

刘长风,王 椰,段士鑫,等. 铬胁迫下紫花苜蓿种子萌发和幼苗生理响应的主成分分析[J]. 江苏农业科学,2022,50(19):176-182.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.19.026

# 铬胁迫下紫花苜蓿种子萌发和幼苗生理响应的主成分分析

刘长风<sup>1</sup>, 王 椰<sup>1</sup>, 段士鑫<sup>1</sup>, 王天楚<sup>1</sup>, 刘学贵<sup>2,3</sup>, 高品一<sup>3</sup>

(1. 沈阳化工大学环境与安全工程学院, 辽宁沈阳 110142; 2. 沈阳化工大学功能分子研究所, 辽宁沈阳 110142;  
3. 沈阳化工大学制药与生物工程学院, 辽宁沈阳 110142)

**摘要:**为探讨不同浓度(0、1、5、10、20、30、50 mg/L)Cr<sup>6+</sup>胁迫下紫花苜蓿生长状况及抗胁迫响应变化规律,基于主成分分析法,探究水培试验下苜蓿 Cr<sup>6+</sup>胁迫生理生化响应特征。结果表明,Cr<sup>6+</sup>浓度≤5 mg/L时,对苜蓿种子萌发、叶绿素含量、可溶性蛋白含量具有显著促进作用( $P < 0.05$ ),AsA + GSH 含量达对照(CK)的2.17~3.30倍;Cr<sup>6+</sup>浓度≥10 mg/L时抑制苜蓿种子萌发、叶绿素合成及抗氧化循环;随 Cr<sup>6+</sup>浓度增加,苜蓿种子活力指数、幼苗根长、茎长和根系活力显著下降( $P < 0.05$ ),幼苗体内铬累积量、MDA 含量、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量、脯氨酸含量及 POD 活性显著增加( $P < 0.05$ ),GSH 含量达 CK 的3.69~6.54倍。这表明紫花苜蓿能通过调节自身的氧化应激水平及 AsA - GSH 循环来抵御低浓度 Cr<sup>6+</sup>胁迫。利用主成分分析法研究发现,铬胁迫下苜蓿幼苗的铬累积量、POD 活性、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量、MDA 含量、根系活力这5个指标能良好表征 Cr<sup>6+</sup>胁迫下苜蓿的生理响应。

**关键词:**紫花苜蓿;铬胁迫;主成分分析;氧化应激;铬积累

**中图分类号:**S541<sup>+</sup>.101;X53 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)19-0176-06

铬是造成环境污染的五大重金属之一,在自然界中主要以三价(Ⅲ)铬(Cr)和六价(Ⅵ)铬化合物的形式存在<sup>[1]</sup>。而 Cr(Ⅵ)由于活性强、易迁移、持久性好且易被植物吸收等特点,对生态环境及人类健康造成危害甚至引发癌症<sup>[2-3]</sup>。最新全国土壤污染状况调查公报显示,我国农业用地土壤污染状况不容乐观,土壤总超标率达16.1%<sup>[4]</sup>。土壤重金属污染导致农业用地减少,粮食产量锐减,造成了极大的经济损失。目前,我国大部分省份都遭受不同程度的土壤重金属污染,其中湖北省土壤铬含量超过100 mg/kg,福建省土壤铬含量达土壤背景值的3.96倍<sup>[5]</sup>。

紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)为耐寒、耐旱的多年生豆科植物,具有较高的营养、经济及生态价值<sup>[5]</sup>。

截至2016年,我国商品苜蓿年产量已达100万t,且仍呈上升趋势。已有研究表明,紫花苜蓿对镉、铅、钒等重金属胁迫具有一定耐受性<sup>[6-8]</sup>。同时由于紫花苜蓿生长周期短、产量大、可多次刈割,在污染土壤的植被修复中被广泛研究和应用<sup>[6,9]</sup>。本研究旨在探讨紫花苜蓿在重金属铬胁迫下的抗氧化性及生长生理响应规律。

主成分分析法(PCA)能将多个具有相关性的指标通过数值分析计算,转换为少数互不关联的综合指标,避免了信息的重叠,达到“降维”的目的;综合指标在涵盖原有多数指标的基础上,更直观地反映了植物逆境胁迫下的内在响应规律,因此被广泛应用于植物抗逆性研究中<sup>[10-11]</sup>。

本试验以紫花苜蓿为试验材料,通过水培模拟试验探究其在不同浓度 Cr<sup>6+</sup>胁迫下种子萌发、幼苗生理响应和铬积累情况。通过主成分分析法判断苜蓿抗性表现的主要生理指标,以便更直观快捷地表征苜蓿在 Cr<sup>6+</sup>胁迫下的氧化损伤程度及抗氧化应激响应规律,以期探讨紫花苜蓿在 Cr<sup>6+</sup>污染土壤下的生长情况提供数据支撑。

收稿日期:2021-11-02

基金项目:国家重点研发计划(编号:2017YFD0800301);辽宁省教育厅基础研究基金(编号:LJ2020026)。

作者简介:刘长风(1974—),女,吉林镇赉人,博士,副教授,主要从事资源循环利用及土壤重金属污染修复研究。E-mail:changfeng.liu@syuct.edu.cn。

