

# 外源水杨酸对镉胁迫下玉米幼苗的叶氮素代谢和根系抗氧化酶的影响

赵新月<sup>1</sup>, 何 茂<sup>1</sup>, 石 辉<sup>1\*</sup>, 屈 波<sup>2</sup>

(1.西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 西安 710055; 2.绵阳师范学院资源与环境工程学院, 四川 绵阳 621000)

**摘 要:**采用溶液培养方法,研究不同浓度外源水杨酸(SA)对镉(Cd)胁迫下玉米幼苗的生长、光合色素的变化、叶片氮代谢及根系抗氧化系统酶活性的影响。结果表明,Cd胁迫抑制了玉米的生长发育和叶绿素合成,使硝态氮在叶中累积,同时影响了根系的抗氧化系统。应用 50~250  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度范围外源 SA,叶绿素含量与胁迫情况下相比可提高 81.3%、115.2%和 45.9%,硝酸还原酶活性提高了 1.32 和 1.29 倍,降低了叶中硝态氮的含量 30%,提高了谷氨酰胺合成酶(GS)和谷氨酸合成酶(GOGAT)活性 60%以上,维持了氮素代谢过程的良好进行。外源 50~250  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  SA 可将玉米根系过氧化物酶(POD)活性减小至 0.026  $\text{min}\cdot\text{mg}^{-1}$ ,POD 和超氧化歧化酶(SOD)的活性与无 Cd 胁迫下的酶活性无显著差异,降低了 Cd 胁迫对质膜氧化系统的伤害。但外源 SA 对 Cd 胁迫的修复缓解作用受浓度的影响较大,低浓度的 SA 具有良好的修复效果,高浓度的 SA 反而影响了光合色素的合成以及酶的活性,抑制了玉米的生长。综合考虑各项指标,具有良好修复作用的外源 SA 浓度为 50~100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**关键词:**水杨酸;镉胁迫;氮代谢;抗氧化酶

中图分类号:X503.23 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)10-1950-09 doi:10.11654/jaes.2013.10.007

## Role of Exogenous Salicylic Acid in Alleviating Nitrogen Metabolism in Leaves and Antioxidase in Root by Cadmium Stress in Maize Seedling

ZHAO Xin-yue<sup>1</sup>, HE Mao<sup>1</sup>, SHI Hui<sup>1\*</sup>, QU Bo<sup>2</sup>

(1.School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China; 2.School of Resource and Environmental Engineering, Mianyang Normal University, Mianyang 621000, China)

**Abstract:** The nutrient solution culture experiment was carried out to examine the effects of exogenous salicylic acid(SA) on growth, chlorophyll, nitrogen metabolism and antioxidant activities in maize seedling exposed to cadmium(Cd) stress. The Cd stress dramatically reduced the seedling growth and leaf chlorophyll content, and increased the nitrate accumulation in leaves due to interfering with the nitrogen metabolism. At the same time, Cd stress disturbed the antioxidant activities in seedling root. Applying exogenous SA in the concentration range of 50~250  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , the leaf chlorophyll contents increased 81.3%, 115.2% and 45.9%. The exogenous SA improved the nitrate reductase activities of leaf 1.32 and 1.29 times, the nitrate content was reduced with 30%, and the enzymatic activities of glutamine synthetase (GS) and glutamate synthase(GOGAT) all increased more than 60%, comparing with that under Cd stress. It shows that the exogenous SA maintained the nitrogen metabolism to work well in maize leave. The application of exogenous SA could reduce the peroxidase(POD) activity to 0.026  $\text{min}\cdot\text{mg}^{-1}$ , and the activity of POD and superoxide dismutase(SOD) in maize root had no markedly difference with that under Cd stress condition. The lower POD and SOD reduced the damage of Cd stress on the plasma membrane oxidation system. But the role degree of exogenous SA alleviating Cd stress was affected by SA application concentration. Application with lower concentration SA had markedly repairing effects, and the higher SA concentration could inhibit chlorophyll synthesis and enzyme activities. The SA concentration with good repairing results was in the range of 50~100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  through compressively consideration factors.

**Keywords:** salicylic acid; cadmium stress; nitrogen metabolism; antioxidant

收稿日期:2013-03-01

基金项目:陕西省环境科学与工程重点学科建设项目(2011)

作者简介:赵新月(1988—),女,四川攀枝花人,硕士研究生,主要从事重金属污染修复方面的研究。E-mail:zhaoxinyueajiao@yahoo.com.cn

\*通信作者:石 辉 E-mail:shihui06@126.com

近年来,随着工农业生产的发展,三废的排放、矿产的开发、污水灌溉以及农药、除草剂和化肥的使用,使水体、土壤、大气受到严重的污染。据农业部环境监测系统近年的调查,我国 24 个省(市)城郊、污水灌溉区、工矿等经济发展较快地区的 320 个重点污染区中,污染超标的大田农作物种植面积为 60.6 万  $\text{hm}^2$ ,占调查总面积的 20%。其中重金属含量超标的农作物种植面积约占到各种污染物超标农作物种植面积的 80%以上,尤其是 Pb、Cd、Hg、Cu 及其复合污染最为突出<sup>[1]</sup>。Cd 胁迫对植物的影响表现在对生长发育、细胞膜透性、抗氧化酶系统、光合作用、生物大分子结构及生理代谢等方面<sup>[2-3]</sup>。Cd 不但使植物受到伤害,而且通过根的吸收后运输到可食部分,人类食用后会严重影响身体健康<sup>[4-5]</sup>。

水杨酸(Salicylic acid, SA)是植物体内普遍存在的一种酚类化合物,是细胞内的信号传递分子,对植株的生长发育具有多种生理调节效应<sup>[6]</sup>,因此外源 SA 被用于缓解重金属毒害,增强植物的抗性反应。大量研究表明,SA 对水稻发芽和幼苗生长<sup>[7]</sup>、根系生长<sup>[8-10]</sup>、叶发育<sup>[11]</sup>,豌豆的幼苗<sup>[12]</sup>,大麦幼苗<sup>[13]</sup>,大麻植物<sup>[14]</sup>,蓖麻幼苗<sup>[15]</sup>,小麦<sup>[16-18]</sup>,紫花苜蓿<sup>[19]</sup>,玉米<sup>[20-21]</sup>,大豆幼苗<sup>[22]</sup>,亚麻根系<sup>[23]</sup>,甘蓝<sup>[24]</sup>,菊芋<sup>[25]</sup>,黄瓜<sup>[26]</sup>的 Cd 胁迫毒害作用具有缓解效应。对上述文献进行分析发现,SA 在清除活性氧类物质(Active oxygen species, AOS)、提高植物的抗逆性方面具有重要的作用,这个过程有可能是直接的也可能是间接激活抗氧化反应调节植物体内的氧化还原平衡,或触发信号转导网络来减轻重金属的毒害作用<sup>[27-30]</sup>。SA 对植物在 Cd 胁迫下的氮素代谢和光合过程也有一定的修复作用。

