植物营养与肥料学报 2001,7(1):78～87
Plant Nutrition and Fertilizer Science

钙对镉胁迫下玉米生长及生理特性的影响

汪 洪,周 卫,林 葆
(中国农业科学院土壤肥料研究所,北京 100081)

摘要:采用溶液培养试验,研究不同的钙和镉处理对玉米植株生长、叶绿素含量、硝酸还原酶和ATPase酶活性以及叶片中丙二醛含量、活性氧清除酶系统活性的影响。结果表明,根部未供钙或叶面喷施 $CaCl_2$ 时,加镉处理玉米根、地上部生物量降低,根冠比加大;而根部供钙,植株生长较好,生物量较高,根冠比相对较小。营养液中加镉,玉米植株中镉浓度显著增加,根部镉浓度明显比地上部高,根中镉约占65%～78%,地上部镉占到22%～35%左右。根部供钙比未供钙处理,根中镉含量虽没有显著性差别,但地上部镉浓度明显较低。叶片喷施 $CaCl_2$ 4次比喷施2次处理,地上部镉浓度增加。供钙明显增加了玉米植株中钙浓度。未供钙的玉米叶片叶绿素含量下降,但叶绿素a/叶绿素b比基本不变;加镉处理,玉米叶片叶绿素a、叶绿素b及叶绿素总量下降更甚,叶绿素a/叶绿素b比升高;叶面喷施 $CaCl_2$,叶绿素含量也较低。前期和后期根部供钙处理,叶绿素下降程度有所缓解。而根部一直供钙,玉米叶片中叶绿素a、叶绿素b和叶绿素总量明显提高。镉抑制了玉米植株叶片硝酸还原酶活性、ATPase活性;根中ATPase活性以及活性氧清除酶系统超氧化物歧化酶(SOD)、愈创木酚过氧化物酶(Gua.-POD)、抗坏血酸过氧化物酶(AsA-POD)、过氧化氢酶(CAT)受镉的诱导而增加,叶片中丙二醛(MDA)含量升高。与未供应钙加镉处理相比,根部供钙加镉处理的玉米叶片硝酸还原酶活性、ATPase活性显著增加,也明显减轻了镉对根中ATPase活性、叶片中丙二醛含量、活性氧清除酶系统SOD,POD,CAT活性的诱导效应。间隔供钙,在一定程度上缓解了镉的毒害,但是叶片喷施 $CaCl_2$,对减轻镉毒害无明显效果。因此在本试验条件下,根部供钙对缓解玉米镉毒害有重要作用。

关键词:钙;镉;玉米;生理特性
中图分类号:S143.7;S513 **文献标识码**:A **文章编号**:1008-505X(2001)01-0078-10

镉在植物体内积累不仅会阻碍植物生长,而且会通过食物链危及人体健康[1]。改良土壤镉污染已日益受到重视。研究发现,施用石灰,可减少植物对镉的吸收,普遍认为是由于施石灰提高了土壤pH值,使土壤对镉的吸附增强,土壤溶液中镉的浓度降低[2]。石灰中钙对减轻镉过多的危害也有直接的作用。液培试验条件下,随营养液中钙浓度增加,玉米幼苗镉含量下降[3]。Andersson和Nilsson[4]认为钙可以与镉竞争植物根系上吸收位点。但从植物生理作用上对钙减轻镉毒害的研究较少。为此,通过液培试验,研究了不同钙镉处理玉米的生长情况、叶绿素含量、硝酸还原酶和ATPase活性和叶片中丙二醛含量、活性氧清除酶系统活性,为从生理上探明植物体内钙减轻镉毒害机理提供依据。

收稿日期:1999-07-08
基金项目:国家自然科学基金资助项目(49671044)。
作者简介:汪 洪(1970—),男,安徽桐城市人,助理研究员,主要从事土壤和植物微量元素营养研究。
本试验在农业部植物营养学重点开放实验室完成。