通信作者:王 椰,硕士研究生,主要从事土壤重金属污染修复研究。  
E-mail:1276460214@qq.com。

## 1 材料与方 法

### 1.1 植物材料与 水培试验

试验所用紫花苜蓿品种为金皇后,于 2020 年 9 月在辽宁省沈阳市进行试验。筛选籽粒饱满的种子于 5% NaClO 中消毒,每皿(直径 90 mm)放入 40 粒苜蓿种子,加入 Cr<sup>6+</sup> 处理液[0(CK)、1、5、10、20、30、50 mg/L]和 1/2 Hoagland's 营养液<sup>[9]</sup>。在保持 Cr<sup>6+</sup> 浓度恒定期间,于全自动光照培养箱中培养 10 d,温度为(20 ± 1) °C,光照时间为白天:夜晚 = 16 h : 8 h)。

### 1.2 苜蓿种子萌发测定

按照《国际种子检验章程》<sup>[12]</sup>,于试验第 4 天统计发芽势,第 10 天统计发芽率、发芽指数、活力指数、抑制指数(根、茎)。

### 1.3 苜蓿幼苗铬累积测定

将培养 10 d 后的苜蓿鲜样取出清洗、烘干至恒质量,用 HCl - HNO<sub>3</sub> - HClO<sub>4</sub> 消解定容,用火焰原子吸收法测定幼苗铬含量。

### 1.4 苜蓿幼苗生理指标测定

培养 10 d 后取出苜蓿幼苗,用超纯水清洗均质化后取上清液测定幼苗各项生理指标。采用染色法测定根系活力<sup>[13]</sup>;乙醇提取法测定叶绿素 a、叶

绿素 b 及总叶绿素含量<sup>[14]</sup>;硫酸钛沉淀法测定过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)含量<sup>[15]</sup>;用 Li 等的方法测定超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>·)、丙二醛(MDA)、脯氨酸、可溶性蛋白含量<sup>[16]</sup>;用张琼等的方法测定谷胱甘肽(GSH)含量<sup>[17]</sup>,用二联吡啶法测定抗坏血酸(AsA)含量<sup>[18]</sup>;超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性测定分别采用氮蓝四唑法、愈创木酚法<sup>[19]</sup>。

### 1.5 数据分析

采用 SPSS 26.0、Origin 2018 对数据进行分析处理,所有试验数据均为 3 个试验组平均值。采用单因素方差分析法(ANOVA)对不同浓度 Cr<sup>6+</sup> 处理组数据进行差异性分析(α = 0.05),采用 SPSS 26.0 进行主成分分析,采用 Origin 2018 进行图形绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 Cr<sup>6+</sup> 胁迫对苜蓿种子萌发及幼苗生长的影响

由表 1 可知,低浓度(5 ~ 10 mg/L)Cr<sup>6+</sup> 胁迫处理可促进苜蓿种子萌发,其发芽率、发芽势及发芽指数均显著增加;而种子活力指数在 Cr<sup>6+</sup> 胁迫下显著降低(P < 0.05),在 50 mg/L 时降至 CK 的 12.78%;在 Cr<sup>6+</sup> 胁迫下苜蓿幼苗的根、茎伸长受到显著抑制,且根长受到的抑制作用大于茎。

表 1 不同浓度 Cr<sup>6+</sup> 胁迫对苜蓿种子萌发及幼苗长势的影响

Cr <sup>6+</sup> 浓度 (mg/L)	发芽率 (%)	发芽势 (%)	发芽指数	活力指数	根长抑制指数 (%)	茎长抑制指数 (%)
CK	85.33 ± 1.89c	85.33 ± 1.89b	80.91 ± 0.15c	973.59 ± 70.78a		
1	92.00 ± 2.83ab	86.67 ± 2.49ab	82.26 ± 1.46bc	699.34 ± 69.61b	49.64 ± 6.22e	22.56 ± 9.33c
5	94.00 ± 1.63a	91.33 ± 2.49a	87.67 ± 2.07a	519.23 ± 4.30c	87.03 ± 1.81d	22.13 ± 9.18c
10	92.00 ± 3.27ab	90.67 ± 1.89a	86.57 ± 1.76ab	381.47 ± 9.64d	91.55 ± 0.74cd	32.76 ± 1.53bc
20	88.00 ± 4.32bc	86.67 ± 4.71ab	83.60 ± 4.11abc	320.42 ± 25.75d	93.71 ± 0.48bc	43.68 ± 5.29b
30	87.33 ± 1.89bc	87.33 ± 1.89ab	83.45 ± 1.88abc	175.00 ± 16.43e	96.86 ± 0.98ab	64.22 ± 9.13a
50	72.00 ± 1.63d	72.00 ± 1.63c	68.14 ± 2.30d	124.44 ± 8.32e	100.00 ± 0.00a	68.68 ± 2.82a

注:同列数据后不同小写字母代表不同 Cr<sup>6+</sup> 胁迫处理组间差异显著(P < 0.05)。

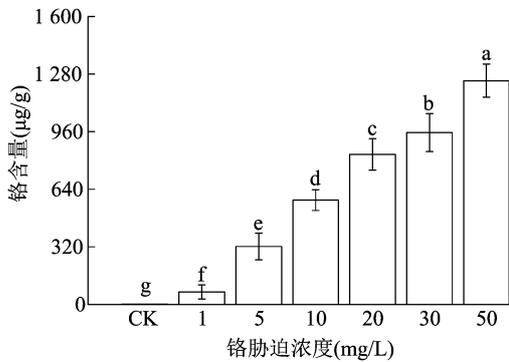
### 2.2 Cr<sup>6+</sup> 胁迫对苜蓿幼苗生理指标的影响

2.2.1 Cr<sup>6+</sup> 胁迫对苜蓿幼苗铬吸收的影响 由图 1 可知,随 Cr<sup>6+</sup> 胁迫浓度的增加,苜蓿幼苗中铬吸收量显著增加(P < 0.05),在处理浓度为 1 ~ 20 mg/L 时,苜蓿幼苗体内铬含量较对照增加了 44 ~ 540 倍,在 50 mg/L 时达 CK 的 806 倍。

