

DOI: 10.11766/trxb201604180090

基于东亚金发藓监测土壤镉污染的生物学机理*

董萌¹ 赵运林² 蒋道松¹ 周小梅¹ 李必才¹ 库文珍¹

(1 湖南城市学院化学与环境工程学院, 湖南益阳 413000)

(2 中南林业科技大学环境科学与工程学院, 长沙 410018)

摘要 采用对镉具有高敏感性特征的苔藓植物——东亚金发藓 (*Pogonatum inflexum*) 为材料, 以不同浓度梯度镉污染基质作为胁迫条件, 观测该植物在镉胁迫下的生长发育状况、镉富集能力、叶绿素含量、可溶性蛋白含量及MDA含量, 并分析比较了各项指标变化特征与土壤中全镉含量及有效镉含量的相关性。结果显示, 供试土壤中有效镉含量约占全镉含量的20%~40%, 东亚金发藓对镉的富集能力总体较弱, 其最大富集浓度值为 1.627 mg kg^{-1} , 最高富集系数为63.9%, 植株富集浓度与土壤有效镉含量之间的相关性高于全镉; 东亚金发藓对镉污染表现出显著反应特征, 植株孢子体和配子体受害症状明显, $1 \sim 2 \text{ mg kg}^{-1}$ 以上的镉胁迫(土壤有效镉含量大于 0.559 mg kg^{-1} 时)即可使叶部黄化、褐变, 5 mg kg^{-1} 的镉处理导致蒴柄弯折、植株枯亡; 东亚金发藓叶绿素含量、可溶性蛋白含量、丙二醛(MDA)含量等生理指标变化特征受镉胁迫影响明显, 且与有效镉含量呈显著相关性, 适合作为东亚金发藓监测土壤镉污染及镉生物有效性的指示指标。

关键词 东亚金发藓; 生物监测; 土壤镉污染; 镉生物有效性

中图分类号 X171.5 **文献标识码** A

镉(Cd)是一种对生物体具有强毒性的重金属元素, 在土壤中较稳定、易于积累和难以消除。当前, 土壤镉污染已成为困扰许多国家粮食安全和人类健康的世界性环境问题, 受到越来越广泛的关注^[1]。如何客观、准确地评价土壤镉污染及其生物有效性, 已成为实际操作中需要解决的关键问题。近年来, 苔藓植物监测法在大气镉污染监测中得到广泛应用^[2-4], 该类植物由于结构简单、细胞分化程度低, 植株体表面无角质层、蜡质层覆盖, 对环境污染物敏感性强, 镉等重金属离子或颗粒可直接通过表层薄壁细胞吸收或吸附进入, 导致植株迅速表现出受害症状, 因此适于进行环境污染监测。例如: 广泛分布于地中海区域的柏状灰

藓和侧生藓不仅能有效监测当地大气Cd、Cr、Hg等污染状况, 而且可通过植物体中氮同位素标记来识别定位氮排放源^[5]; 欧洲学者^[6-8]研究和比较了灰藓、泥炭藓、大绢藓、青藓对城市郊区大气中镉等重金属的吸附特征, 以此作为监测效果的重要依据, 并发现了大绢藓茎叶的不同老化程度对监测镉污染有较大影响; 利用装有泥炭藓的苔藓袋法在芬兰等国家目前已作为标准化监测手段。同样, 利用某种对土壤镉离子具有较低耐受性的植物, 通过其生长状况和生理反应来指示土壤镉污染及修复效果, 可具有较强的直观性和说服力; 充当这一检验标准的植物体, 个体大小应适宜, 组织进化程度尽可能简单, 易受到环境毒害并表现出症状。本研

* 湖南省自然科学基金项目(2016JJ4015, 2015JJ4012)和湖南省科技计划重点项目(2010SK2004)资助 Supported by the Natural Science Foundation of Hunan Province (Nos. 2016JJ4015, 2015JJ4012) and the Key Projects of Science and Technology Plan of Hunan Province (No. 2010SK2004)

作者简介: 董萌(1982—), 男, 山东济宁人, 博士, 副教授, 主要从事土壤重金属污染与修复研究。E-mail: dongmeng1001@163.com

收稿日期: 2016-04-18; 收到修改稿日期: 2016-07-18; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-11-08

究以前期筛选到的一种对镉具有强敏感性的孢子植物——东亚金发藓 (*Pogonatum inflexum*) 为材料, 将其植入不同浓度梯度镉污染的土壤中, 通过观测其生长反应特征、生理指标变化及其与土壤有效态镉含量的“剂量—效应”关系, 初步探索镉的生物有效性对植物生长的影响, 从而为进一步研究土壤镉污染的生物监测机理提供理论依据和技术参考。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

供试植物源材料——东亚金发藓植株及土壤

基质均采自南洞庭湖湿地的东南洲附近 (28°52' 34.14" N, 112° 23' 39.36" E), 采集方式为小块区域水平铲集法 (东亚金发藓基部丛集群生), 植株根部带土厚度约 2 cm; 源材料带回实验室后放置于水箱中的网状支架上, 根部浸没于水中并轻微摇动数小时, 尽量保障根部结构不受损伤, 去除根部泥土后移植于经过处理的浅盘土壤基质中。土壤基本理化性质见表 1。

1.2 试验方法

分别称取 2.0 kg 风干土壤基质, 平铺于直径 35 cm、高 6 cm 的聚乙烯浅盘内; 溶解一定量的 Cd (NO₃)₂ · 4H₂O (分析纯) 施入, 充分混匀, 使浅盘内土壤基质干重时的 Cd 添加浓度分别为

