

杨 姝, 祖艳群, 李 博, 等. 不同品种紫花苜蓿氮代谢的 Cd 耐性评价及其鉴定指标筛选[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(6): 1211–1217.  
YANG Shu, ZU Yan-qun, LI Bo, et al. Cadmium tolerance evaluation and evaluation index screening in nitrogen metabolism of different alfalfa cultivars[J].  
Journal of Agro-Environment Science, 2019, 38(6): 1211–1217.

## 不同品种紫花苜蓿氮代谢的 Cd 耐性评价及其鉴定指标筛选

杨 姝<sup>1,2</sup>, 祖艳群<sup>1</sup>, 李 博<sup>1</sup>, 毕玉芬<sup>3</sup>, 何永美<sup>1</sup>, 贾 乐<sup>1</sup>, 李 元<sup>1\*</sup>

(1. 云南农业大学资源与环境学院, 昆明 650201; 2. 云南农业大学理学院, 昆明 650201; 3. 云南农业大学动物科学与技术学院, 昆明 650201)

**摘要:**为评估不同品种紫花苜蓿氮代谢对 Cd 的耐性并筛选可靠评价指标,以 20 个紫花苜蓿 (*Medicago sativa* L.) 品种为植物材料,以 0、50 mg·kg<sup>-1</sup> 两个 Cd 处理浓度为土壤条件,开展温室盆栽试验。测定各品种的株高、生物量、全氮含量、硝态氮含量、脯氨酸含量、游离氨基酸含量、可溶性蛋白含量及氮代谢关键酶(硝酸还原酶、谷氨酰胺合成酶、谷氨酸合酶和谷氨酸脱氢酶)活性指标,计算 Cd 胁迫后各指标的变化率;分析各指标变化率之间的相关性,并利用主成分分析法和隶属函数法计算各品种的综合评价指数(D),建立 D 值的回归模型并筛选 Cd 耐性的评价指标。结果显示,Cd 胁迫后,11 个指标在不同品种中的变化率各不相同,其中增幅最大的指标是品种“WL525HQ”中的硝态氮含量(122.24%),降幅最大的指标则是品种“WL525HQ”中的硝酸还原酶活性(-83.00%)。在株高、生物量、全氮含量、可溶性蛋白含量、脯氨酸含量、硝酸还原酶活性、谷氨酰胺合成酶活性和谷氨酸合酶活性 8 个指标之间,呈两两显著正相关关系( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。20 个紫花苜蓿品种中,“巨人”的 D 值最大(0.89),其氮代谢具有最强的耐 Cd 性,而“三得利”的 D 值最小(0.04),其氮代谢 Cd 耐性最弱。多元线性回归分析筛选出株高、谷氨酰胺合成酶、谷氨酸脱氢酶、硝态氮、硝酸还原酶和生物量 6 个单项指标作为评价紫花苜蓿氮代谢 Cd 耐性的主要指标,为紫花苜蓿 Cd 耐性品种的筛选与鉴定提供依据和数学模型。

**关键词:**紫花苜蓿;氮代谢;Cd 耐性;主成分分析;鉴定指标

中图分类号:X171.5 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2019)06-1211-07 doi:10.11654/jaes.2018-1137

### Cadmium tolerance evaluation and evaluation index screening in nitrogen metabolism of different alfalfa cultivars

YANG Shu<sup>1,2</sup>, ZU Yan-qun<sup>1</sup>, LI Bo<sup>1</sup>, BI Yu-fen<sup>3</sup>, HE Yong-mei<sup>1</sup>, JIA Le<sup>1</sup>, LI Yuan<sup>1\*</sup>

(1. College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. College of Science, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 3. Faculty of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

**Abstract:** To evaluate cadmium tolerance in nitrogen metabolism of different alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars, greenhouse potted experiments of 20 alfalfa cultivars were conducted, with soils treated with 0 (control) and 50 mg·kg<sup>-1</sup> cadmium stress. Eleven evaluation indexes, including plant height, biomass, total nitrogen content, nitrogenous compounds content in different forms (nitrate, proline, free amino acid, and soluble protein), and nitrogen metabolism key enzyme activities (nitrate reductase, glutamine synthetase, glutamate synthase, and

收稿日期:2018-09-02 录用日期:2018-12-07

作者简介:杨 姝(1976—),女,云南禄丰人,硕士,副教授,主要从事土壤重金属污染方面的研究工作。E-mail:zkun@sina.com

\*通信作者:李 元 E-mail:liyuan@ynau.edu.cn

基金项目:云南省重点研发专项课题:农田土壤重金属污染控制及农产品安全生产关键技术研究(2018BB017);国家自然科学基金地区基金项目(31860112);环境保护部土壤污染综合治理重大专项(YNBY2016-002);云南省农田无公害生产科技创新团队(2017HC015)

