农业环境科学学报
JOURNAL OF AGRO-ENVIRONMENT SCIENCE
中文核心期刊/CSCD
请通过网上投稿系统投稿
网址：http://www.aes.org.cn

磷素对紫花苜蓿镉累积和抗氧化酶活性的影响

邓随枫, 廖雨梦, 章昊, 祖艳群

引用本文:
邓随枫, 廖雨梦, 章昊, 祖艳群. 磷素对紫花苜蓿镉累积和抗氧化酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(10): 2175–2182.

在线阅读 View online: https://doi.org/10.11654/jaes.2022–1225

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

钒胁迫对紫花苜蓿生长及钒积累与转移的影响
武振中, 杨金燕, 张有贤
农业环境科学学报. 2021, 40(6): 1198–1207 https://doi.org/10.11654/jaes.2020–1165

ZnO NPs对四种豆科种子发芽及幼苗生长的影响
彭晴晴, 杨静雅, 钟民正, 邢洋洋, 李紫燕, 毛晖, 周莉娜
农业环境科学学报. 2021, 40(6): 1174–1182 https://doi.org/10.11654/jaes.2020–1462

生菜对镉胁迫的生理响应及体内镉的累积分布
贾月慧, 韩莹琰, 刘杰, 高凡, 梁琼, 俞萍, 刘超杰, 张鑫, 苏博伟
农业环境科学学报. 2018, 37(8): 1610–1618 https://doi.org/10.11654/jaes.2018–0033

单壁碳纳米管对紫花苜蓿根际土壤中PAHs降解及微生物群落的影响
王慧敏, 陈莉荣, 任文杰, 郑春丽, 黄怡雯, 滕应, 张铁军
农业环境科学学报. 2021, 40(12): 2647–2659 https://doi.org/10.11654/jaes.2021–0332

镉胁迫对姬松茸菌丝生理指标与镉吸收的影响
刘朋虎, 陈华, 李波, 王义祥, 翁伯琦
农业环境科学学报. 2020, 39(8): 1675–1682 https://doi.org/10.11654/jaes.2020–0469

关注微信公众号，获得更多资讯信息

邓随枫, 廖雨梦, 章昊, 等. 磷素对紫花苜蓿镉累积和抗氧化酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(10): 2175-2182.
DENG S F, LIAO Y M, ZHANG H, et al. Effects of phosphorus on cadmium accumulation and antioxidant enzyme activities of alfalfa [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(10): 2175-2182.

磷素对紫花苜蓿镉累积和抗氧化酶活性的影响

邓随枫, 廖雨梦, 章昊, 祖艳群*

(云南农业大学资源与环境学院, 昆明 650201)

摘　要: 为研究磷素对紫花苜蓿镉累积和抗氧化酶活性的影响,以紫花苜蓿(中苜一号)为材料,采用土培试验,设置不同磷水平(0、40、80、160、240、300 mg·kg^{-1})和镉含量(0、2、20 mg·kg^{-1}),分析紫花苜蓿生物量、镉含量、镉亚细胞分布、丙二醛(MDA)含量和过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性。结果表明:在相同镉处理下,随施磷水平的增加,紫花苜蓿地上部、地下部镉含量最多降低了41.7%和39.2%;生物量、POD活性、SOD活性和CAT活性呈先增加后降低趋势。在相同施磷水平下,与未添加镉处理相比,低含量(2 mg·kg^{-1})镉处理时,紫花苜蓿生物量最多增加了28.8%,高含量(20 mg·kg^{-1})镉处理时,生物量最多降低了9%;随着镉处理含量的增加,紫花苜蓿MDA含量和CAT活性显著增加,POD和SOD活性先增加后降低。镉含量在各亚细胞组分中的次序为细胞壁>细胞质>线粒体>叶绿体,且均随施磷量的增加而显著降低,细胞壁镉含量占比最高达到64%。研究表明,施磷能增加紫花苜蓿对镉的耐受能力,缓解镉对紫花苜蓿的毒害作用,降低紫花苜蓿镉含量。

关键词: 紫花苜蓿;磷;镉;抗氧化酶

中图分类号: X173　　**文献标志码:** A　　**文章编号:** 1672-2043(2023)10-2175-08　　doi:10.11654/jaes.2022-1225

Effects of phosphorus on cadmium accumulation and antioxidant enzyme activities of alfalfa

DENG Suifeng, LIAO Yumeng, ZHANG Hao, ZU Yanqun*

(College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: To explore the effects of phosphorus application on cadmium accumulation and antioxidant enzyme activity of alfalfa, pot experiments were conducted to assess the effect of phosphorus on biomass, cadmium content, subcellular distribution, malondialdehyde (MDA) content, and the activities of peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD), and catalase (CAT) under cadmium stress. The results showed that alfalfa biomass and activities of POD, SOD, and CAT first increased and then decreased with increasing phosphorus application levels under the same cadmium treatment concentration. The content of cadmium in the shoots and roots decreased by 41.7% and 39.2% at most. Under the same phosphorus application level, the biomass of alfalfa increased by 28.8% at most in the 2 mg·kg^{-1} cadmium treatment, whereas it was decreased by 9% at most in the 20 mg·kg^{-1} cadmium treatment. MDA content and CAT activity were significantly increased, while POD and SOD activities increased first and then decreased with increasing cadmium treatment contents. The content of cadmium in subcellular fractions was in the following order: cell wall>cytoplasm>mitochondria>chloroplast, which decreased significantly with the increase of phosphorus application contents, the highest percentage of cadmium in cell wall was 64%. Taken together, the results indicate that the tolerance of alfalfa to cadmium is promoted, and the toxic effect of cadmium on alfalfa is alleviated through phosphorus application.

