

Cd^{2+} 胁迫对紫花苜蓿叶绿素和可溶性糖含量的影响

晓辉, 任丽萍, 张春荣, 王金利, 侯建宇

(中国农业大学 理学院应用化学系, 北京 100094)

摘要:以紫花苜蓿为试材, 采用盆栽试验, 研究不同浓度 Cd^{2+} 胁迫对不同茬期紫花苜蓿的叶绿素、可溶性糖的影响。结果表明: 随重金属 Cd^{2+} 胁迫剂量的加大, 3 茬紫花苜蓿叶绿素含量、可溶性糖含量呈倒“N”形规律变化, 即降-升-降的变化, 这与重金属诱导下紫花苜蓿的防御机制有关。3 茬紫花苜蓿的可溶性糖含量不同, 依次是第 1 茬> 第 2 茬> 第 3 茬, 3 茬紫花苜蓿的叶绿素含量不同: 低浓度 Cd^{2+} 下, 第 2 茬> 第 1 茬> 第 3 茬; 高浓度 Cd^{2+} 下, 第 2 茬> 第 3 茬> 第 1 茬。主要原因可能是由于苜蓿的收割, 导致 Cd 流失, 胁迫作用减弱或者是多种影响因素综合作用的结果。

关键词: Cd^{2+} 胁迫; 紫花苜蓿; 叶绿素; 可溶性糖; 防御机制

中图分类号: S541.01 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2007)增刊-0064-03

Effect of Cd^{2+} Stress on the Content of Chlorophyll and Soluble Sugar of Alfalfa

DING Xiao-hui, REN Li-ping, ZHANG Chun-rong, WANG Jin-li, HOU Jian-yu

(College of Science, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: With alfalfa as a testing plant growing in pots of Cd-contaminated soil, the effect of chlorophyll and soluble sugar of different stubble is studied with Cd^{2+} stress in different doses. The result shows that the contents of chlorophyll and soluble sugar change as converse “N” with heavy metal doses increasing, viz. as the rule of falling-rising-falling. This stress mechanism may be related with recovery system of alfalfa because of heavy metal inducing. The contents of soluble sugar of three stubbles are different, as follows: the first stubble> the second stubble> the third stubble. On the other hand, the contents of chlorophyll of three stubbles are different, as follows: the second stubble> the first stubble> the third stubble at low concentration; the second stubble> the third stubble> the first stubble at high concentration. The major reason of the result either may be lost Cd and weakened stress because alfalfa is reaped, or may be multi-factor act one another.

Key words: Cadmium stress; Alfalfa; Chlorophyll; Soluble sugar; Recovery mechanism

Cd 是重金属污染中常见的元素, 是危害植物生长发育的最有害元素之一。土壤中过量的 Cd 不但严重影响植物的生长和发育, 更为严重的是通过食物链等途径危及人类的生命健康。有研究表明, Cd 胁迫时会破坏植物叶片的叶绿体结构, 降低叶绿素含量, 严重时几乎所有叶片都出现褪绿现象, 表现为缺铁症状。秦天才等指出由于叶片受伤害致使生长缓慢, 植株矮小, 产量明显降低, 高浓度 Cd 时植物甚至会死亡。土壤中 Cd 胁迫对植物代谢的影响更加显著, 胁迫引起植物体内活性氧自由基剧增, 超出了活性氧清除酶的歧化-清除能力时, 根系代谢酶活性降低, 根系活力受到严重影响。随胁迫时间延

长, 超氧化歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活性也受到影响而急剧下降, 而其他代谢酶活性也受到影响, 最终导致植物死亡。

紫花苜蓿品质优良, 营养价值高, 适口性好, 以“牧草之王”著称, 是世界上栽培面积最广、最主要的豆科牧草之一。因此, 研究土壤中重金属 Cd 对紫花苜蓿生理指标的影响是十分必要的。尽管很多学者从不同侧面研究了 Cd^{2+} 对植物的生理生态效应^[1-3], 但关于 Cd^{2+} 胁迫下紫花苜蓿生理特性影响的研究报道还没有。本试验选择 Cd^{2+} 作为胁迫因子, 通过测定不同处理情况下紫花苜蓿的叶绿素和可溶性糖含量来了解紫花苜蓿的生理生态变异情

