

镉胁迫对忍冬抗氧化酶活性及内源激素含量的影响

贾莲^{1,*}, 张冬², 张吉斯¹, 吕琳琳¹, 刁全平¹

(1. 鞍山师范学院 化学与生命科学学院, 辽宁省天然产物活性分子开发及利用重点实验室, 辽宁 鞍山 114007;
2. 北方测盟测试技术(辽宁)有限公司, 沈阳 110042)

摘要: 为研究 Cd 胁迫下忍冬 (*Lonicera japonica* Thunb.) 抗氧化酶活性和内源激素水平的响应变化, 采用土培试验, 设置不同 Cd 处理 (0、2.5、5、10、25、50 和 100 mg/kg), 分析植株生物量、叶片丙二醛 (MDA) 含量、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性以及生长素 (IAA)、赤霉素 (GA₃)、脱落酸 (ABA) 的含量。结果表明: 2.5 mg/kg Cd 处理时地下部生物量增加 20.93%, 超过 25 mg/kg Cd 处理时地下部、地上部生物量均显著下降, 最多降低了 28.78% 和 40.92%。在各 Cd 处理下, 叶片 MDA 含量没有受到显著影响; SOD 和 POD 活性显著增强, CAT 活性先升高后降低, APX 活性没有受到显著影响。叶片 IAA、GA₃ 含量、GA₃/ABA 和 IAA/ABA 先升高后降低; ABA 含量升高, 比对照最多增加 55.88%。相关性分析表明, 忍冬叶片中抗氧化酶 SOD、POD 活性与 GA₃ 含量存在显著负相关性, 与 ABA 含量存在显著正相关性; 而 CAT 活性则与 IAA 和 GA₃ 含量存在显著正相关性, 与 ABA 存在显著负相关性。忍冬对 Cd 的耐受能力很强, 在各 Cd 胁迫处理下没有受到明显的过氧化损伤, 其较强的抗氧化酶活性和大量累积的 ABA 可能是重要保护机制。

关键词: 忍冬; 镉胁迫; 抗氧化酶; 内源激素

中图分类号: X173; Q945.79 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-9250(2024)01-0021-08 **DOI:** 10.14050/j.cnki.1672-9250.2023.051.024

随着采矿、冶金以及其他工业的迅猛发展, 我国土壤中镉 (Cd) 污染日益严重。Cd 在土壤中具有很强的迁移性, 极易被植物吸收、转移和积累, 并通过食物链进入人体, 对人类健康造成威胁^[1]。当植物根系吸收的 Cd 超过其所能承受的阈值时, 就会导致氧化应激、光合系统受损、细胞损伤以及植物信号物质 (激素和钙离子) 失衡等, 从而抑制生长发育甚至死亡^[2-5]。植物对 Cd 的耐受程度、耐受范围表现出差异性, 一般来说具有富集特性的植物与普通植物相比对 Cd 具有更强的耐性, 这主要与植物体内复杂的防御反应机制有关。抗氧化系统是植物受逆境胁迫时抵抗不良影响的重要机制^[6-8], 植物通过体内的抗氧化酶类如超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、过氧化物酶 (POD) 以及抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 等协同作用来清除 Cd 胁迫产生的活性氧自由基, 从而保证植物的正常生长。这些抗氧化酶在抵抗 Cd 导致氧化胁迫中的作用已被大量证实, 在典型超富集植物龙葵^[9]、东南景天^[10]、圆锥南芥^[11]、滇苦菜^[12] 等, 耐性较强的

草本植物如高羊茅^[13]、青葙^[14]、鸡冠花^[15] 等, 以及一些农作物如玉米^[6]、白菜^[8]、水稻^[16] 等都有所报道。但研究发现, 不同敏感性植物的抗氧化酶活性对 Cd 响应差异很大且尚无规律性可循。

此外, 内源激素也是植物在 Cd 胁迫中耐受或易感性的重要内源因子^[17-19]。Cd 胁迫下, 植物内源激素脱落酸 (Abscisic acid, ABA)、生长素 (Auxin, IAA)、赤霉素 (Gibberellin, GA)、细胞分裂素 (Cytokinin, CTK) 以及乙烯 (Ethylene, ET) 的含量和平衡会发生一系列变化, 从而调控其生长发育来应对胁迫环境^[20-21]。有研究显示, Cd 能诱导大麦根系积累 ABA, 提高 ABA 在植物中的分布, 导致气孔关闭抑制蒸腾流, 从而限制 Cd 向地上部枝叶的运输^[18]; 短期轻度 Cd (10 μmol/L) 胁迫诱导大麦根尖中 IAA 含量增加, 随着处理时间延长, IAA 含量降低, IAA 含量的变化参与调控根系生长的重新定向和激活防御反应^[22]。邓金群等^[23] 研究表明超富集植物东南景天 (*Sedum alfredii*) 体内 IAA、GA、玉米素核苷 (Zeatin riboside, ZR) 和 ABA 含量对 Cd 胁迫具有快

收稿日期: 2023-07-22; 改回日期: 2023-09-06

基金项目: 辽宁省自然科学基金资助计划项目 (2019-MS-001); 辽宁省教育厅青年项目 (扶持项目) (jytqnc202103); 鞍山师范学院大学生创新创业项目 (202110169025)。

第一/通讯作者简介: 贾莲 (1984-), 女, 博士, 副教授, 主要从事植物逆境生理生态学研究。email: jl_58@163.com.

