

镉胁迫对金丝垂柳幼苗生长及 叶绿素荧光特性的影响

孙晓灿¹, 魏虹^{1*}, 田晓锋², 贾中民³

(1. 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 西南大学 生命科学学院, 重庆 400715; 2. 广州广雅实验学校, 广州 510176; 3. 重庆市地质矿产勘查开发局川东南地质大队, 重庆 400039)

摘要: 采用盆栽试验的方法, 研究土壤中不同浓度的镉(0、2、20、80 mg · kg⁻¹)胁迫条件对金丝垂柳幼苗的生长、净光合速率(*Pn*)、光合色素含量及叶绿素荧光参数(*Fv/Fm*、 Φ_{PSII} 和 *qP*)的影响。结果表明:(1)2 mg · kg⁻¹处理组植物的生长、净光合速率及叶绿素荧光参数随着处理时间的增加呈先下降后上升的趋势, 说明 2 mg · kg⁻¹浓度的镉对金丝垂柳幼苗影响较小。(2)20 mg · kg⁻¹和 80 mg · kg⁻¹处理组的生长、净光合速率及叶绿素荧光参数均受到抑制, 而且随处理时间的增加而表现地更明显。(3)胁迫 40 d 时各处理组的光合色素含量与对照相比均无显著变化, 处理 90 d 后, 其含量随镉胁迫浓度的升高呈先升高后降低的变化趋势。研究证实金丝垂柳对较低浓度(2 mg · kg⁻¹)的镉胁迫具有良好的耐受性和和光合适应能力。

关键词: 镉; 金丝垂柳; 光合作用; 叶绿素荧光

中图分类号: Q945.79 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2011)04-0490-05

Effects of cadmium stress on growth and chlorophyll fluorescence characteristics of *Salix × aureo-pendula* seedlings

SUN Xiao-Can¹, WEI Hong^{1*}, TIAN Xiao-Feng², JIA Zhong-Min³

(1. Key Laboratory of Eco-environments of Three Gorges Reservoir Region, Ministry of Education, School of Life Science, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. Guangzhou Guangya Experimental School, Guangzhou 510176, China; 3. Southeast Sichuan Geological Party, Chongqing Bureau of Geology and Minerals Exploration, Chongqing 400039, China)

Abstract: In order to reveal the effects of cadmium stress on the growth rate, net photosynthetic rate (*Pn*), photosynthetic pigment content and chlorophyll fluorescence parameters (*Fv/Fm*, Φ_{PSII} and *qP*) of the young potted *Salix × aureo-pendula* were determined. The following conclusions were approved: the growth rate, *Pn* and chlorophyll fluorescence parameters of the young *Salix × aureo-pendula* cultured in 2 mg · kg⁻¹ cadmium medium firstly decreased and then increased as time goes by; while they dropped dramatically with the time in 20 mg · kg⁻¹ and 80 mg · kg⁻¹ cadmium conditioned soil media. It's concluded that 20 mg · kg⁻¹ and 80 mg · kg⁻¹ but not 2 mg · kg⁻¹ cadmium stress had significant effect on the growth of the young seedling. No changes of the photosynthetic pigment content was detected 40 days after the cadmium stress treatment. However, it increased and decreased in low and high cadmium concentration respectively 90 days after the treatments. Above all, the results suggested that the young potted *Salix × aureo-pendula* showed the best tolerance and photosynthetic adaptability under 2 mg · kg⁻¹ cadmium stress.

Key words: cadmium; *Salix × aureo-pendula* seedlings; photosynthesis; chlorophyll fluorescence

收稿日期: 2010-11-08 修回日期: 2010-03-11

基金项目: 重庆市自然科学基金重点项目(CSTC-2008BA7032) [Support by Key Project of Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC-2008BA7032)]

作者简介: 孙晓灿(1985-), 男, 山东淄博人, 硕士生, 研究方向为应用生态学, (E-mail) xiaocan0908@163.com.

* 通讯作者: 魏虹, 博士, 教授, (E-mail) weihong@swu.edu.cn.

