

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201603001

蘧苗苗, 陈银萍\*, 苏向楠, 等. 镉胁迫下紫花苜蓿幼苗内源一氧化氮和活性氧的生成 [J]. 广西植物, 2016, 36(12):1483-1491

QU MM, CHEN YP, SU XN, et al. Effects of endogenous NO and ROS generation in alfalfa under Cd stress [J]. Guihaia, 2016, 36(12):1483-1491

# 镉胁迫下紫花苜蓿幼苗内源一氧化氮和活性氧的生成

蘧苗苗, 陈银萍\*, 苏向楠, NGABIRE Maurice, 杨波,  
柯昀琪, MUKUNDWA Anne Marie

(兰州交通大学 环境与市政工程学院, 兰州 730070)

**摘要:**以“甘农三号”紫花苜蓿幼苗为材料,在水培条件下,研究了不同浓度镉(Cd)胁迫下紫花苜蓿根、茎和叶内源一氧化氮(NO)和活性氧(ROS)的生成机制以及根系活力的变化。结果表明:在0~2.0 mmol·L<sup>-1</sup>范围内,随着Cd浓度的增加,幼苗内NO含量呈现先升高后降低的趋势,最后可维持在略高或持平于对照的水平。幼苗内一氧化氮合成酶(NOS)活性、硝酸还原酶(NR)活性、亚硝酸根离子(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)含量和类胡萝卜素(Car)含量的变化与NO含量变化规律相似却又不全相同。NOS和NR是影响幼苗茎中NO含量的主要因素,NOS、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>和NR则是影响叶中NO含量的主要因素,而根中NO含量主要与NOS活性和NO<sub>2</sub><sup>-</sup>含量有较大相关性。随着Cd浓度的增加,幼苗内过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)含量、丙二醛(MDA)含量、超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)含量和相对电导率(REC)呈现显著升高趋势,说明高浓度的Cd处理会使ROS大量积累,细胞膜遭破坏,细胞质外流,进而引发膜脂过氧化。随着Cd浓度的增加,紫花苜蓿根系活力的变化为先升高后降低,指示了低浓度Cd处理会促进植物代谢,增强其生命力;而高浓度Cd会致使植株代谢受抑制,细胞受损害。NO和ROS的相关性不大,说明二者虽同为自由基,但它们产生和变化方式大有差别。

**关键词:** 镉胁迫, 紫花苜蓿, 一氧化氮, 活性氧

中图分类号: Q945 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2016)12-1483-10

## Effects of endogenous NO and ROS generation in alfalfa under Cd stress

QU Miao-Miao, CHEN Yin-Ping\*, SU Xiang-Nan, NGABIRE Maurice,  
YANG Bo, KE Yun-Qi, MUKUNDWA Anne Marie

(School of Environmental and Municipal Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** Seedlings of alfalfa variety *Medicago sativa* cv. Gannong No. 3 were grown in nutrient solution with the Cd concentration between 0 to 2.0 mmol·L<sup>-1</sup>. The generation patterns of endogenous nitric oxide (NO) and reactive oxygen species (ROS) in roots, stems and leaves were studied, and the changes of root activity was determined. The results showed that NO content in seedlings presented a tendency of increasing first and decreasing afterwards, finally recovering normal with increasing concentration of Cd from 0 to 2.0 mmol·L<sup>-1</sup>. The NO content was influenced significantly by nitric oxide synthase (NOS) and nitrate reductase (NR) in stems, while NOS, nitrite ions (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) and NR determined the NO content in leaves. Similarly, NOS and NO<sub>2</sub><sup>-</sup> had great relevance with NO content in roots. The increase of Cd

收稿日期: 2016-03-01 修回日期: 2016-05-25

基金项目: 国家自然科学基金(31260089,31560161,31170413)[Supported by the National Natural Science Foundation of China(31260089,31560161,31170413)]。

作者简介: 蘧苗苗(1991-),女,浙江温州人,硕士研究生,主要研究方向为环境生态学,(E-mail)qu.m.m@qq.com。

\*通讯作者: 陈银萍,博士,教授,主要研究方向为环境生态学,(E-mail)yinpch@mail.lzjtu.cn。

concentration in solution led to the significantly rising of content of hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), malondialdehyde (MDA), superoxide anion ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) and relative electric conductivity (REC) in seedlings, indicating that the stress of high Cd concentration made the ROS vast accumulated, the cell membrane damaged, and cytoplasm outflowed, further caused membrane lipid peroxidation. Besides, there was no significant correlation between NO and ROS due to their different mechanisms of generation.

**Key words:** cadmium stress, alfalfa (*Medicago sativa*), nitric oxide, reactive oxygen species

重金属由于其毒性大、难清除和可生物积累而受到广泛关注 (Nath et al, 2013; Chaudhuri et al, 2014)。特别是近年来,随着全球人口快速膨胀、工农业生产迅速发展,重金属大量排放,从而严重影响了人类环境与社会可持续发展 (Xu et al, 2014)。据环保部与国土资源部联合公布的全国土壤污染公报显示,全国土壤点位超标率高达 16.1%,其中以 Cd 污染最为严重,样点超标率达到 7.0%,形势十分严峻 (全国土壤污染状况调查公报, 2014)。Cd 在植物体内积累会刺激或抑制酶活性,影响组织蛋白质合成,抑制植物细胞分裂和伸长 (廖柏寒等, 2010); 抑制植物对水分的吸收和运输,抑制光合作用和呼吸作用,伤害细胞膜系统,阻碍植物生长 (崔秀敏等, 2011); 并通过食物链在人体内累积危害人的健康 (Agrawal & Mishra, 2009)。因此,研究 Cd 污染对植物生长发育的影响有重要意义。

一氧化氮 (NO) 是生物体重要的信号分子,广泛参与植物生长发育以及调节各种生理过程 (吴雁斌等, 2010), 在植物对盐胁迫 (刘建新等, 2010)、渗透胁迫 (刘建新等, 2013)、干旱胁迫 (Arasimowicz-Jelonek et al, 2009) 及紫外辐射 (An et al, 2005) 等逆境的响应中起着重要的作用。研究表明,低浓度的 NO 可作为抗氧化剂对植物产生保护效应 (陈银萍等, 2010); 而高浓度 NO 则与  $\text{O}_2^{\cdot-}$  相互作用最终形成的物质过氧亚硝酸 ( $\text{HOONO}$ ), 由于其强氧化性而对生物大分子的结构与功能造成破坏,对生命体产生毒害作用 (陈银萍等, 2012)。可见植物体内活性氧 (Reactive oxygen species, ROS) 和 NO 含量的关系对植物的正常生存非常重要 (Saxena & Shekhawat, 2013)。同时,认识植物适应环境胁迫的机理还需要了解胁迫下内源 NO 的变化规律,而由于受到检测技术的限制,这方面的报道并不普遍 (Arasimowicz & Floryszak-Wieczorek, 2007)。

