

· 研究报告 ·

吕素莲 博士，助理研究员。2007年毕业于山东大学细胞生物学专业，获博士学位。2009–2011 在中国科学院植物所从事博士后研究，2011 至今在中科院植物所任助理研究员。2015–2016 年美国加州大学戴维斯分校访问学者。主要从事以抗盐为主线的植物抗逆机理及抗逆植物应用研究，先后承担国家自然科学基金和国家重点研发计划等课题。在 *Molecular Plant*、*Plant Cell & Environment* 等国内外学术期刊上发表论文 20 余篇，获授权专利 2 项。



盐角草在 Cd、Pb、Li 污染盐土修复中的应用潜力

姜腾雪^{1,2}，吕素莲¹，李银心¹

1 中国科学院植物研究所 植物分子生理学重点实验室，北京 100093

2 中国科学院大学 生命科学学院，北京 100049

姜腾雪，吕素莲，李银心. 盐角草在 Cd、Pb、Li 污染盐土修复中的应用潜力. 生物工程学报, 2020, 36(3): 481-492.

Lou TX, Lü SL, Li YX. Application potential of *Salicornia europaea* in remediation of Cd, Pb and Li contaminated saline soil. Chin J Biotech, 2020, 36(3): 481-492.

摘要: 滩涂和内陆盐碱地是重要的后备土地资源。近年来镉 (Cd)、铅 (Pb) 等土壤重金属和锂 (Li) 污染对盐碱地开发利用和生产安全造成严重威胁。利用盐生植物修复污染盐土是最经济有效的方法。本研究以盐生植物盐角草 *Salicornia europaea* L. 为材料，采用盆栽方式，通过比较分析盐角草在不同浓度 Cd (0–50 mmol/L)、Pb (0–50 mmol/L) 和 Li (0–400 mmol/L) 处理下的生长和生理生化指标及离子含量的变化，研究盐角草对 3 种金属污染物胁迫的耐受性及积累特性，以期探讨盐角草在 Cd、Pb、Li 污染盐土修复中的应用潜力。结果显示，随着 Cd、Pb 处理浓度升高，盐角草的株高、鲜重和干重均显著下降。低浓度 Li (≤ 20 mmol/L) 处理促进盐角草的生长，而高浓度 Li (≥ 20 mmol/L) 处理则抑制植物生长。盐角草对 Cd、Pb、Li 的耐受性顺序为 Li>Pb>Cd。Cd、Pb、Li 胁迫可能降低了盐角草对 Na 和 K 的吸收与转运而影响植株的生长。另一方面，盐角草抗氧化酶系统对 Cd、Pb、Li 胁迫表现出不同的响应机理，多种抗氧化酶协同作用，抵制 Cd、Pb、Li 胁迫造成的氧化毒害。盐角草根和地上部分 Cd、Pb、Li 含量随着处理浓度的升高而增加，其中 Cd 和 Pb 的分布特征为根>地上部分，Li 的分布特征为地上部分>根。研究结果表明盐角草对 Cd、Pb、Li 的胁迫均具有较强的耐受性与自我调节能力，且具有富锂特性，具备修复 Cd、Pb、Li 污染盐土的潜力。本研究为深入研究盐角草耐受 Cd、Pb、Li 胁迫的机制奠定了基础，揭示了利用盐角草修复高盐碱土壤中 Cd、Pb、Li 污染的应用潜力。

关键词: 盐角草，胁迫，重金属，镉，铅，锂，盐碱地，土壤修复

Received: August 21, 2019; **Accepted:** September 26, 2019

Supported by: National Key Research and Development Program of China (No. 2018YFD0800700), Major Science and Technology Innovation Project of Shandong Province, China (No. 2019JZZY010726).

Corresponding author: Sulian Lü. Tel: +86-10-62836648; E-mail: sulianlv@ibcas.ac.cn

国家重点研发计划 (No. 2018YFD0800700), 山东省重大科技创新工程项目 (No. 2019JZZY010726) 资助。

网络出版时间: 2019-10-28

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1998.q.20191025.1551.001.html>

Application potential of *Salicornia europaea* in remediation of Cd, Pb and Li contaminated saline soil

Tengxue Lou^{1,2}, Sulian Lü¹, and Yinxin Li¹

¹ Key Laboratory of Plant Molecular Physiology, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China

² College of Life Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: Coastal and inland saline-alkali soil is important reserve land resources. However, some parts of saline land are now under the threat of heavy metals such as cadmium (Cd), lead (Pb) and the light metal lithium (Li). Phytoremediation with halophytes could be the most economical and effective way to restore the contaminated saline soil. In this study, the growth, physiological and biochemical indexes and ion contents of halophyte *Salicornia europaea* under different concentrations of Cd (0–50 mmol/L), Pb (0–50 mmol/L) and Li (0–400 mmol/L) were investigated to evaluate the tolerance and accumulation of the metal contaminations. The results showed that plant height, fresh weight and dry weight of *S. europaea* decreased significantly with the increase of Cd and Pb concentration. Low concentration of Li (< 20 mmol/L) promoted the growth of *S. europaea*, while the growth of plants was inhibited under higher concentration of Li (> 20 mmol/L). The tolerance order of *S. europaea* to Cd, Pb and Li was Li > Pb > Cd. Cd, Pb and Li stresses may negatively affected Na and K uptake and transport in *S. europaea* to affect plant growth. In addition, the antioxidant enzyme system synergistically responded to resist the oxidative toxicity of different ions. The contents of Cd, Pb, Li in roots and shoots of *S. europaea* also increased with the increase of treatment concentration. Furthermore, Cd and Pb contents in roots were significantly higher than in shoots, while more Li accumulated in shoots than in roots. The aforementioned results showed that *S. europaea* had strong tolerance along with a high accumulate ability to Cd, Pb and Li, indicating its application potential in restoring Cd, Pb and Li contaminated saline soil. This study laid a basis for further exploration of the tolerance mechanism of *S. europaea* to Cd, Pb and Li stresses, and gave a new perspective for the usage of *S. europaea* to remediate Cd, Pb and Li pollutants in high-salinity alkali soils.

Keywords: *Salicornia europaea*, stress, heavy metals, Cd, Pb, Li, saline-alkali soil, soil remediation

我国一方面人口众多,耕地不足,淡水资源极度贫乏,另一方面盐碱荒漠面积巨大。据统计,全世界盐碱地的面积为 9.54 亿 hm^2 , 其中我国约为 1 亿 hm^2 , 主要分布在沿海滩涂和内陆盆地。这些盐碱地是重要的后备土地资源。利用盐碱地种植藜麦、盐角草等盐生经济作物可为人类的粮食供应提供新的保障;同时盐碱地是巨大的碳库,在碳循环中扮演着重要的角色,在生态系统构成中具有不可替代的作用。

然而,随着矿产开采和工业废水的排放,重金属镉 (Cd)、铅 (Pb) 等污染物通过水网输入,造成严重的土壤污染,其中包括一部分盐渍化后备土地。Cd、Pb 在土壤中滞留时间长,易在表土积累,可被植物吸收,是中国土壤-植物生态系统中主要的重金属污染^[1]。而且,有研究表明,盐土中重金属具有更大的生物有效性,盐分提高了

