。图 2 显示,水淹处理显著降低了高浓度处理(10  $\text{mg/kg}$ )下秋华柳萌枝细胞壁中的镉含量,对质体、细胞核、线粒体以及可溶成分中的镉含量无显著影响。不同镉胁迫浓度对细胞壁、质体中的镉含量有显著影响,对其余 3 种组分中的镉含量无显著影响。

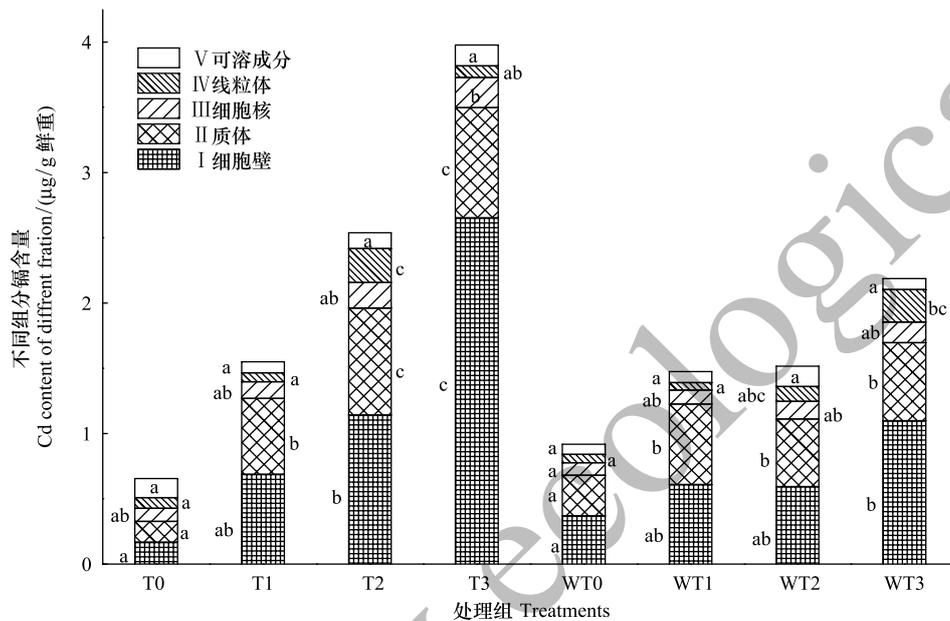
### 2.3 水淹对秋华柳叶亚细胞组分镉含量的影响

从表 7 可知,不管是水淹组还是非水淹组,秋华柳叶细胞细胞壁中的镉含量显著大于其他细胞亚组分中的镉含量,为叶细胞贮存镉元素最主要部位。正常供水和水淹条件下,随着镉胁迫浓度的增加,秋华柳叶细胞壁中的镉含量占总细胞镉含量的比例也总体有所下降(正常供水分别为 47.21%、57.5%、49.7%和 73.3%,水淹条件下则依次为 43.9%、42.9%、45.9%和 58.2%)。

表 6 水淹及不同镉处理浓度对秋华柳萌枝亚细胞组分镉含量的方差分析

Table 6 Effects on Cd concentrations in subcellular fractions from the shoots of *Salix variegata* under different Cd and water

处理 Treatments	I (细胞壁) I (Cell wall)	II (质体) II (Plastids)	III (细胞核) III (Cell nucleus)	IV (线粒体) IV (Mitochondrion)	V (可溶成分) V (Soluble fractions)
浓度处理 Cd concentrations	*	*	ns	ns	ns
水分处理 Water treatment	*	ns	ns	ns	ns
水分×浓度 Water × Concentrations	*	*	ns	ns	ns

图 2 不同处理下秋华柳枝亚细胞组分的镉含量/( $\mu\text{g/g}$  鲜重)Fig.2 Cd concentrations in subcellular fractions from the stems of *Salix variegata* under different treatments表 7 水淹及不同镉处理浓度下秋华柳叶亚细胞组分的镉含量/( $\mu\text{g/g}$  鲜重)Table 7 Cd concentrations in subcellular fractions from the leaves of *Salix variegata* under different Cd and water treatments