2.2.2 Cr<sup>6+</sup> 胁迫对苜蓿幼苗根系活力的影响 苜蓿幼苗根系活力随 Cr<sup>6+</sup> 胁迫浓度增加总体呈下降趋势(图 2)。在低浓度(1 ~ 5 mg/L)下,苜蓿幼苗

根系活力变化不显著(P > 0.05);但在 Cr<sup>6+</sup> 浓度 ≥ 10 mg/L 时,根系活力出现显著下降(P < 0.05),且在浓度为 20 mg/L 时降低至 CK 的 50% 以下,在 50 mg/L 时降至 CK 的 21%。

2.2.3 Cr<sup>6+</sup> 胁迫对苜蓿幼苗叶绿素含量的影响 苜蓿幼苗叶片中叶绿素 a、叶绿素 b 及总叶绿素含量均随 Cr<sup>6+</sup> 胁迫浓度的增加先升后降(图 3)。施加 1 mg/L Cr<sup>6+</sup> 时,苜蓿幼苗叶绿素 a 及总叶绿素含量显著增加(P < 0.05),随胁迫加深 Cr<sup>6+</sup> 胁迫浓度与叶



不同小写字母表示不同浓度铬胁迫处理间差异显著( $P < 0.05$ )。

图2至图8同

图1 铬胁迫对苜蓿幼苗铬吸收量的影响

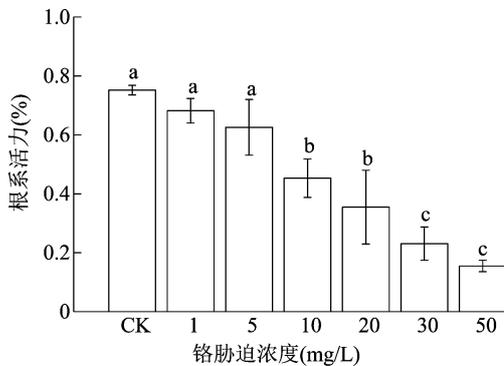


图2 铬胁迫对苜蓿幼苗根系活力的影响

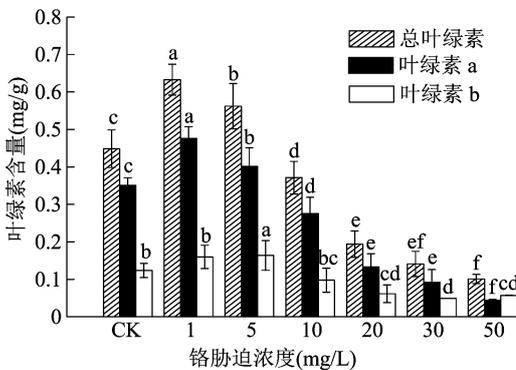


图3 铬胁迫对苜蓿幼苗叶绿素含量的影响

绿素含量呈负相关,20 mg/L 时均降至 CK 的 50% 以下;在 50 mg/L 时部分叶片出现黄化现象。

2.2.4  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫对苜蓿幼苗中活性氧(ROS)的影响 由图4可知,苜蓿幼苗中  $\text{O}_2^{\cdot-}$  含量在  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫浓度为 5 mg/L 时达到最低值,随着  $\text{Cr}^{6+}$  浓度逐渐升高,  $\text{O}_2^{\cdot-}$  含量增加,在 50 mg/L 时达 CK 的 1.15 倍;  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量随  $\text{Cr}^{6+}$  浓度增加而显著增加( $P < 0.05$ ),且在浓度为 5 mg/L 时较 CK 出现显著增加( $P < 0.05$ )。在浓度达 50 mg/L 时,幼苗体内  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量达到试验最大值(6.96  $\mu\text{mol/g}$ ),为 CK 的 2.22 倍。

2.2.5  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫对苜蓿幼苗中 MDA 含量的影响 苜蓿幼苗中 MDA 含量随胁迫浓度增加而上升(图

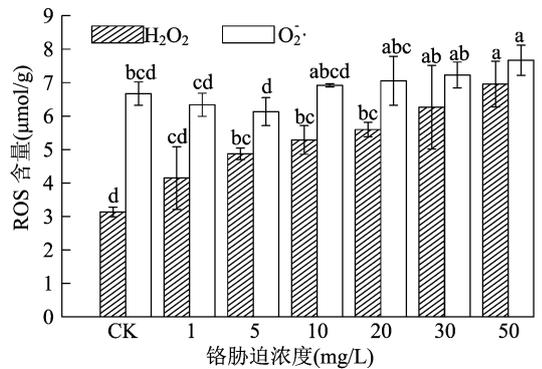


图4 铬胁迫对苜蓿幼苗 ROS 含量的影响

5)。  $\text{Cr}^{6+}$  浓度在 5 mg/L 时,幼苗中 MDA 含量显著增加( $P < 0.05$ );在  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫浓度为 5 ~ 30 mg/L 时,MDA 含量增加缓慢。  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫浓度为 50 mg/L 时,MDA 含量到试验最大值,为 0.017 8  $\mu\text{mol/g}$ 。