收稿日期: 2007-05-28

作者简介: 丁晓辉(1981-), 男, 山东烟台人, 硕士研究生, 主要从事土壤重金属植物修复研究

通讯作者: 张春荣(1965-), 女, 北京人, 副教授, 主要从事重金属污染方面的研究工作。

况,并进一步探讨 Cd²⁺ 毒害紫花苜蓿的机制,为有效防治土壤 Cd²⁺ 污染提供一些基础的数据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试的紫花苜蓿种子为“中苜一号”品种,购自中国农业科学院植保所,供试土壤采自中国农业大学教学实验基地表土层(0~20 cm)的混合土样。试验所用试剂均为分析纯,所用仪器为 722 型光栅分光光度计(上海精密仪器厂)。

1.2 试验方法

土壤自然风干后,过 20 mm 筛,与基肥(用量按 N: 0.03 g/kg 土、P₂O₅: 0.13 g/kg 土、K₂O: 0.13 g/kg 土样的比例分别用尿素、磷酸二氢钾和硫酸钾施入)充分混匀后装入塑料盆(高 20 cm,直径 20 cm)中,每盆装土 2 kg,统一均匀添加 Cd(NO₃)₂ 溶液,使土壤外源 Cd²⁺ 含量分别为 0, 1.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0 mg/kg,加去离子水至田间持水量的 70% 左右,各处理 3 个重复,静置 14 d。2006 年 5 月 12 日选择饱满的种子播于盆中,每盆 20 颗。室外培养生长,每 30 d 为一茬,共 3 茬,随机取植株不同部位的叶片测定叶绿素和可溶性糖的含量。

1.3 测试方法

叶绿素含量测定:乙醇比色法^[4];可溶性糖含量测定:蒽酮比色法^[4]。

2 结果与分析

2.1 Cd²⁺ 对紫花苜蓿叶绿素含量的影响

叶绿素是光合作用的主要色素,叶绿素含量的变化直接影响着苜蓿的光合作用^[5]。图 1 显示了 Cd²⁺ 胁迫对紫花苜蓿叶片中叶绿素含量的影响。随着 Cd²⁺ 浓度的增加,3 茬紫花苜蓿叶片中叶绿素含量均呈倒“N”形变化。

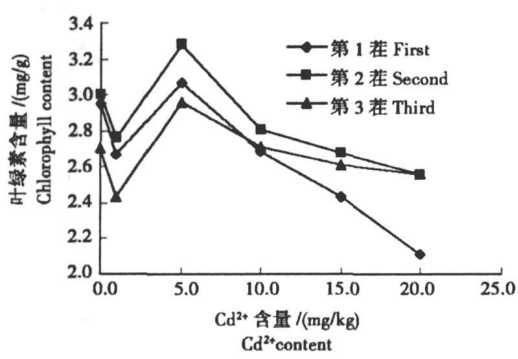


图 1 Cd²⁺ 胁迫对紫花苜蓿叶绿素含量的影响

Fig. 1 Effect of Cd²⁺ stress on content of chlorophyll of alfalfa

增大呈倒“N”型曲线变化,这可能与紫花苜蓿的防御机制有关。低浓度的 Cd²⁺ 还不能刺激紫花苜蓿体内发生防御性反应,直接破坏叶绿素分子结构或抑制叶绿素合成,所以其含量降低。但随着 Cd²⁺ 胁迫浓度加大,达到防御系统的刺激域值时,紫花苜蓿的防御机制开始启动,生成相应的解毒物质^[6]。何翠屏等^[7]研究表明,当植物受重金属胁迫时,抗氧化酶(如 SOD)活性增加,清除了由于氧化作用而生成的活性氧自由基;抗氧化酶还可以螯合侵入的重金属,产生金属结合蛋白,使叶绿素的伤害降低或合成速度有所加快^[8],从而使叶绿素含量呈上升趋势。但当胁迫浓度进一步加大以致于超过紫花苜蓿的防御能力时,超量的重金属不仅直接削弱了抗氧化酶对活性氧的清除能力,而且形成大量的活性氧自由基,这些自由基直接把叶绿素等作为靶标,破坏叶绿素分子^[7];重金属还可对膜脂过氧化,改变叶绿体膜及光合膜的选择透性,致使小分子外流,叶绿素的合成速度下降,叶绿素含量减少^[9];同时,重金属可使植物的吸收和转运功能下降,使植物缺乏叶绿素合成的必需元素(如 Fe²⁺、Mg²⁺ 等)^[10];重金属离子还可抑制叶绿素酸酯还原酶和影响氨基-γ-戊酮酸的合成^[6, 11]。

