

大豆对镉胁迫的生理反应及耐镉机理探讨

黄运湘¹, 王志坤², 袁红¹, 廖柏寒³

(1.湖南农业大学资源环境学院, 长沙 410128; 2.浙江林学院理学院, 杭州 311300; 3.中南林业科技大学生物技术开放性中心实验室, 长沙 410004)

摘要:为探讨大豆对镉(Cd)胁迫的生理反应及忍耐机理,以 8157 为供试材料,采用 Hoagland 营养液培养和土壤盆栽培养试验,研究了添加不同浓度外源 Cd 对大豆的生理效应及 Cd 吸收分布的影响。结果表明,大豆吸收的 Cd 向地上部转运的比率较高,根系对 Cd 的阻滞作用较弱;植株体内的 Cd 主要以 NaCl 提取形态存在(占 89.61%),降低了 Cd 的生物毒害性。土壤添加低浓度 Cd ($0.25\sim0.50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),大豆籽粒中 Cd-P 表现为协同作用,Cd 浓度升高则转为拮抗作用;不同浓度 Cd 处理,籽粒中 Cd-Zn 表现为协同作用,叶片中 Cd-Zn 则表现为拮抗作用。Cd 胁迫促进大豆体内脯氨酸(PRO)的合成,提高了过氧化物酶(POD)的活性,增强了大豆对 Cd 胁迫的防御和抵抗能力。

关键词:大豆;镉胁迫;镉的分布;镉化学形态;生理反应

中图分类号:X503.231 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2011)08-1514-07

Physiological Responses of Soybean(*Glycine max*) to Cadmium Stress and Its Tolerance Mechanism

HUANG Yun-xiang¹, WANG Zhi-kun², YUAN Hong¹, LIAO Bo-han³

(1.College of Resources and Environment, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2.College of Sciences, Zhejiang Forestry University, Hangzhou 311300, China; 3.Biotechnology Core Facilities, Central South Forestry University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China)

Abstract:To explore the physiological response and tolerance mechanism of soybean(*Glycine max*) under cadmium stress, hoagland culture solution and pot experiment were conducted as a case of 8157 variety, both physiological response and distribution of Cd of soybean plant tissues were studied under different Cd concentrations. Results showed that Cd ratios of shoot was higher, while root obstruction effective of Cd was poorer. NaCl extractive Cd form was the mainly(account for 89.61%) in soybean plants tissues, so the Cd biotoxicity was declined. synergistic effect of Cd-P in soybean seeds was found under low Cd concentrations ($0.25\sim0.50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), but antagonistic effect was revealed with Cd concentration increasing. The synergistic effect of Cd-Zn in soybean seeds was main, and its antagonistic effect in leaf was found under experimental Cd concentrations. Proline(PRO) biosynthesis was promoted while peroxidase(POD) activities was accelerated and resistivity of soybean plant to Cd stress was enhanced.

Keywords:soybean; Cd stress; distribution of Cd; Cd chemical forms; physiological responses

Cd 是植物非必需营养元素,但低浓度 Cd 对某些植物的生长有一定的促进作用^[1-3],Cd 浓度超过一定水平,作物生长即受到影响,并产生毒害。不同植物品种对 Cd 胁迫的耐性有很大不同,存在种内和种间差异^[4-6]。有关耐性植物的抗 Cd 机理已有较多研究,主

要表现为细胞区间隔离、重金属结合肽的解毒作用以及细胞活性氧防御酶系统的诱导等。在组织水平上,重金属主要分布在表皮细胞、亚表皮细胞和表皮毛中^[7],在细胞水平上,重金属主要分布在质外体和液泡中^[8]。杨居荣等^[9]认为细胞壁是重金属进入植物细胞的第一道屏障,金属穿入时会有一部分在此形成沉淀从而阻止过多的重金属进入体内原生质以减轻其毒害。Grill 等^[10]试验证明,植物细胞内 90%的 Cd 与植物螯合肽(phytochelatins, PC)结合,根系中吸收的 Cd 60%以 Cd-PC 的形式存在。Gupta 等^[11]分离出 Pb-PC,

收稿日期:2011-01-20

基金项目:国家自然科学基金项目(20677080);湖南农业大学科学基金项目(07WD25)

作者简介:黄运湘(1963—),女,湖南邵阳人,教授,主要从事土壤化学及环境污染控制研究。E-mail:yxhuang63@163.com

证明PC对Pb的解毒作用。植物体内除了以超氧化物歧化酶(SOD)为中心的活性氧防御系统可清除活性氧自由基外^[12-13],细胞内的H₂O₂还可通过抗坏血酸-谷胱甘肽-NADPH循环(Halliwell-Asada途径)被清除^[14-15]。重金属对植物的伤害是多方面的,而植物对重金属胁迫的防御机制也表现为多样性,很难用单一的耐性机理来解释。大豆虽为Cd敏感作物,但在低浓度Cd胁迫下,表现一定的耐Cd性和种间差异性^[16]。本文从大豆对Cd胁迫的生理反应等方面探讨其耐性机理,为Cd污染农田的安全利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料与培养试验