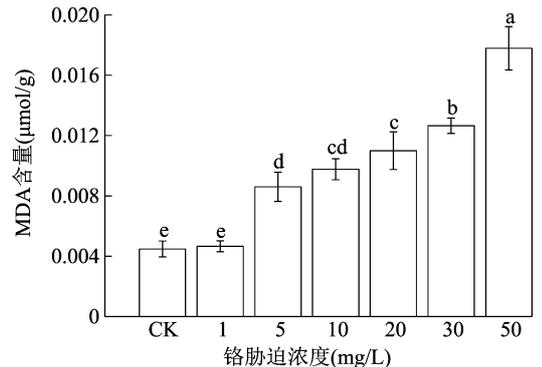


图5 铬胁迫对苜蓿幼苗 MDA 含量的影响

2.2.6  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫对苜蓿幼苗脯氨酸、可溶性蛋白含量的影响 苜蓿幼苗中脯氨酸含量与  $\text{Cr}^{6+}$  浓度呈显著正相关( $P < 0.05$ ),可溶性蛋白含量随  $\text{Cr}^{6+}$  浓度的增加呈先升后降的趋势(图6)。幼苗中可溶性蛋白含量在  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫浓度为 1 mg/L 时达到试验峰值,较 CK 增加 35.50%,之后随着  $\text{Cr}^{6+}$  浓度增加而显著下降( $P < 0.05$ ),并在 50 mg/L 时降至 CK 的 86.26%,达试验最低值。  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫处理苜蓿体内游离脯氨酸含量较 CK 增加了 62.41% ~ 104.68%,在 50 mg/L 时达试验最大值,为 57.72  $\mu\text{g/g}$ 。

2.2.7  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫对苜蓿幼苗 GSH、AsA 含量的影响 由图7可知,苜蓿幼苗中 AsA、GSH、GSH + AsA 含量随  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫浓度增加均呈先增后降的趋势。AsA 含量在  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫浓度为 5 mg/L 时出现试验峰值,达对照的 3.18 倍;GSH 含量在  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫浓度为 1 mg/L 时显著增加( $P < 0.05$ ),1 ~ 10 mg/L 时变化不显著( $P > 0.05$ ),但整体均在 CK 的 3 倍以上,在  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫浓度为 20 mg/L 时显著增加( $P < 0.05$ ),并在 30 mg/L 时含量增至 CK 的 9.81 倍。GSH +

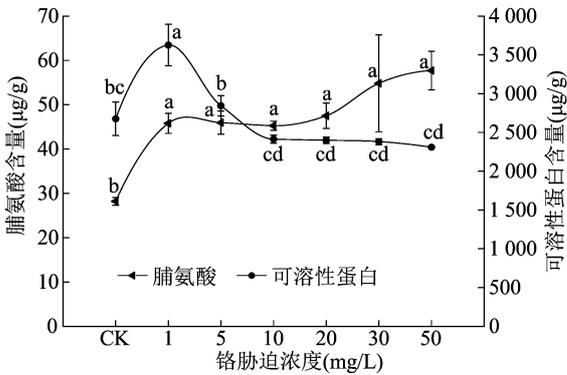


图6 铬胁迫对苜蓿幼苗可溶性蛋白、脯氨酸含量的影响

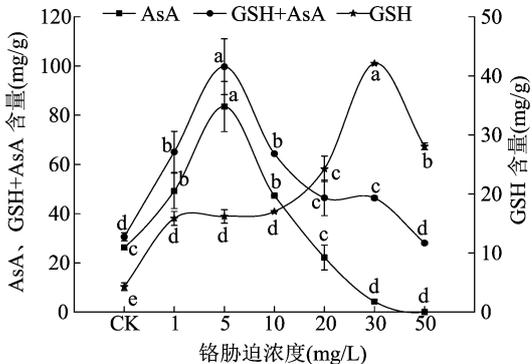


图7 铬胁迫对苜蓿幼苗 AsA、GSH、AsA+GSH 含量的影响

AsA 含量在  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫浓度为 5 mg/L 时达到 CK 的 3.30 倍,且除  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫浓度为 50 mg/L 以外,其余各处理组 GSH + AsA 含量均显著高于 CK ( $P < 0.05$ )。

### 2.2.8 $\text{Cr}^{6+}$ 胁迫对苜蓿幼苗抗氧化酶活性的影响

由图 8 可知,苜蓿幼苗中 POD、SOD 活性随  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫浓度变化而存在差异,POD 活性与  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫浓度呈正相关,各试验梯度下较 CK 增加了 1.34 ~ 2.81 倍;SOD 活性随  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫浓度变化不显著 ( $P > 0.05$ ),整体呈先升后降的趋势,各试验梯度下幼苗中 SOD 活性整体高于对照,并在 10 mg/L 时达到试验峰值。

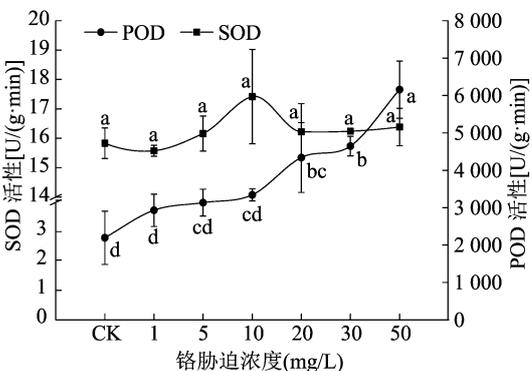


图8 铬胁迫下抗氧化酶活性的变化

### 2.3 主成分分析

由主成分分析结果(表 2)可知,前 3 个主成分

方差累积达 90% 以上,故前 3 个主成分能较好地反映  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫下苜蓿幼苗主要生理指标的变化。由表 3 中成分矩阵系数及图 9 可知,主成分 1 的贡献率达 68% 以上,对主成分 1 贡献较大的指标为幼苗中的铬含量、根系活力、MDA 含量、POD 活性、 $\text{H}_2\text{O}_2$  含量,因此当苜蓿遭受  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫时,幼苗中铬含量、根系活力、MDA 含量、POD 活性及  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量能较好地反映苜蓿的生理变化。后续研究中可以考虑以这几项指标作为判定苜蓿受胁迫状况的依据。