**Project supported:** The Special Project of Yunnan Province Key Research and Development (2018BB017); The National Natural Science Foundation of China (31860112); The Soil Pollution Comprehensive Treatment Major Projects of Ministry of Environmental Protection (YNBY2016-002); The Technology Innovation Team of Pollution-Free Production in Cultivated Field in Yunnan Province (2017HC015)

glutamate dehydrogenase) were measured. The change rates of the above indexes were calculated between the control and treatment groups. Correlations between each two index change rates were analyzed. The comprehensive evaluation value ( $D$ ) of each cultivar, which was used to evaluate the cadmium tolerance, was calculated based on principal component analysis and membership function method. The multiple linear regression analysis of  $D$  was then used to screen the main indexes to establish the mathematic model for the  $D$  calculation. The results showed that the change rates of all 11 indicators varied with different cultivars, among which the largest increase (122.24%) was in nitrate content and the largest decrease (-83.00%) was in nitrate reductase activity that were observed in WL525HQ. Correlation analysis showed that there were significant positive pairwise correlations ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ) among the change rates of plant height, biomass, total nitrogen content, soluble protein content, proline content, nitrate reductase activity, glutamine synthetase activity, and glutamate synthase activity. Out of the 20 alfalfa cultivars, Juren had the largest cadmium tolerance in nitrogen metabolism ( $D$  value was 0.89); whereas, Sandeli had the weakest cadmium tolerance ( $D$  value was 0.04). Based on the multiple linear regression analysis, plant height, glutamine synthetase activity, glutamate dehydrogenase activity, nitrate reductase activity, nitrate content, and biomass were screened as the main indexes. Based on these six indexes, a regression model was established, which could be used to evaluate cadmium tolerance of alfalfa.

**Keywords:** alfalfa (*Medicago sativa* L.); nitrogen metabolism; cadmium tolerance; principal component analysis; evaluation index

由于采矿业、汽车工业和农业的快速发展,目前我国土壤镉(Cd)污染问题较为严峻,其点位超标率达7.0%,在8种无机污染物中位列第一<sup>[1]</sup>。重金属Cd是一种植物非必需元素<sup>[2]</sup>,在较低水平下就能影响植物的生长及生理生化过程<sup>[3]</sup>。氮代谢是植物的重要生理过程之一,决定了植物的产量和品质<sup>[4]</sup>。Cd胁迫会影响植物的氮代谢过程<sup>[7]</sup>,导致硝酸还原酶(NR)活性受到抑制<sup>[5]</sup>,进而减缓硝态氮的同化过程<sup>[6]</sup>。Cd胁迫也会影响谷氨酰胺合成酶(GS)、谷氨酸合酶(GO-GAT)和谷氨酸脱氢酶(GDH)的活性<sup>[7-8]</sup>,从而导致氨态氮含量的变化<sup>[9]</sup>及一系列连锁反应,包括株高和生物量的变化<sup>[10]</sup>。此外也发现,一些氮代谢产物如脯氨酸、GSH和PCs在植物的Cd耐性方面起着非常重要的作用<sup>[11]</sup>。

紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)是一种优良牧草,其氮代谢过程会受Cd胁迫的影响<sup>[12]</sup>。如Cd胁迫降低了“甘农3号”苜蓿籽苗中可溶性蛋白的含量<sup>[13]</sup>。对叶片中脯氨酸含量的研究表明,随着Cd胁迫浓度的增加,“新疆大叶”苜蓿的脯氨酸含量呈现先升后降的趋势<sup>[14]</sup>,而在相同Cd浓度的胁迫下,“新疆大叶”的脯氨酸含量大于“阿尔冈金”<sup>[15]</sup>。此外,也有研究发现紫花苜蓿的氮代谢过程与其产量和品质有相关性<sup>[4]</sup>,表明氮代谢过程的Cd耐性可能是紫花苜蓿Cd耐性的一个重要表现方面。

本研究以20个紫花苜蓿品种为植物材料,以Cd胁迫前后11个氮代谢相关指标的变化率作为分析的数据基础,应用主成分分析法和隶属函数法得到综合评价值并对20个品种氮代谢的Cd耐性进行评估,同时利用多元线性回归法构建各单项指标与综合评价

值之间的数学模型,筛选出最能体现氮代谢Cd耐性的评价指标,以构建紫花苜蓿氮代谢Cd耐性的评价体系,为筛选紫花苜蓿的耐Cd品种及Cd污染土壤的治理及综合利用提供研究材料和研究模型。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

盆栽用土壤取自昆明市云南农业大学农场(25°14'30" N, 102°56'27" E),红壤土,pH值6.83,有机质含量为30.18 g·kg<sup>-1</sup>,全氮含量为2.68 g·kg<sup>-1</sup>,碱解氮含量为56.73 mg·kg<sup>-1</sup>,全磷含量为14.21 g·kg<sup>-1</sup>,速效磷含量为82.83 mg·kg<sup>-1</sup>,全钾含量为16.06 g·kg<sup>-1</sup>,速效钾含量为521.76 mg·kg<sup>-1</sup>,总Cd含量0.38 mg·kg<sup>-1</sup>,土壤过筛备用。选用的紫花苜蓿品种如表1所示,由云南农业大学动科院草业科学实验室提供,挑选大小一致且籽粒饱满的种子,用10% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>进行表面消毒10 min,再用蒸馏水冲洗多次后晾干备用。