玉米是在重金属污染土壤上种植最广泛的粮食作物之一,研究外源 SA 对玉米 Cd 胁迫下根系膜脂过氧化的变化以及叶的氮素代谢,对于揭示植物 Cd 毒害修复的生理机制以及减轻毒害效应具有重要意义,可为提高作物产量及农业环境保护提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

挑选饱满的玉米种子(香甜糯玉米利丰种业),将玉米种子用 0.5%次氯酸钠溶液消毒 15 min 后,用自来水反复冲洗再用蒸馏水冲洗干净,移至湿润滤纸上在 28℃黑暗培养箱中萌发,待玉米种子露白(2 d)后,将露白一致的种子播入装有石英砂(直径 0.5 mm)的白瓷盘内,自然光照,并保持石英砂湿润。幼苗

长出两片真叶时,选择生长整齐一致健壮的玉米幼苗若干洗净根部,剔除残留胚乳,在 Hoagland 营养液中培养。Hoagland 营养液组成:四水硝酸钙 945  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、硝酸钾 506  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、硝酸铵 80  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、磷酸二氢钾 136  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、硫酸镁 493  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、七水硫酸亚铁 5560  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、乙二胺四乙酸二钠 7460  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、碘化钾 0.83  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、硼酸 6.2  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、硫酸锰 22.3  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、硫酸锌 8.6  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、钼酸钠 0.25  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、硫酸铜 0.025  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、氯化钴 0.025  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

水杨酸采用天津市天力化学试剂有限公司生产的分析纯产品;CdCl<sub>2</sub>采用天津市科密欧化学试剂有限公司生产的分析纯产品。

### 1.2 实验处理

采用水培实验方式,分别设 5 个 SA 处理水平(以固态水杨酸的形式加入,浓度分别为 0、50、100、250、500  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ),两个 Cd 胁迫水平(以 CdCl<sub>2</sub> 的形式加入,浓度为 10、40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ),一个无 Cd 胁迫和 SA 处理的对照(CK),总计 11 个处理,每组处理重复 4 次。镉浓度的设定依据参照国家土壤环境质量标准值(GB 15618—1995)的上限(镉含量  $\leq 1.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,如土壤含水量以 20%计,土壤溶液的镉含量上限为 5.0  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,相当于 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )而设置。

### 1.3 水培实验过程

将整齐一致的幼苗移入 10 L 的塑料盘内,用 1/2 Hoagland 营养液培养并保持通气,培养时光照为 650  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ,温度为 28℃左右,光照时间为 12 h。1/2 Hoagland 营养液培养 7 d 后,用完全 Hoagland 营养液继续培养 7 d,此时幼苗在 40 cm 左右。然后按照实验处理,用相应浓度 Cd 和 SA 处理设计的完全 Hoagland 营养液进行胁迫和修复处理。在培养过程中,每 3 d 更换一次处理的 Hoagland 营养液,用 0.1  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  HCl 或 NaOH 调节 pH 至 6.5 左右,并保持通气,培养时间为 20 d。在整个过程中,容器需要用黑纸包裹,做遮光处理。

### 1.4 测定方法

分别于处理后第 5、10、15、20 d 采样进行根系抗氧化酶 POD、SOD 活性的测定。并于处理后第 20 d 采集全部植物样品,采样进行株高、生物量、叶片中叶绿素、硝氮、亚硝氮含量等指标的测定。

玉米叶片中叶绿素、硝态氮和亚硝态氮含量的测定,过氧化物酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)的提取与活性测定均参照 2009 年高等教育出版社出版的《植物生理学实验指导》中的方法<sup>[31]</sup>,采用愈创

木酚法测定 POD 活性,邻苯三酚自氧化法测定 SOD 活性<sup>[31]</sup>。硝酸还原酶(NR)、谷氨酰胺合成酶(GS)、谷氨酸脱氢酶(GDH)的提取与活性测定参照中国科学院上海植物生理研究所 1999 年出版的《现代植物生理学实验指南》中的方法<sup>[32]</sup>,硝酸还原酶以 1 h 内还原  $\text{KNO}_3$  生成  $\text{NO}_2^-$  的  $\mu\text{g}$  数表示酶活性,谷氨酰胺合成酶活性以 1 h 内形成  $1 \mu\text{mol}$   $\gamma$ -谷氨酰基羟肟酸的酶量作为 1 个酶活性单位,谷氨酸脱氢酶活性以  $\text{NADH}$   $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  蛋白质表示;谷氨酸合成酶(GOGAT)的提取与活性测定参照 Sánchez 等(2004)的方法<sup>[33]</sup>,以每分钟反应液减少  $1 \mu\text{mol}$  的  $\text{NADH}$  所需的酶量定义为 1 个酶活性单位。

## 2 结果与分析

### 2.1 水杨酸对 Cd 胁迫下玉米生物学特性的影响

在 Cd 胁迫下,玉米的生物学特性发生了显著的变化。当 Cd 为  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,其株高与对照相比下降了 24.1%;当 Cd 浓度达到  $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,其株高相比下降 39.9%,同时也出现了比较严重的失绿现象。在生物量上, $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Cd 胁迫的生物量仅为对照的 59.0%,Cd 浓度为  $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时生物量与对照相比减少 52.6%。加入外源 SA 之后,对 Cd 胁迫均表现出一定的修复作用。当 Cd 为  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,没有外源 SA 的玉米高度为 67 cm,生物量为 0.46 kg;当经过外源 SA  $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  处理后,其株高分别增加了 9.8 cm 和 15.5 cm,生物量分别增加了 0.12 kg 和 0.22 kg;但当外源 SA 的浓度为  $500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,这种修复作用不存在。当 Cd 增加到  $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,外源 SA 仍表现出对 Cd 胁迫的缓解。与 SA 浓度为  $0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  相比,SA 浓度为 50、100、250  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,株高分别增加了 9.4%、26.0%、13.5%,生物量分别增加 13.5%、27.0%、13.5%(图 1)。上述结果说明,外源 SA 在 50~100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度处理下,对 Cd 胁迫具有较好的修复效果。

### 2.2 水杨酸对 Cd 胁迫玉米光合色素的影响

重金属 Cd 胁迫可造成玉米叶绿素含量降低,图 2 表明当 Cd 浓度为  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,叶绿素 a、b 浓度分别比对照减少了 63.9%、56.4%;当 Cd 为  $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,叶绿素 a、b 的浓度分别比对照减少了 80.1%、65.2%。在植物生长发育过程中,由于叶绿素 a 比叶绿素 b 下降得快,叶绿素 a/b 值被用作叶片衰老的指标。在对照中,叶绿素 a/b 值为 3.31,而受浓度为  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 Cd 胁迫时,叶绿素 a/b 值

