

镉胁迫对旱柳矿质营养吸收的影响

杨卫东, 陈益泰, 王树凤

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400)

关键词: 旱柳; 矿质营养; 硝态氮; 硝酸还原酶

中图分类号: S718.43

文献标识码: A

Effects of Cadmium Stress on Mineral Nutrient Uptake of *Salix matsudana*

YANG Weidong, CHEN Yitai, WANG Shufeng

(Research Institute of Subtropical Forestry, CAF, Fuyang 311400 Zhejiang China)

Abstract Effect of cadmium (Cd) on the uptake of mineral nutrient in *Salix matsudana* was investigated in hydroponic culture with different Cd treatments (0, 5, 25, 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) for 14 d. Cd treatment did not significantly affect K uptake in roots, in leaves, K content was increased by 5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd, however, no significant change was observed when treated with 25–50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd. In contrast, P uptake in roots was inhibited at all Cd levels, P content in leaves was decreased by 25–50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd. Ammonium content was elevated in roots but decreased in leaves under all Cd treatments. Nitrate content of roots and leaves showed a slight increase compared with the control. In roots, low Cd (5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) enhanced the increase in NR activity, but didn't markedly change at 25–50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd. NR activity of leaves was reduced in all Cd levels compared to the control. Concentrations of Zn and Mn in roots and leaves decreased with the increase of Cd in the medium. Fe concentration in roots was reduced by Cd, but translocation of Fe from roots to leaves increased in high level of Cd. Cu content was little influenced by Cd. These results suggested that Cd toxicity led to disruption of mineral nutrient uptake in *S. matsudana*.

Key words *Salix matsudana*; cadmium stress; mineral nutrient; nitrate; nitrate reductase

随着工农业的发展, 重金属引起的环境污染越来越严重。镉 (Cd) 是对人类、动物、植物都具有较强毒性的二价重金属, 易进入食物链中, 危及人类健康。柳树 (*Salix* spp.) 被认为是 Cd 高积累型植物, 欧美等一些国家通过柳树短轮伐矮林化栽培模式修复 Cd 等重金属污染, 生物质用作生物能源, 把可再生能源生产和植物修复结合起来, 取得显著的生态效益与经济效益^[1]。矿质营养元素影响植物生长和发育, 但 Cd 抑制植物生长, 干扰植物对大量元素和微量元素吸收和利用^[2]。在许多植物中已经发现, Cd 影响植物对大量元素 K、P 吸收和利用。Cd 干扰冰花 (*Mesembry-*

anthemum crystallinum L.) 等植物对 K 吸收和利用^[3], Cd 等重金属降低了椰子 (*Cocos nucifera* L.) 叶 P 含量^[4]。Cd 也影响植物氮代谢。Cd 使水稻 (*Oryza sativa* L.) N 含量及 NR 活性降低, 也降低了小白菜 (*Brassica chinensis* L.) 对 NO_3^- 吸收^[5-6]。Cd 也引起植物对 Zn、Mn、Cu 和 Fe 等矿质微量元素吸收的紊乱^[7-8]。改善植物矿质营养状况也可以促进植物对重金属的忍耐和吸收, 提高植物修复效率。增施铵态氮肥提高了向日葵 (*Helianthus annuus* L.) 对 Cd 提取效率^[9]。柳树对 Cd 吸收与生物量有关。E. Klang-Westin 等^[10]发现增施肥料使蒿柳 (*S. viminalis* L.) 和

收稿日期: 2008-06-25

基金项目: 浙江省科技厅重大项目 (2006C12065) 资助

作者简介: 杨卫东 (1976-), 男, 山东菏泽人, 硕士, 助理研究员, 主要从事抗逆育种及植物修复研究。E-mail: ywdhez@sohu.com

毛枝柳(*S. dasycardos* Wimm.)生物量增加,从而增加了柳树对Cd的总积累量。

旱柳(*S. matsudana* Koilz)是我国重要的乡土树种,许多地区都有栽培,其易繁殖,生长迅速,适应性强,提取Cd潜力大等特点,可开发利用植物修复Cd污染。本文通过水培方法,研究了在Cd胁迫下旱柳对N、P、K等大量元素以及Zn、Mn、Cu、Fe等微量元素吸收和利用的影响,旨在掌握Cd对旱柳矿质营养吸收干扰情况,为通过栽培措施提高柳树修复Cd污染效率提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 供试材料及处理