表 2 生理指标主成分分析方差解释

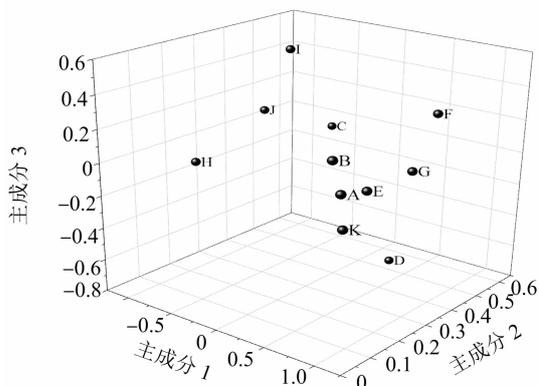
成分	初始特征值			提取载荷平方和		
	总计	方差 (%)	累积方差 (%)	总计	方差 (%)	累积方差 (%)
1	7.530	68.453	68.453	7.530	68.453	68.453
2	1.477	13.425	81.877	1.477	13.425	81.877
3	1.031	9.368	91.246	1.031	9.368	91.246
4	0.394	3.579	94.825			
5	0.313	2.848	97.673			
6	0.121	1.104	98.777			
7	0.080	0.731	99.508			
8	0.028	0.257	99.765			
9	0.022	0.201	99.966			
10	0.003	0.024	99.990			
11	0.001	0.010	100.000			

表 3 成分矩阵

指标	成分矩阵系数		
	1	2	3
铬含量	0.965	0.084	0.104
GSH 含量	0.863	0.090	0.268
AsA 含量	-0.652	0.608	-0.069
SOD 活性	0.297	0.515	-0.759
POD 活性	0.914	0.188	0.039
脯氨酸含量	0.811	0.474	0.282
$\text{H}_2\text{O}_2$ 含量	0.905	0.351	0.036
根系活力	-0.939	0.211	-0.087
可溶性蛋白含量	-0.664	0.451	0.504
总叶绿素含量	-0.889	0.431	0.110
MDA 含量	0.957	0.096	-0.103

### 3 讨论

种子萌发期对  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫浓度变化敏感,苜蓿种子萌发情况能较好地反映其  $\text{Cr}^{6+}$  耐受水平<sup>[20-21]</sup>。研究发现低浓度  $\text{Cr}^{6+}$  可提高苜蓿种子发芽率、发芽势及发芽指数;但高浓度  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫表现出显著抑制作用。



A—铬含量; B—GSH 含量; C—AsA 含量; D—SOD 活性;  
E—POD 活性; F—脯氨酸含量; G—H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量; H—根细胞  
活力; I—可溶性蛋白含量; J—总叶绿素含量; K—MDA 含量

图9 载荷图

种子活力指数是衡量种子发芽质量及幼苗生长势的重要指标之一, Cr<sup>6+</sup> 显著抑制苜蓿种子活力指数、根长及茎长, 且 Cr<sup>6+</sup> 对根的抑制大于茎。这说明 Cr<sup>6+</sup> 浓度对种子萌发的影响呈低促高抑趋势, 但对种子生长势及苜蓿幼苗后续生长发育具有显著的抑制作用。

植物根系是植物受外环境胁迫的第一道屏障, 根系活力是衡量植物根系功能的重要指标之一。幼苗根系活力与 Cr<sup>6+</sup> 胁迫浓度存在显著的剂量效应, 随 Cr<sup>6+</sup> 胁迫浓度的增加而根系活力显著下降, 且这种负相关效应在高浓度 Cr<sup>6+</sup> 胁迫时更明显。这是由于植物根系在重金属胁迫下会通过一系列反应缓解毒害效应, 包括减少吸收和阻碍运输以达到重金属解毒作用<sup>[16, 22-23]</sup>; 而过量的铬超出根系细胞壁与液泡区隔作用阈值, 进入植物细胞内, 破坏原生质体结构, 造成根系活力下降; 未被根系阻隔的 Cr<sup>6+</sup> 经主动运输在叶片中积累, 叶绿素是衡量植物光合作用功能的重要指标。低浓度 (≤5 mg/L) Cr<sup>6+</sup> 胁迫显著促进了苜蓿幼苗总叶绿素、叶绿素 a 及叶绿素 b 合成, 而高浓度 (≥10 mg/L) Cr<sup>6+</sup> 胁迫显著抑制了叶绿素合成, 且叶绿素 b 对铬胁迫敏感。这可能是由于低浓度的 Cr<sup>6+</sup> 可增强植物对营养物质的吸收; 而高浓度的 Cr<sup>6+</sup> 造成叶绿体膜损伤破裂; 同时由于铬-铁互作效应降低了植物体内活性铁的可利用性, 导致叶绿素合成受阻、影响植物光合作用<sup>[24-25]</sup>。

重金属诱导植物积累大量的活性氧, 破坏其动态平衡, 造成植物氧化损伤<sup>[26]</sup>。本研究表明, 苜蓿幼苗体内 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量与 Cr<sup>6+</sup> 胁迫浓度呈显著正相关效应, 这说明 Cr<sup>6+</sup> 诱导苜蓿体内积累大量 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 同时低浓度 Cr<sup>6+</sup> (≤5 mg/L) 胁迫时, 苜蓿幼苗体内 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量稍低于 CK, 但高浓度 Cr<sup>6+</sup> 造成 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 积累。

