

张海利, 王涛, 邹路易, 等. 铜绿假单胞菌对龙葵中Cd的亚细胞分布和化学形态的影响[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(8): 1602–1609.  
ZHANG Hai-li, WANG Tao, ZOU Lu-yi, et al. Effects of *Pseudomonas aeruginosa* on subcellular distribution and chemical speciation of Cd in *Solanum nigrum*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(8): 1602–1609.

## 铜绿假单胞菌对龙葵中Cd的亚细胞分布和化学形态的影响

张海利<sup>1</sup>, 王涛<sup>1</sup>, 邹路易<sup>1</sup>, 郁红艳<sup>1</sup>, 顾文秀<sup>2</sup>, 滕跃<sup>1\*</sup>

(1. 江南大学环境与土木工程学院, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学化学与材料工程学院, 江苏 无锡 214122)

**摘要:**通过盆栽实验,研究Cd胁迫下铜绿假单胞菌对龙葵中Cd的亚细胞分布和化学形态的影响。盆栽实验中Cd浓度设为0、25、50、100 mg·kg<sup>-1</sup>,采用差速离心法、化学试剂逐步提取法对龙葵中的Cd进行亚细胞分布和化学形态研究。研究表明,接种铜绿假单胞菌处理中龙葵叶的Cd含量为未接种的1.14~1.60倍,促进植株中的Cd由根部向茎叶的转移。接种处理可提高根中细胞壁组分的Cd比例,及叶中可溶组分的Cd含量,降低植株根和叶中细胞器组分的Cd比例高达45.74%。此外,接种铜绿假单胞菌可提高龙葵叶中低活性形态Cd的比例。因此,接种铜绿假单胞菌可通过促进龙葵中Cd向地上部分的转移,改变植株中Cd的分布和形态比例,加强龙葵对Cd的耐受性。这些结果有助于重金属污染土壤中植物-微生物共生关系的进一步研究。

**关键词:**铜绿假单胞菌;龙葵;Cd;亚细胞分布;化学形态

中图分类号:X53 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2018)08-1602-08 doi:10.11654/jaes.2018-0130

### Effects of *Pseudomonas aeruginosa* on subcellular distribution and chemical speciation of Cd in *Solanum nigrum*

ZHANG Hai-li<sup>1</sup>, WANG Tao<sup>1</sup>, ZOU Lu-yi<sup>1</sup>, YU Hong-yan<sup>1</sup>, GU Wen-xiu<sup>2</sup>, TENG Yue<sup>1\*</sup>

(1.School of Environment and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2.School of Chemical and Material Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** The effects of *Pseudomonas aeruginosa* on the distribution and chemical forms of Cd in *Solanum nigrum* were studied via a potting experiment. The concentration of Cd in the pot experiment was set at 0, 25, 50, and 100 mg·kg<sup>-1</sup>. The subcellular distribution and chemical forms of Cd in *Solanum nigrum* were studied using differential centrifugation and stepwise extraction of chemical reagent. The results showed that the Cd content of *Solanum nigrum* leaves inoculated with *Pseudomonas aeruginosa* was 1.14~1.46 times higher than that of the non-inoculated leaves. *Pseudomonas aeruginosa* also promoted the transfer of Cd from roots to stems and leaves in the plants. Compared with the non-inoculation treatment, inoculation increased the Cd proportion in the cell wall of the roots and the Cd content in the soluble components of the leaves. In addition, inoculation decreased Cd uptake by up to 45.87% in the organelles of roots and leaves. Moreover, inoculation with *Pseudomonas aeruginosa* increased the proportion of low-activity Cd in the leaves of *Solanum nigrum*. Therefore, inoculation with *Pseudomonas aeruginosa* can promote the tolerance to Cd of *Solanum nigrum* by promoting the transfer of Cd to aboveground parts of the plant and changing the distribution and form ratio of Cd in the plant. These results will be beneficial for further studies on plant-microbe symbiosis in heavy-metal-contaminated soils.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*; *Solanum nigrum*; Cd; subcellular distribution; chemical forms

收稿日期:2018-01-22 录用日期:2018-03-29

作者简介:张海利(1994—),女,河南焦作人,硕士研究生,从事污染土壤植物修复研究。E-mail:6161402012@vip.jiangnan.edu.cn

\*通信作者:滕跃 E-mail:tengyue@jiangnan.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金项目(21307043);中国博士后科学基金项目(2016M590411)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(21307043); China Postdoctoral Science Foundation(2016M590411)

Cd污染主要来自于人类的农业和工业活动,如废水灌溉、金属矿石的开采和冶炼等<sup>[1]</sup>。由于Cd具有生物毒性强、分布范围广、不能被生物降解且迁移性强等特点,使其易被植物吸收并积累,从而通过食物链富集,危害人类健康<sup>[2]</sup>。因此,Cd污染及其修复技术得到全球越来越多的关注<sup>[3]</sup>。

植物修复是一种成本低、环保的污染土壤修复技术,主要应用超积累植物修复受污染土壤。现已发现大量植物物种可超量积累重金属<sup>[4-5]</sup>,但植物修复在实践过程中仍存在局限性,其修复效率受多种因素的影响,如植物生长缓慢、生物量小、对重金属的耐受性有限等<sup>[6]</sup>,而使用植物-微生物联合修复重金属污染土壤,是提高植物修复效率的有效方法<sup>[7-8]</sup>。