1.1.1 营养液培养试验

选择籽粒饱满、大小均匀的大豆种子(品种为8157,由新余市常青蔬菜种子经营部提供)置于人工气候箱(温度26℃,湿度75%,每日光照12h)中催芽。选取发芽势一致的种子播于装有蛭石的塑料盆(长、宽、高分别为25、18、10cm)中,浇蒸馏水湿润。子叶长出前,浇1/2 Hoagland营养液,子叶长出后浇全营养液。待幼苗长出第2对真叶时,选择长势一致的幼苗移至含不同Cd浓度(Cd源为分析纯CdCl₂·2.5H₂O)的Hoagland营养液中继续培养。Cd处理浓度为0.00、0.25、0.50、1.00、2.50、5.00、10.00 mg·L⁻¹,以Cd处理浓度0.00 mg·L⁻¹为对照。每处理重复3次,处理期间每日通风1次,隔天更换1次营养液。Cd处理5d和15d取样测定幼苗生理指标及Cd含量。

1.1.2 土壤盆栽培养试验

供试土壤采自湖南农业大学教学实验场由河流冲积物发育的河潮土,取样深度为0~20cm。土壤

pH5.22,阳离子交换量(CEC)8.79 cmol·kg⁻¹,有机质17.40 g·kg⁻¹,全氮(N)1.545 g·kg⁻¹,全量Cd 0.105 mg·kg⁻¹,生物有效态Cd 0.040 mg·kg⁻¹。

土壤样品采回后经自然风干、锤碎、过5mm筛,按每千克土加N 0.10 g, P₂O₅ 0.15 g, K₂O 0.10 g计算,以尿素、磷酸二氢钾、氯化钾为肥源,将肥料溶于水与Cd溶液一起喷洒于土壤中拌匀,装入白色瓷盆(直径20cm、高25cm),每盆装风干土5.0kg。Cd处理浓度为0.00、0.25、0.50、2.50、5.00、10.00 mg·kg⁻¹(Cd源为分析纯CdCl₂·2.5H₂O),以Cd处理浓度0.00 mg·kg⁻¹为对照。每处理重复3次。选取籽粒饱满的大豆种子(品种为8157)每盆播种5粒,大豆生长期间以蒸馏水浇灌,对幼苗的生长动态进行观察记载,并分别在大豆的幼苗期、花荚期和收获期取植株样进行分析测定。

1.2 分析方法

土壤基本性质用常规法测定;植株样品用H₂SO₄-H₂O₂消化,磷用钒钼黄比色法测定,Cd、Zn用原子吸收分光光度法测定^[17]。脯氨酸(Pro)含量用磺基水杨酸提取,比色法测定;过氧化物酶(POD)活性用愈创木酚法测定^[18]。

大豆根部和叶片内Cd的化学形态用逐步提取法^[19]。浸提剂及浸提顺序为80%乙醇、去离子水、1.0 mol·L⁻¹NaCl溶液、2%(V/V)醋酸、0.6 mol·L⁻¹HCl,依次得到①乙醇提取态Cd(F_{乙醇}),②水溶态Cd(F_{H₂O}),③NaCl提取态Cd(F_{NaCl}),④醋酸提取态Cd(F_{HAC}),⑤盐酸提取态Cd(F_{HCl})。

2 结果与分析

2.1 Cd胁迫对大豆株高及生物产量的影响

表1为营养液加Cd培养5d和15d后,大豆幼苗的生长变化情况。从表中可知,当添加0.25 mg·L⁻¹

表1 营养液加Cd处理对大豆幼苗生长发育的影响

Table 1 The growth of soybean seedlings under the solution experiments with adding different concentration Cd

Cd 浓度/mg·L ⁻¹	Cd 处理 5 d		Cd 处理 15 d	
	幼苗生长量/cm	生物产量/g·11 棵 ⁻¹ ,FW	幼苗生长量/cm	生物产量/g·11 棵 ⁻¹ ,FW
0.00(CK)	7.1±0.5ab	8.76±0.23ab	45.5±1.0a	47.21±0.65a
0.25	7.9±0.4a	8.83±0.21a	18.7±0.8b	16.24±0.17b
0.50	6.8±0.4bc	7.84±0.18b	17.6±0.7bc	14.37±0.21c
1.00	5.2±0.3c	5.17±0.31c	17.2±0.4c	13.51±0.55d
2.50	4.6±0.4cd	4.61±0.32d	14.5±0.5d	12.44±0.40e
5.00	3.8±0.3d	3.63±0.25e	10.7±0.9e	8.37±0.14f
10.00	3.0±0.4e	2.84±0.19f	8.1±0.4f	5.84±0.12g

