

叶面施锌对油菜镉锌生物可给性与形态的影响

陶雪莹, 徐应明, 王林, 刘畅, 孙约兵, 梁学峰

引用本文:

陶雪莹, 徐应明, 王林, 刘畅, 孙约兵, 梁学峰. 叶面施锌对油菜镉锌生物可给性与形态的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(4): 735–745.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-1123>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

喷施硫酸锰和硫酸锌对小麦籽粒镉锰锌生物可给性的影响

陶雪莹, 徐应明, 王林, 黄青青, 闫秀秀, 刘畅

农业环境科学学报. 2020, 39(10): 2181–2189 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0821>

喷施不同形态锰肥对叶用油菜镉累积及亚细胞分布的影响

闫秀秀, 徐应明, 王林, 陶雪莹, 孙约兵, 梁学峰

农业环境科学学报. 2019, 38(8): 1872–1881 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0577>

间作对莎草与蚕豆体内铅镉锌化学形态分布的影响

于保港, 秦丽, 湛方栋, 祖艳群, 李博, 王吉秀, 李元

农业环境科学学报. 2018, 37(4): 621–631 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1483>

叶面喷施不同浓度锌对水稻镉积累的影响

吕光辉, 许超, 王辉, 帅红, 王帅, 李佰重, 朱奇宏, 朱捍华, 黄道友

农业环境科学学报. 2018, 37(7): 1521–1528 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0709>

不同形态硫对水稻吸收积累镉的影响

刘颖, 苏广权, 郭湘, 杨燕花, 姚爱军, 仇荣亮, 汤叶涛

农业环境科学学报. 2021, 40(6): 1208–1218 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1164>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

陶雪莹, 徐应明, 王林, 等. 叶面施锌对油菜镉锌生物可给性与形态的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(4): 735–745.

TAO X Y, XU Y M, WANG L, et al. Effects of foliar zinc application on the bioaccessibilities and chemical forms of cadmium and zinc in *Brassica chinensis* L. [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(4): 735–745.

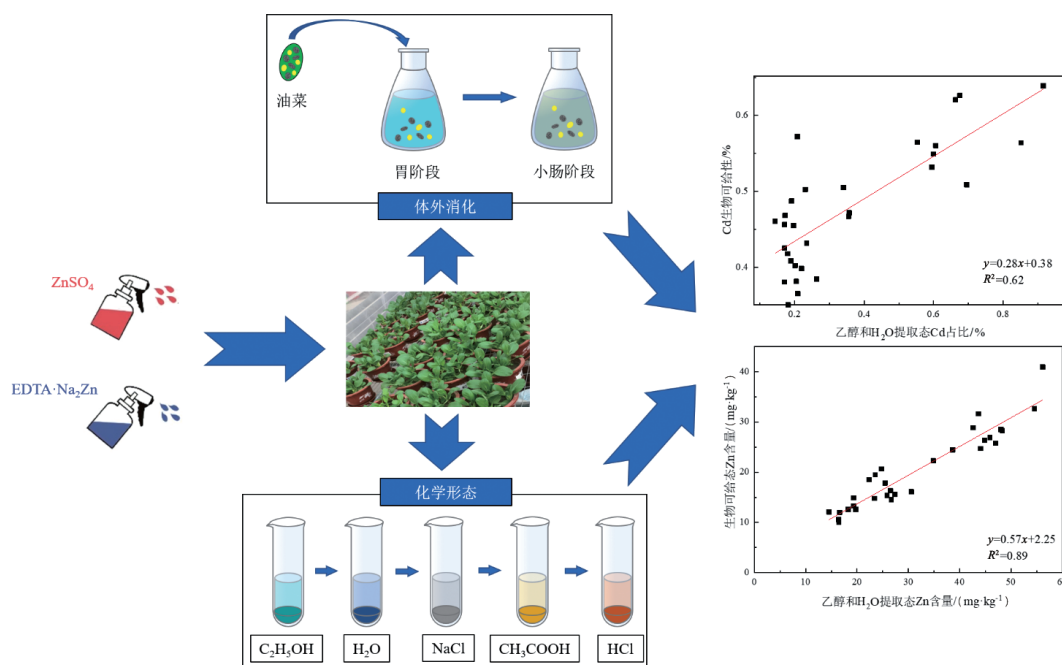


开放科学 OSID

叶面施锌对油菜镉锌生物可给性与形态的影响

陶雪莹^{1,2}, 徐应明^{1,2}, 王林^{1,2*}, 刘畅^{1,2}, 孙约兵^{1,2}, 梁学峰^{1,2}

(1. 农业农村部环境保护科研监测所, 天津 300191; 2. 农业农村部产地环境污染防治重点实验室, 天津 300191)



摘要:为探究叶面施锌(Zn)对叶用油菜镉(Cd)和Zn生物可给性的影响与调控机理,通过盆栽试验,采用体外消化和连续提取方法,研究喷施不同浓度 ZnSO_4 和 $\text{EDTA}\cdot\text{Na}_2\text{Zn}$ 对两种油菜(Cd低积累品种华骏和普通品种寒绿)地上部Cd/Zn含量、生物可给性以及化学形态的影响,并通过相关性分析和线性拟合方法研究叶面施Zn影响下Cd/Zn生物可给性的变化与形态占比的关系。结果表明,叶面施Zn对油菜地上部Cd含量无显著影响,Zn含量显著升高。喷施 ZnSO_4 降低了油菜Cd和Zn的生物可给性比例,最大降幅分别为24.37%和6.07%;而喷施 $4\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ EDTA}\cdot\text{Na}_2\text{Zn}$ 则显著提高了油菜生物可给态Cd含量,同时提高了Zn的生物可给性比例,最大增幅分别为49.19%和8.40%。喷施 ZnSO_4 明显降低油菜乙醇提取态Zn的占比,最大降幅为10.88%;而喷施 $\text{EDTA}\cdot\text{Na}_2\text{Zn}$ 则明显提高油菜乙醇、 H_2O 提取态Cd以及乙醇提取态Zn的占比,最大增幅分别为25.59%、52.74%以及13.23%。油菜Cd/Zn的乙醇和 H_2O 提取态含量与其生物可给态含量、乙醇和 H_2O 提取态占比与其生物可给性比例分别呈极显著的正相关性,这表明油菜Cd/Zn的乙醇和 H_2O 提取态对其生物可给性贡献最大,叶面施Zn主要通过影响乙醇和 H_2O 提取态Cd/Zn进而调控其生物可给性。

关键词:油菜;叶面施锌;镉;生物可给性;化学形态

中图分类号: X173 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2022)04-0735-11 **doi:**10.11654/jaes.2021-1123

收稿日期:2021-09-27 录用日期:2021-11-19

作者简介:陶雪莹(1995—),女,天津人,硕士研究生,从事农田重金属污染修复研究。E-mail:taoxueying1029@163.com

*通信作者:王林 E-mail:wanglin2017@caas.cn

基金项目:天津市自然科学基金重点项目(18JCZDJC34000);国家重点研发计划项目(2018YFD0800203);国家自然科学基金项目(41571322)

Project supported: The Key Program of the Natural Science Foundation of Tianjin (18JCZDJC34000); The National Key Research and Development Program of China (2018YFD0800203); The National Natural Science Foundation of China (41571322)

Effects of foliar zinc application on the bioaccessibilities and chemical forms of cadmium and zinc in *Brassica chinensis* L.

