

外源脱落酸对甘蓝型油菜镉胁迫的生理响应及基因表达分析

陈静, 赵玉全, 黄锡金, 贺春军, 张大为, 肖璐, 刘丽莉

(湖南科技大学生命科学与健康学院/经济作物遗传改良与综合利用湖南省重点实验室, 湘潭 411201)

摘要: 脱落酸(ABA)在植物应对非生物逆境胁迫的过程中起到重要作用,然而脱落酸调控油菜幼苗对镉(Cd)胁迫的分子机制仍有待阐明。本研究以甘蓝型油菜(*Brassica napus* L.)油肥一号为试验材料,在Hoagland液中添加10 μmol/L Cd模拟镉胁迫,分析外施5 μmol/L ABA对油菜镉胁迫下叶片光合速率、叶绿素和类胡萝卜素含量、幼苗地上/地下部Cd含量、转录组中差异表达基因的影响。结果显示,Cd胁迫3 d,油菜叶片净光合速率、蒸腾速率和气孔导度显著上升,叶绿素和类胡萝卜素含量降低,地上部和地下部镉含量显著增加,施用脱落酸能有效降低叶片蒸腾速率、气孔导度,以及地上部和地下部镉含量,明显提高叶绿素a、类胡萝卜素含量。通过转录组测序筛选差异表达基因,获得脱落酸调节油菜Cd胁迫特有上调基因514个,下调基因431个,并对其所富集的相关通路分析。KEGG代谢通路富集分析表明,差异表达基因被大量富集在蔗糖和淀粉代谢、次生代谢物生物合成、代谢途径、MAPK信号通路等。GO功能富集发现,差异表达基因被富集在半纤维素代谢、氧化还原酶活性、含苯化合物代谢、细胞壁大分子代谢过程、系统获得性抗性 etc 分类条目中。qRT-PCR验证与转录组测序结果一致。进一步分析外源脱落酸对镉胁迫下油菜叶片木质素和半纤维素代谢相关基因*XTH*、*BXL*、*PAL*、*C4H*等的差异表达情况发现其在脱落酸处理后大部分呈现下调表达,研究结果为脱落酸调控油菜镉胁迫的生理机制和分子育种提供参考依据。

关键词: 油菜;镉;外源脱落酸;生理响应;转录组

Physiological Response and Transcriptome Analysis of Exogenous Abscisic Acid to Cadmium Stress in *Brassica napus*

CHEN Jing, ZHAO Yuquan, HUANG Xijin, HE Chunjun, ZHANG Dawei, XIAO Lu, LIU Lili

(School of Life and Health Sciences, Hunan University of Science and Technology/Hunan Key Laboratory of Economic Crops Genetic Improvement and Integrated Utilization, Xiangtan 411201)

Abstract: Abscisic acid (ABA) plays a crucial role in plant response to abiotic stress. However, the molecular mechanism by which ABA inhibits the absorption of cadmium (Cd) in *Brassica napus* seedlings remains to be elucidated. In this study, 'Youfei 1' of *Brassica napus* L. was used as experimental material, and application of 10 μmol/L Cd in Hoagland solution was conducted to simulate cadmium stress. The effects of adding 5 μmol/L ABA under cadmium stress condition, on photosynthetic rate, chlorophyll, carotenoid contents in leaves, cadmium content in above/below ground parts of seedlings and gene expression were analyzed. The results showed that the photosynthetic rate, transpiration rate and stomatal conductance of the leaves were significantly increased, while the contents of chlorophyll and carotenoid were decreased. The contents of cadmium in aboveground and underground tissues were significantly increased under Cd stress condition if compared with that of the control group. The application of ABA could effectively reduce the leaf transpiration

收稿日期: 2024-02-25 网络出版日期: 2024-09-27

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240225001>

第一作者研究方向为作物遗传育种及其逆境调控, E-mail: 675940447@qq.com

通信作者: 肖璐, 研究方向为作物逆境调控, E-mail: xiaolu65218@sina.com

刘丽莉, 研究方向为作物遗传育种及其逆境调控, E-mail: liulili276@163.com

基金项目: 国家自然科学基金(32071965)