Keywords: alfalfa; phosphorus; cadmium; antioxidant enzyme

收稿日期: 2022-11-29　　**录用日期:** 2023-03-02

作者简介: 邓随枫(1997—),男,重庆南川人,硕士研究生,从事土壤污染治理与修复技术研究。E-mail:296204439@qq.com

***通信作者:** 祖艳群　E-mail:649332092@qq.com

基金项目: 云南省农业联合专项项目(202101BD070001-047)

Project supported: Yunnan Agricultural Joint Special Project (202101BD070001-047)

近年来，随着重金属污染事件的频繁发生，重金属污染土壤问题受到越来越多的关注[1]。我国土壤污染面积高达16.1%，而镉（Cd）污染范围广、毒性大、迁移性强，其在污染土壤中的点位超标率达到7.0%[2-3]。因此，镉污染农田的综合利用具有重要意义。紫花苜蓿（*Medicago sativa* L.）被称作“牧草之王”，是禽畜的优质饲料，其栽培历史悠久、适应性强、产量高、营养价值高[4]。紫花苜蓿能吸收和富集土壤中的铜、锌等重金属，同时对镉、铅也具有一定耐性[5]，且紫花苜蓿对盐碱和干旱胁迫也有积极的响应[6-8]。紫花苜蓿属于喜磷植物，其生长所需的有效磷在10~15 mg·kg^{-1}之间[7]，施用磷素有利于提高紫花苜蓿的产量和品质[9]。目前，有关紫花苜蓿的研究大多是对盐碱和干旱的反应[6]，以及重金属对其种子发芽和幼苗生长发育的影响[5]，而在重金属镉富集和镉污染土壤中，有关紫花苜蓿的研究则相对匮乏。且目前有关重金属镉的研究大多是镉与其他重金属之间的交互作用，鲜有关于重金属镉与营养元素磷之间交互作用的报道。

镉胁迫可使植物发生一系列的生理生化变化。长期的镉胁迫会使细胞中的活性氧累积，进而诱导氧化，降低植株的根系活力，抑制植株生长，促使叶绿素降解，导致植株枯萎[10-11]。而抗氧化体系则能通过调整活性氧在细胞中的含量来缓解植物受到的伤害[12-13]。本文针对镉胁迫条件下施磷对紫花苜蓿生物量、植株镉含量、植株亚细胞镉分布、抗氧化酶活性等进行分析，探究不同施磷水平对镉胁迫下紫花苜蓿的生长发育和对镉累积的特点，以期阐明磷素对紫花苜蓿缓解镉毒的影响，为镉污染土壤的综合利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验地概况与试验材料

试验地位于云南农业大学农场（25°14′30″ N，102°56′27″ E），海拔约1 891 m，平均温度14.9 ℃，年降雨量1 000.5 mm，降水以5—9月为主，年日照2 327.5 h，年蒸发量1 856.4 mm，相对湿度76%。试验土壤为山原红壤，基本物理化学性质为：pH值6.81，全氮含量0.75 g·kg^{-1}、全磷含量0.67 g·kg^{-1}、全钾含量16.01 g·kg^{-1}，速效磷含量82.81 mg·kg^{-1}、速效钾含量188.96 mg·kg^{-1}，碱解氮含量56.75 mg·kg^{-1}、有机质含量30.12 g·kg^{-1}、总镉含量0.38 mg·kg^{-1}。

试验作物：紫花苜蓿（*Medicago sativa* L.），品种名为中苜一号。

1.2 试验设计

设置6个磷（P_2O_5）处理水平，分别为0、40、80、160、240、300 mg·kg^{-1}，采用钙镁磷肥（P_2O_5≥12%）配制；3个镉处理含量，分别为0、2、20 mg·kg^{-1}，以$CdCl_2·2H_2O$配制。共18个处理，每个处理5个重复，共90盆，随机排列。

供试土壤风干后过2 mm筛。钙镁磷肥和$CdCl_2·2H_2O$根据设计水平混合加入土壤，与土壤充分混拌均匀。尿素（100 mg·kg^{-1}）和K_2SO_4（100 mg·kg^{-1}）作为基肥一次性施入土壤，混拌均匀。将混匀后的土壤装入塑料花盆中，每盆5 kg，用去离子水调节土壤含水量为最大田间持水量（60%左右），平衡14 d。选择籽粒大小均匀、饱满的紫花苜蓿种子，用10% H_2O_2溶液消毒30 min，然后用少量的蒸馏水反复冲刷，每盆播种10粒，当紫花苜蓿的幼苗长到10 cm时，每盆留苗5株，在生长期定时浇水。生长45 d（初花期）后采样。

1.3 指标测定方法

生物量测定：参照王洪斌等[14]的方法，将作物分成地上、地下两个部分，分别先用自来水清洗，再用蒸馏水清洗，洗净后的样品装进牛皮纸袋，置于105 ℃烤箱中，0.5 h后，75 ℃干燥72 h，待质量恒定后称取质量，以测定生物量。

植株镉含量测定：称取0.5 g过0.25 mm筛的干燥植物样品，用HNO_3-$HClO_4$（4∶1）的混合酸湿法消解（石墨消解器Hanon220s）处理，采用25 mL容量瓶定容，用原子吸收分光光度计（Varian SpectrumAA220）测定镉的含量[15]。

镉的亚细胞分布：取嫩叶1 g，将其放入10 mL预冷匀浆料中，匀浆料成分为250 mmol·L^{-1}蔗糖、50 mmol·L^{-1} Tris-HCl（pH 7.4）、1 mmol·L^{-1}二硫赤藓糖醇（$C_4H_{10}O_2S_2$），嫩叶研磨成浆后，采用差速离心法，依次在600 r·min^{-1}下离心10 min得到细胞壁沉淀，1 000 r·min^{-1}下离心15 min得到叶绿体沉淀，10 000 r·min^{-1}下离心20 min得到线粒体沉淀，上层的溶液是细胞质组分（含液泡、核糖等），每次离心重复进行3次[16]。

粗酶液的制备：称取植物组织0.5 g，先加入2.5 mL PBS（磷酸缓冲液）研磨成浆后，再加入2.5 mL PBS混匀，4 ℃下10 000 r·min^{-1}离心15 min，上清液即为粗酶液。粗酶液用于酶活性测定。

超氧化物歧化酶（SOD）活性采用氮蓝四唑（NBT）光抑制法测定；过氧化物酶（POD）活性采用愈

创木酚法测定；过氧化氢酶（CAT）活性采用紫外吸收法测定[17]。丙二醛含量（MDA）采用硫酸巴比妥酸法测定[18]。

$$C_{MDA}=\frac{[6.45(A_{532}-A_{600})-0.56A_{450}]\times V_1\times V_T}{V_2\times W\times 1000}$$

式中：C_{MDA}为MDA含量，μmol·g^{-1}，以鲜质量计；A_{450}、A_{532}、A_{600}分别为450、532、600 nm波长下测得的吸光度值；V_1为反应液体积，mL；V_T为提取液总体积，mL；V_2为测定液体积，mL；W为植物组织鲜质量，g。

1.4 数据处理与统计分析方法

采用Excel 2016软件对数据进行初步的分析。利用SPSS 20软件，采用新复极差法（New complex range method）对数据进行差异显著性分析，$P<0.05$表示差异显著。