所用材料为本研究组选择的旱柳无性系1年生枝条,插条长度为8 cm,扦插于10 L塑料盆内的泡沫板上,营养液配方依照C. Watson等^[11]配方,大量元素为 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $1.25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{KNO}_3$, $0.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $0.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, $0.025 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Fe-EDTA}$; 微量元素为 H_3BO_4 $1.43 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, ZnCl_2 $0.055 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $0.03 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $0.905 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{Na}_2\text{M}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $0.015 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。连续充气,自然光照,温度为 $15 \sim 23 \text{ }^\circ\text{C}$,预培养60天后,选择大小一致扦插苗添加 CdCl_2 处理, CdCl_2 浓度为 0.5 、 2.5 、 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。每3天更换一次营养液,14天后收获植株,先用去离子水冲洗根部两次,然后用 $20 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA清洗根部,最后用去离子水清洗两次。根和叶迅速用液氮冷冻,保存于 $-70 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱内。

1.2 K及微量元素测定

植株根和叶样品在 $80 \text{ }^\circ\text{C}$ 干燥至恒质量,粉碎,

样品按照L. E. Hernández等^[12]方法消解,原子吸收分光光度计测定K、Zn、Mn、Cu、Fe等元素含量。

1.3 P测定

根和叶干样加入 4mL HNO_3 和 $1 \text{mL H}_2\text{O}_2$ 消解。依照S. K. Mukherjee等^[13]方法,用钼蓝法测定P含量。

1.4 硝态N(NO_3^-)、铵态N(NH_4^+)及硝酸还原酶(NR)测定

按照Varis等^[14]方法测定硝态N含量,V. A. Saladin等^[15]方法测定铵态N含量。根据L. E. Hernández等^[12]方法测定NR活性。

1.5 总蛋白测定

Braford方法测定总蛋白浓度,以牛血清蛋白作为标准。

1.6 数据分析

所有实验均为6次重复,利用Excel DPS7.05进行数据整理和方差分析,Duncan's法多重比较($P < 0.05$),结果表示为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 。

2 结果与分析

2.1 Cd对旱柳K、P吸收与运输的影响

K为植物生长必需的大量元素,不同Cd处理干扰旱柳根和叶对K的吸收(图1)。 $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd轻微增加根中K含量,而 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd显著降低了根中K含量,降低24% ($P < 0.05$) (图1); 低Cd ($5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 显著增加叶中K含量,而在中高浓度Cd ($25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 时没有显著影响叶中K含量 ($P < 0.05$) (图1)。P也是植物所需的大量元素,图2所示,Cd处理使旱柳根和叶对P的吸收和运输都减少,与对照相比,在 $\text{Cd} \geq 5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时降低了根对P的吸收,但是处理间差异不显著 ($P <$