### 1.2 试验设计

使用圆形塑料花盆(高45 cm,口内径40 cm),每盆栽土9 kg,在土壤中加入研成粉末状的CdCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O拌匀,使土壤Cd含量分别为0(CK)和50 mg·kg<sup>-1</sup>。按10 g·盆<sup>-1</sup>的量加入生石灰粉末拌匀调节土壤pH值至中性。按5 g·盆<sup>-1</sup>的量施入复混通用肥(N 10%, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 10%, K<sub>2</sub>O 5%)作为底肥,用去离子水调节土壤含水量至最大持水量的60%左右,平衡两周。按8粒·盆<sup>-1</sup>的播种量,将苜蓿种子均匀撒播于盆内,待出苗至株高10 cm时,每盆留5株,其余间去。生长期常规管理,待生长至100 d时进行指标测定。每个处理设3个重复,共计120盆,随机排列放置于云南农业大学

表1 苜蓿品种名称及来源

Table 1 Origin and name of alfalfa varieties

编号 Number	名称 Name	名称代码 Code name	来源 Origin	编号 Number	名称 Name	名称代码 Name code	来源 Origin
1	国产	GC	中国	11	新牧2号	XM2	中国
2	前景	QJ	中国	12	金皇后	JHH	美国
3	多叶	DY	中国	13	陇中苜蓿	LZ	中国
4	三得利	SDL	法国	14	新疆大叶	XJDY	中国
5	游客	YK	美国	15	维多利亚	VDLY	美国
6	四季旺	SJW	中国	16	德钦	DQ	中国
7	WL525HQ	WL	美国	17	苜蓿王	MXW	美国
8	甘农1号	GN1	中国	18	草原1号	CY1	中国
9	中苜1号	ZM1	中国	19	巨人	JR	美国
10	阿尔冈金	ALGJ	美国	20	阿勒泰杂花	ALT	中国

温室大棚。

### 1.3 取样与测定

待植株生长至100 d时,测定株高。以盆为单位收获植株,用蒸馏水洗净晾干表面水分后,测定其生物量。叶片鲜样中氮代谢关键酶(NR、GS、GOGAT、GDH)活性使用酶活性测定试剂盒(Solarbio,北京索莱宝科技有限公司)测定。叶片鲜样中硝态氮含量采用5%硫酸-水杨酸提取比色法测定<sup>[4,11]</sup>,总游离氨基酸采用茚三酮溶液显色法测定<sup>[16]</sup>,可溶性蛋白采用考马斯亮蓝法测定<sup>[17]</sup>,脯氨酸含量采用酸性茚三酮法测定<sup>[18]</sup>。整株鲜样放入真空干燥箱内105℃杀青30 min,而后将温度调至70℃烘至恒质量,研磨干样至粉末状并过筛后,使用凯式定氮法测定植株总氮含量<sup>[19]</sup>。

### 1.4 数据处理

试验数据采用Microsoft Excel进行常规计算及分析,相关性分析、主成分分析和多元线性回归分析采用SPSS软件处理。

$$RC_i = \frac{\text{Cd处理下指标}_i - \text{对照条件指标}_i}{\text{对照条件指标}_i} \times 100\% \quad (1)$$

$$U_{ij} = \frac{(C_{ij} - C_{\min})}{(C_{\max} - C_{\min})} \quad (2)$$

$$W_j = \frac{P_j}{\sum_{j=1}^n P_j} \quad (3)$$

$$D_i = \sum_{j=1}^n (U_{ij} \times W_j) \quad (4)$$

式中, $RC_i$ 为第*i*个品种在Cd胁迫下的指标变化率。 $U_{ij}$ 为第*i*个品种在*j*公因子中的隶属函数值, $C_{ij}$ 表示第*i*个品种在第*j*公因子中的得分, $C_{\min}$ 表示所有品种在第*j*公因子中的最小得分, $C_{\max}$ 表示所有品种在第

*j*个公因子中的最大得分。 $W_j$ 为第*j*个公因子的权重系数, $P_j$ 为第*j*个公因子的贡献率。 $D_i$ 为第*i*个品种的综合评价值。下标*i*表示受试紫花苜蓿品种的编号,取值为1,2,3,⋯,20,下标*j*指主成分分析提取的公因子数(主成分数),在本论文中的取值为1、2。