表 1 供试土壤基本理化性质

Table 1 Basic physic-chemical properties of the tested soil

土壤类型 Soil type	全氮 Total N (g kg ⁻¹)	全磷 Total P (g kg ⁻¹)	全钾 Total K (g kg ⁻¹)	阳离子交换量 Cation exchange capacity (cmol kg ⁻¹)	全镉 Total Cd (mg kg ⁻¹)	pH
壤土 Loamy soil	6.28 ± 1.04	4.43 ± 0.98	42.84 ± 6.76	33.48 ± 4.76	0.38 ± 0.07	7.37 ± 1.24

1.0 mg kg⁻¹、2.0 mg kg⁻¹、3.0 mg kg⁻¹、4.0 mg kg⁻¹、5.0 mg kg⁻¹, 以零添加的原土作为对照; 每个处理浓度设置 5 盘作为重复, 自然陈化平衡 14 d 后用于植株移植。东亚金发藓植株移栽至浅盘后, 放置于接近自然环境的网室培养架上, 视每天的光照、温度、湿度等环境条件, 定时喷洒 300 ~ 500 ml 自来水于每盘中。自移植后的第二天开始观察、记录东亚金发藓植株的形态学特征及外观生长反应, 包括植株整体长势、叶数量及发育状况、配子体与孢子体受害表征、黄化及致死情况等, 直至研究过程结束。

1.3 样品采集与分析

在试验第 7 天剪取东亚金发藓植株茎叶部, 用于镉浓度及叶绿素含量等参数的测定 (东亚金发藓叶片由单层细胞构成, 叶面轻薄且贴茎生长, 生物量小, 不易单独剪取; 茎细胞构造均一旦无真正维管束, 主要起支撑和光合作用): 准确称取经烘干、粉碎后的植物样品 0.1 g, 加入体积比为 4 : 1 的 HNO₃-HClO₄ 混合液 10 ml, WX-4000 型微波密闭消解系统进行消解 (190 °C、25 atm、

2 min), 岛津 AA-6300 型石墨炉原子吸收分光光度计测定样品中的 Cd 含量^[9]; 采用乙醇-丙酮混合液研磨、提取、过滤后, 分光光度计法测定鲜样品中的叶绿素含量^[10]; 按照“0.1 mmol L⁻¹ 的磷酸缓冲液 (pH 为 7.8, 含 1% 的聚乙烯吡咯烷酮) 研磨、8 000 r min⁻¹ 离心”的方式制得鲜样品粗提取液后, 采用考马斯亮蓝 G250 比色法测定可溶性蛋白含量, 硫代巴比妥酸比色法 (TBA 法) 测定丙二醛含量。可溶性蛋白与丙二醛的测定过程按照试剂盒说明书进行, 测定结果依据说明书中所列公式计算, 所用试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

在每一浓度梯度镉处理的土壤样品中, 用打孔混合法取少量基质用于全镉及有效镉含量的分析: 准确称取粉碎后土壤干样品 0.2 g, 加入体积比为 3 : 1 : 1 的 HCl-HNO₃-HF 混合液 10 ml, WX-4000 型微波密闭消解系统进行消解后 (220 °C、35 atm、5 min), 岛津 AA-6300 型石墨炉原子吸收分光光度计测定样品中的 Cd 含量; 参照改良后的 Tessier 提取法^[11] 及 BCR 提取法^[12], 样品中加入 20 ml 浓度为 0.1 mol L⁻¹ 的 CH₃COOH (有效镉

萃取剂),充分混匀后,室温振荡12 h, 10 000 r min⁻¹离心40 min,重复该过程2次,收集全部上清液进行蒸发后消解,岛津AA-6300型石墨炉原子吸收分光光度计测定样品Cd含量。

样品检测过程中,重金属含量分析所用的标准贮备液(C=1 000 mg L⁻¹)购买于国家环境保护部标准样品研究所,所用的标准参比物质型号为GBW07437(土壤)和GBW(E)090066(植物);原子吸收仪自带GFA-EX7i石墨炉电流发生器和ASC-6100自动进样器,测定次数为3,最大测定次数为5,测定结果相对标准偏差(RSD)设定为3%;所配制标准溶液浓度范围为:0.5、1、2、4、8 (ng ml⁻¹),标准曲线线性关系系数保证在99.7%以上;样品加标回收试验的回收率范围为98.1%~102.6%。

1.4 数据处理与统计分析

所测得原始数据用Excel 2010和SPSS 13.0软件进行统计分析,处理后数据以“平均值±标准差”的形式给出。

2 结果

2.1 东亚金发藓对土壤镉胁迫的外观生长反应

暴露在空气、水体等环境中的敏感性植物体,在生长过程中受到污染物质的毒害而表现出一系列外观反应症状,是利用苔藓植物进行环境污染监测的基础和依据^[13]。本研究观测结果显示,东亚金发藓在根部所处镉环境下表现出显著反应特征:对照处理(未施加镉污染)的植株体生长正常、色泽通绿,无明显症状表现(图1a);1.0~2.0 mg kg⁻¹镉处理的植株,其下方叶片最先出现黄化现象,该浓度处理下植株的孢子体尚无明显症状反应,随着镉处理浓度增加和时间延长,植株叶片受害程度愈加明显(图1b);3.0~4.0 mg kg⁻¹镉处理下,植株叶片受害程度进一步加溶,孢子体受害症状显著,孢蒴及蒴柄发生褐变、弯曲,较多的孢子体呈现枯萎萎蔫现象(图1c);4.0~5.0 mg kg⁻¹镉处理的大部分植株叶片呈现枯萎卷曲,孢子体垂落,整株呈枯亡状态(图1d)。但整个过程中植株高度变化不明显,叶片数量也未见增多,其原因一方面在于苔藓植物本身生长缓慢,本观测过程持续时间较短,因此未表现出株高及叶片数量的差异;另一方面本实验所用植株处于有性生殖期的孢子体世代,该时

