

文章编号:1001—7380(2020)05—0032—05

灌木柳树无性系铅积累特性及其 与生物量的关系研究

黄瑞芳^{1,2},王红玲^{1,2},施士争^{1,2*}

(1. 江苏省林业科学研究院,江苏 南京 211153;2. 江苏省农业种质资源保护与利用平台,江苏 南京 210014)

摘要:研究以20个高生物量灌木柳树无性系为试验材料,采用水培法进行铅胁迫处理(300 μM),进行生长表现观察、生物量及铅含量的测定,结果显示:灌木柳树在受到铅胁迫时,其生长受到不同程度的抑制,其中根部的生长较地上部分被抑制的程度更严重,铅主要积累在根部,达到95.86%—98.21%;在铅胁迫下,灌木柳树生物量与铅含量呈显著负相关,根系生物量与铅总量呈极显著正相关。无性系2513耐性最好,体内铅含量最高,但根系生物量较低,后期可利用微生物、生根剂等手段促进其根系生长与对铅的吸收积累;无性系2542耐性较好,根系生物量较高,固定的铅总量最多,可应用于生物修复。

关键词:灌木柳树;铅;胁迫;积累;生物量

中图分类号:Q946.91⁺9;Q948.116;S792.12

文献标志码:A

doi:10.3969/j.issn.1001-7380.2020.05.007

Lead accumulation and its relationship with biomass of shrub willow clones

Huang Ruifang^{1,2}, Wang Hongling^{1,2}, Shi Shizheng^{1,2*}

(1. Jiangsu Academy of forestry, Nanjing 211153, China;

2. The Jiangsu Provincial Infrastructure for Conservation and Utilization of Agricultural Germplasm, Nanjing 210014, China)

Abstract: In this study, 20 willow clones with high biomass were treated with lead stress (300 μM) by hydroponics. Morphological observation, biomass and lead content were measured. The results were as follows: the growth of shrub willow was inhibited, and the root growth was more inhibited than the aboveground part. Lead was mainly accumulated in roots, and the distribution rate reached 95.86%—98.21%. Under lead stress, shrub willow biomass was negatively correlated with lead content, and root biomass was significantly positively correlated with total lead. Clone 2513 had the best tolerance and the highest lead content, but its root biomass was low. Microorganisms and rooting agents could be used to promote root growth and lead absorption and accumulation. Clone 2542 had better tolerance, higher root biomass and the largest amount of fixed lead, which could be used for bioremediation.

Key words: Shrub willow; Lead; Stress; Accumulation; Biomass

铅污染是我国普遍存在的土壤重金属污染类型之一,生物修复是近年来研究较多的清除土壤污染物的原位修复技术。铅污染物不能被生物代谢所分解,初期大多停留在表层土壤^[1-2]。灌木类柳树,适应性强,速生,生物量大,可扦插造林,造林成本极低,且灌木类柳树为水平根系,根系发达,主要

分布在0—40 cm土层,恰恰位于铅主要分布层^[3-5],非常适合修复初期铅污染土壤;柳条还可用作工业原料、编织工艺、生物能源和园林观赏等,具有较高的经济价值,且不直接与食物链相联系,与草本相比,优势明显,是植物修复的理想材料^[6-9]。

目前关于柳树修复重金属污染的研究越来越

收稿日期:2020-08-09;修回日期:2020-08-29

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金项目“灌木柳树修复铅污染土壤的专用品种选育”(CX(19)3044);江苏省林业科技创新与推广项目“抗逆速生灌木柳新品种区域性试验与示范”(LYKJ[2019]43)

作者简介:黄瑞芳(1987—),女,安徽合肥人,助理研究员,硕士。主要研究方向为植物修复技术。E-mail:aion126@126.com。

***通信作者:**施士争(1968—),男,江苏宿迁人,研究员,学士。主要从事林木遗传育种方面的研究。E-mail:shshzn@163.com。

多。欧美等国已开展提高灌木柳生物量的育种和栽培研究以及应用速生的柳树修复 Cd、Pb 等重金属污染,具有显著的生态效益和经济效益^[10],在利用柳树优良无性系培育能源林和环境保护林方面也有较大的发展^[11]。江苏省林业科学研究院分别于 2005、2011 年对乔木柳和灌木柳进行了镉胁迫水培试验,研究发现,虽然镉处理对其生长发育有抑制作用,但其枝条和叶中吸收积累的镉含量较高,各无性系间镉含量差异显著,可培育镉高富集量新品种^[12-14]。中国林业科学研究院和广西大学进行了复合重金属污染胁迫柳树的研究,结果表明早 10 (*Salix matsudana* ‘10’)、早 34 (*S. matsudana* ‘34’)、金丝垂柳(*S. alba* var *tristis*)、61-1 (*S. jiangsuensis* CL ‘61-1’) 对重金属有较强的耐性和一定积累能力,适合修复造林^[15-17]。