## 2 结果与分析

### 2.1 Cd胁迫下紫花苜蓿氮代谢指标的变化率

在外源添加Cd浓度为50 mg·kg<sup>-1</sup>时,与对照相比,20个紫花苜蓿品种的株高、生物量、氮含量、氮代谢酶活性、可溶性蛋白含量、游离氨基酸含量、脯氨酸含量和硝态氮含量等11个指标均有不同程度的变化(图1)。其中,株高增加最大的品种是“巨人”(58.18%),而减少最大的品种是“中苜1号”(-24.94%)。从生物量看,增加和降低幅度最大的品种分别是“新牧2号”(58.64%)和“游客”(-21.04%)。结果显示,全氮含量的变化范围在16.04%~30.01%之间,增加最大的品种为“苜蓿王”,而减小最大的品种为“多叶”。从可溶性蛋白含量看,品种“德钦”增加最多,增幅达36.18%,而品种“四季旺”降幅最大,达-34.85%。各品种游离氨基酸含量也有较大变化,其中增幅最大品种是“前景”,达49.60%,而降幅最大品种为“多叶”,达-45.52%。脯氨酸含量的变化范围为89.63%~35.76%,最大增幅和降幅的品种分别为“国产”和“中苜1号”。硝态氮含量变化幅度也较大,其中增幅最大和降幅最大的品种为“WL525HQ”和“金皇后”,其值分别达122.24%和-68.30%。氮代谢关键酶NR、GS、GOGAT和GDH活性的指标变化率范围分别为66.68%(新牧2号)~83.00%(WL525HQ)、76.36%(草原1号)~45.71%(三得利)、97.79%(国产)~73.22%(游

客)和75.44%(国产)~-74.97%(WL525HQ)。

## 2.2 各氮代谢指标间的相关性分析

分析20个紫花苜蓿品种在Cd胁迫下各项指标变化率的相关性(表2)。结果显示,在株高、生物量、全氮含量、NR活性和GOGAT活性这5个指标之间,两两均呈极显著正相关关系( $P<0.01$ ),GS活性与可溶性蛋白含量、脯氨酸含量之间互呈显著正相关关系( $P<0.05$ )。而硝态氮含量则与株高、生物量、全氮含量、游离氨基酸含量、NR活性、GS活性和GOGAT活性呈极显著负相关关系( $P<0.01$ ),与可溶性蛋白含量、脯氨酸含量和GDH活性呈显著负相关关系( $P<0.05$ )。此外,GDH活性与GOGAT活性之间呈极显著正相关关系( $P<0.01$ ),与全氮含量、可溶性蛋白含量、游离氨基酸含量和脯氨酸含量呈显著正相关关系( $P<0.05$ )。

## 2.3 主成分分析

使用SPSS软件对20个品种中11个指标的变化率进行主成分分析并提取关键因子(表3)。结果表明,第一主成分的特征根为7.376,贡献率达67.053%,第二主成分的特征根为1.007,贡献率为9.158%,从第三主成分开始,其特征根均小于1。第一和第二主成分的累积贡献率达76.212%,已大于75%,因此可将原有的11个指标降维整合为2个因子,这两个因子是新的相互独立的综合指标,能概括原始指标携带的绝大部分信息。

由成分得分系数发现(图2),主成分1的值与指标株高、生物量、全氮、NR和GS呈正相关关系,而与指标游离氨基酸、可溶性蛋白、脯氨酸、硝态氮、GOGAT和GDH呈负相关关系,其中株高、生物量和GDH的载荷较大,分别为0.329、0.306和-0.327。主成分2

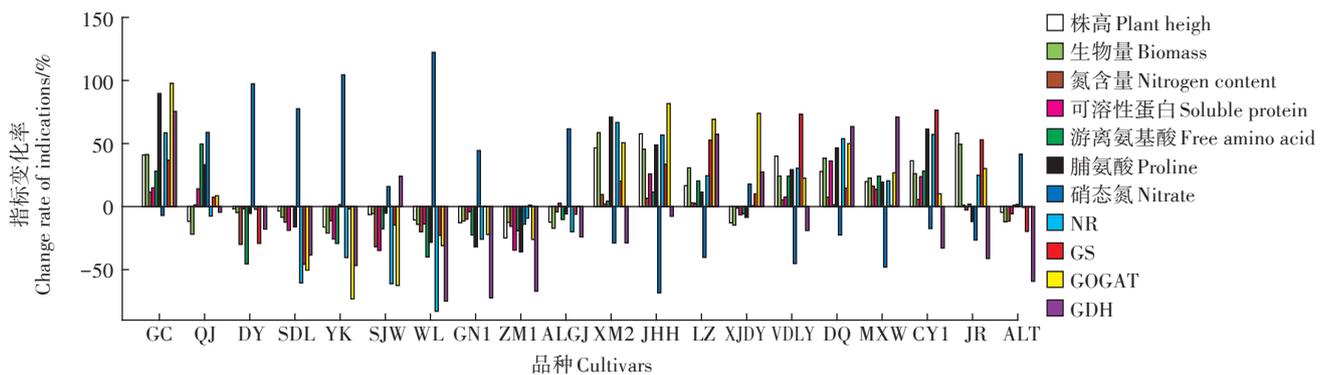


图1 Cd胁迫下20个紫花苜蓿品种的指标变化率

Figure 1 Index change rates of 20 alfalfa cultivars under Cd stress

表2 Cd胁迫下20个紫花苜蓿氮代谢相关指标变化率的相关性分析

Table 2 Correlation analysis of indicators change rate in nitrogen metabolism of 20 alfalfa cultivars under Cd stress