期植株生长发育过程基本完成,故长势方面不易受环境胁迫影响。整体而言,东亚金发藓外观性状对镉胁迫表现出了明显的反应特征。国内外相关研究结果^[13-14]表明,利用苔藓或其他一些进化程度较低的植物(如附生植物铁兰)进行大气污染监测时,植物体外观形态学变化可作为重要监测依据,归因于此类植物的组织进化和器官分化程度低,受到外界污染毒害时能快速、直观地表现出症状。综合本研究材料的表现结果来看,东亚金发藓为较理想的土壤镉污染监测植物。

2.2 东亚金发藓植株Cd含量富集特征

东亚金发藓土壤基质中的全镉含量、有效镉含量以及植株Cd含量见表2。本研究所采用土壤基质自身含有一定量的镉,故所测得全镉含量略高于人工施加镉浓度值;梯度浓度镉处理条件下,所测得有效镉含量约占全镉含量的20%~40%,且随处理浓度增加,有效镉所占比例呈下降趋势;东亚金发藓植株Cd含量随处理梯度升高而增加,但整体值较低,为0.115~1.627 mg kg⁻¹,富集系数(即植株镉含量与土壤全镉含量之比)介于29.9%~63.9%,随镉处理浓度升高而下降。

分别对土壤基质全镉含量、有效镉含量与植株Cd含量进行了相关性分析(图2),结果显示,东亚金发藓植株Cd含量与基质全镉含量及有效镉含量均呈正相关,且与有效镉含量的相关性高于全镉(据复相关性系数R²大小判定)。由此可见,东亚金发藓对土壤中镉的富集效率与镉生物有效性密切相关,即植株Cd含量主要受土壤有效镉含量影响。

2.3 镉生物有效性对植株生理状况的影响

不同镉处理浓度下,东亚金发藓植株体内叶绿素、可溶性蛋白及丙二醛(MDA)三种生理活性物质的含量变化见图3。可以看出,不同程度的镉胁迫对植株上述生理指标均产生明显影响,尤其是2.0 mg kg⁻¹以上的镉浓度显著降低了植株叶绿素和可溶性蛋白的含量(最大下降幅度分别为87.2%和53.2%),并较大程度地增加了膜脂过氧化产物丙二醛的含量(最大增加幅度为61.7%)。5.0 mg kg⁻¹镉处理下的植株已呈枯亡状态,该浓度下叶绿素和可溶性蛋白含量呈现最低值;MDA含量最大值的出现通常预示着活体植株处于逆境胁迫最严重的状态^[15-16],本试验中当镉处理浓度为4.0 mg kg⁻¹时MDA含量达到最高值,此后因植株枯亡而有所下降。结合前述镉胁迫下植株的外观生长



图1 对照处理 (a) 与镉污染处理 (b-d) 下的植株生长状况

Fig. 1 Growth status of plants under control treatment (a) and under Cd stress (b-d)

表2 不同处理土壤基质Cd含量与植株Cd含量

Table 2 Cd contents in tested soil and plant samples relative to treatment

Cd处理浓度 Treatment in Cd content (mg kg ⁻¹)	土壤基质Soil matrix		植株Cd含量 Cd content in plants (mg kg ⁻¹)
	全镉 Total Cd (mg kg ⁻¹)	有效镉 Available Cd (mg kg ⁻¹)	
CK	0.383 ± 0.075aA	0.074 ± 0.013aA	0.115 ± 0.027aA
1	1.386 ± 0.265bB	0.559 ± 0.087bB	0.887 ± 0.136bB
2	2.392 ± 0.445cC	0.685 ± 0.092cC	1.041 ± 0.264cC
3	3.419 ± 0.626dD	0.838 ± 0.126dD	1.221 ± 0.295dD
4	4.405 ± 0.874eE	0.931 ± 0.143eE	1.535 ± 0.441eE
5	5.441 ± 0.968fF	1.037 ± 0.198fF	1.627 ± 0.657fF

注：同一列中小写字母不同代表各组数据间差异显著 ($p < 0.05$)，大写字母代表各组数据间差异极显著 ($p < 0.01$)；测试重复样本数 $n=9$ Note: Different lowercase and uppercase letters in the same column mean significant differences at 5% level and extremely significant difference at 1% level, respectively, between datasets; The number of samples is 9