这可能是由于 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 对植物毒害作用高于 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 适量的 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 可通过植物体内的一系列反应转化为低毒害物质, 维持植物体内 ROS 生成消耗动态平衡, 而随 Cr<sup>6+</sup> 胁迫浓度升高, ROS 生成消耗的动态平衡被打破, 造成高浓度 Cr<sup>6+</sup> 胁迫下 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的积累。

细胞膜是维持胞内环境稳定的重要结构, 胞外环境中过高的重金属诱导植物体内 ROS 大量积累, 造成细胞膜结构损伤, 引起膜脂过氧化反应。MDA 是衡量细胞膜脂质过氧化反应程度的重要指标<sup>[27]</sup>。本研究表明, 苜蓿体内的 MDA 含量与 Cr<sup>6+</sup> 胁迫浓度呈显著正相关, 这说明 Cr<sup>6+</sup> 对苜蓿幼苗细胞膜有显著毒害作用。渗透性调节物质能调节植物体内渗透压、维持营养物质和能量吸收, 维持植物在逆境下正常的生长代谢<sup>[28]</sup>。可溶性蛋白和脯氨酸是植物体内的主要渗透调节物质, Cr<sup>6+</sup> 胁迫下苜蓿幼苗体内脯氨酸含量显著增加, 脯氨酸可直接消耗 ROS, 是植物抗性的重要过程之一<sup>[28-29]</sup>, Cr<sup>6+</sup> 胁迫下脯氨酸的积累表明苜蓿对 Cr<sup>6+</sup> 具有一定的抗性; 同时可溶性蛋白也参与细胞渗透压的调节, 本研究发现苜蓿幼苗在低浓度 (≤5 mg/L) Cr<sup>6+</sup> 胁迫时体内可溶性蛋白含量显著增加, 相反高浓度 Cr<sup>6+</sup> 胁迫下其可溶性蛋白含量下降, 这同样表明苜蓿对低浓度 Cr<sup>6+</sup> 具有一定的抗性, 而高浓度 Cr<sup>6+</sup> 影响蛋白质的合成, 加速蛋白质的分解, 造成苜蓿幼苗体内可溶性蛋白含量下降。

ROS 可作为信号分子诱导植物抗氧化反应发生, 主要包括非酶抗氧化物质及酶促反应<sup>[30]</sup>, GSH、AsA 作为植物体内重要的抗氧化物质, 能直接或间接参与植物体内 ROS 的清除<sup>[31]</sup>。有研究结果表明, 苜蓿幼苗在低浓度 Cr<sup>6+</sup> 胁迫下 GSH 含量能基本保持稳定, 这是由于低浓度 Cr<sup>6+</sup> 诱导 GSH 合成, 通过 GSH 循环维持其含量稳定; 随着 Cr<sup>6+</sup> 胁迫浓度增加 GSH 含量先增后减, 这表明高浓度 Cr<sup>6+</sup> 使苜蓿体内 ROS 积累达到更大水平, 诱导大量 GSH 积累, 直至破坏 GSH 循环, 影响 GSH 生成, 造成其含量显著下降; 同时 AsA 含量随着 Cr<sup>6+</sup> 胁迫浓度的增加先升后降, AsA 可通过 AsA-GSH 循环清除 ROS, 维持植物体内抗氧化平衡<sup>[32]</sup>, 而这种循环清除作用在高浓度 Cr<sup>6+</sup> 胁迫时被破坏, 导致 AsA 含量显著下降。同时本研究发现 AsA + GSH 含量也呈先增后降的趋势, 这说明苜蓿幼苗在低浓度 Cr<sup>6+</sup> 胁迫时其体内 AsA-GSH 循环加快, 过量的 ROS 被清除, 正常的生长代谢未受到显著影响; 这也进一步说明苜蓿能

耐受低浓度  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫。植物清除 ROS 的另一重要屏障为酶促反应, SOD 作为 ROS 清除的第一道屏障, 能将毒害较大的  $\text{O}_2^- \cdot$  转化为  $\text{H}_2\text{O}_2$ , POD 将  $\text{H}_2\text{O}_2$  进一步转化为  $\text{H}_2\text{O}$  从而达到清除效果<sup>[33]</sup>。 $\text{Cr}^{6+}$  胁迫对苜蓿幼苗 SOD 活性无明显影响, 而 POD 活性显著增加, 这是因为  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫下苜蓿体内  $\text{H}_2\text{O}_2$  的积累量大于  $\text{O}_2^- \cdot$ , 因此 POD 作为清除  $\text{H}_2\text{O}_2$  的主要抗氧化酶之一, 其活性的增加尤为显著。

#### 4 结论

$\text{Cr}^{6+}$  胁迫浓度  $\leq 10$  mg/L 时, 苜蓿种子萌发被促进。幼苗能通过调节 POD 活性、脯氨酸含量及 GSH + AsA 含环量, 维持幼苗体内 ROS 平衡, 同时幼苗叶绿素含量显著增加 ( $P < 0.05$ ), 幼苗正常的生长代谢过程未受显著影响。 $\text{Cr}^{6+}$  胁迫浓度  $\geq 10$  mg/L 时, 苜蓿幼苗体内正常代谢过程被打乱, 氧化损伤加剧, 对苜蓿造成毒害。同时通过对苜蓿氧化胁迫响应指标进行主成分分析发现, 铬积累量、根系活力、MDA 含量、 $\text{H}_2\text{O}_2$  含量、POD 活性等 5 个指标能良好地表征苜蓿在  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫下氧化胁迫响应规律。综上所述, 紫花苜蓿能耐受低浓度 ( $\leq 5$  mg/L)  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫, 而高浓度  $\text{Cr}^{6+}$  胁迫对苜蓿具有显著的毒害作用。这可以缩减后续研究应用的工作量, 为铬污染土壤下紫花苜蓿等植物生长提供数据支撑。

