

镉胁迫下朱砂根和虎舌红生理响应及其镉抗性

张建新¹, 郇枫^{2,3}, 马丽^{2,3}, 张晓晓^{2,3},

吴玉环^{4,5}, 杨云峰¹, 徐根娣^{2,3}, 刘鹏^{2,3}

(1. 丽水职业技术学院, 浙江 丽水 323000; 2. 浙江师范大学生态学研究, 浙江 金华 321004; 3. 浙江师范大学植物学实验室, 浙江 金华 321004; 4. 杭州师范大学生命与环境科学学院, 杭州 310036; 5. 中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110016)

摘要: 为阐明紫金牛属植物在镉胁迫下的生理响应, 比较 2 种紫金牛属植物抗逆性强弱, 通过水培试验, 研究了不同浓度镉(0, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 mol/L)对 2 a 生扦插苗虎舌红和朱砂根株高、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性、脯氨酸(Pro)、叶片丙二醛(MDA)含量、光合特性及荧光特性等生理指标的影响。结果表明: (1) 镉胁迫处理后, 朱砂根和虎舌红的株高、SOD、POD 以及 CAT 活性均有不同程度的上升, 但随着处理时间的延长, 株高以及抗氧化酶活性均显著降低; (2) 低浓度镉(≤ 0.025 mol/L)在处理时间 ≥ 20 d 时, 可明显诱导 2 种植物 Pro 的积累, 其中虎舌红增幅显著, 达 149.21%; (3) 在处理时间 ≥ 20 d 时 MDA 含量增加, 最高上升 169.07% 和 122.70%; (4) 低浓度镉(≤ 0.025 mol/L)处理下虎舌红光合电子转移效率(ETR)上升较为明显, qP 则无显著变化, 高浓度 Cd(≥ 0.2 mol/L)处理后虎舌红 ETR 显著降低, qP 也大幅下降。朱砂根的 ETR 荧光参数在处理前期就呈现下降趋势, 且后期下降幅度增大。综合分析认为, 较低浓度镉处理下朱砂根和虎舌红均可经过提升各种抗氧化酶活性的措施来抵御逆境, 而高浓度镉则会对植物抗氧化酶系统、光合系统等造成损害。通过比较虎舌红与朱砂根抗镉性强弱, 发现前者抗逆性更强, 在较高的镉浓度环境中具有较为突出的种植优势。

关键词: 镉处理; 朱砂根; 虎舌红; 抗氧化酶; 抗逆性

中图分类号: Q945.78

文献标识码: A

文章编号: 1009-2242(2017)05-0321-07

DOI: 10.13870/j.cnki.stbcbx.2017.05.050

Physiological Responses and Resistances of *Ardisia crenata* and

A. mamillata to the Treatments of Cadmium Stress

ZHANG Jianxin¹, LI Feng^{2,3}, MA Li^{2,3}, ZHANG Xiaoxiao^{2,3},

WU Yuhuan^{4,5}, YANG Yunfeng¹, XU Gendi^{2,3}, LIU Peng^{2,3}

(1. Lishui Vocational and Technical College, Lishui, Zhejiang 323000; 2. Research Institute of Ecology, Zhejiang Normal University, Jinhua, Zhejiang 321004; 3. Key Laboratory of Botany, Zhejiang Normal University, Jinhua, Zhejiang 321004; 4. College of Life and Environmental Sciences, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310036; 5. Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016)

Abstract: To clarify the physiological responses and compare the resistance intensities of two *Ardisia* species to the treatments of cadmium stress, hydroponic experiment was carried out with 2 years old seedlings of *Ardisia crenata* Sims. and *Ardisia mamillata* Hance. In the experiment, the cadmium concentrations were designed as 0, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, and 0.4 mmol/L. Several physiological indicators including plant height, superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), and catalase (CAT) activities, proline (Pro), content malondialdehyde (MDA) content, photosynthetic characteristics, and fluorescence characteristics were measured. The following results were obtained: (1) Plant height, SOD, POD, and CAT activities of *A. crenata* and *A. mamillata* first increased with the increase of incubation time, and then the first two indicators decreased significantly; (2) After 20 days treatment, the accumulation of Pro content in the two plant species was induced for low cadmium concentration treatment (T2), especially significant for *A. ma-*

收稿日期: 2017-04-09

资助项目: 国家自然科学基金项目(41571049); 丽水市高层次人才培养资助项目(2013RC07)

第一作者: 张建新(1967—), 男, 浙江丽水人, 副教授, 主要从事逆境植物生理研究。E-mail: lsxjx258@126.com

通信作者: 刘鹏(1965—), 男, 湖南冷水江人, 博士, 教授, 主要从事植物逆境生理、植物生理生态和环境污染与保护研究。E-mail: pliu99@vip.sina.com

millata, which was up to 149.24%; (3) After 20 days treatment, MDA contents increased, with the highest increases of 169.07% and 122.70%, respectively; (4) An obvious increase of photosynthetic electron transfer efficiency (ETR) of *A. mamillata* was observed for low cadmium concentration treatment (T2), while *qP* (photochemical quenching coefficient) had no significant change, indicating that *A. crenata* starts the energy dissipation pathways sufficiently to avoid the damage of photosynthetic mechanism; (5) Both ETR and *qP* of *A. mamillata* decreased significantly after treatment with high concentration of cadmium (T4), indicating that PSII of *A. mamillata* has been hurt under the high concentrations of cadmium stress with the increasing of SOD and the damage of chloroplast structure; (6) ETR fluorescence parameters of *A. crenata* descended even in early stage of cadmium stress, and the decrease was much more significant in the later stage. After comprehensive analyses, it is supposed that both *A. crenata* and *A. mamillata* increase their antioxidant enzyme activities to resist stress for treatments with low cadmium concentrations, whereas high concentrations of cadmium destroye antioxidant enzyme and photosynthetical systems and thus decrease plant resistance. It is found that *A. mamillata* had higher resistance to cadmium than *Ardisia crenata* Sims, and has high potential for cultivation under the environment with high concentrations of cadmium.