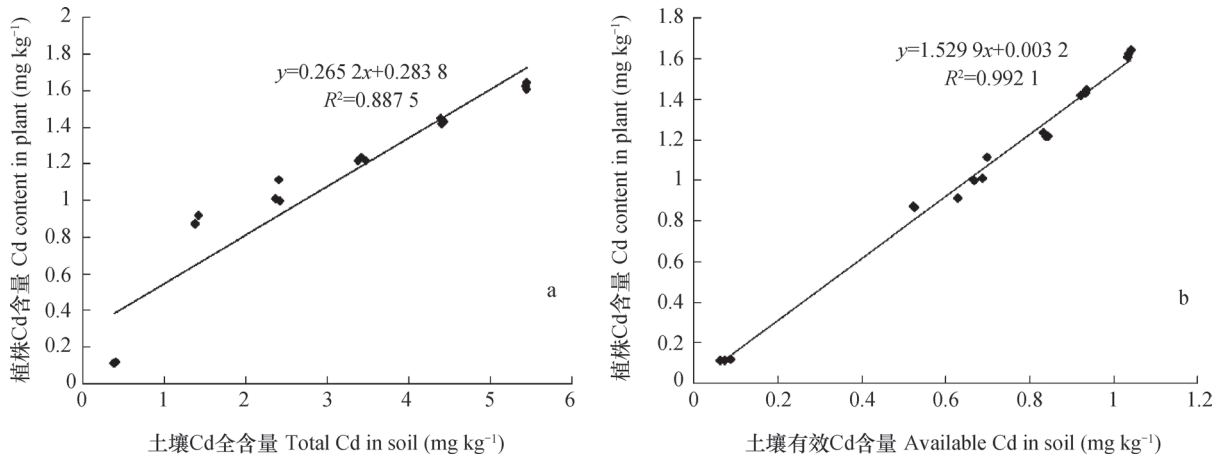


图2 植株Cd含量与土壤全镉 (a) 及有效镉 (b) 的相关关系

Fig. 2 Correlation between Cd content in plant with total (a) and available (b) Cd content in soil

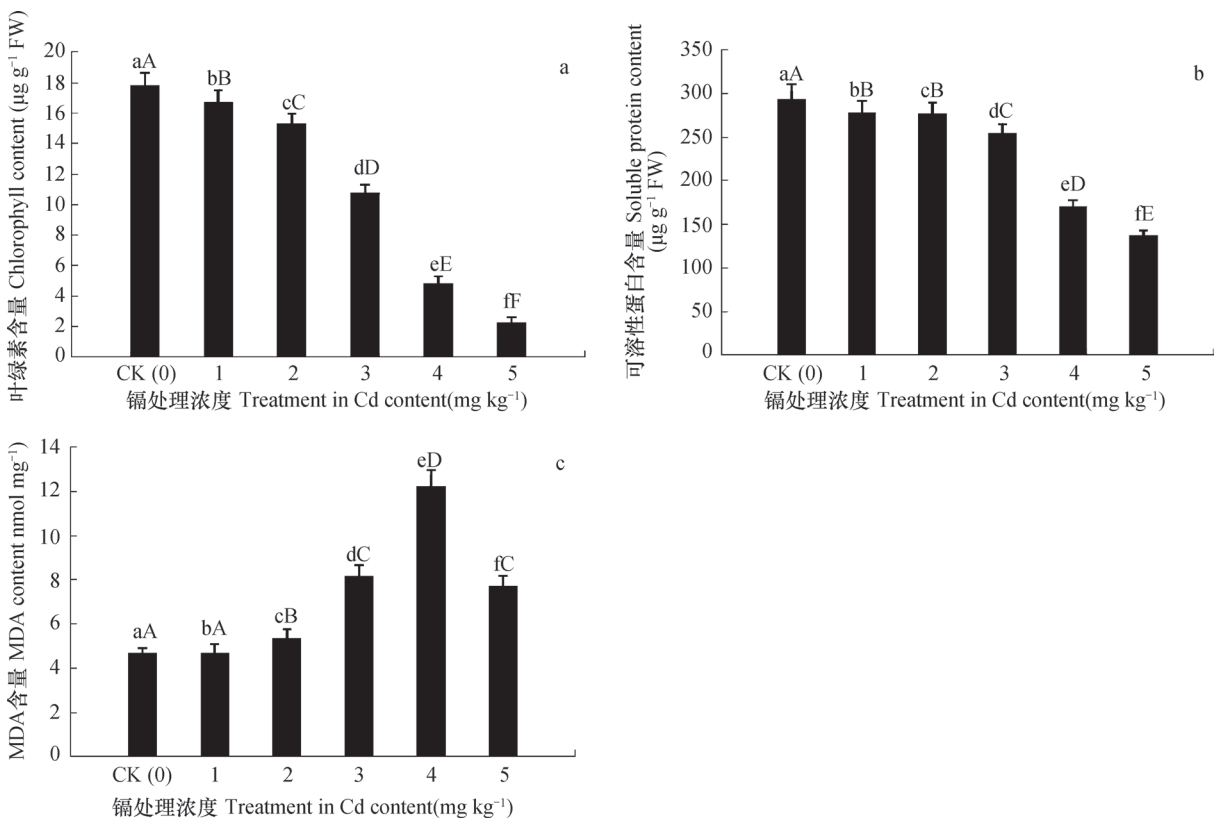


图3 不同浓度Cd处理植株叶绿素 (a)、可溶性蛋白 (b) 及丙二醛 (c) 含量

Fig. 3 Contents of chlorophyll (a), soluble protein (b) and MDA (c) in plants grown under Cd stress relative to Cd concentration

反应可知, 东亚金发藓对土壤镉污染的耐受限值远较一般的植物种类小^[17-19], 3.0~5.0 mg kg⁻¹的土壤全镉浓度已使植株的生长生理受到严重伤害。由此可见, 东亚金发藓对镉的高敏感性特征适于进行土壤镉污染监测。