速响应的特征,其中 IAA 和 GA 对耐受和积累 Cd 有重要作用。Yan 等^[24]研究发现,Cd 胁迫下甘蓝型油菜 (*Brassica napus* L.) 叶片中 ABA 含量升高,ZR 含量降低,使 ABA/ZR 增加,其抗 Cd 能力与激素水平及其平衡有关。植物体的生命代谢是多种内在因素共同协作的结果,在受到逆境胁迫时,植物体内酶和激素都会发生变化,产生防御胁迫的适应能力。研究 Cd 胁迫下植物体内抗氧化酶活性以及内源激素水平的变化,对了解植物耐性机理具有非常重要的意义。

忍冬 (*Lonicera japonica* Thunb.), 又名金银花,忍冬科忍冬属半常绿缠绕藤本植物,具有生物量大、生长快、根系发达、适应性强、对土壤要求不严格等特点,是一种优良的垂直绿化植物^[25]。刘周莉等^[26]研究发现忍冬对 Cd 具有较强的耐性和超富集能力,且由于其生长快、生物量高,可以弥补现有超富集植物生物量低、生长缓慢等缺陷,可作为应用于城市 Cd 污染土壤植物修复的优势绿化植物。目前,关于 Cd 胁迫下超富集植物忍冬的抗氧化酶活性变化的研究较少,且研究表明不同超富集植物的抗氧化防御系统对 Cd 的响应差异很大。内源激素在调节植物应对 Cd 胁迫中具有重要的作用,但 Cd 胁迫下忍冬体内激素含量的变化也未见报道。本研究以超富集植物忍冬为材料,研究 Cd 胁迫下叶片抗氧化酶活性与内源激素含量的变化特点,并分析其相关性,以期为进一步了解超富集植物对土壤 Cd 污染忍耐和富集机制提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

植物材料为忍冬 (*Lonicera japonica* Thunb.) 两年生植株,购自山东省临沂市平邑县,在鞍山师范学院化学与生命科学学院育苗室进行预培养。培养条件为恒温 25 °C,每天进行 14 h 光照和 10 h 黑暗处理。

1.2 方法

1.2.1 Cd 胁迫处理方法

供试土壤采自鞍山师范学院内园圃 0~20 cm 的表层土,土壤类型为棕壤,基本理化性质为:pH 7.0,有机质含量为 18.56 g/kg,硝态氮含量为 1.44 mg/kg,有效磷含量为 140.3 mg/kg,有效钾含量为 82.13 mg/kg,全 Cd 含量为 0.85 mg/kg。试验共设定 7 个处理,每个处理 3 次重复(每盆 3 株植物作为

一次重复),所设定的添加 Cd²⁺ 浓度梯度为:0(对照 CK)、2.5、5、10、25、50 和 100 mg/kg。土壤经自然风干后,过 4 mm 筛,分装在直径为 20.0 cm、深为 15 cm 的塑料花盆中,每盆装土 3.0 kg。污染物以 CdCl₂·2.5H₂O 配成对应浓度的溶液,一次性添加到土壤中,充分混匀,并用去离子水调节土壤湿度至田间持水量(WHC)的 70%。待土壤平衡 4 周后,选取经过预培养 4 周的生长健壮、长势一致的忍冬幼苗,修剪成株高为 23~25 cm,保留 2~3 条分枝移栽至盆中,每盆 3 株。经 Cd 处理 60 d 后,收获植物材料进行相关指标测定。

1.2.2 生物量测定

将植株从土壤中取出,自来水冲洗干净后,吸水纸吸干其表面水分,将根系与地上部分分开,每株幼苗选取从顶到根部的第 3~4 片完全展开的功能叶,用锡箔纸包裹液氮冷冻后,-80 °C 冰箱保存,供酶活性、内源激素含量等指标的测定,其余部分放入烘箱,105 °C 杀青 30 min,80 °C 烘至恒重,称量其生物量。

1.2.3 抗氧化酶活性及丙二醛(MDA)含量测定

粗酶液提取参考邹琦^[27]的方法并稍作修改。称取叶片 0.2 g 于研钵中,液氮研磨成粉末状,加入预冷的 50 mmol/L, pH 7.8 的磷酸缓冲液(内含 0.1 mmol/L EDTA 和 1% 聚乙烯吡咯烷酮),加入少量石英砂,在冰浴中研磨成匀浆,定容到 5 mL 离心管中,于 13 000×g 低温离心 30 min,上清液备用分析。SOD 活性采用氮蓝四唑(NBT)光化还原法测定,以抑制 NBT 还原的 50% 为一个酶活力单位(U);CAT 活性采用过氧化氢还原法测定,以每分钟内吸光值减少 0.01 为一个酶活力单位(U);POD 活性采用愈创木酚法测定,以每分钟内吸光值变化 0.01 为一个酶活力单位(U);APX 活性测定参照 Krivosheeva 等^[28]的方法测定,计算单位时间抗化血酸(ASA)减少量即 APX 活性;采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定 MDA 含量。

1.2.4 内源激素含量测定

内源激素提取参考 Hou 等^[29]的方法。称取植物叶片 1 g(精确到 0.1 mg),液氮研磨成粉末状,加入预冷的 80% 甲醇(20 mL)低温弱光下研磨成匀浆,保鲜膜密封,置 4 °C 冰箱中过夜浸提(12 h 以上,避光)。提取液低温离心(20 min,5 000 r/min)后,收集上清液至 150 mL 旋蒸瓶中,加 10 mL 80% 甲醇润洗离心管,残渣再次浸提后离心,合并上清