Keywords: Cd stress; *Ardisia crenata* Sims.; *A. mamillata* Hance.; antioxidant enzymes; stress resistance.

镉作为重金属工业原料之一,在采矿、冶炼以及其他工业处理中得到广泛的应用,现已对人类的生产和生活都造成了巨大的影响^[1]。镉是植物非必需元素,环境中的镉进入植物并积累到一定程度,植株通常会出现生长迟缓、矮小、退绿、产量下降等症状,产生一定的毒害作用,如大麦受镉污染后,种子的萌发率、根生长速率会下降,同时随处理浓度增大和时间延长而加剧,当镉浓度为 0.01 mol/L 时,种子萌发率降至 45% 以下^[2]。镉进入植物体内进而在各组织部位积累,从而可以通过食物链进入人体积累,加剧人的衰老进程,引发多种疾病,给人类的健康带来巨大危害^[3]。

紫金牛属(*Ardisia*)植物是分布非常广泛的常绿小灌木或亚灌木,它既是我国传统的中草药和民族药物,又是名贵的观赏花卉,其中朱砂根(*Ardisia crenata* Sims.)和虎舌红(*A. mamillata* Hance.)是该属植物中分布范围较广、资源较丰富、观赏及药用价值较高的植物种类^[4],因而在当今环境污染较轻的地区,这 2 种植物在天然药物开发及城市园林绿化建设都发挥着其日益重要的作用。朱砂根又名富贵籽,叶椭圆形披针形,叶缘具圆状浅疏小齿,果鲜红色,观赏价值极高;虎舌红叶形更为奇特,呈倒卵形至长圆状倒披针形,叶背面密布红褐色凸起老虎舌苔状斑点,曾在 1999 昆明世界园艺博览会上获世界室内观叶植物大奖第 1 名的荣誉称号,跻身于世界级名卉行列,早已进入欧美花卉市场^[5]。不过目前从紫金牛属分布的情况来看,这 2 种植物分布的很多地区,也是重金属元素的富集地,如近年来云南昆明西郊镉含量已高达昆明地区背景值的 6.3 倍,镉污染区占农田总面积的 53.50%^[6];已有研究表明镉在植物根中积累浓度最高^[7],而根是朱砂根和虎舌红的主要药用部位,其损伤程度直接与其加工产品的品质及安全性相

关联,可见在这样的地区,对这 2 种植物进行药用开发便失去了经济价值,主要开发利用其观赏价值。因而在这 2 种植物的开发过程中,选择生长地区是很重要的,通过生理与抗性的探究后,认为 2 种植物抗性强,如果环境污染较轻,在药用及观赏价值方面可以全面开发;如果环境污染较为严重,应该将探索的重点放在提高植物观赏价值上来。因此重点研究植物根的生长受阻过程、养分的吸收,其他器官的生长发育、外观形态等方面,对在镉处理下植物损伤的恢复与保护作用都具有重要意义。

镉对植物的抑制作用主要在于影响植物体内活性氧自由基代谢相关性方面^[8],其中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)等是该系统中几种重要的保护性酶系,在自由基代谢过程中发挥至关重要的作用。目前我国对紫金牛科植物在逆境方面的探讨较少,且主要集中在干旱与盐胁迫,而本文主要阐明在重金属胁迫下朱砂根和虎舌红的生理响应及抗逆性的探讨,至今未见相关报道。综上所述,本试验以紫金牛属植物朱砂根和虎舌红为研究对象,模拟镉污染的土壤,通过光照培养室内水培试验,开展了不同浓度镉处理对其酶系统及光合系统毒害机制的探索,探讨 2 种紫金牛属植物对重金属镉处理的响应机制,再结合这 2 种紫金牛属植物的多项指标差别,进一步比较这 2 种植物抗镉性的优劣,为后续对其处理环境下种植时利用价值的探究奠定一定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料及处理

选取的材料为生长一致的 2 a 生盆栽扦插苗(朱

砂根、虎舌红直立茎高 15 cm 左右),野生扦插苗采于江西省大余县吉村镇山区。盆栽用的塑料花盆上口和下口的直径分别为 28,15 cm,高度为 20 cm,每盆定植苗木 1 株。然后取若干土样做背景值测试,并将其余土分装于塑料盆中,每盆土壤质量约 2 kg,盆底放置 2 层塑料纸。在光照培养室内土培适应 2 周后,转霍格兰营养液水培(含大量元素、微量元素以及铁盐)。试验设计了 6 个 Cd 浓度梯度(Cd 以 CdCl_2 形式加入)进行处理,分别为 0(CK)、0.025(T_1)、0.05(T_2)、0.1(T_3)、0.2(T_4)和 0.4(T_5) mol/L(试验浓度均为前期大量预试验所得),各设 3 组重复,每 3 d 更换 1 次营养液。在处理期的第 10,20,30 d,取植株第 3~4 片叶片(功能叶)用于光合特性和抗氧化酶活性的测定,剪取 0.5 g 根系(根尖部分)用于根系活力的测定。试验时间为 2016 年 5—9 月,地点为丽水职业技术学院植物学实验室。