镉(Cd)是毒性最强的重金属元素之一,极易在水体—土壤—动植物—人体间转移富集,并对环境造成巨大的危害(Kazuo 等,1998)。近几年长江流域三峡库区段的多目标地球化学调查数据(唐将等,2005),显示三峡库区表层土壤的镉存在区域性的轻度污染及点状中度($0.6\sim 1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)以上的污染,并呈现向四周扩散的趋势,是三峡库区表层土壤中污染最严重的重金属元素。对于土壤中镉污染的修复,目前多采用植物修复的方法,即通过植物对土壤中的镉进行萃取以达到降低土壤中镉浓度的目的(Chaney 等,1997)。而植物是否能够正常生长于镉污染地带是其能否有效对镉进行萃取的前提。在各项生理指标中,光合作用和叶绿素荧光参数可以较好地反映出植物在镉胁迫下的生长状况(陈建明等,2006),但镉胁迫对不同植物的光合系统的影响目前却存在分歧。有研究认为镉通过影响光合色素酶的活性,降低光合色素含量,进而抑制光合作用(Siedlecka 等,1996a)。也有研究认为镉胁迫对光合作用没有影响,却造成其 PS II 叶绿素结构破坏或者抑制其电子传递(邓培雁等,2007a)。因此,对于不同的植物物种还进一步的研究。

金丝垂柳(*Salix × aureo-pendula*)是杨柳科柳属速生乔木,是三峡库区适生树种,具有根系发达、生长速度快、适应性广、耐水湿等特点(徐爱春等,2007)。同时,已有研究证明柳属中的某些种具有较高的镉修复能力,所以金丝垂柳可以作为修复镉污染土壤的备选植物。本文以金丝垂柳为试验材料,通过盆栽试验研究了金丝垂柳在不同时间、浓度镉胁迫下的生物量变化和光合作用等生理过程,以探讨金丝垂柳对镉胁迫下的光合适应能力,为其在三峡库区表层土壤镉污染地区的修复过程提供依据。

1 材料与方 法

1.1 研究材料和地点

从重庆市綦江苗圃基地选取金丝垂柳当年生分蘖苗作为研究对象,2009年5月选取生长基本一致的金丝垂柳分蘖苗移栽入花盆中,每盆一株。盆高20 cm,内径15 cm,装入风干后过5 mm 筛的紫色土4 kg。将所有盆栽实验用苗置于西南大学三峡库区生态环境教育部重点实验室实验基地大棚下(透明顶棚,4周开敞)培养,期间进行常规田间管理,50 d后选取80盆进行实验。

1.2 试验设计

2009年7月将生长基本一致的盆栽试验用苗随机分组,设置CK组($0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、低浓度处理组L($2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、中浓度处理组M($20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、高浓度处理组H($80\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)共4个Cd处理水平,采用一次性浇灌方式向土壤中加入 $\text{CdCl}_2\cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 溶液。每个处理15盆。从试验处理之日算起,在0、40 d和90 d后对不同镉浓度处理下金丝垂柳幼苗的光合色素含量、净光合速率和叶绿素荧光参数进行测定,每个处理每次随机选取5株进行测定。

1.3 株高及生物量的测定

用直尺测量金丝垂柳幼苗的株高。收获全株,用20 mmol EDTANa₂洗5 min,去除根表面吸附的镉离子,然后迅速用超纯水冲洗干净。置于80℃烘箱中烘干至恒重后,用电子天平测定其生物量。

1.4 光合色素含量的测定

提取液由丙酮和乙醇按1:1比例混合制成。将所采集的金丝垂柳幼苗叶片洗净后称取0.1 g 置入10 mL 提取液中密封浸泡24 h,之后用岛津2550分光光度计对浸提液进行测定,并计算叶绿素(Chl. s)、类胡萝卜素(Car)含量。用于叶绿素提取的叶片为测定光合、荧光指标的叶片。

1.5 净光合速率(P_n)的测定

使用便携式光合仪LI-6400(Li-Cor, USA)红蓝光源叶室。控制 CO_2 浓度为 $400\ \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$,光强 $1\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,叶室温度设为25℃。选取健康成熟功能叶(从分蘖外往里数第二或第三片展开叶片中部较健康、无折痕的部位)测定 P_n ,时间为9:00~11:00。