TAO Xueying^{1,2}, XU Yingming^{1,2}, WANG Lin^{1,2*}, LIU Chang^{1,2}, SUN Yuebing^{1,2}, LIANG Xuefeng^{1,2}

(1. Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tianjin 300191, China; 2. Key Laboratory of Original Agro-Environmental Pollution Prevention and Control, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tianjin 300191, China)

Abstract: A pot experiment was conducted to evaluate the effect of foliar Zn application on the concentrations, bioaccessibilities, and chemical forms of Cd and Zn in *Brassica chinensis* L. and to reveal the underlying mechanisms. ZnSO_4 and $\text{EDTA} \cdot \text{Na}_2\text{Zn}$ at different concentrations were applied as foliar fertilizers. The bioaccessibilities of Cd and Zn were determined using the *in vitro* digestion method, and the chemical forms of Cd and Zn were measured using the continuous extraction method. The relationship between the bioaccessibilities of Cd and Zn and their chemical forms was investigated using correlation analysis and linear regression. The results showed that the foliar Zn application had an insignificant effect on the Cd concentrations in the aboveground parts of *B. chinensis*, but the Zn concentrations increased significantly. The foliar application of ZnSO_4 reduced the bioaccessibility percentages of Cd and Zn in *B. chinensis* with maximal reductions of 24.37% and 6.07%, respectively, whereas the foliar application of $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{EDTA} \cdot \text{Na}_2\text{Zn}$ significantly increased the bioaccessible Cd concentration and the bioaccessibility percentage of Zn in *B. chinensis* with maximal increases of 49.19% and 8.40%, respectively. The foliar application of ZnSO_4 reduced the proportion of ethanol extractable Zn in *B. chinensis* with a maximal reduction of 10.88%, whereas the foliar application of $\text{EDTA} \cdot \text{Na}_2\text{Zn}$ increased the proportions of ethanol and deionized water extractable Cd and the proportion of ethanol extractable Zn in *B. chinensis*, with maximal increases of 25.59%, 52.74%, and 13.23%, respectively. The bioaccessible Cd and Zn concentrations in *B. chinensis* were highly significant correlated with the concentrations of Cd and Zn extracted using ethanol and deionized water, and the bioaccessibility percentages of Cd and Zn showed highly significant correlations with the proportions of ethanol and deionized water extractable Cd and Zn. These results indicate that ethanol and deionized water extractable Cd and Zn in *B. chinensis* are the main contributors to the bioaccessibilities of Cd and Zn, and foliar Zn application affects the bioaccessibilities of Cd and Zn through its effect on ethanol and deionized water extractable Cd and Zn.

Keywords: *Brassica chinensis* L.; foliar zinc application; cadmium; bioaccessibility; chemical form

镉(Cd)是一种有毒有害的重金属元素,主要通过食物链进入人体,严重威胁人体健康。对于非吸烟人群,食物是人体Cd摄入的主要来源。有研究表明,来自蔬菜的Cd摄入最高可占人体总摄入量的83%^[1]。过量摄入Cd会对肾脏、骨骼、肝脏以及肺等器官产生毒害;更严重的是,Cd是一类致癌物,对人体具有极强的致癌作用^[2-3]。因此,采取有效措施减少蔬菜Cd含量,降低其健康风险迫在眉睫。

锌(Zn)与Cd具有相似的化学性质,添加外源Zn可通过Zn/Cd拮抗作用显著抑制植物对Cd的吸收和转运^[4]。大量研究表明,在Cd污染土壤中,喷施Zn肥可有效降低生菜^[5]、辣椒^[6]、黄瓜^[7]以及油菜^[8]等多种蔬菜可食部位的Cd含量。另外,Zn是人体生长发育必需的微量元素,由于土壤和作物Zn含量偏低,全世界有1/3人口遭受缺Zn危害,而施用Zn肥是提高作物Zn含量和强化人体Zn营养的重要措施^[9]。因此在Cd污染农田喷施Zn肥可以为人体健康提供双重效益。

在经口摄入的食物中,只有部分营养和有害元素能够被人体消化吸收。因此相对于总量,元素在胃肠

道中消化溶出的比例或含量,即生物可给性,能更准确地表征人体对其吸收利用的潜力以及由此引发的健康风险^[10]。近年的研究表明,喷施Zn肥不仅可以影响作物Cd和Zn的含量,还会影响其生物可给性。例如,陶雪莹等^[11]研究发现,在河南Cd污染麦田中,喷施 $12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ZnSO_4 溶液显著降低小麦籽粒Cd在胃相的生物可给性比例,显著提高Zn的可给性比例。TANG等^[12]研究表明,在浙江Cd污染菜地上,喷施以 ZnSO_4 为基体的复合Zn肥可显著降低空心菜的生物可给态Cd含量,显著提高其可给态Zn含量。然而迄今为止,有关Zn肥调控作物Cd和Zn生物可给性的作用机制并不明确。

土壤重金属的化学形态是影响其生物可给性的关键因素。TANG等^[13]研究发现,在5种人工制备Cd污染土壤老化过程中,土壤Cd的可给性比例与水提取态、可交换态Cd的占比有显著正相关性,这表明土壤可给态Cd主要来源于这两个形态。KARADAŞ等^[14]对土耳其重金属复合污染土壤进行研究,发现可还原态Cd对土壤可给态Cd的贡献最大,酸提取态Zn对土壤可给态Zn的贡献最大。近年来,人们采用与

土壤类似的连续提取法研究了植物体内重金属的化学形态,发现Cd和Zn的化学形态与其毒性及迁移能力密切相关^[15-16]。然而,植物体内Cd和Zn的化学形态是否像土壤一样,与其生物可给性有密切关系,这一问题目前尚不明确。揭示这两类指标之间的关系将有助于阐明作物体内Cd和Zn的消化溶出机制以及生物可给性的变化机制。

近期本团队通过水培实验发现,喷施Zn肥显著影响了叶用油菜(*Brassica chinensis* L.)地上部Cd和Zn的生物可给性比例;推断Zn肥可能通过影响油菜Cd和Zn的化学形态,进而调控其生物可给性^[17]。然而,该研究并没有直接证据可以支持这一假设。鉴于此,本文通过土壤盆栽试验,采用体外消化方法和连续提取法,研究喷施不同形态和浓度的Zn肥对两种叶用油菜Cd和Zn的含量、生物可给性以及化学形态的影响,并通过相关性分析和线性拟合方法研究Cd和Zn的生物可给性与化学形态的关系,探讨喷施Zn肥调控油菜Cd和Zn生物可给性的作用机制。本研究成果可以为喷施Zn肥降低油菜Cd污染健康风险提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试土壤取自湖南省湘潭市某Cd污染农田,土壤类型为第四纪红土发育的潴育型水稻土,基本理化性质:pH值为5.57,总Cd和总Zn含量分别为 $1.94 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $245.46 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,有机质含量为 $3.89 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,阳离子交换量为 $11.86 \text{ cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$,碱解氮、速效磷和速效钾含量分别为 92.43 、 $21.52 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $117.35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

供试叶用油菜为Cd低积累品种华骏和普通品种寒绿^[18],种子由天津市农科院提供。喷施的Zn肥为硫酸锌($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)和乙二胺四乙酸锌二钠($\text{EDTA} \cdot \text{Na}_2\text{Zn} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, EDTA-Zn);前者为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司;后者纯度高于98%,购自上海麦克林生化科技有限公司。

1.2 试验设计

盆栽试验采用双因素完全组合设计。第一个因素为油菜品种,种植2种油菜。第二个因素为不同喷施处理。根据团队前期研究发现,喷施 ZnSO_4 和EDTA-Zn可有效降低油菜Cd含量^[19],但预实验发现喷施高浓度EDTA-Zn溶液对油菜叶片有一定的伤害,需要降低施用浓度。因此本试验中 ZnSO_4 喷施浓

度为 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (以Zn计,下同),分别记为S1和S2;EDTA-Zn喷施浓度为 $1.33 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,分别记为E1和E2;另外设置对照处理,喷施去离子水,记为CK。本试验共设置10个处理,每个处理重复3次。

盆栽试验于2020年5—7月在玻璃温室内进行,室内温度为 $20 \sim 35 \text{ }^{\circ}\text{C}$,自然光照,盆栽器皿按照随机区组排列。供试土壤风干过5 mm筛后装盆,每盆装土2 kg,同时施入 $0.64 \text{ g CO}(\text{NH}_2)_2$ 和 $0.51 \text{ g K}_2\text{HPO}_4$ (分析纯)作为底肥。拌土后每盆加入800 mL去离子水,稳定7 d,然后播种。待幼苗长至4片真叶时每盆间苗至5株。在油菜种植过程中不定期浇灌去离子水,使土壤含水量维持在田间持水量的70%左右。在油菜播种后的第49、55 d和61 d,用微型喷雾瓶喷施Zn肥,每盆每次喷施9 mL溶液,并用铝箔遮盖盆中土壤,以防溶液进入土壤。在油菜播种后第70 d收获全部植株。