植株地上部镉累积量（μg·盆$^{-1}$）为植株地上部镉含量与植株地上部生物量的乘积，植株地下部镉累积量（μg·盆$^{-1}$）为植株地下部镉含量与植株地下部生物量的乘积。转运系数为植株地上部镉含量与植株地下部镉含量的比值。

2 结果与分析

2.1 磷素对镉胁迫下紫花苜蓿生物量的影响

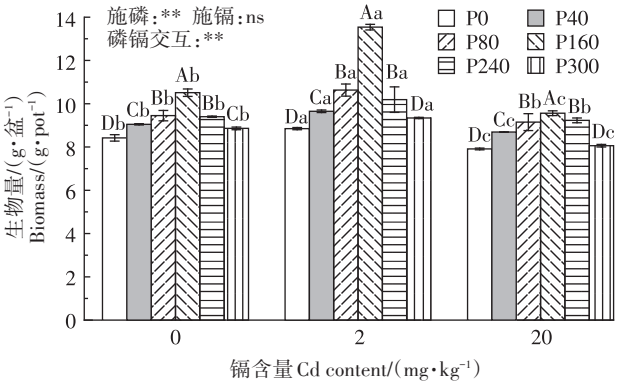
在相同镉处理含量下，随施磷水平的增加，生物量呈现出先增加后减少的趋势。在240 mg·kg^{-1}磷水平下，生物量开始减少（图1）。在相同施磷水平下，随镉处理含量的增加，生物量先增加后减少。其中，2 mg·kg^{-1}镉+160 mg·kg^{-1}磷处理下，紫花苜蓿生物量达到最大值13.54 g·盆$^{-1}$。双因素方差分析表明，磷镉交互作用对紫花苜蓿生物量存在极显著的影响。

2.2 磷素对镉胁迫下紫花苜蓿叶片亚细胞镉含量的影响

在相同镉处理含量下，随施磷水平的增加，各亚细胞镉含量呈现出先减少后增加的趋势；在相同的施磷水平下，随镉处理含量的增加，各亚细胞镉含量显著增加（表1）。紫花苜蓿叶片亚细胞镉含量存在差异，表现为细胞壁>细胞质>线粒体>叶绿体，其中细胞壁镉含量最高，占总量的50%~64%，其次为细胞质，占总量的18%~29%，最少的是叶绿体，其镉含量仅占总量的1%~8%。

2.3 磷素对镉胁迫下紫花苜蓿镉含量和累积量的影响

在相同镉处理含量下，随施磷水平的增加，地上部和地下部镉含量显著降低，镉累积量先增加后减少；在相同施磷水平下，随镉处理含量的增加，地上部和地下部镉含量及镉累积量均显著增加，且地下部镉含量、镉累积量均大于地上部（表2）。在20 mg·kg^{-1}镉处理下未施磷时，转运系数和地上部镉累积量达到最大值，分别为0.35和65.06 μg·pot^{-1}。



不同大写字母表示相同镉胁迫下，不同施磷水平间紫花苜蓿生物量差异显著（$P<0.05$）；不同小写字母表示相同施磷水平下，不同镉处理间紫花苜蓿生物量差异显著（$P<0.05$）。*表示处理对紫花苜蓿生物量影响显著（$P<0.05$），**表示影响极显著（$P<0.01$），ns表示无显著影响（$P>0.05$）。下同。

Different capital letters indicate that there are significant differences between biomass of alfalfa with different phosphorus application levels under the same Cd treatments（$P<0.05$）. Different lowercase letters indicate that there are significant differences between biomass of alfalfa with different Cd treatments under the same phosphorus application level（$P<0.05$）. *indicates that the treatment has a significant impact on the biomass of alfalfa（$P<0.05$），** indicates that the treatment has a very significant impact（$P<0.01$），and ns indicates that the treatment has no significant impact（$P>0.05$）.The same below.

图1 磷素对不同含量镉胁迫下紫花苜蓿生物量的影响

Figure 1 Effects of phosphorus on alfalfa biomass under different contents of cadmium

2.4 磷素对镉胁迫下紫花苜蓿MDA含量和抗氧化酶活性的影响

在相同镉处理含量下，随施磷水平的增加，MDA含量表现出先降低后增加的趋势（图2）。在未受到镉胁迫时，与未施磷处理相比较，40、80、160 mg·kg^{-1}磷处理下MDA含量分别下降了40.7%、48.7%、75.9%，240、300 mg·kg^{-1}磷处理下MDA含量分别上升了59.3%、102.5%；在2 mg·kg^{-1}镉处理下，与未施磷处理相比较，40、80、160 mg·kg^{-1}磷处理下MDA含量分别下降了35.7%、54.8%、72.7%，240、300 mg·kg^{-1}磷处理下MDA含量分别上升了27.3%、48.0%；在20 mg·kg^{-1}镉处理下，与未施磷处理相比较，40、80、160 mg·kg^{-1}磷处理下MDA含量分别下降了15.5%、42.3%、60.2%，240、300 mg·kg^{-1}磷处理下MDA含量分别上升了4.8%、18.8%。在相同施磷水平下，随镉处理含量的增加，MDA含量显著增加。双因素方差分析表明，磷镉交互作用对紫

表1 磷素对不同含量镉胁迫下紫花苜蓿叶片亚细胞镉含量及分配率的影响

Table 1 Effects of phosphorus on subcellular cadmium content and distribution percentage in alfalfa leaves under different contents of cadmium