注:表中数据为平均值±标准差(n=3);同一列不同字母表示0.05水平差异显著性。下同。

表 2 土壤加 Cd 处理对大豆株高及生物产量的影响

Table 2 The height and biomass of soybean plants under the pot experiment with adding different concentration Cd

Cd 处理浓度/ mg·kg ⁻¹	株高/cm	地上部生物量/ g·3 株 ⁻¹ , FW	根系干质量/ g·3 株 ⁻¹ , DW
0(CK)	30.8±4.1a	42.0±2.0bc	1.455±0.126b
0.25	29.1±7.4ab	55.8±3.6a	1.478±0.127b
0.50	28.6±7.1ab	47.2±2.0b	1.701±0.128a
2.50	27.5±3.1ab	48.1±4.0b	1.179±0.116c
5.00	25.1±1.7ab	36.8±2.1c	1.107±0.027c
10.00	22.4±2.9b	27.3±4.4d	0.748±0.125d

Cd 培养 5 d 时,大豆幼苗的生长量(与 Cd 处理前比)与生物产量(与 Cd 处理前比)均稍高于对照,分别为对照的 111.3%和 100.8%,但差异不明显。当 Cd 处理浓度 $\geq 1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,幼苗的生长量及生物产量均随 Cd 浓度的升高而降低,表现明显的抑制作用。随着 Cd 处理时间的延长,至 15 d 时,尽管不同浓度 Cd 处理大豆株高及生物产量仍有不同程度的增加,但均显著低于对照。表明长时间低浓度 Cd 胁迫对大豆生长的抑制和伤害作用。

表 2 为土壤加 Cd 处理对大豆株高及生物产量

(花荚期)的影响。大豆株高随 Cd 处理浓度的升高而降低,表现极显著的负相关关系,相关系数为 -0.993^{**} ($n=6$)。地上部和地下部生物产量在低浓度 Cd($\leq 2.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)处理表现为促进作用,Cd 浓度升至 $5.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 表现抑制作用。与营养液培养相比较,土壤对 Cd 污染具有一定的缓冲作用和环境容量。

2.2 Cd 胁迫对大豆吸收累积 Cd 的影响

2.2.1 对 Cd 的吸收与分布的影响

从表 3、表 4 可知,营养液加 Cd 培养和土壤加 Cd 处理,大豆吸收累积的 Cd 均随 Cd 处理浓度的升高而增加,根系 Cd 浓度明显高于茎叶(地上部)。营养液加 Cd 培养 15 d,根系 Cd 浓度为茎叶的 2.7~3.8 倍。土壤加 Cd 处理,大豆收获期根系 Cd 浓度是地上部的 1.2~4.1 倍。由于茎叶(地上部)生物产量高于根系,其吸收累积的 Cd 总量和根系相差较小,营养液加 Cd 培养,大豆茎叶吸收累积的 Cd 占植株总吸 Cd 量的 38.16%~54.76%(对照除外),土壤加 Cd 处理,大豆地上部吸收累积的 Cd 占植株总吸 Cd 量的 50.3%~80.4%。当 Cd 处理浓度较低(营养液培养为 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,土壤培养为 $0.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)时,地上部吸收累积的 Cd 占植株总吸 Cd 量的百分率随 Cd 处理浓度的

表 3 营养液加 Cd 处理对大豆幼苗吸 Cd 量及 Cd 分布的影响

Table 3 The contents and distribution of Cd in soybean seedlings under the solution experiments with adding different concentration Cd

Cd 处理浓度/mg·L ⁻¹	茎叶		根系		A/%
	Cd 浓度/mg·kg ⁻¹ , DW	Cd 总量/mg·11 株 ⁻¹	Cd 浓度/mg·kg ⁻¹ , DW	Cd 总量/mg·11 株 ⁻¹	
0(CK)	0±0g	0	0.08±0.02g	7.48×10 ⁻⁵	0
0.25	21.95±3.16f	0.104	79.28±16.51f	0.116	47.27
0.50	34.85±4.23e	0.132	95.38±21.42e	0.120	52.38
1.00	53.27±6.74d	0.184	167.80±22.03d	0.152	54.76
2.50	79.86±6.15c	0.252	256.80±34.80c	0.224	52.94
5.00	161.20±9.57b	0.500	558.10±26.97b	0.596	45.62
10.00	383.40±8.69a	0.980	1 461.90±29.61a	1.588	38.16

注:表中 A 为大豆幼苗茎叶中 Cd 总量占植株 Cd 总量的百分数。

表 4 土壤加 Cd 处理对大豆吸 Cd 量及 Cd 分布的影响

Table 4 The contents and distribution of Cd in soybean plants under the pot experiments with adding different concentration Cd