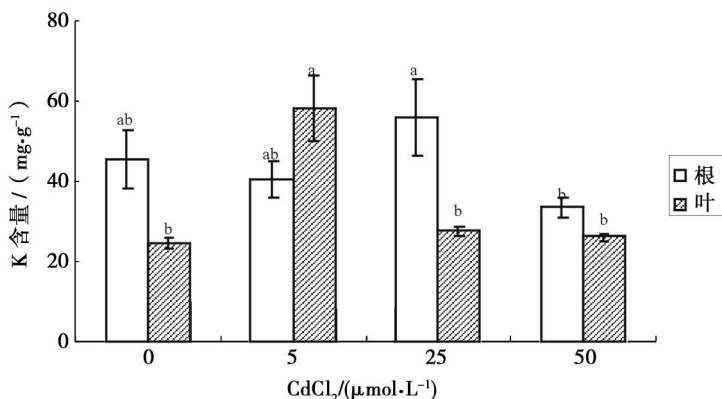


图1 Cd处理对旱柳根和叶K含量的影响

说明: Duncan's法显著性检验,不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同。

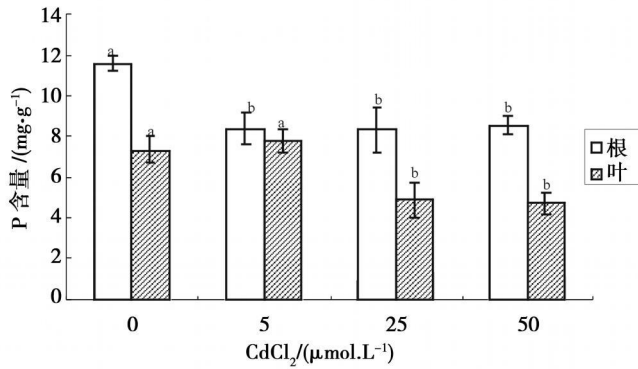


图 2 Cd处理对旱柳根和叶中 P含量的影响

0.05); 在 Cd 低剂量 ($5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 时叶中 P 含量轻微增加, 在中高剂量 Cd ($25 \sim 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 时叶中 P 含量显著降低 ($P < 0.05$)。

2.2 Cd对旱柳 N代谢的影响

图 3 为 Cd 对旱柳根和叶中氨态氮 (NH_4^+) 含量的影响。根中 NH_4^+ 含量在低浓度 Cd ($5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 时轻微增加, 但并不显著 ($P < 0.05$), 而在 Cd $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时显著增加, 分别增加 20% ($25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 23% ($50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) ($P < 0.05$); 同对照相比, 不同 Cd 处理使叶中 NH_4^+ 含量不同程度

降低, 但不同处理之间差异并不明显 ($P < 0.05$)。图 4 为 Cd 胁迫下旱柳根和叶中硝态 N (NO_3^-) 含量变化, 随着 Cd 浓度增加根和叶中 NO_3^- 含量轻微增加 (不显著 ($P < 0.05$))。硝酸还原酶 (NR) 是 N 代谢限速酶。低浓度 ($5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 显著促进旱柳根中 NR 活性增加, 而在高浓度 (Cd $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 时 NR 活性则轻微受到抑制, 但不显著 ($P < 0.05$); 同对照相比, 不同 Cd ($5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 处理显著抑制了叶中 NR 活性 ($P < 0.05$) (图 5)。