铜绿假单胞菌是一种具有金属抗性的菌种,Zhang等<sup>[9]</sup>从煤矿区的污染土壤中分离出两株铜绿假单胞菌株ZGKD5和ZGKD2,均对Cd、Cu、Zn、Ni和Pb表现出高耐受性。且大量研究表明,在植物修复盆栽实验中,铜绿假单胞菌可促进植物生长,提高Cd积累量。例如,Liang等<sup>[10]</sup>的研究中,接种从重金属污染的污泥中分离的铜绿假单胞菌显著增强紫萁的Cd积累;Xie等<sup>[11]</sup>研究表明,接种铜绿假单胞菌ATCC 9027可缓解Cd的毒性,促进苕麻生长,并提高Cd积累;Biswas等<sup>[12]</sup>研究表明,从废水中筛选出的铜绿假单胞菌KUJM具有多重重金属抗性潜力,并促进扁豆种子生长,具有用于污染土壤植物修复的潜能。关于铜绿假单胞菌的研究均处于对植物生长和积累总量的水平,而铜绿假单胞菌如何影响植物重金属积累和分布的其他方面仍不确定。

Cd超积累植物龙葵生长周期短、生物量大,且已被证明其耐受并吸收土壤中Cd<sup>[13]</sup>,具有良好的应用前景<sup>[14-16]</sup>。研究表明,植物的金属耐受性和解毒机制可通过亚细胞分布限制毒素或改变其化学结构实现<sup>[17-19]</sup>。然而,铜绿假单胞菌对龙葵中Cd积累和分布的影响尚无报道。本研究以龙葵和从Cd污染土壤筛选出的铜绿假单胞菌为研究材料,采用差速离心法和化学试剂逐步提取法,通过研究龙葵各部位中Cd的积累、亚细胞分布和化学形态,来分析铜绿假单胞菌对其的影响,探讨铜绿假单胞菌作用下龙葵对Cd的耐受机制,期望为龙葵在植物修复中的应用提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

盆栽实验用土取自江苏省江阴市农田土,风干后

过2 mm筛。土壤理化性质:pH 5.59,总氮 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,有机质 $27.35 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,速效磷 $18.81 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,速效钾 $75.46 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,Cd $2.64 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

供试菌株为课题组从Cd污染土壤中已筛选出的Cd耐受性细菌,利用BLAST软件将测得Cd耐受细菌基因序列与GenBank上相关的16S rDNA序列进行同源性比较,得出此菌与*Pseudomonas aeruginosa*铜绿假单胞菌同源性为99%。

### 1.2 实验设置与处理

盆栽实验土壤的Cd含量设4个水平分别为0、25、50、100  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,不同Cd浓度的土壤分为接种和不接种铜绿假单胞菌两种情况,共8个处理,每个处理3次重复。Cd以CdCl<sub>2</sub>溶液的形式加入已过筛的土壤中充分搅拌,稳定2周后进行高温灭菌(121  $^{\circ}\text{C}$ ,30 min)处理。将灭菌后的土壤装入塑料盆(直径18 cm,高11.5 cm)中,每盆均装土2 kg。挑选优良的龙葵种子于70%的乙醇中浸泡30 min,无菌蒸馏水清洗3次,再于2%的NaClO<sub>2</sub>溶液中浸泡10 min后用蒸馏水洗净,表面灭菌后种植盆中。接种组每周以细菌悬浮液的形式接种铜绿假单胞菌。将培养于LB固体培养基中的铜绿假单胞菌转移至盛有50 mL的LB液体培养基的锥形瓶中,于恒温振荡器(150  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,37  $^{\circ}\text{C}$ )中振荡48 h,富集后离心(6000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,4  $^{\circ}\text{C}$ )10 min收集细菌细胞,再用生理盐水洗涤两次获得OD<sub>600</sub>值近似为0.6的接种物(约 $10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ),每盆接种5 mL做接种处理<sup>[11,20]</sup>。所有实验均在自然光照的温室中进行,60 d后收获植物,自来水冲洗后,去离子水洗净,吸干表面水分。

### 1.3 植物亚细胞组分的分离

植物亚细胞组分的分离采用差速离心法,参考Weigel等<sup>[21]</sup>的方法,并略加改动。称取根、叶鲜样各0.2 g,加入20 mL预冷提取液[Tris-HCl(pH 7.5)50  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,蔗糖250  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,DTT 1  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ],研磨匀浆后3000 $\times g$ 下离心15 min,沉淀为细胞壁组分(F1);取上清液在12 000 $\times g$ 下离心30 min,沉淀为细胞器组分(F2);上清液即为细胞可溶组分(F3)。全部操作在4  $^{\circ}\text{C}$ 下进行。