指标 Indicator	株高 Plant height	生物量 Biomass	全氮 Total nitrogen	可溶性蛋白 Soluble protein	游离氨基酸 Free amino acid	脯氨酸 Proline	硝态氮 Nitrate	NR	GS	GOGAT	GDH
株高	1.000										
生物量	0.950**	1.000									
全氮	0.662**	0.667**	1.000								
可溶性蛋白	0.635**	0.585**	0.745**	1.000							
游离氨基酸	0.499*	0.441	0.775**	0.607**	1.000						
脯氨酸	0.699**	0.687**	0.695**	0.714**	0.663**	1.000					
硝态氮	-0.721**	-0.777**	-0.682**	-0.473*	-0.599**	-0.507*	1.000				
NR	0.790**	0.818**	0.777**	0.755**	0.594**	0.794**	-0.778**	1.000			
GS	0.708**	0.661**	0.654**	0.518*	0.599**	0.549*	-0.715**	0.723**	1.000		
GOGAT	0.650**	0.687**	0.731**	0.711**	0.542*	0.634**	-0.658**	0.813**	0.571**	1.000	
GDH	0.318	0.415	0.480*	0.466*	0.480*	0.524*	-0.474*	0.441	0.247	0.598**	1.000

注:\*在0.05水平(双侧)上显著相关;\*\*在0.01水平(双侧)上显著相关。

Note:\* Significant correlation at  $P<0.05$ (Two-tailed);\*\* Significant correlation at  $P<0.01$ (Two-tailed).

表3 主成分的特征根和贡献率

Table 3 Eigenvalue and contribution rates of principal components

成分 Factor	特征根 Eigenvalue	方差百分比/% Variance percent	累积贡献率/% Contribution rates	成分 Factor	特征根 Eigenvalue	方差百分比/% Variance percent	累积贡献率/% Contribution rates
1	7.376	67.053	67.053	7	0.225	2.045	96.410
2	1.007	9.158	76.212	8	0.180	1.638	98.048
3	0.689	6.265	82.477	9	0.149	1.352	99.400
4	0.623	5.667	88.145	10	0.043	0.391	99.791
5	0.410	3.730	91.875	11	0.023	0.209	100.000
6	0.274	2.491	94.366				

的值与全氮、可溶性蛋白、游离氨基酸、脯氨酸、硝态氮、NR、GOGAT和GDH呈正相关关系,而与株高、生物量和GS活性呈负相关关系,其中可溶性蛋白、游离氨基酸和GDH的载荷较大,分别为0.247、0.293和0.512。

2.4 Cd耐性综合评价

根据成分得分系数,各品种在两个因子中的分值( $C_{ij}$ )计算函数分别为:

$$C_{i1}=0.329 \times \text{株高} + 0.306 \times \text{生物量} + 0.004 \times \text{全氮} - 0.065 \times \text{可溶性蛋白} - 0.113 \times \text{氨基酸} - 0.021 \times \text{脯氨酸} - 0.223 \times \text{硝态氮} + 0.164 \times \text{NR} + 0.295 \times \text{GS} - 0.009 \times \text{GOGAT} - 0.327 \times \text{GDH}$$

$$C_{i2}=-0.210 \times \text{株高} - 0.182 \times \text{生物量} + 0.180 \times \text{全氮} + 0.247 \times \text{可溶性蛋白} + 0.293 \times \text{氨基酸} + 0.200 \times \text{脯氨酸} + 0.092 \times \text{硝态氮} + 0.001 \times \text{NR} - 0.187 \times \text{GS} + 0.189 \times \text{GOGAT} + 0.512 \times \text{GDH}$$

利用公式(3)得出主成分1和主成分2的权重系数分别为0.880和0.120。在此基础上,根据公式(2)和(4)计算出各品种的隶属函数值( $U_{ij}$ )和综合评价价值( $D_i$ )(表4)。结果显示,在20个品种中,“巨人”的 $D_i$ 值最大,为0.89,表明其氮代谢具有最强的耐Cd性。

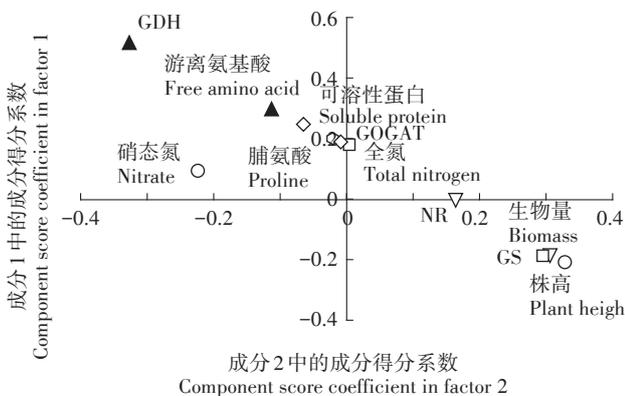


图2 氮代谢相关指标的成分得分系数

Figure 2 Component score coefficient of nitrogen metabolism-related indicators

其后依次为“金皇后”“新牧2号”“草原1号”“维多利亚”和“陇中苜蓿”,它们的 $D$ 值分别为0.87、0.84、0.81和0.80,说明它们的氮代谢均具有相对较高的耐Cd性。而“三得利”“WL525HQ”“四季旺”和“游客”几个品种的 $D_i$ 值均小于0.1,表明其氮代谢对Cd的胁迫较为敏感。