1.3 样品处理与分析

1.3.1 样品处理以及Cd和Zn含量测定

收获的油菜地上部样品先用自来水冲洗去除灰尘;然后在2% HNO_3 溶液中浸泡2 min,以去除表面残留的Zn盐^[20];再用去离子水冲洗干净,吸干表面水分,保存在 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。在分析样品当天,用陶瓷刀具将每盆油菜地上部切碎混匀,用于重金属含量、可给性及化学形态的分析。

称取4 g鲜样,在烘箱中 $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘干至恒质量,然后加入8 mL电子级(BV-Ⅲ)浓 HNO_3 ,在电热消解仪(ED54,北京莱伯泰科)上进行消解^[11];使用电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS, ICPQc, Thermo Fisher Scientific, 德国)测定消解后样品溶液中的Cd和Zn含量。同时采用美国国家标准与技术研究院提供的菠菜叶标样SRM1570a对消解和测定过程进行质量监控;结果显示,标样中Cd和Zn的回收率均在95%~105%范围内。

1.3.2 体外消化试验

根据RUBY等^[21]和FU等^[10]的方法进行改进,采用PBET (Physiologically based extraction test)法测定油菜地上部Cd和Zn的生物可给性。在胃消化阶段,称取3 g鲜样,用研钵研磨,然后加入30 mL模拟胃液(含柠檬酸 $0.50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、苹果酸 $0.50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、乳酸 $0.42 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ 、醋酸 $0.50 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ 、胃蛋白酶 $1.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,用浓盐酸调pH值至1.50),在 $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下旋转振荡1 h。在小肠消化阶段,用 NaHCO_3 粉末将消化液pH值调整至

7.0, 加入 1 mL 胆盐溶液 ($52.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 以 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHCO_3 溶液配制) 和 15 mg 胰酶, 在 37°C 下旋转振荡 4 h, 离心分离上清液并准确记录其体积。在小肠消化阶段分离的上清液经 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜过滤并稀释后, 采用 ICP-MS 测定其 Cd 和 Zn 含量。

1.3.3 化学形态提取测定

采用连续提取法分析油菜地上部 Cd 和 Zn 的化学形态^[22]。称取 5 g 鲜样, 加入 25 mL 提取液, 研磨匀浆后在 25°C 下恒温振荡提取 12 h, 再以 $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 并回收上清液; 在残渣中加入 25 mL 相同提取液继续振荡提取 12 h, 离心并回收上清液, 合并两次上清液得到该组分溶液。提取液依次为: 80% 乙醇、超纯水、 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 、2% 醋酸 (HAc) 以及 $0.6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl , 提取后分别得到乙醇提取态 (F_E)、 H_2O 提取态 (F_W)、 NaCl 提取态 (F_{NaCl})、 HAc 提取态 (F_{HAc}) 以及 HCl 提取态 (F_{HCl})。将各组分溶液转移至消解管中, 80°C 下蒸干后加入浓 HNO_3 消解, 使用 ICP-MS 测定其 Cd 和 Zn 含量。

1.4 数据计算与分析

参考王林等^[17]和 SUN 等^[23]研究, 根据消化液体积与元素含量以及油菜样品质量与元素含量, 计算油菜 Cd 和 Zn 的生物可给态含量以及生物可给性比例:

$$BAC = \frac{C_s \times V_s}{M}$$

式中: BAC 为油菜中 Cd、Zn 的生物可给态含量, $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$; C_s 为测定的小肠消化液中可溶态 Cd、Zn 的质量浓

度, $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; V_s 为小肠消化液的体积, mL; M 为体外消化实验中加入油菜的质量, g。

$$BAP = \frac{BAC}{C_t} \times 100\%$$

式中: BAP 为油菜中 Cd、Zn 的生物可给性比例, %; C_t 为油菜样品 Cd、Zn 总质量分数, $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

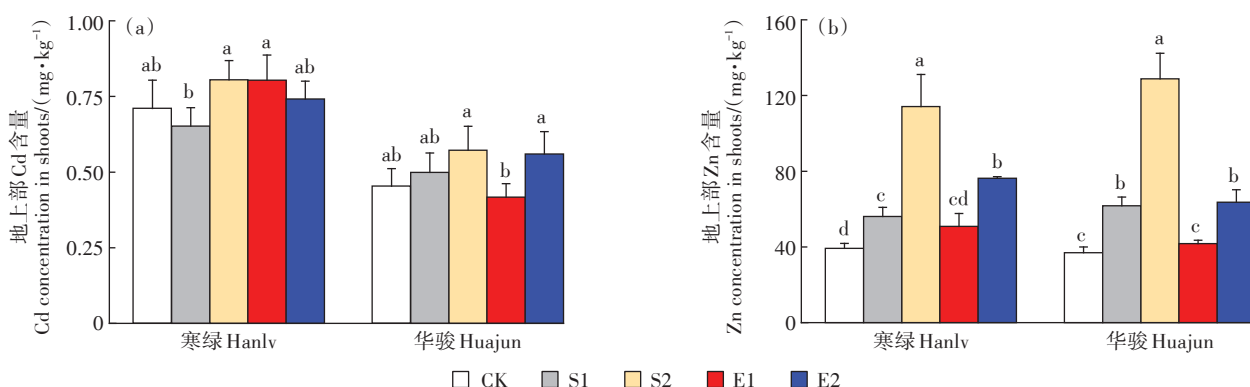
试验数据采用 Excel 2016 和 SPSS 24 软件进行统计分析。采用单因素方差分析以及最小显著性差异 (LSD) 法分析不同处理间的差异显著性; 采用 Pearson 相关系数法以及线性拟合法研究 Cd 和 Zn 生物可给性与化学形态之间的相关性。采用 Origin 2019 软件制图。

2 结果与分析

2.1 叶面施 Zn 对油菜地上部 Cd 和 Zn 含量的影响

叶面施 Zn 对两种油菜地上部 Cd 含量影响较小。由图 1a 可知, 寒绿在低浓度 ZnSO_4 处理下, 与其对照相比地上部 Cd 含量降低了 8.22%, 华骏在低浓度 EDTA-Zn 处理下, 与其对照相比地上部 Cd 含量降低了 7.95%, 但方差分析表明, 喷施 Zn 肥对两种油菜地上部 Cd 含量均无显著影响。

叶面施 Zn 显著提高了两种油菜地上部 Zn 含量。由图 1b 可知, ZnSO_4 处理下寒绿和华骏的 Zn 含量都显著升高 ($P < 0.05$), 与对照处理相比最大增幅分别为 1.91 倍和 2.49 倍。在高浓度 EDTA-Zn 处理下, 两种油菜的 Zn 含量也都显著升高, 增幅分别为 94.32% 和



鲜基。CK: 喷施去离子水, S1: 喷施 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ZnSO_4 , S2: 喷施 $12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ZnSO_4 , E1: 喷施 $1.33 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA-Zn, E2:

喷施 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA-Zn。不同小写字母表示同一品种内不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同

Fresh weight basis. CK: spraying with deionized water, S1: spraying with $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ZnSO_4 , S2: spraying with $12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ZnSO_4 , E1: spraying with $1.33 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA-Zn, E2: spraying with $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA-Zn. Different lowercase letters indicate significant difference among different treatments in the same variety. The same below

图1 不同处理下两种油菜地上部 Cd 和 Zn 含量

Figure 1 Cd and Zn concentrations in the aboveground parts of two cultivars of *Brassica chinensis* L. under different treatments