处理 Treatments	I (细胞壁) I (Cell wall)	II (质体) II (Plastids)	III (细胞核) III (Cell nucleus)	IV (线粒体) IV (Mitochondrion)	V (可溶成分) V (Soluble fractions)
T0	0.53±0.13a	0.30±0.06b	0.05±0.01c	0.11±0.06bc	0.09±0.02bc
T1	1.04±0.11a	0.26±0.06b	0.13±0.08b	0.12±0.05b	0.28±0.07b
T2	1.46±0.15a	0.69±0.19b	0.30±0.12bc	0.38±0.09bc	0.18±0.03c
T3	1.56±0.25a	0.39±0.09b	0.06±0.02c	0.05±0.01c	0.06±0.01c
WT0	0.37±0.04a	0.30±0.06a	0.07±0.02b	0.04±0.01b	0.07±0.01b
WT1	0.56±0.08a	0.47±0.04a	0.04±0.00b	0.05±0.01b	0.21±0.08b
WT2	1.38±0.21a	0.48±0.06b	0.40±0.01b	0.28±0.10b	0.44±0.08b
WT3	1.70±0.45a	0.68±0.10b	0.45±0.10b	0.05±0.02c	0.06±0.01c

由双因素方差分析结果(表 8)和图 3 可知,水淹和二者交互作用对 5 种细胞组分的镉含量均没有显著影响。不同镉胁迫浓度对细胞壁、细胞核、质体以及可溶成分中的镉含量有显著影响,对线粒体中的镉含量无显著影响。

### 3 讨论

植物应对重金属胁迫的策略包括逃避和忍耐策略,即阻止重金属进入原生质体和将重金属区室化储存<sup>[21]</sup>。细胞壁作为重金属进入植物细胞的第一道屏障<sup>[22]</sup>,可以通过形成胼胝质<sup>[23]</sup>和增厚细胞壁<sup>[24]</sup>来阻止

重金属进入原生质体。组成细胞壁的多糖分子含有大量的负电基团,可以通过和金属阳离子发生各种反应将其固定于细胞壁中<sup>[25]</sup>。植物在遭受重金属胁迫后,还能够诱导细胞壁蛋白基因的高表达,产生相关细胞壁蛋白,参与细胞壁固定重金属离子<sup>[26]</sup>,减少重金属离子的跨膜运输,从而减少进入原生质体重金属的数量,使细胞能够维持正常生理代谢<sup>[27]</sup>。当有大量重金属进入原生质体时,重金属会被转运至细胞壁进行储存<sup>[28-29]</sup>。因此,细胞壁是植物特别是对重金属具有较好耐受能力的植物应对重金属胁迫最主要细胞组分<sup>[30]</sup>。本研究结果发现,秋华柳根、萌枝和叶的细胞壁均是重金属镉的最主要富集部位,这与潘秀<sup>[31]</sup>和 Ueno 等<sup>[32]</sup>的研究结果相同。随着镉处理浓度的提高,秋华柳根、萌枝和叶细胞壁中的镉含量明显增加,帮助植株有效抵御了镉胁迫可能造成的伤害。

表 8 水淹及不同镉处理浓度对秋华柳叶亚细胞组分镉含量的方差分析

Table 8 Effects on Cd concentrations in subcellular fractions from the leaves of *Salix variegata* under different Cd and water treatments

处理 Treatments	I (细胞壁) I (Cell wall)	II (质体) II (Plastids)	III (细胞核) III (Cell nucleus)	IV (线粒体) IV (Mitochondrion)	V (可溶成分) V (Soluble fractions)
浓度处理 Cd concentrations	*	*	*	ns	*
水分处理 Water treatment	ns	ns	ns	ns	ns
水分×浓度 Water × Concentrations	ns	ns	ns	ns	ns