镉含量 Cd content/ (mg·kg^{-1})	磷含量 P content/ (mg·kg^{-1})	细胞壁 Cell wall		细胞质 Cytoplasm		线粒体 Chondriosome		叶绿体 Chloroplast		总量 Total/ (mg·kg^{-1})
		含量 Content/ (mg·kg^{-1})	分配率 Distribution percentage/%	含量 Content/ (mg·kg^{-1})	分配率 Distribution percentage/%	含量 Content/ (mg·kg^{-1})	分配率 Distribution percentage/%	含量 Content/ (mg·kg^{-1})	分配率 Distribution percentage/%	
0	0	0.834±0.010Ac	61	0.269±0.010Ac	20	0.238±0.020Ac	17	0.034±0.004Ac	2	1.375±0.040Ac
	40	0.780±0.060ABc	62	0.240±0.010ABc	19	0.207±0.010Bc	17	0.028±0.004Bc	2	1.254±0.060Bc
	80	0.720±0.050Bc	63	0.223±0.010Bc	19	0.178±0.010Cc	16	0.025±0.003BCc	2	1.146±0.060CDc
	160	0.618±0.010Cc	64	0.172±0.030Cc	18	0.160±0.010Cc	17	0.013±0.001Dc	1	0.964±0.030Ec
	240	0.715±0.050Bc	63	0.221±0.010Bc	19	0.177±0.020Cc	16	0.021±0.002Cc	2	1.134±0.020Dc
	300	0.764±0.050ABc	62	0.257±0.020Ac	21	0.180±0.010Cc	15	0.022±0.003Cc	2	1.223±0.020Cc
2	0	2.871±0.050Ab	56	1.412±0.120Ab	27	0.455±0.010Ab	9	0.407±0.006Ab	8	5.145±0.090Ab
	40	2.750±0.050Bb	57	1.222±0.020Bb	26	0.415±0.010Bb	9	0.384±0.013Bb	8	4.771±0.080Bb
	80	2.621±0.030Cb	58	1.153±0.070Bb	26	0.394±0.010Cb	9	0.332±0.026Cb	7	4.499±0.080Cb
	160	2.325±0.030Db	61	0.902±0.080Cb	24	0.302±0.010Fb	8	0.269±0.006Db	7	3.796±0.070Db
	240	2.625±0.060Cb	59	1.204±0.010Bb	27	0.333±0.010Eb	7	0.316±0.008Cb	7	4.479±0.070Cb
	300	2.706±0.060BCb	58	1.278±0.030Bb	27	0.361±0.010Db	8	0.322±0.003Cb	7	4.667±0.090Bb
20	0	11.463±0.110Aa	50	6.637±0.340Aa	29	2.980±0.040Aa	13	1.748±0.110Aa	8	22.828±0.480Aa
	40	10.730±0.630ABa	51	5.682±0.030Ba	27	2.865±0.080Aa	14	1.673±0.013Aa	8	20.950±0.700Ba
	80	10.027±0.710Ba	51	5.503±0.060Ba	28	2.713±0.040Ba	13	1.552±0.008Ba	8	19.795±0.750BCa
	160	8.833±0.730Ca	53	4.617±0.180Ca	27	2.287±0.070Da	13	1.247±0.043Da	7	16.984±0.960Da
	240	9.983±0.050Ba	52	5.421±0.340Ba	28	2.444±0.070Ca	13	1.350±0.013Ca	7	19.198±0.350Ca
	300	10.523±0.910ABa	51	5.821±0.520Ba	29	2.558±0.100Ca	13	1.426±0.036Ca	7	20.328±0.370BCa

注：不同大写字母表示相同镉处理下，不同施磷水平间亚细胞镉含量差异显著（$P<0.05$）；不同小写字母表示相同施磷水平下，不同镉处理间亚细胞镉含量差异显著（$P<0.05$）。下同。

Note: Different capital letters indicate that there are significant differences between subcellular cadmium contents with different phosphorus application levels under the same Cd treatments ($P<0.05$). Different lowercase letters indicate that there are significant differences between subcellular cadmium contents with different Cd treatments under the same phosphorus application level ($P<0.05$). The same below.

花苜蓿MDA含量存在极显著的影响。

在相同镉含量下，随施磷水平的增加，POD酶活性表现出先增加后降低的趋势（图3）。在未受到镉胁迫时，与未施磷处理相比较，40、80、160、240、300 mg·kg^{-1}磷处理下POD酶活性分别增加了22.2%、58.3%、121.7%、55.5%、22.2%；在2 mg·kg^{-1}镉处理下，与未施磷处理相比较，40、80、160、240 mg·kg^{-1}磷处理下POD酶活性分别增加了23.9%、64.5%、134.2%、37.4%，300 mg·kg^{-1}磷处理下POD酶活性降低了14.5%；在20 mg·kg^{-1}镉处理下，与未施磷处理相比较，40、80、160、240 mg·kg^{-1}磷处理下POD酶活性分别增加了23.4%、69.0%、124.2%、49.5%，300 mg·kg^{-1}磷处理下POD酶活性降低了32.2%。在0~240 mg·kg^{-1}磷水平下，随镉含量的增加，POD酶活性先增加后降低；300 mg·kg^{-1}磷水平下，随镉含量的增加，POD酶活性显著降低。2 mg·kg^{-1}镉处理下，施160 mg·kg^{-1}磷时，POD酶活性达到最大值17.33 μmol·g^{-1}。双因素方差分析表明，磷镉交互作用对紫花苜蓿POD酶活性存在极显著的影响。

在相同镉含量下，随施磷水平的增加，SOD酶活性表现出先增加后降低的趋势（图4）。在未受到镉胁迫时，与未施磷处理相比较，40、80、160、240、300 mg·kg^{-1}磷处理下SOD酶活性分别增加了22.7%、52.2%、73.6%、47.2%、6.9%；在2 mg·kg^{-1}镉处理下，与未施磷处理相比较，40、80、160、240、300 mg·kg^{-1}磷处理下SOD酶活性分别增加了64.6%、70.0%、106.6%、57.4%、9.2%；在20 mg·kg^{-1}镉处理下，与未施磷处理相比较，40、80、160、240 mg·kg^{-1}磷处理下SOD酶活性分别增加了38.3%、44.5%、62.5%、35.7%，300 mg·kg^{-1}磷处理下SOD酶活性降低了3.3%。在相同施磷水平下，随镉含量的增加，SOD酶活性先增加后降低。2 mg·kg^{-1}镉处理下，施160 mg·kg^{-1}磷时，SOD酶活性达到最大值231.84 μmol·g^{-1}。双因素方差分析表明，磷镉交互作用对紫花苜蓿SOD酶活性存在极显著的影响。

在相同镉含量下，随施磷水平的增加，CAT酶活

表2 磷素对不同含量镉胁迫下紫花苜蓿镉含量和累积量的影响

Table 2 Effects of phosphorus on Cd content and accumulation of alfalfa under different contents of cadmium