1 材料与方法

1.1 植物培养与试验处理

玉米(品种:农大 108)在酸洗净的石英砂中发芽出苗后,取生长一致的幼苗,清洗干净,在营养液中培养。基础营养液组成(mmol/L):K_2SO_4 0.75,KH_2PO_4 0.25,KCl 0.1,$MgSO_4$ 0.6,FeEDTA 4.0×10^{-3},H_3BO_3 1.0×10^{-3},$MnSO_4$ 1.0×10^{-3},$ZnSO_4$ 1.0×10^{-3},$CuSO_4$ 1.0×10^{-4},$(NH_4)_6Mo_2O_4$ 5.0×10^{-6}。培养在温室内进行,容器为 1.8 L 的白瓷盆,每盆栽 4 株幼苗,每周换 2 次营养液。培养温度 18～30℃。试验设:(1)根部不供钙不加镉:－Ca－Cd;(2)根部不供钙加镉:－Ca＋Cd;(3)根部供钙不加镉:＋Ca－Cd;(4)根部供钙加镉:＋Ca＋Cd;(5)根部前期(1 周)供钙不加镉,后期不供钙加镉:＋Ca/＋Cd;(6)根部前期(1 周)不供钙加镉,后期供钙不加镉:＋Cd/＋Ca;(7)根部加镉,试验期内叶面喷施 2 次钙:＋Cd＋Ca(L)2;(8)根部加镉,试验期内叶面喷施 4 次钙 :＋Cd＋Ca(L)4 等 8 个处理,每处理重复 3 次。营养液镉处理以 $CdCl_2$ 形式加入,浓度为 Cd 5mg /L;根部供钙以 $Ca(NO_3)_2$ 形式供应,浓度为 Ca 2.0×10^{-3} mol/L;叶面喷钙是 0.5%$CaCl_2$(加 10%吐温 20 展开液),每 3 d 喷施 1 次,每次每株 2 mL。各处理供氮浓度相同,不加 Ca 的处理,以 $NaNO_3$ 补充氮。植株生长 4 周后,取样测定。

1.2 测定项目和方法

植株中钙镉的测定:植株的根、地上部用去离子水洗净后,105℃下杀青,60～70℃下烘干。粉碎过的样品经 HNO_3-$HClO_4$(4:1)消煮,用原子吸收分光光度计测定钙、镉含量。

叶片叶绿素总量测定:取下部叶片,参照文献[5]的方法,用 4.5:4.5:1 的丙酮:无水乙醇:去离子水直接浸提 24 h(冰箱中),浸提液在 645nm 和 663nm 波长处用紫外可见分光光度计测吸光值,根据 Aron 公式计算。

硝酸还原酶活性测定:取完全展开的新叶,用磺胺比色法[6]。

ATPase 活性测定:参照文献[7]的方法进行。选取植株新鲜根和叶片样品,用 pH 7.4 的下列缓冲液:0.1%牛血清蛋白、25mmol/L Hepes-Tris、250mmol/L 甘露醇、3mmol/L EGTA、1mmol/L DTT 研磨后,在冷冻高速离心机上离心 30 min,上清液于 4℃冰箱中保存备用。取含酶上清液在反应物:0.05mol/L Hepes-Tris 缓冲液含 $MgSO_4$ 30 mmol/L、ATP 二钠盐 30 mmol/L、500 mmol/L KCl 37℃下培育 30 min,后用反应终止液(5%钼酸铵:20mol/L H_2SO_4:H_2O=1:1:3)终止,用显色法测定反应后磷含量。

丙二醛和 SOD、POD、CAT 活性的测定:取 1 g 左右叶片样品,加入预冷过的 50 mmol/L pH 7.8 磷酸缓冲液,在冰浴下研磨成匀浆,4℃下 12000g 离心 10 min,上清液在冰箱中保存备用。用硫代巴比妥酸显色测定丙二醛含量[8]。SOD 用硝基四氮唑蓝光化还原法测定,抑制对照硝基四氮唑蓝还原一半时酶量为一个酶活性单位(U)[7]。POD 分别用愈创木酚[8]和抗坏血酸[9]作底物,加入 H_2O_2 后,在波长 470nm 和 290nm 处用 GBC－911A 紫外可见分光光度计进行时间扫描。CAT 反应底物直接用 H_2O_2 处理,在 240 nm 处进行时间扫描测定[10]。POD 和 CAT 活性单位以单位鲜重或蛋白质每分钟吸光度变化值 ΔA 计算。

蛋白质含量测定:考马斯亮兰 G－250 比色法[6],蛋白质含量用于计算酶活性。

2 结果与分析

2.1 不同钙镉处理对玉米植株生长的影响

玉米移栽 1 周后,－Ca＋Cd 处理植株叶片上出现萎蔫、边缘黄化症状,植株生长矮小,根系发黑。到生长后期,症状加重,老叶焦灼、发黄。这些症状在－Ca－Cd 处理上没有出现,表明这是镉的影响,但＋Ca＋Cd 处理的玉米植株明显没有这些症状。2 周后,未供钙的

植株出现缺钙症状:刚长出的新叶枯萎、发蔫;+Ca/+Cd 处理的植株也出现了部分镉毒害症状,但较 -Ca+Cd 处理的好。+Cd/+Ca 处理,前期植株生长较差,在停止加镉后供钙,长出新根和新叶,生长改善。所有叶面喷钙处理,玉米植株仍有镉毒害症状,没有明显的改善作用。