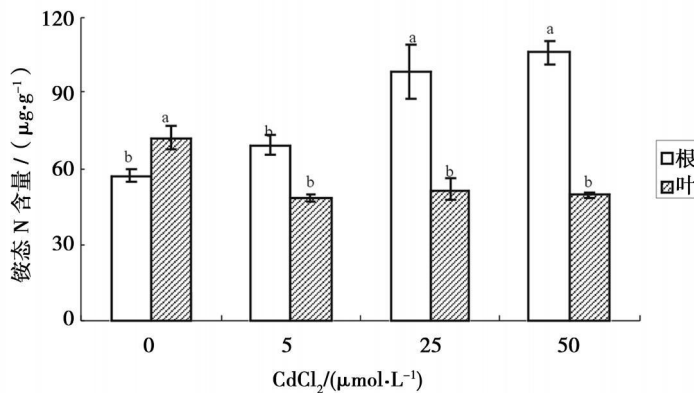


图 3 Cd处理对旱柳根和叶氨态 N含量的影响

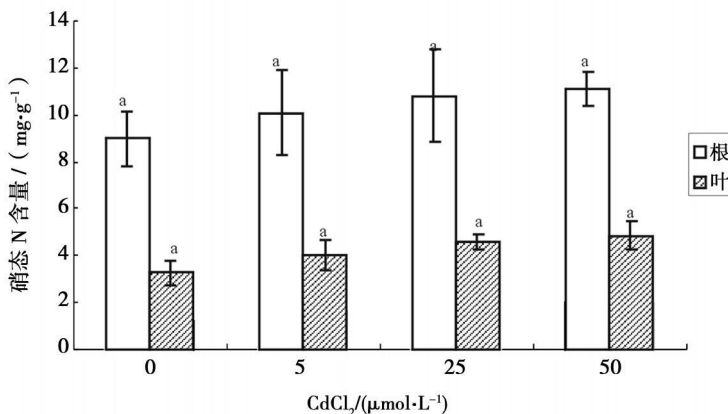


图 4 Cd处理对旱柳根和叶硝态 N含量的影响

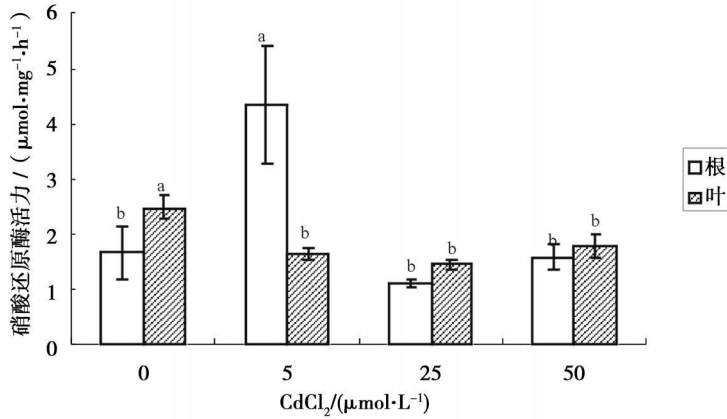


图 5 镉处理对旱柳根和叶硝酸还原酶活性的影响

2.3 Cd对旱柳矿质元素吸收与运输的影响

图 6~9 为 Cd 对旱柳矿质元素吸收和运输的影响。Cd 显著抑制 Zn 吸收和运输, 与对照相比根中 Zn 含量分别降低了 51% (5 μmol·L⁻¹ Cd)、63% (25 μmol·L⁻¹ Cd) 和 79% (50 μmol·L⁻¹ Cd); Cd 显著降低叶中 Zn 含量, 叶中 Zn 含量分别比对照降低了 17% (5 μmol·L⁻¹ Cd)、37% (25 μmol·L⁻¹ Cd)、57% (50 μmol·L⁻¹ Cd) (图 6)。Cd 显著影响 Mn 吸收和运输, 根对 Mn 吸收分别比对照降低了 81% (5 μmol·L⁻¹ Cd)、68% (25 μmol·L⁻¹ Cd) 和

89% (50 μmol·L⁻¹ Cd); 而叶中 Mn 含量分别降低 26%、38% 和 62% (图 7)。而 Cd 对 Cu 的影响不明显, 在 Cd 25 μmol·L⁻¹ Cd 时 Cd 促进根中 Cu 含量增加, 而 50 μmol·L⁻¹ Cd 时根中 Cu 含量并没有发生显著变化; Cd 对叶中 Cu 含量也没有显著影响 ($p < 0.05$) (图 8)。Cd 不同程度抑制根对 Fe 吸收, 同对照相比降低了 47%~65%; 在 25 μmol·L⁻¹ Cd 时叶中 Fe 含量增加 4.67 倍, 而在 50 μmol·L⁻¹ Cd 时增加了 3.67 倍, 表明 Cd 促进 Fe 从根部到叶部运输 (图 9)。