1.2 测定方法

株高用直尺测量;过氧化物酶(POD)的活性采用愈创木酚法测定^[9];超氧化物歧化酶(SOD)活性采用 NBT 氯化硝基四氮唑蓝法测定^[9];过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外吸收法测定^[9];丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法(TBA)测定^[10];根系活力采用氯化三苯基四氮唑法(TTC)测定^[11];脯氨酸(Pro)含量采用酸性茚三酮显色法测定^[12];叶绿素含量采用丙酮浸提法测定^[13];叶绿素荧光参数采用便携式脉冲调制叶绿素荧光仪(PAM-210)测定,测定时,先将叶片暗适应 30 min,再用 F_v/F_m Test 模式测定初始荧光(F_0)、最大荧光(F_m),并据此计算可变荧光、PSII 的最大光化学效率(F_v/F_m)和 PSII 的潜在活性(F_v/F_0)^[14]。

1.3 数据处理

所有测定均设 3 组重复,计算平均值和标准误差,数据处理采用 SPSS 18.0 统计软件中的 Duncan 法进行显著性差异分析,并用 Excel 2013 软件和 Origin 9.0 软件制图。

2 结果与分析

2.1 镉处理对朱砂根和虎舌红株高及叶片抗氧化酶活性的影响

由表 1 可知,镉处理后朱砂根和虎舌红的株高与 CK 无显著性差异,处理组随着镉浓度梯度的上升,朱砂根和虎舌红的株高都无明显的变化趋势,但朱砂根在 T_4 镉浓度下株高最长,虎舌红在 T_3 浓度下较于前两组低镉处理也有所升高。较低浓度的镉处理对 2 个种类的叶片 SOD 活性均有促进作用。朱砂根 SOD 活性最大增幅位于第 10 天, T_1 处理组的 SOD 活性比 CK 增加 28.8%,虎舌红叶片 SOD 活性增幅

最大值在第 30 天, T_1 处理组的活性比 CK 增加了 48.8%。在处理期间,低浓度 Cd 可诱导虎舌红、朱砂根 SOD 活性上升且 T_1 时效果最明显,以减少活性氧毒害。且随着 Cd 浓度的上升处理程度不断加剧;虎舌红 SOD 活性在 Cd 处理下无论浓度高低对比朱砂根呈现了较不稳定的趋势。

由表 1 可知,朱砂根过氧化物酶活性(POD)在处理期间($\leq T_3$)均较 CK 上升,各周期的最高增幅分别为 40.82%,62.13%,332.06%,由此可确定朱砂根在低 Cd($\leq T_3$)下能适应性地激活 POD 活性,并随时间的延长增幅上升,处理 30 d 时高浓度酶活性抑制率减小 48.87%,而虎舌红 POD 活性在 T_1 时即被抑制,并随浓度上升抑制率增加,与 SOD 的变化趋势一致。

在处理期间,朱砂根酶活性变化趋势与虎舌红相似,但朱砂根在 T_1 处理期间均较 CK 呈上升趋势,各周期的最高增幅分别为 18.80%,24.80%,34.80%,当浓度 $\geq T_3$ 时,酶的活性被抑制, T_5 浓度时的抑制增强。虎舌红 CAT 活性均先升后降但较 CK 都有明显增高。处理 10 d, T_2 较 CK 增加 56.50%,而 $\geq T_4$ 时最高仅增加 22.42%;当处理时间达 30 d 时, T_2 增幅为 63.74%,而 $\geq T_3$ 最高仅上升 18.31%,可见适宜浓度($\leq T_2$)及处理时间可最大程度提高其酶活性。从以上结果可以得出,低浓度($\leq T_2$)处理会诱导两种植物 CAT 活性的升高,但在同一周期测量期间具体峰值出现在不同的浓度;而高浓度 Cd 只抑制朱砂根 CAT 活性,对虎舌红酶的活性没有抑制作用,从而反应出在高浓度时虎舌红 CAT 活性强于朱砂根。

2.2 镉处理对朱砂根和虎舌红叶片 Pro 含量的影响

由图 1 可知,朱砂根和虎舌红 Pro 含量在 T_1 组上升明显,与其他处理组和 CK 差异显著。处理 10 d 时,两者 Pro 含量均仅在 T_1 剧增,分别上升 77.27%和 43.29%。朱砂根 Pro 含量在 T_5 组明显低于 CK,减幅最高达 45.60%,而虎舌红在高镉水平下无明显变化。当处理时间达 30 d 时,朱砂根 Pro 含量在 $T_1 \sim T_3$ 的增幅为 32.08%~56.56%,镉浓度 $\geq T_4$ 时抑制程度最高,达 33.96%;虎舌红仍在 T_1 达峰值,增幅为 149.21%,与前期比较 T_2 含量上升 46.03%, T_4 与 T_5 浓度条件下 Pro 含量分别降低 40.48%和 72.22%,这表示低浓度 Cd 和适当处理时间均能诱导两者叶片中 Pro 积累。综上所述,在较高镉浓度下朱砂根的 Pro 合成速率比虎舌红下降更快;另一方面在水培处理较长时间后,朱砂根各处理组 Pro 含量明显降低,而虎舌红的 Pro 含量较为稳定。

2.3 镉处理对朱砂根和虎舌红叶片 MDA 含量的影响

由图 2 可知,植株处理 30 d 后,MDA 含量镉处理与 CK 差异较大,虎舌红 T_5 较 CK 增加 111.23%,其中朱

砂根 T₄ 与 T₅ MDA 含量较 CK 的增幅为 32.03% 和 51.45%; 处理 3 个周期后, 朱砂根镉处理与 CK 相比增幅变化不明显, 虎舌红在高浓度水平 (≥T₃) 下有显著上升, 增幅达 94.57%~122.70%。30 d 时, 朱砂根镉处理较 CK 分别增加 64.22%, 78.47%, 92.94%, 132.00%,

