

崔星怡, 秦俊豪, 李智鸣, 等. 不同品种空心菜对重污染土壤砷的吸收累积及其亚细胞分布[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(1):24-31.

CUI Xing-yi, QIN Jun-hao, LI Zhi-ming, et al. Accumulation and subcellular distribution of arsenic in water spinach (*Ipomoea aquatica*) cultivars from arsenic contaminated soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(1):24-31.

## 不同品种空心菜对重污染土壤砷的吸收累积及其亚细胞分布

崔星怡<sup>1,2,3</sup>, 秦俊豪<sup>1,2</sup>, 李智鸣<sup>1,2</sup>, 黎华寿<sup>1,2,3\*</sup>

(1.华南农业大学 农业部华南热带农业环境重点实验室, 广州 510642; 2.广东省现代生态农业与循环农业工程技术研究中心, 广州 510642; 3.广东省高等学校农业生态与农村环境重点实验室, 广州 510642)

**摘要:** 采用水泥池小区试验研究了土壤 As 污染(66.4 mg·kg<sup>-1</sup>)胁迫对 19 种空心菜生长、As 累积以及 As 的亚细胞分布的影响。结果表明,各品种空心菜均能生长,但不同品种空心菜生物量及 As 累积量存在显著差异(P<0.05),地上部 As 含量范围为 0.73~191.12 mg·kg<sup>-1</sup>,均超出食品中污染限量的标准(0.5 mg·kg<sup>-1</sup>)。台湾白骨柳叶空心菜、泰国白梗柳叶空心菜、油青空心菜 3 个品种为相对低累积品种;台湾大叶白骨空心菜、菜农 D-95 空心菜、港种青绿梗叶空心菜、泰国竹叶空心菜 4 个品种为相对高累积品种。19 个品种空心菜亚细胞中固持 As 含量大小顺序为胞质(49.06%~77.44%)>细胞器(19.90%~46.82%)>细胞壁(2.22%~16.73%)。

**关键词:** 空心菜品种; As 累积; 亚细胞; As 污染土壤

中图分类号: X171.5 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2017)01-0024-08 doi:10.11654/jaes.2016-1009

### Accumulation and subcellular distribution of arsenic in water spinach (*Ipomoea aquatica*) cultivars from arsenic contaminated soil

CUI Xing-yi<sup>1,2,3</sup>, QIN Jun-hao<sup>1,2</sup>, LI Zhi-ming<sup>1,2</sup>, LI Hua-shou<sup>1,2,3\*</sup>

(1.Key Laboratory of Agro-Environment in the Tropics, Ministry of Agriculture, P.R. China, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2.Guangdong Engineering Research Center for Modern Eco-agriculture and Circular Agriculture, Guangzhou 510642, China; 3.Key Laboratory of Agroecology and Rural Environment of Guangdong Regular Higher Education Institutions, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** Comparison of uptake and distribution of arsenic (As) accumulation in different cultivars of water spinach and its mechanisms are poorly investigated. A plot experiment in soil pools was conducted to study the effect of soil As stress on plant growth, As accumulation and As distribution in subcellular fraction of nineteen water spinach (*Ipomoea aquatica*) cultivars. The results showed that all those 19 *Ipomoea aquatica* cultivars could be growth under 66.4 mg·kg<sup>-1</sup> As of soil stress treatment. However, there was significant difference in the biomass, As accumulation among *Ipomoea aquatica* cultivars. And the concentration of above-ground portion of *Ipomoea aquatica* cultivars varied from 0.73 to 191.12 mg·kg<sup>-1</sup> As, all beyond the limits of the standard GB 2012—2762. In addition, four high As accumulating cultivars and three low As accumulating cultivars from 19 cultivars of *Ipomoea aquatica* were screened out. During the 66.4 mg·kg<sup>-1</sup> As exposure, the proportion of each constituent was in the order of soluble fraction (49.06%~77.44%)>cell organ (19.90%~46.82%)>cell wall (2.22%~16.73%), and cytoplasmic organelles and the cell wall maintained low levels of As.

**Keywords:** *Ipomoea aquatica* cultivars; As accumulation; subcellular fraction; arsenic contaminated soil

收稿日期: 2016-08-06

作者简介: 崔星怡(1992—),女,硕士研究生,主要从事土壤重金属和污染水体的生态修复。E-mail: starcui620@foxmail.com

\* 通信作者: 黎华寿 E-mail: lihuashou@scau.edu.cn

基金项目: 国家高技术研究发展计划(“863 计划”)项目(2013AA102402); 国家自然科学基金资助项目(41271469); 广东省科技计划项目(2013B020303001, 2015B090903077)

**Project supported:** The National High Technology Research and Development Program of China (2013AA102402); The National Natural Science Foundation of China (41271469); The Science and Technology Planning Project of Guangdong Province, China (2013B020303001, 2015B090903077)

砷(As)是一种毒性较强且具有致癌作用的类金属<sup>[1]</sup>。随着工农业的发展,As和含As化合物的大量使用,使土壤As污染问题日益严重<sup>[2]</sup>。土壤是As净化和累积的主要场所,土壤As的世界平均含量约 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,中国为 $(11.2\pm 7.9)\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,且显现出从西南到东北逐渐由高到低的趋势<sup>[3]</sup>,即西南和华南地区As本底值和污染较高。与世界土壤As含量水平相比,我国As含量较高,《全国土壤污染状况调查公报》显示,我国土壤中As的点位超标率为2.7%,在调查的砷、镉、钴、铬、铜、氟、汞、锰、镍、铅、硒、钒、锌等多种无机污染物中,As的超标率排行第三。土壤中的As可被农作物吸收,并通过食物链累积放大,最终严重危害人类健康<sup>[4]</sup>。