1.6 叶绿素荧光参数的测定

使用便携式光合仪LI-6400(Li-Cor, USA)荧光叶室测定相同叶位的叶绿素荧光参数:初始荧光(F_0)、最大荧光(F_m)、稳态荧光(F_s)及光下最大荧光(F_m')。根据以上数据计算可变荧光 $F_v(F_v = F_m - F_0)$ 、PS II 电子传递的量子产量($\Phi_{\text{PS II}} = (F_m' - F_s) / F_m'$)、PS II 最大光化学效率(F_v / F_m)和光化学淬灭($qP = (F_m' - F_s) / F_v'$)。

1.7 统计分析

利用统计分析软件Spss 13.0和Excel 2003进行数据处理。

2 结果与分析

2.1 重金属镉对金丝垂柳幼苗株高和生物量的影响

处理40 d时,不同浓度的镉胁迫对金丝垂柳幼

苗的株高均显著低于对照组($P < 0.05$)。90 d时,L和M组与CK组株高没有明显差异,仅H组的株高显著低于对照组(图1:a)。金丝垂柳幼苗总生物

量的变化与株高的变化趋势大致相似,处理40 d时M和H组的生物量均显著低于CK组,90 d时,仅H组的生物量显著低于对照组(图1:b)。

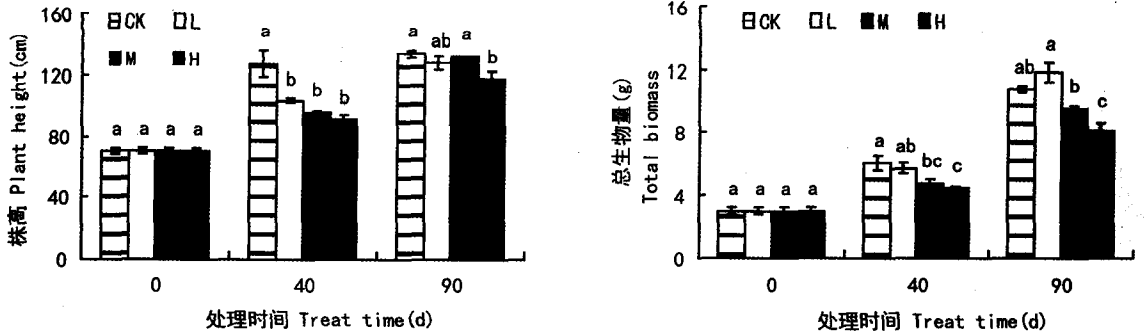


图1 镉对金丝垂柳幼苗株高及总生物量的影响(平均值±标准误)
Fig.1 The effects of height and total biomass of *Salix x aureo-pendula* seedling under different Cd concentrations(mean±SE)

a、b、c表示各组之间存在显著差异($P < 0.05$)。下同。
The different small letters meant significant difference at 0.05 level. The same below.

2.2 重金属镉对金丝垂柳幼苗光合色素含量的影响

随胁迫时间的延长,金丝垂柳幼苗各类光合色素均呈上升趋势(表1)。处理40 d时,各处理组与对照组相比各光合色素含量均无显著差异。镉胁迫90 d时,CK、L和M组结果显示各类光合色素的含量随镉胁迫浓度的升高呈上升趋势。其中,与CK组相比,L组的叶绿素a、总叶绿素和类胡萝卜素含量有所增加,但差异不显著($P > 0.05$);叶绿素b的

含量显著增加($P < 0.05$),为对照组的124.4%。M组的各类光合色素含量相比对照组均显著增加($P < 0.05$),叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素和类胡萝卜素含量分别为对照组的131.8%、136.6%、132.9%和131.1%。与M组相比,H组的各类光合色素含量虽然有所下降,但均高于对照组。总体来看,镉胁迫90 d时,金丝垂柳各类光合色素含量随镉浓度的增加,呈先上升后下降的趋势。

表1 不同浓度及处理时间下镉对金丝垂柳幼苗光合色素含量的影响(单位:mg·g⁻¹)
Table 1 Effects of the different Cd concentrations and treated times on the photosynthetic pigment content of *Salix x aureo-pendula* (mean±SE)