从生物量上看,未供钙或叶面喷施 $CaCl_2$ 时,加镉处理严重抑制了玉米植株根、地上部生长,植株生物量最低,根冠比增大;而 +Ca+Cd 处理,植株生长较好,生物量较高,根冠比相对小。+Ca/+Cd 和 +Cd/+Ca 处理植株,生物量也增加。未供钙处理,比正常供钙的玉米植株生物量较小。

表 1 不同钙镉处理的玉米植株根、地上部及植株生物量

Table 1 Biomass of roots ,shoots and whole plant of maize with different Ca and Cd treatments

处理 Treatments	生物量 Biomass (g/pot)			
	根 Root	地上部 Shoot	整株 Whole plant	根冠比 Root/Shoot
-Ca-Cd	0.302±0.092	0.770±0.072	1.072±0.142	0.38±0.10
+Ca-Cd	0.512±0.024	2.250±0.238	2.762±0.262	0.23±0.01
-Ca+Cd	0.216±0.012	0.320±0.044	0.536±0.056	0.68±0.07
+Ca+Cd	0.332±0.076	0.706±0.192	1.038±0.200	0.50±0.19
+Ca/+Cd	0.328±0.096	1.044±0.084	1.370±0.170	0.31±0.08
+Cd/+Ca	0.220±0.018	0.636±0.094	0.856±0.110	0.35±0.03
+Cd+Ca(L)2	0.190±0.024	0.312±0.020	0.504±0.028	0.61±0.10
+Cd+Ca(L)4	0.222±0.020	0.392±0.070	0.614±0.090	0.58±0.05
$LSD_{0.05}$	0.12	0.24	0.30	0.20
$LSD_{0.01}$	0.16	0.34	0.42	0.28

2.2 不同钙镉处理的玉米植株中钙镉含量

表 2 表明,营养液中加镉,玉米植株中镉含量显著增加,玉米根部镉含量明显比地上部高;不加镉处理,玉米植株中镉含量很低。+Ca+Cd 处理比 -Ca+Cd 处理,根中镉含量没有显著性差别,但地上部镉浓度明显较低;而 +Ca/+Cd 和 +Cd/+Ca 处理,玉米地上部镉浓度也明显较低。叶片喷施 $CaCl_2$ 2 次的玉米地上部镉浓度较低,但喷施 4 次,地上部镉浓度反而增加,其原因可能与 Cl^- 浓度增加有关,尚需进一步研究。据 Smolders 等[11]报道,营养液中 Cl^- 浓度增加能够促进植物对镉的吸收。表 2 还看出,根部供钙明显增加玉米植株中钙的浓度,且地上部钙浓度高于根部。叶片喷施 $CaCl_2$ 则显著增加了在玉米地上部钙浓度。

除 +Cd/+Ca 处理外,所有加镉处理的玉米根中镉累积量都较多,占全株累积量的 65%~78%;而地上部镉的累积量较少,只占 22%~35% 左右。所有处理的玉米根中钙总量相对较少,仅为全株的 9%~40%;但未供钙处理的玉米根中钙分配则较多,叶片喷施 $CaCl_2$,地上部钙分配比例相对较高(表 3)。

表 2　不同钙镉处理的玉米植株中钙、镉浓度

Table 2　Concentration of Cd and Ca in roots and shoots of maize with different Ca and Cd treatments

处理 Treatments	镉浓度 Conc. of Cd (mg/kg)		钙浓度 Conc. of Ca (mg/kg)	
	根 Root	地上部 Shoot	根 Root	地上部 Shoot
-Ca-Cd	nd	nd	1.98±0.44	1.18±0.228
+Ca-Cd	nd	nd	4.61±0.11	5.00±0.33
-Ca+Cd	0.63±0.11	0.22±0.005	2.05±0.24	3.88±0.488
+Ca+Cd	0.65±0.09	0.16±0.02	4.72±0.30	5.38±0.24
+Ca/+Cd	0.75±0.13	0.10±0.02	2.39±0.23	4.98±0.34
+Cd/+Ca	0.12±0.03	0.06±0.01	4.80±0.23	5.85±0.55
+Cd+Ca(L)2	0.66±0.13	0.14±0.01	2.58±0.64	12.94±3.37
+Cd+Ca(L)4	0.73±0.16	0.21±0.03	4.22±0.25	23.94±2.56
$LSD_{0.05}$	0.22	0.03	0.77	3.43
$LSD_{0.01}$	0.31	0.04	1.07	4.76

注:nd 表示未测出,下同。Note:nd means not determined,same as follows

表 3　不同钙镉处理的玉米植株对钙、镉的吸收量

Table 3　Uptake of Cd and Ca in roots and shoots of maize with different Ca and Cd treatments