重金属的潜在风险^[2]。除了重金属污染外,近年来锂工业发展迅猛,大量工业废水及废弃锂电池和锂卤化物被排放到土壤中,造成了土壤锂污染^[3-4]。而且,随着人们对电子产品、汽车等锂能源产品需求量的不断增长,未来锂污染将更加严重。在自然环境下,与碱土及普通土壤相比,盐土中的总锂量和有效锂含量均更高^[5]。锂是最轻的碱金属,不是植物生长的必需元素,但低浓度锂能促进植物生长,而高浓度锂对植物会产生毒害作用^[6],主要表现为生物量降低、叶绿素含量减少、细胞膜完整性破坏以及生理生化过程改变等^[7]。目前关于植物对锂的吸收利用机制鲜有报道。盐分和这些金属污染物的双重影响,严重威胁着盐碱地的开发利用与生产安全。

利用植物修复污染土地是一项经济有效的策略。而目前已报道的 400 多种重金属超累积植物

大多为甜土植物，并不适用于盐土重金属污染的修复。近年来，利用盐生植物修复盐土重金属污染的研究逐渐引起人们的关注。除了耐盐外，相对于甜土植物，一些盐生植物在提取修复土壤重金属污染方面也具有一定的优势。比如，海马齿对 Cd、Pb 的提取修复能力远高于芥菜和烟草^[8-9]。

盐角草 *Salicornia europaea* 为藜科盐角草属的一年生真盐生植物，被认为是世界上最耐盐的陆生植物之一^[10]。在实验室条件下，200–400 mmol/L NaCl 可以促进盐角草的生长^[11]。研究表明盐角草对 Cd、Pb 胁迫具有较强的耐受性，具有修复重金属污染土壤的潜力^[12-13]。但关于盐角草对 Cd、Pb 胁迫的生理响应及耐受机制还不清楚。关于盐角草对 Li 胁迫的耐受性和吸收累积特性的研究还未见报道。本研究采用土培盆栽试验比较了盐渍环境下盐角草对 Cd、Pb、Li 胁迫的耐受性及对这 3 种离子的吸收特性，并通过研究 3 种离子胁迫对抗氧化物酶（超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化物酶（POD）、过氧化氢酶（CAT）、抗坏血酸过氧化物酶（APX）、谷胱甘肽过氧化物酶（GPX）系统的影响，探讨盐角草的耐受机理，以期为利用盐角草进行污染盐土的修复提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

盐角草种子采自山东省东营市中国科学院高耐盐经济植物繁殖基地。将种子播种于 7 cm×7 cm 的花盆中，待种子萌发后进行 200 mmol/L NaCl 浇灌。生长 30 d 后，选择长势一致的植株进行 Cd、Pb、Li 胁迫处理。用分别含有不同浓度 CdCl₂·2.5H₂O、Pb(NO₃)₂ 和 LiCl 的 200 mmol/L NaCl 溶液对植株进行浇灌处理。Cd 处理设置 6 个浓度，分别为 0、1、5、10、20、50 mmol/L CdCl₂·2.5H₂O；Pb 处理设置 5 个浓度，分别为 0、5、10、20、50 mmol/L Pb(NO₃)₂；Li 处理设置 6 个浓度，分别为 0、20、50、100、200、400 mmol/L LiCl。以浇灌 200 mmol/L NaCl 溶液的植株为对

照。每个处理重复 5 次。花盆随机排列并定期调换位置以减少光照等差别带来的影响。处理后第 30 天，采集根部和地上部样品测定各项生长生理指标和离子含量。

1.2 测定方法

1.2.1 株高和生物量的测定

以盆为单位，每处理选取 3 盆，每盆选取相同高度、成熟度一致且生长状况相近的 5 株植株进行株高和生物量的测定。株高采用直尺法测定；鲜重和干重采用烘干称重法，分别取盐角草根和地上部分，置于烘箱中 105 °C 杀青 30 min，75 °C 烘至恒重，称重后用不锈钢植物粉碎机磨碎，备测。

1.2.2 抗氧化酶相关基因表达量的测定

分别收取不同处理下的盐角草地上部分，用液氮研磨成粉末。采用 Trizol 法提取 RNA，参照 TransScript One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix（购自全式金公司）试剂盒说明书进行 RNA 样品的反转录。从盐角草转录组^[14]中搜索编码抗氧化酶的 *unigenes*，并在 NCBI 网站（<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>）上进行 Blast 确认。相关基因的引物信息见表 1。采用 qRT-PCR 方法检测抗氧化酶基因的表达量。所用仪器为 Stratagene Mx3000P（购自 Agilent 公司），所用试剂为 THUNDERBIRD SYBR[®] qPCR mix（购自 TOYOBO 公司）。设定反应程序为：95 °C 预变性 1 min；95 °C 变性 15 s，55 °C 退火 20 s，72 °C 延伸 30 s，40 个循环；融解曲线分析：95 °C，15 s；55 °C，30 s；95 °C，30 s。以 *Setubulin* 基因为内参，采用 2^{-ΔΔCt} 法^[15]计算基因的相对表达量。

1.2.3 丙二醛含量和抗氧化酶活性的测定

取地上部分 0.1 g 鲜样，加入 1 mL 试剂盒提供的提取液，进行冰浴匀浆；8 000×g、4 °C 离心 10 min；取上清液，按照试剂盒说明书用比色法测定相关指标。试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司。MDA 含量采用硫代巴比妥酸法测定，SOD 采用氮蓝四唑光还原法测定，POD 采用愈创木酚

表 1 RT-qPCR 引物列表

Table 1 The primers used in RT-qPCR

<i>Unigenes</i>	Name	Primer sequenes (5'-3')
	<i>Setubulin</i>	F: CAGTGCCTTTGAGCCATCTTC R: CTGAATGGTTTCGCTTGGTCTT
<i>Unigene27795</i>	<i>Cu/ZnSOD1</i>	F: GTTGCCAGGAGTAAGTCCAGTAAT R: CCCCTAAACCTTTACCATTGT
<i>Unigene37487</i>	<i>Cu/ZnSOD2</i>	F: CTATGGTGAAGGGTGTGGCAGT R: AAGTTGGATGAAGTGGAGTGAGC
<i>Unigene8744</i>	<i>Cu/ZnSOD3</i>	F: ACAAACCGTCAAAATGGTCAAG R: CACCGTAGGTGTGAATGTGGAAG
<i>Unigene24860</i>	<i>MnSOD</i>	F: GGGTCCTGATTTGGAGTGGT R: CAAGGTTCTGGGTGGGTGTG
<i>Unigene44444</i>	<i>FeSOD</i>	F: ATCCAAAGCCATCAGAAGACG R: ACAAGAGGGTTCACCGCATT
<i>Unigene15348</i>	<i>POD16</i>	F: CTCAAGCAACCCTTCGTCTG R: TCGCCGTCCAAGTTCTACAC
<i>Unigene51885</i>	<i>POD20</i>	F: CAGAACAACCGAGTCACGAGC R: ACAGTTGCTGAGGCTCCATTTT
<i>Unigene12380</i>	<i>POD64</i>	F: GTTGAGACAAGTTGAAGGTGGGT R: TAATGCGAAGAAAGCCGTGG
<i>Unigene14013</i>	<i>POD57</i>	F: ACCTCCGCCACCGTTAGAAG R: TGACCTTGGGAGCCAGTGAG
<i>Unigene30762</i>	<i>CAT</i>	F: CGTCCCTGAAGCATCTTATCG R: GAGCAAGCAGCGTTCTCCC
<i>Unigene55182</i>	<i>GPX1</i>	F: AACATCTCACTTGGGTCTTTGAAT R: CCACATTTTGAAGCAACATTGAC
<i>Unigene6973</i>	<i>GPX2</i>	F: CTTATTTATTGAGCAGAAAGCGTC R: CCAGAAAGAGAAAAGAAACCCC
<i>Unigene51860</i>	<i>APX3</i>	F: TTTCACCAACCCTGGAGTATCAC R: CTGGAGGTCCTGCTATTGCTTT
<i>Unigene46108</i>	<i>APX6</i>	F: GGAGGAATGAATGGCTCTATAACA R: AGTCAAGTCTCCCTAACCGAACA