### 1.4 植物Cd化学形态提取

植株Cd的化学形态分析采用化学试剂逐步提取法。准确称取根、叶鲜样0.2 g,加入20 mL提取液研磨匀浆后转入50 mL锥形瓶中,25  $^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡22 h后,在5000 $\times g$ 下离心10 min,倒出上清液,再加入20 mL提取液,25  $^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡2 h,在5000 $\times g$ 下离心10

min, 倒出上清液, 合并两次上清液得该提取态组分样品。沉淀加入下一种提取液进行下一轮的提取。5种提取液依次为: (1) 80% 乙醇(F I), 提取硝酸盐/亚硝酸盐, 氯化物和氨基苯酚镉等无机 Cd; (2) 去离子水(F II), 提取水溶性 Cd, Cd-有机酸络合物和 Cd(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>; (3) 1 mol·L<sup>-1</sup> NaCl 溶液(F III), 提取果胶和蛋白质结合的 Cd; (4) 2% 醋酸(F IV), 提取未溶解的镉磷酸盐, 包括 CdHPO<sub>4</sub> 和 Cd<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>; (5) 0.6 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸(F V), 提取草酸镉; 最后为残留态(F VI)<sup>[21]</sup>。

### 1.5 Cd 含量测定

将差速离心法和化学试剂逐步提取法分离得到的沉淀和上清液分别在电热板上 70 °C 加热至近干, 加入 10 mL HNO<sub>3</sub> 消煮至澄清, 去离子水定容后使用 ICP 测定<sup>[23]</sup>。所有数据均使用 SPSS 19 进行单因素方差分析, 使用 Duncan 新复极差法 (SSR) 在显著水平小于 0.05 时作多重比较分析, 使用 Origin 8 软件绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 龙葵对 Cd 的富集与特征

由表 1 可知, 在未接种处理中, 植株各部 Cd 含量均随土壤中 Cd 浓度的增加而呈上升趋势。植株茎和叶中富集的 Cd 含量随土壤中 Cd 浓度的增加呈线性上升趋势, 两者的富集能力并无下降或趋于饱和的现象。而龙葵根部在中低 Cd 浓度处理 (0~50 mg·kg<sup>-1</sup>) 时上升较快, 在高 Cd 浓度处理 (100 mg·kg<sup>-1</sup>) 时趋于平缓。同时随着土壤中 Cd 浓度增加, 根-茎的转运系数逐渐增加, 而茎-叶的转运系数逐渐降低。

接种铜绿假单胞菌可以促进 Cd 更多地向叶转

移。随着土壤中 Cd 浓度的增加, 接种处理的龙葵叶中 Cd 含量为未接种的 1.14~1.60 倍。除土壤 Cd 浓度为 50 mg·kg<sup>-1</sup> 外, 根的 Cd 含量较未接种处理降低 8.23%~23.82%。在低 Cd 浓度 (0~25 mg·kg<sup>-1</sup>) 中, 接种处理增加茎中 Cd 含量, 而中高 Cd 浓度 (50~100 mg·kg<sup>-1</sup>) 中, 接种处理减少茎中的 Cd 含量。同时随土壤 Cd 浓度增加, 接种处理的根-茎转运系数为未接种处理的 1.13~1.22 倍, 茎-叶转运系数为未接种的 1.02~1.68 倍。即接种铜绿假单胞菌可以促进植株内 Cd 向叶的转移, 使得龙葵叶中对 Cd 的富集能力加强。

### 2.2 龙葵中 Cd 的亚细胞分布

由表 2 可知, 各亚细胞组分的 Cd 含量随着土壤中重金属浓度的增加而增加, 且大多数 Cd 存在于细胞壁和可溶性组分中。龙葵根部各亚细胞组分 Cd 的分配比例为 F1>F3>F2, 即根中 Cd 主要分布于 F1 (细胞壁) 中, 且在高浓度 (100 mg·kg<sup>-1</sup>) 下, 接种处理的根部 F1 组分中 Cd 的分配比例为未接种的 1.42 倍。同时随着土壤中 Cd 浓度的增加, 接种处理的根部 F2 组分 (细胞器组分) 中 Cd 的分配比例较未接种减少 4.37%~27.85%。叶的亚细胞组分中 Cd 的分配比例为 F3>F1>F2, 即叶中 Cd 主要分布于 F3 (可溶组分) 中, 且接种处理可显著增加可溶组分中 Cd 的含量。同时与根部类似, 接种处理中叶的 F2 组分 (细胞器组分) Cd 的分配比例较未接种减少 12.90%~45.74%。

### 2.3 龙葵中 Cd 的化学形态分布

由图 1 可知, 龙葵根部 Cd 的化学形态分布受到土壤中 Cd 浓度的影响, 且以醋酸、盐酸提取态和残留态 Cd 为主导。而醋酸、盐酸提取态和残留态 Cd 对植

表 1 龙葵根、茎、叶中的 Cd 含量

Table 1 The content of Cd in roots, stems and leaves of *Solanum nigrum*

Cd 处理/mg·kg <sup>-1</sup>		Cd 含量/mg·kg <sup>-1</sup>			转运系数	
		根	茎	叶	根-茎	茎-叶
0	-	12.15±0.69e	8.96±0.11f	13.29±0.88f	0.742±0.07d	1.486±0.20b
	+	11.15±0.33e	10.06±0.15f	15.17±0.51f	0.864±0.06c	1.508±0.09b
25	-	48.83±0.52d	28.25±0.59e	35.88±4.49e	0.579±0.02e	1.267±0.25bc
	+	45.17±2.53d	31.02±0.89e	57.42±2.00d	0.692±0.09d	1.851±0.07a
50	-	70.92±3.93c	55.51±1.07c	61.29±1.59cd	0.788±0.08cd	1.104±0.06c
	+	110.35±4.55a	52.31±0.58d	69.92±5.22c	0.475±0.03e	1.339±0.19bc
100	-	90.94±1.68b	94.58±1.96a	101.88±2.16b	1.040±0.01b	1.078±0.05c
	+	69.28±1.75c	81.81±6.16b	148.33±3.08a	1.184±0.09a	1.815±0.11a