对东亚金发藓生理状况与镉生物有效性之间的关系作了相关性分析 (图4), 结果显示, 镉胁迫

能较大程度地影响植株叶绿素与可溶性蛋白含量, 二者均与土壤全镉及有效镉之间呈显著负相关, 且与有效镉之间的相关性更强 (复相关性系数 R^2 分别为0.973 2和0.967 2); MDA的增加与植株所受镉胁迫程度呈正相关, 且与有效镉的相关性更强 ($R^2=0.739 2 > 0.431 9$)。相对于土壤全镉, 土壤有效镉是影响植物生长过程和生理状况的主要因素。

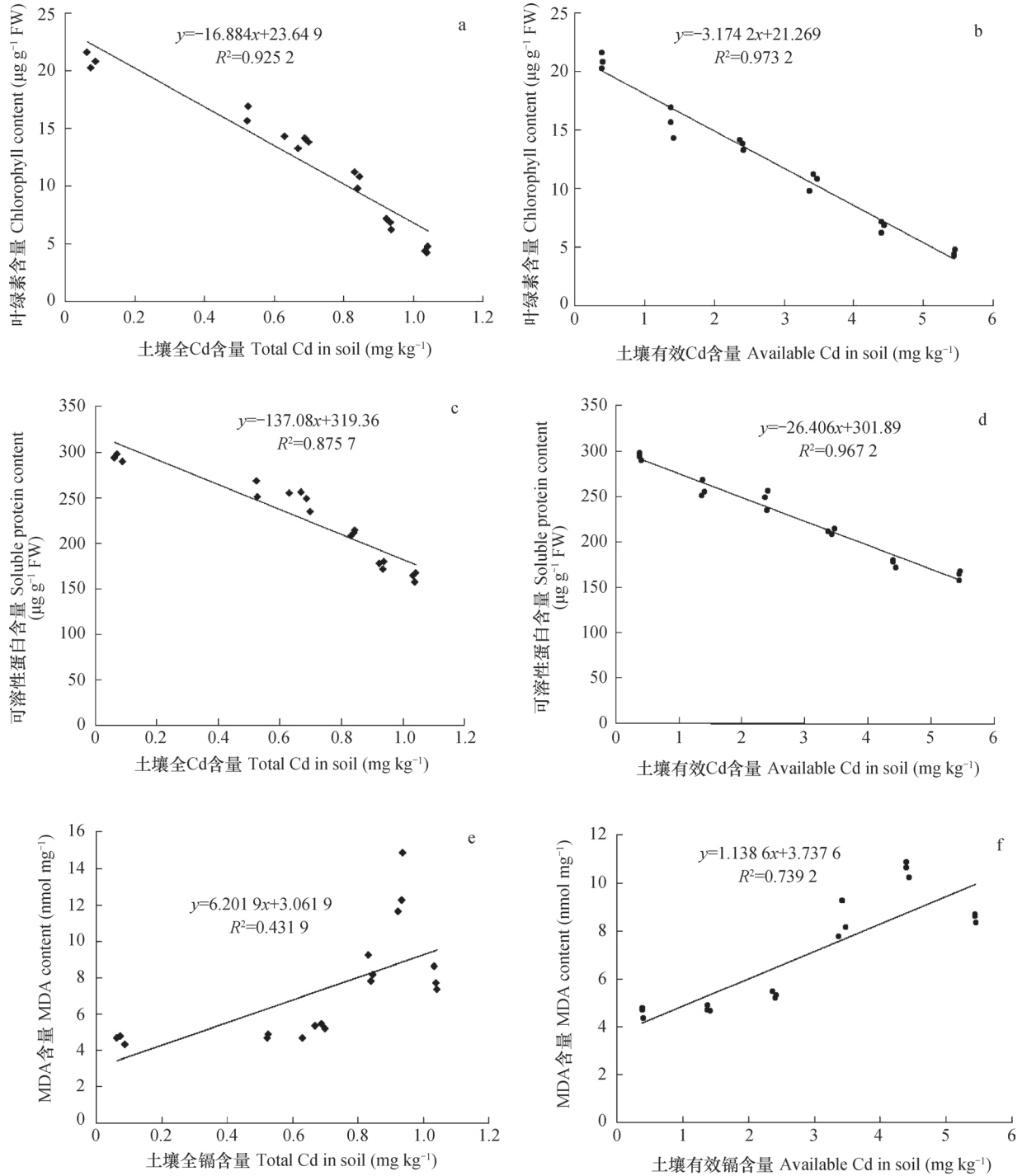


图4 植株叶绿素、可溶性蛋白、丙二醛含量与土壤全镉 (a, c, e) 及有效镉 (b, d, f) 的相关关系

Fig. 4 Correlation between contents of chlorophyll, soluble protein and MDA in plant with total (a, c, e) and available (b, d, f) Cd content in soils

3 讨论

3.1 生物监测法在环境镉污染监测中的应用

如何对土壤镉污染及其生物有效性进行科学、有效的评价，是当前土壤镉污染修复领域面临的一

个现实问题。尤其是经修复治理后的土壤镉含量是否达到安全浓度标准，最终应以生存于其中的动植物生长发育状况予以评判。该方面研究多见于动物毒理学实验，例如通过观测蜗牛、蚯蚓、弹尾目昆虫以及陆生等足类软体动物的生理和行为特征，可