法测定, CAT 采用紫外吸收法测定, APX 采用过氧化氢紫外分光光度法测定, GPX 采用 DTNB 比色法测定。每个处理 3 个重复。

1.2.4 离子含量的测定及转运系数计算

分别称取 0.1 g 根和地上部分样品, 放入消煮管中, 加入 1 mL HNO₃ 和 0.5 mL 30% H₂O₂, 盖上小漏斗, 浸泡过夜。220 °C 消煮 4 h 至溶液变为白色透明, 冷却定容至 50 mL 容量瓶中。采用电感耦合等离子体发射光谱仪 (ICP) 测定 Na、K、Cd 含量, 采用电感耦合等离子体质谱仪 (ICP-MS) 测定 Pb 和 Li 含量。每处理 3 个重复。

根据以下公式计算盐角草 Cd、Pb 和 Li 的转运系数 (Translocation factor, TF):

TF=植物地上部分的离子含量/植物根部离子含量。

1.3 数据处理

采用 Graph Pad Prism 5 进行作图, 采用 SPSS 20 软件进行统计学分析和相关性分析。

2 结果与分析

2.1 Cd、Pb、Li 处理对盐角草生长的影响

如图 1A 所示, 分别用 50 mmol/L Cd、50 mmol/L Pb 和 400 mmol/L Li 处理 30 d 后, 盐角草植株均全部死亡。在 Cd 胁迫下, 低浓度 Cd (1 和 5 mmol/L) 时, 盐角草的生长情况与对照相比无显著差异; Cd 浓度为 10 mmol/L 时, 盐角草株高与对照无显

著差异，而植株鲜重和干重均显著降低，说明植株生长开始受到抑制；Cd 浓度为 20 mmol/L 时，株高、鲜重和干重与对照相比均显著下降，分别降低 23.64%、39.31%和 43.22% (图 1B)。

在 Pb 胁迫下，较低浓度 Pb (≤ 10 mmol/L)对盐角草生长发育影响不大。而 20 mmol/L Pb 处理下，植株生长开始受到抑制，盐角草的株高、鲜重和干重均显著下降，分别降低 25.34%、76.90%和 43.75% (图 1B)。

与 Cd 和 Pb 胁迫不同，20 mmol/L Li 促进了盐角草生长，与对照相比，株高、鲜重和干重分别提高 11.94%、59.35%和 107.96%。之后，随着 Li 浓度的升高，盐角草的株高和鲜重分别在 100 mmol/L Li 和 50 mmol/L Li 时，与对照相比开始显著下降。在 Li 浓度为 200 mmol/L 时，株高、鲜重分别降低了 16.25%和 55.60%，显著低于对照；而干重和对照相比无明显差异 (图 1B)。

由此可以看出，盐角草对 Cd、Pb、Li 的耐受范围分别为 < 10 mmol/L Cd (约 2 284 mg/kg)、 < 20 mmol/L Pb (约 6 625 mg/kg) 和 < 50 mmol/L Li (约 2 120 mg/kg)。因此，盐角草对 Cd、Pb、Li 的耐受性顺序为 $Li > Pb > Cd$ 。

2.2 Cd、Pb、Li 胁迫对盐角草 MDA 含量的影响

MDA 是植物细胞膜脂过氧化产物之一，能与细胞内各种成分发生反应，引起各种酶和膜的严重损伤，其含量高低可以反映膜脂过氧化作用强弱及质膜损坏程度^[16]。由图 2 可知，在 Cd、Pb、Li 处理下，盐角草的 MDA 含量随着处理浓度的升高而升高，说明植株膜脂过氧化程度逐渐增强。在 Cd 20 mmol/L、Pb 20 mmol/L 和 Li 50 mmol/L 胁迫处理下，MDA 含量达到最大值，分别为对照的 3.47、17.50 和 7.32 倍。

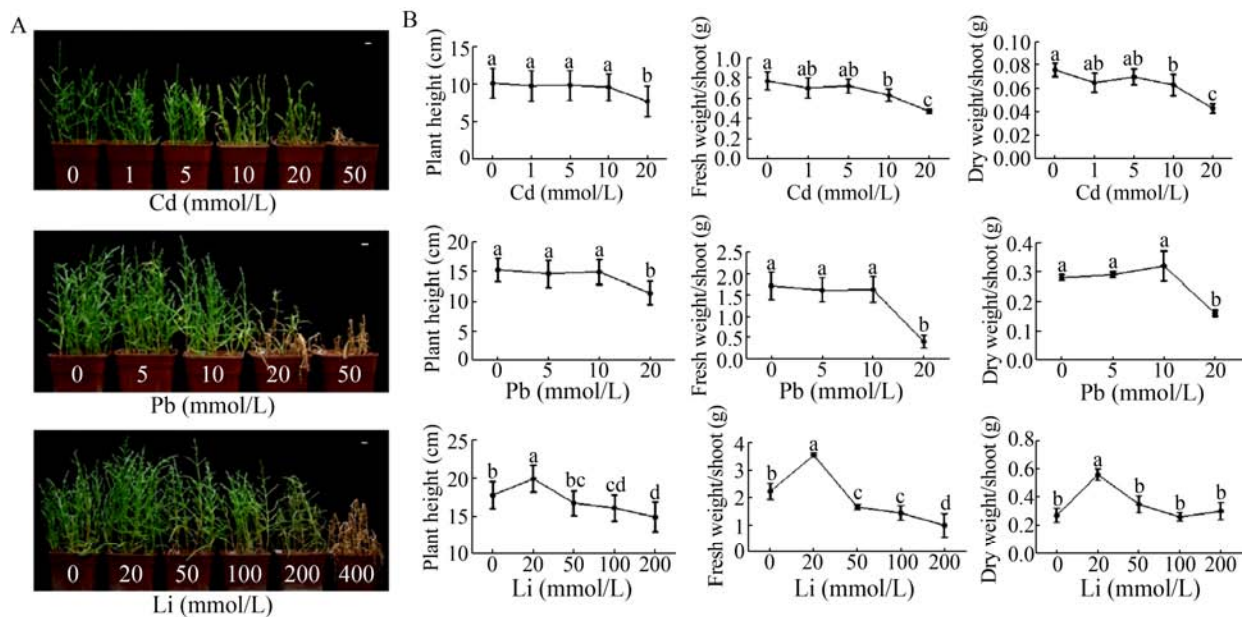


图 1 不同浓度 Cd、Pb、Li 对盐角草生长的影响

Fig. 1 Effects of different concentrations of Cd, Pb and Li on the growth of *S. europaea*. Seedlings of *Salicornia europaea* were treated with different concentrations of Cd, Pb and Li for 30 days, and phenotypes (A), plant height, shoot fresh weight and shoot dry weight (B) were shown. Scale bar=1 cm. Different lowercase letters in the same polygonal chart indicated that there were significant differences among different treatments under the same stress ($P < 0.05$).