Cd 处理浓度/ mg·kg ⁻¹	地上部		根部		A/%
	Cd 浓度/mg·kg ⁻¹ , DW	Cd 总量/mg·plot ⁻¹	Cd 浓度/mg·kg ⁻¹ , DW	Cd 总量/mg·plot ⁻¹	
0(CK)	0.016±0.010f	0.019	0.038±0.020c	0.017	52.8
0.25	0.297±0.020e	0.441	0.453±0.110c	0.217	67.0
0.50	0.462±0.020d	1.049	0.597±0.130c	0.256	80.4
2.50	0.963±0.100c	1.084	1.126±0.090c	0.470	69.8
5.00	1.196±0.100b	1.220	2.459±0.230b	1.060	53.5
10.00	2.033±0.120a	1.693	8.414±1.680a	1.674	50.3

注:表中 A 为大豆地上部 Cd 总量占植株 Cd 总量的百分数。

升高而增加,Cd 浓度增大,其百分率又随之降低,出现这种变化的原因是低浓度 Cd 刺激了大豆根系的活力^[3],根系对 Cd 的吸收和向地上部的转运加强。随着 Cd 浓度增加,根系活力减弱,吸收和转运能力减弱,致使大部分 Cd 主要积累在根系部位。

2.2.2 对 Cd 化学形态的影响

表 5 为大豆加 Cd($2.50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)培养 15 d 后,大豆叶片和根系中 Cd 化学形态及含量。大豆叶片和根系中所积累的 Cd 主要以 NaCl 提取态存在,分别占总提取态 Cd 含量的 85.98%和 89.61%;其次为醋酸提取态 Cd,分别占总提取态 Cd 含量的 9.11%和 5.97%;盐酸提取态 Cd 所占比例最小,仅分别占总提取态 Cd 含量的 0.48%和 0.59%。不同化学形态 Cd 含量的大小顺序在叶片和根系中为 $F_{\text{NaCl}} > F_{\text{HAC}} > F_{\text{HCl}} > F_{\text{乙醇}} > F_{\text{HClO}}$ 。

表 5 大豆叶片和根系中 Cd 化学形态及其含量

Table 5 Cd forms and contents in leaves and roots of soybean plants under solution experiment

Cd 形态	$F_{\text{乙醇}}$	$F_{\text{H}_2\text{O}}$	F_{NaCl}	F_{HAC}	F_{HCl}
叶片 Cd/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,FW	0.82	1.73	49.54	5.25	0.28
占提取态 Cd 总量/%	1.43	3.00	85.98	9.11	0.48
根系 Cd/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,FW	0.69	2.51	74.65	4.97	0.49
占提取态 Cd 总量/%	0.83	3.02	89.61	5.97	0.59

2.3 Cd 胁迫对大豆吸收磷、锌的影响

表 6 为土壤加 Cd 处理,大豆收获期叶片和籽粒中磷、锌含量。从表中可知,大豆叶片中磷含量随土壤添加 Cd 浓度的升高而增加,表现为协同作用。籽粒中磷含量在低浓度 Cd($\leq 0.50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)处理时高于对照,Cd 浓度升至 $2.50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时低于对照,且随 Cd 浓度的升高而逐渐降低。

土壤加 Cd 处理,大豆叶片中锌含量低于对照,

表 6 土壤加 Cd 处理大豆叶片和籽粒中磷、锌含量

Table 6 Phosphorus and zinc content in leaves and grains of soybean under the pot experiments with adding different concentration Cd

Cd 处理浓度/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	磷(P)含量/%		锌(Zn)含量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	
	叶	籽粒	叶	籽粒
0(CK)	0.215±0.008b	2.985±0.022c	362.0±8.4a	164.2±2.7a
0.25	0.223±0.003b	3.757±0.111a	326.6±11.6bc	166.4±32.8a
0.50	0.226±0.028b	3.309±0.012b	282.7±71.8c	166.6±0.6a
2.50	0.234±0.001b	1.132±0.327d	281.9±11.4c	182.7±3.7a
5.00	0.238±0.008b	1.052±0.298d	321.0±3.2bc	170.2±32.a
10.00	0.276±0.018a	0.948±0.118d	344.0±4.6ab	178.9±4.3a

表现明显的缺锌症状。叶片中锌在低浓度 Cd($\leq 2.50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)处理时随 Cd 浓度的升高而降低,增大 Cd 处理浓度,锌含量又随之升高。籽粒中锌含量随 Cd 处理浓度的升高而增加,但差异不明显。叶片中 Cd-Zn 表现一定的拮抗作用,锌直接参与 IAA 和 GA3 的生物合成^[20],还是植物体 Cu-Zn-SOD 酶的组成成分,具有消除氧自由基的作用^[20]。土壤加 Cd 处理,由于 Cd-Zn 的拮抗作用,大豆体内锌的吸收量降低,影响了 IAA 和 GA3 的合成,大豆生长发育受阻。