有效检验重金属污染土壤的修复效果^[20-21]；对鲢鱼的生长状况及各部分器官中重金属的蓄积情况进行分析，能间接反映出浮萍、满江红等水生植物对尾矿污水及底泥的处理质量^[22]。对于苔藓植物而言，由于其自身具有结构简单、组织分化程度低等特征，对环境中污染物质的敏感性较强，近年来广泛用于环境污染监测研究。例如苔藓、地衣、菌类，以及一些附生植物（如铁兰等），此类植物表面无角质层、蜡质层覆盖，污染物可直接通过表层薄壁细胞吸附进入，故它们对大气中的重金属粉尘颗粒、汞蒸汽等物质极为敏感，一直作为大气污染监测的理想植物^[3, 8, 23-26]。此外，苔藓植物监测法还具有对环境扰动性小、操作简单、耗费低、监测周期短、可实现原位动态实时监测等优点，进一步提高了其应用价值^[8]。但这些植物能否用于监测土壤中的重金属，目前为止少有人研究。理论上，这些植物的假根对表层土壤也具有较强的感应能力，土壤重金属离子可迅速通过假根薄壁细胞而对植物体造成伤害，与利用其地上部分监测大气污染在原理上具有相似性，该方面值得进行探索试验。

本研究所选用的东亚金发藓具备适于监测土壤镉污染的一系列特征：对土壤中的镉具有强敏感性，易受到镉离子毒害并在短时间内表现出症状；植株大小适宜，其孢子体世代的成熟植株高度可达10 cm，易于进行生长指标观测；植株结构较简单，无真正的维管束分化，孢子体寄生于配子体上，各器官的细胞构造均一旦多为单细胞层，这些特征均适于进行显微观察。国内外研究资料中，顶生藓属和侧生藓属^[7]对Cd等重金属的低吸收值和高灵敏度特征为其监测大气重金属污染提供了应用依据；鳞叶藓和尖叶美喙藓^[27]的膜脂过氧化程度、抗氧化酶防御系统活性受Cd影响明显，且叶绿素荧光值、花青素含量等在Cd胁迫下亦有显著变化，据此可辨别Cd、Hg等重金属的污染类别及毒性大小。结合本研究结果认为，东亚金发藓植株耐Cd含量低，易受到镉离子伤害，植株外观形态、叶绿素含量、可溶性蛋白含量及MDA含量等生理参数均对镉毒较敏感，且各项指标的反应程度较好地对应了土壤中的镉含量变化，因此这些指标参数适合用于指示东亚金发藓监测土壤镉污染。

3.2 环境镉污染及其生物有效性的评价方法

重金属长期存在于土壤中，各种化学形态之间不断发生相互转化，并伴随着吸附-解吸、溶解-

沉淀、氧化-还原、甲基化-去甲基化等多种动态理化过程，其生物有效性、毒性大小和生态风险程度也处于不断变化中^[28]。较多的研究^[29-31]认为，土壤全镉含量虽可作为衡量其污染程度和生态风险的依据，但镉生物有效性则是更科学的评价参数。原因在于，土壤中真正对生物生长造成影响的是镉，取决于能被生物体吸收利用的那部分有效态含量。

对镉生物有效性的评价，多见于利用有机酸、螯合剂等化学淋洗剂提取有效态的方式进行^[28-30]。相对于此类化学检测法，生物测试法则可借助生物体自身特征来反映镉生物有效性，如欧洲赤松在修复土壤镉污染时，其松针中的镉含量能较好地指示土壤中镉的生物可利用性，同时也能反映出土壤理化性质^[32]；利用玉米植株处理含镉废液后，可根据其叶片中叶绿素荧光值变化及废液对青藻菌光合效应的抑制程度来评测废水中镉的生物有效性^[33]；也有研究表明，化学测定法与生物测试法评价土壤重金属生物有效性时，二者在结果上具有统一性，但相比而言后者灵敏度更高，甚至可用以区别添加不同改良剂后的效果^[20, 31]。综合而言，建议优先考虑生物监测手段，或将两种方法相结合，互为补充，共同评价土壤重金属的生物有效性。本研究中，以提取的有效态镉含量作为土壤镉生物有效性的指示参数，并探析其与东亚金发藓生长发育状况、植株Cd含量、叶绿素含量、可溶性蛋白含量、MDA含量等指标之间的量效关系，结果表明镉生物有效性与上述指标变化密切相关，进一步证实了镉生物有效性在很大程度上影响植物生长和生理，因此可作为综合反映土壤镉污染及生态安全性的重要依据。

4 结 论

东亚金发藓植株对土壤中镉的富集水平低、耐受性弱、敏感度高，易感应镉污染并在短时间内表现出症状，可作为有效监测土壤镉污染的植物材料；植株外观形态、叶绿素含量、可溶性蛋白含量及MDA含量能直接反映土壤的镉胁迫程度，可作为东亚金发藓监测土壤镉污染的指示指标；植株Cd含量、生长发育状况及生理指标变化均与土壤中有效镉含量呈显著相关关系，且相关性大于土壤中全镉含量。因此，镉生物有效性在很大程度上