处理时间 Treat time(d)	处理 Treatment	叶绿素 a Chl. a	叶绿素 b Chl. b	类胡萝卜素 Car.	总叶绿素 Chl. s
0	CK	18.39±0.66a	5.85±0.23a	5.41±0.25a	24.24±0.88a
40	CK	24.43±0.60ab	8.13±0.15ab	7.43±0.15ab	32.57±0.71ab
	L	26.44±1.35a	8.57±0.41a	8.08±0.44a	35.01±1.75a
	M	21.35±0.97b	6.98±0.38b	6.43±0.34b	28.33±1.32b
	H	26.11±1.40a	8.21±0.51ab	7.90±0.58a	34.32±1.90a
90	CK	23.79±1.40a	7.13±0.34a	7.90±0.44a	30.92±1.74a
	L	27.01±1.30ab	8.87±0.72b	9.30±0.63ab	35.88±2.01ab
	M	31.35±1.10c	9.74±0.41b	10.35±0.56b	41.09±1.51b
	H	29.01±1.04bc	8.63±0.23b	9.06±0.30ab	37.64±1.24b

2.3 重金属镉对金丝垂柳幼苗净光合速率的影响

随处理时间的延长,L组呈先下降后上升的趋势,而M和H组均持续下降。(图2:a)镉胁迫40 d时,各处理组的Pn较CK组显著下降($P < 0.05$)。镉胁迫90 d时,L组的Pn与CK组相比无明显差异。M和H组的Pn显著降低($P < 0.05$),分别为

CK组的45.49%和47.33%。

2.4 镉胁迫对金丝垂柳叶绿素荧光特性的影响

2.4.1 金丝垂柳叶片最大光量子产率(Fv/Fm)的变化 镉胁迫40 d时,各处理组与对照组相比Fv/Fm无显著变化。90 d时,L组Fv/Fm无显著变化,M和H组的Fv/Fm显著降低($P < 0.05$),分别

为对照组的 96.54% 和 96.09% (图 2:b)。

2.4.2 金丝垂柳叶片 Φ_{PSII} 和 qP 的变化 镉胁迫 40 d 时, 与 CK 组相比, L 组的 Φ_{PSII} 和 qP 下降, 其中 qP 显著下降 ($P < 0.05$), 分别为对照的 83.42% 和 82.91%。而 M 和 H 组的 Φ_{PSII} 及 qP 无明显变化。

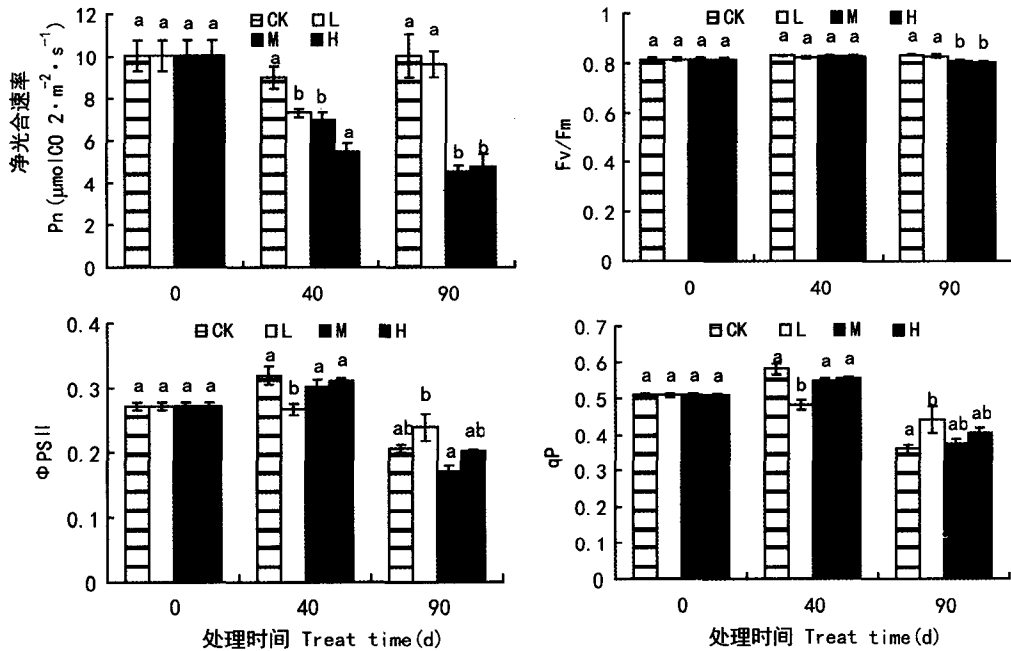


图 2 镉对金丝垂柳幼苗净光合速率及叶绿素荧光参数的影响

Fig. 2 Effects of P_n and chlorophyll fluorescence parameters of *Salix x aureo-pendula* seedling under different Cd concentrations (mean \pm SE)