蔬菜是人们日常生活中所必需的副食品,有研究表明,蔬菜食用是As进入人体的主要途径之一<sup>[5-6]</sup>。空心菜又名蕹菜、通菜、竹叶菜、藤菜等,可食用部分为76%,适宜生长在热带多雨地区,夏秋季普遍栽培,主要分布于岭南地区,是南方较为常见的一种叶菜类蔬菜。根据调查,我国As污染区的蔬菜中48.2%的样本As含量超过 $0.25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 限量值,32.2%的样本As含量超过 $0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的限量值,其中叶菜类超标率为47.9%,根茎类蔬菜超标率为12.8%<sup>[7]</sup>。有研究表明,不同种类蔬菜如萝卜、胡萝卜以及马铃薯的不同品种对As富集积累能力差异很大<sup>[8]</sup>。宋波等<sup>[9]</sup>在桂林市13个县蔬菜种植基地和蔬菜批发市场共采集71种566个蔬菜样品,检测结果表明,叶菜类蔬菜中的As含量高于根茎类和瓜果类。肖细元等<sup>[10]</sup>研究表明,不同种类蔬菜的As含量依次为叶菜类>根茎类>茄果类>鲜豆类,而空心菜在叶菜中也属于抗As污染能力较弱的物种。Mathieu等<sup>[11]</sup>在研究几种叶类蔬菜对As吸收及累积特性中发现,5种叶菜对As的累积顺序是空心菜>芹菜>苋菜>生菜>莴苣,对砷的转移系数均值分别为0.02、0.03、0.06、0.08和0.15,空心菜对砷的转移系数最大。不同培养液砷浓度下5种蔬菜对砷富集系数的均值以空心菜(18.67)最高,而莴苣和生菜仅为2.75和2.66,且在 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ As的条件下,空心菜的As含量就已经远远超过国家食品卫生标准限值。通过前人的研究可以知道空心菜较容易吸收累积土壤中的As,筛选和培育低累积As的空心菜品种,可充分利用轻、中度重金属污染土壤来生产安全的食物,以期降低普通人群通过食物链对As的摄入,减少人类As摄取风险。

植物体隔离、积累和耐受重金属的一种重要解

毒机制是细胞区隔化,因此植物体中As的亚细胞组分的分布也可以提供有关积累、耐受、解毒As的信息<sup>[11]</sup>。有关砷在植物细胞组织微区及亚细胞分布层面的研究较多<sup>[12-13]</sup>,但砷在空心菜细胞组织微区及亚细胞分布层面的研究较少,通过亚细胞分级方法分离出亚细胞组分后,用化学分析手段测定各组分中As的浓度,可以提供As的亚细胞分布信息,因此探讨As对不同品种空心菜的细胞活动的影响及其生物化学作用具有重要意义<sup>[14-15]</sup>。

本试验通过收集生产上使用的19种空心菜品种进行栽培分析,研究在As胁迫状态下各空心菜品种的生物量变化、As累积差异,并采用组织分离-差速离心的方法,对As在亚细胞中的分布进行了探讨,以期揭示不同品种空心菜对As的吸附特征及As对空心菜的毒害效应,为空心菜品种的选择以及保障农产品的质量提供重要的参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试的19个空心菜(*Ipomoea aquatica*)品种购于广东省农科院蔬菜研究所,品种名详见表2。

### 1.2 试验设计

试验在华南农业大学生态系农场15个水泥池(长 $1\text{ m}\times$ 宽 $1\text{ m}\times$ 高 $0.65\text{ m}$ )中进行。将水泥池内部均分成4个小区(每个小区尺寸 $0.5\text{ m}\times 0.5\text{ m}$ ),共有小区60块,19个供试空心菜品种均重复3次共需57块小区(空余3块不种植物),将19种不同空心菜的种子各20粒随机播种于各小区中,待植株长出第1片真叶后定苗4株。试验期间不定期(1~2 d)向水泥池中加入等量自来水。定植60 d(2015年4至6月)后,取样测定19个空心菜品种的生物量。

### 1.3 供试土壤

供试水泥池土壤来自华南农业大学生态学系农场的耕作层。土壤采集后剔除碎石、枯叶等杂物,自然风干,过 $2\text{ mm}$ 筛后混匀备用。水泥池小区As污染土壤浓度设置为人工添加 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (以三氧化二砷加入,按耕作层 $30\text{ cm}$ 计算),种植一季水稻老化As后,取样检测其基本理化性质,见表1。

### 1.4 样品处理与分析

#### 1.4.1 样品的处理

从成熟期的4株空心菜中随机取2株(全株取回)。选取其中1株,将整株空心菜地上部与地下部(根系)分开,依次用自来水、蒸馏水、去离子水完全洗

表1 供试土壤的理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of tested soil

pH	有机质/g·kg <sup>-1</sup>	全氮/g·kg <sup>-1</sup>	碱解氮/mg·kg <sup>-1</sup>	全磷/g·kg <sup>-1</sup>	速效磷/mg·kg <sup>-1</sup>	全钾/g·kg <sup>-1</sup>	速效钾/mg·kg <sup>-1</sup>	总 As/mg·kg <sup>-1</sup>
6.45	25.02	1.24	232.12	1.26	120.66	18.14	337.20	66.40

净,最后用吸水纸把植株表面水分吸干,装入信封,编号后置于 60 °C 烘箱中烘干至恒重,称干重后用粉碎机将空心菜地上部及地下部粉碎,贮存于封口袋中供总 As 含量分析。另 1 株空心菜洗净后,置于封口袋中保存于 -20 °C 的冰箱中供植株的亚细胞分布测定。

#### 1.4.2 样品的分析

总 As 的测定:称取 0.2 g 植物干样,加 8 mL 硝酸+2 mL 30% 过氧化氢,经微波消解(CEM Mars6)后,用双道原子荧光光度计(AFS-230E,北京科创海光仪器有限公司)测定消解液中 As 含量。