2.3 盐角草抗氧化酶系统对 Cd、Pb、Li 胁迫的响应

植物体内酶促保护系统中的 SOD、POD、CAT、APX、GPX 对清除植物体内产生的活性氧具有至关重要的作用。我们首先在转录水平研究了不同 Cd、Pb、Li 胁迫处理下, 盐角草中 5 个 SOD 基因 (*Cu/ZnSOD1*、*Cu/ZnSOD2*、*Cu/ZnSOD3*、*FeSOD* 和 *MnSOD*)、4 个 POD 基因 (*POD16*、*POD20*、*POD57* 和 *POD64*)、1 个 CAT 基因、2 个 APX (*APX3* 和 *APX6*) 和 2 个 GPX 基因 (*GPX1* 和 *GPX2*) 的表达对不同浓度 Cd、Pb、Li 胁迫的响应。如图 3A 所示, Cd 胁迫下, 除了 *APX3* 和 *APX6* 外, 其他基因均在一个或多个处理浓度下呈现上调表达。其中 *POD20* 和 *POD57* 的表达随着处理浓度的增加逐渐增强, 多数 SOD 基因表达呈现先升高

后降低的趋势, *GPX1*、*GPX2* 和 *CAT* 在 20 mmol/L 时表达增强。在 Pb 胁迫下, 除了 *MnSOD* 和 *POD64* 在 20 mmol/L 下表达下调外, 其余基因在各处理浓度下均表现不同程度的上调表达 (图 3B)。Li 胁迫处理下, 所有基因在所有处理浓度下均表现显著上调表达 (图 3C)。

为了进一步研究抗氧化酶活性对 Cd、Pb、Li 胁迫的响应, 我们对 5 个抗氧化酶酶活分别进行测定。Cd 胁迫下, 与基因表达检测结果基本一致, SOD、POD、GPX 酶活在不同浓度下均有不同程度的提高, APX 酶活没有显著变化, 而 CAT 酶活在高浓度 Cd 处理下显著降低 (图 4A)。Pb 胁迫下, CAT、POD、GPX 酶活在一个或多个浓度处理下升高, APX 没有显著变化, 而 SOD 在高浓度下显著降低 (图 4B)。Li 胁迫下, POD 酶

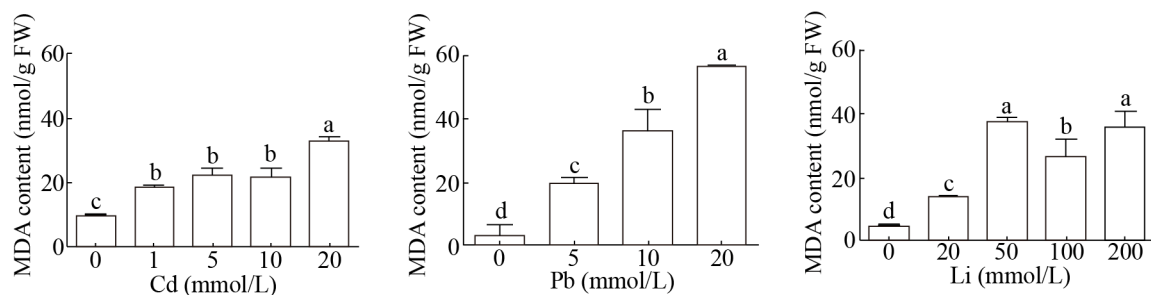


图 2 不同浓度 Cd、Pb、Li 处理下盐角草 MDA 含量

Fig. 2 MDA contents of *S. europaea* under different concentrations of Cd, Pb and Li. Different lowercase letters in the same polygonal chart indicated that there were significant differences among different treatments under the same stress ($P < 0.05$).

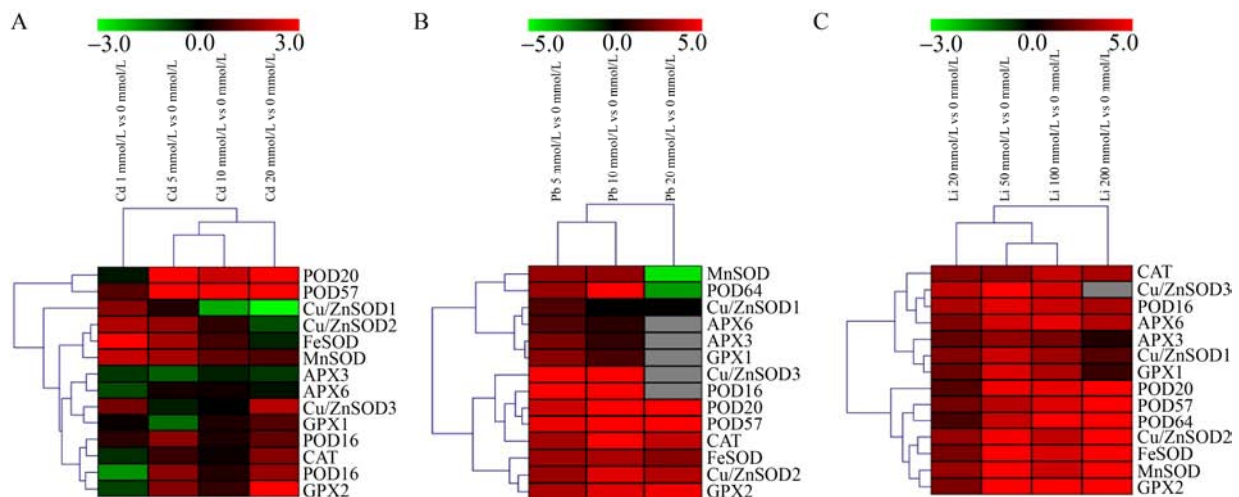


图 3 不同浓度 Cd(A)、Pb(B)、Li(C) 处理下盐角草抗氧化酶基因表达变化

Fig. 3 Gene expressions of antioxidant enzymes in response to different concentrations of Cd(A), Pb(B) and Li(C) treatments in *S. europaea*.