的镉有较为灵敏的响应(图 2:c,d)。

3 讨论

光合作用是植物生长的基础代谢活动, 重金属镉可以通过抑制植物的光合作用来影响其生物量的积累(曹玲等, 2006)。因此, 在镉胁迫下, 植物能否保持较高的光合速率是植物耐受重金属镉的重要条件之一。如邓培雁等(2007)的研究表明, 宝山莖菜对镉的耐受性极强, 是已被证明了的镉超富集植物, 其结果表明宝山莖菜的光合作用没有受到镉胁迫的影响。本实验结果显示, 金丝垂柳幼苗的净光合速率与生长指标的变化趋势较为一致, 其中 L 组的净光合速率先下降后上升, 说明金丝垂柳幼苗可通过自身调节, 耐受较低浓度的镉, 而较高浓度的镉对于金丝垂柳幼苗净光合速率及生长的抑制作用明显, 因此认为金丝垂柳幼苗对较低浓度的镉具有较好的

说明短时间内, 低浓度 ($2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 的镉对金丝垂柳叶片 Φ_{PSII} 和 qP 的影响较大。90 d 时, L 组的 Φ_{PSII} 和 qP 均显著升高, 其中 qP 变化显著。M 和 H 组与 CK 组仍无显著差异。可见, 通过长时间处理, 金丝垂柳叶片 Φ_{PSII} 和 qP 仍对低浓度 ($2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

适应性。

叶绿素等光合色素是光合作用的物质基础, 其含量的高低决定植物光合作用的水平(蒋运生等, 2009)。Siedlecka & Krupa (1996) 研究认为, 在镉胁迫下, 随着胁迫浓度和时间的增加, 光合色素含量呈下降趋势。而本实验结果显示, 金丝垂柳叶片光合色素含量呈先上升后下降的趋势, 这与刘周莉等(2009)的研究结果相一致。这可能是由于随着镉胁迫浓度和时间的增加, 更多的镉进入植物体细胞内, 使叶绿素酶活性比例失调, 叶绿素分解加快, 致使含量下降。实验结果表明, 短时间内或较低浓度的镉胁迫对金丝垂柳光合色素含量影响较小, 甚至低浓度的镉促进了金丝垂柳幼苗光合色素的合成, 因此认为低浓度的镉不会破坏金丝垂柳幼苗光合色素的合成。

叶绿素荧光动力学技术被称为研究植物光合功能的快速、无损伤探针, 已被广泛应用于环境胁迫对

光合作用影响的研究中,与传统生理指标相比叶绿素荧光参数更具有反映光合系统“内在性”的特点(李晓等,2006)。最大光量子产率(F_v/F_m)反映了当所有 PS II 反应中心均处于开放状态时的量子产量,曹玲等(2006)研究认为,当植物受到胁迫时,其值会显著下降。本研究结果显示,40 d 时,各处理组与对照组无明显差异。90 d 时,L 组的 F_v/F_m 无明显变化,而 M 和 H 组的 F_v/F_m 显著下降,说明镉在高浓度、长时间的条件下胁迫明显,并可对金丝垂柳幼苗的 PS II 系统产生不利影响。

实际光化学效率 Φ_{PSII} 与光化学淬灭 qP 都能有效反映植物在光适应状态下进行光化学反应的能力(贾中民等,2009;朱建玲等,2008)。在本研究中,L 组在 40 d 时 qP 显著降低,而在 90 d 时 Φ_{PSII} 和 qP 都显著高于对照组,也随处理时间的延长呈先下降后上升的趋势,与净光合速率的变化相一致。因此,推测镉通过影响 PS II 原初电子受体 Q_A ,抑制其正常的氧化还原过程来影响金丝垂柳幼苗的 Φ_{PSII} 和 qP ,进而抑制其光合作用。