但是如何快速地筛选出铅积累能力强的优良无性系,能否从生物量性状进行直观筛选,生物量是否与铅积累特性存在相关性? 本研究以 20 个高生物量灌木柳树无性系为试验材料,以项目组前期确定的适宜铅污染浓度(300 μM)^[18],采用水培法进行铅胁迫处理,进行生长表现观察、生物量及铅含量的测定,旨在分析灌木柳树无性系对铅的积累特性,以及生物量是否与铅富集能力具有相关性。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验材料为笔者从江苏省林业科学研究院国家柳树良种基地柳树种质资源圃现有的灌木型柳树中挑选的 20 个高生物量型灌木柳树(见表 1),分别隶属于毛枝柳(*S. dasyclados*)、簸箕柳(*S. suchowensis*)、杞柳(*S. integra*)、二色柳(*S. alberti*)、黄花柳(*S. caprea*)、蒿柳(*S. viminalis*)、欧洲红皮柳(*S. sinopurpurea*)、粉枝柳(*S. rorida*)、绵毛柳(*S. erioclada*)等的杂交后代。

1.2 试验方法

试验采取水培法。所有无性系于 2020 年 3 月从江苏省林业科学研究院柳树种质资源圃采穗,均选取无病虫害的健壮枝条剪成长 15 cm、直径为 1 cm 的插穗,清水培养 14 d 后,挑选生长势一致的柳树苗,置于定植篮中,每篮 10 株。试验设置处理组和对照组,处理组使用改良 Hoagland’s 培养液培养 28 d 后,进行铅处理 14 d,对照组使用改良 Hoagland’s 培养液培养 42 d 后,收获植株。Pb²⁺ 以

Pb(NO₃)₂ 的形式加入,浓度为 300 μM。设置 3 次重复,试验过程中每 7 d 换 1 次培养液。为避免铅产生沉淀,铅胁迫开始后,培养液中不再加入 KH₂PO₄。

表 1 供试无性系

编号	系号	杂交组合	性别
1	H01	毛枝柳(北京)×簸箕柳(哈尔滨)	♀
2	H02	毛枝柳(长白山)×簸箕柳(哈尔滨)	♀
3	H03	杞柳(日爱知县)×簸箕柳(哈尔滨)	♀
4	H04	杞柳(山东莒南)×簸箕柳(哈尔滨)	♀
5	H05	杞柳(山东莒南)×簸箕柳(哈尔滨)	♀
6	2610	二色柳(山东)×黄花柳(英国)	♀
7	31-17	簸箕柳(山东)×(杞柳(日爱知县)×簸箕柳(哈尔滨))	♀
8	50-6	簸箕柳(江苏如皋)×银柳(日本)	♀
9	58-2	(簸箕柳(江苏如皋)×杞柳(山东))×银柳(上海)	♀
10	62-1	(吐兰柳(新疆察布查尔)×银柳(南京))×银柳(日本)	♀
11	2349	杞柳(日爱知县)×蒿柳(英国)	♀
12	2350	杞柳(日爱知县)×蒿柳(英国)	♀
13	2352	簸箕柳(江苏如皋)×蒿柳(英国)	♀
14	2513	欧洲红皮柳(英国)	♀
15	2542	二色柳(山东)×粉枝柳(英国)	♀
16	2572	(簸箕柳(江苏如皋)×蒿柳(英国))×黄花柳(英国)	♀
17	2575	二色柳(山东)×(簸箕柳(江苏如皋)×蒿柳(英国))	♀
18	2644	二色柳(山东)×绵毛柳(纽约)	♂
19	2681	(簸箕柳(山东)×蒿柳(英国))×绵毛柳(纽约)	♀
20	2812	(二色柳(山东)×银柳(上海))×簸箕柳(哈尔滨)	♀