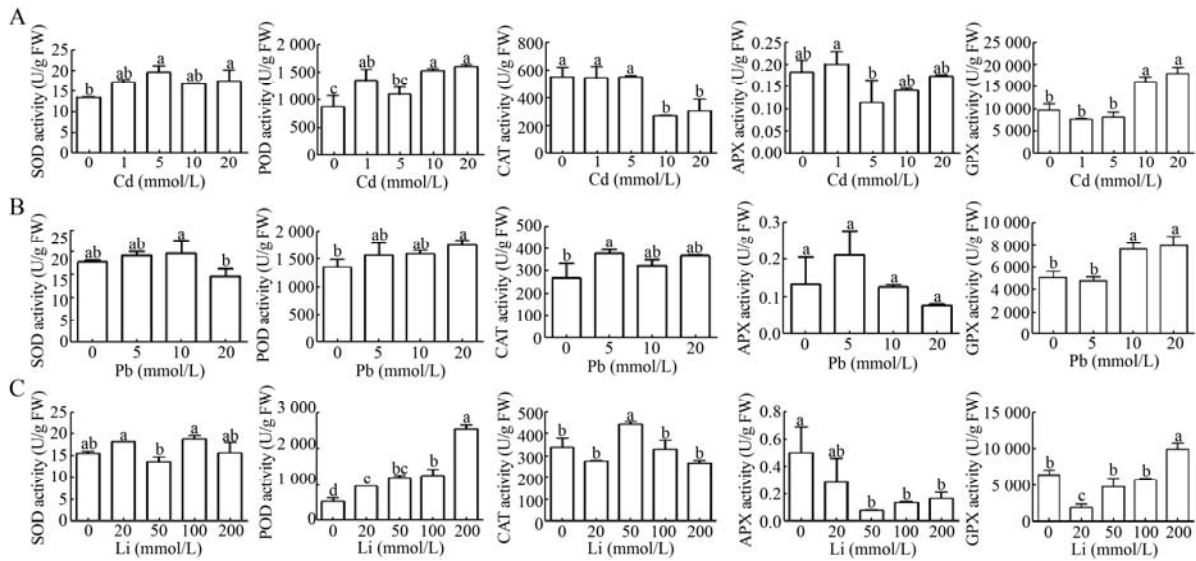


图 4 不同浓度 Cd、Pb、Li 处理下盐角草抗氧化酶活性变化

Fig. 4 Antioxidant enzyme activities of *S. europaea* under different concentrations of Cd, Pb and Li. Different lowercase letters in the same polygonal chart indicated that there were significant differences among different treatments under the same stress ($P < 0.05$).

活随着处理浓度的升高而逐渐升高，CAT 和 GPX 酶活也有所提高，SOD 无显著变化，而 APX 酶活显著降低 (图 4C)。这些结果表明不同的抗氧化酶对不同离子胁迫具有不同的响应机制。

2.4 Cd、Pb、Li 含量及转运特性

分别对不同浓度 Cd、Pb、Li 处理下盐角草根和地上部中 Cd、Pb、Li 含量进行测定。结果显示，盐角草根和地上部的 Cd、Pb、Li 含量均随处理浓度的增加而增加。20 mmol/L Cd、Pb、Li 处理下，盐角草根中 Cd、Pb、Li 含量分别达到 1 801、18 782 和 185 mg/kg，地上部分 Cd、Pb、Li 含量分别为 626、838 和 1 218 mg/kg。200 mmol/L Li 处理下，盐角草根和地上部分的 Li 含量分别达到 1 828 和 5 733 mg/kg (图 5)。

值得注意的是，盐角草根中的 Cd、Pb 含量显著高于地上部分，而在 Li 处理下，地上部分的 Li 含量显著高于根中。转运系数 (TF) 是反映植物不同部位间离子运移能力大小的指标，用来评价植物将离子从地下向地上的运输和富集能力。转运系数越大说明植物从地下部分向地上部分运移离子的能力越强^[17]。如图 5 所示，Li 的转运系

数最高，为 2.97–6.53，其中 20 mmol/L 时最高；其次 Cd 的转运系数为 0.23–0.52，其中 Cd 处理浓度为 5 mmol/L 时，TF 最大；Pb 的转运系数最低，为 0.004–0.050。

2.5 Cd、Pb、Li 处理对盐角草 Na 和 K 含量的影响

前期研究发现 200–400 mmol/L 的 NaCl 可以促进盐角草的生长，Na 是盐角草生长必需的大量元素^[10]。因此，我们进一步测定了不同浓度 Cd、Pb、Li 处理下盐角草根和地上部的 Na 和 K 含量。在对照和处理条件下，盐角草地上部的 Na 含量远高于根中，这与前期报道一致^[18]。不同浓度 Cd、Pb、Li 处理下，根中的 Na 含量与对照相比没有显著变化，而地上部的 Na 含量均随着处理浓度的升高而逐渐降低 (图 6)。对于 K 含量，除了 Cd 胁迫处理下根中的 K 含量和 Pb 胁迫处理下地上部中的 K 含量相对于对照没有显著变化外，其他处理下根和地上部中的 K 含量均随着胁迫浓度的升高呈现逐渐降低的趋势。进一步相关性分析表明，在地上部分，Cd、Li 含量分别与 Na 含量呈显著负相关；在根中，Pb、Li 分别与 K 呈显著负相关 (表 2)。这

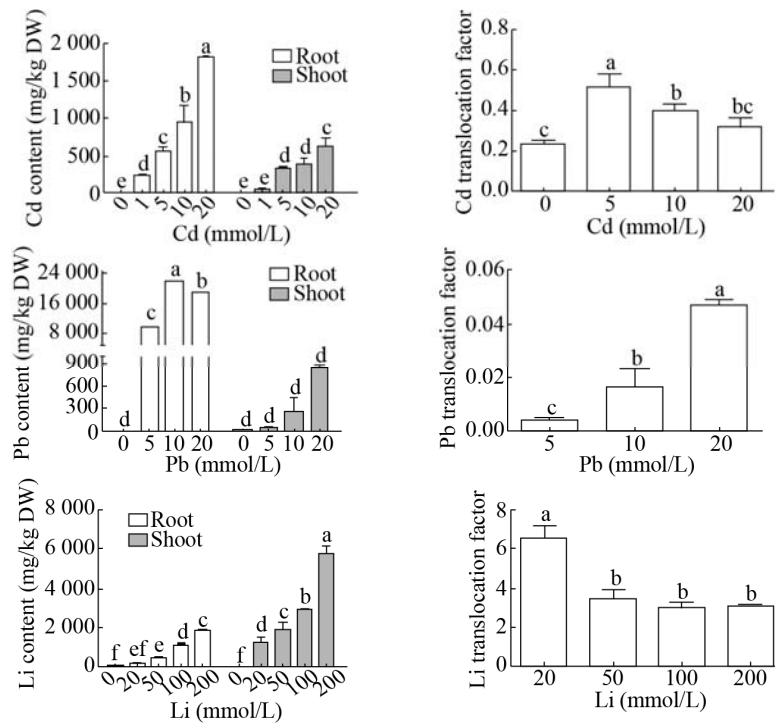


图 5 盐角草根和地上部 Cd、Pb、Li 含量及转运系数

Fig. 5 Cd, Pb, Li contents in roots and shoots and translocation factors of *S. europaea*. Different lowercase letters in the same polygonal chart indicated that there were significant differences among different treatments under the same stress ($P < 0.05$).