处理 Treatments	镉吸收量 Uptake of Cd (mg/pot)		钙吸收量 Uptake of Ca (mg/pot)	
	根 Root	地上部 Shoot	根 Root	地上部 Shoot
-Ca-Cd	nd	nd	0.60±0.30(39.5)	0.92±0.26(60.5)
+Ca-Cd	nd	nd	2.36±0.18(17.4)	11.22±1.14(82.6)
-Ca+Cd	0.14±0.04(77.8)	0.04±0.00(22.2)	0.44±0.04(26.5)	1.22±0.10(73.5)
+Ca+Cd	0.20±0.04(76.9)	0.06±0.01(23.1)	1.54±0.30(28.6)	3.84±1.18(71.4)
+Ca/+Cd	0.24±0.02(70.6)	0.10±0.02(29.4)	0.76±0.14(12.8)	5.20±0.48(87.2)
+Cd/+Ca	0.02±0.010(33.3)	0.04±0.00(66.7)	1.06±0.12(21.9)	3.78±0.86(78.1)
+Cd+Ca±(L)2	0.12±0.02(75.0)	0.04±0.00(25.0)	0.48±0.06(10.6)	4.06±1.10(89.4)
+Cd+Ca(L)4	0.16±0.02(66.7)	0.08±0.02(33.3)	0.94±0.06(9.3)	9.20±0.66(90.7)
$LSD_{0.05}$	0.04	0.01	0.38	1.84
$LSD_{0.01}$	0.06	0.02	0.54	2.54

注:括号内数据是镉和钙在玉米根和地上部分配比例。

Note: Numbers in brackets means percentage of Ca,Cd uptake by root and shoot of maize.

2.3　不同钙镉处理玉米叶片叶绿素总量

表 4 表明,一直没有供钙的玉米相对于正常供钙植株,叶片中叶绿素 a、叶绿素 b 及叶绿素总量均下降,但叶绿素 a/叶绿素 b 比值基本不变。-Ca+Cd 处理,玉米叶片叶绿素 a、叶绿素 b 及叶绿素总量下降更多,叶绿素 a/叶绿素 b 比值升高;叶面喷施 $CaCl_2$,叶绿素总量反而更低。+Ca+Cd 处理的玉米叶片失绿明显改善,叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素总量均有提高;+Ca/+Cd和 +Cd/+Ca,比一直不供钙的处理,叶绿素下降程度也有缓解。根部 +Ca+Cd,叶绿素 a/叶绿素 b 比值提高,其原因尚待进一步研究。

表 4 不同钙镉处理玉米叶片叶绿素含量(mg/g,FW)

Table 4 Chlorophyll contents of maize leaves with different Ca and Cd treatments

处理 Treatments	叶绿素 a Chl.a	叶绿素 b Chl. b	叶绿素总量 Total chl.	叶绿素 a/叶绿素 b Chl. a / Chl. b
-Ca-Cd	1.17	0.59	1.76	1.99
-Ca+Cd	0.35	0.16	0.51	2.22
+Ca+Cd	1.00	0.39	1.39	2.61
+Ca-Cd	1.82	0.89	2.71	2.04
+Ca/+Cd	0.56	0.17	0.73	3.17
+Cd/+Ca	0.54	0.16	0.70	3.31
+Cd+Ca(L)2	0.27	0.11	0.38	2.52
+Cd+Ca(L)4	0.34	0.15	0.49	2.30

2.4 不同钙镉处理玉米叶片和根中 ATPase 活性

表 5 看出,外界未供钙的玉米叶片和根中 ATPase 活性比根部供钙处理高;+Ca+Cd、+Ca-Cd、叶片喷施 $CaCl_2$ 处理的玉米叶片和根中 ATPase 活性都较低。所有 +Cd 处理的玉米叶片中 ATPase 活性比 -Cd 处理明显提高,而根中 ATPase 活性则受到镉的抑制。+Cd/+Ca处理提高玉米根中 ATPase 活性,但叶片中 ATPase 活性却降低;相反,+Ca/+Cd,叶片中 ATPase 活性增高,而根中 ATPase 活性降低。叶片喷施 $CaCl_2$ 与 +Ca+Cd处理相比,叶片中 ATPase 活性较低,根中 ATPase 活性差异不明显。表明根部未供钙时加镉,抑制了根中 ATPase 活性,而诱导了叶片中 ATPase 活性提高;根部供钙,能有效减轻镉对玉米叶片和根中 ATPase 活性的影响。

表 5 不同钙镉处理玉米叶片硝酸还原酶活性及叶片、根 ATPase 活性

Table 5 The activities of nitrate reductase and ATPase in leaves and roots of maize with different Ca and Cd treatments