液,40 ℃减压蒸发至没有甲醇残留(大概浓缩至原体积 1/3),剩余水相完全转移到 50 mL 试管中,用等体积石油醚萃取脱色 3 次,弃去醚层后,加入 0.1 g 聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)吸附酚类物质,常温下摇床振荡 30 min,过滤弃去 PVPP,滤液用 2 mol/L 柠檬酸调节至 pH = 3,再用等体积乙酸乙酯萃取 3 次,合并酯相到旋蒸瓶中,于 40 ℃减压浓缩至干,用 2 mL 80% 的甲醇冲洗蒸发瓶 3 次,溶解液过 Sep-Pak18 小柱纯化,甲醇洗脱后减压蒸干,用 50% 甲醇溶解定容至 2 mL,经 0.22 μm 超微有机滤膜过滤,滤液备用分析。

采用 Waters Alliance 2695 高效液相色谱仪进样测定 IAA、GA₃ 和 ABA 含量,色谱柱为 C18 反相柱(4.6 mm,250 mm,5 μm,Waters),流动相为甲醇:1%乙酸(45:55),流速为 1 mL/min,UV 254 nm 紫外检测;外标法定量,内源激素的标准品购于 Sigma 公司,根据内源激素标准曲线换算忍冬叶片内源激素含量,每个处理重复测定 3 次。

1.3 数据处理和分析

采用 Excel 2007 进行数据处理并作图,SPSS 19.0 统计软件进行方差分析,不同处理之间的差异显著性用 Duncan's 法进行比较;采用 Pearson 相关性检验分析相关性。

2 结果与分析

2.1 镉胁迫对忍冬植株生物量的影响

由表 1 可知,随着 Cd 处理浓度升高,忍冬植株地下部和地上部生物量均呈现先增加后降低的趋势,尤其是在 2.5 mg/kg Cd 处理浓度时地下部生物量比对照显著增加了 20.93% ($P < 0.05$),表明低浓度 Cd 处理对植株生长产生一定程度的刺激效应。Cd 处理浓度在 5 和 10 mg/kg 时,Cd 对忍冬地上部和地下部生物量均没有产生显著的影响 ($P > 0.05$);

当 Cd 浓度超过 25 mg/kg 时,地下部和地上部生物量显著降低 ($P < 0.05$),最多降低了 28.78% 和 40.92%,表明高浓度 Cd 胁迫对忍冬植株生长产生了明显的抑制效应。从整个培养周期来看,高浓度 Cd (>25 mg/kg) 处理下,忍冬全株生物量下降,但未出现叶片变黄、坏死的现象,仍能维持生长。

表 1 镉胁迫对忍冬幼苗生物量的影响

Table 1 Effects of Cd stress on the biomass of *L. japonica* seedlings

Cd 浓度/ (mg/kg)	生物量/g		与对照相比/%	
	地下部	地上部	地下部	地上部
0	31.24±0.99b	35.17±0.04a	-	-
2.5	37.78±2.12a	36.42±2.57a	120.93	103.55
5	29.85±0.77b	34.50±3.78a	95.53	98.09
10	28.51±1.41b	36.52±2.208a	91.26	103.84
25	25.34±1.24c	27.59±0.89b	81.11	78.45
50	22.25±1.48d	28.36±2.99b	71.22	80.63
100	24.77±0.72c	20.67±0.58c	79.29	59.08

注:同列不同小写字母表示不同处理下生物量间的差异显著性 ($P < 0.05$),下同;与对照相比,表示相应处理生物量与对照处理的百分比。

2.2 镉胁迫对忍冬叶片抗氧化系统的影响

由表 2 可知,随着 Cd 处理浓度增加,忍冬叶片中 SOD 活性均显著高于对照,在 Cd 添加量为 100 mg/kg 时活性最高,比对照增加了 164.00%;POD 活性在 Cd 添加量为 50 和 100 mg/kg 时显著高于对照,其余处理与对照相比差异不显著 ($P > 0.05$);CAT 活性呈先升后降趋势,在 2.5 和 5 mg/kg Cd 处理时显著高于对照 ($P < 0.05$),在 50 和 100 mg/kg Cd 处理时显著降低 ($P < 0.05$);APX 活性在各处理间差异均不显著 ($P > 0.05$)。在各 Cd 处理浓度下,忍冬叶片中 MDA 含量与对照相比均没有显著差异 ($P > 0.05$),表明忍冬植株没有受到明显的过氧化损伤。

表 2 镉胁迫对忍冬叶片中抗氧化酶活性及 MDA 含量的影响

Table 2 Effects of Cd stress on antioxidant enzyme activities and the content of MDA in the leaves of *L. japonica*

Cd 浓度/(mg/kg)	SOD/(U/g)	POD/(U/(g·min))	CAT/(U/(g·min))	APX/(μmol/(g·min))	MDA/(nmol/g)
0	268.57±14.10e	38.63±1.59d	22.36±2.77c	19.64±5.89ab	8.54±0.39ab
2.5	396.07±18.76d	40.38±3.00d	39.53±1.92a	23.21±6.27a	8.89±1.00ab
5	346.94±27.93d	38.5±1.06d	34.02±1.83b	18.57±1.64ab	8.24±1.02ab
10	433.37±31.06c	39.13±1.24d	23.54±0.10c	15.36±0.62b	8.79±1.13ab
25	616.14±14.44b	50.63±0.53c	26.34±1.09c	16.79±3.44ab	8.70±0.82ab
50	608.31±20.84b	92.25±1.06a	17.18±0.85d	16.43±2.70ab	10.07±0.48a
100	709.02±9.44a	80.88±3.36b	16.47±1.70d	17.5±3.45ab	7.57±0.75b