注: -: 未接种; +: 接种; 表中 Cd 含量为植株鲜重含量; 表中数据为平均值±标准差 (n=3); 同一列的不同小写字母表示差异显著 (P<0.05)。下同。

Note: -: Non-inoculated; +: inoculated; The content of Cd in the table is based on fresh weight of plant; The data in the table are mean ± standard deviation (n=3); Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level. The same below.

表2 Cd在龙葵根、叶中的亚细胞分布

Table 2 Subcellular distribution of Cd in roots and leaves of *Solanum nigrum*

部位	Cd处理/mg·kg <sup>-1</sup>		Cd含量/mg·kg <sup>-1</sup>			分配比/%		
			F1	F2	F3	F1	F2	F3
根	0	-	4.44±0.20d	3.46±0.70f	4.25±0.72e	36.54	28.47	34.99
		+	4.65±0.25d	2.40±0.20f	4.63±0.44e	39.82	20.54	39.64
	25	-	22.15±0.34c	6.15±0.15e	20.54±0.67c	45.35	12.59	42.06
		+	17.04±1.82c	5.44±0.13e	22.69±1.86bc	37.73	12.04	50.23
	50	-	41.35±6.44b	8.23±0.11d	21.33±5.71c	58.31	11.60	30.08
		+	60.25±8.73a	10.38±0.13c	39.73±0.52a	54.60	9.40	36.00
100	-	37.50±0.63b	25.00±0.60a	28.44±0.72b	41.24	27.49	31.27	
	+	40.63±0.64b	17.19±0.76b	11.46±0.35d	58.65	24.81	16.54	
叶	0	-	4.06±0.56e	4.54±0.55cd	4.69±0.43f	30.56	34.17	35.27
		+	5.33±0.94e	2.81±0.16d	7.02±0.43f	35.16	18.54	46.29
	25	-	12.81±1.23d	4.81±0.85cd	18.25±2.44e	35.71	13.41	50.87
		+	24.08±3.21bc	6.71±0.43c	26.63±0.80d	41.94	11.68	46.37
	50	-	25.46±2.61b	6.54±0.62c	29.29±2.88d	41.54	10.67	47.79
		+	22.21±1.81bc	5.69±0.34c	42.02±4.87c	31.76	8.13	60.10
100	-	18.75±0.65c	8.75±0.92b	74.38±0.59b	18.40	8.59	73.01	
	+	36.67±1.32a	18.33±1.01a	93.33±0.78a	24.72	12.36	62.92	

注:F1:细胞壁组分,F2:细胞器组分,F3:可溶组分。

Note: F1: Cell wall fraction; F2: Organelle fraction; F3: Soluble fraction.

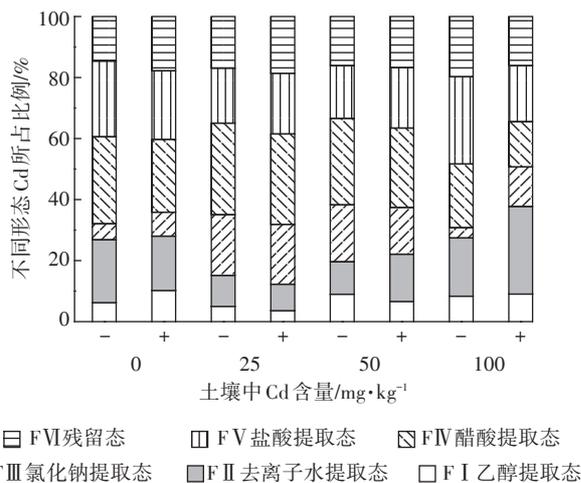


图1 龙葵根系中各提取态Cd含量分配比例

Figure 1 The percentage of each extractable forms of Cd in roots of *Solanum nigrum*

物没有或基本没有毒害作用,是不活跃的化学形态。由图2可以看出,土壤中Cd浓度为中低浓度(0~50 mg·kg<sup>-1</sup>)时,接种处理增加各提取态Cd的含量;土壤Cd为高浓度(100 mg·kg<sup>-1</sup>)时,接种处理使根中各化学形态Cd含量急剧降低,并低于未接种处理(FⅢ除外)。

由图3、图4可知,随着土壤中Cd浓度的增加,叶中各化学形态Cd含量呈增加趋势,且以活跃态(乙醇、去离子水和氯化钠提取态)Cd为主导。通过接种处理,非活跃态(醋酸、盐酸提取态和残留态)Cd在叶中分配比例较未接种呈增加趋势。且叶中较活跃的氯化钠提取态Cd分配比例较未接种减少20.17%~26.19%,活性较低的醋酸提取态Cd分配比例较未接种基本呈增加趋势。即接种处理可促进叶中Cd由活跃态向非活跃态的转移。