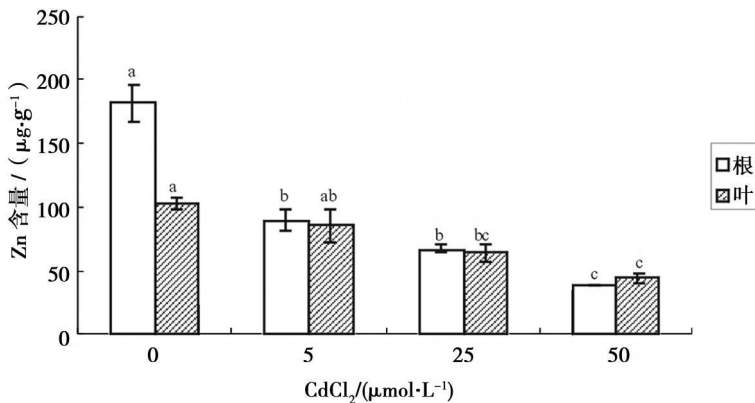


图 6 Cd处理对旱柳根和叶中 Zn含量的影响

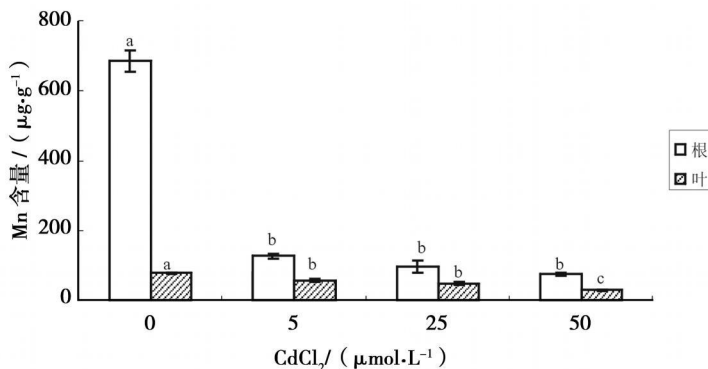


图 7 Cd处理对旱柳根和叶中 Mn含量的影响

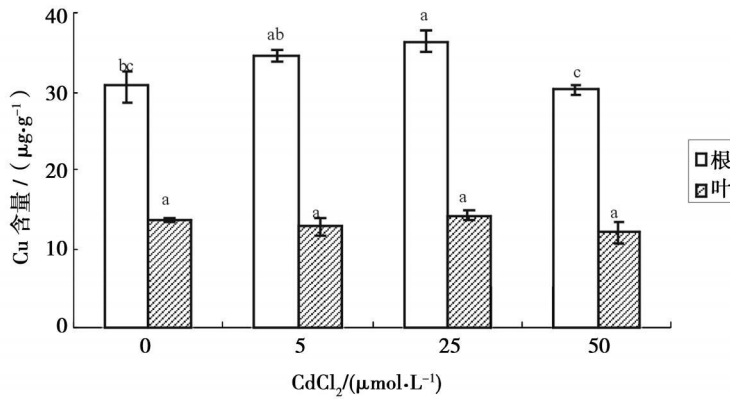


图 8 Cd处理对旱柳根和叶 Cu含量的影响

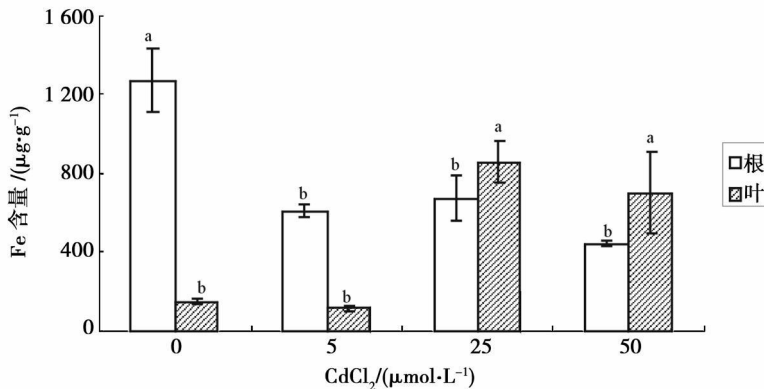


图 9 Cd处理对旱柳根和叶中 Fe含量的影响

3 小结与讨论

K 是植物生长所需的主要大量元素之一,与植物生长、蛋白质和细胞分裂素等代谢有关, K^+ 作为植物中最丰富的离子调节植物的渗透压和膨压^[16]。本研究结果发现旱柳对 K 的吸收和运输与介质中 Cd 剂量有关, Cd 没有使根中 K 含量发生显著改变,低剂量 Cd ($5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 促进叶中 K 含量增加,而在 $\text{Cd} \geq 25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时叶中 K 含量也没有显著变化。表明在旱柳中 Cd 对 K 的吸收干扰较少,可能 K 同 Cd 并没显著交互作用。但在其它植物中发现 Cd 干扰 K 的吸收,如 Cd 胁迫降低了冰花茎中 K 含量^[3]。P 也是植物生长必需的大量元素之一,本研究发现 Cd 干扰旱柳对 P 的吸收和运输。这同 C. C. Biddappa 等^[4]报道的 Cd 减少了椰子叶中的 P 含量相似。

N 作为植物必需的矿质营养元素之一,铵态 N (NH_4^+) 是供植物利用还原态 N,硝态 N (NO_3^-) 是另一种重要 N 源, NO_3^- 吸收并运输到植物后由硝酸还原酶 (NR) 还原成 NO_2^- , 亚硝酸还原酶 (NR) 催化 NO_2^- 转化为 NH_4^+ , NH_4^+ 由谷胱酰胺合成酶/谷氨