处理 Treatments	硝酸还原酶 (NO_2^-, $\mu g \cdot g_{FW}^{-1} \cdot h^{-1}$)	叶片 Leaves		根 Roots	
		ATPase (P,nmol·$mg_{FW}^{-1} \cdot h^{-1}$)	ATPase (P,nmol·$\mu g_{protein}^{-1} \cdot h^{-1}$)	ATPase (P,nmol·$mg_{FW}^{-1} \cdot h^{-1}$)	ATPase (P,nmol·$\mu g_{protein}^{-1} \cdot h^{-1}$)
-Ca-Cd	1.71	54.0	6.74	98.4	21.38
-Ca+Cd	0.51	58.3	7.56	97.3	15.98
+Ca-Cd	3.12	33.8	3.19	45.7	12.03
+Ca+Cd	0.89	45.3	5.63	48.6	12.20
+Ca/+Cd	3.14	68.9	7.51	36.2	9.11
+Cd/+Ca	2.19	46.1	4.76	54.9	16.57
+Cd+Ca(L)2	0.79	48.4	4.49	74.8	11.61
+Cd+Ca(L)4	2.39	60.8	4.36	50.7	12.34

2.5　不同钙镉处理玉米叶片硝酸还原酶活性

外界未供钙的玉米叶片硝酸还原酶活性较低。供钙处理,无论是根部一直供钙还是前期或后期间隔供钙,叶片中硝酸还原酶活性均有提高;加镉的玉米叶片中硝酸还原酶活性下降,尤其是 - Ca + Cd 处理。叶片中硝酸还原酶活性最低,叶片喷施 2 次 $CaCl_2$,硝酸还原酶活性不高,但喷施 $CaCl_2$ 4 次的处理,叶片中硝酸还原酶活性较高。根部供钙,明显减轻了镉对叶片中硝酸还原酶活性的抑制, + Ca + Cd 的处理,叶片硝酸还原酶活性比 - Ca + Cd 的高。间隔加钙或加镉如 + Ca/ + Cd 和 + Cd/ + Ca 处理比 + Ca + Cd 处理,叶片中硝酸还原酶活性反而更高(表 5)。

2.6　不同钙镉处理的玉米叶片中丙二醛(MDA)含量

丙二醛(MDA)是膜脂过氧化的最终产物,会严重损伤生物膜,MDA 与蛋白质结合引起蛋白质分子内和分子间的交联[7]。表 6 看出,加入镉,叶片中丙二醛含量明显增加,尤其是 - Ca + Cd 处理,丙二醛含量增加更甚。叶片喷施 $CaCl_2$ 跟 - Ca + Cd 的处理相比,叶片中丙二醛含量少,与 + Ca + Cd 相比,丙二醛含量没有多大区别。 + Ca/ + Cd 和 + Cd/ + Ca 处理,叶片中丙二醛含量反而下降。 - Ca - Cd 的处理,比起 + Ca - Cd 的处理,玉米叶片中丙二醛也较低(表 6)。

表 6　不同钙镉处理的玉米叶片中 丙二醛(MDA)含量及 SOD、愈创木酚 POD、抗坏血酸 POD、CAT 活性

Table 6　The contents of malondialdehyde and activities of SOD, guaiacol POD, ascorbate peroxidase, CAT in leaves of maize with different Ca and Cd treatments

项目 Items	- Ca - Cd	+ Ca - Cd	- Ca + Cd	+ Ca + Cd	+ Ca/ + Cd	+ Cd/ + Ca	+ Cd + Ca(L)2	+ Cd + Ca(L)4
MDA　($nmol/g_{FW}$)	8.90	13.40	26.50	14.30	11.70	9.80	14.90	13.30
SOD　(U/g_{FW})	35.73	47.43	101.76	52.83	39.05	46.89	78.68	81.83
($U/mg_{protein}$)	5.03	4.64	7.61	5.85	4.88	4.48	8.89	9.44
愈创木酚　($\Delta A \cdot min^{-1} \cdot g_{FW}^{-1}$)	22.29	17.94	43.46	24.00	17.94	22.56	27.21	27.06
POD　($\Delta A \cdot min^{-1} \cdot g_{protein}^{-1}$)	2.13	1.76	3.25	2.66	2.24	2.15	3.07	3.12
抗坏血酸　($\Delta A \cdot min^{-1} \cdot g_{FW}^{-1}$)	0.45	0.72	1.84	0.65	0.94	0.65	1.46	1.37
POD　($\Delta A \cdot min^{-1} \cdot g_{protein}^{-1}$)	0.06	0.07	0.14	0.07	0.12	0.06	0.17	0.16
CAT　($\Delta A \cdot min^{-1} \cdot g_{FW}^{-1}$)	1.23	1.41	8.34	1.56	2.81	4 .90	2.61	8.52
($\Delta A \cdot min^{-1} \cdot g_{protein}^{-1}$)	0.17	0.14	0.63	0.17	0.35	0.47	0.30	0.98