169.07%; 由此可知, 在低浓度 Cd 处理下, 两者叶片膜脂过氧化程度较轻, 但随浓度递增和时间累积, 膜脂过氧化程度会逐渐加深, MDA 含量不断上升, 高浓度与长时间 2 个因素的叠加作用可以解释虎舌红后期出现较大增幅的主要原因。

表 1 镉对朱砂根和虎舌红株高及叶片抗氧化酶活性的影响

处理 时间/d	处理	朱砂根				虎舌红			
		SOD/	POD/	CAT/	株高/	SOD/	POD/	CAT/	株高/
		(U·g ⁻¹ FW)	(U·g ⁻¹ FW·min ⁻¹)	(U·g ⁻¹ FW·min ⁻¹)	cm	(U·g ⁻¹ FW)	(U·g ⁻¹ FW·min ⁻¹)	(U·g ⁻¹ FW·min ⁻¹)	cm
10	CK	142±6.94b	8.99±1.59bc	53.9±10.07a	20.53±1.11a	129±18.31a	254.81±78.88a	44.6±2.97b	12.70±2.75a
	T ₁	183±20.21a	11.19±1.44abc	63.0±15.63a	18.93±1.28ab	129±12.96a	36.03±8.20b	44.3±1.22b	9.53±1.63bc
	T ₂	179±9.37ab	12.66±0.66a	44.2±14.61a	18.00±2.22a	134±21.98a	18.78±2.30b	69.8±4.77a	9.83±0.95bc
	T ₃	177±11.44ab	12.06±1.07ab	50.3±18.33a	18.73±2.18ab	188±11.18b	10.63±3.69b	64.1±13.88ab	10.70±2.28b
	T ₄	177±7.40ab	9.76±0.61abc	61.8±10.31a	19.97±1.17a	188±35.96b	10.64±3.39b	54.6±8.27ab	9.20±0.66bc
	T ₅	176±5.48ab	7.93±0.76c	55.6±13.86a	17.26±1.26c	131±21.15a	5.71±1.37b	58.6±4.65ab	10.76±3.05b
20	CK	219±31.45ab	9.48±2.42ab	31.0±2.15ab	21.26±1.11a	112±3.89a	124.78±7.38a	29.8±8.56a	13.3±3.12a
	T ₁	250±17.32a	10.15±2.24ab	38.7±3.92a	19.10±1.28b	161±14.76b	9.69±2.51b	40.9±20.52a	10.6±1.75bc
	T ₂	211±12.98ab	11.54±3.96ab	31.5±1.34 ab	18.43±2.34bc	160±10.72b	4.41±0.19b	39.6±7.70a	10.7±0.85bc
	T ₃	209±4.35ab	15.37±4.55a	29.8±3.41ab	19.16±1.91b	158±10.20b	4.35±0.245b	35.5±12.75a	11.7±2.23b
	T ₄	203±7.62ab	6.31±0.80ab	26.9±3.74b	20.46±0.82ab	158±7.19b	4.07±0.50b	33.5±0.87a	9.80±0.69bc
	T ₅	194±6.92b	4.44±0.42b	25.0±1.44b	18.40±1.40bc	139±4.99b	5.07±0.74b	32.6±2.87a	11.00±2.90b
30	CK	219±8.60ab	8.39±0.38b	33.3±7.27ab	21.63±1.06a	127±9.10a	31.27±2.95a	27.3±6.01b	18.25±3.7a
	T ₁	232±6.64a	32.52±1.95a	44.9±2.39a	18.56±0.31ab	189±4.54b	6.52±1.69b	36.7±2.56ab	13.44±0.52b
	T ₂	221±1.46ab	36.25±1.72a	33.8±6.62ab	18.93±2.30ab	167±9.49b	6.22±0.72b	44.7±2.18a	12.10±0.54bc
	T ₃	196±13.49b	10.64±1.65b	29.4±3.84 bc	18.90±2.11ab	168±16.30b	6.60±0.59b	32.3±4.83ab	12.03±2.05bc
	T ₄	197±6.50b	8.13±1.17b	24.6±2.22bc	21.43±1.08a	161±19bc	4.10±0.08b	23.9±3.42b	10.99±0.79c
	T ₅	155±9.89c	8.03±0.41b	16.6±1.05c	18.86±1.51ab	128±4.02c	5.52±0.77b	27.7±3.78b	12.483±2.20b