镉含量 Cd content/(mg·kg^{-1})	磷含量 P content/(mg·kg^{-1})	镉含量Cd content/(mg·kg^{-1})		转运系数 Coefficient of transshipment	镉累积量Cd accumulation/(μg·pot^{-1})	
		地上部 Aboveground	地下部 Underground		地上部 Aboveground	地下部 Underground
0	0	0.68±0.01Ac	8.62±0.10Ac	0.06	6.18±0.16Ac	13.01±0.19Bc
	40	0.62±0.01Bc	7.84±0.07Bc	0.07	5.86±0.14Ac	12.99±0.27Bc
	80	0.58±0.02Cc	7.27±0.01Cc	0.08	6.23±0.20Ac	12.79±0.09Bc
	160	0.49±0.01Dc	6.82±0.07Dc	0.07	6.10±0.41Ac	14.92±0.21Ac
	240	0.43±0.01Ec	6.06±0.03Ec	0.07	5.19±0.15Bc	11.40±0.08Cc
	300	0.41±0.01Ec	5.34±0.08Fc	0.06	4.33±0.10Cc	9.50±0.08Dc
2	0	1.32±0.04Ab	12.99±0.13Ab	0.13	12.72±0.51BCb	22.60±0.19Bb
	40	1.19±0.03Bb	11.99±0.02Bb	0.17	12.21±0.78CDb	21.73±0.28Cb
	80	1.09±0.03Cb	11.00±0.08Cb	0.15	13.51±0.34Bb	20.87±0.41Db
	160	0.98±0.01Db	10.29±0.04Db	0.19	15.01±0.46Ab	24.67±0.56Ab
	240	0.85±0.03Eb	8.86±0.07Eb	0.11	11.35±0.42Db	17.18±0.37Eb
	300	0.77±0.01Fb	7.90±0.07Fb	0.13	8.02±0.28Eb	14.89±0.02Fb
20	0	7.38±0.17Aa	21.22±0.16Aa	0.35	65.06±2.76Aa	35.29±0.16BCa
	40	6.94±0.04Ba	20.91±0.06Ba	0.33	64.49±2.17Aa	35.96±0.31Ba
	80	6.40±0.11Ca	19.98±0.06Ca	0.32	64.39±2.21Aa	34.90±0.40Ca
	160	5.78±0.03Da	18.96±0.17Da	0.30	63.01±1.78Aa	38.86±0.91Aa
	240	5.25±0.03Ea	18.05±0.04Ea	0.29	59.11±0.94Ba	32.54±0.35Da
	300	5.00±0.05Fa	16.95±0.09Fa	0.29	49.34±0.96Ca	28.65±0.30Ea

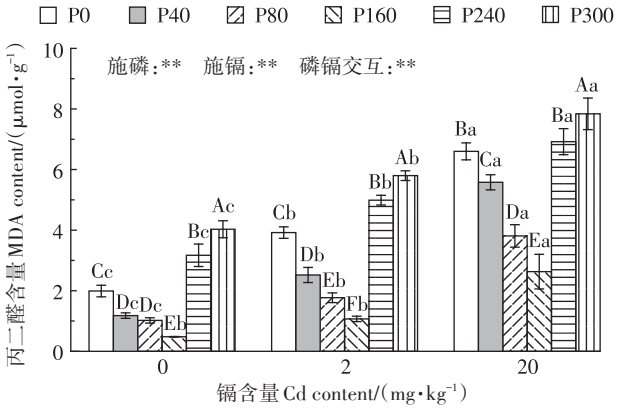


图2 磷素对不同含量镉胁迫下紫花苜蓿丙二醛含量的影响

Figure 2 Effects of phosphorus on MDA content of alfalfa under different contents of cadmium

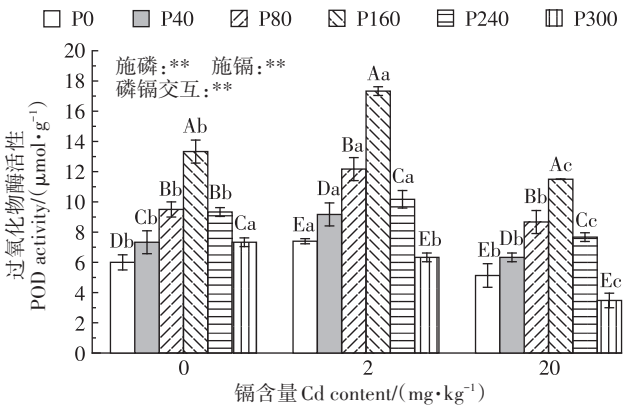


图3 磷素对不同含量镉胁迫下紫花苜蓿过氧化物酶活性的影响

Figure 3 Effects of phosphorus on POD activity of alfalfa under different contents of cadmium

性呈现出先增加后降低的趋势（图5）。在未受到镉胁迫时，与未施磷处理相比较，40、80、160、240 mg·kg^{-1}磷处理下CAT酶活性分别增加了17.4%、30.0%、64.7%、22.2%，300 mg·kg^{-1}磷处理下CAT酶活性降低了7.7%；在2 mg·kg^{-1} 镉处理下，与未施磷处理相比较，40、80、160、240、300 mg·kg^{-1}磷处理下CAT酶活性分别增加了13.1%、18.4%、44.6%、35.4%、10.5%；在20 mg·kg^{-1}镉处理下，与未施磷处理相比较，40、80、160 mg·kg^{-1}磷处理下CAT酶活性分别增加了6.2%、11.6%、24.5%，240、300 mg·kg^{-1}磷处理下CAT酶活性降低了4.9%、10.2%。在相同施磷水平下，随镉含量的增加，CAT酶活性显著增加。20 mg·kg^{-1}镉处理下，施160 mg·kg^{-1}磷时，CAT酶活性达到最大值89.07 μmol·g^{-1}。双因素方差分析表明，磷镉交互作用对紫花苜蓿CAT酶活性存在极显著的影响。

3 讨论

本研究中，在相同施磷水平下，随镉含量的增加，

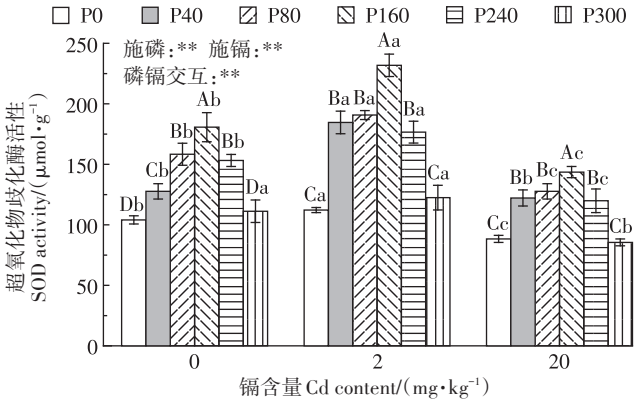


图4 磷素对不同含量镉胁迫下紫花苜蓿超氧化物歧化酶活性的影响

Figure 4 Effects of phosphorus on SOD activity of alfalfa under different contents of cadmium