苜蓿是世界范围内普遍种植的牧草植物,已有报道显示紫花苜蓿 (*Medicago sativa*, alfalfa) 具有清除土壤中高含量 Cu、Zn 等重金属的潜力 (王文星

等, 2006; 代惠萍等, 2014), 是一种很有应用前景的土壤修复植物 (孙宁骁, 2015), 而环境中的 Cd 会影响紫花苜蓿的种子萌发、生长和幼苗的生理特性 (孙园园等, 2014; 孙宁骁等, 2015)。虽然已有研究表明适当浓度的外源 NO 可以增加渗透调节物质含量和调节抗氧化酶活性,缓解 Cd 胁迫对紫花苜蓿幼苗的伤害 (陈银萍等, 2015), 但是目前关于 Cd 胁迫下紫花苜蓿内源 NO 和 ROS 的产生等报道却相对较少。基于上述认识,本研究以紫花苜蓿幼苗为材料,在水培条件下研究不同浓度 Cd 处理后紫花苜蓿幼苗根、茎和叶片内源 NO 和 ROS 以及膜脂过氧化作用变化的机制,旨在分析紫花苜蓿幼苗遭受 Cd 胁迫时的生理生态效应,以期探索重金属 Cd 胁迫下紫花苜蓿的损伤、防卫机制的诱发等方面提供一定的理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

供试紫花苜蓿品种为甘农三号 (*Medicago Sativa* cv. Gannong No.3), 购自甘肃省农业科学研究院。测量 NO 含量和 NOS 活性的 NO 试剂盒和 NOS 试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。Cd 胁迫处理用  $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5 \text{H}_2\text{O}$  (国药试剂), 其它试剂均为国产分析纯。

### 1.2 实验设计

选取均匀饱满的紫花苜蓿种子,在 50~60 °C 蒸馏水中浸泡 30 min,取出晾干后播种以提高种子发芽率。将处理后的紫花苜蓿种子播种于含有 1/2 浓度 Hoagland's 营养液的水培盆内,共 24 盆,每盆约 200 颗,每天更换营养液,置于室内植物培养架上进行发芽生长 30 d 左右。待幼苗长至 3~4 片叶时,选取长势一致的 21 盆分成 7 组,每组 3 个平行,以  $\text{CdCl}_2$  模拟 Cd 胁迫,分别用含 0  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  Cd (CK)、0.125  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  Cd (0.125)、0.25  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  Cd (0.25)、0.5  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  Cd (0.5)、1.0  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  Cd

(1.0)、1.5 mmol · L<sup>-1</sup> Cd (1.5)、2.0 mmol · L<sup>-1</sup> Cd (2.0) 的 1/2 Hoagland's 营养液继续水培 3 d 后, 分别对根、茎和叶进行混合取样, 鲜样测定 NO、NOS、NR、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>、Car 和 REC、MDA、O<sub>2</sub><sup>-</sup> ·、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 以及根系活力。

### 1.3 测定方法

NO 含量的测定采用 NO 试剂盒法(张绪成和上官周平, 2007); NOS 含量的测定采用 NOS 试剂盒法(刘涛等, 2011); NR 含量的测定采用 α-萘胺法(李合生等, 2003); NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量的测定采用磺胺比色法(李合生等, 2003); Car 含量的测定采用紫外分光光度计法(李合生等, 2003); REC 的含量采用电导率仪法测定(李合生等, 2003); H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量的测定采用紫外分光光度计法(张小莉等, 2009); O<sub>2</sub><sup>-</sup> · 产生速率的测定采用羟胺氧化法(李忠光和龚明, 2005); MDA 含量采用硫代巴比妥酸方法测定(李合生等, 2002); 根系活力采用氯化三苯基四氮唑法测定(李合生等, 2002)。

### 1.4 数据处理

采用 STATISTICA 和 EXCEL 软件进行数据处理和制图。不同处理组间的比较用单因素方差分析, 多重比较采用 Duncan 新复极差法(α=0.05), 相关性分析用逐步回归分析法。

## 2 结果与分析

### 2.1 Cd 胁迫下幼苗 NO 含量及 NO 的产生途径

**2.1.1 紫花苜蓿幼苗 NO 含量** Cd 处理显著提高了紫花苜蓿幼苗根、茎和叶的 NO 含量( $P < 0.05$ )。0.5、1.0、0.25 mmol · L<sup>-1</sup> Cd 处理分别使幼苗根、茎和叶中的 NO 含量达最大, 与 CK 相比分别提高了 142.63%、142.63%、119.53% ( $P < 0.05$ )。随着 Cd 处理浓度进一步增大, 幼苗根、茎和叶中 NO 含量呈急剧下降趋势。其中, 根和叶的 NO 含量在显著下降之后仍能维持高于 CK 的水平(根:  $P < 0.05$ ; 叶:  $P > 0.05$ ); 而 2.0 mmol · L<sup>-1</sup> Cd 处理使茎中的 NO 含量至最低, 与 CK 相比下降了 9.10% ( $P < 0.05$ )。总体而言, 同浓度 Cd 处理下, 幼苗中 NO 含量为叶 > 茎 > 根, 唯 1.0 mmol · L<sup>-1</sup> Cd 处理时为茎 > 叶 > 根(图 1)。

**2.1.2 紫花苜蓿幼苗 NO 的产生途径** NOS 是催化精氨酸形成 NO 的关键酶(邵小杰和杨洪强, 2010)。在不同浓度 Cd 处理下, 紫花苜蓿幼苗根、茎和叶中的 NOS 活性总体呈先升高后降低的趋势( $P < 0.05$ )。

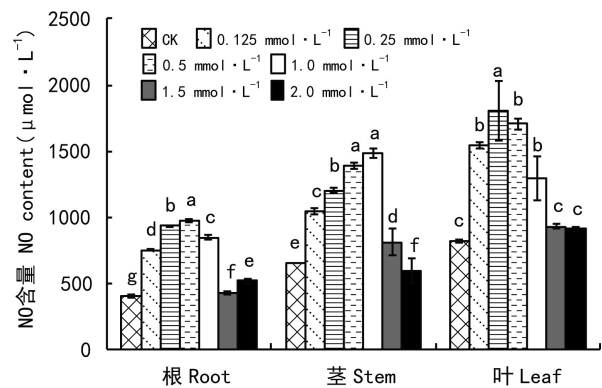


图 1 Cd 胁迫对紫花苜蓿幼苗根、茎和叶中 NO 含量的影响 不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。下同。  
Fig. 1 Effects of Cd on the NO content in alfalfa seedlings (mean ± SE) Different small letters mean significant differences( $P < 0.05$ ). The same below.