As 的亚细胞分布的测定:操作参照 Hans<sup>[6]</sup>方法,取新鲜空心菜地上部或地下部的样品 0.5 g 置于研钵中,加入预冷的提取缓冲液(250 mmol·L<sup>-1</sup> 蔗糖、50 mmol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl-pH7.5 和 1 mmol·L<sup>-1</sup> 二硫赤鲜糖醇)20 mL,充分研磨成匀浆液。将匀浆液在 3000 r·min<sup>-1</sup> 下离心 15 min,沉淀即为细胞壁组分;上清液在 15 000 r·min<sup>-1</sup> 下离心 30 min,沉淀为细胞器组分,上清液则为胞质组分(包括细胞质及液泡)。整个实验操作过程均在 4 °C 下进行。将分离出的胞质、细胞壁、细胞器组分微波消解后,用双道原子荧光光度计测定提取液中 As 含量。

转移系数=地上部 As 含量/地下部 As 含量

#### 1.4.3 数据统计与分析

试验数据用 Excel 2013 进行处理;利用 SPSS 20.0 中的单因素方差分析(One-way ANOVA)对每个测定项目统计结果进行显著性方差分析,对生物量、As 含量以及亚细胞各组分固持 As 含量进行相关性分析,欧式聚类对地上部 As 含量进行统计分析。

## 2 结果

### 2.1 As 胁迫对不同品种空心菜生物量的影响

由表 2 可知,19 个品种空心菜地上部生物量(以干重计)为 1.22~19.43 g,均值为 9.26 g,生物量最大的品种是泰国尖叶空心菜,生物量最小的品种是青骨柳叶空心菜,相差 15.93 倍。泰国尖叶空心菜生物量与泰国竹叶空心菜、台湾白骨柳叶空心菜、江西大叶空心菜、999 青骨柳叶空心菜、青骨柳叶空心菜这 5 个品种生物量差异达显著水平(P<0.05);台湾青梗竹

表2 19个品种空心菜的生物量

Table 2 Biomass of 19 Ipomoea aquatica cultivars

品种	生物量(以干重计)/g·株 <sup>-1</sup>	
	地上部	地下部
泰国尖叶空心菜	19.43±6.99a	1.20±0.06fg
台湾青梗竹叶空心菜	16.69±5.52ab	1.07±0.08fg
泰国空心菜	14.86±4.80abc	1.42±0.08ef
玉帅竹叶青空心菜	12.80±6.50abcd	2.76±0.17c
台湾大叶白骨空心菜	11.79±1.62abcd	3.65±0.09b
菜农 D-95 空心菜	11.32±0.95abcd	1.52±0.05e
白梗柳叶空心菜	11.57±0.61abcd	0.63±0.15i
油青空心菜	11.62±3.04abcd	0.75±0.03hi
港种大白骨空心菜	11.09±3.53abcd	2.29±0.07d
港种青绿梗叶空心菜	10.64±2.40abcd	0.63±0.05i
广东纯青柳叶空心菜	10.28±0.83abcd	3.43±0.01b
泰国白梗柳叶空心菜	8.83±2.71abcd	0.98±0.04gh
泰国中叶空心菜	7.07±1.43abcd	4.12±0.14a
河北大叶空心菜	6.92±0.02abcd	2.49±0.05d
泰国竹叶空心菜	4.74±2.07bcd	1.67±0.11e
台湾白骨柳叶空心菜	4.20±1.50bcd	1.01±0.07gh
江西大叶空心菜	4.21±1.38bcd	2.25±0.11d
999 青骨柳叶空心菜	2.35±0.62cd	1.08±0.12g
青骨柳叶空心菜	1.22±0.17d	1.11±0.05g

注:所有数据均为均值±标准误(n=3);同一列不同小写字母表示品种间差异显著(P<0.05)。下同。

叶空心菜生物量与 999 青骨柳叶空心菜、青骨柳叶空心菜这 2 个品种生物量差异达显著水平(P<0.05);其余品种生物量之间没有显著差异(P>0.05)。地下部生物量为 0.63~4.12 g,最大与最小之间相差 5.6 倍,均值 1.79 g,19 种空心菜品种间地下部生物量差异达显著水平(P<0.05)。

### 2.2 不同品种空心菜 As 含量的差异

由表 3 可知,空心菜不同品种之间 As 积累量呈显著性差异(P<0.05),19 个品种空心菜地上部 As 含量范围为 0.73~191.12 mg·kg<sup>-1</sup>,最高与最低之间相差 261.81 倍。对照 GB 2762—2012 对蔬菜中 As 的限量标准(0.5 mg·kg<sup>-1</sup>)全部超标,说明在重污染土壤种植的空心菜均不适宜食用。此外,空心菜品种间 As 含量差异很大,其中:地上部 As 含量最高的是港种青绿梗叶空心菜,为 191.12 mg·kg<sup>-1</sup>,As 含量最低的是油青空

表3 空心菜地上部与地下部中As累积的品种差异

Table 3 Cultivar differences with As accumulation on above-ground and under-ground portion of *Ipomoea aquatica*

品种	As 含量/mg·kg <sup>-1</sup>		转运系数
	地上部	地下部	
港种青绿梗叶空心菜	191.12±10.68a	87.20±19.77gh	2.19
台湾大叶白骨空心菜	171.27±0.53a	101.52±2.78efgh	1.69
菜农 D-95 空心菜	165.99±4.37ab	140.93±0.48bcde	1.18
泰国竹叶空心菜	141.18±35.02b	130.41±7.25cdef	1.08
泰国尖叶空心菜	93.84±18.90c	117.33±1.73defgh	0.8
港种大白骨空心菜	87.08±8.53cd	111.58±6.11efgh	0.78
泰国中叶空心菜	66.41±2.73cde	89.54±21.12fgh	0.74
广东纯青柳叶空心菜	60.40±0.15de	175.88±13.39b	0.34
青骨柳叶空心菜	48.88±1.40e	78.57±4.82h	0.62
江西大叶空心菜	39.00±2.50e	109.91±2.76efgh	0.35
河北大叶空心菜	1.90±0.43f	83.33±5.18h	0.02
999 青骨柳叶空心菜	2.19±0.05f	166.37±18.93bc	0.01
玉帅竹叶青空心菜	1.83±0.37f	135.42±6.07bcde	0.01
白梗柳叶空心菜	1.60±0.54f	154.35±12.25bcd	0.01
泰国空心菜	1.41±0.71f	127.14±11.73cdefg	0.01
台湾白骨柳叶空心菜	0.98±0.52f	229.76±14.80a	0.004
台湾青梗竹叶空心菜	1.08±0.36f	112.26±6.53efgh	0.01
泰国白梗柳叶空心菜	0.88±0.46f	161.02±16.08bc	0.01
油青空心菜	0.73±0.13f	140.53±4.59bcde	0.01