Foundation project: National Natural Science Foundation of China (32071965)

rate and stomatal conductance, as well as the contents of cadmium in aboveground and underground parts, and significantly increase the contents of chlorophyll a and carotenoid. Through transcriptome sequencing to identify differentially expressed genes (DEGs), 514 upregulated and 431 downregulated genes were found. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis indicated that DEGs were heavily enriched in pathways such as sucrose and starch metabolism, secondary metabolite biosynthesis, metabolic pathways, and the MAPK signaling pathway, etc. Gene Ontology (GO) functional enrichment revealed that DEGs were enriched in categories such as hemicellulose metabolism, oxidoreductase activity, phenolic compound metabolism, cell wall macromolecule metabolism, and system acquired resistance. The transcriptional trend of selected genes revealed by qRT-PCR is consistent with the transcriptome sequencing results. Further analysis of the differential expression of lignin-related and hemicellulose-related genes (*XTH*, *BXL*, *PAL*, *C4H*, etc.) in rapeseed leaves under Cd stress revealed that most of these genes were downregulated after abscisic acid treatment. These findings provide a reference for understanding the physiological mechanisms of ABA regulation under Cd stress and contribute to molecular breeding efforts for rapeseed.

Key words: rapeseed; cadmium; exogenous abscisic acid; physiological response; transcriptome

镉(Cd, cadmium)是最具毒性的土地重金属污染物之一^[1],不仅会导致农作物减产^[2],而且易在植物中积累,通过食物链直接危害人类健康^[3]。我国土壤总污染率高达16.1%,其中Cd污染物超标率高达7%^[4],严重影响作物、蔬菜的安全生产。已有研究表明,生菜在0.02 mg/L Cd胁迫14 d后叶片细胞质中出现聚集的Cd颗粒物,同时叶绿体外膜大量破裂,严重抑制了光合作用^[5]。烟草(*Nicotiana tabacum*. L cv. NC89)经0.5 mmol/L Cd胁迫1周后生长发育明显受阻,叶面积减小且叶绿素含量显著降低、叶片黄化程度增加^[6]。油菜秦油1号在5 mg/L Cd胁迫16 d后,幼苗地上部和地下部镉含量分别增加了33.12倍和284.81倍^[7],地下根部具有较强的Cd积累能力。甘蓝型油菜814号经10 μmol/L Cd处理4 d后,表现出明显的镉中毒现象,如新叶黄化、根部变短,且其脯氨酸含量上升了29.0%,丙二醛含量、硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶活性也均显著增加^[8]。

脱落酸(ABA, abscisic acid)是一种对植物生长、种子休眠和叶片衰老等起重要调节作用的激素,还能在各种非生物胁迫下作出反应^[9]。脱落酸可以通过诱导气孔闭合来降低蒸腾速率,而植物的蒸腾速率与植物对重金属的吸收密切相关^[10]。研究表明,施用5 μmol/L 外源脱落酸明显降低了海棠叶片蒸腾速率和根中Cd的内流速率,而80 μmol/L 外源脱落酸合成抑制剂氟啶酮可增加根茎和叶片对Cd的吸收能力,以及Cd由地下部向地上部的转移率,显著增加根系细胞的死亡率^[11]。红菜苔在50、100 μmol/L Cd胁迫条件下,其叶片和根中的丙二醛和H₂O₂含量显著增加、可溶性蛋白含量降低;