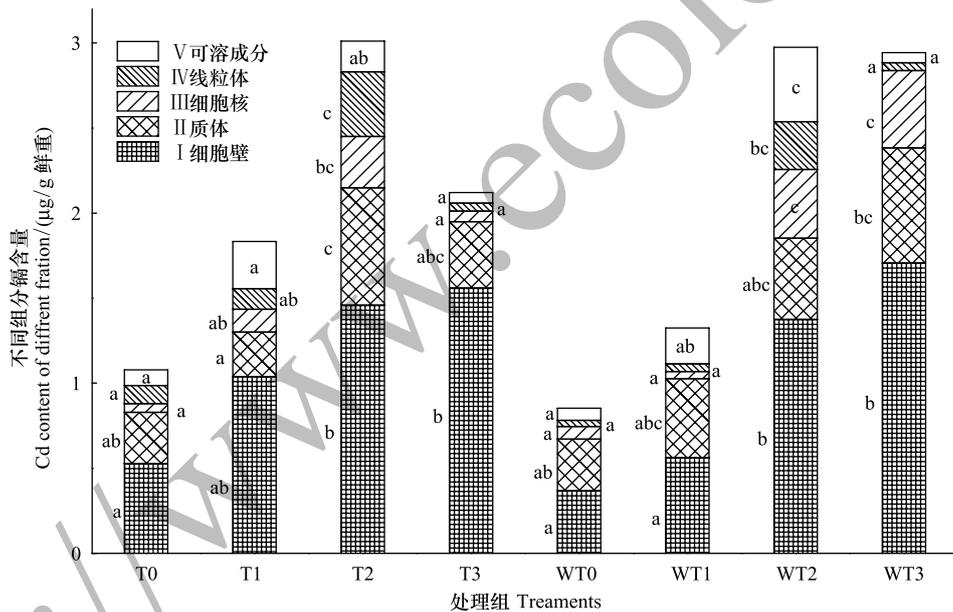


图 3 不同处理下秋华柳叶细胞组分的镉含量/(μg/g 鲜重)

Fig.3 Cd concentrations in subcellular fractions from the leaves of *Salix variegata* under different treatments

研究证明,当较多的重金属阳离子通过质膜进入原生质体时,重金属大部分会被贮存在液泡中<sup>[33]</sup>,可溶成分中低分子量的巯基可以与重金属结合<sup>[34]</sup>,所以很多植物细胞的可溶成分是除细胞壁之外贮存重金属的主要部位<sup>[31-32,35]</sup>。但在本实验中,秋华柳细胞可溶成分中的镉含量远小于质体中的镉含量,细胞质体中的镉含量仅次于细胞壁中的镉含量,这与杨卫东等<sup>[36]</sup>和 Ramos 等<sup>[37]</sup>的研究结果相同。质体中的镉含量较高会降低植物叶绿素含量,导致植物叶片功能受损<sup>[36]</sup>,但在本试验中发现秋华柳生长正常,没有出现叶片发黄等现象,说明秋华柳细胞对于镉胁迫的抗性较强。秋华柳的根、枝和叶的细胞核和线粒体组分中的镉含量则始终处于较低水平,以保持植物的正常生理活性<sup>[38]</sup>,这与之前很多研究结果一致<sup>[31-32,35-37]</sup>。

有研究证明,亚细胞结构在植物对于重金属的耐受和富集能力上的作用不是一成不变的,重金属在亚细胞结构中的分布也易受到外源因素的影响,这甚至可能会改变植物对重金属胁迫的耐受和富集能力。周丽珍