影响植物生长, 并可用于反映土壤镉污染及生态安全性。

参考文献

- [1] Lalor G C. Review of cadmium transfers from soil to humans and its health effects in the Jamaican environment. *Science of the Total Environment*, 2008, 400 (1/3) : 162—172
- [2] Basile A, Sorbo S, Cardi M, et al. Effects of heavy metals on ultrastructure and Hsp70 induction in *Lemna minor* L. exposed to water along the Sarno River, Italy. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2015, 114: 93—101
- [3] Abril G A, Wannaz E D, Mateos A C, et al. Biomonitoring of airborne particulate matter emitted from a cement plant and comparison with dispersion modelling results. *Atmospheric Environment*, 2014, 82 (5) : 154—163
- [4] Conti M E, Cecchetti G. Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment—A review. *Environmental Pollution*, 2001, 114 (3) : 471—492
- [5] Izquieta-Rojano S, Elustondo D, Ederria A, et al. *Pleurochaete squarrosa* (Brid.) Lindb. as an alternative moss species for biomonitoring surveys of heavy metal, nitrogen deposition and $\delta^{15}\text{N}$ signatures in a Mediterranean area. *Ecological Indicators*, 2016, 60: 1221—1228
- [6] Boquete M T, Aboal J R, Carballeira A, et al. Effect of age on the heavy metal concentration in segments of *Pseudoscleropodium purum* and the biomonitoring of atmospheric deposition of metals. *Atmospheric Environment*, 2014, 86 (3) : 28—34
- [7] González A G, Pokrovsky O S. Metal adsorption on mosses: Toward a universal adsorption model. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2014, 415 (2) : 169—178
- [8] Lodenius M. Use of plants for biomonitoring of airborne mercury in contaminated areas. *Environmental Research*, 2013, 125 (8) : 113—123
- [9] Polechońska L, Klink A. Trace metal bioindication and phytoremediation potentialities of *Phalaris arundinacea* L. (reed canary grass). *Journal of Geochemical Exploration*, 2014, 146: 27—33
- [10] Harguinteguy C A, Pignata M L, Fernández-Cirelli A. Nickel, lead and zinc accumulation and performance in relation to their use in phytoremediation of macrophytes *Myriophyllum aquaticum* and *Egeria densa*. *Ecological Engineering*, 2015, 82: 512—516
- [11] 朱熹婉, 沈壬水, 钱钦文. 土壤中金属元素的五个组分的连续提取法. *土壤*, 1989, 21 (3) : 163—166
- Zhu Y W, Shen R S, Qian Q W. Sequential extraction for five components of heavy metals in soil (In Chinese). *Soils*, 1989, 21 (3) : 163—166
- [12] 陈英旭. 土壤重金属的植物污染化学. 北京: 科学出版社, 2008: 3—5
- Chen Y X. Phytochemistry of soil heavy metal pollution (In Chinese). Beijing: Science Press, 2008: 3—5
- [13] Sree K S, Keresztes Á, Mueller-Roeber B, et al. Phytotoxicity of cobalt ions on the duckweed *Lemna minor*—Morphology, ion uptake, and starch accumulation. *Chemosphere*, 2015, 131: 149—156
- [14] Li P, Pemberton R, Zheng G L. Foliar trichome-aided formaldehyde uptake in the epiphytic *Tillandsia velutina* and its response to formaldehyde pollution. *Chemosphere*, 2015, 119: 662—667
- [15] Bernard F, Brulle F, Dumez S, et al. Antioxidant responses of Annelids, Brassicaceae and Fabaceae to pollutants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2015, 114: 273—303
- [16] Techato K, Salaeh A, van Beem N C. Use of atmospheric epiphyte *Tillandsia usneoides* (Bromeliaceae) as biomonitor. *APCBEE Procedia*, 2014, 10: 49—53
- [17] Khaokaew S, Landrot G. A field-scale study of cadmium phytoremediation in a contaminated agricultural soil at Mae Sot District, Tak Province, Thailand: (1) Determination of Cd-hyperaccumulating plants. *Chemosphere*, 2015, 138: 883—887
- [18] van Oosten M J, Maggio A. Functional biology of halophytes in the phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Environmental and Experimental Botany*, 2015, 111: 135—146
- [19] Klink A, Macioł A, Wisłocka M, et al. Metal accumulation and distribution in the organs of *Typha latifolia* L. (cattail) and their potential use in bioindication. *Limnologica*, 2013, 43 (3) : 164—168
- [20] Udovic M, Drobne D, Lestan D. An *in vivo* invertebrate bioassay of Pb, Zn and Cd stabilization in contaminated soil. *Chemosphere*, 2013, 92 (9) : 1105—1110
- [21] 许杰, 柯欣, 宋静, 等. 弹尾目昆虫在土壤重金属污染生态风险评估中的应用. *土壤学报*, 2007, 44 (3) : 544—549
- Xu J, Ke X, Song J, et al. Role of collembola in assessment of ecological risk of heavy metal contamination of soils (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2007, 44 (3) : 544—549
- [22] Bharti S, Banerjee T K. Bioassay analysis of efficacy of phytoremediation in decontamination of coal mine

- effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2013, 92 (3) : 312—319
- [23] Giordano S, Adamo P, Spagnuolo V, et al. Accumulation of airborne trace elements in mosses, lichens and synthetic materials exposed at urban monitoring stations: Towards a harmonisation of the moss-bag technique. *Chemosphere*, 2013, 90 (2) : 292—299
- [24] Paoli L, Corsini A, Bigagli V, et al. Long-term biological monitoring of environmental quality around a solid waste landfill assessed with lichens. *Environmental Pollution*, 2012, 161 (1) : 70—75
- [25] Serbula S M, Miljkovic D D, Kovacevic R M, et al. Assessment of airborne heavy metal pollution using plant parts and topsoil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2012, 76: 209—214
- [26] 安丽, 曹同, 俞鹰浩. 上海市小羽藓属植物重金属含量及其与环境的关系. *应用生态学报*, 2006, 17 (8) : 1490—1494
An L, Cao T, Yu Y H. Heavy metals contents in *Haplocladium* and their relationships with Shanghai City environment (In Chinese). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17 (8) : 1490—1494
- [27] Chen Y E, Cui J M, Yang J C, et al. Biomonitoring heavy metal contaminations by moss visible parameters. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, 296 (1) : 201—209
- [28] Bolan N, Kunhikrishnan A, Thangarajan R, et al. Remediation of heavy metal (loid)s contaminated soils—To mobilize or to immobilize? *Journal of Hazardous Materials*, 2014, 266C (4) : 141—166
- [29] Wang Q Y, Zhou D M, Cang L. Bioavailability of soil copper from different sources: integrating chemical approaches with biological indicators. *Pedosphere*, 2014, 24 (1) : 145—152
- [30] Remon E, Bouchardon J L, Le Guédard M, et al. Are plants useful as accumulation indicators of metal bioavailability? *Environmental Pollution*, 2013, 175C: 1—7
- [31] Tariq S R, Ashraf A. Comparative evaluation of phytoremediation of metal contaminated soil of firing range by four different plant species. *Arabian Journal of Chemistry*, 2013, <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.09.024>
- [32] Pietrzykowski M, Socha J, van Doorn N S. Linking heavy metal bioavailability (Cd, Cu, Zn and Pb) in Scots pine needles to soil properties in reclaimed mine areas. *Science of the Total Environment*, 2014, 470/471: 501—510
- [33] Lucas García J A, Grijalbo L, Ramos B, et al. Combined phytoremediation of metal-working fluids with maize plants inoculated with different microorganisms and toxicity assessment of the phytoremediated waste. *Chemosphere*, 2013, 90 (11) : 2654—2661

Biological Mechanisms of Using *Pogonatum Inflexum* to Monitor Soil Cd Pollution

DONG Meng¹ ZHAO Yunlin² JIANG Daosong¹ ZHOU Xiaomei¹ LI Bicai¹ KU Wenzhen¹

(1 College of Chemistry and Environment Engineering, Hunan City University, Yiyang, Hunan 413000, China)

(2 College of Environmental Science and Engineering, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410018, China)

Abstract 【Objective】 How to monitor and assess soil Cd pollution and bioavailability is currently an issue of great concern. However, measurements of soil available Cd contents using the conventional chemical methods may only serve as certain reference, because they are not good enough to intuitively and truly reflect the damages soil Cd²⁺ does to plants. Bryophyta are simple in structure, free of any cuticle on their surface and quite sensitive to pollutants, so they are usually used in monitoring environmental pollution. In this paper, an effective method was preliminarily studied to monitor and evaluate soil Cd pollution and Cd bioavailability using *Pogonatum inflexum*, a species of bryophyte highly sensitive to soil Cd. A mature plant of the sporophytic generation of *Pogonatum inflexum* could be as high as 10 cm. Besides, it is simple in surface structure with no vascular bundle differentiation, but with sporophytes parasitizing on gametophytes. Furthermore, the various organs of *Pogonatum inflexum* are homogeneous in cell structure and mostly monolayer cells. 【Method】

In the experiment to validate effectiveness of the method, the tested soil was prepared into media, different in Cd contamination degree ($1 \sim 5 \text{ mg kg}^{-1}$), for culture of *Pogonatum inflexum*. Growth, Cd enrichment, chlorophyll content, soluble protein content and MDA concentration of the bryophyte was observed and/or determined. Soil available Cd contents extracted with acetic acid were cited as indicator parameter for soil Cd bioavailability, and then analysis was done of correlations of the above described indices with content of soil total Cd and content of soil available Cd, separately. 【Result】 Results show that in the test soil, bioavailable Cd accounted for about 20% ~ 40% of total Cd. All the indexes of *Pogonatum inflexum* mentioned above were closely related to soil Cd stress, especially when soil Cd concentration was higher than 3 mg kg^{-1} . *Pogonatum inflexum* was low in Cd enrichment and in tolerance to Cd as well. It could enrich as high as Cd 1.627 mg kg^{-1} , with enrichment coefficient being 63.9% and Cd concentration in *Pogonatum inflexum* was more closely related to soil bioavailable Cd than to soil total Cd. *Pogonatum inflexum* responded quite apparently to soil Cd pollution, with visible symptoms such as damaged sporophytes and gametophytes. When soil Cd concentration was higher than $1 \sim 2 \text{ mg kg}^{-1}$ (available Cd concentration was higher than 0.559 mg kg^{-1}), leaves of *Pogonatum inflexum* turned yellow and brown; when soil Cd concentration got up to 5 mg kg^{-1} , seta softened and kinked, till the plants withered dead. Changes in physiological and biochemical indexes of the tested plants, such as contents of chlorophyll, soluble protein and MDA, were apparently related to soil Cd stress, especially to soil bioavailable Cd contents, and corresponded well to changes in soil Cd pollution level. 【Conclusion】 Therefore, the contents of chlorophyll, soluble protein and MDA in *Pogonatum inflexum* can be used as indicators to monitor and evaluate soil Cd pollution and bioavailability. *Pogonatum inflexum* is an ideal material to be used to effectively monitor soil Cd pollution thanks to its high sensitivity to soil Cd²⁺ and its readiness and intuitiveness in displaying damage symptoms.

Key words *Pogonatum inflexum*; Biomonitoring; Cd-contaminated soil; Bioavailability of Cd

(责任编辑: 卢 萍)