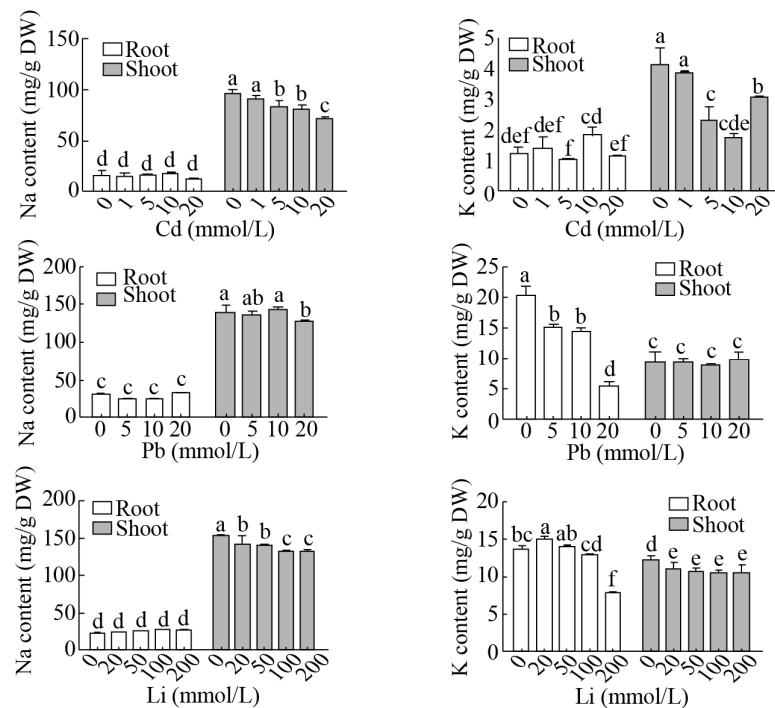


图 6 不同浓度 Cd、Pb、Li 处理下盐角草根和地上部中 Na 和 K 含量

Fig. 6 Na and K contents in roots and shoots of *S. europaea* under different concentrations of Cd, Pb and Li. Different lowercase letters in the same polygonal chart indicated that there were significant differences among different treatments under the same stress ($P < 0.05$).

表 2 根和地上部金属离子与 Na、K 含量的相关性分析
Table 2 Correlation coefficients between metal elements and Na, K elements

Stress		Na	K
Cd	Root	-0.105	0.071
	Shoot	-0.858**	-0.243
Pb	Root	-0.376	-0.665*
	Shoot	-0.532	0.274
Li	Root	0.635*	-0.901**
	Shoot	-0.706**	-0.436

“*” means significant difference at $P < 0.05$, while “**” means significant difference at $P < 0.01$.

说明 Cd、Pb、Li 胁迫可能通过降低植株对 Na 和 K 的吸收与转运, 影响植株的生长。

3 讨论

作物的生长对重金属胁迫的响应因重金属的种类、胁迫浓度以及作用时间而各有差异^[19-20]。本研究中, 采用不同浓度 Cd、Pb、Li 处理盐角草, 结果表明, 盐角草对 Cd、Pb、Li 的耐受顺序为 $Li > Pb > Cd$, 盐角草对 Cd 最敏感。这与何洁等^[21]的研究结果是一致的, 其研究不同浓度 Zn (0-400 mg/kg) 和 Cd (0-0.6 mg/kg) 对翅碱蓬幼苗生长的影响, 结果表明, 翅碱蓬对 Zn 的耐受阈值为 10 mg/kg, 而 Cd 浓度为 0.1 mg/kg 时, 翅碱蓬的发芽率、苗高、苗重已经受到影响。这说明 Cd 对植物生长有普遍毒性作用, 且产生毒性的浓度较低, 即毒性较强。另外, 我们发现在高浓度 Cd 处理下, 盐角草对 Cd 的转运系数随 Cd 浓度的增加不断下降 (图 5), 这可能是相对于 Pb、Li 胁迫, 盐角草对 Cd 胁迫最敏感的重要原因。

重金属离子可以通过干扰植物营养物质的正常吸收和体内再分配, 造成植物的生物量降低^[22]。前期研究发现 200-400 mmol/L 的 NaCl 可以促进盐角草的生长, Na 是盐角草生长必需的大量元素^[10]。本研究中我们发现, 盐角草地上部分 Cd、Li 含量分别与 Na 含量呈显著负相关; 而根中 Pb、Li 分别与 K 呈显著负相关 (表 2)。因此, 我们推断 Cd、Pb、Li 胁迫可能降低了植株对 Na 和 K 的吸收与转运, 从而抑制了植株的生长。值得注意

的是, 低浓度的 Li (≤ 20 mmol/L) 对盐角草有促进生长的作用。这与 Kalinowska 等的研究报道是一致的。Kalinowska 等^[23]研究表明, 2.5 mg/L 低浓度 Li 可以使莴苣 *Lactuca sativa* 根和地上部分含有较高的相对含水量, 并促进植株生长。该研究认为这可能是由于拟态效应, 即亚致死剂量的潜在毒性物质^[24]对植物生长有刺激作用, 或是 Li 离子对植物新陈代谢的一些其他未知效应。另外, 有研究表明, Li 能够替换 Na、K 以及 Mg 和 Ca^[7,25]。因此猜测, 低浓度 Li 可以促进盐角草的生长, 也可能是由于 Li 替换 Na、K 促进了植株的生长。

逆境胁迫对植物的损伤常常是由于产生过多的体内活性氧 (ROS), 从而导致质膜受损, 细胞功能丧失。盐角草在 3 种离子胁迫下, MDA 水平均随着处理浓度的升高而升高 (图 2), 说明细胞受高浓度离子毒害, 膜脂过氧化程度增强。抗氧化酶系统在清除活性氧、调控细胞内的氧化还原平衡、植物抵御逆境胁迫中发挥着重要作用。SOD 可以将超氧化物歧化为基态氧和 H_2O_2 , 而 H_2O_2 的清除又可以在 POD、CAT、APX、GPX 等的协同作用下共同完成。本研究发现, 在转录水平上, 盐角草中编码 SOD、POD、CAT、APX、GPX 的相关基因在 Cd、Pb、Li 胁迫时均呈现上调表达, 其中在 Pb、Li 胁迫时这种响应更明显 (图 3)。而在酶活层面, 各抗氧化酶对不同离子胁迫的响应有所不同 (图 4)。盐角草在抵御外界 Cd、Pb、Li 胁迫时, 各种处理浓度下均会启动 POD 酶活抵抗逆境, 而在较高浓度下 ($Cd \geq 10$ mmol/L, $Pb \geq 10$ mmol/L 和 $Li \geq 20$ mmol/L) 均会启动 GPX 发挥酶活性。说明盐角草中 POD 和 GPX 可能是多种逆境下普遍启动的抗氧化系统。此外, 在 Cd 胁迫下 SOD 也发挥一定作用, 而在较低浓度 Pb (5 mmol/L) 和 Li (50 mmol/L) 胁迫下 CAT 酶活也发挥一定作用。张义贤和张丽萍^[26]在研究不同浓度 Cd、Pb、Hg、Ni 胁迫对大麦抗氧化酶 (SOD、POD 和 CAT) 的影响时, 也发现不同重金属胁迫下, 抗氧化酶的酶活响应不一致。这说

明植物在不同的胁迫处理下具有不同的抗氧化酶响应机制, 协同抵制重金属的氧化毒害。还有一些酶活在低浓度离子处理下, 酶活与对照相比没有明显变化, 而高浓度下酶活显著降低。比如 Cd 胁迫下 CAT 酶活的变化和 Li 胁迫下 APX 酶活的变化。这可能是由于细胞长时间地维持在较高的 $O_2\cdot^-$ 浓度下, 细胞内的活性物质包括酶受到损伤, 致使 CAT 或 APX 酶活性下降^[27]。