等<sup>[39]</sup>的研究表明,外加 NaCl 造成苋菜根、茎和叶细胞壁和细胞器中的镉含量总体显著下降,而胞液中的镉含量保持基本不变。由此可见,在外源 NaCl 影响下,苋菜细胞壁对镉的积累能力可能受到了较大影响。然而,也有相关研究表明通过施加其他因素可促进细胞壁对重金属的积累能力,Qiu 等<sup>[40]</sup>的研究发现,磷的添加显著增加了卷心菜细胞壁中的镉含量,显著减少了细胞器中的镉含量,但随着磷浓度的增加对可溶成分中的镉含量没有显著影响,可以看出磷的添加提高了细胞壁对镉的富集能力。从本试验结果来看,水淹对秋华柳亚细胞镉的积累和富集能力的影响较小。水淹条件下,细胞壁仍是秋华柳根、枝、叶细胞中镉元素最主要富集部位,线粒体和细胞核中的镉含量一直处于较低水平。水淹对根细胞细胞壁中的镉含量占总细胞镉的比例影响不大,但水淹下枝、叶细胞壁中的镉含量占总细胞镉的比例总体上有所下降。水淹显著提高了根细胞壁中的镉含量,这是因为水淹提高了土壤中具有生物活性  $Cd^{2+}$  的含量<sup>[41]</sup>,而且镉从土壤中不断溶出至水中,根部  $Cd^{2+}$  浓度较大<sup>[10]</sup>,更容易被根吸收进入细胞,为了降低镉对原生质体的伤害,细胞壁需要固定更多的镉。但随着镉胁迫浓度的增加,仍会有较多的镉进入原生质体中,造成质体中的镉含量显著升高。水淹显著提高秋华柳根细胞壁和质体中的镉含量与根在水淹条件下的镉含量显著升高表现一致。水淹显著降低了高浓度处理(10 mg/kg)下萌枝细胞壁的镉含量,但对叶细胞壁镉含量没有显著影响。水淹导致重金属镉从地下部分转移到地上部分的数量减少,同时高浓度重金属镉胁迫会降低秋华柳萌枝细胞壁的渗透性<sup>[42]</sup>,阻止重金属通过萌枝细胞壁。此外,水淹条件下秋华柳的萌枝形态和代谢途径都会发生变化<sup>[43]</sup>,从而影响萌枝细胞壁多糖的重构<sup>[42]</sup>,降低萌枝细胞壁的镉积累和贮存能力。

#### 4 结论

水淹条件下,各处理组秋华柳根、枝和叶的细胞壁镉含量显著高于其他组分,是植株亚细胞中最主要的镉储存部位。细胞核和线粒体组分镉含量始终处于较低水平,以保证秋华柳植株的正常生长和生理活动。和正常供水相比,水淹对秋华柳亚细胞组分中镉的分配策略没有明显改变,可用于三峡消落带镉污染区域的植物修复。

#### 参考文献 (References):

- [ 1 ] 吕明权, 吴胜军, 陈春娣, 姜毅, 温兆飞, 陈吉龙, 王雨, 王小晓, 黄平. 三峡消落带生态系统研究文献计量分析. 生态学报, 2015, 35 (11): 3504-3518.
- [ 2 ] 谭淑端, 王勇, 张全发. 三峡水库消落带生态环境问题及综合防治. 长江流域资源与环境, 2008, 17(S1): 101-105.
- [ 3 ] 苏维词. 三峡库区消落带的生态环境问题及其调控. 长江科学院院报, 2004, 21(2): 32-34, 41-41.
- [ 4 ] 戴方喜, 许文年, 陈芳清. 对三峡水库消落区生态系统与其生态修复的思考. 中国水土保持, 2006, (12): 6-8.
- [ 5 ] 张金洋, 王定勇, 石孝洪. 三峡水库消落区淹水后土壤性质变化的模拟研究. 水土保持学报, 2004, 18(6): 120-123.
- [ 6 ] 裴廷权, 王里奥, 韩勇, 黄川, 龚勋. 三峡库区消落带土壤剖面中重金属分布特征. 环境科学研究, 2008, 21(5): 72-78.
- [ 7 ] 王图锦, 胡学斌, 吉芳英, 何强, 叶姜瑜, 黎司, 曹琳. 三峡库区淹没区土壤重金属形态分布及其对水质影响. 环境科学研究, 2010, 23 (2): 158-164.
- [ 8 ] Dalcorso G, Farinati S, Furini A. Regulatory networks of cadmium stress in plants. Plant Signaling & Behavior, 2010, 5(6): 663-667.
- [ 9 ] Pulford I D, Watson C. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees-a review. Environment International, 2003, 29(4): 529-540.
- [ 10 ] 曾成城, 陈锦平, 马文超, 刘媛, 贾中民, 魏虹, 王婷. 水淹生境下秋华柳对镉污染土壤研究修复能力. 生态学报, 2016, 36(13): 3978-3986.
- [ 11 ] Cosio C, Vollenweider P, Keller C. Localization and effects of cadmium in leaves of a cadmium-tolerant willow (*Salix viminalis* L.): I. Macrolocalization and phytotoxic effects of cadmium. Environmental and Experimental Botany, 2006, 58(1/3): 64-74.
- [ 12 ] Küpper H, Zhao F J, McGrath S P. Cellular compartmentation of zinc in leaves of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. Plant Physiology, 1999, 119(1): 305-311.
- [ 13 ] Liu D H, Kottke I. Subcellular localization of copper in the root cells of *Allium sativum* by electron energy loss spectroscopy (EELS). Bioresource Technology, 2004, 94(2): 153-158.
- [ 14 ] 张艳红, 曾波, 付天飞, 叶小齐. 长期水淹对秋华柳(*Salix variegata* Franch) 根部非结构性碳水化合物含量的影响. 西南师范大学学报:

- 自然科学版, 2006, 31(3): 153-156.
- [15] 罗芳丽, 曾波, 叶小齐, 陈婷, 刘巖. 水淹对三峡库区两种岸生植物秋华柳(*Salix variegata* Franch.)和野古草(*Arundinella anomala* Steud.)水下光合的影响. 生态学报, 2008, 28(5): 1964-1970.
- [16] 贾中民, 魏虹, 孙晓灿, 李昌晓, 孟翔飞, 谢小红. 秋华柳和枫杨幼苗对镉的积累和耐受性. 生态学报, 2011, 31(1): 107-114.
- [17] 张雯. 秋华柳(*Salix variegata* Franch.)的Cd富集特性及解毒机制研究[D]. 重庆: 西南大学, 2014.
- [18] 李娅, 曾波, 叶小齐, 乔普, 王海锋, 罗芳丽. 水淹对三峡库区岸生植物秋华柳(*Salix variegata* Franch.)存活和恢复生长的影响. 生态学报, 2008, 28(5): 1923-1930.
- [19] 张雯, 魏虹, 孙晓灿, 顾艳文. 镉在土壤-金丝垂柳系统中的迁移特征. 生态学报, 2013, 33(19): 6147-6153.
- [20] Zeng F R, Zhou W H, Qiu B Y, Ali S, Wu F B, Zhang G P. Subcellular distribution and chemical forms of chromium in rice plants suffering from different levels of chromium toxicity. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2011, 174(2): 249-256.
- [21] Dalvi A A, Bhalerao S A. Response of plants towards heavy metal toxicity: an overview of avoidance, tolerance and uptake mechanism. *Annals of Plant Sciences*, 2013, 2(9): 362-368.
- [22] 刘清泉, 陈亚华, 沈振国, 郑录庆. 细胞壁在植物重金属耐性中的作用. 植物生理学报, 2014, 50(5): 605-611.
- [23] Poschenrieder C, Gunes B, Corrales I, Barceló J. A glance into aluminum toxicity and resistance in plants. *Science of the Total Environment*, 2008, 400(1/3): 356-368.
- [24] Probst A, Liu H Y, Fanjul M, Liao B H, Hollande E. Response of *Vicia faba* L. to metal toxicity on mine tailing substrate: geochemical and morphological changes in leaf and root. *Environmental and Experimental Botany*, 2009, 66(2): 297-308.
- [25] Haynes R J. Ion exchange properties of roots and ionic interactions within the root apoplasm: their role in ion accumulation by plants. *The Botanical Review*, 1980, 46(1): 75-99.
- [26] Jiang W S, Liu D H. Pb-induced cellular defense system in the root meristematic cells of *Allium sativum* L. *BMC Plant Biology*, 2010, 10: 40.
- [27] Marquès L, Cossegal M, Bodin S, Czernic P, Lebrun M. Heavy metal specificity of cellular tolerance in two hyperaccumulating plants, *Arabidopsis halleri* and *Thlaspi caerulescens*. *New Phytologist*, 2004, 164(2): 289-295.
- [28] Krämer U, Talke I N, Hanikenne M. Transition metal transport. *FEBS Letters*, 2007, 581(12): 2263-2272.
- [29] Krzesłowska M, Lenartowska M, Samardakiewicz S, Bilski H, Woźny A. Lead deposited in the cell wall of *Funaria hygrometrica* protonemata is not stable-A remobilization can occur. *Environmental Pollution*, 2010, 158(1): 325-338.