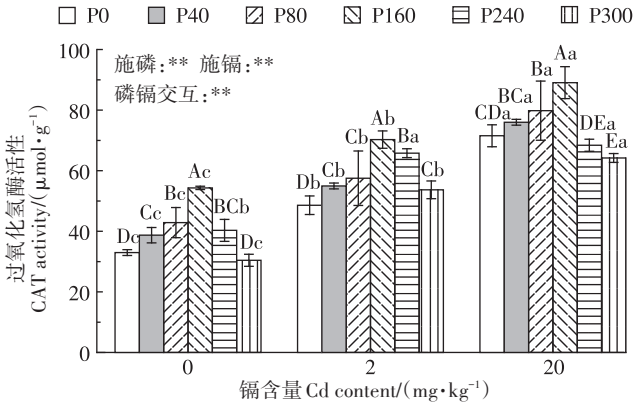


图5 磷素对不同含量镉胁迫下紫花苜蓿过氧化氢酶活性的影响

Figure 5 Effects of phosphorus on CAT activity of alfalfa under different contents of cadmium

紫花苜蓿生物量先增加后减少。这与张杨杨等[19]的研究结果一致,即低含量镉胁迫对百脉根、变异小冠草等植物的生长有一定的促进作用,但随着镉含量的增加,植物生物量降低。镉对生物量的“低促高抑”作用比较普遍[20]。贾月慧等[21]研究发现,高浓度(50~100 mg·L^{-1})镉的胁迫对生菜(*Lactuca sativa*)生物量、干质量和鲜质量仍有显著的促进作用,这可能是因为不同植物对镉的吸收及耐受性不同,但总的趋势是高镉对植株的生长有一定的抑制作用[22-23]。在相同镉含量下,随施磷水平的增加,生物量也表现出先增加后减少的趋势。这是由于在低磷处理下,植株吸收大量的磷素,从而促进植物的生长[24]。生物量是衡量紫花苜蓿生产性能的重要指标,施磷过高或过低均会影响其干物质累积量和产量形成,即紫花苜蓿生物量的形成对磷素的吸收存在阈值,在一定范围内施加磷素对紫花苜蓿具有增产作用[25-26]。综上,磷素对镉胁迫下紫花苜蓿生长发育的影响是有一定限度的,施磷量过高反而会对紫花苜蓿产生毒害作用,只有在一定范围内施加磷素才对紫花苜蓿有增产作用。

植物可以调节亚细胞中镉的分布,从而对镉胁迫产生耐性[16]。在本试验中,亚细胞中镉的含量为细胞壁>细胞质>线粒体>叶绿体,这与Wang等[27]的研究结果一致。镉主要分布在细胞壁上,以阻止镉进入细胞质,减少镉对细胞的毒害[28]。在相同施磷水平下,随镉处理含量的增加,叶绿体及细胞质中镉含量增加,而细胞壁及线粒体中镉含量则减少,表明细胞壁对镉的固定能力有限,过多的镉会进入细胞质。在相同施磷水平下,随镉处理含量的增加,各亚细胞器中镉含量均显著增加。在植物细胞中,叶绿体和线粒体是具有重要作用的细胞器,镉含量的增加可能使类囊体发生损伤,导致双膜结构破裂[29],大量的镉进入到叶绿体后,将会严重破坏叶绿体的结构与功能[30]。研究表明,细胞壁中的镉储存量达到一定程度后,镉就会进入细胞质,细胞质中一些小分子物质可以与镉结合并沉淀下来,形成镉耐性[31]。

在相同镉处理含量下,随施磷水平的增加,地上部、地下部镉含量均显著降低。这与邹茸等[32]的研究类似,即施用磷肥可使苋菜地上部镉含量下降15.7%。王朋超等[33]研究也发现,在施用钙镁磷肥和普钙后,油菜地上部分的镉含量分别下降74.4%~79.6%和54.3%~86.7%。这是因为施加钙镁磷肥能有效减少镉在油菜地上部分的迁移,从而使镉在油菜植株根部累积[34]。其作用机制包括:(1)施磷增加土壤pH值,使根系的磷素与镉形成不溶性磷酸盐沉淀,减少根系对镉的吸收和植物体内镉的长距离运输[35];(2)磷素能以$CdHPO_4$和$Cd_3(PO_4)_2$的形式沉淀镉,降低植株体内镉的迁移能力,从而降低镉对植物的毒害[36];(3)施磷提高了镉胁迫下植物体内抗氧化物酶的活性,减少植株对镉的吸收从而缓解氧化应激,防止膜损伤[37-38]。在相同镉含量下,随施磷水平的增加,地上部、地下部镉累积量先增加后减少,其主要原因是在低磷水平下紫花苜蓿的生物量显著增加,导致镉累积量增加。

在相同施磷水平下,随镉含量的增加,紫花苜蓿叶片中MDA含量、CAT活性显著增加,POD和SOD活性总体上表现出先增加后降低的趋势。在较低含量的镉胁迫下,紫花苜蓿POD、SOD和CAT能被活化,从而有效地消除活性氧。在20 mg·kg^{-1}镉处理下,POD和SOD活性显著下降,CAT活性则显著被激活,

协同清除植株体内的活性氧，降低高含量镉对膜脂过氧化的影响，说明高含量镉在一定程度上会抑制POD、SOD的活性。在高含量镉胁迫条件下，植株叶片MDA的含量高，叶片中SOD和POD活力下降，尤其是POD酶的活性，这说明MDA的高累积对SOD、POD活性的影响有一定抑制作用[39]，表明不同的镉胁迫含量下，抗氧化酶活化的速率和程度存在差异，这可能与植物的器官和酶的类型有关[11]。

4 结论

（1）在相同磷水平下，镉处理对紫花苜蓿生物量存在“低促高抑”作用。

（2）在相同镉处理含量下，随施磷水平的增加，紫花苜蓿生物量增加，抗氧化酶活性增强，镉主要存在于紫花苜蓿的细胞壁中，植株地上部和地下部中的镉含量显著降低，最多降低了41.7%和39.2%。

（3）在一定范围内施磷能提高紫花苜蓿对镉的耐受能力，缓解镉胁迫对紫花苜蓿的毒害作用，降低紫花苜蓿中镉含量。

参考文献：

[1] YANG Q Q, LI Z Y, LU X N, et al. A review of soil heavy metal pollution from industrial and agricultural regions in China: pollution and risk assessment[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 642: 690-700.