72.31%。

2.2 叶面施 Zn 对油菜 Cd 和 Zn 的生物可给态含量和生物可给性比例的影响

本研究通过体外消化试验测定元素的生物可给态含量,该含量与元素总含量的比值即为生物可给性比例。图2a和图2b反映了不同喷施处理下两种油菜地上部Cd的生物可给态含量和生物可给性比例变化特征。从可给态含量来看,高浓度EDTA-Zn处理显著提高寒绿和华骏地上部的可给态Cd含量,与对照处理相比增幅分别为25.65%和49.19%,其余处理无显著影响。从生物可给性比例来看,喷施ZnSO₄使两种油菜的Cd可给性比例有所降低,而喷施EDTA-Zn则使其呈现升高趋势。其中,寒绿的Cd可给性比例在ZnSO₄处理下显著降低,最大降幅为24.37%;在高浓度EDTA-Zn处理下则显著升高,增幅为20.01%;而喷施Zn肥对华骏的Cd可给性比例无显著影响。总的来说,喷施ZnSO₄明显抑制油菜Cd的消化溶出,喷施EDTA-Zn作用相反。

图2c和图2d反映了油菜地上部Zn的生物可给态含量和生物可给性比例变化特征。从可给态含量

来看,喷施Zn肥使两种油菜可给态Zn含量呈现升高趋势,其中寒绿在所有施Zn处理下可给态Zn含量都显著升高,与对照相比增幅范围为0.38~1.44倍;而华骏在高浓度ZnSO₄和高浓度EDTA-Zn处理下可给态Zn含量显著升高,增幅分别为1.87倍和1.16倍。从生物可给性比例来看,与Cd相似,喷施ZnSO₄可使两种油菜的Zn可给性比例有所降低,而喷施EDTA-Zn则使Zn可给性比例呈现升高趋势。其中华骏的Zn可给性比例在高浓度ZnSO₄处理下显著降低,降幅为6.07%;在EDTA-Zn处理下则显著升高,最大增幅为8.40%;而喷施Zn肥对寒绿的Zn可给性比例影响不显著。

2.3 油菜地上部 Cd 和 Zn 的化学形态

2.3.1 油菜地上部 Cd 的化学形态

不同处理下两种油菜地上部Cd的化学形态含量如图3所示。喷施EDTA-Zn后,两种油菜地上部乙醇和H₂O提取态Cd含量均显著升高,与CK相比分别增加了0.87~11.16倍和0.74~4.48倍;而喷施ZnSO₄处理对油菜乙醇和H₂O提取态Cd含量无显著影响。对于NaCl、HAc和HCl提取态,喷施EDTA-Zn处理下这

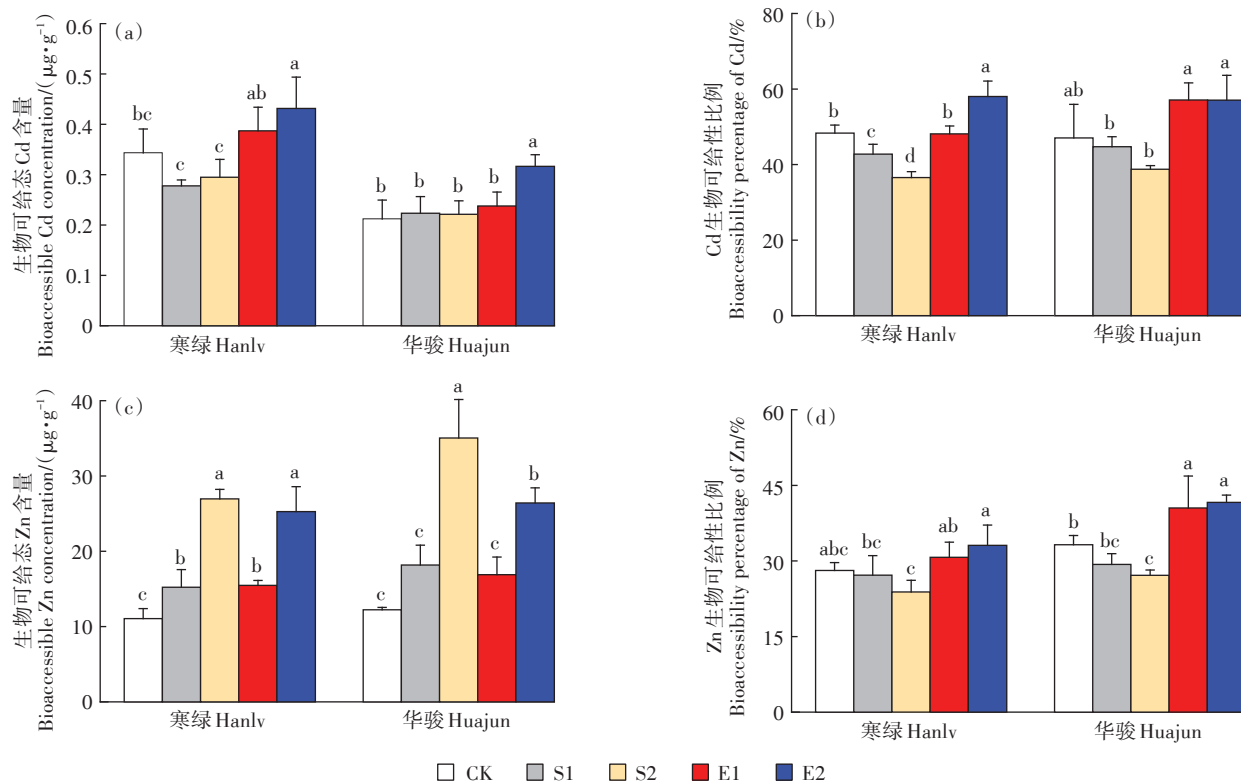


图2 不同处理下油菜地上部Cd和Zn的生物可给态含量与生物可给性比例

Figure 2 Bioaccessible concentrations and bioaccessibility percentages of Cd and Zn in the aboveground parts of *Brassica chinensis* L. under different treatments