空心菜,为 0.73 mg·kg<sup>-1</sup>;地下部 As 含量最高的是台湾白骨柳叶空心菜,为 229.76 mg·kg<sup>-1</sup>,含量最低品种为青骨柳叶空心菜,达 78.57 mg·kg<sup>-1</sup>。19 个空心菜品种的转运系数差异明显,最低的台湾白骨柳叶空心菜为 0.004,最高的港种青绿梗叶空心菜为 2.19,其中台湾大叶白骨空心菜、菜农 D-95 空心菜、港种青绿梗叶空心菜、泰国竹叶空心菜 4 个品种的转运系数大于 1。

通过聚类分析(图 1)得知,泰国白梗柳叶空心菜、油青空心菜、台湾白骨柳叶空心菜、台湾青梗竹叶空心菜、泰国空心菜、河北大叶空心菜、玉帅竹叶青空心菜、999 青骨柳叶空心菜、白梗柳叶空心菜 9 个品种相对于其他品种累积 As 含量较少,其中台湾白骨柳叶空心菜、泰国白梗柳叶空心菜、油青空心菜地上部累积 As 含量均低于 1 mg·kg<sup>-1</sup>;台湾大叶白骨空心菜、菜农 D-95 空心菜、港种青绿梗叶空心菜、泰国竹叶空心菜 4 个品种相对于其他品种累积 As 含量较高,含量范围是 141.18~191.12 mg·kg<sup>-1</sup>。

本试验中累积 As 含量较高的 4 个品种(台湾大叶白骨空心菜、菜农 D-95 空心菜、港种青绿梗叶空心菜、泰国竹叶空心菜)转运系数均大于 1,即地上部

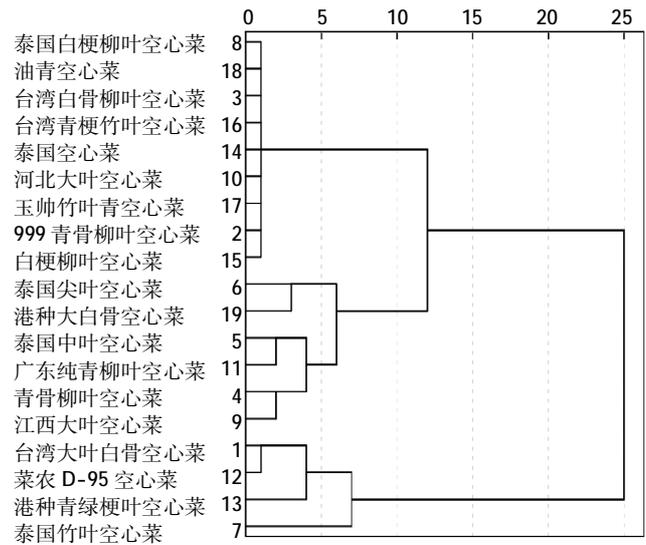


图 1 19 个品种空心菜地上部 As 含量聚类树形图

Figure 1 Clustering tree of above-ground portion of As concentration in 19 *Ipomoea aquatica* cultivars

As 含量高于地下部,其中只有泰国竹叶空心菜转运系数为 1.08,地上部 As 含量略高于地下部,且台湾大叶白骨空心菜、菜农 D-95 空心菜、港种青绿梗叶空心菜地上部生物量较高,均大于 10 g。因此,综合来看,相对高累积 As 的空心菜品种是台湾大叶白骨空心菜、菜农 D-95 空心菜、港种青绿梗叶空心菜。在 As 含量较低的 9 个品种中,除河北大叶空心菜以外其余品种的转运系数均在 0.01 以下,且泰国空心菜、白梗柳叶空心菜、台湾青梗竹叶空心菜、玉帅竹叶青空心菜、油青空心菜的生物量较大,综合来看,泰国空心菜、白梗柳叶空心菜、台湾青梗竹叶空心菜、玉帅竹叶青空心菜、油青空心菜为相对低累积 As 的品种。

### 2.3 不同品种空心菜 As 的亚细胞分布

由表 4 可知,19 个品种空心菜地上部亚细胞中固持 As 含量呈现胞质>细胞器>细胞壁,其中地上部胞质中固持 As 含量占亚细胞 As 总量的 49.06%~77.44%,细胞器中固持 As 含量占亚细胞 As 总量的 19.90%~46.82%,而细胞壁中固持 As 含量最少,仅占总量的 2.22%~16.73%。19 个品种中地下部胞质中固持 As 含量占亚细胞 As 总量的 47.61%~84.95%,细胞器为 2.18%~39.32%,细胞壁为 1.04%~29.49%。此外,油青空心菜地下部的胞质、细胞器与细胞壁中固持 As 含量为 19 个空心菜品种中最高,分别达到 20.39、9.99、10.47 mg·kg<sup>-1</sup>。进一步分析表 4 发现,19 个空心菜品种地上部及地下部间各亚细胞固持 As 含量差异不显著(P>0.05),但同一品种间细胞壁、细胞器与胞