注: 表中数据=平均值±标准误差; 不同小写字母表示差异显著 (P<0.05)。下同。

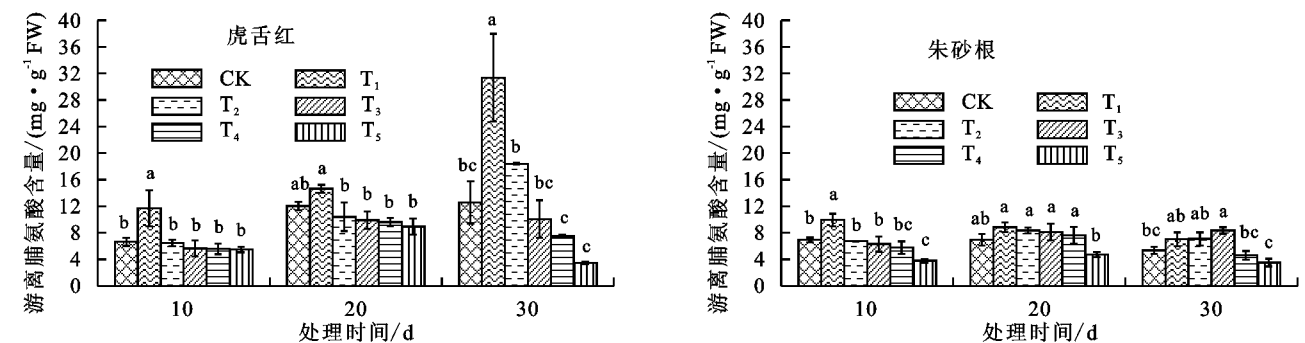


图 1 镉对虎舌红和朱砂根叶片脯氨酸含量的影响

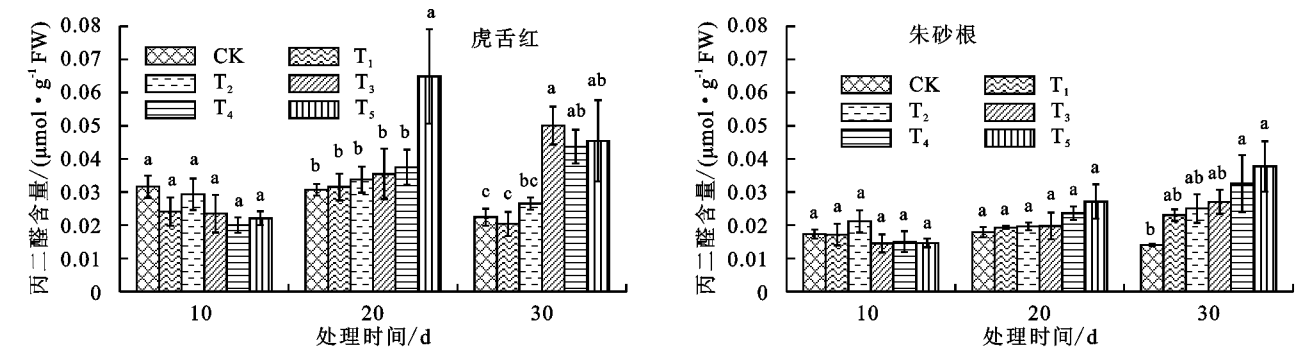


图 2 镉对虎舌红和朱砂根叶片丙二醛含量的影响

2.4 镉处理对朱砂根及虎舌红根系活力的影响

由图 3 可知, 随 Cd 浓度的增加, 虎舌红根系活力大体表现为稍低浓度 (≤T₃) 促进, 高浓度 (≥T₄) 抑制的现象。而在第 1 周期 Cd (≤T₄) 处理下, 虎舌

红根系活力与 CK 相比有所增加, 但差异不显著 (P>0.05)。Cd (T₅) 处理下虎舌红根系活力的与 CK 相比显著上升。朱砂根的根系活力在 3 个周期中均表现为随浓度递增而下降, 下降幅度较为稳定。

从结果可以看出,在较低浓度下虎舌红根系活力受到的抑制作用可以忽略,而在较高浓度下两者活力

均受到显著抑制,因此可以得出虎舌红的根系对 Cd 的抗性较朱砂根更强。

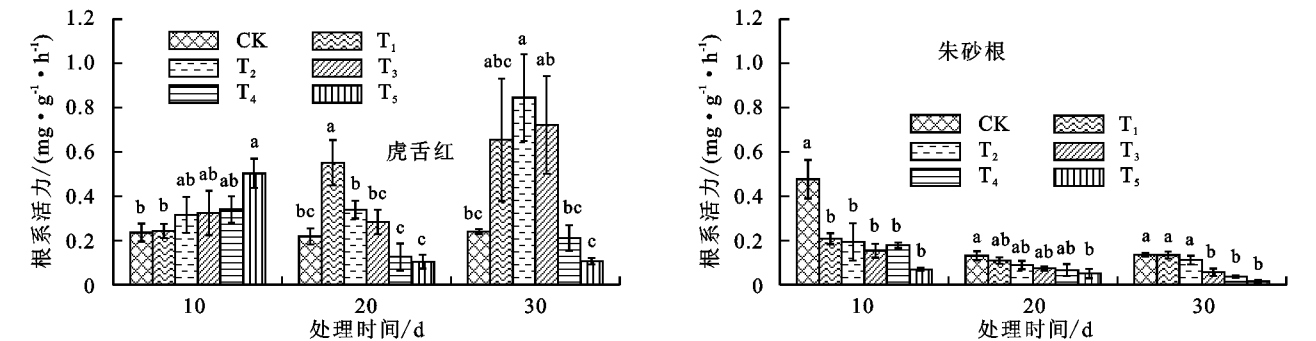


图 3 镉对虎舌红和朱砂根根系活力的影响

2.5 镉处理对朱砂根及虎舌红叶绿素荧光的影响

由表 2 可知,培养至第 10 天和第 20 天时,朱砂根与虎舌红两者各处理组的叶绿素荧光参数变化与各自对照组相比并无显著性差异。通过试验,笔者在第 30 天测量时发现,朱砂根高浓度 Cd 处理组 F_v'/F_m' 、 qP 分别比 CK 降低了 23.30% 和 45.50%。 F_v/F_m 明确了 PSII 反应中心利用所捕获激发能的情况, T_1 浓度 Cd 使朱砂根叶片的 PSII 反应中心受到了伤害。高浓度处理后 qP 下降幅度显著增大, qP 的减少揭示 PSII 开放的反应中心比例和参