2.7　不同钙镉处理的玉米叶片中 SOD、愈创木酚 POD、抗坏血酸 POD 和 CAT 活性

SOD、愈创木酚 POD、抗坏血酸 POD、CAT 是植物体内活性氧清除酶系统。在 8 个处理中, - Ca + Cd、+ Cd + Ca(L)2、+ Cd + Ca(L)4 等处理的玉米叶片中这 4 种酶活性均较高。而 + Ca + Cd、+ Ca/ + Cd、+ Cd/ + Ca 等处理,4 种酶活性都明显下降。营养液中有镉存在时,根部供应钙,无论是一直供应还是间隔供应,会明显减轻镉对玉米叶片中 SOD、愈创木酚 POD、抗坏血酸 POD、CAT 的诱导。 + Ca - Cd 和 - Ca - Cd 处理,4 种酶活性相对较低(表 6)。

3 讨论

镉过多对植物产生严重损害,植物叶片失绿,叶绿素总量下降[12]。Van Assche 和 Clijsters[13]认为是镉抑制了原叶绿素酸酯还原酶活性引起的。本试验也得到同样的结果。镉毒害玉米植株出现萎蔫现象,Wong 等人[14]在豌豆上也观察到同样现象,并认为是茎生长下降,导水能力降低的结果;镉毒害植物根系生长也受抑,导水能力也下降[15]。

杨居荣等[16]报道,在镉胁迫下,植物体内硝酸还原酶活性变化无明显规律。本试验的结果表明,镉毒害的玉米叶片中硝酸还原酶活性下降,尤其在未供钙情况下。但镉似乎对叶片中 ATPase 活性有诱导作用。体外的试验证明,镉对 Mg^{2+}-ATPase 活性抑制是竞争性的,因为镉与 ATP 结合,降低了酶底物 Mg-ATP 浓度[17]。Kennedy 和 Gonsalves[18,19]也发现在玉米根部加镉,抑制了根 Mg^{2+}-ATPase 活性以及与之有关的 H^+ 流动、跨膜跨根运输势。而 Ros 等[20]发现,镉增加了水稻地上部 Mg^{2+}-ATPase 活性,这种增加是因为膜脂组分有变化,菜油固醇/谷固醇比值下降。除了以上 ATPase 和硝酸还原酶外,镉胁迫对植物体内其它酶如:玉米叶片中 6-磷酸脱氢酶、异柠檬酸脱氢酶、苹果酸酶活性也有抑制作用[21]。有关镉抑制植物体内酶活性的机理,可能在于镉与酶蛋白中巯基-SH 结合,使酶的催化中心或酶结构受损。另外,镉胁迫的植物对某些金属元素吸收减少,在植物体内镉替代了某些元素,而这些金属元素是一些酶的辅基或辅酶[17]。

Elstner 等人[22]认为,镉与植物膜脂过氧化及体内活性氧清除酶系统有密切关系。镉胁迫会诱导植物体内 H_2O_2 和有机过氧化物的形成。罗立新等[23,24]研究也证实了镉胁迫的小麦叶片中 H_2O_2、超氧化物自由基 O_2^- 积累,伴随丙二醛升高,抗坏血酸 POD、SOD 和谷胱甘肽还原酶活性下降,内源抗氧化剂抗坏血酸和谷胱甘肽含量减少。但是愈创木酚 POD 活性增加。Lagriffoul 等[21]发现液培玉米第 3 叶和第 4 叶中镉浓度超过 3 和 5 mg/kg 时,POD 活性增加,但未发现有专一性的 POD 同工酶。Lee 等[25]认为镉诱导大豆体内 POD 及其它几种水解酶(核糖核酸酶、脱氧核糖核酸酶、酸性磷酸酶)活性升高,加速了植物衰老。菜豆基质培养试验[17]表明,加入镉,总 SOD 活性没有变化,但是镉抑制了 Cu-Zn-SOD 活性,而 CN^- 敏感型 SOD 活性升高,原因可能是镉抑制了菜豆对锌的吸收。本试验以玉米为材料研究的结果表明,镉毒害的玉米叶片中丙二醛含量明显增加,尤其是加镉缺钙的情况下,丙二醛含量增加更多。镉可诱导玉米叶片中 SOD、愈创木酚 POD、抗坏血酸 POD、CAT 的活性。