[2] 陈能场, 郑煜基, 何晓峰, 等.《全国土壤污染状况调查公报》探析[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(9): 1689-1692. CHEN N C, ZHENG Y J, HE X F, et al. Analysis of the *Report on the National General Survey of Soil Contamination*[J]. *Journal of Agro-Environmental Science*, 2017, 36(9): 1689-1692.

[3] 陈树兰, 许晨阳, 耿增超, 等. 不同配比复合材料对农田镉污染土壤的修复效果[J]. 环境科学, 2019, 40(12): 5531-5539. CHEN S L, XU C Y, GENG Z C, et al. Remediation effects of different composite materials on cadmium-contaminated farmland soil[J]. *Environmental Science*, 2019, 40(12): 5531-5539.

[4] 申晓慧, 姜成, 冯鹏, 等. 六种紫花苜蓿在高寒地区抗寒生理特性差异比较研究[J]. 草地学报, 2016, 24(5): 1131-1133. SHEN X H, JIANG C, FENG P, et al. Comparison of cold resistance related physiological characteristics of six alfalfa in alpine region[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2016, 24(5): 1131-1133.

[5] 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, 1482. JU M M, CHEN Y P, SU X N, et al. Effects of endogenous NO and ROS generation in alfalfa under Cd stress[J]. *Guihaia*, 2016, 36(12): 1483-1491, 1482.

[6] 李文娆, 张岁岐, 丁圣彦, 等. 干旱胁迫下紫花苜蓿根系形态变化及与水分利用的关系[J]. 生态学报, 2010, 30(19): 5140-5150. LI W R, ZHANG S Q, DING S Y, et al. Root morphological variation and water use in alfalfa under drought stress[J]. *Acta Ecology Sinica*, 2010, 30(19): 5140-5150.

[7] 张立全, 张凤英, 哈斯阿古拉. 紫花苜蓿耐盐性研究进展[J]. 草业学报, 2012, 21(6): 296-305. ZHANG L Q, ZHANG F Y, HAAS A. Research progress on alfalfa salt tolerance[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2012, 21(6): 296-305.

[8] 栗振义, 张绮芯, 仝宗永, 等. 不同紫花苜蓿品种对低磷环境的形态与生理响应分析[J]. 中国农业科学, 2017, 50(20): 3898-3907. LI Z Y, ZHANG Q X, TONG Z Y, et al. Analysis of morphological and physiological responses to low Pi stress in different alfalfas[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(20): 3898-3907.

[9] 何飞, 赵忠祥, 康俊梅, 等. 氮磷钾配比施肥对紫花苜蓿草产量及品质的影响[J]. 中国草地学报, 2019, 41(5): 24-32. HE F, ZHAO Z X, KANG J M, et al. Effects of N, P and K fertilizer on alfalfa hay yield and quality[J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2019, 41(5): 24-32.

[10] SMEETS K, CUYPERS A, LAMBERCHTS A, et al. Induction of oxidative stress and antioxidative mechanisms in *Phaseolus vulgaris* after Cd application[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2005, 43: 437-444.

[11] 王松华, 张华, 何庆元. 铜胁迫对紫花苜蓿幼苗叶片抗氧化系统的影响[J]. 应用生态学报, 2011, 22(9): 2285-2290. WANG S H, ZHANG H, HE Q Y. Effects of copper stress on *Medicago sativa* seedlings leaf antioxidative system[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, 22(9): 2285-2290.

[12] SERRANO-MARTINEZ F, CASAS J L. Effects of extended exposure to cadmium and subsequent recovery period on growth, antioxidant status and polyamine pattern in *in vitro* cultured carnation[J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2011, 17(4): 327-338.

[13] 江玲, 杨芸, 徐卫红, 等. 黑麦草-丛枝菌根对不同番茄品种抗氧化酶活性、镉积累及化学形态的影响[J]. 环境科学, 2014, 35(6): 2349-2357. JIANG L, YANG Y, XU W H, et al. Effects of ryegrass and arbuscular mycorrhiza on activities of antioxidant enzymes, accumulation and chemical forms of cadmium in different varieties of tomato[J]. *Environmental Science*, 2014, 35(6): 2349-2357.

[14] 王洪斌, 张煜坤, 张大才. 青藏苔草形态特征及生物量分配沿水分梯度的变化[J]. 草地学报, 2021, 29(3): 552-530. WANG H B, ZHANG Y K, ZHANG D C. Morphology and biomass allocation of *Carex moorcroftii* along soil moisture gradient[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2021, 29(3): 552-530.

[15] 薛博晗, 李娜, 宋桂龙, 等. 外源柠檬酸、苹果酸和草酸对披碱草镉耐受及富集的影响[J]. 草业学报, 2018, 27(6): 128-136. XUE B H, LI N, SONG G L, et al. Effects of exogenous citric, malic and oxalic acids on the tolerance and enrichment efficiency of *Elymus dahuricus* under cadmium-stress[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2018, 27(6): 128-136.

[16] 汤惠华, 杨涛, 胡宏友, 等. 镉对花椰菜光合作用的影响及其在亚细胞中的分布[J]. 园艺学报, 2008, 35(9): 1291-1296. TANG H H, YANG T, HU H Y, et al. Effects of cadmium and its subcellular distribution on the photosynthesis of cauliflower[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2008, 35(9): 1291-1296.

[17] 李忠光, 李江鸿, 杜朝昆, 等. 在单一提取系统中同时测定五种植物抗氧化酶[J]. 云南师范大学学报, 2002(6): 44-48. LI Z G, LI J H, DU C K, et al. Simultaneous measurement of five antioxidant en-

zyme activities using a single extraction system[J]. *Journal of Yunnan Normal University*, 2002(6):44-48.

[18] 樊怀福, 郭世荣, 焦彦生, 等. 外源一氧化氮对NaCl胁迫下黄瓜幼苗生长、活性氧代谢和光合特性的影响[J]. 生态学报, 2007, 27(2):546-553. FAN H F, GUO S R, JIAO Y S, et al. The effects of exogenous nitric oxide on growth, active oxygen metabolism and photosynthetic characteristics in cucumber seedlings under NaCl stress [J]. *Acta Ecology Sinica*, 2007, 27(2):546-553.