盐土重金属污染使得植物面临着重金属和盐分的“双重”胁迫, 甜土植物在盐土环境中难以正常生长, 无法用于修复盐土重金属污染^[28]。因此, 对盐土植物修复盐土重金属污染的研究逐渐引起人们的关注。相关研究表明, 一些盐生植物具有超富集重金属的潜力^[29]。转运系数 (TF) 是评价植物吸收积累重金属污染物的一个重要指标。转运系数大于 1 是重金属超富集植物区别于普通植物的重要特征之一^[22]。盐角草 Cd 和 Pb 的转运系数均小于 1, 不符合超富集植物的特征。然而, 本研究中, 在 200 mmol/L NaCl 条件下, Cd、Pb 处理浓度为 20 mmol/L 时, 盐角草地上部分 Cd、Pb 含量分别为 626 和 838 mg/kg, 达到了超富集植物地上部分 Cd 含量 >100 mg/kg 的标准, 略低于 Pb 含量 >1 000 mg/kg 的标准。另外, 盐角草具有较大的生物量, 我们在山东东营盐碱地的多年种植记录显示, 每年每 hm^2 大约可收获 5 000 kg 地上部干物质。按本研究的结果推算, 盐角草地上部分可分别提取 3 130 g Cd/($hm^2\cdot y$) 和 4 190 g Pb/($hm^2\cdot y$)。Cd 的提取量略低于超富集植物天蓝遏蓝菜 *Thlaspi caerulescens* 地上部的 Cd 提取量 (4 160–8 320 g/($hm^2\cdot y$))^[30], 而远高于芥菜 *Brassica juncea* (60–80 g/($hm^2\cdot y$))^[31] 和烟草 *Nicotiana tabacum* (500 g/($hm^2\cdot y$))^[8]。Pb 的提取量远远高于盐生植物互花米草 *Spartina alterniflora* 地上部的 Pb 提取量 (364 g/($hm^2\cdot y$))^[32]。此外, 在 200 mmol/L NaCl 条件下, 盐角草可以耐受 10 mmol/L Cd 和 20 mmol/L Pb, 该耐受浓度不仅远高于国家土壤环境质量三级标准 (GB15618-1995)^[33], Cd 1 mg/kg,

Pb 500 mg/kg), 而且也高于碱蓬 *Suaeda salsa*^[34]、滨藜 *Atriplex triangularis*^[35] 和海马齿 *Sesuvium portulacastrum*^[36] 等盐生植物。因此, 盐角草在 Cd、Pb 重度污染盐土修复中具有较大的应用潜力。

值得注意的是, 本研究中我们首次发现盐角草对 Li 的转运系数为 2.97–6.53, 地上部的 Li 积累量达 1 218–5 733 mg/kg DW (图 5), 具有富 Li 特性。罗布麻是研究较多的富锂植物, 在 400 mg/kg (约 58 mmol/L) Li 处理下, 罗布麻的根茎叶干重均下降 60% 以上, 茎叶 Li 含量 2 500 mg/kg 左右^[37]。与罗布麻相比, 盐角草对 Li 的耐受浓度高得多, 即使在 200 mmol/L Li 胁迫下, 盐角草的干重也未发生明显下降 (图 1B), 且地上部分 Li 浓度达到 5 733 mg/kg DW。在植物修复技术应用中, 一个受到关注的问题是富集重金属的植物材料的后续处置和利用问题, 这些植物材料如果处置不当可导致二次污染。研究报道, 在医药领域, 锂盐可以用于精神治疗^[6]。因此, 在利用盐角草治理锂污染土壤的同时, 其富锂的地上部分有可能化废为宝, 用作提供人体特殊营养的原料, 避免对生物链或环境造成二次污染。盐角草的这一特点进一步提升了其在锂污染修复中的应用价值。

REFERENCES

- [1] Zhao YD, Pan YZ, Liu BY, et al. *Pilea cadierei* Gagnep. et Guill's growth and accumulation under single and combined pollution of Cd and Pb. *J Agro-Environ Sci*, 2012, 31(1): 48–53 (in Chinese). 赵杨迪, 潘远智, 刘碧英, 等. Cd、Pb 单一及复合污染对花叶冷水花生长的影响及其积累特性研究. *农业环境科学学报*, 2012, 31(1): 48–53.
- [2] Du Laing G, Rinklebe J, Vandecasteele B, et al. Trace metal behaviour in estuarine and riverine floodplain soils and sediments: a review. *Sci Total Environ*, 2009, 407(13): 3972–3985.
- [3] Aral H, Vecchio-Sadus A. Lithium: environmental pollution and health effects//Nriagu JO, Ed. *Encyclopedia of Environmental Health*. Burlington, NJ, USA: Elsevier, 2011: 499–508.

- [4] Gruber PW, Medina PA, Keoleian GA, et al. Global lithium availability. *J Ind Ecol*, 2011, 15(5): 760–775.
- [5] Ammari TG, Al-Zu'bi Y, Abu-Baker S, et al. The occurrence of lithium in the environment of the Jordan Valley and its transfer into the food chain. *Environ Geochem Hlth*, 2010, 33(5): 427–437.
- [6] Shahzad B, Mughal MN, Tanveer M, et al. Is lithium biologically an important or toxic element to living organisms? An overview. *Environ Sci Pollut Res*, 2017, 24(1): 103–115.
- [7] Shahzad B, Tanveer M, Hassan W, et al. Lithium toxicity in plants: reasons, mechanisms and remediation possibilities—a review. *Plant Physiol Biochem*, 2016, 107: 104–115.
- [8] Ghnaya T, Nouairi I, Slama I, et al. Cadmium effects on growth and mineral nutrition of two halophytes: *Sesuvium portulacastrum* and *Mesembryanthemum crystallinum*. *J Plant Physiol*, 2005, 162(10): 1133–1140.
- [9] Zaier H, Ghnaya T, Lakhdar A, et al. Comparative study of Pb-phytoextraction potential in *Sesuvium portulacastrum* and *Brassica juncea*: Tolerance and accumulation. *J Hazard Mater*, 2010, 183(1/3): 609–615.
- [10] Lv SL, Nie LL, Fan PX, et al. Sodium plays a more important role than potassium and chloride in growth of *Salicornia europaea*. *Acta Physiol Plant*, 2012, 34(2): 503–513.
- [11] Wang XC. Integrated morphological, physiological and comparative proteomic strategies reveal a systematic salt tolerance mechanism for euhalophyte *Salicornia europaea* L[D]. Beijing: Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, 2008 (in Chinese).
王旭初. 盐角草耐盐的结构生物学、生理学和比较蛋白质组学研究[D]. 北京: 中国科学院植物研究所, 2008.
- [12] Ozawa T, Miura M, Fukuda M, et al. Cadmium tolerance and accumulation in a halophyte *Salicornia europaea* as a new candidate for phytoremediation of saline soils. *Osaka: Grad Sch Life and Envi Sci, Osaka Pref Univ*, 2010, 60: 1–8.
- [13] Khodaverdilo H, Taghlidabad RH. Phytoavailability and potential transfer of Pb from a salt-affected soil to *Atriplex verucifera*, *Salicornia europaea* and *Chenopodium album*. *Chem Ecol*, 2014, 30(3): 216–226.
- [14] Fan PX, Nie LL, Jiang P, et al. Transcriptome analysis of *Salicornia europaea* under saline conditions revealed the adaptive primary metabolic pathways as early events to facilitate salt adaptation. *PLoS ONE*, 2013, 8(11): e80595.
- [15] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. *Methods*, 2001, 25(4): 402–408.
- [16] Guo TR, Chen LP, Feng QF, et al. Effect of aluminum and cadmium treatments on the growth and antioxidant property of water spinach. *J Nucl Agric Sci*, 2015, 29(3): 571–576 (in Chinese).
郭天荣, 陈丽萍, 冯其芳, 等. 铝、镉胁迫对空心菜生长及抗氧化特性的影响. *核农学报*, 2015, 29(3): 571–576.
- [17] Liu WT, Zhang YL, Chen ZM, et al. Cadmium and zinc absorption and distribution in various tree species in a mining area. *Chin J Appl Ecol*, 2008, 19(4): 752–756 (in Chinese).
刘维涛, 张银龙, 陈喆敏, 等. 矿区绿化树木对镉和锌的吸收与分布. *应用生态学报*, 2008, 19(4): 752–756.
- [18] Lv SL, Jiang P, Chen XY, et al. Multiple compartmentalization of sodium conferred salt tolerance in *Salicornia europaea*. *Plant Physiol Biochem*, 2012, 51: 47–52.
- [19] Sarwar N, Ishaq W, Farid G, et al. Zinc-cadmium interactions: Impact on wheat physiology and mineral acquisition. *Ecotox Environ Safe*, 2015, 122(10): 528–536.
- [20] Xiao HJ, Gou JL, He JF, et al. Effect of cadmium stress on yield, nitrogen, phosphorus, potassium and cadmium uptake of *Apium graveolens*. *Environ Sci Technol*, 2014, 27(4): 10–13 (in Chinese).
肖厚军, 苟久兰, 何佳芳, 等. 镉胁迫下芹菜产量和氮、磷、钾吸收及镉积累量的变化. *环境科技*, 2014, 27(4): 10–13.
- [21] He J, Gao YT, He X, et al. The effect of Zn and Cd on growth and antioxidant enzymes activity of *Suaeda heteroptera* Kitagawa. *Acta Sci Circumst*, 2013, 33(1): 312–320 (in Chinese).
何洁, 高钰婷, 贺鑫, 等. 重金属Zn和Cd对翅碱蓬生长及抗氧化酶系统的影响. *环境科学学报*, 2013, 33(1): 312–320.