2.5 D值的回归模型及评价指标筛选

为分析各指标变化率与试验品种Cd耐性间的关系,筛选较为可靠的紫花苜蓿Cd耐性鉴定指标,以Cd耐性综合评价价值( $D$ )作为因变量,把在Cd胁迫下各单项指标的变化率视为自变量,开展多元线性逐步

表4 20个紫花苜蓿品种氮代谢指标的主成分得分和综合得分  
Table 4 Principal component scores and synthesis score of 20 alfalfa cultivars

编号 Number	名称 Name	$C_{i1}$	$C_{i2}$	$U_{i1}$	$U_{i2}$	$D_i$
19	巨人	73.32	-51.25	1.00	0.05	0.89
12	金皇后	65.15	-0.73	0.92	0.46	0.87
11	新牧2号	63.52	-14.40	0.91	0.35	0.84
18	草原1号	60.42	-15.76	0.88	0.34	0.81
15	维多利亚	59.45	-20.39	0.87	0.30	0.80
13	陇中苜蓿	21.35	29.20	0.50	0.71	0.52
1	国产	16.55	65.46	0.45	1.00	0.52
16	德钦	14.39	44.37	0.43	0.83	0.48
9	中苜1号	17.19	-57.41	0.46	0.00	0.40
17	苜蓿王	0.30	45.78	0.29	0.84	0.36
8	甘农1号	5.48	-48.22	0.34	0.07	0.31
20	阿勒泰杂花	-0.84	-22.57	0.28	0.28	0.28
14	新疆大叶	-18.07	28.01	0.12	0.70	0.18
10	阿尔冈金	-19.15	-4.19	0.10	0.43	0.14
3	多叶	-21.64	-13.82	0.08	0.35	0.11
2	前景	-28.59	34.68	0.01	0.75	0.10
5	游客	-21.46	-37.24	0.08	0.16	0.09
6	四季旺	-24.76	-13.57	0.05	0.36	0.09
7	WL525HQ	-24.71	-48.39	0.05	0.07	0.05
4	三得利	-29.99	-21.29	0.00	0.29	0.04

回归分析,得到相应的回归方程:

$$D=0.331+0.002\times\text{株高}+0.002\times\text{GS}-0.002\times\text{GDH}-0.002\times\text{硝态氮}+0.001\times\text{NR}+0.003\times\text{生物量}$$

其中,方程决定系数 $R^2=0.999$ , $P=0.000$ 。从方程中发现,株高、GS、GDH、硝态氮、NR和生物量这6个指标对 $D$ 值有显著影响,即这6个指标的变化率能较好地体现紫花苜蓿氮代谢对Cd胁迫的耐性,通过该方程计算Cd耐性综合评价价值( $D$ ),可初步预测不同紫花苜蓿品种氮代谢对Cd胁迫的耐性。

### 3 讨论

研究表明,Cd胁迫下紫花苜蓿的株高、根长、根质量、地上部质量等指标会发生变化<sup>[20]</sup>,这种变化存在品种差异,一些耐性强的品种表现为增加,而一些耐性弱的品种表现为降低<sup>[21]</sup>。在本试验中Cd胁迫导致9个品种的株高增加而11个品种的株高下降,生物量的变化趋势与此相同,说明紫花苜蓿对Cd的耐性可较直观地通过株高和生物量指标的变化率表现出来。在Cd胁迫下,植物的生长会因氮同化酶(NR、NiR、GS)活性受到抑制而减缓<sup>[14]</sup>,对紫花苜蓿的研究则发现其氮含量对其生物量的形成有着直接的影响<sup>[22]</sup>。在本试验中,Cd处理后20个品种的株高变化率和NR、GS、GOGAT活性变化率均呈显著正相关关系( $P<0.01$ ),20个品种的生物量变化率和NR、GS、GOGAT活性变化率及总氮含量变化率之间也呈显著正相关关系( $P<0.01$ ),这与前人研究结果相符。表明Cd胁迫对紫花苜蓿生长的影响可能是通过对氮代谢过程的影响来实现的。

脯氨酸、游离氨基酸和可溶性蛋白是氮代谢过程的重要代谢产物。通过抗脂质过氧化、保护酶活性和维持生物膜完整性,脯氨酸能够调节渗透压以应对Cd胁迫<sup>[23]</sup>,本研究发现,20个品种的脯氨酸含量变化率与株高和生物量变化率均呈显著正相关关系( $P<0.01$ ),这也印证了Cd胁迫条件下,紫花苜蓿可通过体内脯氨酸含量的增加来抵御Cd毒<sup>[18]</sup>。Cd胁迫也会影响植株中游离氨基酸和可溶性蛋白的含量<sup>[16,24]</sup>,游离氨基酸含量的增加有利于植物对逆境的抵御,可溶性蛋白含量的增加有助于维持细胞代谢的正常进行,还可能合成一类能与Cd特异结合的蛋白质或多肽,从而减轻毒害<sup>[25]</sup>。在本试验中,20个品种的游离氨基酸含量变化率与总氮含量变化率呈显著相关( $P<0.01$ ),可溶性蛋白含量变化率与株高、生物量和总氮含量变化率均呈显著正相关( $P<0.01$ ),也验证了前人