### 3 讨论

植物吸收何种化学形式的金属以及植物如何将其分布到各组分中是影响重金属污染土壤植物修复效果的重要因素之一。因此我们通过盆栽实验,研究铜绿假单胞菌对超积累植物龙葵中Cd的亚细胞分布和化学形态的影响。

研究表明,在Cd胁迫下,接种处理增加龙葵叶中的Cd含量,且龙葵根-茎、茎-叶的转运系数为未接种的1.02~1.68倍和1.13~1.22倍,促进植株中Cd由根部向地上部分的转移。转运系数是评估超积累植物从土壤中摄取金属和将其从根部向地上转移能力的重要参数。可以看出,接种铜绿假单胞菌促进了龙葵

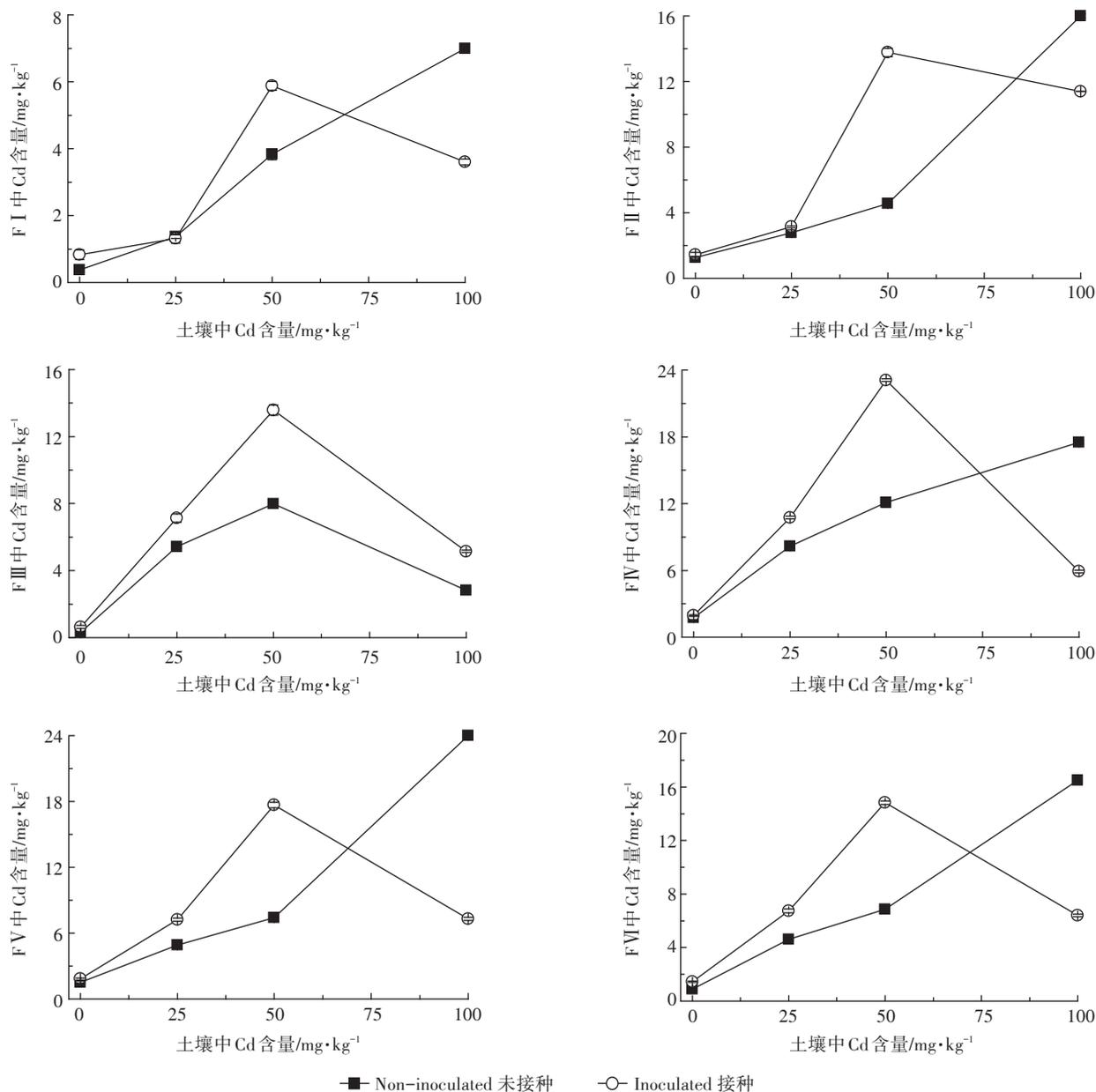


图2 龙葵根部各提取态Cd含量

Figure 2 The content of each extractable forms of Cd in roots of *Solanum nigrum*

Cd的转移过程,有助于减少根中Cd的积累量,从而减少重金属对根部的抑制作用,促使土壤中更多Cd被龙葵摄取,这与Shi等<sup>[24]</sup>的报道一致。

龙葵对Cd的耐受性受其在植株中分布情况的影响。研究表明,Cd胁迫下,龙葵各部的Cd主要分布在细胞壁和可溶组分中。本研究中龙葵根部各亚细胞组分Cd含量的分配比例为F1>F3>F2,其中F1(细胞壁)组分的Cd比例最高为58.31%,同时在高Cd浓度(100 mg·kg<sup>-1</sup>)下,接种处理中根部细胞壁组分的Cd比例较未接种提高42.22%。因此,高Cd胁迫下,