其中, 0.25、0.5 和 0.5 mmol · L<sup>-1</sup> Cd 处理分别使得幼苗根、茎和叶中的 NOS 活性达最高, 相比 CK 分别提高了 46.68%、137.78% 和 1495.93% ( $P < 0.05$ )。相对地, 2.0 mmol · L<sup>-1</sup> Cd 处理使得幼苗根和叶中的 NOS 活性至最低, 相比 CK 分别降低了 81.4% 和 20.26% ( $P < 0.05$ ); 而 1.5 mmol · L<sup>-1</sup> Cd 处理使茎中的 NOS 活性较最高值虽已显著降低, 但仍比 CK 高 42.12% ( $P < 0.05$ )。另外, 低浓度 Cd 处理下幼苗 NOS 活性为根 > 茎 > 叶; 而高浓度 Cd 处理下幼苗 NOS 活性为茎 > 根 > 叶(图 2:A)。

NR 能以 NADH 作为电子供体, 催化 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 的单电子还原合成 NO(田华等, 2009)。在不同浓度 Cd 胁迫下, 紫花苜蓿幼苗的根、茎和叶中 NR 活性总体呈先升高后降低的趋势。其中, 0.125、0.5 和 0.5 mmol · L<sup>-1</sup> Cd 处理分别使幼苗根、茎和叶中的 NR 活性达到最高, 相比 CK 分别提高了 24.47%、35.64% 和 149.53% ( $P < 0.05$ )。相对地, 2.0 mmol · L<sup>-1</sup> Cd 处理使幼苗根、茎和叶中的 NR 活性分别降至最低, 相比 CK 分别降低了 10.67% ( $P < 0.05$ )、28.30% ( $P < 0.05$ ) 和 8.44% ( $P > 0.05$ )。此外, 紫花苜蓿幼苗 NR 活性为叶 > 茎 > 根; 同浓度 Cd 处理下, 幼苗 NR 活性的变化幅度也是叶 > 茎 > 根(图 2:B)。

在酸性还原性条件下, 植物组织中 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 可通过发生还原反应产生 NO(徐茂军, 2009)。不同浓度 Cd 处理下, 紫花苜蓿幼苗根、茎和叶中的 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量总体也是呈先增大后减小的趋势。其中, 0.125、0.25

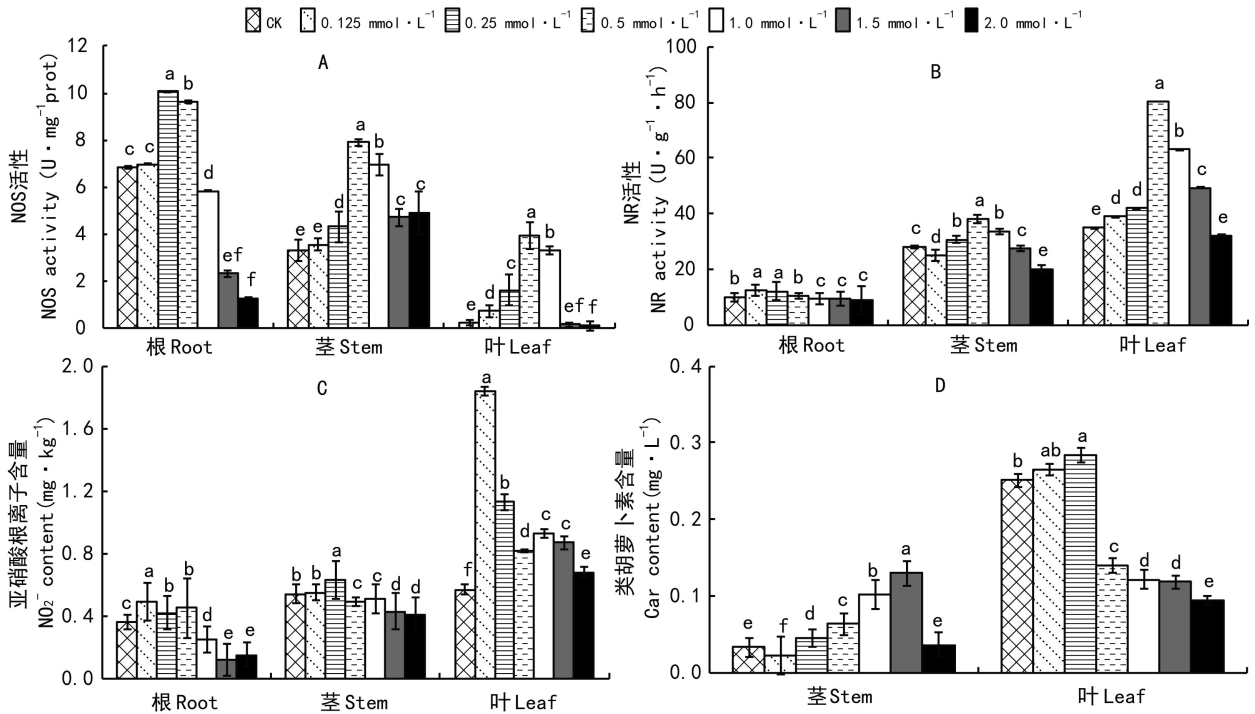


图2 Cd胁迫对紫花苜蓿幼苗 NOS 活性(A)、NR 活性(B)、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>含量(C)和 Car 含量(D)的影响

Fig. 2 Effects of Cd on NOS activity (A), NR activity (B), NO<sub>2</sub><sup>-</sup> content (C) and Car content (D) in alfalfa seedlings

和 0.125 mmol · L<sup>-1</sup> Cd 处理分别使得幼苗根、茎和叶中的 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量达最大, 相比 CK 分别提高了 36.11%、16.77% 和 222.81% ( $P < 0.05$ )。相对地, 1.5 和 2.0 mmol · L<sup>-1</sup> Cd 处理分别使得幼苗根和茎中的 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量至最小, 相比 CK 分别降低了 66.67% 和 24.07% ( $P < 0.05$ ); 而 2.0 mmol · L<sup>-1</sup> Cd 处理虽使得幼苗叶中 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量较最大值已显著降低, 但仍比 CK 增加了 19.30% ( $P < 0.05$ )。此外还可看出, 幼苗 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量为叶 > 茎 > 根; 同浓度 Cd 处理下, 幼苗 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量的变化幅度为叶 > 根 > 茎 (图 2:C)。

光介导的 Car 可将 NO<sub>2</sub> 转化成 NO (张洪艳等, 2009)。Cd 处理使幼苗茎和叶中的 Car 含量发生了显著变化 ( $P < 0.05$ )。其中, 1.5 mmol · L<sup>-1</sup> Cd 处理使茎中 Car 含量达到最大, 较 CK 增加了 293.94% ( $P < 0.05$ ); 而在 2.0 mmol · L<sup>-1</sup> Cd 处理下, Car 含量较最大值急剧降低, 但仍比 CK 高 9.09% ( $P > 0.05$ )。相似地, 0.25 mmol · L<sup>-1</sup> Cd 处理显著提高了幼苗叶中的 Car 含量, 与 CK 相比增加了 13.17% ( $P < 0.05$ ); 但随着 Cd 处理浓度的进一步增大, 叶中 Car 含量急剧下降, 在 2.0 mmol · L<sup>-1</sup> 时达到最低, 相比 CK 降低了 62.55% ( $P < 0.05$ )。此外, 紫花苜蓿幼苗