表4 空心菜亚细胞中As累积的品种差异

Table 4 Cultivar differences with As accumulation on subcellular fractions of *Ipomoea aquatica*

品种	地上部			地下部		
	细胞壁	细胞器	胞质	细胞壁	细胞器	胞质
台湾大叶白骨空心菜	0.22±0.08bC	1.65±0.02cB	6.42±0.22aA	1.14±0.16cdeB	4.16±1.04cdeA	5.28±0.55ghiA
999青骨柳叶空心菜	0.42±0.32bC	2.51±0.14abB	4.08±0.73abcdA	1.07±0.04cdeA	2.99±1.86defgA	3.69±0.39iA
台湾白骨柳叶空心菜	0.22±0.03bB	2.50±0.25abA	2.62±0.24dA	2.41±1.36cdeAB	1.53±0.04efgB	6.56±1.18ghiA
青骨柳叶空心菜	0.31±0.15bB	1.81±0.39bcA	2.64±0.24dA	0.15±0.12eC	5.09±1.36abcB	9.25±0.73efghiA
泰国中空空心菜	0.51±0.11bC	2.69±0.12aB	4.97±0.59abcdA	0.91±0.29deB	3.88±0.79cdefB	12.95±1.07bcdefA
泰国尖叶空心菜	0.86±0.02abC	3.00±0.14aB	5.41±0.42abcA	0.76±0.12deC	4.10±0.76cdeB	11.24±0.82bcdefgA
泰国竹叶空心菜	0.36±0.11bC	2.51±0.07abB	4.20±0.10abcdA	2.17±0.65cdeB	0.42±0.05gB	16.64±2.75abA
泰国白梗柳叶空心菜	0.57±0.07bC	2.78±0.20aB	5.83±0.76abA	2.34±0.13cdeB	3.24±1.17cdefgB	20.59±0.08aA
江西大叶空心菜	0.29±0.03bB	2.43±0.51abA	3.01±0.58cdA	3.25±0.12cdB	0.99±0.55fgB	6.78±1.20ghiA
河北大叶空心菜	0.59±0.47bB	2.41±0.26abA	3.81±0.47bcdA	2.17±0.04cdeB	1.98±0.05efgB	4.47±0.45hiA
广东纯青柳叶空心菜	0.41±0.01bC	2.49±0.06abB	4.95±0.72abcdA	2.58±0.04cdeB	2.76±0.19defgB	20.65±3.45aA
菜农D-95空心菜	0.78±0.03abB	2.70±0.32aAB	5.34±1.47abcA	6.01±0.02bB	2.63±0.33defgC	16.10±0.48abcA
港种青绿梗叶空心菜	0.38±0.02bC	2.45±0.10abB	4.44±0.98abcdA	2.54±0.73cdeB	0.80±0.38gB	7.53±1.75fghiA
泰国空心菜	0.39±0.12bC	2.62±0.07abB	3.42±0.27bcdA	1.39±0.14cdeAB	0.38±0.29gB	9.99±3.44defghA
白梗柳叶空心菜	0.15±0.03bB	2.73±0.49aA	3.89±0.67bcdA	10.43±1.02aA	11.93±1.79aA	15.38±0.71abcdA
台湾青梗竹叶空心菜	0.87±0.74abB	1.62±0.19cB	5.36±0.31abcA	3.57±0.27cAB	2.39±0.73defgB	10.74±3.82bcdefgA
玉帅竹叶青空心菜	1.43±0.05aB	2.21±0.18abcB	4.91±0.96abcdA	2.48±0.65cdeC	7.23±0.54bB	10.21±1.78cdefghA
油青空心菜	1.32±0.03aC	2.53±0.08abB	4.47±0.15abcdA	10.47±2.11aB	9.99±0.23aB	20.39±1.51aA
港种大白骨空心菜	1.31±0.19aB	2.53±0.16abB	5.77±0.81abA	3.25±1.47cdB	6.05±1.47bcB	13.93±1.06bcdeA

注:同一行中不同大写字母代表不同亚细胞中累积As差异( $P<0.05$ )。

质中固持As含量差异达显著水平( $P<0.05$ )。此外,19个空心菜品种地下部各亚细胞固持的As含量均高于地上部。

对不同品种空心菜亚细胞各部分所固持的As含量与生物量及As含量进行相关性分析,结果(表5)显示,地上部细胞壁中固持的As含量与生物量之间有显著的正相关( $P<0.05$ ),但与地上部的As含量之间没有显著相关性;地上部胞质中固持的As含量与地上部生物量之间呈极显著的正相关( $P<0.01$ ),其与地上部的As含量之间无显著相关性。细胞器中固

持的As含量与地上部生物量及地上部As含量之间均无显著相关性。地下部亚细胞各部分所固持的As含量与地下部生物量及地下部As含量均无显著相关性( $P>0.05$ )。

### 3 讨论

#### 3.1 不同品种空心菜生长差异分析

有研究表明,土壤中低浓度的As可以刺激植物的生长,但当土壤中的As含量达到一定程度时则会危害植物的生长<sup>[7]</sup>,过量的As可降低植物蒸腾作用、呼吸作用,抑制根系活性,进一步影响植物对养分和水分的吸收,最终通过植株的受害症状、生长状况和产量变化表现出来<sup>[18-19]</sup>。本研究分析了19种空心菜在66.40 mg·kg<sup>-1</sup>的土壤As浓度胁迫下地上部、地下部生物量的变化,结果表明不同品种空心菜对As的耐性表现出一定的差异,且地上部与地下部的生物量之间呈显著正相关。999青骨柳叶空心菜、青骨柳叶空心菜这两个品种生物量较低,对As的耐受性较差,不适于在重度As污染的土壤上种植。