研究结果。可见,氮代谢过程产物脯氨酸、游离氨基酸和可溶性蛋白可作为考察紫花苜蓿Cd耐性的重要指标。在相同浓度的Cd胁迫下,Cd耐性强的品种其脯氨酸、游离氨基酸和可溶性蛋白含量相对较高。

氮代谢过程的Cd耐性是紫花苜蓿Cd耐性的一个重要表现方面。氮代谢过程的相关指标可作为评估紫花苜蓿Cd耐性的重要参考依据。氮代谢过程非常复杂,所涉及的指标也较多<sup>[8]</sup>,且指标与指标之间也存在着相互联系和相互影响的关系,因此不能片面地采用某个单一指标对紫花苜蓿氮代谢的Cd耐性进行评估。只有将多个具有代表性的指标进行综合分析,其结果才具有一定的说服力和可借鉴性<sup>[26]</sup>。主成分分析可将原来数量较多的单项指标转换成新的个数较少且彼此独立的综合指标,进一步利用模糊数学的隶属函数分析法求出各综合指标评价价值( $D$ 值)<sup>[27]</sup>,比较客观地反映各参试品种的Cd耐性。在本实验中,紫花苜蓿的11个氮代谢相关指标被转换成2个新的相互独立的综合指标,这2个指标概括了原始指标携带的绝大部分信息,结合隶属函数法,可以较为方便地对紫花苜蓿氮代谢的Cd耐性进行评估。

### 4 结论

氮代谢过程的Cd耐性可作为衡量紫花苜蓿Cd耐性的一个重要依据。11个氮代谢相关指标经主成分分析降维为2个新的独立的指标,以此计算得到的综合评价价值( $D$ )显示品种“巨人”和“三得利”分别具有最强和最弱的氮代谢Cd耐性。 $D$ 值的线性回归分析显示株高、GS、GDH、硝态氮、NR和生物量6个单项指标可作为评价紫花苜蓿氮代谢Cd耐性的主要指标,为紫花苜蓿Cd耐性品种的筛选与鉴定提供依据和数学模型。

#### 参考文献:

- [1] 庄国泰. 我国土壤污染现状与防控策略[J]. 中国科学院院刊, 2015, 30(4):477-483.  
ZHUANG Guo-tai. Current situation of national soil pollution and strategies on prevention and control[J]. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences*, 2015, 30(4):477-483.
- [2] Murakami M, Ae N, Ishikawa S, et al. Phytoextraction by a high-Cd-accumulating rice: Reduction of Cd content of soybean seeds[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(16):6167-6172.
- [3] Yong Y, Zhang F S, Li H F, et al. Accumulation of cadmium in the edible parts of six vegetable species grown in Cd-contaminated soils[J]. *Journal of Environmental Management*, 2009, 90(2):1117-1122.
- [4] Zhou X, Song H, Wang J. Effects of coumarin on net nitrate uptake and