1.3 测定方法

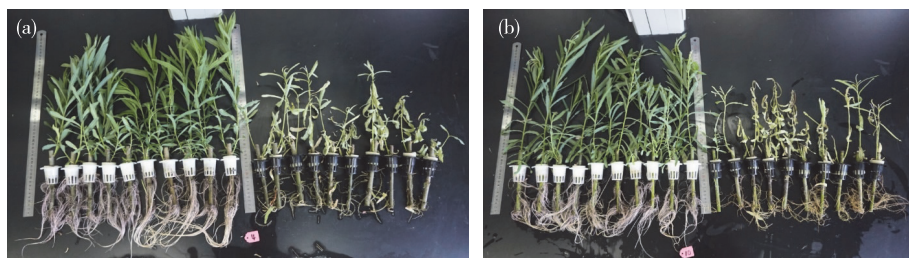
试验结束后,观察各灌木柳树在铅胁迫下的生长表现。将生长状况良好的系号分根、茎、叶采集,先用自来水冲洗,然后用去离子水反复冲洗干净并用吸水纸擦干,根部用 EDTA 洗去表面附着的铅,105 ℃杀青 30 min 后,烘干至恒重,分别称其生物量(即干物质质量,DW)。按照《食品安全国家标准 食品中铅的测定》(GB5009.12-2017)中的方法进行植物根、茎、叶铅含量的测定。铅总量为该株植物体内所吸收铅的总量。耐性指数(tolerance index, TI)是表征植物忍耐重金属胁迫生长能力的指标^[19],耐性指数的计算公式为 $TI = [DW(\text{胁迫}) / DW(\text{CK})] \times 100\%$ 。得到的数据利用 Excel 2010 和 IBM SPSS Statistics 19 分析。

2 结果与分析

2.1 铅胁迫下不同无性系的表型差异

植物的生长表现可以直观反映出植物在受到胁迫时的影响。铅胁迫处理后,部分系号 2 d 左右出现叶片萎蔫,4 d 左右出现少量落叶,茎发黄,7 d

左右落叶症状持续加重,有个别系号落叶达到 80%,14 d 时部分系号出现死亡(见图 1)。铅胁迫处理明显抑制了灌木柳树生物量的积累和根系的生长。这与之前报道的研究类似^[20];杨树在 Cd 胁迫后,65%的处理植物叶片出现坏死病斑,植株生长显著下降,表现出完全的生长抑制。



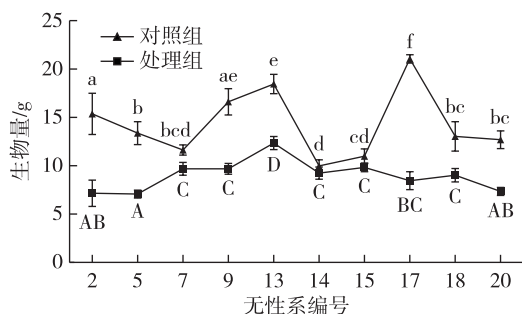
注:a为系号 H04、b为系号 62-1 的灌木柳树的受害情况;左为对照组,右为处理组。

图 1 部分受害严重的灌木柳树

本文将成活率低于 50% 或生物量明显降低至 50% 以下的系号排除。通过此方法,共有 10 个系号用来做后续试验分析。

2.2 铅胁迫下不同无性系生物量积累及其分配特性

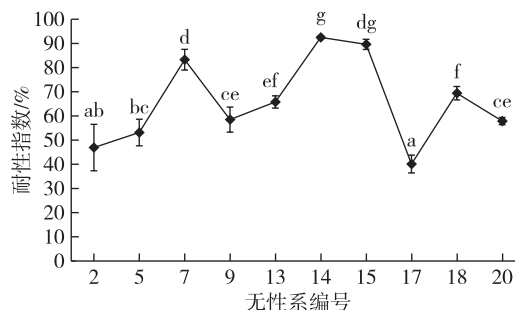
铅是植物的非必需元素,会对植物体造成包括生物量降低、抑制根系生长等一系列伤害,影响其正常的生长发育^[21]。植物在胁迫下的生物量反映了它的抗性和耐性,是衡量其是否适合进行生物修复的一个重要指标。10 个灌木柳树无性系的生物量见图 2。在铅胁迫下,生物量显著低于对照,对照组的生物量为 9.98—21.05 g,其中 17 号显著高于其他无性系,铅胁迫下的生物量为 7.07—12.14 g,其中 13 号显著高于其他无性系。各无性系的耐性指数(见图 3)从 40.15% (无性系 17) 到 92.52% (无性系 14),其中无性系 14、15 和 7 的耐性指数均高于 80%,分别为 92.52%,89.52% 和 83.28%,表现出较好的耐性。