2.3 镉胁迫对忍冬叶片内源激素含量影响

如图1所示,随Cd处理浓度增加,忍冬叶片中 GA_3 和IAA含量均呈现先升高后降低趋势,当Cd添加量为2.5 mg/kg时, GA_3 和IAA含量达到最大值($P < 0.05$),分别比对照组增加了25.14%和51.95%;当Cd添加量为50和100 mg/kg时,IAA含量显著低于对照($P < 0.05$),降低了12.33%和24.12%;当Cd添加量为25、50和100 mg/kg时, GA_3 含量比对照组显著降低了29.58%、35.01%和34.30%。由此可见,不同浓度Cd处理对忍冬叶片中的生长促进型激素表现出了低浓度下的刺激效应和高浓度下的抑制效应。而忍冬叶片中ABA含量随着Cd处理浓度增加呈现逐渐升高的趋势,当Cd浓度超过10 mg/kg时,ABA含量显著升高($P < 0.05$),达到最大值时比对照增加了55.88%,表明中高浓度Cd处理对忍冬植株的生长发育产生了一定的毒性效应。

2.4 镉胁迫对忍冬叶片内源激素比值的影响

如图2所示,随着Cd处理浓度增加, GA_3/ABA 和 IAA/ABA 的值均呈现先上升后下降的趋势,当Cd添加量为2.5 mg/kg时, GA_3/ABA 和 IAA/ABA 显著高于对照($P < 0.05$),比值分别为1.49和0.11,比对照增加了33.84%和62.04%,表明低浓度Cd胁迫的刺激效应使植株调节自身保护机制, GA_3 和IAA含量显著增加,此时ABA的合成略有下降,体内激素水平有利于其生长,这与植株的生长发育状况一致。当Cd添加量为10~100 mg/kg时, GA_3/ABA 的值急剧下降,比值分别为0.731、0.678、0.475和0.509,与对照相比降低34.48%~57.47%;当Cd添加量为10、50和100 mg/kg时,IAA/ABA比值分别为0.042、0.038和0.034,与对照相比下降35.52%~48.17%,表明高浓度Cd胁迫下 GA_3 和IAA含量急剧降低,且ABA含量积累速度快,对忍冬植株的生长产生了胁迫效应,生理上已有较明显的抵抗性反应。

2.5 镉胁迫下忍冬叶片抗氧化酶活性与内源激素含量相关性分析

由表3可知,Cd胁迫下,忍冬叶片中SOD活性与POD活性呈极显著正相关($P < 0.01$),与ABA含量呈显著正相关($P < 0.05$);SOD活性与CAT活性呈显著负相关($P < 0.05$),与 GA_3 含量呈极显著负相关($P < 0.01$)。POD活性与ABA含量呈极显著正相关($P < 0.01$),与CAT活性和 GA_3 含量呈极显著

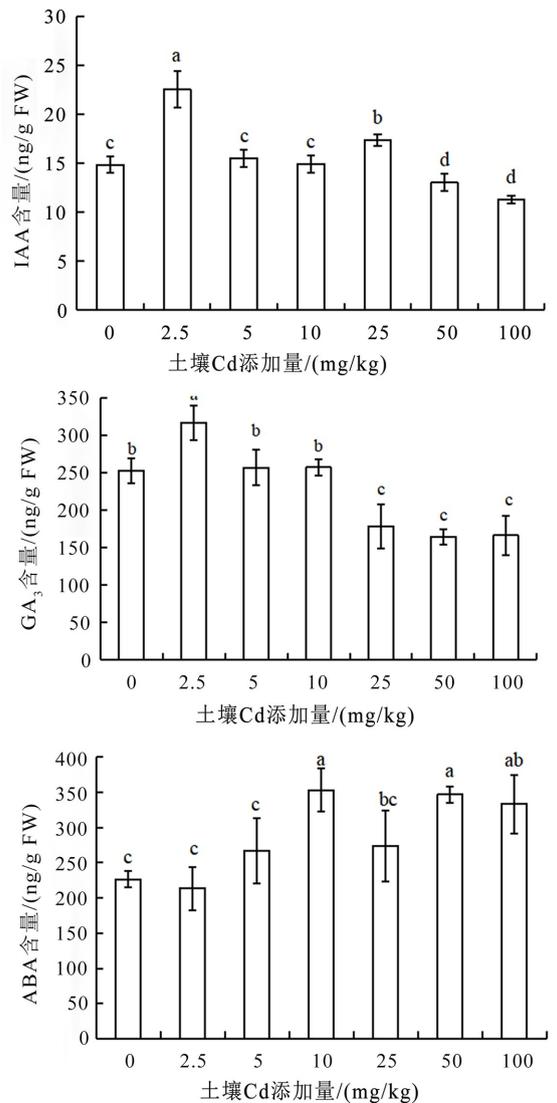


图1 镉胁迫对忍冬叶片中内源激素含量的影响
Fig. 1 Effects of Cd stress on endogenous hormones content in the leaves of *L. japonica*

负相关($P < 0.01$),与IAA含量呈显著负相关($P < 0.05$)。CAT活性与APX活性呈显著正相关($P < 0.05$),与IAA含量和 GA_3 含量均呈极显著正相关($P < 0.01$),与ABA含量呈极显著负相关($P < 0.01$)。APX活性与IAA、 GA_3 和ABA含量均无显著相关性。IAA和 GA_3 含量呈极显著正相关($P < 0.01$),且均与ABA含量呈显著负相关($P < 0.05$)。综上,忍冬叶片中抗氧化酶SOD或POD活性与促进生长型内源激素 GA_3 含量存在显著负相关关系,与抑制生长型激素ABA含量存在显著正相关关系;而CAT活性则与IAA和 GA_3 含量存在显著正相关关系,与ABA存在显著负相关关系。