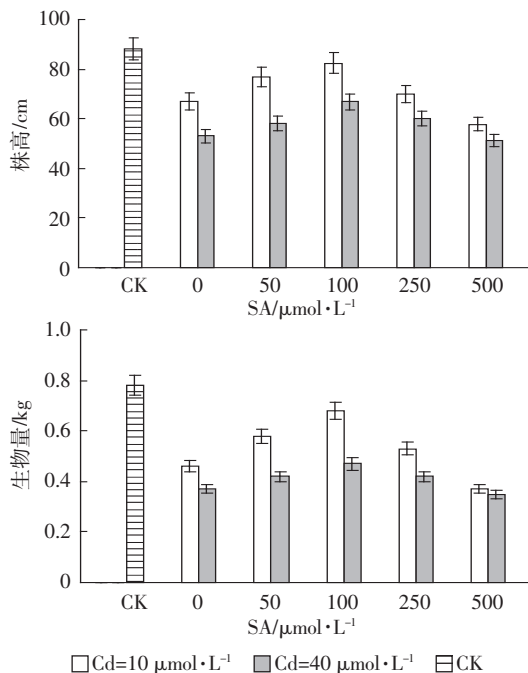


图 1 不同浓度水杨酸对 Cd 胁迫下对玉米株高和生物量的影响

Figure 1 Effects of different concentrations SA on the height and biomass of maize plants exposed to Cd stress

降低到 2.73 和 1.89,说明随着 Cd 胁迫的加剧,玉米叶片的衰老程度增强。

外源 SA 对 Cd 胁迫造成的叶绿素含量下降有明显的缓解作用。与  $0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SA 相比,当 Cd 浓度为  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,外源 SA 浓度 50~500  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  处理玉米叶片中叶绿素 a 的含量分别提高了 85.9%、122.5%、35.6%和 10.1%,叶绿素 b 的含量分别提高了 67.9%、96.3%、74.3%和 14.7%,总的叶绿素(a+b)提高了 81.3%、115.2%、45.9%和 11.1%,对于表征叶片衰老程度的叶绿素 a/b 值,50  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  和 100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SA 处理可提高 10.6%和 13.6%;在高浓度  $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Cd 胁迫时,外源 SA 在浓度 50~500  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  对叶绿素含量仍有明显提高,叶绿素 a 的含量分别提高了 31.7%、346.3%、172.6%和 69.5%,叶绿素 b 的含量分别提高了 29.9%、249.4%、158.6%和 13.8%,总的叶绿素(a+b)提高了 31.1%、312.7%、168.1%和 50.2%,对于表征叶片衰老程度的叶绿素 a/b 值,100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SA 浓度处理具有较好的效果,提高了 27.5%。在外源 SA 处理中,也以 100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SA 浓度处理对缓解 Cd 胁迫下叶绿素的影响效果较佳。

### 2.3 水杨酸对 Cd 胁迫玉米叶片氮素代谢的影响

SA 和 Cd 处理下,玉米叶片中的硝态氮和亚硝态氮含量出现明显变化(图 3)。在 Cd 浓度为  $10 \mu\text{mol} \cdot$

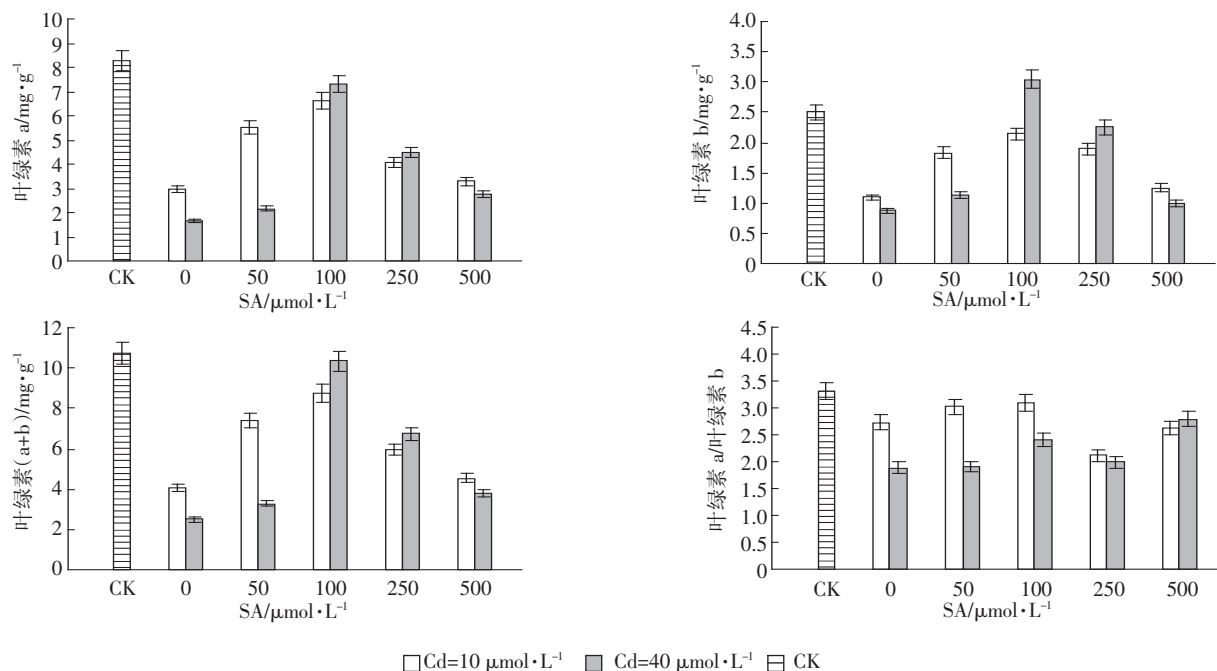
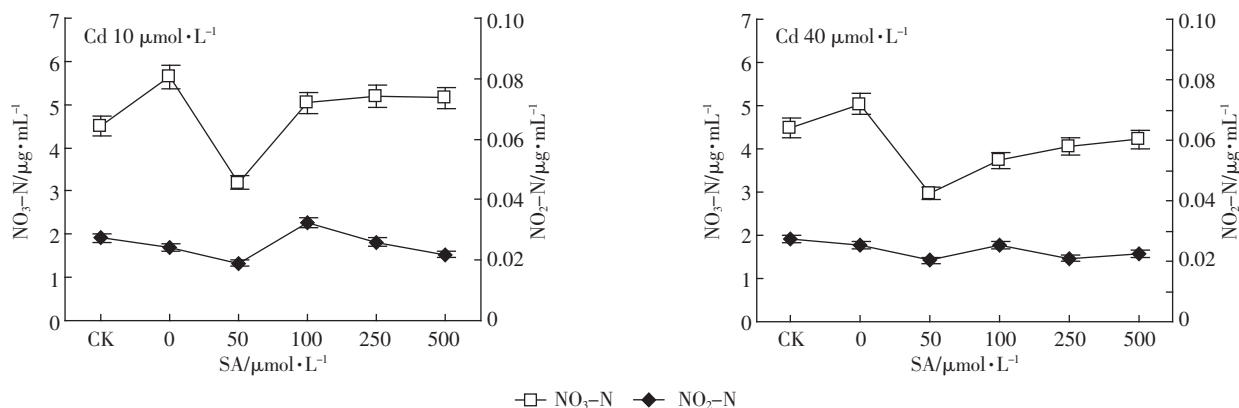