#### 3.2 不同品种空心菜累积As的差异分析

空心菜对As的吸收富集因品种的不同而有所

表5 空心菜亚细胞各组分固持As含量与生物量及As含量的相关性分析

Table 5 Correlation analysis between the As accumulation on subcellular fractions of *Ipomoea aquatica* and biomass/As accumulation

项目	地上部			地下部		
	细胞壁	细胞器	胞质	细胞壁	细胞器	胞质
生物量	0.46*	0.09	0.58**	-0.37	-0.11	-0.06
As含量	-0.14	-0.05	0.39	0.24	0.06	0.26

注:\*在0.05水平(双侧)上显著相关;\*\*在0.01水平(双侧)上显著相关。

差异。在  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  As 胁迫下,19 个品种空心菜地上部 As 含量为  $0.73 \sim 191.12 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 均超过国家食品卫生标准限值( $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 为国家标准的 1.46~382.24 倍。这说明在  $As 66.40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的土壤中,空心菜易受到 As 污染。肖细元等<sup>[7]</sup>研究表明空心菜属于抗 As 污染能力较弱的物种;Mathieu 等<sup>[10]</sup>在研究中发现,在  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  As 的条件下空心菜 As 含量就已经远远超过国家食品卫生标准限值。因此,本试验中在外源添加  $As 50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的土壤条件下,空心菜超标率为 100%,与前人的研究相符。

前人研究表明叶菜类蔬菜植株累积重金属的规律是地上部<地下部<sup>[20]</sup>,但也有研究表明其规律是地上部>地下部<sup>[21-22]</sup>,可见叶菜类蔬菜地上部、地下部积累重金属量不仅与蔬菜种类有关,也与蔬菜品种有关,同一种类蔬菜的不同品种之间也有差异。本试验中有 4 个品种空心菜的地上部 As 含量大于地下部,即转运系数大于 1,综合生物量考虑,台湾大叶白骨空心菜、菜农 D-95 空心菜、港种青绿梗叶空心菜被确定为高累积 As 的品种。

由于不同植物对 As 的耐性存在差异,目前的研究多集中于两个方向:一个方向是筛选超积累植物,通过植物的富集作用提取土壤中过量的 As,而后收获植物而达到减少土壤 As 污染的目的;另一个研究方向是筛选 As 抗性作物,使其在轻度 As 污染土壤中生长发育不受影响<sup>[22-25]</sup>。因此,由本试验所筛选出的高积累品种台湾大叶白骨空心菜、菜农 D-95 空心菜、港种青绿梗叶空心菜,可在中、高度 As 污染土壤中种植,然后通过反复收获来减少土壤 As 污染,将受污染的收获物直接作垃圾填埋处理或作为能源植物等工业原料;而筛选出的台湾白骨柳叶空心菜、泰国白梗柳叶空心菜、油青空心菜等 5 个低积累品种则可以在轻度 As 污染土壤中种植,以期获得可以安全食用的空心菜。

### 3.3 不同品种空心菜亚细胞累积 As 的差异分析

研究表明,重金属积累通常会破坏植物的亚细胞结构<sup>[26-28]</sup>。本试验研究分析了在  $50.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  As 胁迫下,As 在 19 个品种空心菜地上部、地下部亚细胞中的分布,结果表明亚细胞中固持 As 含量规律为胞质>细胞器>细胞壁。空心菜所吸收的 As 主要储存在胞质中,地上部胞质中的 As 含量占亚细胞总 As 含量的 49.06%,地下部胞质中的 As 含量占亚细胞总 As 含量的 47.61%。对不同品种空心菜亚细胞各部分所固持的 As 含量与生物量及植株 As 含量进行相关

性分析可以发现,地上部细胞壁中固持的 As 含量与生物量之间呈显著的正相关( $P < 0.05$ ),地上部胞质中固持的 As 含量与地上部生物量之间呈极显著的正相关( $P < 0.01$ )。这反映了细胞壁与胞质固持 As 的能力与解毒作用有关,细胞壁和胞质固持 As 的能力越强,As 对空心菜的毒害作用越弱,植株生长就越好。同时还发现了白梗柳叶空心菜地下部细胞器中固持的 As 含量最高,为  $11.93 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,而其地下部的生物量是最低的,仅为  $0.63 \text{ g}$ ,可见若是细胞器中固持太多的 As,会影响细胞正常的代谢活动,危害植株生长。

植物的胞质组分由细胞质和液泡组成,细胞液是细胞新陈代谢的主要场所<sup>[29]</sup>;液泡的主要功能是参与细胞的水分代谢,同时也是植物细胞代谢副产品及废物囤积的场所<sup>[30]</sup>。有研究表明,某些超富集植物的解毒机理是通过液泡的区隔化来实现的<sup>[31-33]</sup>。在本试验中,细胞壁固持 As 的能力不强,仅占总量的 2.22%~16.73%。这与陈璐等<sup>[12]</sup>对三七积累 As 的研究结论相同,他们发现 As 积累量为细胞液>细胞壁>细胞质,以细胞液组分中 As 的相对比例最高,大幅高于细胞质和细胞壁所占的分布比例。上述结果与 Ernst 等<sup>[34]</sup>和陈同斌等<sup>[35]</sup>所认为的细胞壁具有重金属的束缚作用和解毒能力的结论不相符。陈同斌等<sup>[35]</sup>研究超富集植物蜈蚣草中 As 的亚细胞分布时发现,在低 As 浓度时,细胞壁会优先与 As 结合,将 As 固定来限制其向内部转运,但蜈蚣草细胞壁对 As 的贮存能力有限,因此当体内 As 浓度过高时,绝大部分 As 都会向上转移至羽叶中,然后通过区隔化作用来减轻 As 对其的伤害。本试验表明空心菜对 As 的解毒机理主要是通过液泡的区隔化来实现的。