综上所述,镉对金丝垂柳幼苗光合色素含量的抑制作用较小,而对 PS II 中各类酶的活性抑制效果更为显著,因此 PS II 系统对镉更加敏感,而光合色素含量的变化相对滞后。就生长及光合适应能力而言,金丝垂柳幼苗对于较低浓度($\leq 2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)的镉胁迫具有较好适应性,可用于三峡库区消落带表层土壤镉污染严重的区域($0.6 \sim 1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)进行植物修复工作。

参考文献:

- Cao L(曹玲), Wang QC(王庆成), Cui DH(崔东海). 2006. Impact of soil cadmium contamination of chlorophyll fluorescence characters and biomass accumulation of four broad-leaved tree species seedling(土壤镉污染对四种阔叶树苗木叶绿素荧光特性和生长的影响)[J]. *Chin J Appl Ecol*(应用生态学报), 17(5):769-772
- Chaney RL, Malik M. 1997. Phytoremediation of soil metals[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 8(3):279-184
- Chen JM(陈建明), Yu XP(俞晓平), Cheng JA(程家安). 2006. The application of chlorophyll fluorescence kinetics in the study of physiological responses of plants to environmental stresses(叶绿素荧光动力学及其在植物抗逆生理研究中的应用)[J]. *Acta Agric Zhejiang Sin*(浙江农业学报), 18(1):51-55
- Deng PY(邓培雁), Liu W(刘威), Han BP(韩博平). 2007. Photosynthesis of *Viola baoshanensis* under Cd stress(宝山堇菜镉胁迫下的光合作用)[J]. *Acta Ecol Sin*(生态学报), 27(5):1858-1863
- Jia ZM(贾中民), Wei H(魏虹), Tian XF(田晓峰). 2009. Effects of long-term flooding on photosynthesis and chlorophyll fluorescence parameters of *Pterocarya stenoptera* seedlings(长期水淹对枫杨幼苗光合生理和叶绿素荧光特性的影响)[J]. *J Southwest Univ*(西南大学学报), 31(5):124-129
- Jiang YS(蒋运生), Chai SF(柴胜丰), Tang H(唐辉), et al. 2009. Effect of different light intensities on photosynthetic characteristics and growth of *Stephania kwangsiensis*(光照强度对广西地不容光合特性和生长的影响)[J]. *Guihaia*(广西植物), 29(6):792-796
- Kazuo N, Hiroko N. 1998. Cadmium-induced renal dysfunction: new mechanism, treatment and prevention[J]. *J Trace Elements Exp Med*, 11:275-288
- Li X(李晓), Feng W(冯伟), Zeng XC(曾晓春). 2006. Advances in chlorophyll fluorescence analysis and its uses(叶绿素荧光分析技术及应用进展)[J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*(西北植物学报), 26(10):2186-2196
- Liu ZL(刘周莉), He XY(何兴元), Chen W(陈玮). 2009. Effects of cadmium stress on the growth and physiological characteristics of *Lonicera japonica*(镉胁迫对金银花生理生态特征的影响)[J]. *Chin J Appl Ecol*(应用生态学报), 20(1):40-44
- Siedlecka A, Krupa Z. 1996. Interaction between cadmium and iron and its effects on photosynthetic capacity of primary leaves of *Phaseolus vulgaris*[J]. *Plant Physiol Biochem*, 34:833-841
- Tang J(唐将), Liu AY(刘安云), Deng FY(邓富银), et al. 2005. Geochemical characteristics of cadmium in soils and stream sediments in the Three Gorges reservoir area, China(长江三峡库区土壤与水系沉积物 Cd 地球化学特征)[J]. *Geol Bull Chin*(地质通报), 24(8):750-754
- Xu AC(徐爱春), Chen YT(陈益泰), Wang SF(王树凤), et al. 2007. Changes of physiological characteristic of five *Salix* clones under cadmium stress(镉胁迫下柳树五个无性系生理特性的变化)[J]. *Ecol Environ*(生态环境), 16(2):410-415
- Zhu JL(朱建玲), Xu ZF(徐志防), Cao HL(曹洪麟), et al. 2008. Effect of cadmium on photosynthetic traits in *Wedelia trilobata*(镉对南美蟛蜞菊光合特性的影响)[J]. *Ecol Environ*(生态环境), 17(2):657-660