图 2 不同浓度水杨酸对 Cd 胁迫下玉米叶绿素的影响

Figure 2 Effects of different concentrations SA on the chlorophyll in the leaves of maize plants exposed to Cd stress

图 3 不同浓度水杨酸对 Cd 胁迫下玉米叶片硝氮( $\text{NO}_3\text{-N}$ )、亚硝氮( $\text{NO}_2\text{-N}$ )的影响Figure 3 Effects of different concentrations SA on the nitrate nitrogen ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ) and nitrite nitrogen ( $\text{NO}_2\text{-N}$ ) in the leaves of maize plants exposed to Cd stress

$\text{L}^{-1}$  和  $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  不添加 SA 时, 硝态氮含量分别为  $5.04 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  和  $5.64 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 分别是对照的 1.13 和 1.27 倍, 而亚硝态氮含量与对照持平, 表明 Cd 胁迫引起玉米硝态氮的累积。经  $50\sim 500 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  外源 SA 处理后, 无论是  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  还是  $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Cd 胁迫, 硝态氮的含量出现增加趋势, 但仍低于只有 Cd 胁迫时的含量; 其中  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  SA 处理硝态氮只有对照的 69.8% 和 77.0%, 而此时的亚硝态氮含量与单独 Cd 胁迫下的含量持平。说明 SA 能有效地缓解由 Cd 引起的硝酸盐转化受阻的情况 (图 3)。

进一步分析叶片中与氮代谢相关的酶活性, 发现随着 SA 处理浓度的增加, 玉米叶片中的 NR 的活性呈现先上升后下降的变化趋势 (图 4)。在 SA 处理浓度为  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 两种 Cd 浓度胁迫下玉米叶片中 NR 活性均达到最大值, 分别为对照的 1.32 倍和 1.29 倍。在 SA 浓度为  $0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时,  $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Cd 处理的玉米叶片中 NR 活性最低, 仅为对照的 0.71 倍。GS 是植物  $\text{NH}_4^+$  同化的关键酶,  $50, 100, 250 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  SA 处理显著增加了 Cd 胁迫下玉米叶片中 GS 的活性。而  $0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 SA 处理使在

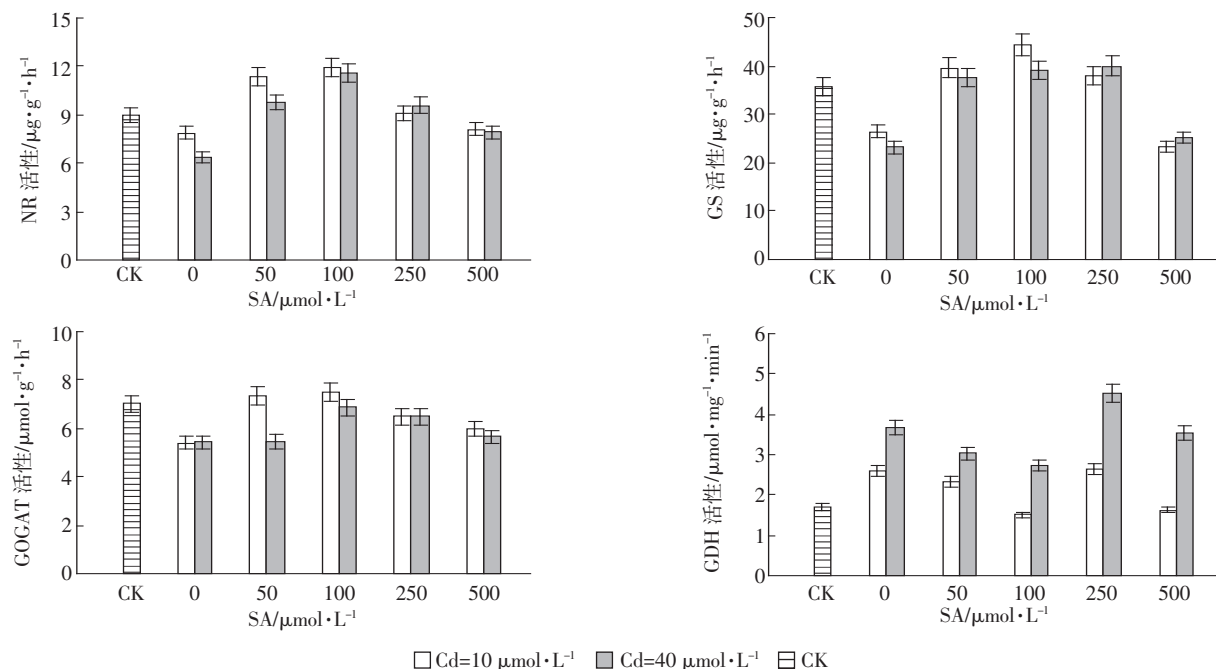


图 4 不同浓度水杨酸对 Cd 胁迫下玉米叶片中 NR、GS、GOGAT、GDH 活性的影响

Figure 4 Effects of different concentrations SA on the activities of NR、GS、GOGAT and GDH in the leaves of maize plants exposed to Cd stress

Cd 胁迫下玉米叶片 GS 活性显著低于对照。Cd 胁迫使玉米叶片 GOGAT 活性显著低于对照, 而 50、100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  SA 处理下受 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Cd 胁迫玉米叶片 GOGAT 活性与对照无显著差异;除此以外,其他处理均低于对照。在 Cd 胁迫下, GDH 活性呈先升高后降低的变化趋势,除了 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Cd 胁迫下 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  和 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  SA 处理的玉米叶片 GDH 活性无显著变化以外,均高于对照。表明 GDH 在氮素代谢过程中起重要作用。

#### 2.4 水杨酸对 Cd 胁迫玉米根系过氧化物酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)的影响

Cd 胁迫可诱导玉米 POD 活性的增加, 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Cd 比 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Cd 诱导的 POD 上升幅度大,这种效应在处理 5~15 d 内非常明显,是因为 Cd 处理导致植物中大量  $\text{H}_2\text{O}_2$  等活性氧的累积,打破了活性氧产生与降解的平衡,从而刺激了过氧化物酶 POD 等抗氧化酶的活性。在处理 20 d, POD 的活性逐渐下降,且 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 Cd 显著低于 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Cd 诱导的 POD。在浓度为 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  和 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的外源 SA 处理下, POD 在处理 5~10 d 活性有所升高,但在第 15 d 时略微降低,有的甚至大幅度减小至 0.026  $\text{min}\cdot\text{mg}^{-1}$ ,仍比对照高 7.7%;而在 15~20 d 期间, POD 活性迅速升高(图 5)。这说明低浓度的 SA 能增强 POD 的活性,缓解因 Cd 引起的过量活性氧对植