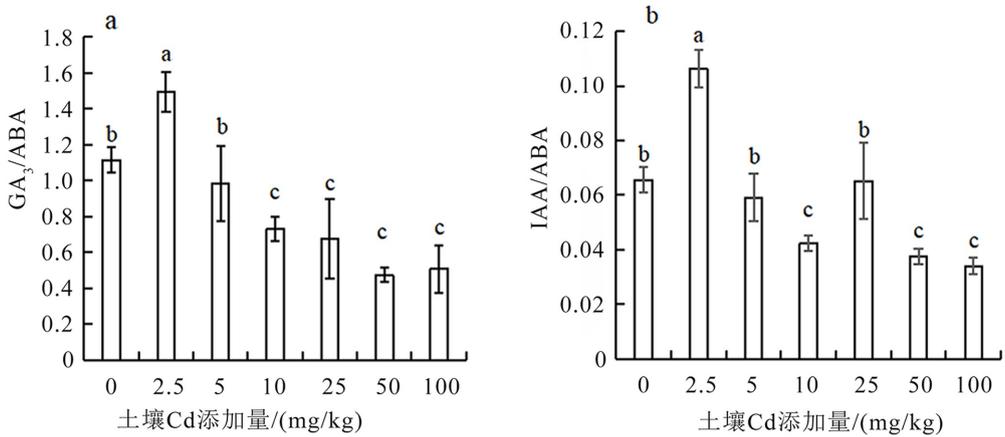


图 2 镉胁迫对忍冬叶片中内源激素比值的影响

Fig. 2 Effects of Cd stress on the ratio of endogenous hormones in the leaves of *L. japonica*

表 3 镉胁迫下忍冬叶片抗氧化酶活性与内源激素含量相关性分析

Table 3 Correlation analysis between antioxidant enzyme activity and endogenous hormones in the leaves of *L. japonica*

指标	SOD	POD	CAT	APX	IAA	GA ₃	ABA
SOD	1.000						
POD	0.811**						
CAT	-0.541*	-0.724**					
APX	-0.291	-0.421	0.616*				
IAA	-0.405	-0.523*	0.873**	0.440			
GA ₃	-0.785**	-0.750**	0.822**	0.414	0.718**		
ABA	0.547*	0.709**	-0.700**	-0.454	-0.571*	-0.580*	1.000

注:表中数字为 Pearson 相关系数,* 表示在 $P < 0.05$ 水平上显著相关,**表示在 $P < 0.01$ 水平上显著相关。

3 讨论

重金属 Cd 是土壤环境中生物毒性最强的污染元素之一,极易被植物吸收,但并不是植物生长所必需的元素。研究表明,Cd 对植物的生长表现出低浓度促进、高浓度抑制的双相剂量效应^[13,26]。本实验结果表明,随着 Cd 添加量的增加,忍冬植株生物量先升高后降低,这与许多超富集植物的变化规律相似^[11,30]。低浓度 Cd 对植物生长表现出一定程度的刺激效应,但产生刺激效应的剂量浓度存在差异。本实验条件下添加 2.5 mg/kg Cd 显著的促进了忍冬生物量的积累,低于 10 mg/kg Cd 处理下忍冬生物量没有受到抑制,高于 25 mg/kg Cd 时,生物量随 Cd 添加量的升高而下降,说明忍冬对中低浓度 Cd (<10 mg/kg) 的耐性很强,具备应用于中低浓度 Cd 污染土壤修复的优势。

Cd 毒害的重要机制之一是诱导植物生成大量的活性氧,活性氧的过量积累导致膜脂过氧化,严重时则会造成植物细胞的大量死亡^[4]。MDA 是膜脂质过氧化的最终产物,可反映脂质过氧化和细胞

膜损伤程度^[31]。本研究发现,各 Cd 胁迫处理对忍冬叶片中 MDA 含量没有显著影响,表明 Cd 胁迫没有导致忍冬受到明显的过氧化损伤,其保持膜稳定性的能力较强。这与 Kahli 等^[32]对滨藜属植物(*Atriplex* L.)响应 Cd 胁迫的研究结果一致,该研究认为植物能够通过激活抗氧化防御机制来中和产生的过量活性氧,从而恢复细胞的稳态。当植物受到重金属胁迫时,植物细胞可以通过刺激抗氧化防御系统中的抗氧化酶活性来抵御氧化损伤,因此抗氧化酶活性的高低可在一定程度上反映植物对重金属的耐受能力。SOD 在植物体内是清除活性氧的第一道防线,能将植物细胞中的氧自由基转变为氧化作用相对较弱的 H₂O₂; POD 和 CAT 进一步将 H₂O₂ 转化成 H₂O 和 O₂^[21,33]。在本研究中,随着 Cd 处理浓度增加,忍冬叶片中 SOD 和 POD 活性显著升高,尤其在高浓度 Cd (50 和 100 mg/kg) 处理下其活性比对照组高出 2 倍以上,表明这两种酶在各 Cd 胁迫处理下同时起作用来去除活性氧,SOD 和 POD 活性的增加意味着积累的活性氧不足以引起毒性效应,保证了忍冬对 Cd 的强耐受性。这与超富集植物滇苦菜对 Cd 胁迫的响应结果一致^[12]。Shao