2.4 Cd 胁迫对大豆叶片过氧化物酶活性的影响

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)是植物体内重要的保护酶系统,三者相互协调,可有效地清除植物代谢过程中产生的活性氧对膜脂的过氧化及其他伤害过程^[22-23]。POD 因在逆境胁迫中被激活的程度最大,且持续时间最长^[24],在逆境胁迫中起关键作用,故有人建议用 POD 活性变化的水平作为反映污染胁迫的灵敏指标^[25]。由表 7 可

表 7 营养液加 Cd 处理大豆幼苗叶片过氧化物酶(POD)活性和脯氨酸(PRO)含量

Table 7 The POD activities and PRO contents in leaves of soybean seedling under the solution experiment with adding different concentration Cd

Cd 处理浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	POD/ $\text{U}\cdot(\text{min}\cdot\text{g})^{-1}$		PRO/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	
	5 d	15 d	5 d	15 d
0(CK)	930±5.0d	768±2.5f	9.99±1.01g	13.50±2.13d
0.25	850±5.0e	1 218±2.5e	13.97±1.20f	16.86±1.65bc
0.50	935±2.5d	1 425±5.0d	16.68±0.92e	18.34±1.26b
1.00	1 310±12.5c	1 875±10.0c	18.56±1.15d	22.36±2.17a
2.50	1 595±10.5b	2 190±62.5b	23.50±0.85c	21.04±1.22ab
5.00	1 700±53.0a	2 632±83.0a	26.86±1.13b	16.23±2.08c
10.00	1 545±48.0b	2 275±42.3b	28.34±0.88a	14.04±1.04d

表 8 土壤加 Cd 处理大豆叶片过氧化物酶(POD)

活性和脯氨酸(PRO)含量

Table 8 The POD activities and PRO contents in leaves of soybean under the pot experiments with adding different concentration Cd

Cd 处理浓度/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	POD/ $\text{U}\cdot(\text{min}\cdot\text{g})^{-1}$		PRO/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	
	幼苗期	花荚期	幼苗期	花荚期
0(CK)	365±58d	518±73cd	16.45±0.73d	15.15±0.46d
0.25	345±9d	425±58d	23.90±0.75c	23.81±0.82b
0.50	430±69cd	493±55d	26.45±0.76ab	28.75±0.73a
2.50	528±13bc	595±75bc	28.33±0.76a	17.40±0.53c
5.00	585±61ab	702±89ab	24.76±1.65bc	16.87±0.48c
10.00	675±43a	796±70a	24.65±1.84bc	15.51±1.49d

见,营养液添加低浓度 Cd($0.25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)培养 5 d,大豆叶片过氧化物酶(POD)活性低于对照,增加 Cd 处理浓度,POD 活性升高,当 Cd 浓度增至 $10.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,POD 活性又有所下降,但仍显著高于对照。随着培养时间的延长,至 15 d 时,除对照外,大豆叶片 POD 活性继续升高,升高幅度为 37.3%~52.4%。土壤加 Cd 处理(表 8),大豆幼苗期叶片 POD 活性在 Cd 处理浓度为 $0.25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时稍低于对照,Cd 处理浓度增加,POD 活性逐渐升高,当 Cd 浓度 $\geq 2.50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,POD 活性明显高于对照。随着大豆的生长发育,至花荚期,POD 活性继续升高,升高幅度为 12.7%~41.9%。由于 POD 活性升高,可有效地减轻或消除植物体内自由基累积,从而减缓 Cd 对大豆幼苗的伤害作用,使大豆幼苗在一定浓度 Cd 胁迫下也不至于迅速死亡。

2.5 Cd 胁迫对大豆叶片游离脯氨酸含量的影响

脯氨酸(PRO)是植物蛋白质的组分之一,在逆境条件下,植物体内游离脯氨酸含量增加,游离脯氨酸的积累可能是植物适应逆境的表现^[26]。营养液加 Cd 培养 5 d(表 7),大豆叶片游离脯氨酸(PRO)含量随 Cd 处理浓度的升高而增加,与对照相比表现明显的差异性。随着培养时间的延长,至 15 d 时,PRO 含量在低浓度 Cd 处理时继续升高,Cd 浓度增至 $2.50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,PRO 含量随 Cd 浓度的增加逐渐降低。土壤加 Cd 试验表明(表 8),大豆幼苗期叶片 PRO 含量均显著高于对照。当 Cd 处理浓度较低时,PRO 含量随 Cd 处理浓度的升高而增加,Cd 浓度为 $2.50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时达最大值,继续增加 Cd 浓度,PRO 含量表现下降的趋势,但仍显著高于对照。随着大豆的生长发育,至花荚期,大豆叶片 PRO 含量在低 Cd 处理时变化较小,Cd 处理浓度增加,PRO 含量逐渐降低。与 POD 相比,大豆受到 Cd 胁迫后,PRO 应对逆境的反应灵敏度也高,但持续的时间较短。