细胞壁的保护作用显著。细胞壁是保护原生质体免受重金属毒性的第一道屏障,主要由纤维素、半纤维素、果胶和蛋白质组成,表面倾向于带负电<sup>[25]</sup>,是重金属螯合的有效点位。而将Cd隔离于细胞壁中是植物耐受Cd的机制之一<sup>[26]</sup>。据报道,微生物的接种可以影响植物中Cd的亚细胞分布,如Wang等<sup>[27]</sup>的研究表明,与未处理的植物相比,接种 *Arbuscular Mycorrhizal* 增加了根细胞壁中37.2%~80.5%的Cd,且细胞器中的Cd水平降低,与我们的研究结果相似。接种处理促进龙葵根中吸收的Cd更多地滞留在细胞壁上,进

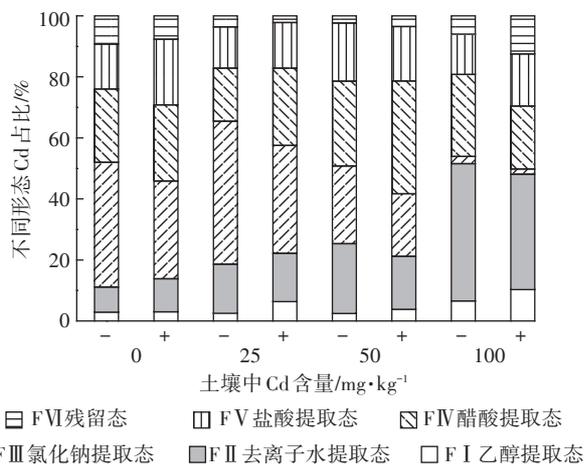
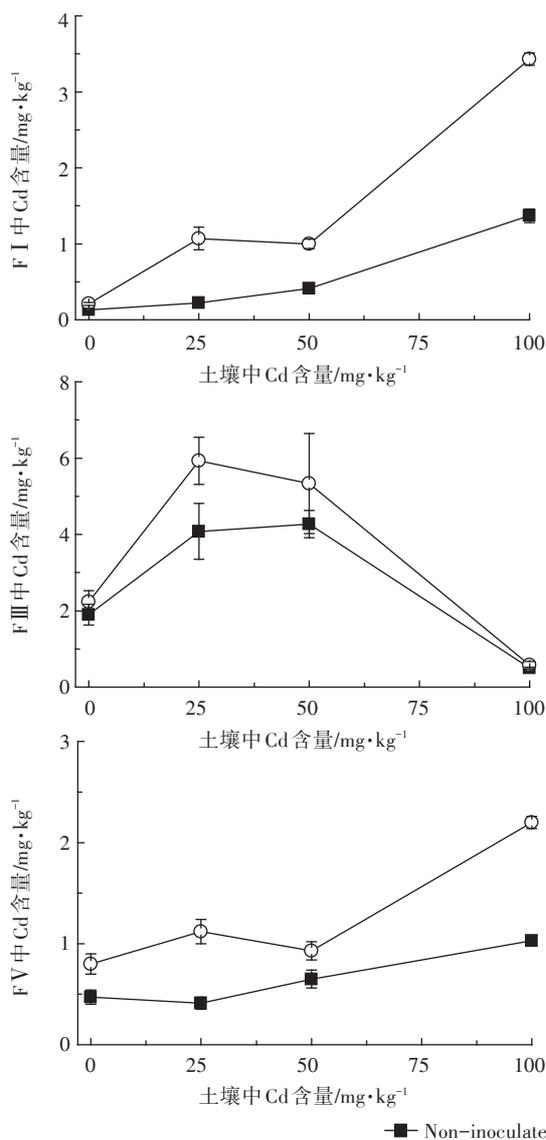


图3 龙葵叶片中各提取态Cd含量分配比例

Figure 3 The percentage of each extractable forms of Cd in leaves of *Solanum nigrum*