Car 含量总体为叶 > 茎; 同浓度 Cd 处理下, 幼苗 Car 含量的变化幅度则是茎 > 叶 (图 2:D)。

## 2.2 Cd 胁迫下幼苗根、茎和叶中 ROS 的生成

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 是植物细胞代谢过程中产生的一种活性氧。不同浓度的 Cd 处理显著提高了紫花苜蓿幼苗体内的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量 ( $P < 0.05$ )。其中, 2.0、0.5 和 1.0 mmol · L<sup>-1</sup> Cd 处理使幼苗根、茎和叶中的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量分别达到了最大值, 相比 CK 分别增加了 139.13%、121.21% 和 122.22% ( $P < 0.05$ ) (图 3:A)。

MDA 是植物膜脂过氧化的主要产物, 其含量直接反映细胞损伤程度 (刘周莉等, 2009)。不同浓度的 Cd 处理显著提高了紫花苜蓿幼苗体内的 MDA 含量 ( $P < 0.05$ )。其中 1.5 mmol · L<sup>-1</sup> Cd 处理使幼苗根和茎中的 MDA 含量均分别达到了最大值, 相比于 CK 分别增加了 117.06% 和 318.35% ( $P < 0.05$ )。幼苗叶中 MDA 含量的最大值在 Cd 处理浓度为 2.0 mmol · L<sup>-1</sup> 时出现, 相比于 CK 增加了 732.57% ( $P < 0.05$ ), 升值幅度明显高于根和茎 (图 3:B)。

O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 是一种氧自由基。不同浓度的 Cd 处理显著提高了紫花苜蓿幼苗体内的 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 含量 ( $P < 0.05$ )。其中, 1.0、0.5 和 1.0 mmol · L<sup>-1</sup> Cd 处理使幼苗根、茎

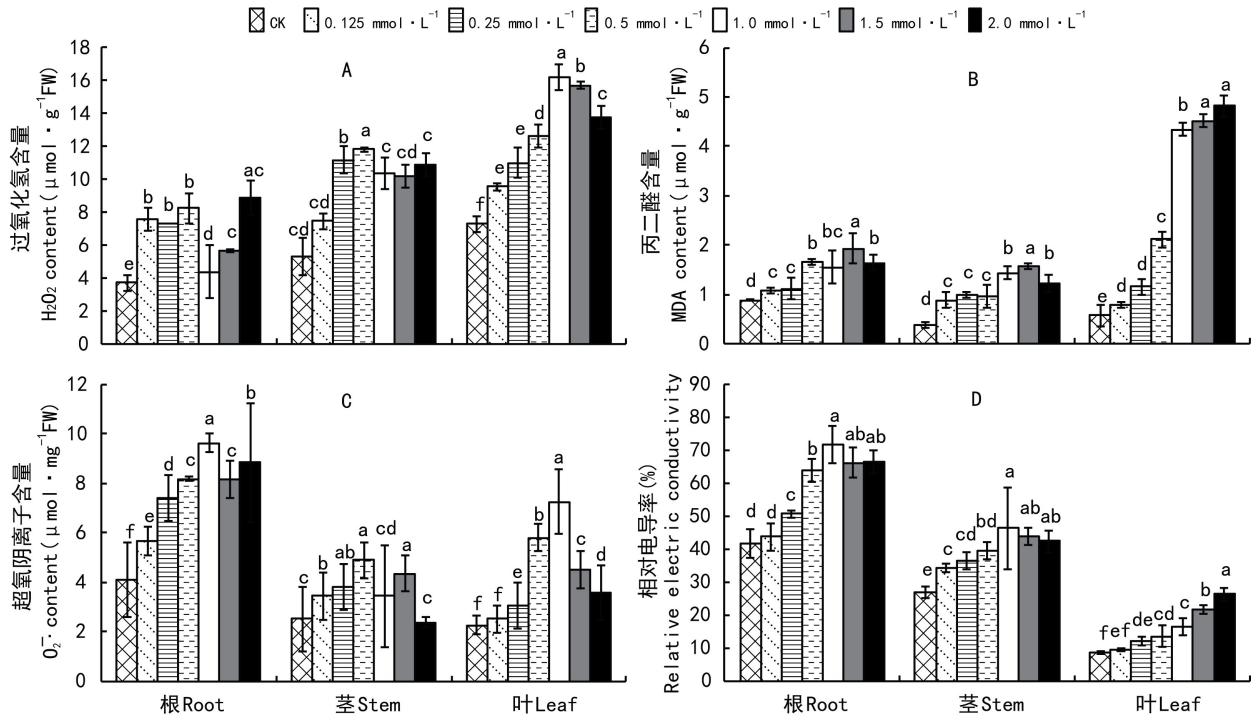


图3 Cd胁迫对紫花苜蓿幼苗H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量(A)、MDA含量(B)、O<sub>2</sub><sup>·-</sup>含量(C)和REC(D)的影响

Fig. 3 Effects of Cd on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> contents (A), MDA content (B), O<sub>2</sub><sup>·-</sup> content (C) and REC (D) in alfalfa seedlings

和叶中的 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 含量分别达到了最大值, 相比于 CK 分别增加了 135.48%、94.74% 和 223.53% ( $P < 0.05$ )。此外, 根中的 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 含量显著大于茎和叶, 而升值幅度则是叶 > 根 > 茎 (图 3:C)。

REC 可以用来表示电解质渗透率的变化, 而电解质渗透率的变化可直接反映出细胞膜透性的改变以及细胞被破坏情况 (陈钰等, 2007)。不同浓度的 Cd 处理显著提高了紫花苜蓿幼苗体内的 REC ( $P < 0.05$ )。其中, 1.0 mmol·L<sup>-1</sup> Cd 处理使幼苗根和茎中的 REC 分别达到了最大值, 相比于 CK 分别增加了 72.33% 和 73.19% ( $P < 0.05$ )。幼苗叶中 REC 随着 Cd 处理浓度的增加而持续升高, 在 2.0 mmol·L<sup>-1</sup> 时达最大, 相比于 CK 增加了 210.28% ( $P < 0.05$ )。此外, 幼苗的 REC 为根 > 茎 > 叶, 而升值幅度则是叶显著高于根和茎 ( $P < 0.05$ ) (图 3:D)。

### 2.3 Cd 胁迫对幼苗根系活力的影响

根系活力是评价植物根系的吸收、合成、氧化和还原等能力的一项生理指标, 可客观地反映植株生命代谢活动 (何俊瑜等, 2009)。随着 Cd 处理浓度的增加, 紫花苜蓿幼苗根系活力呈明显的先增强后减弱趋势 ( $P < 0.05$ ), 低浓度 Cd 处理使根系活力增