本试验证明,苜蓿对低浓度的 Cd²⁺ 有一定的耐受力,耐受力的大小和 Cd²⁺ 浓度有密切关系,苜蓿可以忍受 20 mg/kg 的 Cd²⁺。但总的说来 Cd²⁺ 对苜蓿的光合作用是抑制的,尤其是高浓度的 Cd²⁺ 抑制作用更显著。因此,可以预测随着胁迫浓度的进一步加大和胁迫时间的延长,紫花苜蓿叶绿素将会受到严重破坏,从而影响其正常的生长。

2.2 Cd²⁺ 对紫花苜蓿可溶性糖含量的影响

茎叶内可溶性糖含量代表碳水化合物的运转情况,作为生理指标之一来反映 Cd 污染对作物的毒害作用^[12]。本试验表明,随着 Cd²⁺ 浓度的增加,紫花苜蓿的可溶性糖含量呈倒“N”形变化,而且不同茬期的可溶性糖含量不同,依次是第 1 茬>第 2 茬>第 3 茬(图 2)。

当紫花苜蓿受 Cd²⁺ 胁迫时,随胁迫剂量加大,可溶性糖含量呈现倒“N”型变化规律,表明苜蓿在 Cd²⁺ 胁迫下,体内保护机制的运行规律也是降-升-降的变化。低浓度的 Cd²⁺ 还不能刺激紫花苜蓿体内发生防御性反应,直接破坏可溶性糖分子结构或抑制可溶性糖合成,所以其含量降低。但随 Cd²⁺ 胁迫浓度加大,紫花苜蓿的防御机制开始启动,胁迫作用加强,土壤渗透压升高,受水分胁迫积累的可溶性糖可以作为渗透调节物质来保护细胞免受伤害,

紫花苜蓿叶中的叶绿素含量随 Cd²⁺ 胁迫浓度

维持原有的生理过程,以适应外界环境条件的变化^[13];可能是叶片内不溶性糖降解为可溶性糖或者葡萄糖酶、蔗糖酶活性受到 Cd^{2+} 破坏发生异常所致^[14]。但随着 Cd^{2+} 浓度的进一步增大,糖质量分数的增加已经无法消除 Cd 对苜蓿的毒性,苜蓿的生长受到抑制,糖质量分数持续下降;也可能受到高浓度 Cd^{2+} 胁迫时,苜蓿呼吸作用增强,糖合成减少所致^[15]。

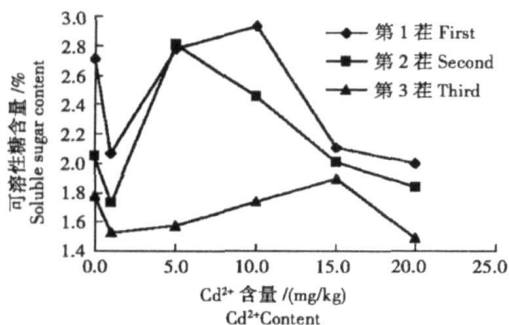


图2 Cd^{2+} 胁迫对紫花苜蓿可溶性糖含量的影响

Fig. 1 Effect of Cd^{2+} stress on content of soluble sugar of alfalfa

3 结论与讨论

紫花苜蓿的叶绿素含量和可溶性糖含量随 Cd 处理变化趋势一致:低浓度的 Cd^{2+} 不能刺激紫花苜蓿体内发生防御性反应,叶绿素含量和可溶性糖含量降低;1~5 mg/kg Cd^{2+} 胁迫浓度对紫花苜蓿的生长起促进作用,叶绿素含量和可溶性糖含量增加,但3茬苜蓿可溶性糖含量在不同 Cd^{2+} 浓度达到最大值,这可能与植物的生长态势、环境(温度、外源 Cd^{2+} 含量)等有关;高浓度下紫花苜蓿的叶绿素含量和可溶性糖含量降低。