注:不同小写字母代表不同无性系对照生物量的显著性差异 ($P < 0.05$),不同大写字母代表不同无性系处理组生物量的显著性差异 ($P < 0.05$)。

图 2 铅胁迫下灌木柳树的生物量

铅胁迫对不同柳树无性系生物量地上部分与地下部分比的影响不同(见图 4)。结果显示,在铅胁迫下,除了 2 号,各柳树无性系的地上/地下生物量的比值都较对照组显著或极显著增加,这与前人的报道相似^[22-23]。这说明在受到铅胁迫时,根部受到的伤害较地上部分更多,根系生物量下降明显高于地上部分。其中,根系生物量较地上部分下降程度最大的为 13 号,最低的为 2 号。

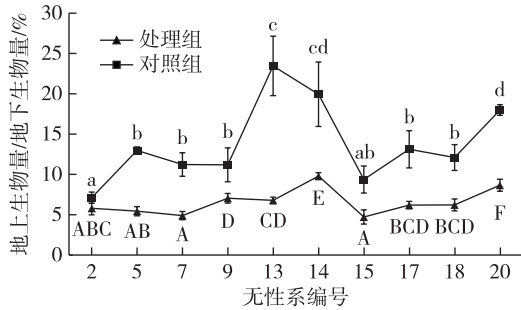


注:不同小写字母代表不同无性系耐性指数的显著性差异 ($P < 0.05$)。

图 3 灌木柳树无性系的耐性指数

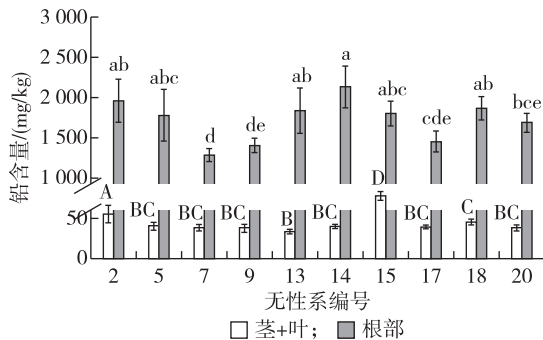
2.3 铅胁迫下不同无性系的铅含量差异

对铅胁迫下灌木柳树无性系进行铅含量的分析如图 5。结果显示: Pb^{2+} 在柳树体内绝大部分积累在根部,迁移到茎部和叶部的数量极少。根部的铅含量达到 1 284.9—2 133.5 mg/kg,其中最高的 14 号,最低的为 7 号。而茎和叶部只达到 33.5—77.8 mg/kg,其中 15 号显著高于其他无性系。 Pb^{2+} 在根部的分配率为 95.86%—98.21%。



注:不同小写字母代表不同无性系对照组地上生物量/地下生物量的显著性差异 ($P < 0.05$), 不同大写字母代表不同无性系处理组地上生物量/地下生物量的显著性差异 ($P < 0.05$)。

图4 铅胁迫下柳树地上生物量/地下生物量



注:不同小写字母代表不同无性系根部铅含量的显著性差异 ($P < 0.05$), 不同大写字母代表不同无性系茎和叶部铅含量的显著性差异 ($P < 0.05$)。

图5 铅胁迫下柳树不同部位(根、茎和叶)的铅含量

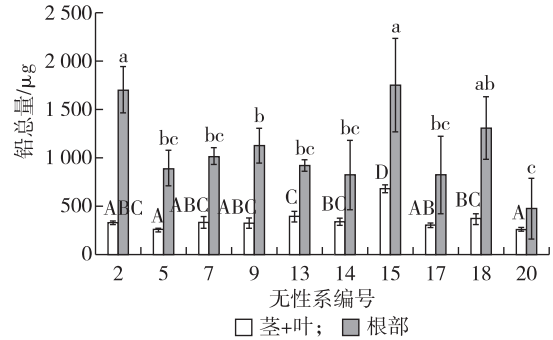
2.4 铅胁迫下不同无性系的铅总量差异

对铅胁迫下灌木柳树吸收的铅总量进行比较,结果如图6所示:灌木柳树富集的铅总量为746.63—2449.35 μg ,地上部分富集的铅总量为262.54(5)—688.40 μg ,占整株富集铅总量的16.51%—35.62%,根部富集的铅总量为480.68—1760.95 μg ,占整株富集铅总量的64.38%—83.49%。其中无性系15号富集的铅总量最多,达到2449.35 μg ,其地上部分和地下部分富集的铅总量均为最多,地上部分占28.11%,地下部分占71.89%。