3 讨论

为了栽培及抗性育种的需要,自 20 世纪 90 年代以来,有关植物对 Cd 的忍耐性及耐 Cd 机理研究受到较多重视,并取得很多研究成果^[4-9]。土壤盆栽试验表明,低浓度 Cd 胁迫对大豆的生长发育有一定的“激活效应”,这种激活的代谢系统加速了 Cd 的进入和向地上部的转运,反过来又抑制植物的代谢活动,如影响大豆对锌的吸收、植物激素的合成等^[3],进而对植物的生长产生抑制作用乃至毒害效应。

重金属对植物的毒害作用及植物的耐受性,与植物对重金属的吸收和运转、重金属在植物体内各部位的分配以及结合形态等有关^[27]。本试验表明,营养液加 Cd 培养,根系 Cd 浓度为茎叶的 2.7~3.8 倍。土壤加 Cd 处理,根系 Cd 浓度是地上部的 1.2~4.1 倍。由于根系对 Cd 的阻滞作用,在一定程度上降低了地上部各器官的 Cd 浓度,减轻了对茎叶等器官的毒害作用。

大豆耐 Cd 能力的强弱不仅取决于植株体内的 Cd 含量,与 Cd 的化学形态也有密切关系。黄运湘等^[19]对不同大豆品种耐 Cd 差异性研究表明,植物体内乙醇提取态和水提取态 Cd 含量高的品种,抗 Cd 能力相对较弱,而含量低的品种抗 Cd 能力则较强。本研究表明,大豆叶片和根系中的 Cd 主要以 NaCl 提取态形式存在,其他形态的 Cd 相对较少。表明大豆体内的 Cd 主要附在蛋白质周围,蛋白质的巯基和其他一些侧链对 Cd 有很强的亲和力,在植物体内以植物螯合肽(Cd-PC)的形式存在^[28-29]。这种结合形态一方面减少了游离 Cd 的含量,降低其有效性和移动性,减轻其对植物的伤害作用;但另一方面,Cd 也可能与体内的酶和功能蛋白结合,干扰它们的功能,造成生理生化代谢紊乱,从而影响植物的正常发育。

Cd 对磷有很强的亲和力,在植物体内磷与 Cd 结合形成溶解度低的磷酸 Cd 沉淀,Cd 的生物有效性降低,可缓解植物的 Cd 胁迫伤害。Cd 浓度升高,这种缓解效应下降甚至失去,植物的 Cd 胁迫伤害明显加强。本研究表明,土壤添加 Cd 浓度为 $0.25\sim 10.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,大豆叶片中 Cd-P 表现为协同作用,籽粒中 Cd-P 在低浓度 Cd 处理时表现为协同作用,高浓度 Cd 处理时则转变成拮抗作用。这可能是 Cd 处理浓度升高,植物对 Cd 胁迫的忍耐能力降低,生理机能及转营养物质的能力减弱的缘故。

Zn 与 Cd 具有相同的核外电子构型,化学性质极为相似,在自然界两者往往相伴产生。大量野外调查及实验研究证明^[30-32],缺锌条件下,植物极易吸收和累积土壤中的 Cd,而在土壤中,特别是缺锌土壤中施加锌,则会明显地降低植物对 Cd 的吸收和积累。本研究表明,土壤添加 $0.25\sim 10.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cd 时,大豆叶片中 Cd-Zn 表现一定的拮抗作用,表明 Cd 胁迫对大豆吸收和转运锌有一定的阻碍作用,同时锌是植物体内移动较慢的微量营养元素,故当土壤和营养液加 Cd 处理时,大豆叶片均呈现脉间失绿的缺锌症状。

重金属胁迫可导致植物体内活性氧含量增加,而过氧化物酶(POD)作为植物内源的活性氧清除剂,能

有效地清除活性氧使之保持较低水平,从而减少其对膜结构和功能的破坏^[33],有研究^[34]表明 POD 在 Cd 处理条件下对细胞活性氧产生的防御机制中起关键作用。本试验表明,营养液加 Cd 培养 15 d 后,叶片 POD 活性与对照比显著增加,且随 Cd 浓度的升高而增加,各浓度之间表现显著的差异性。土壤添加低浓度 Cd (0.25~0.50 mg·kg⁻¹),POD 活性与对照比差异不显著,这是土壤对 Cd 具有一定环境容量的表现。因为添加的外源 Cd 在土壤中通过溶解、沉淀、凝聚、络合吸附等各种反应而形成不同的化学形态,降低了 Cd 的生物毒性,Cd 浓度升高,土壤对 Cd 的容量达到一定的阈值后,大豆出现毒害效应,POD 活性表现为明显的上升趋势。