强, 0.25 mmol·L<sup>-1</sup> 处理使根系活力达最强, 相比 CK 增加了 36.94% ( $P < 0.05$ )。高浓度 Cd 处理使根系活力减弱, 2.0 mmol·L<sup>-1</sup> Cd 处理下, 根系活力仅为 CK 的 55.42% ( $P < 0.05$ ) (图 4)。

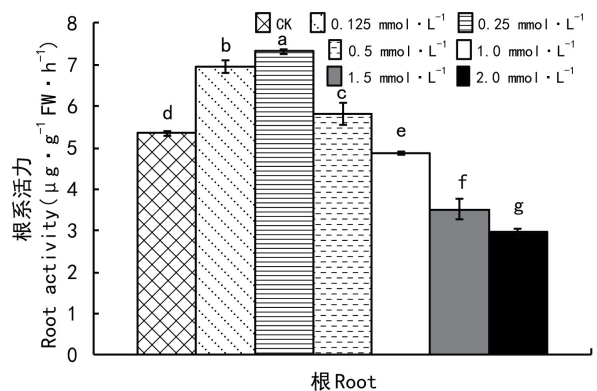


图4 Cd胁迫对紫花苜蓿幼苗根系活力的影响

Fig. 4 Effects of Cd on root activity in alfalfa seedlings

### 2.4 Cd 胁迫下幼苗内源 NO 和 ROS 生成的相关性 及逐步回归分析

根中 NO 含量与 NOS、NR 及 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 正相关 ( $P >$

0.05),表明 NOS、NR 和  $\text{NO}_2^-$  在根内 NO 生成过程中起作用。茎中 NO 含量与 NOS、NR 极显著正相关 ( $P < 0.001$ ),说明 NOS、NR 是影响幼苗茎中 NO 含量的主要因素;与  $\text{NO}_2^-$ 、Car 正相关,说明  $\text{NO}_2^-$ 、Car 促进了茎中 NO 的生成。而叶中 NO 含量与 NOS 极显著正相关 ( $P < 0.001$ ),与  $\text{NO}_2^-$  较显著正相关 ( $P < 0.01$ ),与 NR 显著正相关 ( $P < 0.05$ ),与 Car 正相关,说明 NOS、 $\text{NO}_2^-$  和 NR 则是影响叶中 NO 含量的主要因素。逐步回归分析结果如下。

$$\text{根: } Y = 375.333 + 11.756 X_1 + 254.14 X_3$$

$$r_1 = 0.41730, r_3 = 0.39904$$

$$\text{茎: } Y = 187.997 + 35.700 X_1 + 17.050 X_2$$

$$r_1 = 0.67443, r_2 = 0.82804$$

$$\text{叶: } Y = 818.423 + 43.62 X_1 + 3.019 X_2 + 129.415 X_3$$

$$r_1 = 0.41730, r_2 = 0.17874, r_3 = 0.39904$$

式中,  $Y$  为 NO 含量,  $X_1$  为 NOS,  $X_2$  为 NR,  $X_3$  为  $\text{NO}_2^-$ ,  $r$  为相关系数。逐步回归分析与相关性分析结果相同(表 1)。

根中 NO 含量与  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、MDA、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、REC 正相关;茎中 NO 含量与  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$  显著正相关 ( $P < 0.05$ ),与 MDA、REC 正相关,表明 Cd 胁迫下根、茎中 NO 与 ROS 均增加,从而致使根、茎的膜脂过氧化损伤。而叶中 NO 含量与  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$  正相关,与 MDA、REC 负相关 ( $P > 0.05$ ),说明叶中 NO 缓解了 Cd 胁迫对叶片的膜脂过氧化损伤。逐步回归分析结果如下。

$$\text{根: } Y = 428.608 + 7.815 X_1 + 11.405 X_3$$

$$r_1 = 0.23040, r_3 = 0.34069$$

$$\text{茎: } Y = 493.098 + 16.939 X_1 + 42.875 X_3$$

$$r_1 = 0.45058, r_3 = 0.54518$$

$$\text{叶: } Y = 1366.775 - 19.715 X_2 + 14.538 X_3 - 6.030 X_4$$

$$r_2 = -0.3719, r_3 = 0.28211, r_4 = -0.4125$$

式中,  $Y$  为 NO 含量,  $X_1$  为  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $X_2$  为 MDA,  $X_3$  为  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ,  $X_4$  为 REC,  $r$  为相关系数。逐步回归分析与相关性分析结果相同(表 1)。

根系活力与 NOS、NR、 $\text{NO}_2^-$  极显著正相关 ( $P < 0.001$ ),与 NO、 $\text{H}_2\text{O}_2$  正相关,与 MDA、REC 较显著负相关 ( $P < 0.01$ ),与  $\text{O}_2^{\cdot-}$  负相关,逐步回归分析结果与相关性分析结果相同,说明 NO 的产生与植株代谢的旺盛息息相关,而 ROS 的大量累积将阻碍植株的活力(表 1)。

### 3 讨论

NO 广泛参与了植物对逆境胁迫的响应,而响应特征可由内源 NO 含量的变化规律反映(陈娟等, 2009)。本研究结果显示低浓度的 Cd 处理使紫花苜蓿幼苗根、茎和叶中的 NO 含量显著升高,说明此时 NO 正充当活跃的信号分子引发相关生理反应以保护植物(邵小杰和杨洪强, 2010)。已有研究表明高浓度 Cd 会显著降低植株中 NO 产生量(林啸等, 2014;邵小杰和杨洪强, 2010),但在本研究中,高浓度的 Cd 处理下幼苗中的 NO 含量虽逐渐降低,但仍维持略高或持平于 CK 的水平,这也可能是由于 Cd 的积累破坏了 NO 清除机制(Barroso et al, 2006),类似的变化在大麦幼苗中也曾出现(陈娟等, 2009)。

NO 的产生主要可分以为酶促和非酶促反应(Beligni & Lamattina, 2000)。NOS 和 NR 是酶促反应的关键酶。逐步回归分析显示, NOS 和 NR 是影响茎中 NO 含量的主要因素; NOS、 $\text{NO}_2^-$  和 NR 则是影响叶中 NO 含量的主要因素,而根中 NO 含量主要与 NOS 活性和  $\text{NO}_2^-$  含量有较大的相关性。NR 催化合成 NO 需要在较高的  $\text{NO}_2^-$  条件下进行(Morot-Gaudry-Talarmin et al, 2002);而本研究结果表明, NR 活性的升高都在  $\text{NO}_2^-$  含量增加之后,这也符合 NR 途径作用产生 NO 的规律。当 Cd 浓度达到  $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, Car 含量突然下降,下降趋势较陡,说明浓度高于  $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 Cd 处理对紫花苜蓿幼苗有明显损伤,对 NO 的合成作用也较弱;而茎中 Car 含量走势相对较为平缓,说明 Cd 胁迫对茎中 Car 含量的影响不显著。整体而言, Cd 胁迫会极大地抑制 Car 的合成,这与翟晶(2013)对杨树幼苗的研究结果相一致。