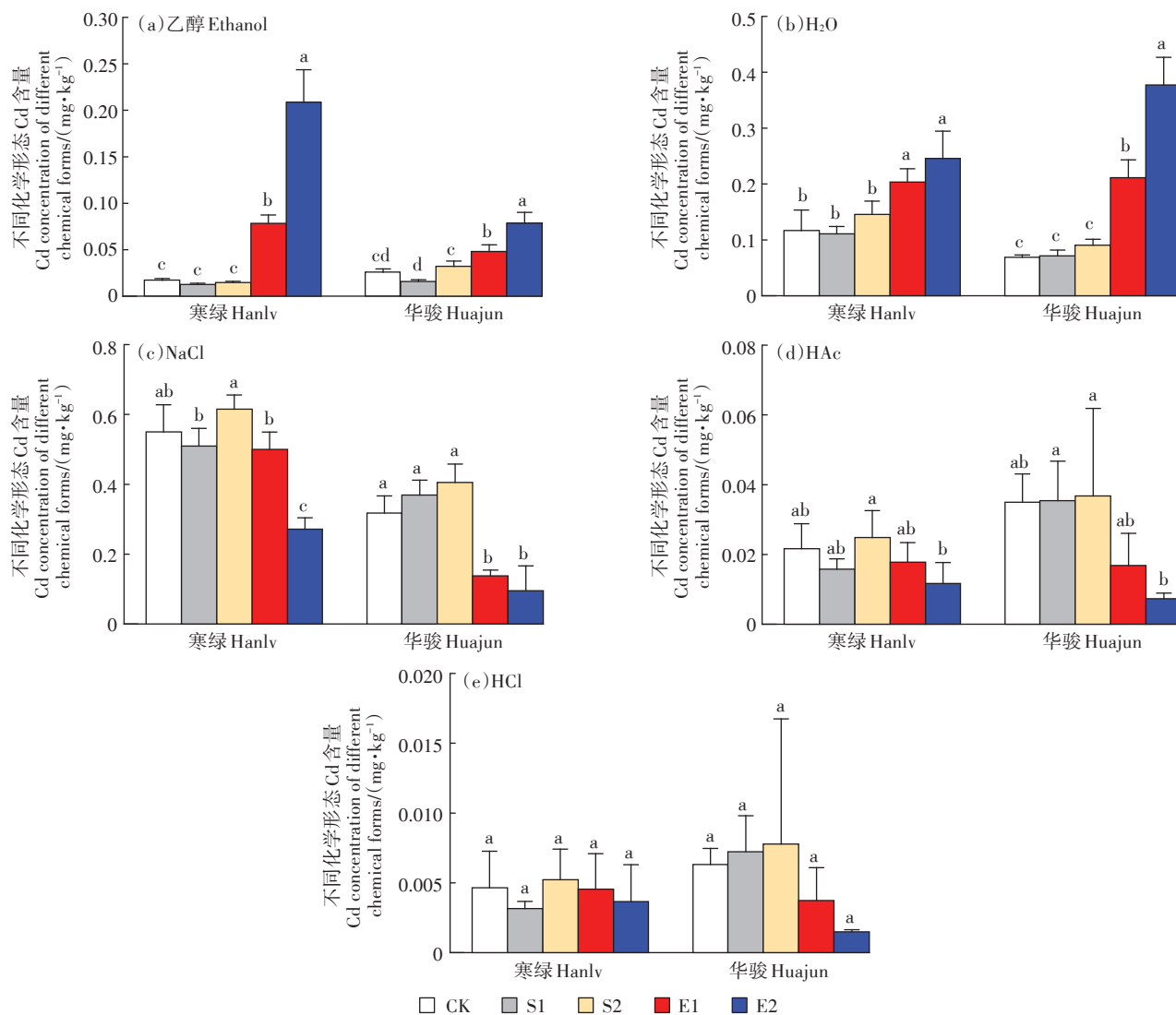


图3 不同处理下油菜地上部各化学形态Cd的含量(鲜基)

Figure 3 Cd concentrations of different chemical forms in the aboveground parts of *Brassica chinensis* L. under different treatments(fresh weight basis)

三种形态Cd含量均呈现降低趋势,其中高浓度EDTA-Zn处理下NaCl提取态Cd含量显著降低,最大降幅为70.07%;而ZnSO₄处理下3种形态Cd含量均无显著变化。

从油菜地上部Cd化学形态占比来看(图4a和图4b),CK处理下,两种油菜中Cd化学形态均以NaCl提取态为主,平均比例为73.71%,其次为H₂O提取态,平均比例为15.89%,乙醇、HAc和HCl提取态比例较低,平均比例均未超过6%。喷施EDTA-Zn后油菜乙醇和H₂O提取态Cd占比明显增加,与CK相比最大增幅分别为25.59%和52.74%;而其余3个形态Cd占比有所降低,其中以NaCl提取态降低最为明显,最大降幅可达53.59%。喷施ZnSO₄对油菜Cd化学形态占比

无明显影响。

2.3.2 油菜地上部Zn的化学形态

由图5可知,喷施Zn肥提高了两种油菜乙醇、H₂O和NaCl提取态Zn含量。具体来看,高浓度ZnSO₄处理和高浓度EDTA-Zn处理下乙醇和H₂O提取态Zn含量均显著升高,其中乙醇提取态增幅为0.69~1.66倍,H₂O提取态增幅为0.90~3.14倍。而在高浓度ZnSO₄处理下,两种油菜地上部NaCl、HAc和HCl提取态Zn含量均显著升高,最大增幅分别为3.08、2.64倍和2.21倍。

如图4c和图4d所示,CK处理下,两种油菜Zn化学形态占比大小顺序为:F_E(均值28.20%)>F_{NaCl}(25.48%)>F_{HAc}(21.83%)>F_W(16.42%)>F_{HCl}(8.06%)。

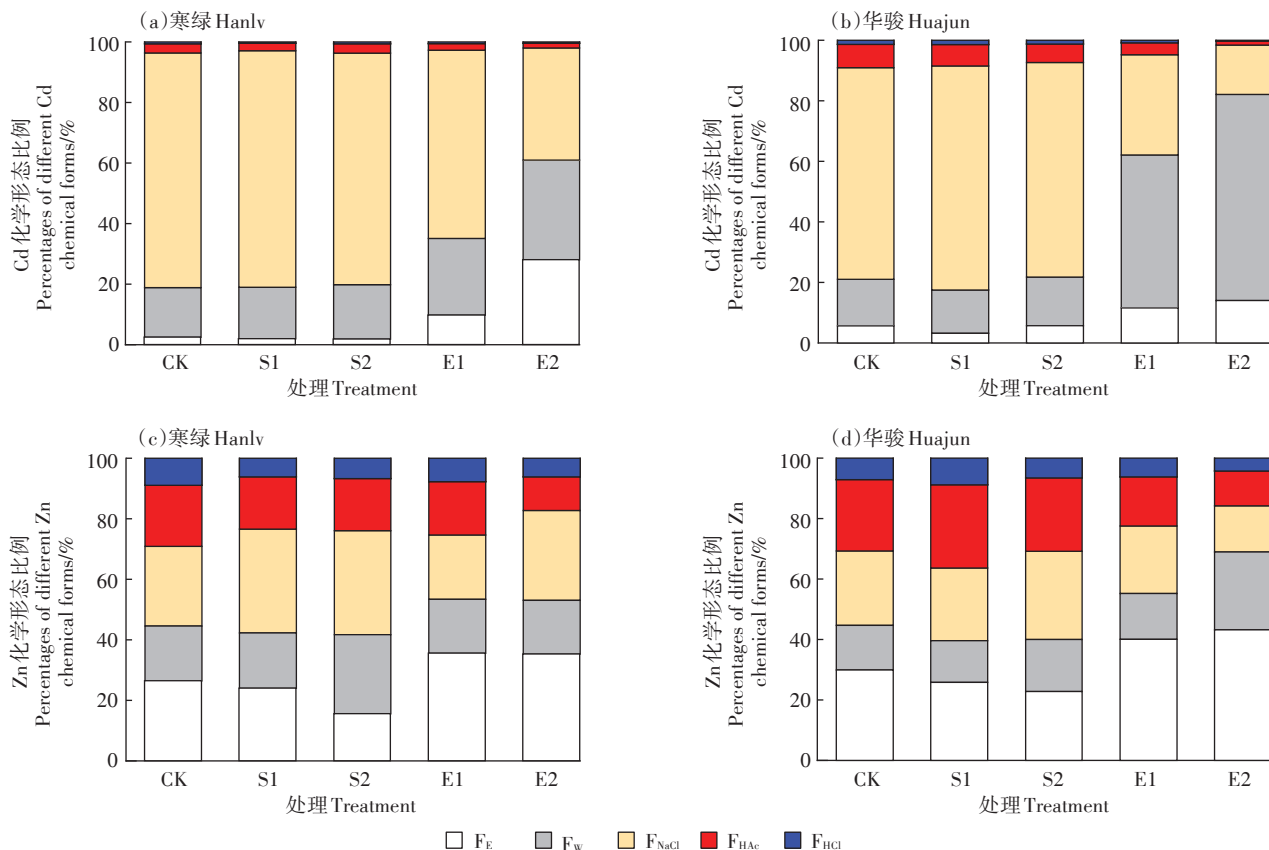


图4 油菜地上部Cd和Zn的化学形态占总量比例

Figure 4 Percentages of different chemical forms of Cd and Zn in the aboveground parts of *Brassica chinensis* L.

喷施Zn肥对油菜各形态Zn占比有不同影响。喷施ZnSO₄后两种油菜地上部乙醇提取态Zn占比有所降低,特别是在高浓度处理下降更加明显,最大降幅可达10.88%;而在喷施EDTA-Zn后,寒绿和华骏的乙醇提取态Zn占比则有所升高,最大增幅分别为9.09%和13.23%。喷施高浓度ZnSO₄后寒绿地上部H₂O提取态Zn占比明显升高,增幅为8.02%;而喷施高浓度EDTA-Zn则使华骏H₂O提取态Zn比例明显升高,增幅为11.03%。喷施ZnSO₄使寒绿NaCl提取态Zn占比升高,而喷施高浓度EDTA-Zn则使华骏NaCl提取态Zn比例明显降低,降幅为9.38%。喷施高浓度EDTA-Zn使HAc和HCl提取态Zn比例明显降低,最大降幅分别为11.99%和2.89%。

3 讨论

3.1 叶面施Zn对油菜地上部Cd和Zn化学形态的影响

近年来国内学者使用多种极性不同的溶剂对植物体内Cd和Zn的化学形态进行分级提取。其中,乙醇和H₂O提取态Cd/Zn毒性和迁移性较强,而HAc和HCl提取态Cd/Zn毒性和迁移性较弱^[24]。本研究发