由图1可以看出,3茬紫花苜蓿的叶绿素含量在外源 Cd^{2+} 含量为5 mg/kg 时达到最大值,3茬紫花苜蓿的叶绿素含量不同:低浓度 Cd^{2+} 下,第2茬>第1茬>第3茬;高浓度 Cd^{2+} 下,第2茬>第3茬>第1茬。由图2看出,3茬紫花苜蓿的可溶性糖含量不同,依次是第1茬>第2茬>第3茬。主要原因可能是由于苜蓿的收割,导致 Cd 流失,胁迫减弱或者在不同生长季下,苜蓿保持不同的光合生产能力和叶同化速率以及不同糖的合成速率,也可能是多种影响因素综合作用的结果。

紫花苜蓿作为一种生长快,周期短,多年生的植物,从现有农田土壤 Cd 污染水平看(10 mg/kg 左右),生长受到的影响不大,但是有必要进一步对苜蓿中

Cd 吸收量测定,确定是否可以用紫花苜蓿作为农田土壤 Cd 污染的修复以及作为饲料的安全性。

参考文献:

- [1] 蔡保松,曹林奎. 镉对小麦生长发育的影响及其基因型间差异[J]. 西北农林科技大学学报, 2003, 31(1): 62-66.
- [2] 秦天才,吴玉树,王焕校,等. 镉、铅及其相互作用对小白菜根系生理生态效应的研究[J]. 生态学报, 1998, 18(3): 320-325.
- [3] 匡少平,徐仲,张书圣. 水稻对土壤中环境重金属激素铅的吸收效应及污染防治[J]. 环境科学与技术, 2002, 25(2): 32-36.
- [4] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 89-92.
- [5] 张杰,梁永超. 镉胁迫对两个水稻品种幼苗光合参数、可溶性糖和植株生长的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11(6): 774-780.
- [6] 罗通. Ag^+ 、 Pb^{2+} 对轮藻生理生化指标的影响[J]. 四川师范大学学报(自然科学版), 2005, 28(6): 723-726.
- [7] 何翠屏,王慧忠. 重金属镉、铅对草坪植物根系代谢和叶绿素水平的影响[J]. 湖北农业科技, 2003, 5: 60-63.
- [8] Gekeler W. Algae sequester heavy metal via synthesis of phytochelatin complexes[J]. Arch Microbiol, 1988, 150: 17-202.
- [9] Shimazaki K, Sakaki T, Kondo N, et al. Active oxygen participation in chlorophyll destruction and lipid peroxidation in SO_2 fumigated leaves of spinach[J]. Plant Cell&Physiol, 1980, 21(7): 1193-1204.
- [10] Ouzounidou G, Moustakas M, Eleftheriou E P. Physiological and ultrastructural effect of cadmium on wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1997, 32(2): 154-160.
- [11] Stobart A K, Griffiths W T. The effect of Cd^{2+} on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley[J]. Physiol Plant, 1985, 63: 293-298.
- [12] 刘秀梅,聂俊华,王庆仁. Pb 对农作物的生理生态效应[J]. 农业环境保护, 2002, 21(3): 201-203.
- [13] 薛艳,周东美. 土壤铜锌复合污染条件下两种青菜的响应差异[J]. 土壤, 2005, 37(4): 400-404.
- [14] 丁海东,杨少军,齐乃敏. 镉、锌胁迫对番茄幼苗生长及脯氨酸和谷胱甘肽含量的影响[J]. 江苏农业学报, 2005, 21(3): 191-196.
- [15] 段学军,闵航. 镉对稻田土壤典型微生物种的胁迫生理毒性[J]. 生态环境, 2005, 14(6): 865-869.