[19] 张杨杨, 李希铭, 高鹏, 等. 不同浓度镉胁迫下6种草本植物的耐性及富集特征的比较[J]. 草地学报, 2021, 29(6):1265-1276. ZHANG Y Y, LI X M, GAO P, et al. Comparison of tolerance and enrichment characteristic for six herbaceous plant under different levels Cd stress[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2021, 29(6):1265-1276.

[20] FLORES-CÁCERES M L, 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, 233:165-173.

[21] 贾月慧, 韩莹琰, 刘杰, 等. 生菜对镉胁迫的生理响应及体内镉的累积分布[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(8):1610-1618. JIA Y H, HAN Y Y, LIU J, et al. Physiological adaptations to cadmium stresses and cadmium accumulation in lettuce[J]. *Journal of Agro-Environmental Science*, 2018, 37(8):1610-1618.

[22] UMED A. 不同pH对水稻幼苗镉积累的影响[D]. 北京:中国农业科学院, 2019. UMED A. Effect of different pH levels on cadmium accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2019.

[23] 王宝媛, 濮阳雪华, 宋桂龙, 等. 20个高羊茅品种镉耐性评价及富集特征[J]. 草地学报, 2017, 25(1):107-114. WANG B Y, PUYANG X H, SONG G L, et al. The cadmium tolerance evaluation and absorption characteristic of twenty tall fescue varieties[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2017, 25(1):107-114.

[24] RENTON M, LAMBERS H, SURIYAGODA L, et al. Plant responses to limited moisture and phosphorus availability[J]. *Advances in Agronomy*, 2014, 124:143-200.

[25] 张爱平, 刘汝亮, 李友宏, 等. 施用磷肥对春小麦产量与吸氮特性及土体中硝态氮累积的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2009, 27(5):30-34. ZHANG A P, LIU R L, LI Y H, et al. Effects of P fertilizer application on yield of spring wheat and characteristics of N absorption and NO_3^--N accumulation in soil profile[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2009, 27(5):30-34.

[26] 陈远学, 李汉邯, 周涛, 等. 施磷对间套作玉米叶面积指数、干物质积累分配及磷肥利用效率的影响[J]. 应用生态学报, 2013, 24(10):2799-2806. CHEN Y X, LI H H, ZHOU T, et al. Effects of phosphorus fertilization on leaf area index, biomass accumulation and allocation, and phosphorus use efficiency of intercropped maize[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, 24(10):2799-2806.

[27] WANG X, LIU Y, ZENG G, et al. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Bechmeria nivea* (L.) Gaud.[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2008, 62(3):389-395.

[28] 李红婷, 董然. 2种萱草对铅、镉的吸收累积及其在亚细胞的分布和化学形态特征[J]. 华南农业大学学报, 2015, 36(4):59-64. LI H T, DONG R. Pb & Cd absorption and accumulation characteristics, subcellular distribution and chemical forms in two types of *Hemerocallis* plants[J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2015, 36(4):59-64.

[29] 吴建慧, 刘俊学, 张静, 等. 绢毛委陵菜叶片超微结构及生理特性对镉的响应[J]. 草地学报, 2016, 24(6):1278-1282. WU J H, LIU J X, ZHANG J, et al. The response of potentilla sericea ultrastructure and physiological characteristics to cadmium stress[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2016, 24(6):1278-1282.

[30] 孙小玲, 许岳飞, 马鲁沂, 等. 植株叶片的光合色素构成对遮阴的响应[J]. 植物生态学报, 2010, 34(8):989-999. SUN X L, XU Y F, MA L Y, et al. A review of acclimation of photosynthetic pigment composition in plant leaves to shade environment[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2010, 34(8):989-999.

[31] ALLAN D L, JARRELL W M. Proton and copper adsorption to maize and soybean root cell walls[J]. *Plant Physiology*, 1989, 89(3):823-832.

[32] 邹茸, 王秀斌, 霍文敏, 等. 不同磷肥品种对苋菜镉累积的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2018(1):37-42. ZOU R, WANG X B, HUO W M, et al. Effects of different phosphorus fertilizers on cadmium accumulation in *Amaranshus mangostanus* L.[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2018(1):37-42.

[33] 王朋超, 孙约兵, 徐应明, 等. 施用磷肥对南方酸性红壤镉生物有效性及土壤酶活性影响[J]. 环境化学, 2016, 35(1):150-158. WANG P C, SUN Y B, XU Y M, et al. Effects of phosphorous fertilizers on Cd bioavailability and soil enzyme activities in south acidic red soil[J]. *Environmental Chemistry*, 2016, 35(1):150-158.

[34] 佟倩, 张秀双, 魏晓敏, 等. 硅肥磷肥配合施入对水稻产量及植株体内镉含量的影响[J]. 北方水稻, 2011, 41(6):6-9, 13. TONG Q, ZHANG X S, WEI X M, et al. Effects of slag mucks and FCMP combined application on rice yield and Cd content in planting[J]. *Northern Rice*, 2011, 41(6):6-9, 13.

[35] LAGRIFFOUL A, MOCQUOT B, MENCH M, et al. Cadmium toxicity effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and activities of stress related enzymes in young maize (*Zea mays* L.)[J]. *Plant and Soil*, 1998, 200(2):241-250.

[36] BOLAN N S, ADRIANO D C, MANI P A, et al. Immobilization and phytoavailability of cadmium in variable charge soils. Ⅰ. Effect of lime addition[J]. *Plant and Soil*, 2003, 251(2):187-198.

[37] WANG H, WANG P F, ZHANG H. Use of phosphorus to alleviate stress induced by cadmium and zinc in two submerged macrophytes [J]. *African Journal of Biotechnology*, 2009, 8(10):2176-2183.

[38] 刘芳, 介晓磊, 孙巍峰, 等. 磷、镉交互作用对烟草生长及吸收积累磷、镉的影响[J]. 土壤通报, 2007(1):116-120. LIU F, JIE X L, SUN W F, et al. Influence of P and Cd interaction on their accumulation in tobacco and tobacco growth[J]. *Chinese Jounral of Soil Science*, 2007(1):116-120.

[39] 朱涵毅, 陈益军, 劳佳丽, 等. 外源NO对镉胁迫下水稻幼苗抗氧化系统和微量元素积累的影响[J]. 生态学报, 2013, 33(2):603-609. ZHU H Y, CHEN Y J, LAO J L, et al. The effect of exogenous nitric oxide on activities of antioxidant enzymes and microelements accumulation of two rice genotypes seedlings under cadmium stress [J]. *Acta Ecology Sinica*, 2013, 33(2):603-609.

(责任编辑:李丹)