等^[33]的研究表明,耐 Cd 性强的植物体内抗氧化酶活性显著提高,而 MDA 含量均较低。本研究中, CAT 活性在低浓度 Cd 处理($<5\text{ mg/kg}$)时升高,高浓度 Cd 处理(50 和 100 mg/kg)时均低于对照,表现出了明显的“低促高抑”剂量效应,而 APX 活性在各处理间差异均不显著,这可能与其在清除活性氧自由基中的作用不同有关。

内源激素是植物生长发育的重要调节物质,在受到重金属胁迫时,植物可通过改变内源激素水平来调控适应逆境胁迫时的重要生理过程^[17,34]。IAA 和 GA_3 是调控植物生长发育的促进型内源激素, Cd 胁迫下植物生长受到抑制可能与促进生长型内源激素 IAA 和 GA_3 含量减少、激素平衡失调有关^[22,35]。本研究发现,高浓度 Cd 处理($>25\text{ mg/kg}$)时,忍冬叶片中 IAA 和 GA_3 含量显著下降,这可能是 Cd 胁迫使 IAA 和 GA_3 合成途径遭到破坏所致,此时植株生物量也显著低于对照,表明高浓度 Cd 胁迫下忍冬可能通过降低生长来适应胁迫。低浓度 Cd 处理(2.5 mg/kg)时,忍冬叶片中 IAA 和 GA_3 含量显著增加,此时植株生物量受到了明显的刺激,表明忍冬在低浓度 Cd(2.5 mg/kg)胁迫下可能通过提高 IAA 和 GA_3 含量刺激植株的生长。ABA 作为一种胁迫激素,其生理作用主要是抑制生长、促进气孔关闭,从而调节植物对环境胁迫的适应^[36]。在本研究中,随着 Cd 处理浓度增加,忍冬叶片中 ABA 含量逐渐升高,尤其是中高浓度 Cd 处理($>10\text{ mg/kg}$)时,ABA 含量均显著高于对照,此时主要以抑制生长和提高抗性为主,植株生物量显著降低。Cd 胁迫下植株体内 ABA 的大量积累,可以诱导抗性基因的转录、调节气孔关闭保持水分平衡,从而减少根对 Cd 的直接吸收,降低组织中 Cd 的浓度,限制潜在的 Cd 毒性^[37-38]。

在逆境胁迫条件下,施加植物激素能够增加抗氧化酶活性、改变内源激素含量,从而来维持植物的正常生长发育^[39]。有研究发现,外源 GA_3 浸泡处理可以显著提高盐胁迫下植物种子萌发期的 SOD、POD 和 CAT 活性^[40]。本研究中相关性分析表明,叶片中内源激素 GA_3 含量与抗氧化酶 CAT 活性呈极显著正相关,低浓度 Cd 处理(2.5 mg/kg)诱导了忍冬叶片中 GA_3 含量的显著增加,由此推测低浓度 Cd 胁迫下忍冬叶片中 GA_3 含量的增加刺激了 CAT 活性,从而提高植株对 Cd 胁迫的适应性。Cd 胁迫下 ABA 可以提高植物体内抗氧化酶基因的表达,增

加抗氧化酶活性,从而增强清除活性氧的能力^[41]。本研究中,忍冬叶片中内源激素 ABA 含量与抗氧化酶 SOD、POD 活性呈显著正相关,这也是高浓度 Cd 胁迫下忍冬叶片抗氧化酶 SOD 和 POD 活性升高的重要原因。

此外,植物在受到 Cd 胁迫时,内源激素平衡被打破,IAA、 GA_3 和 ABA 的比值更能反映胁迫条件下植物的响应策略^[24]。本研究中,随着 Cd 处理浓度增加,忍冬叶片的 GA_3/ABA 和 IAA/ABA 呈现先升高后降低趋势,尤其是在低浓度 Cd 处理(2.5 mg/kg)时,其比值显著高于对照,说明忍冬在低浓度 Cd 胁迫下通过调控激素平衡来刺激或维持一定量的地上地下生长及细胞分裂;中高浓度 Cd 处理($>10\text{ mg/kg}$)时, GA_3/ABA 和 IAA/ABA 显著低于对照,此时植物调节自身分泌更多的 ABA 来增强抗逆性,减慢细胞分裂速度,抑制生长发育来尽可能抵御 Cd 毒害。

4 结论

1) Cd 胁迫对忍冬生物量产生“低浓度刺激、高浓度抑制”的效应, 2.5 mg/kg Cd 处理时,忍冬植株地下部生物量显著增加,高于 25 mg/kg Cd 时地下部和地上部生物量均显著降低。忍冬对中低浓度 Cd($<10\text{ mg/kg}$)的耐性很强,具备应用于中低浓度 Cd 污染土壤修复的优势。

2) 在各 Cd 胁迫处理下,忍冬叶片中 MDA 含量没有受到显著影响;随 Cd 处理浓度增加,叶片 SOD 和 POD 活性增强, CAT 活性先升高后下降, APX 活性在各处理间差异均不显著;结果表明 Cd 胁迫下,忍冬没有受到明显过氧化损伤,其保持膜稳定性的能力较强。

3) 低浓度 Cd 胁迫下,忍冬叶片中 CAT 活性、 GA_3 和 IAA 含量增加, GA_3/ABA 和 IAA/ABA 升高,进而刺激了植株生物量的增加;高浓度 Cd 胁迫下, IAA 和 GA_3 含量降低, ABA 含量增加, SOD 和 POD 活性增加,抑制生长应对逆境。