- [22] Chen KH, Zhang K, LI QS, et al. Remediation effects of four halophytes on Cd and Pb compound pollution. *J Agro-Environ Sci*, 2017, 36(3): 458–465 (in Chinese).
陈柯罕, 张科, 李取生, 等. 四种盐生植物对Cd Pb复合污染提取修复效果比较研究. *农业环境科学学报*, 2017, 36(3): 458–465.
- [23] Kalinowska M, Hawrylak-Nowak B, Szymańska M. The influence of two lithium forms on the growth, L-ascorbic acid content and lithium accumulation in lettuce plants. *Biol Trace Elem Res*, 2013, 152(2): 251–257.
- [24] Allender WJ, Cresswell GC, Kaldor J, et al. Effect of lithium and lanthanum on herbicide induced hormesis in hydroponically-grown cotton and corn. *J Plant Nutr*, 1997, 20(1): 81–95.
- [25] Hara T, Sonoda Y, Iwai I. Growth response of cabbage plants to lithium, sodium, and rubidium under water culture conditions. *Soil Sci Plant Nutr*, 1977, 23(4): 531–539.
- [26] Zhang YX, Zhang LP. Effects of antioxidant enzymes activities in *Hordeum vulgare* seedling under Cd²⁺, Pb²⁺, Hg²⁺, Ni²⁺ stresses. *J Agro-Environ Sci*, 2005, 24(2): 217–221 (in Chinese).
张义贤, 张丽萍. Cd²⁺、Pb²⁺、Hg²⁺、Ni²⁺胁迫对大麦抗氧化酶活性的影响. *农业环境科学学报*, 2005, 24(2): 217–221.
- [27] Sun J, Tie BQ, Qian Z, et al. Eco-toxicological effect of compound stress of Cu, Cd, Pb, Zn and As on *Juncus effuses*. *Soils*, 2007, 39(2): 279–285 (in Chinese).
孙健, 铁柏清, 钱湛, 等. Cu、Cd、Pb、Zn、As复合污染对灯心草的生理毒性效应. *土壤*, 2007, 39(2): 279–285.
- [28] Ben Rejeb K, Ghnaya T, Zaier H, et al. Evaluation of the Cd²⁺ phytoextraction potential in the xerohalophyte *Salsola kali* L. and the impact of EDTA on this process. *Ecol Eng*, 2013, 60: 309–315.
- [29] Liang LC, Liu WT, Zhang X, et al. Research progress in phytoextraction of heavy metal contaminated saline soil. *J Agro-Environ Sci*, 2016, 35(7): 1233–1241 (in Chinese).
梁丽琛, 刘维涛, 张雪, 等. 盐土植物提取修复重金属污染盐土研究进展. *农业环境科学学报*, 2016, 35(7): 1233–1241.
- [30] Robinson BH, Meblanc L, Petit D, et al. The potential of *Thlaspi caerulescens* for phytoremediation of contaminated soils. *Plant Soil*, 1998, 203(1): 47–56.
- [31] Blaylock MJ, Salt DE, Dushenkov S, et al. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environ Sci Technol*, 1997, 31(3): 860–865.
- [32] Nalla S, Hardaway CJ, Sneddon J. Phytoextraction of selected metals by the first and second growth seasons of *Spartina alterniflora*. *Instrum Sci Technol*, 2012, 40(1): 17–28.
- [33] GB15618-1995. Environmental quality standard for soils[S]. (in Chinese).
GB15618-1995. 土壤环境质量标准[S].
- [34] Yang J, Wang CY, Chen Z, et al. Responses and accumulation characteristics of *Suaeda salsa* under combined and single stress of Pb²⁺ and Cd²⁺. *J Soil Water Conservat*, 2016, 30(2): 323–327 (in Chinese).
杨佳, 王趁义, 陈翟, 等. 碱蓬对 Pb²⁺、Cd²⁺单一及复合胁迫的反应及其吸收累积特征. *水土保持学报*, 2016, 30(2): 323–327.
- [35] Yang YZ, Zhang CH, Zheng QS, et al. Uptake, translocation and subcellular distribution characteristics of cadmium and sodium in *Suaeda salsa* and *Atriplex triangularis*. *J Agro-Environ Sci*, 2015, 34(4): 619–626 (in Chinese).
杨亚洲, 张春华, 郑青松, 等. 碱蓬和滨藜对镉和钠吸收、转运及亚细胞分布特性的比较研究. *农业环境科学学报*, 2015, 34(4): 619–626.
- [36] Yan TL, Zhong CR, Liu Q, et al. Effects of Pb and Zn on the growth and physiological response of *Sesuvium portulacastrum*. *Guihaia*, 2015, 35(5): 668–672 (in Chinese).
严廷良, 钟才荣, 刘强, 等. 海马齿对重金属 Pb、Zn 胁迫的生长及生理生化响应. *广西植物*, 2015, 35(5): 668–672.
- [37] Ren J, Tian CY. Effects of lithium concentration treatments on growth of *Apocynum* seedling and its lithium accumulation. *Arid Zone Res*, 2014, 31(2): 313–316 (in Chinese).
任婧, 田长彦. 锂浓度对罗布麻生长及锂累积量的影响. *干旱区研究*, 2014, 31(2): 313–316.

(本文责编 陈宏宇)