与 CO₂ 固定的电子减少,这种比例的减少必然会使光合电子传递能力减弱,叶片暗反应受阻,光合速率下降^[15],和 ETR 的变化一致。不同浓度 Cd 处理对虎舌红叶片叶绿素 a 含量的影响中,前两个测量周期差异不显著,30 d 时高浓度 Cd 处理下,朱砂根比 CK 降低了 70%,这说明高浓度 Cd 处理后朱砂根叶片吸收和传递到 PSII 反应中心的光能降低,这与前面提到其他荧光参数变化一致。而虎舌红的荧光相关参数相对稳定,反映其对镉处理的抗逆性强于朱砂根。

表 2 镉处理对朱砂根及虎舌红叶绿素荧光的影响

处理 时间/d	处理	朱砂根			虎舌红		
		ETR	qP	叶绿素 a 含量/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	ETR	qP	叶绿素 a 含量/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
10	CK	13.533±1.20 a	0.149±0.01 a	2.28±0.04 a	20.167±2.14 ab	0.196±0.02 ab	1.42±0.10 c
	T ₁	16.933±2.69 a	0.186±0.04 a	1.53±0.25 b	23.033±1.82 a	0.216±0.03 a	1.78±0.02 ab
	T ₂	17.067±0.45 a	0.171±0.00 a	2.16±0.06 a	22.367±3.22 a	0.208±0.03 a	1.92±0.07 a
	T ₃	16.767±2.79 a	0.164±0.03 a	2.12±0.19 a	14.700±0.66 b	0.137±0.01 b	1.56±0.13 bc
	T ₄	20.500±2.05 a	0.201±0.02 a	2.14±0.14 a	17.933±2.19 ab	0.163±0.02 ab	1.63±0.13 abc
	T ₅	18.400±2.07 a	0.177±0.19 a	2.28±0.14 a	17.067±1.64 ab	0.167±0.01 ab	1.71±0.13 abc
20	CK	22.333±1.94 a	0.236±0.03 a	2.36±0.02 a	16.733±2.15 b	0.172±0.03 ab	1.76±0.22 a
	T ₁	16.233±1.92 ab	0.189±0.00 ab	2.11±0.02 ab	15.433±1.83 b	0.144±0.02 b	1.67±0.14 a
	T ₂	14.800±2.00 ab	0.152±0.01 b	1.76±0.24 b	23.900±1.33 a	0.232±0.01 a	1.75±0.10 a
	T ₃	12.633±4.63 b	0.125±0.04 b	2.27±0.10 a	12.633±0.97 b	0.132±0.02 b	1.65±0.22 a
	T ₄	19.833±2.05 ab	0.199±0.02 ab	2.37±0.13 a	16.433±2.27 b	0.151±0.02 b	1.65±0.18 a
	T ₅	17.967±0.56 ab	0.174±0.00 ab	2.24±0.07 a	12.200±3.87 b	0.123±0.04 b	1.57±0.18 a
30	CK	19.767±3.01 a	0.200±0.02 a	2.36±0.08 a	17.133±2.14 a	0.163±0.02 ab	1.08±0.12 bc
	T ₁	12.633±1.47 b	0.165±0.01 ab	2.17±0.29 ab	12.433±5.49 a	0.119±0.05 b	1.19±0.05 b
	T ₂	12.300±1.56 b	0.146±0.01 b	1.58±0.08 b	17.983±3.91 a	0.240±0.00 a	1.89±0.06 a
	T ₃	10.500±1.22 b	0.135±0.01 b	1.33±0.15 bc	17.533±3.25 a	0.169±0.04 ab	1.08±0.13 bc
	T ₄	13.367±1.55 b	0.140±0.01 b	1.48±0.11bc	16.100±1.05 a	0.110±0.01 b	0.90±0.06 c
	T ₅	14.567±0.38 ab	0.139±0.00 b	1.06±0.35 c	18.900±0.96 a	0.198±0.01 ab	1.01±0.03bc

3 讨论

在植物生长的多种环境条件中,微量 Cd 即可严重影响植物细胞代谢、ROS 传导^[16]和根系营养元素(Ca²⁺、Mg²⁺)吸收,并最终阻碍其正常生长,这些症状集中反映在过多活性氧的产生^[17]。而针对植物体在 Cd 处理下活性氧代谢失调机理的确定,目前国内

短、Cd 浓度、处理方法以及植物种类等的选取有密切相关^[18]。

本研究表明,轻度 Cd 处理能诱导朱砂根 3 种膜脂去过氧化相关酶活性的上升,这与 Sun 等^[18]揭示的抗氧化酶活性在抗镉应激反应中会增加的结果相一致。高浓度 Cd 处理时促进作用小于低浓度,这可能是 Cd 浓度较高损害 SOD 等酶引起的氧化处理超

过其耐受度^[19]所致,而本研究中虎舌红及朱砂根 2 种植物 SOD 酶的比例并不相同,决定其总体 SOD 活性变化也有较大的差异,总 SOD 的活性在镉浓度逐渐提升过程中,出现先上升然后逐渐下降并最终低于对照的现象;高浓度下虎舌红 SOD、POD 活性都随处理强度的增加不断变小,CAT 活性则在低 Cd 水平 ($\leq T_4$) 明显上升,且相较于朱砂根其酶活性较高。贾永霞等^[20]曾报道了镉处理细叶美女樱 (*Verbena tenera* Spreng) 根和叶片中的 CAT 活性,反映出 CAT 在抗镉反应中具有重要作用,因此结合虎舌红 CAT 活性起伏的特殊性,认为在抗氧化应激反应中 CAT 可能是虎舌红响应镉处理的关键酶。由此可以推测,具体酶的反应机理可能为:在处理初期,由 SOD、POD、CAT 发挥抗氧化作用,而在后期其他循环途径(如抗坏血酸—谷胱甘肽(AsA—GsH)循环途径)被激活,大量清除活性氧或者直接螯合镉,因此抗氧化酶活性在处理后期仍处于较高水平。