酸合成酶循环同化为氨基酸^[17]。本研究结果发现,低 Cd ($5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 使旱柳根中 NH_4^+ 含量轻微增加,中高 Cd 使根中 NH_4^+ 含量显著增加,但 Cd 对叶中 NH_4^+ 含量并没有显著影响。其它植物中也发现 Cd 影响 NH_4^+ 的含量,如 C. Chaffe 等^[2]发现 Cd 诱导番茄 (*Solanum lycopersicum* L.) NH_4^+ 含量增加。Cd 使 NH_4^+ 积累是由于 Cd 抑制谷氨酸合成酶 (GOGAT) 活性引起的, NH_4^+ 也是植物代谢中间产物,除直接吸收外还有 NO_3^- 还原产生,过高 NH_4^+ 对植物是有害的^[18]。在旱柳中观察到, Cd 处理增加根中 NH_4^+ 含量,而叶中 NH_4^+ 含量没有显著变化,可能是 Cd 胁迫促进根对 NH_4^+ 的吸收或抑制了根中 NH_4^+ 同化,减少了 NH_4^+ 从根向叶的运输。在 Cd

$5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时旱柳根和叶中 NO_3^- 含量轻微增加(但在统计上并不显著 ($P < 0.05$)). NO_3^- 作为植物主要 N 源,植物对 NO_3^- 的吸收需要 NR 参与。低 Cd 提高旱柳根中 NR 活性, Cd $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时只轻微抑制根中 NR 活性;但当 Cd $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时叶中 NR 活性降低。旱柳根和叶中 NR 活性与 NO_3^- 含量相关,根、叶中 NO_3^- 含量轻微上升,可能

是 Cd 抑制了 NR 活性, 促使根和叶中 NO_3^- 积累。本研究观察到, 低 Cd 提高了旱柳根中 NR 活性, 实际上 Cd 对植物毒害与 Cd 剂量有关, 如 I Arduin 等^[19]曾报道低剂量 Cd ($0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 促进植物生长。在许多研究中也发现 Cd 影响 NR 活性, 如 Cd 使番茄 NR 和 NR 活力降低^[21], Cd 也降低豌豆 (*Pisum sativum* L.) NR 活力^[12]。

一般认为 Cd 与 Zn、Mn、Cu 和 Fe 等二价金属元素在根吸附位点竞争吸收, Cd 对 Zn、Cu、Mn 和 Fe 等吸收与转运的影响与植物有关。在旱柳中, Cd 抑制根对 Zn 和 Mn 的吸收, 同时也抑制根部 Zn、Mn 向叶部运输。在旱柳中 Cd 与 Zn、Mn 表现为拮抗关系, Cd、Zn 属于同一族元素, 具有相似的化学性质, 它们在吸附位点存在竞争; Mn 也是植物必需的微量元素, Cd 也同 Mn 在吸附位点处竞争。仅在 $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 Cd 促进根对 Cu 的吸收, 其余 Cd 浓度并没有显著影响根中 Cu 含量, 叶中 Cu 含量受 Cd 的影响并不显著, 因此本研究难以确定旱柳中 Cd 与 Cu 的关系。Cd 抑制根对 Fe 的吸收, 但是 Cd $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时叶中 Fe 含量上升, 表明在高浓度 Cd 胁迫下促进根部 Fe 向叶部运输以满足叶对 Fe 的生理需求。实际上重金属对 P、K、Cu 等矿质元素的影响与重金属种类有关^[4]。

综上所述, 在旱柳中 Cd 对 K、P 吸收和利用的影响与植物器官及营养液中 Cd 剂量有关, 对 K 吸收与运输影响较小; Cd 抑制根对 P 的吸收, 中高剂量 Cd 降低 P 向叶部运输。Cd 使根中 NH_4^+ 含量增加, 而叶中 NH_4^+ 含量降低, Cd 对 NO_3^- 影响不明显。低 Cd 使根中 NR 活性显著上升, Cd 抑制叶中 NR 活性。Cd 抑制根对 Zn 和 Mn 的吸收与运输, 也抑制根对 Fe 的吸收, 但高 Cd 促进 Fe 从根部到叶部运输; Cd 对 Cu 影响不明显。