Cd 能刺激脂氧合酶和 NADPH 氧化酶活性升高,使细胞内  $\text{O}_2^{\cdot-}$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  等活性氧生成增加,从而导致细胞内 ROS 水平升高(陈银萍等, 2015);而 ROS 自由基的大量积累可引发植株膜脂过氧化,造成细胞膜系统破坏,细胞受损,电解质外渗。此时植株能够存活的机制之一就是诱导抗氧化防御系统(周万海等, 2012)。本研究中低浓度下随着 Cd 浓度的增加,紫花苜蓿幼苗的茎和叶的  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量以及幼苗  $\text{O}_2^{\cdot-}$  含量持续上升,而在高浓度 Cd 胁迫时却呈现轻微下降趋势,可能是 Cd 胁迫诱使抗氧化酶活性增强,从而起到了清除自由基的作用;也可能是 NO

表 1 Cd 胁迫下紫花苜蓿幼苗内源一氧化氮和活性氧生成的相关性

Table 1 Correlations between the generation of NO and ROS of alfalfa seedlings under Cd stress

		根系活力 Root activity	NO	NOS	NR	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Car	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	MDA	O <sub>2</sub> <sup>-</sup>
NO	根 Root	0.318								
	茎 Stem	0.501 *								
	叶 Leaf	0.741 ***								
NOS	根 Root	0.897 ***	0.417							
	茎 Stem	-0.142	0.674 ***							
	叶 Leaf	0.324	0.698 ***							
NR	根 Root	0.912 ***	0.179	0.685 ***						
	茎 Stem	0.398	0.828 ***	0.715 ***						
	叶 Leaf	0.104	0.530 *	0.901 ***						
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	根 Root	0.923 ***	0.399	0.885 ***	0.828 ***					
	茎 Stem	0.918 ***	0.399	-0.279	0.320					
	叶 Leaf	0.619 **	0.550 **	-0.009	-0.106					
Car	根 Root	—	—	—	—	—				
	茎 Stem	-0.458 *	0.313	0.439 *	0.333	-0.411				
	叶 Leaf	0.844 ***	0.319	-0.185	-0.382	0.497 *				
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	根 Root	0.054	0.230	0.015	0.259	0.171				
	茎 Stem	-0.163	0.451 *	0.704 ***	0.337	-0.234	0.390			
	叶 Leaf	-0.575 **	0.003	0.305	0.434 *	-0.189	-0.820 ***			
MDA	根 Root	-0.649 **	0.069	-0.525 *	-0.550 **	-0.636 **	—	—		
	茎 Stem	-0.533 *	0.202	0.413	-0.067	-0.538 *	0.718 ***	0.651 **		
	叶 Leaf	-0.850 ***	-0.372	0.000	0.143	-0.397	-0.917 ***	0.902 ***		
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	根 Root	-0.415	0.341	-0.280	-0.449 *	-0.478	—	0.299	0.675 ***	
	茎 Stem	0.219	0.545 *	0.446 *	0.557 **	0.046	0.408	0.521 *	0.177	
	叶 Leaf	-0.246	0.282	0.742 ***	0.782 ***	-0.223	-0.654 **	0.773 ***	0.574 **	
REC	根 Root	-0.623 **	0.215	-0.432	-0.693 ***	-0.639 **	—	0.137	0.712 ***	0.860 ***
	茎 Stem	-0.470 *	0.347	0.612 **	0.115	-0.511 *	0.667 **	0.720 ***	0.898 ***	0.310
	叶 Leaf	-0.828 ***	-0.412	-0.218	-0.074	-0.385	-0.084 ***	0.720 ***	0.889 ***	0.285

注: \* 表示不同指标间相关性显著( $P < 0.05$ ), \*\* 表示不同指标间相关性较显著( $P < 0.01$ ), \*\*\* 表示不同指标间相关性极显著( $P < 0.001$ )。

Note: \*, \*\*, and \*\*\* indicate significant differences at  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$  and  $P < 0.001$ , respectively.

对 ROS 过程的减缓作用(魏学玲等, 2011)。同时, 同浓度 Cd 处理下幼苗根中的 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量显著高于茎和叶; 而叶中的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量则显著高于根和茎 ( $P < 0.05$ )。可能是因为根最先接触到 Cd 胁迫, 所以先产生氧化信号, 致使其 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量高于茎和叶。叶片对 Cd 的络合固定能力较低, 导致叶片中自由 Cd<sup>2+</sup> 浓度较高, 叶中又存在较多的叶绿体、线粒体和过氧

化物体等活性氧产生器官, 这是同处理浓度下叶中 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量高于根和茎的原因之一 (Dixit et al, 2001)。类似的变化在邵小杰和杨洪强 (2010) 对葡萄的研究中也曾出现。MDA 可直接反映膜脂过氧化的程度, 随着 Cd 处理浓度增大, 叶中 MDA 含量和 REC 显著上升, 这与前人研究结果一致(王兴明等, 2011; 江行玉和赵可夫, 2001)。在高浓度下根

和茎中 MDA 和 REC 有轻微下降趋势,说明植物自身的抗氧化系统可能启动,清除了部分 ROS 自由基。与此同时,幼苗根中的 MDA 和 REC 显著高于茎和叶,说明与经由运输而接触到 Cd 胁迫的茎和叶相比,直接接触 Cd 胁迫的根所受伤害会大得多。

本研究结果表明,低浓度 Cd 胁迫在加剧紫花苜蓿幼苗膜脂过氧化的同时,也促进了根系活力的提高,说明此时幼苗代谢旺盛,这也可能是植物的一种应激反应。低浓度的 Cd 可以刺激细胞抗性蛋白的产生和激活抗氧化系统,加速一些生理生化反应(邵小杰和杨洪强,2010)。但高浓度的 Cd 会造成 ROS 的产生与清除能力失衡,造成自由基的大量累积,从而引发植株膜脂过氧化作用(慈敦伟等,2009)。逐步回归分析的结果表明,根系活力与 ROS 生成的各指标基本呈现负相关,表明高浓度的 Cd 处理使得 ROS 生成的各指标急剧上升,而根系活力却持续下降,也证明了此时细胞已受严重伤害。