脯氨酸除了作为植物细胞质内渗透调节物质外,还在稳定生物大分子结构、降低细胞酸性、解除氨毒以及作为能量库调节细胞氧化还原势等方面起到重要作用^[21]。魏学玲等^[22]研究表明,在低浓度 Cd 下使小麦 (*Triticum aestivum* L.) 幼苗的脯氨酸(Pro) 含量缓慢增加,高浓度 Cd 则令其增速上升。Gill 等^[23]以小白菜 (*Brassica rapa* subsp. *Chinensis*) 为研究材料,也证实 Cd 可引起脯氨酸的累积。作为渗透调节物质 Pro 的积累有适应逆境的重要意义,因而被作为测定各种逆境处理的理想指标。Pro 可清除羟自由基和单线态氧,防止活性氧诱导细胞损伤。镉对朱砂根和虎舌红 Pro 含量的作用效果主要区别是随浓度增长,两者逐渐受到抑制,但虎舌红较朱砂根受抑制时间有所延迟。这是因为朱砂根和虎舌红叶片的 Pro 含量在低浓度范围的积累可使偶联酶体系活性在低镉下升高,而高镉下酶活性的显著降低可能是低 Pro 含量所致,即 Pro 和 3 种抗氧化酶在氧化应激反应中起着交互作用,以保持抗氧化系统的平衡。

MDA 为生物体内的自由基作用于脂质的反应终产物,其含量可反映膜脂过氧化水平^[24]。逆境下植物 MDA 的含量会增加,时间越长其含量越高,植物受伤害的程度将越来越大。本研究发现,高浓度的 Cd 均使 2 种植物叶片 MDA 含量升高,揭示了其在镉毒害过程中会导致叶中大量活性氧等的产生,引发膜质过氧化,与顾翠花等^[25]观测得到的结论有相似性。已有研究表明,Cd 在植物体内的分布是根>茎>叶>籽实^[26],镉可通过抑制细胞分裂、养分吸收等对根系生长表现出抑制作用,但不同种间或种内耐镉性有很大的差异,耐性强的物种或品种揭示了根生物

量大和根较长这一现象^[18]。本研究可知,在镉处理下虎舌红比朱砂根的根系活力强。此外,对 2 种植株进行叶绿素荧光定量分析得到的结果表明,在镉处理下紫金牛属植物朱砂根和虎舌红均会发生 *qP* 及光合电子转移率(ETR)的明显变化,但二者抗镉响应存有一定程度的差异。同时也表明植物体内活性氧主要产自叶绿体,在 PSI 系统中尤为明显,其电子可通过铁氧化蛋白—NADP⁺ 还原酶传递,若 NADP⁺ 不足或 NADPH 累积,电子就传递给分子氧形成 O₂⁻。随 Cd 浓度及处理时间增加,虎舌红叶片光合作用强度有显著下降的趋势,但在前 20 d,光反应阶段中 PSII 系统的原初光能转换效率还没有受到镉的明显影响。处理 30 d 后,反映 PSII 原初光能转换效率的叶绿素荧光动力学参数 F_v/F_m 及 ETR 等开始明显下降,PSII 潜在活性 (F_v/F_0) 也整体呈下降的趋势,且变化差异显著。当镉浓度为 0.4 mol/L 时,光合作用最低。本研究充分证实,镉处理主要通过抑制植物体内 CO₂ 同化、降低植物叶绿素含量、CO₂ 吸收量等途径来影响植物生理代谢,而光合同化力 NADPH/NADP⁺ 的比例变化、光合 CO₂ 同化作用受影响的机理等方面还需要进一步研究。

通过虎舌红及朱砂根的试验结果表明,在 Cd 处理下,2 种植物均会发生生物量、氧化应激、膜脂过氧化以及光合效能损伤,并且用不同浓度梯度的镉处理虎舌红和朱砂根植物幼苗导致其体内活性氧增多,从而诱导活性氧酶清除系统活性升高。明确其主要原因与 CO₂ 同化受限、光合同化力 NADPH/NADP⁺ 累积及超氧阴离子(O₂⁻)、过氧化氢(H₂O₂)和丙二醛(MDA)含量的增加有关。只是在不同程度镉处理下,植物体内细胞和亚细胞水平的活性氧含量与分布也有密切的相关性。

4 结论

细胞内活性氧等过度积累所导致膜脂过氧化是镉处理伤害朱砂根和虎舌红幼苗的主要原因,虽然高浓度镉处理较长时间对 2 种植物都造成了一定程度的损伤,但低浓度镉对朱砂根和虎舌红的生长没有抑制作用,相反有适当的促进作用。较低浓度镉处理下朱砂根和虎舌红均可经过提升株高及 SOD、POD、CAT、Pro、与 ETR 等活性措施来抵御逆境,而高浓度镉及处理时间延长则会对植物上述指标造成更大的损害。综合各指标与镉浓度及时间的分析,当镉浓度 $\leq T_2$,有些指标 $\leq T_3$,处理时间为 20 d 内,都有利于提高上述指标对逆境的抵御能力,但镉浓度 $\geq T_4$ 尤其是 T_5 ,处理时间达到 30 d,2 种植物都将会受到了较大的损伤。