钙对于植物细胞壁和细胞膜的稳定、体内酶的调控、阴阳离子的平衡具有重要作用。已有试验表明,钙对减轻镉毒害也有十分重要的意义。Zhou 和 Lin[3]在液培条件下发现,随营养液中钙浓度增加,玉米幼苗镉含量下降。Andersson 和 Nilsson[4]认为钙可以与镉竞争植物根系上吸收位点。本试验结果也表明,未供钙情况下,玉米易受镉的毒害,生长受抑,叶片中叶绿素总量显著降低。供钙不仅在外观上还是生物量上,均可看到对镉毒害有显著的缓解作用。尽管供钙的玉米根部镉浓度并无多大变化,但地上部镉浓度显著降低,这与 Tyler 和 Mcbride[26]的结果一致,表明钙阻止镉向地上部运输。从所测定的一些植物生理特性上,也明显显示出钙减轻镉的毒害。根部供应钙时明显减轻了加镉的玉米叶片硝酸还原酶活性、ATPase 活性降低,对镉诱导的根中 ATPase 活性、叶片中丙二醛含量、活性氧清除酶系

统(SOD,POD,CAT)活性升高也显著减轻。间隔供钙,一定程度上缓解了镉的毒害,但是叶片喷施 $CaCl_2$,对减轻镉的影响效果不佳。因此,根部供钙对缓解玉米植株生长及生理过程中受镉的影响有着重要作用。

参 考 文 献:

[1] Wagner G J. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health[J]. Adv. Agron., 1993,51: 173-205.

[2] Naidu R., Bolan N S,Kookana R S and Tiller K G. Ionic strength and pH effects on surface charge and Cd sorption characteristics of soils[J]. J. Soil Sci. , 1994,419-429.

[3] Wei Zhou and Bao Lin. Alleviation of Cd toxicity by Ca for maize (*Zea Mays L.*) and its mechanism[A]. *In*: Zhihong Cao (eds.). International Symposium on Soil, Human and Environment Interactions[C]. China Scienceand Technology Press, 1998. 267-271.

[4] Andersson A and Nilsson K O. Influence of lime and soil pH on Cd availability to plantss[J]. Am.Bio.,1974, 3:198.

[5] 陈福明,陈顺伟. 混合液法测定叶绿素总量的研究[J]. 林业科技通讯,1984,(2):4-8.

[6]张志良. 植物生理学实验指导(第二版)[M]. 北京:高等教育出版社,1990.

[7] 刘祖琪,张石城. 植物抗性生理学[M]. 北京:中国农业出版社,1994.

[8] 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.

[9] Cakmak I and Marschner H. Enhanced superoxide radical production in roots of zinc-deficient plants[J]. J. Exp. Bot., 1988, 39:1449-1460.

[10] Nakano Y and Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. Plant Cell Physiol., 1981, 22:867-880.

[11] Smolders E and McLaughlin M J. Chloride increases cadmium uptake in Swiss chard in a resin-buffered nutrient solution [J]. Soil Sci. Soc. Am. J., 1996, 60:1443-1447.

[12] Woolhouse H W. Toxicity and tolerance in the responses of plant to metals[A]. *In*: Lange O L *et al* (eds.). Encyclopaedia of plant physiology. Vol.12C. Physiological plant ecology[C]. Springer -Verlag, Berlin,1983. 245-300.

[13] Van Assche F and Clijsters C. Effects of metals on enzyme activity in plants[J]. Plant Cell Environ., 1990,13: 195-206.

[14] Wong Y S,Lam H M,Dhillon E,Tam N F Y and Leung W N. Physiological effects and uptake of cadmium in *Pisum sativum* [J]. Environ. Int., 1988,14:535-543.

[15] Breckle S W. Growth under stress: Heavy metals[A]. *In*: Waisel Y *et al* (eds.). The root system:The hidden half [C]. Marcel Dekker, New York,1989.

[16] 杨居荣,贺建群,张国祥,毛显强. 不同耐性作物中几种酶活性对 Cd 胁迫的反应[J]. 中国环境科学,1996,16(2): 113-117.

[17] Vangronsveld J and Clijsters H. Toxic effects of metals[A]. *In*: Farago ME(ed.). Plants and the chemical elements biochemistry, uptake, tolerance and toxicity[C]. Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo: VCH,1994. 152.

[18] Kennedy C D and Gonsalves F A N. The action of divalent zinc, cadmium, mercury, copper and lead on the trans-root potential and H^+-efflux of excised rots[J].J.Exp.Bot.,1987,38:800-817.

[19] Kennedy C D and Gonsalves F A N. The action of divalent Zn,Cd,Hg,Cu and Pb ions on the ATPase activity of a plasma membrane fraction isolated from roots of *Zea mays* [J] . Plant and Soil, 1989,117:167-175.