## 4 结论

在 As 的重污染土壤小区种植的南方常见 19 种空心菜均可生长,但不同品种空心菜生物量及 As 累积量存在显著差异( $P < 0.05$ ),且 As 均超出 GB 2762—2012 的安全限量标准( $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )。泰国空心菜、白梗柳叶空心菜、台湾青梗竹叶空心菜、玉帅竹叶青空心菜、油青空心菜为相对低累积 As 的品种,适合在轻度 As 污染土壤上进行农业生产;而相对高累积 As 品种为台湾大叶白骨空心菜、菜农 D-95 空心菜、港种青绿梗叶空心菜,可考虑通过收获生长较快的地上部逐步修复污染土壤中的 As。空心菜累积 As 主要在胞质中,其解毒机制与液泡的区隔化有关,而空心菜的细胞壁对 As 的累积能力有限。

## 参考文献:

- [1] Matschullat J. Arsenic in the geosphere: A review[J]. *The Science of the Total Environment*, 2000, 249: 297-312.
- [2] 胡省英, 冉伟彦. 土壤环境中 As 元素的生态效应[J]. *物探与化探*, 2006, 30(1): 83-86.  
HU Sheng-ying, RAN Wei-yan. Ecological effects of arsenic in soil environmental[J]. *Geophysical & Geochemical Exploration*, 2006, 30(1): 83-86.
- [3] 翁焕新, 张霄宇, 邹乐君, 等. 中国土壤中 As 的自然存在状况及其成因分析[J]. *浙江大学学报: 工学版*, 2000, 34(1): 88-92.  
WENG Huan-xin, ZHANG Xiao-yu, ZOU Le-jun, et al. Natural existence of arsenic in soil of China and its cause of formation[J]. *Journal of Zhejiang University: Engineering Science*, 2000, 34(1): 88-92.
- [4] Tiwari K K, Singh N K, Patel M P, et al. Metal contamination of soil and translocation in vegetables growing under industrial wastewater irrigated agricultural field of Vadodara, Gujarat, India[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2011, 74(6): 1670-1677.
- [5] 李筱薇, 高俊全, 王永芳, 等. 2000 年中国总膳食研究——膳食 As 摄入量[J]. *卫生研究*, 2006, 35(1): 63-66.  
LI Xiao-wei, GAO Jun-quan, WANG Yong-fang, et al. 2000 Chinese total dietary study: The dietary arsenic intakes[J]. *Journal of Hygiene Research*, 2006, 35(1): 63-66.
- [6] 陈同斌, 宋波, 郑袁明, 等. 北京市蔬菜和菜地土壤 As 含量及其健康风险分析[J]. *地理学报*, 2006, 61(3): 297-310.  
CHEN Tong-bin, SONG Bo, ZHENG Yuan-ming, et al. A survey of arsenic concentrations in vegetables and soils in Beijing and the potential risks to human health[J]. *Acta Geographica Sinica*, 2006, 61(3): 297-310.
- [7] 肖细元, 陈同斌, 廖晓勇, 等. 我国主要蔬菜和粮油作物的 As 含量与 As 富集能力比较[J]. *环境科学学报*, 2009, 29(2): 291-296.  
XIAO Xi-yuan, CHEN Tong-bin, LIAO Xiao-yong, et al. Comparison of concentrations and bioconcentration factors of arsenic in vegetables, grains and oil crops in China[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2009, 29(2): 291-296.
- [8] 周芬, 黄贵凤, 丁昌峰, 等. 适于 As 轻度超标土壤种植的根菜品种的筛选[J]. *农业环境科学学报*, 2013, 32(10): 1984-1991.  
ZHOU Fen, HUANG Gui-feng, DING Chang-feng, et al. Screening of suitable rootstalk vegetable cultivars for the adaptation to slightly As contaminated soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(10): 1984-1991.
- [9] 宋波, 伏凤艳, 张学洪, 等. 桂林市菜地土壤和蔬菜 As 含量调查与健康风险评估[J]. *环境科学学报*, 2014, 34(3): 728-735.  
SONG Bo, FU Feng-yan, ZHANG Xue-hong, et al. A survey of arsenic concentrations in vegetables and soils in Guilin and the human health risks assessment[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2014, 34(3): 728-735.
- [10] Mathieu N K, 曾希柏, 李莲芳, 等. 几种植类蔬菜对 As 吸收及累积特性的比较研究[J]. *农业环境科学学报*, 2013, 32(3): 485-490.  
Mathieu N K, ZENG Xi-bai, LI Lian-fang, et al. A screening study of five leafy vegetable species for tolerance and accumulation of toxic inorganic arsenic(V) under hydroponic conditions[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(3): 485-490.
- [11] 陈璐, 米艳华, 万小铭, 等. 砷在药用植物三七根部组织及其亚细胞分布特征[J]. *植物学报*, 2015, 50(5): 591-597.  
CHEN Lu, MI Yan-hua, WAN Xiao-ming, et al. Distribution characteristics of arsenic in medicinal plants *Panax notoginseng*'s taproots tissue and subcellular components[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2015, 50(5): 591-597.
- [12] Zheng M Z, Cai C, Hu Y, et al. Spatial distribution of arsenic and temporal variation of its concentration in rice[J]. *New Phytologist*, 2011, 189: 200-209.
- [13] 肖细元, 廖晓勇, 陈同斌, 等. As 超富集植物蜈蚣草中磷和钙的亚细胞分布及其与耐 As 毒的关系[J]. *环境科学学报*, 2006, 26(6): 954-961.  
XIAO Xi-yuan, LIAO Xiao-yong, CHEN Tong-bin, et al. Subcellular distributions of phosphorus and calcium in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and its tolerance to phytotoxicity of arsenic[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2006, 26(6): 954-961.
- [14] Ramos I, Esteban E, Lucena J J, et al. Cadmium uptake and subcellular distribution in plants of *Lactuca* sp. Cd-Mn interaction[J]. *Plant Science*, 2002, 162: 761-767.
- [15] 万敏, 周卫, 林葆. 镉积累不同类型的小麦细胞镉的亚细胞和分子分布[J]. *中国农业科学*, 2003, 36(6): 671-675.  
WAN Min, ZHOU Wei, LIN Bao. Subcellular and molecular distribution of cadmium in two wheat genotypes differing in shoot/root Cd partitioning[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2003, 36(6): 671-675.
- [16] Hans J W. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plant[J]. *Plant Physiology*, 1980, 46: 480-482.
- [17] Smith E, Juhasz A L, Weber J. Arsenic uptake and speciation in vegetables grown under greenhouse conditions[J]. *Environmental Geochemistry Health*, 2009, 31: 125-132.
- [18] 黄益宗, 朱永官, 胡莹, 等. 不同品种大豆对 As 吸收积累和分配的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2006, 25(6): 1397-1401.  
HUANG Yi-zong, ZHU Yong-guan, HU Ying, et al. Uptake and accumulation of arsenic by different soybean cultivars[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(6): 1397-1401.
- [19] Sun Y B, Zhou Q X, Wang L, et al. Cadmium tolerance and accumulation characteristics of *Bidens pilosa* L. as a potential Cd-hyperaccumulator[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 161: 808-814.
- [20] 姜志艳, 王建英, 任晓丽. 不同作物对 As 吸收累积特性分析[J]. *南方农业学报*, 2013, 44(5): 793-796.  
JIANG Zhi-yan, WANG Jian-ying, REN Xiao-li. Arsenic uptake accumulation characteristics in varied crops[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2013, 44(5): 793-796.
- [21] 邱丘. 菜心 Cd 积累的品种间差异及 Cd 污染控制方法研究[D]. 广州: 中山大学, 2011.  
QIU Qiu. Genotype variation of Cd accumulation and control methods for Cd pollution in Chinese flowering cabbage (*Brassica parachinensis*) [D]. Guangzhou: Sun Yat-Sen University, 2011.
- [22] 苏德纯, 黄焕忠. 油菜作为超累积植物修复镉污染土壤的潜力[J]. *中国环境科学*, 2002, 22(1): 48-51.