脯氨酸作为水溶性最大的氨基酸,具有较强的水合能力,当植物遇到干旱和盐胁迫时,它的大量积累有利于细胞或组织持水,保持正常的叶水势,是植物对逆境胁迫所做出的适应性反应。但也有研究认为^[35],逆境下脯氨酸的积累是植物伤害的症状,不宜作为一个抗性指标。本研究表明,短时间低浓度 Cd 胁迫,大豆叶片 PRO 含量明显高于对照,随着胁迫时间的延长和 Cd 浓度的增加,PRO 含量虽高于对照,但表现为下降趋势。表明 Cd 胁迫对大豆体内 PRO 的合成产生应激反应,但作为大豆 Cd 胁迫的敏感指标有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] Greger M, Lindberg S. Effects of Cd²⁺ and EDTA on young sugar beats. I: Cd²⁺ uptake and sugar accumulation[J]. *Physiol Plant*, 1986, 66: 69–74.
- [2] 崔 玮, 张芬琴, 金自学. Cd²⁺处理对两种豆科作物幼苗生长的影响[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(1): 60–63.
CUI Wei, ZHANG Fen-qin, JIN Zhi-xue. Effects of treatment with Cd²⁺ on seedling growth of two beans[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2004, 23(1): 60–63.
- [3] 黄运湘, 廖柏寒, 肖浪涛, 等. 镉处理对大豆幼苗生长及激素含量的影响[J]. 环境科学, 2006, 27(7): 137–140.
HUANG Yun-xiang, LIAO Bo-han, XIAO Lang-tao, et al. Effects of Cd²⁺ on seedling growth and phytohormone contents of *Glycine max*[J]. *Environmental Science*, 2006, 27(7): 137–140.
- [4] 刘传娟, 刘凤枝, 蔡彦明, 等. 不同种类蔬菜苗期对镉的敏感性研究[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(9): 1789–1794.
LIU Chuan-juan, LIU Feng-zhi, CAI Yan-ming, et al. Sensitivity of different vegetable seedlings to cadmium[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(9): 1789–1794.
- [5] 吴启堂, 陈 卢, 王广寿, 等. 水稻不同品种对 Cd 吸收累积的差异和机理研究[J]. 生态学报, 1999, 19(1): 104–107.
WU Qi-tang, CHEN Lu, WANG Guang-shou, et al. Differences on Cd uptake and accumulation among rice cultivars and its mechanism[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 1999, 19(1): 104–107.
- [6] Belimov A A, Safronova V I, Tsyganov V E, et al. Genetic variability in tolerance to cadmium and accumulation of heavy metals in pea (*Pisum-sativum* L.) [J]. *Euphytica*, 2003, 131: 25–35.
- [7] Salt D E, Prince R C, Pickering I J, et al. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard[J]. *Plant Physiol*, 1995, 109: 1427–1433.
- [8] Blamey F P C, Joyce D C, Edwards D G, et al. Role of trichomes in sunflower tolerance to manganese toxicity[J]. *Plant Soil*, 1986, 91: 171–180.
- [9] 杨居荣, 黄 翌. 植物对重金属的耐性机理[J]. 生态学报, 1994, 13(6): 20–26.
YANG Ju-rong, HUANG Yi. Mechanism of heavy metal tolerance of plants[J]. *Journal of Ecology*, 1994, 13(6): 20–26.
- [10] Grill E, Winnacker E L, Zenk M H. Phytochelatins, a class of heavy-metal-binding peptides from plant, are functionally analogous to metallothioneins[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84: 439–443.
- [11] Gupta S C, Goldsbrough P B. Phytochelatin accumulation and cadmium tolerance in selected tomato cell lines[J]. *Plant Physiology*, 1991, 97: 306–312.
- [12] Elstner E f. Oxygen activation and oxygen toxicity [J]. *Ann Rev Plant Physiol*, 1992, 43(2): 73–96.
- [13] 黄 辉, 李 升, 郭娇丽. 镉胁迫对玉米幼苗抗氧化系统及光合作用的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(2): 211–215.
HUANG Hui, LI Sheng, GUO Jiao-li. The influence of cadmium (Cd²⁺) to the antioxidant system and photosynthesis of seedling of *Zea mays* L. [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(2): 211–215.
- [14] Jimenez A, Hernandez J A, del Rio L A, et al. Evidence for the presence of the ascorbate-glutathione cycle in mitochondria and peroxisomes of pea leaves[J]. *Plant Physiology*, 1997, 114: 275–284.
- [15] 徐勤松, 施国新, 杜开和. 镉胁迫对水车前叶片抗氧化酶系统和显微结构的影响[J]. 农村生态环境, 2001, 17(2): 30–34.
XU Qin-song, SHI Guo-xin, DU Kai-he. Effect of Cd²⁺ on antioxidase system and ultra-structure of *Ottelia alismoides* (L.) pers. leaves[J]. *Rural Eco-Environment*, 2001, 17(2): 30–34.
- [16] 黄运湘, 廖柏寒, 王志坤. 不同大豆品种镉毒害效应及耐镉差异性[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2008, 34(5): 519–524.
HUANG Yun-xiang, LIAO Bo-han, WANG Zhi-kun. Cadmium toxicity and differences in tolerance to cadmium of various soybean varieties [J]. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2008, 34(5): 519–524.
- [17] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999: 30–32.
LIU Ru-kun. Analytical methods of soil and agro-chemistry [M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1999: 30–32.
- [18] 朱广廉, 钟海文, 张爱琴. 植物生理学实验[M]. 北京: 北京大学出版社, 1990.
ZHU Guang-lian, ZHONG Hai-wen, ZHANG Ai-qin. Experimentation in plant physiology [M]. Beijing: Beijing University Press, 1990.