相关性分析和逐步回归分析的结果还表明,NO 和 ROS 相关性并不显著,说明二者虽同为自由基,但产生和变化规律并不相同。在本研究中,NO 含量在低浓度 Cd 处理下急剧上升,而随着 Cd 处理浓度的增加,NO 显著下降,可维持在略高或持平于 CK 的水平;而 ROS 的相关指标却随着 Cd 处理浓度的增大而持续上升,或在高浓度 Cd 处理时呈现轻微下降趋势。这主要是由于植物内源 NO 主要由酶促途径和非酶促途径合成产生,并由血红蛋白(haemoglobins, Hbs)和亚硝基谷胱甘肽还原酶(S-nitrosogluthionereductase, GSNOR)等清除机制消除,二者之间的动态平衡决定了植物内源 NO 的含量(陈娟等,2007)。但是  $O_2\cdot^-$  来源于线粒体电子传递链的电子漏(Turrens,1997;Liu,2008), $H_2O_2$  主要来源于  $O_2\cdot^-$  的歧化,它们都是生物体氧化还原过程中电子传递的副产物(Bowler et al,1992),而 Cd 干扰了植物的电子传递链,造成  $O_2\cdot^-$  和  $H_2O_2$  等活性氧的积累和爆发。所以在本研究中 NO 和 ROS 的产生及变化规律呈现出明显不同的趋势。

## 参考文献:

AGRAWAL SB, MISHRA S, 2009. Effects of supplemental ultraviolet-B and cadmium on growth, antioxidants and yield of *Pisum sativum* L [J]. *Ecotoxicol Environ Safety*, 72(2): 610-618.  
AN LZ, LIU YH, ZHANG MX, et al, 2005. Effects of nitric oxide on growth of maize seedling leave in the presence or absence of ultraviolet-b radiation [J]. *J Plant Physiol*, 162(3): 317-326.

ARASIMOWICZ M, FLORYSZAK-WIECZOREK J, 2007. Nitric oxide as a bioactive signalling molecule in plant stress responses [J]. *Plant Sci*, 172: 876-887.  
ARASIMOWICZ-JELONEK M, FLORYSZAK-WIECZOREK J, KUBI J, 2009. Involvement of nitric oxide in water stress-induced responses of cucumber roots [J]. *Plant Sci*, 177: 682-690.  
BARROSO JB, CORPAS FJ, CARRERAS A, et al, 2006. Localization of S-nitrosogluthathione and expression of S-nitrosogluthathione reductase in pea plants under cadmium stress [J]. *J Exp Bot*, 57(8): 1785-1793.  
BELIGNI MV, LAMATTINA L, 2000. Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three light-inducible responses in plants [J]. *Planta*, 210(2): 215-221.  
BOWLER C, MONTAGU MV, INZE D, 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance [J]. *Ann Rev Plant Physiol*, 43: 83-116.  
CI DW, JIANG D, DAI TB, et al, 2009. Effect of Cd stress on lipid peroxidation and Cd uptake and translocation in wheat seedling [J]. *J Trit Crops*, 29(3): 508-513. [慈敦伟,姜伟,戴廷波,等,2009.镉胁迫对小麦幼苗膜脂过氧化作用及镉吸收转运的影响[J].*麦类作物学报*, 29(3): 508-513.]  
CHAUDHURI P, NATH B, BIRCH G, 2014. Accumulation of trace metals in grey mangrove *Avicennia marina* fine nutritive roots: the role of rhizosphere processes [J]. *Mar Poll Bull*, 79(2014): 284-292.  
CHEN J, XIAO Q, PEI ZM, et al, 2007. The new discovery of plant haemoglobins' function—Modulation of nitric oxide bioactivity [J]. *Chin J Cell Biol*, 29: 513-518. [陈娟,肖强,裴真明,等,2007.对植物血红蛋白功能的新发现—调节 NO 的生物活性[J].*细胞生物学杂志*, 29: 513-518.]  
CHEN J, XIAO Q, WU FH, et al, 2009. Effects of environmental stress on nitric oxide emission from *Hordeum vulgare* seedlings [J]. *Chin J Ecol*, 28(10): 1971-1976. [陈娟,肖强,吴飞华,等,2009.环境胁迫对大麦幼苗一氧化氮释放的影响[J].*生态学杂志*, 28(10): 1971-1976.]  
CHEN Y, GUO AH, YAO YJ, et al, 2007. The change of POD enzymes, relative conductivities and soluble proteins in flower of almond under cold stress [J]. *J Shanxi Agric Sci*, 35(3): 30-32. [陈钰,郭爱华,姚月俊,等,2007.低温胁迫下杏花器官内 POD、相对电导率和可溶性蛋白含量的变化[J].*山西农业科学*, 35(3): 30-32.]  
CHEN YP, QU MM, SU XN, et al, 2015. Effects of exogenous nitric oxide on active oxygen metabolism and cadmium accumulation in alfalfa seedlings under cadmium stress [J]. *J Agro-Environ Sci*, 34(12): 2261-2271. [陈银萍,蘧苗苗,苏向楠,等,2015.外源一氧化氮对镉胁迫下紫花苜蓿幼苗活性氧代谢和镉积累的影响[J].*农业环境科学学报*, 34(12): 2261-2271.]  
CHEN YP, TAO L, YANG L, et al, 2010. Effects of nitric oxide on seed germination and physiological reaction of maize seedlings under water stress [J]. *Guihaia*, 5: 672-677. [陈银萍,陶玲,杨莉,等,2010.一氧化氮对水分胁迫下玉米种子萌发及幼苗生理特性的影响[J].*广西植物*, 5: 672-677.]  
CHEN YP, WANG XM, YU F, et al, 2012. Effects of nitric oxide on seed germination and physiological reaction of maize seedlings under low temperature stress [J]. *J Agro-environ Sci*, 2: 270-277. [陈银萍,王晓梅,杨宗娟,等,2012. NO 对低温胁迫