- nitrogen metabolism in roots of alfalfa (*Medicago sativa*) [J]. *Allelopathy Journal*, 2013, 31(2):377-386.
- [5] Wahid A, Ghani A, Ali I, et al. Effects of cadmium on carbon and nitrogen assimilation in shoots of mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] seedlings [J]. *Journal of Agronomy & Crop Science*, 2007, 193(5):357-365.
- [6] Wang L, Zhou Q, Ding L, et al. Effect of cadmium toxicity on nitrogen metabolism in leaves of *Solanum nigrum* L. as a newly found cadmium hyperaccumulator [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 154(1/2/3):818-825.
- [7] Erdal S, Turk H. Cysteine-induced upregulation of nitrogen metabolism-related genes and enzyme activities enhance tolerance of maize seedlings to cadmium stress [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2016, 132(12):92-99.
- [8] Sharma A, Sainger M, Dwivedi S, et al. Genotypic variation in *Brassica juncea* (L.) Czern. cultivars in growth, nitrate assimilation, antioxidant responses and phytoremediation potential during cadmium stress [J]. *Journal of Environmental Biology*, 2010, 31(5):773-780.
- [9] Gouia H, Ghorbal M H, Meyer C. Effects of cadmium on activity of nitrate reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean [J]. *Plant Physiology & Biochemistry*, 2000, 38(7/8):629-638.
- [10] Mobin M. Effects of cadmium-induced oxidative stress on growth and nitrogen assimilation in blackgram [*Vigna mungo* (L.) Hepper] [J]. *Journal of Agricultural Sciences*, 2013, 58(1):31-39.
- [11] Sharma S S, Dietz K J. The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57(4):711-726.
- [12] 杨 姝, 李 元, 毕玉芬, 等. 紫花苜蓿对Cd胁迫的响应及品种差异研究进展 [J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(8):1453-1461.  
YANG Shu, LI Yuan, BI Yu-fen, et al. Response and intraspecific differences of alfalfa to cadmium (Cd) stress [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(8):1453-1461.
- [13] 尹国丽, 师尚礼, 寇江涛, 等. Cd胁迫对紫花苜蓿种子发芽及幼苗生理生化特性的影响 [J]. 西北植物学报, 2013, 33(8):1638-1644.  
YIN Guo-li, SHI Shang-li, KOU Jiang-tao, et al. Seed germination and physiological and biochemical characteristics of alfalfa under cadmium stress [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2013, 33(8):1638-1644.
- [14] 孙宁晓, 宋桂龙. 紫花苜蓿对镉胁迫的生理响应及积累特性 [J]. 草业科学, 2015, 32(4):581-585.  
SUN Ning-xiao, SONG Gui-long. Physiological response of *Medicago Sativa* to cadmium stress and accumulation property [J]. *Pratacultural Science*, 2015, 32(4):581-585.
- [15] 韩多红, 孟红梅, 王 进, 等. 镉对紫花苜蓿种子萌发等生理特性的影响 [J]. 干旱地区农业研究, 2007, 25(5):151-154, 171.  
HAN Duo-hong, MENG Hong-mei, WANG Jin, et al. Effect of Cd<sup>2+</sup> on physiological characteristics of alfalfa [J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2007, 25(5):151-154, 171.
- [16] Huang H, Xiong Z T. Toxic effects of cadmium, acetochlor and bensulfuron-methyl on nitrogen metabolism and plant growth in rice seedlings [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2009, 94(2/3):64-67.
- [17] Koç E. Effect of exogenously applied salicylic acid on cadmium chloride (CdCl<sub>2</sub>) induced oxidative stress and nitrogen metabolism in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) [J]. *Turkish Journal of Biology*, 2014, 89(6):573-579.
- [18] Mahmood S, Malik S A, Tabassum A, et al. Biometric and biochemical attributes of alfalfa seedlings as indicators of stress induced by excessive cadmium [J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2014, 14(3):546-553.
- [19] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000:186-192.  
LI He-sheng. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiments [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000:186-192.
- [20] Laura Flores-Caceres M, Hattab S, Hattab S, et al. Specific mechanisms of tolerance to copper and cadmium are compromised by a limited concentration of glutathione in alfalfa plants [J]. *Plant Science*, 2015, 233(4):165-173.
- [21] Wang X, Song Y, Ma Y, et al. Screening of Cd tolerant genotypes and isolation of metallothionein genes in alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. *Environmental Pollution*, 2011, 159(12):3627-3633.
- [22] 叶 芳, 刘晓静, 张进霞. 氮素形态对‘甘农3号’苜蓿不同生育期氮代谢的影响 [J]. 草地学报, 2015, 23(2):285-293.  
YE Fang, LIU Xiao-jing, ZHANG Jin-xia. Effects of nitrogen forms on nitrogen metabolism of alfalfa Gannong No. 3 variety at different growth stages [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2015, 23(2):285-293.
- [23] Dhir B, Sharmila P, Saradhi PP. Hydrophytes lack potential to exhibit cadmium stress induced enhancement in lipid peroxidation and accumulation of proline [J]. *Aquatic Toxicology*, 2004, 66(2):141-145.
- [24] Ma Q, Cao X, Tan X, et al. Effects of cadmium stress on pakchoi (*Brassica chinensis* L.) growth and uptake of inorganic and organic nitrogenous compounds [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2017, 137(5):49-57.
- [25] 张金彪, 周碧青, 黄维南. 镉胁迫对草莓氮代谢及果实品质的影响 [J]. 热带作物学报, 2009, 30(11):1624-1629.  
ZHANG Jin-biao, ZHOU Bi-qing, HUANG Wei-nan. Effect of cadmium stress on nitrogen metabolism and fruit quality of strawberry [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2009, 30(11):1624-1629.
- [26] 何雪娇, 余智城, 林金水, 等. 40份热带花卉种质资源的抗冷性综合评价 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2018, 16(8):1-9.  
HE Xue-jiao, YU Zhi-cheng, LIN Jin-shui, et al. Comprehensive evaluation on cold resistance of forty tropical flower germplasm resources [J]. *Journal of Northwest A&F University*, 2018, 16(8):1-9.
- [27] 武 辉, 侯丽丽, 周艳飞, 等. 不同棉花基因型幼苗耐寒性分析及其鉴定指标筛选 [J]. 中国农业科学, 2012, 45(9):1703-1713.  
WU Hui, HOU Li-li, ZHOU Yan-fei, et al. Analysis of chilling-tolerance and determination of chilling-tolerance evaluation indicators in cotton of different genotypes [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(9):1703-1713.