物造成的伤害。当 SA 的浓度大于 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时,明显抑制了 POD 的活性,可能的原因是高浓度的 SA 降低了相应的酶活性。由上述结果可以看出,外源 SA 对 POD 酶活性具有双重影响。

SOD 是活性氧清除反应中的一个重要的抗氧化酶,对于清除氧自由基,防止氧自由基破坏细胞的组成、结构和功能,保护细胞免受氧化损伤具有十分重要的作用。Cd 胁迫导致 SOD 酶活性的增强,这种效应在处理第 5~15 d 期间比较显著,且 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Cd 比 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Cd 处理诱导的 SOD 上升幅度大。这可能是植物对 Cd 胁迫的一种适应性反应,通过提高抗氧化酶的活性来缓解氧自由基对植物的破坏作用。在 Cd 浓度为 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时,浓度小于 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 SA 可以不同程度地增加 Cd 胁迫下玉米根系 SOD 活性;在处理第 5 d 时, 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  SA 处理下 SOD 活性达最大值 15.43  $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ ;在 Cd 浓度为 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时,浓度小于 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 SA 使 SOD 活性达最大值 15.14  $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。当 SA 浓度大于 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时,植物 SOD 活性呈下降趋势,且随着时间变化,这种趋势更加明显,如处理后 20 d SA 浓度为 500  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, SOD 活性分别为 8.29  $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$  和 8.86  $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,比对照分别降低了 21.6% 和 17.4%(图 6)。这说明 SA 只能在一定范围内对植物 SOD 活性产生促进作用,超过这个范围将产生抑制作用。

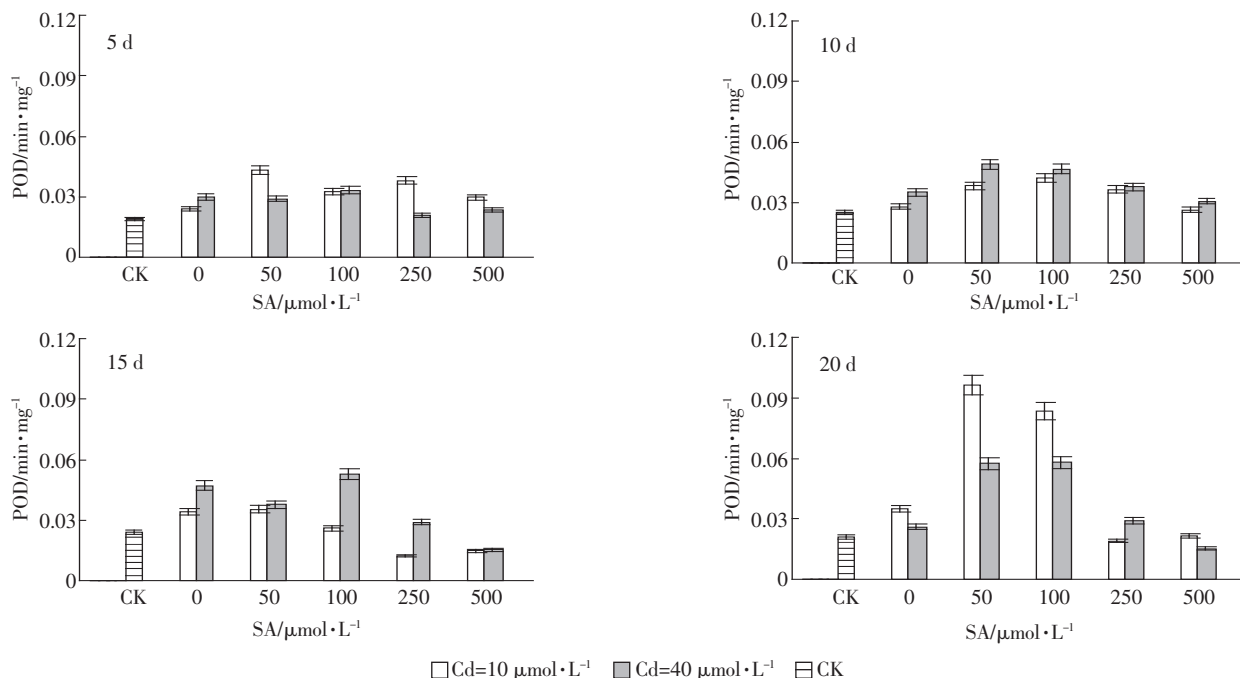


图 5 不同浓度水杨酸对 Cd 胁迫下玉米根系过氧化物酶(POD)活性的影响

Figure 5 Effects of different concentrations SA on the activities of guaiacol peroxidase(POD) in the root of maize plants exposed to Cd stress

### 3 讨论

Cd 胁迫导致了玉米叶绿素含量的降低、硝酸盐的累积,同时对 POD 和 SOD 的酶活性具有一定的影响,株高和生物量生长发育明显受阻;浓度越高,出现的 Cd 毒症状越明显。加入外源 SA 后,Cd 的毒害现象得到了明显的缓解。

重金属 Cd 胁迫可造成叶绿素含量降低,从而影响 PSII 的活性、叶绿素荧光特性和能量分配,进而影响光合作用<sup>[2-3]</sup>。外源 SA 对 Cd 胁迫造成的叶绿素含量下降有明显的缓解作用,在  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  SA 处理下,玉米叶绿素含量有显著的提高,在一定程度上缓解了 Cd 胁迫对叶片的伤害。SA 对受 Cd 胁迫植物的叶绿体膜的保护性作用可能是主要原因之一<sup>[34]</sup>。一些研究认为,外源的 SA 作为信号传递分子,促进了根系生长,并促使其正常发挥吸收功能,缓解了 Cd 引起的 Mg 等营养元素吸收量的下降,从而稳定了叶绿素含量。但是 SA 与叶绿素含量之间的真正关系还不清楚,是与增强根系吸收 Mg 的能力有关,还是与叶绿素的生物合成有关,尚待探讨<sup>[6]</sup>。

硝酸还原酶是硝态氮转化的关键酶,也是植物同化硝酸盐的限速酶,Cd 胁迫可抑制硝酸还原酶的活性,降低了硝酸盐还原成亚硝酸盐的效率,使得硝酸盐向亚硝酸盐转化的过程受阻,从而造成叶片中大量