- [30] Allan D L, Jarrell W M. Proton and copper adsorption to maize and soybean root cell walls. *Plant Physiology*, 1989, 89(3): 823-832.
- [31] 潘秀. 镉、锌及其交互作用对互花米草中重金属的积累、转运及亚细胞分布影响的研究[D]. 天津: 南开大学, 2012.
- [32] Ueno D, Yamaji N, Kono I, Huang C F, Ando T, Yano M, Ma J F. Gene limiting cadmium accumulation in rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(38): 16500-16505.
- [33] Krämer U, Pickering I J, Prince R C, Raskin I, Salt D E. Subcellular localization and speciation of nickel in hyperaccumulator and non-accumulator *Thlaspi* species. *Plant Physiology*, 2000, 122(4): 1343-1354.
- [34] Carrier P, Baryla A, Havaux M. Cadmium distribution and microlocalization in oilseed rape (*Brassica napus*) after long-term growth on cadmium-contaminated soil. *Planta*, 2003, 216(6): 939-950.
- [35] 刘俊, 廖柏寒, 曾敏, 周航, 朱允华, 胡劲松, 邹朝辉. 镉在大豆幼苗叶中的亚细胞分配、定位及其对幼苗生长的影响. 农业科学与技术(英文版), 2014, 15(5): 790-794.
- [36] 杨卫东, 陈益泰, 屈明华. 镉在旱柳中亚细胞分布及存在的化学形态. 西北植物学报, 2009, 29(7): 1394-1399.
- [37] Ramos I, Esteban E, Lucena J J, Gárate A. Cadmium uptake and subcellular distribution in plants of *Lactuca* sp. Cd-Mn interaction. *Plant Science*, 2002, 162(5): 761-767.
- [38] Westerhoff H V. Cell metabolism: organization in the cell soup. *Nature*, 1985, 318(6042): 106-106.
- [39] 周丽珍, 罗璇, 何宝燕, 李取生, 徐智敏, 陈艳芳, 余丹萍. NaCl胁迫下苋菜中镉的亚细胞分布及转运研究. 生态环境学报, 2015, 24(1): 139-145.
- [40] Qiu Q, Wang Y T, Yang Z Y, Yuan J G. Effects of phosphorus supplied in soil on subcellular distribution and chemical forms of cadmium in two Chinese flowering cabbage (*Brassica parachinensis* L.) cultivars differing in cadmium accumulation. *Food and Chemical Toxicology*, 2011, 49(9): 2260-2267.
- [41] Kashem M A, Singh B R. Metal availability in contaminated soils: I. Effects of flooding and organic matter on changes in Eh, pH and solubility of Cd, Ni and Zn. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2001, 61(3): 247-255.
- [42] Krzesłowska M. The cell wall in plant cell response to trace metals: polysaccharide remodeling and its role in defense strategy. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2011, 33(1): 35-51.
- [43] 张艳红. 水淹对秋华柳生长及碳水化合物储备的影响[D]. 重庆: 西南大学, 2006.