- SU De-chun, HUANG Huan-zhong. The phytoremediation potential of oilseed rape (*B. juncea*) as a hyperaccumulator for cadmium contaminated soil[J]. *China Environmental Science*, 2002, 22(1):48-51.
- [23] 骆永明. 金属污染土壤的植物修复[J]. *土壤*, 1999, 31(5):261-265.  
LUO Yong-ming. Phytoremediation of metal contaminated soil[J]. *Soil*, 1999, 31(5):261-265.
- [24] 蒋先军, 骆永明, 赵其国. 土壤重金属污染的植物提取修复技术及其应用前景[J]. *农业环境保护*, 2000, 19(3):179-183.  
JIANG Xian-jun, LUO Yong-ming, ZHAO Qi-guo. Plant extraction and remediation technology of heavy metal contaminated soil and its application prospect[J]. *Agro-environmental Protection*, 2000, 19(3):179-183.
- [25] Li Y M, Channey L R, Schneiter A A. Genotypic variation in kernel cadmium concentration in sunflower germplasm under varying soil conditions[J]. *Crop Science*, 1995, 35:137-141.
- [26] 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(4):373-378.  
SHI Guo-xin, DU Kai-he, XIE Kai-bin, et al. Ultrastructural study of leaf cells damaged from  $Hg^{2+}$  and  $Cd^{2+}$  pollution in *Hydrilla verticillata* [J]. *Acta Botanica Sinica*, 2000, 42(4):373-378.
- [27] 施国新, 解凯彬, 杜开和, 等.  $Cr^{6+}$ 、 $As^{3+}$ 污染对黑藻叶细胞伤害的超微结构研究[J]. *南京师大学报(自然科学版)*, 2001, 24(4):93-97.  
SHI Guo-xin, XIE Kai-bin, DU Kai-he, et al. Ultrastructural study of leaf cells damaged from  $Cr^{6+}$  and  $As^{3+}$  pollution in *Hydrilla verticillata* [J]. *Nanjing Normal University(Nat Sci Edn)*, 2001, 24(4):93-97.
- [28] 郑国锷. 细胞生物学[M]. 2版. 北京:高等教育出版社, 2000:127.
- ZHEN Guo-chang. Cell biology[M]. 2nd Edition. Beijing:Higher Education Press, 2000:127.
- [29] 汪良驹, 刘友良. 植物细胞中的液泡及其生理功能[J]. *植物生理学通讯*, 1998, 34(5):394-400.  
WANG Liang-ju, LIU You-liang. Vacuoles of plant cells and their physiological functions[J]. *Plant Physiology Communication*, 1998, 34(5):394-400.
- [30] Hall J L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53:1-11.
- [31] Brooks R R, Shaw S, Asensi M A. The chemical form and physiological function of nickel in some Iberian *Alyssum* species[J]. *Plant Physiology*, 1981, 51:167-170.
- [32] Kramer U, Pickering I J, Prince R C. Subcellular localization and speciation of nickel in hyperaccumulator and non-accumulator *Thlaspi* species[J]. *Plant Physiology*, 2000, 122:1343-1353.
- [33] Frey B, Keller C, Zierold K, et al. Distribution of Zn in functionally different leaf epidermal cells of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* [J]. *Plant Cell and Environment*, 2000, 23(7):675-687.
- [34] Ernst W H O, Verkleij J A C, Schat H. Metal tolerance in plants[J]. *Acta Bot Neerlandica*, 1992, 41(3):229-248.
- [35] 陈同斌, 阎秀兰, 廖晓勇, 等. 蜈蚣草中 As 的亚细胞分布与区隔化作用[J]. *科学通报*, 2006, 50(24):2739-2744.  
CHEN Tong-bin, YAN Xiu-lan, LIAO Xiao-yong, et al. Subcellular and compartmentalization of arsenic in *Pteris vittata* L. [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2005, 50(24):2739-2744