[20] Ros R,Cooke D T,Burden R S,James C S. Effect of the herbicide MCPA, and the heavy metals, cadmium and nickel on the lipid composition, Mg^{2+}-ATPase activity and fluidity of plasma membranes from rice (*Oryza sativa cv. Bahia*) shoots [J]. J. Exp. Bot., 1990,41:457-462.

[21] Lagriffoul A,Mocquot B,Mench M and Vangronsveld J. Cadmium toxicity effects on growth,mineral and chlorophyll con-

tents, and activities of stress related enzymes in young maize plants (*Zea mays* L.)[J] .Plant and Soil, 1998,200:241-250.

[22] Elstner E F, Wagner G A and Schutz W. Activated oxygen in green plants in relation on stress situations[J]. Current topics in Plant Biochemistry and Physiology, 1988, 7: 159-187.

[23]罗立新,孙铁珩,靳月华．镉胁迫对小麦叶片细胞膜脂过氧化的影响[J]．中国环境科学,1998,18(1):72-75.

[24]罗立新,孙铁珩,靳月华,镉胁迫下小麦叶中超氧阴离子自由基的积累[J]。环境科学学报,1998,18(5):495-499.

[25] Lee K C, Cunningham B A, Paulsen G M, Liang G H and Moore R B. Effects of cadmium on respiration rate and activities of several enzymes in soybean seedlings[J]. Physiol. Plant, 1976, 36:4-6.

[26] Tyler L D and Mcbride M B. Influence of Ca, pH and humic acid on Cd uptake[J]. Plant and Soil, 1982, 64:259-262.

Effects of Ca on growth and some physiological characteristics of maize under Cd stress

WANG Hong, ZHOU Wei, LIN Bao

(*Soil and Fertilizer Inst.*, *CAAS*; *Key Labor. of Plant Nutr. of MOA*, *Beijing 100081*, *China*)

Abstract: Nutrient solution culture experiment was conducted to study effect of Ca on plant growth, chlorophyll, malondialdehyde concentration and activities of nitrate reductase, ATPase, superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (AsA-POD), guaiacol peroxidase and catalase (CAT) in maize (*Zea mays* L.) under Cd stress. The results showed that: (1) Plants under Cd stress showed wilt, chlorosis, necrosis in leaves and black in roots; biomass of shoots and roots without Ca supply combining Cd stress strongly decreased. The addition of Ca to solution could increase the biomass of plants and alleviated the Cd toxicity. Plants with foliar application $CaCl_2$ still had the symptom of Cd toxicity and low biomass weight. (2) With the addition of Cd to solution, Cd concentration in roots and shoots of maize increased significantly and Cd concentration in roots were more than shoots. Ca depressed the translocation of Cd from roots to tops of maize, but had no apparent effect on the absorption of Cd by roots because the concentration of Cd in roots of maize had little difference between the treatment without Ca supply combined Cd and the treatment with Ca supply combined with Cd. Whereas Cd concentration in shoots with Ca supply were higher than those without Ca supply. Foliar application $CaCl_2$ four times could increased Cd concentration in shoots compared with foliar application $CaCl_2$ two times. (3) The contents of chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll in leaves of maize without Ca supply decreased. Cd addition also markedly decreased the chlorophyll pigments and increased Chl a/Chl b ratio. Chlorophyll content in leaves were significantly enhanced by Ca supply to roots in solution containing Cd. Foliar application $CaCl_2$ couldn't prevent effect of Cd on chlorophyll in leaves. Stopping Ca supply and adding Cd to solution or stopping Cd supply and adding Ca to solution partly reduced effect of Cd on chlorophyll in leaves. (4)The activities of nitrate reductase in leaves and ATPase in roots of maize were inhib-

ited by the treatments without Ca or with Cd supply, especially in those leaves under combination stress without Ca and Cd supply. Whereas the activities of nitrate reductase in leaves and ATPase in roots of maize under Cd stress were enhanced by Ca supply. (5) In those leaves and roots of maize without Ca supply, the activities of ATPase and endogenous oxygen radicals scavenging enzymes systems including SOD, AsA-POD, guaiacol POD and CAT were higher than those of plants with such treatments as Ca supply continuously, stopping Ca supply adding Cd ,stopping Cd addition and resupply Ca concentration of malondialdehyde in leaves also remain pronounced levels. Foliar application $CaCl_2$ couldn't weakened the effect of Cd on endogenous oxygen radicals scavenging enzymes systems and malondialdehyde in plants, however increased the activities of ATPase in leaves.

In conclusion, Ca supply in root could alleviated Cd toxicity on growth, chlorophyll content and the effects of Cd on the activities of nitrite reductase , ATPase and endogenous oxygen radicals scavenging enzymes systems such as SOD, AsA-POD, guaiacol POD and CAT in maize.

Key words: calcium; cadmium; maize; physiological characteristics