硝酸盐的累积;而亚硝酸还原酶活性远大于硝酸还原酶活性,从而避免了亚硝酸盐累积对组织的毒性<sup>[35]</sup>。实验发现在  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Cd 胁迫下均会导致硝酸盐在玉米体内的累积,但对亚硝酸盐含量影响不大。由于硝酸还原酶是一种含-SH 的黄素蛋白酶,Cd 可以通过与-SH 结合而使其失活。硝酸还原酶活性的降低,除了与其是富含-SH 的酶有关外,还可能与 Cd 累积抑制硝酸还原酶基因的表达有关<sup>[36]</sup>。SA 能有效地缓解由 Cd 引起的硝酸盐转化受阻的情况,浓度为  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的外源 SA 处理可使硝酸盐显著下降,其原因在于外源 SA 会显著提高还原动力泵硝酸还原酶的活性,减少了硝酸盐的累积。关于外源 SA 提高硝酸还原酶活性的原因,Jain 和 Srivastava<sup>[37]</sup>认为,外源 SA 可通过植物激素调节硝酸还原酶的活性。植物吸收的硝酸盐在一系列反应之后被还原成铵,而铵的初始同化发生在 GS-GOGAT 循环中,高等植物体内 95% 以上的  $\text{NH}_4^+$  通过 GS-GOGAT 循环同化<sup>[38]</sup>。Cd 胁迫显著抑制 GS-GOGAT 活性,GS 和 GOGAT 活性的降低将影响植物正常的 GS-GOGAT 循环,导致  $\text{NH}_4^+$  的累积。植物体累积大量的  $\text{NH}_4^+$  后,高浓度的  $\text{NH}_4^+$  将对植物产生毒害作用<sup>[39]</sup>。而在  $50\sim 250 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  SA 处理下,受 Cd 胁迫玉米叶片中的 GS 活性显著高于对照,缓解了因 Cd 胁迫引起 GOGAT 活性所受到的抑制作用。GDH 可以在缓解铵毒和补充

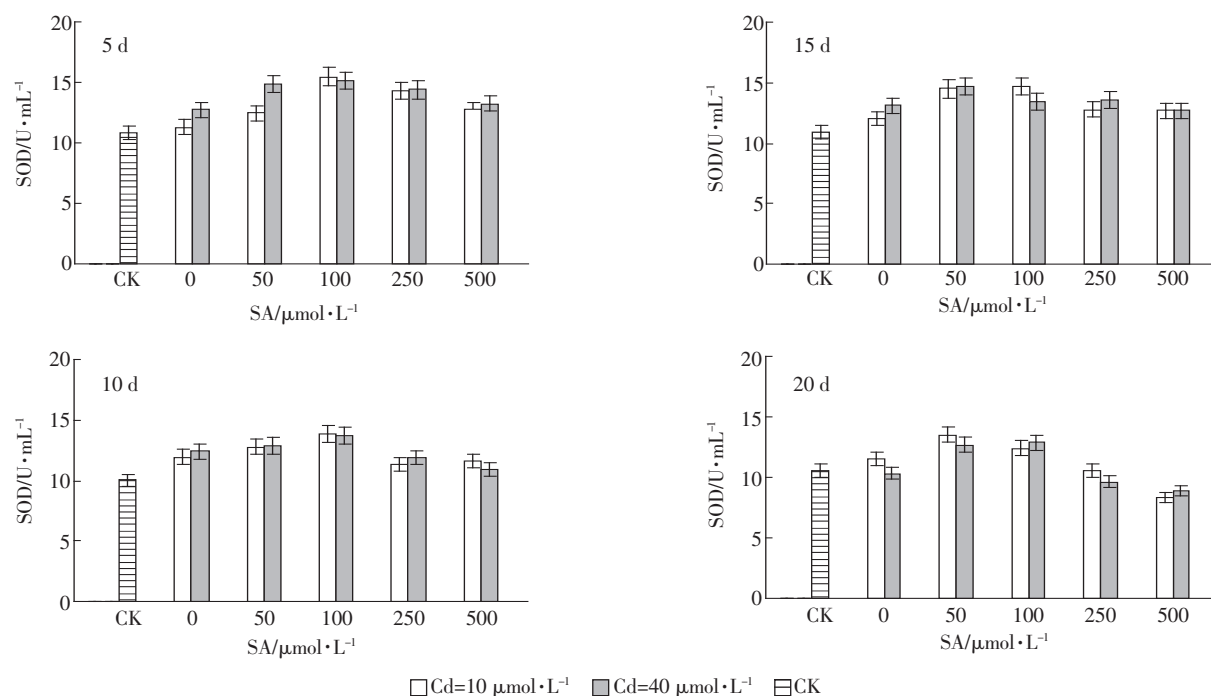


图6 不同浓度水杨酸对Cd胁迫下玉米根系超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响  
Figure 6 Effects of different concentrations SA on the activities of superoxide dismutase(SOD) in the root of maize plants exposed to Cd stress

谷氨酸库中起着重要作用<sup>[40]</sup>,Cd处理显著提高了玉米叶片中GDH活性,可能的原因是Cd引起GS-GOGAT循环受阻导致大量NH<sub>4</sub><sup>+</sup>累积,从而通过提高GDH活性缓解铵毒。而在SA处理下受Cd胁迫的玉米叶片中GS-GOGAT循环受抑制作用得到有效缓解,所以GDH活性有所下降,但还是显著高于对照,说明SA处理对玉米叶片中氮素代谢调节起着重要作用。

Cd诱导产生的自由基破坏植物的抗氧化系统形成氧化胁迫是Cd毒害的原因之一,Cd胁迫可诱导玉米POD和SOD活性的增加。SOD是植物抗氧化系统的第一道防线,它可以使Mehler反应中产生的活性氧转化成H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,然后通过POD、CAT等将转化为H<sub>2</sub>O和O<sub>2</sub>,从而有效地阻止O<sub>2</sub><sup>-</sup>和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>相互作用对细胞膜产生更大的伤害。Cho和Seo<sup>[41]</sup>认为,SOD活性的下降,可能是Cd诱导氧化毒害的主要原因。在本研究中,Cd胁迫下SOD和POD活性明显增加,可能是植物对Cd胁迫的一种应激反应。随活性氧的升高,SOD等的活性相应升高,于是活性氧的形成与清除在新的水平上达到新的动态平衡,避免细胞受超氧自由基的攻击,成为Cd胁迫下机体中毒损伤的内在机制之一<sup>[42]</sup>。加入外源SA后,提高了SOD、POD活性,特别是浓度为50 μmol·L<sup>-1</sup>时效果较佳。这与其他研究者

关于重金属胁迫下SA预处理会引起SOD进一步增加的结果一致<sup>[20,43-45]</sup>。关于SA能缓解重金属引起的氧化伤害的机理,认为SA是羟自由基和螯合铁复合物的直接清除者;SA通过螯合铁离子从而专一性地抑制诸如CAT、APX、顺乌头酸酶和氧化酶等含铁的酶类,同时SA可能作为一个单电子供体,促使逆境下猛增的CAT循环转向相对慢(低约1000倍)的过氧化循环<sup>[46]</sup>。另一种观点认为SA并不直接作用于损伤部位,而是通过激活防御机制保护植物自身,缓解外界胁迫的影响<sup>[13,22]</sup>。但Ashraf等则发现<sup>[13]</sup>,SA所激活的防御机制与植物自身抗氧化反应无关。所以,SA缓解Cd胁迫对植物损伤的其他机制还有待进一步的研究。