#### 参考文献:

- [1] Cervantes C, Campos - García J, Devars S, et al. Interactions of chromium with microorganisms and plants[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2001, 25(3): 335 - 347.
- [2] 刘晓娟, 程 滨, 赵瑞芬, 等. 硒对铬胁迫下茄子生理特性及铬吸收的影响[J]. 水土保持学报, 2019, 33(4): 357 - 363.
- [3] 陈永林, 陈小锦, 丛玮玮, 等. 不同价态铬对玉米幼苗铬吸收动力学特征及生长发育的影响[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(3): 46 - 50.
- [4] 陈能场, 郑煜基, 向晓峰, 等. 《全国土壤污染状况公报》探析[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(9): 1689 - 1692.
- [5] Hu B F, Shao S, Ni H, et al. Current status, spatial features, health risks, and potential driving factors of soil heavy metal pollution in China at Province level [J]. Environmental Pollution, 2020, 266: 114961.
- [6] 武振中, 杨金燕, 张有贤. 钒胁迫对紫花苜蓿生长及钒积累与转移的影响[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(6): 1198 - 1207.
- [7] 李 琪, 邢颖娜, 杜逢慧, 等. 枯草芽孢杆菌对早熟禾和紫花苜蓿修复镉污染土壤的强化作用[J]. 科学技术与工程, 2021, 21(17): 7385 - 7390.
- [8] 闫 冬, 王英哲, 郭 强, 等. 20 份紫花苜蓿种质资源苗期耐铝性评价[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2021(9): 123 - 128.
- [9] Wang Y, Ren H J, Pan H Y, et al. Enhanced tolerance and remediation to mixed contaminants of PCBs and 2, 4 - DCP by transgenic alfalfa plants expressing the 2, 3 - dihydroxybiphenyl - 1, 2 - dioxygenase [J]. Journal of Hazardous Materials, 2015, 286: 269 - 275.
- [10] 侯 颖, 莫凌云, 覃礼堂, 等. 具有 Hormesis 效应抗生素对斜生栅藻的毒性效应及主成分分析[J/OL]. 桂林理工大学学报, (2021 - 10 - 25) [2022 - 7 - 15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1375.N.20211025.1715.004.html>.
- [11] 杨 玖, 张 利, 林 武, 等. 基于主成分分析法的湖库型饮用水源地富营养化状况评价: 以攀枝花市胜利水库为例[J]. 四川环境, 2021, 40(5): 192 - 199.
- [12] 刘 玲, 孟淑春. 2012 版《国际种子检验规程》修订通报[J]. 核农学报, 2012, 26(5): 762 - 763.
- [13] 李 进, 张军高, 刘梦丽, 等. 4 种外源物质对低温胁迫下棉花 (*Gossypium hirsutum*) 幼苗的缓解效应分析[J]. 分子植物育种, 2019, 17(17): 5792 - 5800.
- [14] Chen S, Wang Q, Lu H L, et al. Phenolic metabolism and related heavy metal tolerance mechanism in *Kandelia obovata* under Cd and Zn stress[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 169: 134 - 143.
- [15] Zeng F, Zahoor M, Waseem M, et al. Influence of metal - resistant *Staphylococcus aureus* strain K1 on the alleviation of chromium stress in wheat[J]. Agronomy, 2020, 10(9): 1354 - 1354.
- [16] Li L, Long M J, Islam F, et al. Synergistic effects of chromium and copper on photosynthetic inhibition, subcellular distribution, and related gene expression in *Brassica napus* cultivars [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2019, 26(12): 11827 - 11845.
- [17] 张 琼, 陆鑫眉, 戴清霞, 等. 镉胁迫对水仙根系抗氧化系统的影响[J]. 福建农业学报, 2016, 31(6): 591 - 595.
- [18] 周小华, 周泽仪, 李昆志. 外源抗坏血酸缓解水稻幼苗的铝胁迫效应[J]. 广西植物, 2020, 40(4): 526 - 535.
- [19] Zewail R M Y, El - Desoukey H S, Islam K R. Chromium stress alleviation by salicylic acid in Malabar spinach (*Basella alba*) [J]. Journal of Plant Nutrition, 2020, 43(9): 1268 - 1285.
- [20] 王 丹, 魏 威, 王松山, 等. 铜、铬单一及复合污染对小白菜种子萌发及根长的生态毒性[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2010, 38(12): 63 - 68, 74.
- [21] 钟旻依, 张新全, 杨昕颖, 等. 植物对重金属铬胁迫响应机制的研究进展[J]. 草业科学, 2019, 36(8): 1962 - 1975.
- [22] 林 华, 林志毅, 满向甜, 等. 蜡状芽孢杆菌协同李氏禾根系分泌物去除水体  $\text{Cr}^{6+}$  的效应及机制[J]. 生态环境学报, 2020, 29(2): 353 - 359.
- [23] 王若男, 乜兰春, 张双双, 等. 植物抗重金属胁迫研究进展[J]. 园艺学报, 2019, 46(1): 157 - 170.
- [24] 李俊成, 于 慧, 杨素欣, 等. 植物对铁元素吸收的分子调控机制研究进展[J]. 植物生理学报, 2016, 52(6): 835 - 842.
- [25] Sharma D C, Sharma C P, Tripathi R D. Phytotoxic lesions of chromium in maize[J]. Chemosphere, 2003, 51(1): 63 - 68.