对虎舌红与朱砂根抗镉性的强弱进行对比分析,发现虎舌红抗逆性更强,在高镉浓度的环境中对这种环境具有更强的综合能力及突出的种植优势,因而在后续进行相关土壤镉污染修复能力检测的基础上,可推广大规模人工栽培来获取较高的生态及经济效益。

参考文献:

- [1] Chen X, Wang J, Shi Y, et al. Effects of cadmium on growth and photosynthetic activities in pakchoi and mustard [J]. Botanical Studies, 2011, 52(1): 41-46.
- [2] 李子芳, 刘惠芬, 熊肖霞, 等. 镉胁迫对小麦种子萌发幼苗生长及生理生化特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(增刊): 17-20.
- [3] 罗绪强, 王世杰, 张桂玲. 土壤镉污染及其生物修复研究进展[J]. 山地农业生物学报, 2008, 27(4): 357-361.
- [4] Hu X, Zhang Y, Luo J, et al. Accumulation and quantitative estimates of airborne lead for a wild plant (*Aster subulatus*) [J]. Chemosphere, 2011, 82(10): 1351-1357.
- [5] Solgi E, Esmaili-Sari A, Riyahi-bakhtiari A, et al. Soil contamination of metals in the three industrial estates, Arak, Iran [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2012, 88(4): 634-638.
- [6] Ndontsa B L, Tala M F, Talontsi F M, et al. New cytotoxic alkylbenzoquinone derivatives from leaves and stem of *Ardisia kivuensis* (Myrsinaceae) [J]. Phytochemistry Letters, 2012, 5(3): 463-466.
- [7] 张司南, 高培尧, 谢庆恩, 等. 镉诱导拟南芥根尖过氧化氢积累导致植物根生长抑制[J]. 中国生态农业学报, 2010, 18(1): 136-140.
- [8] 张春涛, 薛晟岩. 沈阳地区十种新优宿根花卉的抗旱性研究[J]. 北方园艺, 2010(23): 100-102.
- [9] Jday A, Ben R K, Slama I, et al. Effects of exogenous nitric oxide on growth, proline accumulation and antioxidant capacity in *Cakile maritima* seedlings subjected to water deficit stress [J]. Functional Plant Biology, 2016, 43(10): 939-948.
- [10] Ma L, Li W, Wang H, et al. A simple and rapid method to identify and quantitatively analyze triterpenoid saponins in *Ardisia crenata* using ultrafast liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole mass spectrometry [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2015, 102(1): 400-408.
- [11] Wang R, Xiao X, Wang P Y, et al. Stimulation of autophagic activity in human glioma cells by anti-proliferative ardisipulloside I isolated from *Ardisia pusilla* [J]. Life Sciences, 2014, 110(1): 15-22.
- [12] 张建新, 葛淑芳, 吴玉环, 等. 干旱胁迫对紫金牛叶片碳氮代谢的影响[J]. 水土保持学报, 2015, 29(2): 278-282.
- [13] 吕金印, 邱丽俊, 叶庆. 镉胁迫对菜豆幼苗基因组 DNA 多态性的影响[J]. 中国环境科学, 2012, 32(5): 892-899.
- [14] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 第 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [15] 徐红霞, 翁晓燕, 毛伟华, 等. 镉胁迫对水稻光合、叶绿素荧光特性和能量分配的影响[J]. 中国水稻科学, 2005, 19(4): 338-342.
- [16] Rodríguez-Serrano M, Romero-Puertas M C, Sparkes I, et al. Peroxisome dynamics in *Arabidopsis* plants under oxidative stress induced by cadmium [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2009, 47(11): 1632-1639.
- [17] 何俊瑜, 任艳芳, 王阳阳, 等. 不同耐性水稻幼苗根系对镉胁迫的形态及生理响应[J]. 生态学报, 2011, 31(2): 522-528.
- [18] Sun R L, Zhou Q X, Sun F H, et al. Antioxidative defense and proline/phytochelatin accumulation in a newly discovered Cd-hyperaccumulator, *Solanum nigrum* L. [J]. Environmental and Experimental Botany, 2007, 60(3): 468-476.
- [19] Chen M, Zhang L L, Li J, et al. Bioaccumulation and tolerance characteristics of a submerged plant (*Ceratophyllum demersum* L.) exposed to toxic metal lead [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2015, 122(12): 313-321.
- [20] 贾永霞, 李弦, 罗弦, 等. 细叶美女樱 (*Verbena tenera* Spreng) 对镉的耐性和富集特征研究[J]. 生态环境学报, 2016, 25(6): 1054-1060.
- [21] Gill S S, Hasanuzzaman M, Nahar K, et al. Importance of nitric oxide in cadmium stress tolerance in crop plants [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2013, 63(4): 254-261.
- [22] 魏学玲, 史如霞, 杨颖丽, 等. Cd²⁺ 胁迫对小麦幼苗生理生化特性的影响[J]. 西北植物学报, 2009, 29(10): 2031-2037.
- [23] Gill K K, Sandhu H S, Kaur R. Evaluation of lipid peroxidation and antioxidant status on fenvalerate, nitrate and their co-exposure in *Bubalus bubalis* [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2015, 123(9): 19-23.
- [24] 张云芳, 陈楚, 陈晨, 等. 镉胁迫对青菜幼苗某些生理特性以及基因组多态性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(3): 432-439.
- [25] 顾翠花, 王懿祥, 白尚斌, 等. 4 种园林植物对土壤镉污染的耐受性[J]. 生态学报, 2015, 35(8): 2536-2544.
- [26] Koruk M, Taysi S, Savas M C, et al. Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patients with non-alcoholic steatohepatitis [J]. Annals of Clinical and Laboratory Science, 2004, 34(1): 57-62.