4) 不同抗氧化酶与内源激素间存在着直接或间接的相关作用,随着 Cd 胁迫处理浓度增加,超富集植物忍冬体内保持着较强的抗氧化酶活性,同时在叶片中大量累积参与抗逆作用的 ABA 来调节植物对 Cd 的耐受性,这些措施可能是超富集植物忍冬抵御 Cd 胁迫的重要保护机制。

参 考 文 献

- [1] 赖秋羽, 魏树和, 代惠萍, 等. 番茄光合荧光特性及其镉吸收对土壤镉污染的响应[J]. 中国环境科学, 2019, 39(11): 4737-4742.
- [2] Andresen E, Kappel S, Stärk H J, et al. Cadmium toxicity investigated at the physiological and biophysical levels under environmentally relevant conditions using the aquatic model plant *Ceratophyllum demersum*[J]. The New Phytologist, 2016, 210(4): 1244-1258.
- [3] Chu J J, Zhu F, Chen X Y, et al. Effects of cadmium on photosynthesis of *Schima superba* young plant detected by chlorophyll fluorescence[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2018, 25(11): 10679-10687.
- [4] 张星雨, 叶志彪, 张余洋. 植物响应镉胁迫的生理与分子机制研究进展[J]. 植物生理学报, 2021, 57(7): 1437-1450.
- [5] 安婷婷, 黄帝, 王浩, 等. 植物响应镉胁迫的生理生化机制研究进展[J]. 植物学报, 2021, 56(3): 347-362.
- [6] 曹樱迪. 镉对玉米富友9和沈玉33萌发期生理代谢特征的影响[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2020.
- [7] Li Z, Han X J, Song X X, et al. Overexpressing the *sedum alfredii* Cu/Zn superoxide dismutase increased resistance to oxidative stress in transgenic Arabidopsis[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 1010.
- [8] 张思佳. Cd胁迫对高、低镉积累白菜生理生化特性及关键基因表达的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2021.
- [9] Xu J, Zhu Y Y, Ge Q, et al. Comparative physiological responses of *Solanum nigrum* and *Solanum torvum* to cadmium stress[J]. New Phytologist, 2012, 196(1): 125-138.
- [10] Jin X F, Yang X E, Islam E, et al. Effects of cadmium on ultrastructure and antioxidative defense system in hyperaccumulator and non-hyperaccumulator ecotypes of *Sedum alfredii* Hance[J]. Journal of Hazardous Materials, 2008, 156(1/2/3): 387-397.
- [11] 于方明, 汤叶涛, 仇荣亮, 等. Cd胁迫下超富集植物圆锥南芥抗氧化机理[J]. 环境科学学报, 2010, 30(2): 409-414.
- [12] 汤叶涛, 关丽捷, 仇荣亮, 等. 镉对超富集植物滇苦菜抗氧化系统的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(2): 324-332.
- [13] 凌宇, 龙江宇, 项远航, 等. 镉胁迫对高羊茅和匍匐剪颖抗逆生理特性的影响[J]. 植物科学学报, 2022, 40(5): 705-713.
- [14] 胡佳瑶, 王悟敏, 匡雪韶, 等. 镉胁迫下青葙种子萌发及幼苗生理特性[J]. 草业科学, 2022, 39(7): 1391-1398.
- [15] 查应琴. 镉胁迫下鸡冠花生理生化响应及镉富集规律的初探[D]. 贵阳: 贵州大学, 2021.
- [16] 邵国胜, MUHAMMAD Jaffar Hassan, 章秀福, 等. 镉胁迫对不同水稻基因型植株生长和抗氧化酶系统的影响[J]. 中国水稻科学, 2004, 18(3): 239-244.
- [17] Guo J J, Qin S Y, Rengel Z, et al. Cadmium stress increases antioxidant enzyme activities and decreases endogenous hormone concentrations more in Cd-tolerant than Cd-sensitive wheat varieties[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 172: 380-387.
- [18] Bucker-Neto L, Paiva A L S, Machado R D, et al. Interactions between plant hormones and heavy metals responses[J]. Genetics and Molecular Biology, 2017, 40(1 suppl 1): 373-386.
- [19] Pan C L, Lu H L, Liu J C, et al. SODs involved in the hormone mediated regulation of H₂O₂ content in *Kandelia obovata* root tissues under cadmium stress[J]. Environmental Pollution, 2020, 256: 113272.
- [20] El Rasafi T, Oukarroum A, Haddioui A, et al. Cadmium stress in plants: a critical review of the effects, mechanisms, and tolerance strategies [J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2022, 52(5): 675-726.
- [21] 袁祖丽, 吴中红. 镉胁迫对烟草根抗氧化能力和激素含量的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(15): 4109-4118.
- [22] Demecsova L, Zelinova V, Liptakova L, et al. Mild cadmium stress induces auxin synthesis and accumulation, while severe cadmium stress causes its rapid depletion in barley root tip[J]. Environmental and Experimental Botany, 2020, 175: 104038.
- [23] 邓金群. 锌或镉胁迫对东南景天(*Sedum alfredii*)光合作用及内源激素水平的影响[D]. 南宁: 广西大学, 2013.
- [24] Yan H, Filardo F, Hu X T, et al. Cadmium stress alters the redox reaction and hormone balance in oilseed rape (*Brassica napus* L.) leaves[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(4): 3758-3769.
- [25] 邱漫莉. 外源脯氨酸对镉胁迫下金银花生理特征的影响[D]. 沈阳: 辽宁大学, 2021.
- [26] 刘周莉, 何兴元, 陈玮. 忍冬——一种新发现的镉超富集植物[J]. 生态环境学报, 2013, 22(4): 666-670.
- [27] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [28] Krivosheeva A, Tao D L, Ottander C, et al. Cold acclimation and photoinhibition of photosynthesis in Scots pine[J]. Planta, 1996, 200(3): 296-305.
- [29] Hou S J, Zhu J, Ding M Y, et al. Simultaneous determination of gibberellic acid, indole-3-acetic acid and abscisic acid in wheat extracts by solid-phase extraction and liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry[J]. Talanta, 2008, 76(4): 798-802.
- [30] Qiu R L, Zhao X, Tang Y T, et al. Antioxidative response to Cd in a newly discovered cadmium hyperaccumulator, *Arabis paniculata* F[J]. Chemosphere, 2008, 74(1): 6-12.
- [31] Zhou C R, Ma Q, Li S L, et al. Toxicological effects of single and joint sulfamethazine and cadmium stress in soil on pakchoi (*Brassica chinensis* L.) [J]. Chemosphere, 2021, 263: 128296.
- [32] Kahli H, Sbartaï H, Cohen-Bouhacina T, et al. Characterization of cadmium accumulation and phytoextraction in three species of the genus *Atriplex* (*canescens*, *halimus* and *nummularia*) in the presence or absence of salt[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2021, 166: 902-911.