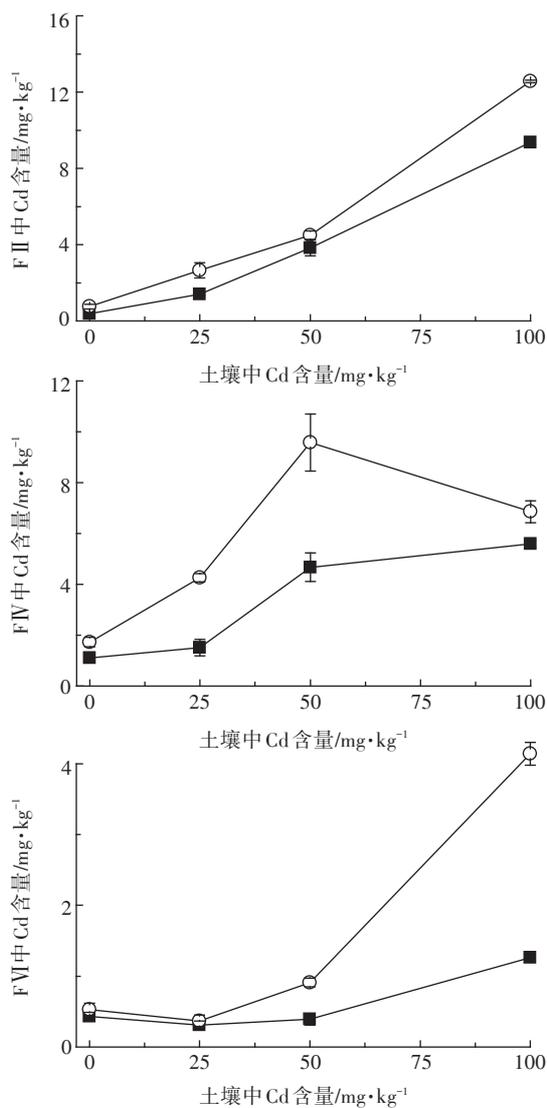
■ Non-inoculated 未接种    ○ Inoculated 接种

图4 龙葵叶片中各提取态Cd含量

Figure 4 The content of each extractable forms of Cd in leaves of *Solanum nigrum*

入原生质体的Cd又大多被主要由液泡组成的可溶性组分区隔化,从而细胞器组分的Cd比例较未接种降低,最高达27.85%。这减少了Cd对细胞的毒害作用,提高了龙葵对Cd的耐性。因此推测Cd胁迫下,接种铜绿假单胞菌可强化龙葵根中细胞壁的滞留作用,将Cd更多地存储在植株生物活性较低的场所,从而达到对植株的保护。

不同化学形态的Cd具有不同的毒性程度和迁移能力,以乙醇、去离子水和氯化钠提取的Cd具有较高的迁移能力并且对植物细胞的毒性高于醋酸、盐酸提取态和残留态的Cd<sup>[27]</sup>。本研究中,龙葵根部Cd化学形态分布以低活性态(醋酸、盐酸提取态和残留态)为主导,且土壤中Cd处于高浓度(100 mg·kg<sup>-1</sup>)时,接种铜绿假单胞菌使根中各化学形态Cd含量急剧降低,



而叶中Cd含量显著增高。由此可进一步验证接种可促进Cd由根向叶的转移,提高龙葵对Cd的耐受性。

叶中各亚细胞组分Cd的分配比例为F3>F1>F2,其中F3组分(可溶组分)的Cd比例最高为73.01%。接种铜绿假单胞菌可增强叶中可溶组分的Cd含量,可溶组分主要由液泡组成,液泡已被认为是重金属积累的主要场所<sup>[26]</sup>,这种植物将吸收的Cd隔离于液泡中的过程称为液泡区室化。因此可以认为液泡区室化在龙葵叶对Cd的解毒机制中占有重要地位,且接种处理可促进龙葵叶的液泡区室化作用。Wang等<sup>[27]</sup>的研究中,接种AM真菌处理的紫花苜蓿在叶的可溶组分中积累更多的Cd,同我们的研究结果类似。同时,接种处理通过将Cd转化为低活性形态,提高龙葵叶对Cd的耐受性,与Li等<sup>[28]</sup>的研究结果相似。在Cd胁迫下,接种处理增加植株叶中低活性形态(醋酸、盐酸提取态和残留态)Cd的比例,并且降低活性较高的氯化钠提取态的Cd比例。这说明Cd胁迫下,接种铜绿假单胞菌可以促使进入龙葵叶的Cd由结合态更多地向活性更低且难溶于水的磷酸盐、草酸镉和残渣态转化,降低叶中Cd的毒性和迁移能力,从而减轻Cd对植物的毒害。

#### 4 结论

接种铜绿假单胞菌提高了龙葵地上部分的Cd含量,促进了Cd由根部向地上部分的转移,增加了根中细胞壁组分和叶中可溶组分的Cd含量,同时降低根和叶中细胞器组分的Cd比例。此外,接种铜绿假单胞菌增加了叶中低活性形态Cd的比例。综上所述,本研究表明,接种铜绿假单胞菌可通过改变Cd在植株中的分布和形态比例,促进根的细胞壁滞留作用和叶的液泡区室化作用,促进叶中Cd向活性更低的形态转变,从而加强龙葵对Cd的耐受性。