现,在对照处理中,油菜地上部NaCl提取态Cd的占比最大,这与WU等^[22]和XUE等^[25]的研究结果一致,这表明油菜地上部的Cd主要与蛋白质或果胶酸结合。在对照处理中,油菜地上部Zn在乙醇、NaCl以及HAc提取态的占比相近,这与吴箐等^[26]和于方明等^[16]的研究结果一致,这表明油菜体内Zn可与硝酸根、氨基酸、蛋白质以及磷酸根等多种配体结合。

喷施ZnSO₄后,乙醇提取态Zn占比降低,NaCl提取态比例有所升高,这与陈秀灵^[27]以及周小勇等^[28]的研究结果一致。这一变化可能是对喷施ZnSO₄后Zn含量显著升高的响应,有助于减少Zn对油菜的毒害作用。究其原因,可能是油菜通过叶面吸收SO₄²⁻,有助于含硫氨基酸和蛋白质的合成^[29],进而导致蛋白质结合态即NaCl提取态Zn比例升高。喷施EDTA-Zn后,乙醇和H₂O提取态Cd的含量和比例明显升高,乙醇提取态Zn的含量和比例也明显升高,这与董如茵^[30]的研究结果一致。究其原因,EDTA可能随Zn一起被植物吸收,在植物体内与Zn/Cd结合,其螯合物较为稳定,可溶性高,因此造成可溶态Cd/Zn增加。

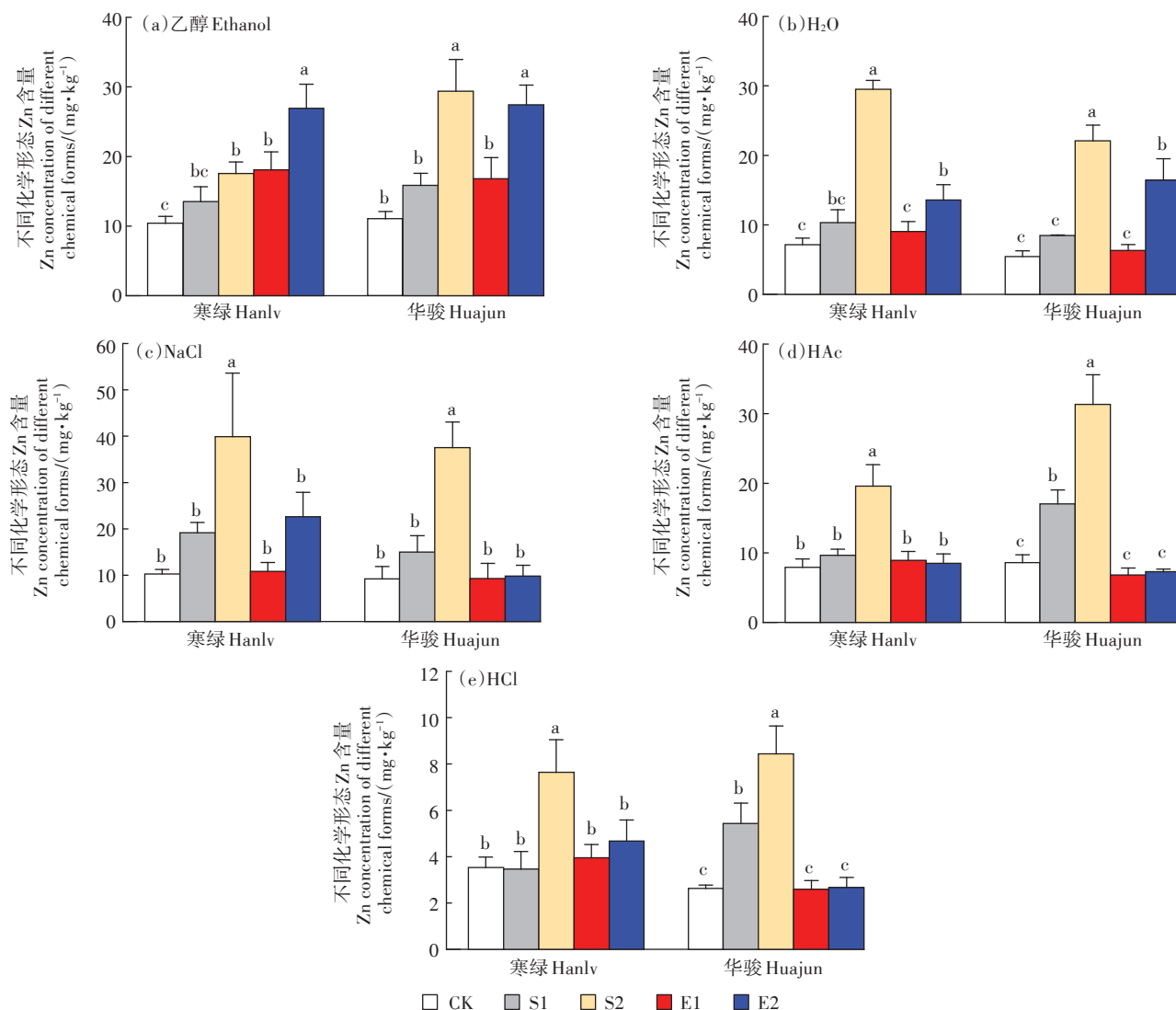


图5 不同处理下油菜地上部各化学形态Zn的含量(鲜基)

Figure 5 Zn concentrations of different chemical forms in the aboveground parts of *Brassica chinensis* L. under different treatments (fresh weight basis)

3.2 叶面施Zn对油菜Cd和Zn生物可给性的影响

本研究发现,喷施ZnSO₄降低Cd和Zn的生物可给性,而喷施EDTA-Zn则提高二者的生物可给性。这一变化过程与Cd和Zn化学形态的变化有何关系?为探讨这一问题,我们将油菜Cd/Zn生物可给态含量与各化学形态含量、Cd/Zn生物可给性比例与各化学形态占比分别进行相关性分析,并在此基础上选择显著相关的指标进行线性拟合分析。

对于Cd,相关性分析显示,油菜生物可给态Cd含量与乙醇和H₂O提取态Cd含量呈极显著正相关($P < 0.01$)(图6a);Cd生物可给性比例与乙醇和H₂O提取态Cd占比呈极显著正相关,与NaCl提取态Cd占比呈极显著负相关(图6b)。线性拟合结果表明(表1),生

物可给态Cd含量与乙醇提取态Cd含量的回归方程决定系数(R^2)最大,拟合效果最佳,而Cd生物可给性比例与乙醇和H₂O提取态Cd比例之和的回归方程 R^2 值最大且截距较小,拟合效果最佳。由此可知,油菜地上部乙醇和H₂O提取态Cd对生物可给态Cd的贡献最大,这可能是由于乙醇和H₂O提取态为可溶形态,理论上最易被消化溶出。另外,在Cd可给性比例与乙醇和H₂O提取态Cd比例之和的拟合方程中,其斜率明显小于1,这可能是由于小肠消化液为中性,油菜地上部可溶形态的Cd在消化溶出过程中,部分会被消化产物(如含硫氨基酸和多糖)或消化酶所吸附或结合沉淀,从而造成Cd的溶出比例低于可溶形态的比例^[31]。在本研究中,喷施ZnSO₄后,乙醇提取态