- 下玉米种子萌发及幼苗生理特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2: 270-277.]
- CUI XM, WU XB, LI XY, et al, 2011. Responses of growth, functional enzyme activity in biomembrane of tomato seedlings to excessive copper, cadmium and the alleviating effect of exogenous nitric oxide[J]. Plant Nutr Fert Sci, 2: 349-357. [崔秀敏, 吴小宾, 李晓云, 等, 2011. 铜、镉毒害对番茄生长和膜功能蛋白酶活性的影响及外源 NO 的缓解效应[J]. 植物营养与肥料学报, 2: 349-357.]
- DAI HP, ZHAO H, LI JC, et al, 2014. Effects of Zn on the physiological and biochemical characteristics and accumulation abilities of *Medicago sativa* L.[J]. North Hort, 10: 50-53. [代惠萍, 赵桦, 李军超, 等, 2014. 锌对紫花苜蓿生理生化特性的影响及积累能力研究[J]. 北方园艺, 10: 50-53.]
- DIXIT V, PANDEY V, SHYAM R, 2001. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (L. cv. Azad) [J]. J Exp Bot, 52(358): 1101-1109.
- HE JY, WANG YY, REN YF, et al, 2009. Effect of cadmium on root morphology and physiological characteristics of rice seedlings [J]. Ecol Environ Sci, 18(5): 1863-1868. [何俊瑜, 王阳阳, 任艳芳, 等, 2009. 镉胁迫对不同水稻品种幼苗根系形态和生物特性的影响[J]. 生态环境学报, 18(5): 1863-1868.]
- JIANG XY, ZHAO KF, 2001. Mechanism of heavy metal injury and resistance of plants [J]. J Appl Environ Biol, 7(1): 92-99. [江行玉, 赵可夫, 2001. 植物重金属伤害及其抗性机理[J]. 应用与环境生物学报, 7(1): 92-99.]
- LI HS, SUN Q, ZHAO SJ, et al, 2003. The experiment principle and technique on plant physiology and biochemistry [M]. Beijing: Higher Education Press: 182-183, 260-261. [李合生, 孙群, 赵世杰, 等, 2003. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社: 182-183, 260-261.]
- LI ZG, GONG M, 2005. Improvement of measurement method for superoxide anion radical in plant [J]. Acta Bot Yunnan, 27(2): 211-216. [李忠光, 龚明, 2005. 植物中超氧阴离子自由基测定方法的改进[J]. 云南植物研究, 30(11): 211-216.]
- LIAO BH, LIU J, ZHOU H, et al, 2010. Effects of Cd stress on physiological and ecological indicators and their differences of soybean plants at different growth [J]. Chin Environ Sci, 30(11): 1516-1521. [廖柏寒, 刘俊, 周航, 等, 2010. Cd 胁迫对大豆各发育阶段生长及生理指标的影响[J]. 中国环境科学, 30(11): 1516-1521.]
- LIN X, GAO SP, LEI T, et al, 2014. Effects of exogenous calcium on oxidative responses and nitric oxide in Chinese cabbage (*Brassica pekinensis*) under cadmium stress [J]. J Agro-Environ Sci, 33(9): 1699-1705. [林啸, 高素萍, 雷霆, 等, 2014. 镉胁迫下外源钙对白菜氧化应激和 NO 含量的影响[J]. 农业环境科学学报, 33(9): 1699-1705.]
- LIU JX, WANG JC, WANG RJ, et al, 2013. Effect of exogenous nitric oxide on photosynthesis and the influence of bioluminescent properties of perennial ryegrass seedlings under osmotic stress [J]. Acta Prat Sin, 1: 210-216. [刘建新, 王金成, 王瑞娟, 等, 2013. 外源一氧化氮对渗透胁迫下黑麦草幼苗光合和生物发光特性的影响[J]. 草业学报, 1: 210-216.]
- LIU JX, WANG X, LI BP, 2010. Effect of exogenous nitric oxide donor SNP on ascorbic acid-GSH cycle of perennial ryegrass seedlings leaves under NaCl stress [J]. Acta Prat Sin, 2: 82-88. [刘建新, 王鑫, 李博萍, 2010. 外源一氧化氮供体 SNP 对 NaCl 胁迫下黑麦草幼苗叶片抗坏血酸-谷胱甘肽循环的影响[J]. 草业学报, 2: 82-88.]
- LIU SS, 2008. Mitochondrial respiratory chain and reactive oxygen species [J]. Chin Bull Life Sci, 20(4): 519-527.
- LIU T, QIN XC, LI WR, et al, 2011. Effects of icariin and icaridin on eNOS expression and NOS activity in porcine aorta endothelial cells [J]. J Peking Univ (Health Sci Ed), 43(4): 500-504. [刘涛, 覃新程, 李维仁, 等, 2011. 淫羊藿苷和淫羊藿次苷 II 对内皮细胞 eNOS 表达和 NOS 活性的影响[J]. 北京大学学报(医学版), 43(4): 500-504.]
- LIU ZL, HE XY, CHEN W, 2009. Effects of cadmium stress on the growth and physiological characteristics of *Lonicera japonica* [J]. Chin J Appl Ecol, 20(1): 40-44. [刘周莉, 何兴元, 陈玮, 2009. 镉胁迫对金银花生理生态特征的影响[J]. 应用生态学报, 20(1): 40-44.]
- MINISTRY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION OF CHINA, 2014. Bulletin of soil pollution investigation [EB/OL]. [2014-04-17]. [http://www.mlr.gov.cn/xwdt/jrxw/201404/t20140417\\_1312998.htm](http://www.mlr.gov.cn/xwdt/jrxw/201404/t20140417_1312998.htm). [环境保护部, 国土资源部. 全国土壤污染状况调查公报[EB/OL]. [2014-04-17]. [http://www.mlr.gov.cn/xwdt/jrxw/201404/t20140417\\_1312998.htm](http://www.mlr.gov.cn/xwdt/jrxw/201404/t20140417_1312998.htm).]
- MOROT-GAUDRY-TALARMAIN Y, ROCKEL P, MOUREAUX T, et al, 2002. Nitrite accumulation and nitric oxide emission in relation to cellular signaling in nitrite reductase antisense tobacco [J]. Planta, 215(5): 708-715.
- SAXENA I, SHEKHAWAT GS, 2013. Nitric oxide (NO) in alleviation of heavy metal induced phytotoxicity and its role in protein nitration [J]. Nitric Oxide, 32: 13-20.
- SHAO XJ, YANG HQ, 2010. Endogenous NO and ROS generation in grape roots and leaves under CdCl<sub>2</sub> stress [J]. Chin J Appl Ecol, 21(10): 2666-2670. [邵小杰, 杨洪强, 2010. 氯化镉胁迫下葡萄根、叶内源一氧化氮和活性氧的生成[J]. 应用生态学报, 21(10): 2666-2670.]
- SUN NX, 2015. Physiological response of cutting *Medicago sativa* to cadmium stress and accumulation property [D]. Beijing: Beijing Forestry University. [孙宁晓, 2015. 刈割对紫花苜蓿 (*Medicago sativa*) 镉富集特性及耐性生理影响研究[D]. 北京: 北京林业大学.]
- SUNYY, 2014. Effects of cadmium stress on seed germination and antioxidant enzymes of three herbaceous plants seedlings [J]. Guangdong Agric Sci, 22: 35-38+43. [孙园园, 2014. 镉胁迫对 3 种草本植物种子萌发及幼苗初期抗氧化酶活性的影响[J]. 广东农业科学, 22: 35-38+43.]
- TIAN H, DUAN MY, WANG L, 2009. Research progress on nitrate reductase functions in plants [J]. Chin Agr Sci Bull, 25(10): 96-99. [田华, 段美洋, 王兰, 2009. 植物硝酸还原酶功能的研究进展[J]. 中国农业通报, 25(10): 96-99.]
- TURRENS JF, 1997. Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain [J]. Biosci Rep, 17(1): 3-8.
- WANG WX, CAO CY, CUI ZB, et al, 2006. Copper enrichment from contaminated soil by alfalfa and its physiological response [J]. J NE Univ (Nat Sci Ed), 27(10): 1161-1164. [王文星, 曹成有, 崔振波, 等, 2006. 紫花苜蓿对土壤中铜的富集效应及其生理响应[J]. 东北大学学报(自然科学版), 27(10): 1161-1164.]
- WANG XM, TU JF, LI J, et al, 2006. Effects of Cd on rape growth and antioxidant enzyme system [J]. Chin J Appl Ecol, 1: 102-102.