- [33] Shao G S, Hassan M J, Zhang X F, et al. Effects of cadmium stress on plant growth and antioxidative enzyme system in different rice genotypes [J]. Chinese Journal of Rice Science, 2004, 18: 239-244.
- [34] 王美宁, 蒯伟虎, 马碧花, 等. Zn 和 Cd 处理下内生真菌对中华羊茅生长及内源激素的影响[J]. 草业科学, 2019, 36(9): 2250-2258.
- [35] Hu Y F, Zhou G Y, Na X F, et al. Cadmium interferes with maintenance of auxin homeostasis in *Arabidopsis* seedlings[J]. Journal of Plant Physiology, 2013, 170(11): 965-975.
- [36] 张一龙, 喻启坤, 李雯, 等. 不同抗旱性狗牙根地上地下表型特征及内源激素对干旱胁迫的响应[J]. 草业学报, 2023, 32(3): 163-178.
- [37] Hashem H A. Cadmium toxicity induces lipid peroxidation and alters cytokinin content and antioxidant enzyme activities in soybean[J]. Botany, 2014, 92(1): 1-7.
- [38] Sharma S S, Kumar V. Responses of wild type and abscisic acid mutants of *Arabidopsis thaliana* to cadmium[J]. Journal of Plant Physiology, 2002, 159(12): 1323-1327.
- [39] 魏晓琼, 贾文飞, 李林宇, 等. 不同时期喷施 6-BA 对越橘叶片生理特性及内源激素质量分数的影响[J]. 东北林业大学学报, 2023, 51(3): 31-35, 53.
- [40] 王伟杰, 管仁伟, 路俊仙, 等. GA3 浸种对盐胁迫下黄芩种子萌发抗氧化酶及内源激素的影响[J]. 中药材, 2022, 45(2): 288-292.
- [41] 陈仕森. 外施 ABA 对 Cd 处理下东南景天内源激素代谢的影响[D]. 南宁: 广西大学, 2019.

Effect of Cadmium Stress on Antioxidant Enzyme Activity and Endogenous Hormones Content in *Lonicera japonica* Thunb.

JIA Lian¹, ZHANG Dong², ZHANG Jisi¹, LV Linlin¹, DIAO Quanping¹

(1. College of Chemistry and Life Science, Anshan Normal University, Liaoning Key Laboratory of Development and Utilization for Natural Products Active Molecules, Anshan Liaoning 114007, China;

2. North CMA Technology Co., Ltd., Shenyang 110042, China)

Abstract: In order to study the response change of *Lonicera japonica* Thunb. to cadmium (Cd) stress antioxidant enzyme activity and endogenous hormone levels, the plant biomass, malondialdehyde (MDA) content, the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT), ascorbic acid peroxidase (APX), and the content of auxin (IAA), gibberellin (GA₃), abscisic acid (ABA) in leaves was analyzed by pot experiments with various Cd concentrations (0, 2.5, 5, 10, 25, 50 and 100 mg/kg). The results showed that the underground biomass increased by 20.93% at low concentrations of 2.5 mg/kg Cd treatment, while above 25 mg/kg Cd, both underground and above-ground biomass significantly decreased, with a maximum reduction of 28.78% and 40.92%. With increasing Cd treatment concentrations, the MDA content in leaves was not significantly affected, while the activities of SOD and POD were significantly enhanced, CAT activity first increased and then decreased, APX activity was not significantly affected. The content of IAA, GA₃, GA₃/ABA and IAA/ABA in leaves were firstly increased and then decreased. The ABA content increased by 55.88% compared with the control. Correlation analysis showed that the activities of SOD and POD were negatively correlated with GA₃ content, but positively correlated with ABA. The activities of CAT and APX were positively correlated with IAA and GA₃ content, but negatively correlated with ABA. Taken together, the results indicated that *L. japonica* had a strong tolerance to Cd, and the plant had not suffered significant oxidative damage under different level of Cd stress. Its strong antioxidant enzyme activity and a large amount of accumulated ABA may be important protective mechanisms.

Key words: *Lonicera japonica* Thunb.; Cd stress; antioxidant enzymes; endogenous hormones