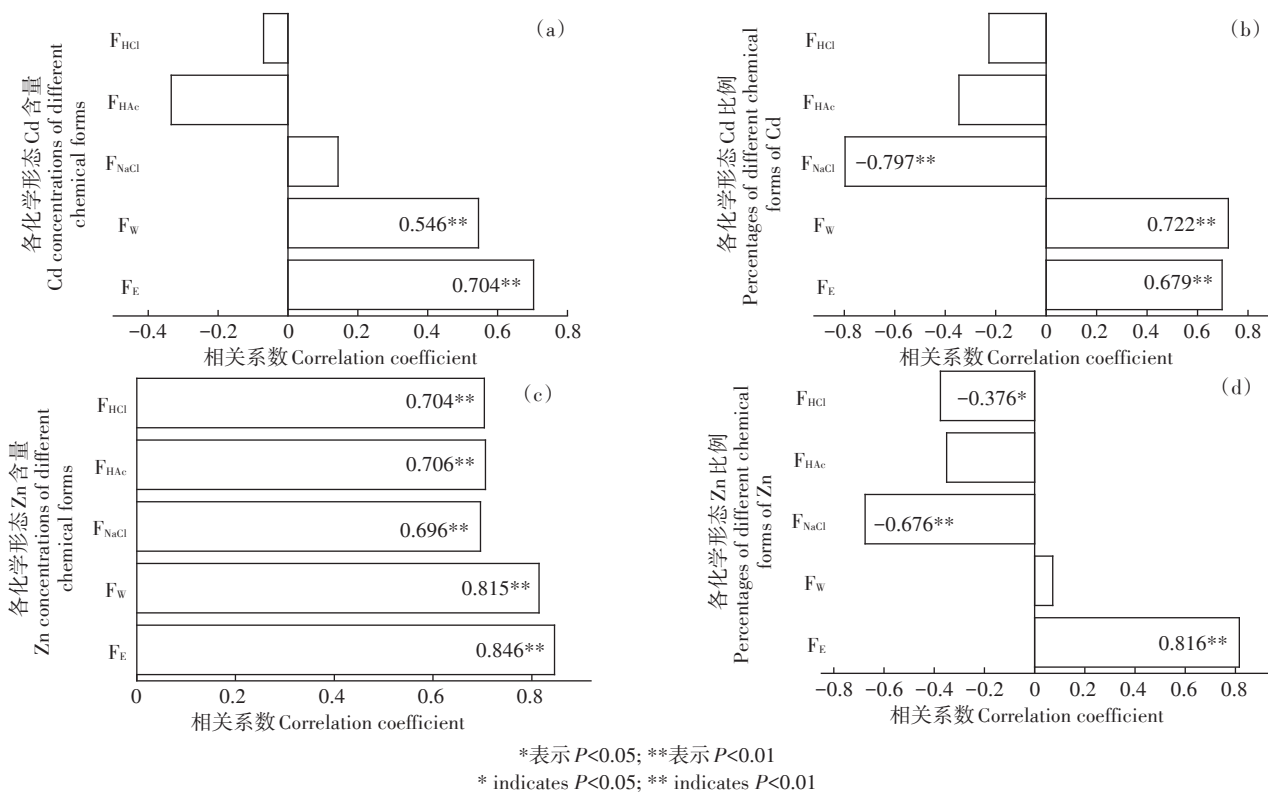


图6 油菜Cd/Zn生物可给态含量与各化学形态含量以及Cd/Zn生物可给性比例与各化学形态占比之间的相关性分析

Figure 6 Correlation coefficients for the relationship between bioaccessible Cd and Zn concentrations and Cd and Zn concentrations in different chemical forms, and for the relationship between the bioaccessibility percentages of Cd and Zn, and Cd and Zn proportions in different chemical forms in *Brassica chinensis* L.

表1 油菜Cd/Zn生物可给态含量、生物可给性比例与化学形态组分的线性拟合分析

Table 1 Linear correlations between bioaccessible Cd and Zn concentration, Cd and Zn concentration in different chemical forms, as well as between bioaccessibility percentages of Cd and Zn, and Cd and Zn proportions in different chemical forms in *Brassica chinensis* L.

Cd	F _E	F _W	F _{NaCl}	F _{HAc}	F _{HCl}	F _E +F _W
生物可给态含量 Bioaccessible concentration	$y=0.94x+0.24$ $R^2=0.48$	$y=0.45x+0.22$ $R^2=0.27$	—	—	—	$y=0.38x+0.21$ $R^2=0.44$
生物可给性比例 Bioaccessibility percentage	$y=0.72x+0.42$ $R^2=0.47$	$y=0.33x+0.39$ $R^2=0.51$	$y=-0.30x+0.66$ $R^2=0.62$	—	—	$y=0.28x+0.38$ $R^2=0.62$
Zn	F _E	F _W	F _{NaCl}	F _{HAc}	F _{HCl}	F _E +F _W
生物可给态含量 Bioaccessible concentration	$y=0.94x+2.70$ $R^2=0.71$	$y=0.83x+9.66$ $R^2=0.65$	$y=0.45x+12.09$ $R^2=0.47$	$y=0.70x+11.43$ $R^2=0.48$	$y=2.58x+8.67$ $R^2=0.48$	$y=0.57x+2.25$ $R^2=0.89$
生物可给性比例 Bioaccessibility percentage	$y=0.58x+0.14$ $R^2=0.65$	—	$y=-0.58x+0.47$ $R^2=0.44$	—	$y=-1.50x+0.42$ $R^2=0.11$	—

Cd含量没有显著变化,相应地生物可给态Cd含量也没有显著变化;而在喷施高浓度EDTA-Zn处理下,乙醇和H₂O提取态Cd的含量和比例明显升高,相应地可给态Cd含量和Cd可给性比例也显著升高。这些结果表明,喷施Zn肥主要通过影响油菜地上部乙醇和H₂O提取态Cd来调控Cd的生物可给性。

对于Zn,油菜生物可给态Zn含量与5个不同形态的Zn含量均呈极显著正相关,其中与乙醇和H₂O

提取态的相关系数较大(图6c);线性拟合结果显示,油菜生物可给态Zn含量与乙醇和H₂O提取态Zn含量之和的回归方程 R^2 值最大,拟合效果最佳(表1)。油菜Zn生物可给性比例与乙醇提取态Zn的比例呈极显著正相关,与NaCl提取态Zn比例呈极显著负相关,与HCl提取态Zn比例呈显著负相关(图6d);线性拟合分析显示,油菜Zn的生物可给性比例与乙醇提取态Zn比例的回归方程 R^2 值最大,拟合效果最佳(表

1)。综合上述结果可知,油菜地上部乙醇和 H_2O 提取态Zn对生物可给态Zn的贡献最大。在本研究中,高浓度 $ZnSO_4$ 和EDTA-Zn处理下乙醇和 H_2O 提取态Zn含量都显著升高,相应地油菜生物可给态Zn含量也显著升高;同样地,在喷施 $ZnSO_4$ 处理下,乙醇提取态Zn比例有所降低,在喷施EDTA-Zn处理下,乙醇提取态Zn比例则明显升高,相应地,在 $ZnSO_4$ 处理下油菜Zn的生物可给性比例呈现降低趋势或显著降低,在EDTA-Zn处理下Zn的可给性比例显著升高或呈现升高趋势。这些结果表明,喷施Zn肥主要通过调节油菜乙醇和 H_2O 提取态Zn进而影响Zn的生物可给性。

4 结论

(1)叶面施Zn对两种油菜地上部Cd含量无显著影响,使Zn含量显著升高。

(2)喷施 $4\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA-Zn显著提高油菜生物可给态Cd含量;而喷施 $ZnSO_4$ 则降低油菜Cd的生物可给性比例。叶面施Zn显著提高油菜生物可给态Zn含量;喷施 $ZnSO_4$ 降低油菜Zn的生物可给性比例,而喷施EDTA-Zn则提高其生物可给性比例。

(3)油菜地上部Cd以NaCl提取态为主,Zn以乙醇和NaCl提取态为主;喷施EDTA-Zn明显提高乙醇、 H_2O 提取态Cd以及乙醇提取态Zn占比;喷施 $ZnSO_4$ 明显降低乙醇提取态Zn的比例。

(4)油菜Cd/Zn的乙醇和 H_2O 提取态含量与其生物可给态含量、乙醇和 H_2O 提取态比例与其生物可给性比例均呈极显著的正相关性,这表明油菜Cd/Zn的乙醇和 H_2O 提取态对其生物可给性贡献最大,叶面施Zn主要通过影响乙醇和 H_2O 提取态Cd/Zn进而调控Cd/Zn的生物可给性。

参考文献:

- OSKARSSON A, WIDELL A, OLSSON I M, et al. Cadmium in food chain and health effects in sensitive population groups[J]. *Biometals*, 2004, 17(5):531-534.
- ZHANG W L, DU Y, ZHAI M M, et al. Cadmium exposure and its health effects: A 19-year follow-up study of a polluted area in China [J]. *Science of the Total Environment*, 2014, 470-471:224-228.
- HUANG Y Y, HE C T, SHEN C, et al. Toxicity of cadmium and its health risks from leafy vegetable consumption[J]. *Food & Function*, 2017, 8(4):1373-1401.
- ZHOU J, ZHANG C, DU B Y, et al. Effects of zinc application on cadmium (Cd) accumulation and plant growth through modulation of the antioxidant system and translocation of Cd in low- and high-Cd wheat cultivars[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 265(Pt A):115045.
- 吕选忠, 宫象雷, 唐勇. 叶面喷施锌或硒对生菜吸收镉的拮抗作用研究[J]. *土壤学报*, 2006, 43(5):868-870. LÜ X Z, GONG X L, TANG Y. Antagonistic effect of foliar application of Se or Zn on absorption of Cd in lettuce[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2006, 43(5):868-870.
- 陈贵青, 张晓璟, 徐卫红, 等. 不同Zn水平下辣椒体内Cd的积累、化学形态及生理特性[J]. *环境科学*, 2010, 31(7):1657-1662. CHEN G Q, ZHANG X J, XU W H, et al. Effect of different zinc levels on accumulation and chemical forms of cadmium, and physiological characterization in *Capsicum annuum* L. [J]. *Environmental Science*, 2010, 31(7):1657-1662.
- YANG J X, WANG L Q, WEI D P, et al. Foliar spraying and seed soaking of zinc fertilizers decreased cadmium accumulation in cucumbers grown in Cd-contaminated soils[J]. *Soil and Sediment Contamination*, 2011, 20(4):400-410.
- FENG R W, QIU W W, LIAN F, et al. Field evaluation of *in situ* remediation of Cd-contaminated soil using four additives, two foliar fertilizers and two varieties of pakchoi[J]. *Journal of Environmental Management*, 2013, 124:17-24.
- CAKMAK I. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? [J]. *Plant and Soil*, 2008, 302(1/2):1-17.
- FU J, CUI Y S. *In vitro* digestion/Caco-2 cell model to estimate cadmium and lead bioaccessibility/bioavailability in two vegetables: The influence of cooking and additives[J]. *Food & Chemical Toxicology*, 2013, 59(9):215-221.
- 陶雪莹, 徐应明, 王林, 等. 喷施硫酸锰和硫酸锌对小麦籽粒镉、锌生物可给性的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2020, 39(10):2181-2189. TAO X Y, XU Y M, WANG L, et al. Effects of foliar application of manganese sulfate and zinc sulfate on bioaccessibility of cadmium, manganese, and zinc in wheat grains[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(10):2181-2189.
- TANG L, HAMID Y, LIU D, et al. Foliar application of zinc and selenium alleviates cadmium and lead toxicity of water spinach: Bioavailability/cytotoxicity study with human cell lines[J]. *Environment International*, 2020, 145:106122.
- TANG X Y, ZHU Y G, CUI Y S, et al. The effect of ageing on the bioaccessibility and fractionation of cadmium in some typical soils of China[J]. *Environment International*, 2006, 32(5):682-689.
- KARADA C, KARA D. Chemometric evaluation for the relation of BCR sequential extraction method and *in vitro* gastro-intestinal method for the assessment of metal bioavailability in contaminated soils in Turkey[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2012, 19(4):1280-1295.
- XIN J L, HUANG B F. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in two hot pepper cultivars differing in cadmium accumulation[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2014, 62(2):508-515.
- 于方明, 汤叶涛, 周小勇, 等. 镉对圆锥南芥锌的吸收、亚细胞分布和化学形态影响[J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2010(4):118-124. YU F M, TANG Y T, ZHOU X Y, et al. Effects of cadmium on uptake, subcellular distribution and chemical form of zinc in *Arabidopsis paniculata* Franch. [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sun-*

- yatseni, 2010(4):118-124.
- [17] 王林, 谷朋磊, 李然, 等. 喷施锌肥对油菜镉锌生物可给性的影响[J]. 环境科学, 2018, 39(6):442-450. WANG L, GU P L, LI R, et al. Effect of foliar zinc application on bioaccessibility of cadmium and zinc in pakchoi[J]. *Environmental Science*, 2018, 39(6):442-450.
- [18] WANG L, XU Y M, SUN Y B, et al. Identification of pakchoi cultivars with low cadmium accumulation and soil factors that affect their cadmium uptake and translocation [J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2014, 8(6):877-887.
- [19] 代晶晶, 徐应明, 王林, 等. 不同锌营养下喷施锌肥对油菜生长和元素含量的影响[J]. 环境化学, 2017, 36(5):1017-1025. DAI J J, XU Y M, WANG L, et al. Effect of foliar zinc application on growth and element concentrations of pakchoi under different zinc nutrition status[J]. *Environmental Chemistry*, 2017, 36(5):1017-1025.
- [20] VU D T, HUANG L B, Nguyen A V, et al. Quantitative methods for estimating foliar uptake of zinc from suspension-based Zn chemicals[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2013, 176(5):764-775.
- [21] RUBY M V, DAVIS A, SCHOOF R, et al. Estimation of lead and arsenic bioavailability using a physiologically based extraction test[J]. *Environmental Science & Technology*, 1996, 30(2):422-430.
- [22] WU F B, DONG J, QIAN Q Q, et al. Subcellular distribution and chemical form of Cd and Cd-Zn interaction in different barley genotypes[J]. *Chemosphere*, 2005, 60(10):1437-1446.
- [23] SUN S, ZHOU X F, LI Y W, et al. Use of dietary components to reduce bioaccessibility and bioavailability of cadmium in rice[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(14):4166-4175.
- [24] XUE W J, ZHANG C B, WANG P P, et al. Rice vegetative organs alleviate cadmium toxicity by altering the chemical forms of cadmium and increasing the ratio of calcium to manganese[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 184:109640.
- [25] XUE M, ZHOU Y H, YANG Z Y, et al. Comparisons in subcellular and biochemical behaviors of cadmium between low-Cd and high-Cd accumulation cultivars of pakchoi (*Brassica chinensis* L.) [J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2014, 8(2):226-238.
- [26] 吴箐, 杜锁军, 曾晓雯, 等. 锌在长柔毛委陵菜细胞内的分布和化学形态研究[J]. 生态环境, 2006(1):40-44. WU Q, DU S J, ZENG X W, et al. Subcellular distribution and chemical forms of *Potentilla griffithii* Hook[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2006(1):40-44.
- [27] 陈秀灵. 不结球白菜耐高锌胁迫的生理生化机制研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2010. CHEN X L. Studies on mechanism of physiology and biochemistry in non-heading Chinese cabbage under high zinc stress[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2010.
- [28] 周小勇, 仇荣亮, 胡鹏杰, 等. 镉和铅对长柔毛委陵菜体内锌的亚细胞分布和化学形态的影响[J]. 环境科学, 2008(7):2028-2036. ZHOU X Y, QIU R L, HU P J, et al. Effects of cadmium and lead on subcellular distribution and chemical form of zinc in *potentilla griffithii* var. *velutina*[J]. *Environmental Science*, 2008(7):2028-2036.
- [29] HE W, SHOHAG M, WEI Y, et al. Iron concentration, bioavailability, and nutritional quality of polished rice affected by different forms of foliar iron fertilizer[J]. *Food Chemistry*, 2013, 141(4):4122-4126.
- [30] 董如茵. 喷施锌肥对镉低积累油菜吸收累积镉的影响及生理生化机理[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015. DONG R Y. Effects of foliar spray of zinc fertilizer on cadmium uptake in a pakchoi cultivar with low cadmium accumulation and its physiological-biochemical mechanisms[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2015.
- [31] 吕倩, 李欣, 吴跃, 等. 大米主食制品中污染物镉的体外消化释放研究[J]. 中国粮油学报, 2017, 32(11):1-7. LÜ Q, LI X, WU Y, et al. The *in vitro* digestion and release of cadmium in contaminated rice staple products[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2017, 32(11):1-7.

(责任编辑:叶飞)