#### 4 结论

(1)加入浓度为50~250 μmol·L<sup>-1</sup>的外源SA后,玉米的株高分别增加了9.4%、26.0%和13.5%,生物量分别增加13.5%、27.0%和13.5%,说明外源SA对Cd胁迫下的玉米生物学性状具有改善修复作用。

(2)浓度为10 μmol·L<sup>-1</sup>和40 μmol·L<sup>-1</sup> Cd胁迫可造成玉米叶绿素含量降低。外源SA浓度50~250 μmol·L<sup>-1</sup>处理在10 μmol·L<sup>-1</sup> Cd胁迫下可提高叶绿素含量81.3%、115.2%和45.9%,在40 μmol·L<sup>-1</sup> Cd胁迫

迫下可提高叶绿素含量 31.1%、312.7%和 168.1%,显著地减缓了叶片的衰老。

(3)在  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Cd 胁迫下均会导致硝态氮在玉米体内的累积,但对亚硝态氮含量影响不大。硝酸还原酶活性提高了 1.32 倍和 1.29 倍,叶中硝态氮的含量降低了 30%;提高了谷氨酰胺合成酶(GS)和谷氨酸合成酶(GOGAT)活性 60%以上,维持了氮素代谢过程的良好进行。

(4)Cd 胁迫可使玉米根系受到氧化胁迫,外源 SA  $50\sim 100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  可显著提高玉米根系 POD 和 SOD 的活性,抑制氧化胁迫。

(5)综合考虑光合色素、氮素代谢和氧化胁迫,具有良好修复作用的外源 SA 浓度为  $50\sim 100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

#### 参考文献:

- [1] 孙 波,周生路,赵其国. 基于空间变异分析的土壤重金属复合污染研究[J]. 农业环境科学学报, 2003, 22(2):248-251.  
SUN Bo, ZHOU Sheng-lu, ZHAO Qi-guo. Combined pollution of heavy metal in soil based on spatial variation analysis[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2003, 22(2):248-251.
- [2] 江行玉,赵可夫. 植物重金属伤害及其抗性机理[J]. 应用与环境生物学报, 2001, 7(1):92-99.  
JIANG Xing-yu, ZHAO Ke-fu. Mechanism of heavy metal injury and resistance of plants[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2001, 7(1):92-99.
- [3] Sanita di Toppi L, Gabbriellini R. Response to cadmium in higher plants [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 1999, 41:105-130.
- [4] Wagner G J. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health[J]. *Advances in Agronomy*, 1993, 51:173-212.
- [5] Salt D E, Prince R C, Pickering I J, et al. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard[J]. *Plant Physiology*, 1995, 109:1427-1433.
- [6] 陈 珍,朱 诚. 水杨酸在植物抗重金属元素胁迫中的作用[J]. 植物生理学通讯, 2009, 45(5):497-502.  
CHEN Zhen, ZHU Cheng. Role of salicylic acid in resistance on heavy metal element in plant[J]. *Plant Physiology Communications*, 2009, 45(5):497-502.
- [7] HE Jun-yu, REN Yan-fang, PAN Xue-bo, et al. Salicylic acid alleviates the toxicity effect of cadmium on germination, seedling growth, and amylase activity of rice[J]. *Journal of Plant Nutrition Soil Science*, 2010, 173:300-305.
- [8] GUO Bin, LIANG Yong-chao, LI Zhao-jun, et al. Role of salicylic acid in alleviating cadmium toxicity in rice roots [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2007, 30:427-439.
- [9] GUO Bin, LIANG Yong-chao, ZHU Y G, et al. Role of salicylic acid in alleviating oxidative damage in rice roots (*Oryza sativa*) subjected to cadmium stress[J]. *Environmental Pollution*, 2007, 147:743-749.
- [10] Choudhury S, Panda S K. Role of salicylic and regulating cadmium induced oxidation stress in *Oryza sativa* L. roots[J]. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 2004, 30(3-4):95-110.
- [11] CHAO Yun-yang, CHEN Chao-ye, HUANG Wen-da, et al. Salicylic acid-mediated hydrogen peroxide accumulation and protection against Cd toxicity in rice leaves[J]. *Plant and Soil*, 2009, 329(1):327-337.
- [12] Popova L P, Maslenkova L T, Yordanova R Y, et al. Exogenous treatment with salicylic acid attenuates cadmium toxicity in pea seedlings [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2009, 47:224-231.
- [13] Metwally A, Finkemeier I, Georgi M, et al. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings[J]. *Plant Physiology*, 2003, 132:272-281.
- [14] Shi G R, Cai Q S, Liu Q Q, et al. Salicylic acid-mediated alleviation of cadmium toxicity in hemp plants in relation to cadmium uptake, photosynthesis, and antioxidant enzymes[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2009, 31:969-977.
- [15] LIU Cai-feng, GUO Jia-li, CUI Yan-lan, et al. Effects of cadmium and salicylic acid on growth, spectral reflectance and photosynthesis of castor bean seedlings[J]. *Plant and Soil*, 2011, 344:131-141.
- [16] Moussa H R, EL-Gamal S M. Effect of salicylic acid pretreatment on cadmium toxicity in wheat[J]. *Biologia Plantarum*, 2010, 54(2):315-320.
- [17] Moussa H R, EL-Gamal S M. Role of salicylic acid in regulation cadmium toxicity in wheat (*Triticum Aestivum* L. ) [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2010, 33:1460-1471.
- [18] 马建军, 邹德文, 吴贺平. 腐植酸钠对 Cd 胁迫小麦幼苗生物效应的研究[J]. 中国生态农业学报, 2005, 13(2):91-93.  
MA Jian-jun, ZOU De-wen, WU He-ping. Biological effect of sodium humate on the Cd-stressed wheat seedlings[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2005, 13(2):91-93.
- [19] Cui W T, Gao Z Z, Wu H H, et al. Haem oxygenase-1 is involved in salicylic acid-induced alleviation of oxidative stress due to cadmium stress in *Medicago sativa* [J]. *Experimental Botany*, 2012, 65(13):5521-5534.
- [20] Krantev A, Yordanova R, Janda T, et al. Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2008, 165:920-931.
- [21] 李彩霞, 李 鹏, 苏永发, 等. 水杨酸对 Cd 胁迫下玉米幼苗质膜透性和保护酶活性的影响[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(5):882-884.  
LI Cai-xia, LI Peng, SU Yong-fa, et al. Effect of salicylic acid on permeability of plasma membrane and activities of protect enzymes of maize (*Zea mays* L.) seedlings under cadmium stress[J]. *Plant Physiology Communications*, 2006, 42(5):882-884.
- [22] Drazic G, Mihailovic N. Modification of cadmium toxicity in soybean seedlings by salicylic acid[J]. *Plant Science*, 2005, 168:511-517.
- [23] Belkadi A, Hédiji H, Abbes Z, et al. Influence of salicylic acid pretreatment on cadmium tolerance and its relationship with non-protein thiol production in flax root[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2012, 11(41):9788-9796.
- [24] Mba F O, XIONG Zhi-ting, QIU Hai-jie. Salicylic acid alleviates the