参考文献:

[1] Kuzovkina Y A, Quigley M F. Willows beyond wetlands: uses of *Salix* L. species for environmental projects [J]. Water, Air, and Soil Pollution, 2005, 162: 183–204

[2] Chaffee C, Pageau K, Suzuki A, et al. Cadmium toxicity induced changes in nitrogen management in *Lycopersicon esculentum* leading to a metabolic safeguard through an amino acid storage strategy [J]. Plant Cell Physiol, 2004, 45(11): 1681–1693

[3] Ghnaya T, Nouairi I, Skma I, et al. Cadmium effects on growth and mineral nutrition of two halophytes *Sesuvium portulacastrum* and *Mesembryanthemum crystallinum* [J]. Journal of Plant Physiology, 2005, 162: 1133–1140

[4] Bildappa C C, Khan H H, Joshi O P, et al. Effect of root feeding of heavy metals on the leaf concentration of P, K, Ca and Mg in coconut (*Cocos nucifera* L.) [J]. Plant and Soil, 1987, 101(2): 295–297

[5] 邵国胜, 谢志奎, 张国平. 杂交稻和栽培稻氮代谢对镉胁迫反应的差异 [J]. 中国水稻科学, 2006, 20(2): 189–193

[6] 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

[7] Shukla U C, Singh J, Joshi P C, et al. Effect of bioaccumulation of cadmium on biomass productivity, essential trace elements, chlorophyll biosynthesis, and macromolecules of wheat seedlings [J]. Biological Trace Element Research, 2003, 92(3): 257–273

[8] 孙建云, 沈振国. 镉胁迫对不同甘蓝基因型光合特性和养分吸收的影响 [J]. 应用生态学报, 2007, 18(11): 2605–2610

[9] Zaccaro P, Crippa L, Pasta V D M. Ammonium nutrition as a strategy for cadmium mobilization in the rhizosphere of sunflower [J]. Plant and Soil, 2006, 283: 43–56

[10] Klang-Westin E, Perttu K. Effects of nutrient supply and soil cadmium concentration on cadmium removal by willow [J]. Biomass and Bioenergy, 2002, 23: 415–426

[11] Watson C, Pulford I D, Riddell B L D. Development of a hydroponic screening technique to assess heavy metal resistance in willow (*Salix*) [J]. International Journal of Phytoremediation, 2003, 5(4): 333–349

[12] Hernández LE, Górate A, Carpena-Ruiz R. Effects of cadmium on the uptake, distribution and assimilation of nitrate in *Pisum sativum* [J]. Plant and Soil, 1997, 189: 97–106

[13] Mukherjee S K, Ananua S. Possible role of cellular phosphate pool and subsequent accumulation of inorganic phosphate on the aluminum tolerance in *Bradyrhizobium japonicum* [J]. Soil Biol Biochem, 1998, 30(12): 1511–1516

[14] Varisi V A, Canargos L S, Aguilar L F, et al. Lysine biosynthesis and nitrogen metabolism in quinoa (*Chenopodium quinoa*): study of enzymes and nitrogen containing compounds [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2008, 46: 11–18

[15] Sakdin G, Magné C, Clément C. Stress reactions in *Vitis vinifera* L. following soil application of the herbicide flumioxazin [J]. Chemosphere, 2003, 53: 199–206

[16] Akhouri Sossé B, Genet P, Vinit-Dun and F, et al. Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus*) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents [J]. Plant Science, 2004, 166: 1213–1218

[17] Cao R, Huang X, Zhou Q, et al. Effects of lanthanum (III) on nitrogen metabolism of soybean seedlings under elevated UV-B radiation [J]. Journal of Environmental Sciences, 2007, 19: 1361–1366

[18] Chien H, Kao C. Accumulation of ammonium in rice leaves in response to excess cadmium [J]. Plant Science, 2000, 156: 111–115

[19] Arduin I, Masoni A, Mariotti M, et al. Low cadmium application increase miscanthus growth and cadmium translocation [J]. Environmental and Experimental Botany, 2004, 52(2): 89–100