2.5 铅积累与生物量的相关性

对无铅胁迫时的生物量、根生物量和铅含量、铅总量进行相关性分析,结果显示:生物量与铅含量 ($P = 0.426$)、铅总量 ($P = 0.606$) 均没有相关性,根生物量与铅含量 ($P = 0.521$)、铅总量 ($P = 0.593$) 也没有相关性。

对在铅胁迫下的生物量、根生物量与铅含量、



注:不同小写字母代表不同无性系根部铅总量的显著性差异 ($P < 0.05$), 不同大写字母代表不同无性系茎和叶部铅总量的显著性差异 ($P < 0.05$)。

图6 铅胁迫下柳树不同部位(根、茎和叶)的铅总量

铅总量进行相关性分析,结果显示:铅胁迫下的生物量与铅含量呈显著负相关 ($P = 0.021 < 0.05$)、与铅总量 ($P = 0.906$) 无相关性,铅胁迫下的根生物量与铅含量 ($P = 0.569$) 无相关性,与铅总量呈极显著正相关 ($P = 0 < 0.01$)。

3 结论与讨论

铅胁迫改变了植物的生存环境,使得植物改变了某些生长特征来适应环境,灌木柳树在受到铅胁迫时,其生长受到不同程度的抑制,其中根部的生长较地上部分被抑制的程度更高。植物的不同部位对重金属的富集能力也不同^[24],灌木柳树中铅主要积累在根部, Pb^{2+} 在根部的分配率达到95.86%—98.21%,茎和叶部的铅含量较少。铅在植物体内的分布及其存在形态,都影响着铅在植物体内的运输,并进而影响植物的耐性和积累能力。铅在植物体内多以络合形态或者沉淀状态存在根系中,故在植物体内较难进行长距离运输^[19]。

灌木柳树无铅胁迫时的生物量与铅富集能力无相关性,在选择优良无性系时,不能以常规栽培条件下灌木柳树的生物量作为直观选择依据;在铅胁迫下,生物量与铅含量呈显著负相关,根系生物量与铅总量呈极显著正相关,在后期的生物修复工作中要注重提高根系生物量,可利用微生物、生根剂、水肥管理等手段促进根系生长,从而提高植物富集的铅总量,提高植物修复效率。

根据灌木柳树的生物量及其体内的铅含量,发现系号2513的耐性最好,耐性指数达到92.52%,且体内铅含量最高,为2172.733 mg/kg ,但由于根系生物量较低,导致固定的铅总量不多;系号2513的

耐性好,且体内铅含量高,后期可促进根系生长,提高其对铅的吸收积累能力。系号 2542 耐性较好,耐性指数为 89.52%,根系生物量较高,富集的铅总量最多,可应用于生物修复,于每年年底落叶前收割地上部分,从而减少枯枝落叶中的污染物回田,于第 3 年利用小型农机翻耕土地收获灌木柳树根部,收获的植物及其根部可通过燃烧成灰烬,再从灰烬中提取出铅,从而修复重金属污染土壤,相应缩短修复年限。

值得一提的是,目前人们发现土壤电动修复是一种高效的原位修复技术。在重金属污染土壤植物修复领域,未来研究重点可以放在超富集植物与生物联合修复的机理方面^[25]。

参考文献:

- [1] 谢腾蛟. 铅酸蓄电池生产场地污染物-铅的分布特征及其修复对策[D]. 四川: 西南科技大学, 2018.
- [2] 韩双强. 贵州省典型污染区铅的空间分布和源识别[D]. 北京: 中国地质大学, 2019.
- [3] 王保松, 施士争, 卢克成, 等. 中国柳树种质资源[M]. 北京: 中国林业出版社, 2018.
- [4] 黄瑞芳, 王红玲, 施士争. 7 个灌木柳无性系铅富集能力比较[J]. 江苏林业科技, 2020, 47(1): 11-16.
- [5] 谢探春, 王国兵, 尹 颖, 等. 柳树对镉-砷复合污染土壤的修复潜力与耐受性研究[J]. 南京大学学报(自然科学), 2019, 55(2): 282-290.
- [6] 赵凤亮, 杨卫东. 柳树(*Salix* spp.) 在污染环境修复中的应用[J]. 浙江农业学报, 2017, 29(2): 300-306.
- [7] 鲁绍伟, 高 琛, 杨新兵, 等. 北京市不同污染区主要绿化树种对土壤重金属的富集能力[J]. 东北林业大学学报, 2014, 42(5): 22-26.
- [8] 倪 幸, 李雅倩, 白 珊, 等. 活化剂联合柳树对重金属 Cd 污染土壤的修复效果研究[J]. 水土保持学报, 2019, 33(3): 365-371.
- [9] LIU W T, NI J C, ZHOU Q X, et al. Uptake of heavy metals by trees: Prospects for phytoremediation [J]. Materials Science Forum, 2012, 743-744: 768-781.
- [10] DICKSON N M and PULFORD I D. Cadmium phytoextraction using short-rotation coppice *Salix*: the evidence trail[J]. Environment International, 2005, 31(4): 609-613.
- [11] PUNSHON T, DICKSON N. Heavy metal resistance and accumulation characteristics in willows[J]. International Journal of Phytoremediation, 1999, 1(4): 361-385.
- [12] 汪有良, 王宝松, 韩杰峰, 等. 水培柳树插条对重金属镉的反应研究[J]. 江苏林业科技, 2005, 32(6): 1-7.
- [13] 汪有良, 王宝松, 施士争. 灌木型柳树镉吸收积累性状的研究[J]. 西北林学院学报, 2011, 26(2): 105-110.
- [14] 汪有良, 王保松, 施士争. 乔木型柳树杂种无性系对镉的吸收和积累特性[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2011, 35(2): 135-138.
- [15] SHI X, SUN H, CHEN Y, et al. Transcriptome sequencing and expression analysis of cadmium (Cd) transport and detoxification related genes in Cd-accumulating *Salix integra* [J]. Frontiers in Plant Science. 2016, 7(10): 1577-1589.
- [16] 张春燕, 王瑞刚, 范稚莲, 等. 杨树和柳树富集 Cd, Zn, Pb 的品种差异性[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(3): 530-538.
- [17] 施 翔, 陈益泰, 吴天林, 等. 7 个柳树无性系在 Cu/Zn 污染土壤中的生长及对 Cu/Zn 的吸收[J]. 中国环境科学, 2010, 30(12): 1683-1689.
- [18] 黄瑞芳, 王红玲, 施士争. 铅胁迫对灌木柳树生长的影响[J]. 湖南林业科技, 2015, 42(6): 45-50, 56.
- [19] LEI M, ZHANG Y, KHAN S, et al. Pollution, fractionation, and mobility of Pb, Cd, Cu, and Zn in garden and paddy soils from a Pb/Zn mining area[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2010, 168(1): 215-222.
- [20] KIEFFER P, DOMMES J, HOFFMANN L, et al. Quantitative changes in protein expression of cadmium-exposed poplar plants [J]. Proteomics, 2010, 8(12): 2514-2530.
- [21] HE S Y, YANG X, HE Z L, et al. Morphological and physiological responses of plants to cadmium toxicity: A review [J]. Pedosphere, 2017, 27(3): 421-438.
- [22] 康丽娜, 吴福忠, 何振华, 等. Pb 胁迫对欧美杂交杨(*Populus deltoides* × *Populus nigra*) 生物量分配格局及其 Pb 富集特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(3): 484-490.
- [23] 刘碧英, 潘远智, 赵杨迪, 等. Pb 胁迫对藜香薷(*Ageratum conyzoides*) 营养积累与分配的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(3): 435-442.
- [24] 兰海霞, 夏建国. 川西蒙山茶树中铅、镉元素的吸收积累特性[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(3): 1077-1083.
- [25] 魏树和, 徐 雷, 韩 冉, 等. 重金属污染土壤的电动-植物联合修复技术研究进展[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2019, 43(1): 154-160.