张建丽,孟春花,桂红兵,等. 不同铵源氨化油菜秸秆营养品质及湖羊瘤胃降解率的比较[J]. 江苏农业科学,2022,50(19):182-186.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.19.027

## 不同铵源氨化油菜秸秆营养品质 及湖羊瘤胃降解率的比较

张建丽<sup>1,2</sup>, 孟春花<sup>1,2</sup>, 桂红兵<sup>1,2</sup>, 石祖梁<sup>3</sup>, 曹少先<sup>1,2</sup>, 张俊<sup>1,2</sup>, 贾成立<sup>4</sup>, 钱勇<sup>1,2</sup>

(1. 江苏省农业科学院畜牧研究所, 江苏南京 210014; 2. 农业农村部种养殖结合重点实验室, 江苏南京 210014;

3. 农业农村部农业生态与资源保护总站, 北京 100125; 4. 山东省单县畜牧服务中心, 山东单县 274300)

**摘要:**为促进油菜秸秆的饲料化利用、改善其饲用品质,比较不同铵源氨化处理对油菜秸秆营养品质变化及湖羊瘤胃降解率影响。试验以风干油菜秸秆为研究对象,分别采用15%碳酸氢铵(碳铵组)和5%尿素(尿素组)氨化30 d,评定氨化后油菜秸秆的感官指标,测定营养品质,利用体外产气法测定油菜秸秆在瘤胃液中消化24、48 h后的干物质(DM)、粗蛋白(CP)、中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)降解率及pH值、氨态氮(NH<sub>3</sub>-N)和产气量的变化。结果表明,15%碳酸氢铵氨化和5%尿素氨化均显著改善油菜秸秆的风味和适口性,CP含量均极显著高于对照组( $P < 0.01$ ),碳铵组的NDF含量极显著低于对照组( $P < 0.01$ ),尿素组NDF显著低于对照组( $P < 0.05$ ),氨化的ADF( $P < 0.05$ )和粗灰分(Ash)、粗纤维(CF)( $P < 0.01$ )均显著低于对照。体外消化48 h后,氨化组产气量、DM、CP降解率及NH<sub>3</sub>-N含量均极显著高于对照( $P < 0.01$ ),碳铵组NDF、ADF的降解率、体外产气量极显著高于尿素组和对照组( $P < 0.01$ )。综上所述,15%碳酸氢铵氨化和5%尿素氨化处理均可改善油菜秸秆适口性、提高CP含量,降低NDF、ADF含量、提高瘤胃体外发酵产气量、DM、CP降解率和NH<sub>3</sub>-N浓度,综合比较,15%碳酸氢铵氨化的油菜秸秆更有利于湖羊瘤胃消化。

**关键词:**油菜秸秆;氨化;感官品质;营养品质;体外消化

**中图分类号:**S826.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)19-0182-05

油菜是我国第一大油料作物,2018年种植面积

约710万hm<sup>2</sup>,产生油菜秸秆约3807万t,这些秸秆被饲料化利用仅占2%,大部分被随意废弃或焚烧,不仅造成资源浪费,还污染环境。油菜秸秆含有牛羊所需的营养物质,是很好的粗饲料来源,可部分替代常规粗饲料<sup>[1-2]</sup>,但它们又存在天然的异味,影响适口性,而使采食量和消化率偏低<sup>[3-5]</sup>。对秸秆采用氨化处理,秸秆变得柔软易咀嚼,具有糊香味、消化率和蛋白质含量增加,采食量提高

收稿日期:2021-11-11

基金项目:江苏现代农业(肉羊)产业技术体系项目(编号:JATS[2021]427);国家油菜产业技术体系岗位科学家(编号:CARs-12)。

作者简介:张建丽(1979—),女,江苏东台人,助理研究员,主要从事动物营养研究。E-mail:zhangjianli79@163.com。

通信作者:钱勇,研究员,主要从事肉羊品种改良、新品种选育及规模化生产技术研究。E-mail:jaasqy@jaas.ac.cn。

[26] Cuypers A, Hendrix S, dos Reis R A, et al. Hydrogen peroxide, signaling in disguise during metal phytotoxicity [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7:470.

[27] 李贺勤,王维华,江绪文. 抗坏血酸对铜胁迫下广藿香幼苗生长、铜积累和抗氧化酶活性的影响[J]. *环境化学*, 2016, 35(7):1431-1437.

[28] 张阿芳,张庆,代惠萍,等. 镉胁迫对银灰杨根和叶片渗透调节物质的影响[J]. *西北林学院学报*, 2018, 33(2):83-87.

[29] Bashir M A, Wang X K, Naveed M, et al. Biochar mediated - alleviation of chromium stress and growth improvement of different maize cultivars in tannery polluted soils [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2021, 18(9):4461.

[30] Rebbi A E M, Lounici H, Lahrech M B, et al. Response of *Artemisia*

*herba alba* to hexavalent chromium pollution under arid and semi-arid conditions [J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2019, 21(3):224-229.

[31] Berni R, Luyckx M, Xud X, et al. Reactive oxygen species and heavy metal stress in plants: impact on the cell wall and secondary metabolism [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2019, 161:98-106.

[32] 周颖,李燕,陶瑜,等. 不结球白菜抗坏血酸相关基因 *BcMDHAR2* 功能验证 [J]. *南京农业大学学报*, 2021, 44(4):628-636.

[33] Gomes - Junior R A, Moldes C A, Delite F S, et al. Nickel elicits a fast antioxidant response in *Coffea arabica* cells [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2006, 44(5/6):420-429.