- cadmium toxicity in Chinese Cabbage (*Brassica Chinensis*) [J]. *Pakistan Journal of Biological Science*, 2007, 10(18):3065–3071.
- [25] 陈良, 隆小华, 晋利, 等. 外源水杨酸对Cd胁迫下两种菊芋品系幼苗的缓解作用[J]. 生态学杂志, 2011, 30(10):2155–2164.  
CHEN Liang, LONG Xiao-hua, JIN Li, et al. Mitigation effects of exogenous salicylic acid on the seedling growth of two helianthus tuberosus varieties under Cd stress[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2011, 30(10):2155–2164.
- [26] 刘素纯, 萧浪涛, 廖柏寒, 等. 水杨酸对铅胁迫下黄瓜幼苗叶片膜脂过氧化的影响[J]. 生态环境, 2006, 15(1):45–49.  
LIU Su-chun, XIAO Lang-tao, LIAO Bo-han, et al. Effects of exogenous salicylic acid on peroxidation of leaf membrane-lipid in cucumber seedlings under lead stress[J]. *Ecology and Environment*, 2006, 15(1):45–49.
- [27] 周莹, 寿森炎, 贾承国, 等. 水杨酸信号转导及其在植物抵御生物胁迫中的作用[J]. 自然科学进展, 2007, 17(3):305–311.  
ZHOU Ying, SHOU Sen-yan, JIA Cheng-guo, et al. Role of salicylic acid in the resistance of plant to biotic stress[J]. *Progress in Natural Science*, 2007, 17(3):305–311.
- [28] 邵小杰, 杨洪强, 冉昆, 等. 水杨酸对Cd胁迫下葡萄根系质膜ATPase和自由基的影响[J]. 中国农业科学, 2010, 43(7):1441–1447.  
SHAO Xiao-jie, YANG Hong-qiang, RAN Kun, et al. Effects of salicylic acid on plasma membrane ATPase and free radical of grape root under cadmium stress[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(7):1441–1447.
- [29] Rasin I. Role of salicylic acid in plants[J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1992, 43:439–463.
- [30] Luo J P, Jiang S T, Pan L J. Enhanced somatic embryogenesis by salicylic acid of *Astragalus adsurgens* Pall: Relationship with  $H_2O_2$  production and  $H_2O_2$ -metabolizing enzyme activities[J]. *Plant Science*, 2001, 161:125–132.
- [31] 张志良, 翟伟菁, 李小方. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009.  
ZHANG Zhi-liang, DI Wei-jing, LI Xiao-fang. Guidance of plant physiology experiments[M]. Beijing: Higher Education Press, 2009.
- [32] 中国科学院上海植物研究所. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999.  
Shanghai Institute of Plant Physiology, Chinese Academy Sciences. Experimental guidebook of modern plant physiology[M]. Beijing: Science Press, 1999.
- [33] Sánchez E, Rivero R M, Ruiz J M. Changes in biomass, enzymatic activity and protein concentration in roots and leaves of green bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike) under high  $NH_4NO_3$  application rates [J]. *Scientific Horticulture*, 2004, 99(3):237–248.
- [34] 王宝山, 赵可夫, 邹琦. 作物耐盐机理研究进展及提高作物抗盐性的对策[J]. 植物学通报, 1997, 14(增刊):235–240.  
WANG Bao-shan, ZHAO Ke-fu, ZOU Qi. Advance in mechanism of crop salt tolerance and strategies for raising crop salt tolerance[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 1997, 14(Suppl):235–240.
- [35] 曹岩坡, 高志奎, 何俊萍, 等. 外源水杨酸对韭菜硝酸盐累积及还原同化的影响[J]. 园艺学报, 2009, 36(3):415–420.  
CAO Yan-po, GAO Zhi-kui, HE Jun-pin, et al. Effects of exogenous salicylic acid on nitrate accumulation and reduction and assimilation in the leaves of Chinese chive[J]. *Horticulturae Sinica*, 2009, 36(3):415–420.
- [36] Gouia H, Ghorbal M H, Meyer C. Effects of cadmium on activity of nitrate reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2000, 38:629–638.
- [37] Jain A, Srivastava H S. Effect of salicylic acid on nitrate reductase activity in maize seedlings[J]. *Physiologia Plantarum*, 1981, 51:339–342.
- [38] 莫良玉, 吴良欢, 陶勤南. 高等植物GS-GOGAT循环研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2001, 7(2):223–231.  
MO Liang-yu, WU Liang-huan, TAO Qin-nan. Research advances on GS/GOGAT cycle in higher plants[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2001, 7(2):223–231.
- [39] 于方明, 李燕, 刘可慧, 等. Mn对超富集植物短毛蓼和水蓼生长、Mn吸收及氮素代谢的影响[J]. 环境科学学报, 2011, 31(8):1783–1789.  
YU Fang-ming, LI Yan, LIU Ke-hui, et al. Effects of manganese on the growth and nitrogen metabolism in hyperaccumulators *oligonum pubescens* blume and *polygonum hydropiper* L.[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2011, 31(8):1783–1789.
- [40] Ewa G E, Maria S M. Nickel-induced changes in nitrogen metabolism in wheat shoots[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2009, 166:1034–1044.
- [41] Cho U H, Seo N H. Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation[J]. *Plant Science*, 2005, 168:113–120.
- [42] WU Fei-bo, ZHANG Guo-ping, Dominy P. Four barley genotypes respond differently to cadmium: Lipid peroxidation and activities of antioxidant capacity[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2003, 50:67–78.
- [43] CHEN Jing, ZHU Cheng, LI Li-ping, et al. Effects of exogenous salicylic acid on growth and  $H_2O_2$ -metabolizing enzymes in rice seedlings under lead stress[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2007, 19:44–49.
- [44] SHI Qing-hua, ZHU Zhu-jun. Effects of exogenous salicylic acid on manganese toxicity, element contents and antioxidative system in cucumber[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2008, 63:317–326.
- [45] Bai T, Li C Y, Ma F W, et al. Exogenous salicylic acid alleviates growth inhibition and oxidative stress induced by hypoxia stress in *Malus robusta* Rehd.[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2009, 28(4):358–366.
- [46] Durner J, Klessig D F. Salicylic acid is a modulator of tobacco and mammalian catalases[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271:28492–28501.