#### 参考文献:

- [1] McGrath S P, Zhao F J, Lombi E. Plant and rhizosphere processes involved in phytoremediation of metal-contaminated soils[J]. *Plant and Soil*, 2001, 232(1/2):207-214.
- [2] de la Rosa G, Peralta-Videa J R, Montes M, et al. Cadmium uptake and translocation in tumbleweed (*Salsola kali*), a potential Cd-hyperaccumulator desert plant species: ICP/OES and XAS studies[J]. *Chemosphere*, 2004, 55(9):1159-1168.
- [3] Gill S S, Tuteja N. Cadmium stress tolerance in crop plants[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2011, 6(2):215-222.
- [4] Hu P J, Gan Y Y, Tang Y T, et al. Cellular tolerance, accumulation and distribution of cadmium in leaves of hyperaccumulator *Picris divaricata* [J]. *Pedosphere*, 2012, 22(4):497-507.
- [5] Qiu R L, Thangacel P, Hu P J, et al. Interaction of cadmium and zinc on accumulation and subcellular distribution in leaves of hyperaccumulator *Potentilla griffithii*[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 186(2/3):1425-1430.
- [6] Jiang C Y, Sheng X F, Qian M, et al. Isolation and characterization of a heavy metal-resistant *Burkholderia* sp. from heavy metal-contaminated paddy field soil and its potential in promoting plant growth and heavy metal accumulation in metal-polluted soil[J]. *Chemosphere*, 2008, 72(2):157-164.
- [7] Newman L A, Reynolds C M. Bacteria and phytoremediation: New uses for endophytic bacteria in plants[J]. *Trends in Biotechnology*, 2005, 23(1):6-8.
- [8] Chen L, Luo S L, Xiao X, et al. Application of plant growth-promoting endophytes (PGPE) isolated from *Solanum nigrum* L. for phytoextraction of Cd-polluted soils[J]. *Applied Soil Ecology*, 2010, 46(3):383-389.
- [9] Zhang Y X, Song X Q, Huang L, et al. Isolation of a cadmium-resistant bacterium from coal mining and heavy metal tolerance[J]. *Journal of China Coal Society*, 2010, 35(10):1735-1741.
- [10] Liang X, He C Q, Ni G, et al. Growth and Cd accumulation of *Orychophragmus violaceus* as affected by inoculation of Cd-tolerant bacterial strains[J]. *Pedosphere*, 2014, 24(3):322-329.
- [11] Xie J L, Liu Y G, Zeng G, et al. The effects of *P. aeruginosa* ATCC 9027 and NTA on phytoextraction of Cd by ramie (*Boehmeria nivea* (L.) Gaud)[J]. *Rsc Advances*, 2015, 5(83):67509-67517.
- [12] Biswas J K, Mondal M, Rinklebe J, et al. Multi-metal resistance and plant growth promotion potential of a wastewater bacterium *Pseudomonas aeruginosa* and its synergistic benefits[J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 2017, 39(6):1583-1593.
- [13] Wei S H, Zhou Q X, Wang X, et al. A newly-discovered Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L.[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2005, 50(1):33-38.
- [14] Xu J, Zhu Y Y, Ge Q, et al. Comparative physiological responses of *Solanum nigrum* and *Solanum torvum* to cadmium stress[J]. *New Phytologist*, 2012, 196(1):125-138.
- [15] Wei S, Wang S S, Li Y, et al. Root system responses of hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. to Cd[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2013, 13(6):1069-1074.
- [16] Khan A R, Ullah I, Waqas M, et al. Host plant growth promotion and cadmium detoxification in *Solanum nigrum*, mediated by endophytic fungus[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, 136:180-188.
- [17] Vogel-Mikus K, Simcic J, Pelicon P, et al. Comparison of essential and non-essential element distribution in leaves of the Cd/Zn hyperaccumulator *Thlaspi praecox* as revealed by micro-PIXE[J]. *Plant Cell and Environment*, 2008, 31(10):1484-1496.
- [18] Ager F J, Ynsa M D, Dominguez-Solis J R, et al. Cadmium localization and quantification in the plant *Arabidopsis thaliana* using micro-PIXE[J]. *Materials and Atoms*, 2002, 189:494-498.
- [19] Vollenweider P, Cosio C, Guenthardt-Goerg M S, et al. Localization

- and effects of cadmium in leaves of a cadmium-tolerant willow (*Salix viminalis* L.) Part II Microlocalization and cellular effects of cadmium [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2006, 58(1/2/3):25-40.
- [20] Wan Y, Luo S L, Chen J L, et al. Effect of endophyte-infection on growth parameters and Cd-induced phytotoxicity of Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L.[J]. *Chemosphere*, 2012, 89(6):743-750.
- [21] Weigel H J, Jager H J. Subcellular-distribution and chemical form of cadmium in bean-plants[J]. *Plant Physiology*, 1980, 65(3):480-482.
- [22] Fu X P, Dou C M, Chen Y X, et al. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Phytolacca americana* L.[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 186(1):103-107.
- [23] Wang G L. Evaluation of the pollution and health risk caused by Cd, Pb and Cr in rice samples from open markets[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2012, 31(3):295-302.
- [24] Shi P L, Zhu K X, Zhang Y X, et al. Growth and cadmium accumulation of *Solanum nigrum* L. seedling were enhanced by heavy metal-tolerant strains of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Water Air and Soil Pollution*, 2016, 227(12):459.
- [25] Genre A, Ortu G, Bertoldo C, et al. Biotic and abiotic stimulation of root epidermal cells reveals common and specific responses to Arbuscular Mycorrhizal Fungi[J]. *Plant Physiology*, 2009, 149(3):1424-1434.
- [26] Zeng F R, Zhou W H, Qiu B, et al. Subcellular distribution and chemical forms of chromium in rice plants suffering from different levels of chromium toxicity[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2011, 174(2):249-256.
- [27] Wang Y P, Huang J, Gao Y Z. Arbuscular mycorrhizal colonization alters subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Medicago sativa* L. and resists cadmium toxicity[J]. *PloS One*, 2012, 7(11):e48669.
- [28] Li H, Luo N, Zhang L J, et al. Do arbuscular mycorrhizal fungi affect cadmium uptake kinetics, subcellular distribution and chemical forms in rice?[J]. *Science of the Total Environment*, 2016, 571:1183-1190.