- [19] 许嘉琳, 鲍子平, 杨居荣, 等. 农作物体内铅、镉、铜的化学形态研究[J]. 应用生态学报, 1991, 2(3): 244-248.
XU Jia-lin, BAO Zi-ping, YANG Ju-rong. Chemical forms of Pb, Cd and Cu in crops [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1991, 2(3): 244-248.
- [20] 韩碧文. 植物生理生化进展(第三版)[M]. 北京: 科学出版社, 1984: 125-127.
HAN Bi-wen. *Advances of physiology and biochemistry in plant* (third edition) [M]. Beijing: Science Press, 1984: 125-127.
- [21] Marschner H. Mineral nutrition of higher plants (2nd ed.) [M]. Academic Press, 1995: 347-364.
- [22] Scandalios J G. Oxygen stress and superoxide dismutase[J]. *Plant Physiology*, 1993, 101(1): 7-12.
- [23] Bower C, Montagu M V, et al. Superoxide dismutase and stress tolerance[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol-Biol*, 1992, 43: 83-116.
- [24] 赵中秋, 朱永官, 蔡运龙. 镉在土壤、植物系统中的迁移转化及其影响因素[J]. 生态环境, 2005, 14(2): 282-286.
ZHAO Zhong-qiu, ZHU Yong-guan, CAI Yun-long. Transport and transformation of cadmium in soil-plant systems and the influence factors[J]. *Ecology and Environment*, 2005, 14(2): 282-286.
- [25] 张玉秀, 柴团耀, Gerard Burkard. 植物耐重金属机理研究进展[J]. 植物学报, 1999, 41(5): 453-457.
ZHANG Yun-xiu, CHAI Tuan-yao, Gerard Burkard. Advances of tolerance mechanism to heavy metal in plants [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 1999, 41(5): 453-457.
- [26] Iskandar I K, Adriano C. Remediation of soil contaminated with metals[M]. *Advances in Environmental Science, Science Reviews*, 1997.
- [27] Yang J R, Zhang S Q. The distribution and binding of Cd and Pb in plant cell[J]. *China Environmental Science*, 1993, 13(4): 263-268.
- [28] Klobus G, Buczek J. Chlorophyll content, cells chloroplast number and cadmium distribution in Cd-treated cucumber plants[J]. *Acta Physiologica Plant*, 1985, 7(3): 139-147.
- [29] Yang J R, He J Q, Zhang G X. Tolerance mechanism of crops to Cd pollution[J]. *Chinese J Applied Ecology*, 1995, 6(1): 87-91.
- [30] Abdel-Sabour M F, Mortvedt J J, Kelsoe J J. Cadmium-zinc interactions in plants and extractable cadmium and zinc fractions in soils[J]. *Soil Science*, 1988, 145(6): 424-431.
- [31] Oliver D P, Hannam R, Tiller K G, et al. Heavy metals in the environment: The effects of zinc fertilization on cadmium concentration in wheat grain[J]. *Journal of Environmental Quality*, 1994, 23: 705-711.
- [32] Zhu Y G, Zhao Z Q, Li H Y, et al. Effect of zinc-cadmium Interactions on the uptake of zinc and cadmium by winter wheat (*Triticum aestivum*) grown in pot culture[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2003, 71: 1289-1296.
- [33] 曹锡清. 脂质过氧化对细胞与机体的作用[J]. 生物化学和生物物理进展, 1986(2): 1721.
CAO Xi-qing. Effect of lipid peroxidation on cell and organism[J]. *Advances of Biochemistry and Biophysical*, 1986(2): 1721.
- [34] 王宏斌, 王焕校, 文传浩, 等. 镉处理下不同小麦品种几种解毒机制探讨[J]. 环境科学学报, 2002, 22(4): 524-529.
WANG Hong-bin, WANG Huan-xiao, WEN Chuan-hao, et al. Some detoxication mechanisms of different wheat varieties under cadmium treatment[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2002, 22(4): 524-529.
- [35] Liu J P, Zhu J K. Proline accumulation and salt stress induced gene expression in salt-hypersensitive mutant of Arabidopsis[J]. *Plant Physiology*, 1997, 114: 591-596.