而外施5 μmol/L 外源脱落酸可减少丙二醛和过氧化氢含量,增加可溶性蛋白含量,促进抗氧化酶活性和显著增加叶绿素含量^[12]。野生型拟南芥施用0.5 μmol/L 外源脱落酸能抑制10 μmol/L Cd胁迫下根部铁调节转运蛋白(IRT, iron-regulated transporter)、锌-铁转运蛋白(ZIP1, transporter-like protein)的表达,从而减少镉在植物体内积累^[13]。此外,施加0.5 μmol/L 外源脱落酸可调节Cd胁迫下拟南芥的生长状况,如降低根部半纤维素含量,减少Cd在根细胞壁的积累,显著上调可以促进细胞中镉外排的多功能药物抗性家族(PDR, pleiotropic drug resistance)以及促进细胞质对镉的螯合作用的植物防御素(PDF, plant defensin)^[14]。张大为等^[15]用30 mg/kg Cd处理甘蓝型油菜,发现根部参与细胞壁形成的基因主要通过上调表达来提高对镉的耐受性。Feng等^[16]发现用10 mmol/L Cd处理甜高粱后,参与苯丙烷和木质素通路相关基因以及细胞壁大分子代谢基因大多都上调表达。

油菜是我国重要油料作物,分布范围广,耐镉、抗贫瘠能力较强,易从土壤中吸收且富集镉^[9]。因此,油菜在镉污染的土壤上的安全生产和食品监管越来越被重视。前期研究表明利用5 μmol/L 外源脱落酸可改善Cd胁迫对甘蓝型油菜的毒害作用,有效提高其株高、长、谷胱甘肽含量和超氧化物歧化酶活性,丙二醛含量则明显下降^[17]。在中低度镉污染的土壤上解决作物镉超标是目前面临的普遍问题,施用脱落酸是目前解决植物镉超标较为理想的方式之一^[18]。然而利用外源脱落酸调控油菜抑制镉吸收的生理响应和分子机制仍不清楚。本研究拟通过施用

外源脱落酸对Cd胁迫下对甘蓝型油菜的叶片光合速率、叶绿素和类胡萝卜素含量,地上/地下部镉含量、差异表达基因的影响,以阐释外源脱落酸调节甘蓝型油菜耐Cd胁迫的生理和分子机制,为油菜在镉污染土壤上降低作物镉毒害安全种植提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料

油肥一号甘蓝型油菜来自湖南省作物研究所;脱落酸(ABA),纯度≥98%,购于福州飞净生物科技有限公司;CdCl₂·2.5H₂O为分析纯(纯度≥95%),购于南京化学试剂股份有限公司。

挑选籽粒饱满的种子,用95%的酒精消毒15 min,然后用超纯水冲洗5次。在灭菌的培养皿内以双层滤纸为发芽床,每个培养皿中均匀放入30粒消毒后的油菜种子,置于恒温培养箱(温度23±1℃,相对湿度70%),14 h光照/10 h暗循环(光照强度60%)下培养5 d,待胚根长至3~5 cm,胚芽2~3 cm时,将已萌发的幼苗移植至水培育苗盘并加入Hoagland液在光照培养箱中继续培养,每3 d更换一次营养液,共培养17 d,待幼苗至四叶期移至水培盘(28 cm×20 cm×9 cm),分成4组,具体分组情况为:对照组(CK)、10 μmol/L Cd(Cd),10 μmol/L Cd+5 μmol/L 脱落酸(Cd+ABA),5 μmol/L 脱落酸(ABA),每盆定苗9株,每组设3个技术重复和3个生物学重复,每组共27盘苗。未添加Cd处理的两组置于Hoagland液培养,Cd胁迫条件的两组在Hoagland液中添加10 μmol/L Cd处理1周。1周后,分别在未添加Cd和Cd胁迫组中各选一组添加5 μmol/L 脱落酸于营养液中,脱落酸处理后3 d、7 d,4组材料均取两片(从下往上取第3~4片真叶)、3个生物学重复用于转录组测序、光合作用参数测量、叶绿素和类胡萝卜素含量试验,样本液氮速冻后置于-80℃冰箱保存。

1.2 光合速率测定

在脱落酸处理后3 d和7 d(上午9:00~11:00)利用光合测定仪(LI-6400XT, Li-COR Inc, USA)测定油菜幼苗从下往上第3~4片真叶的光合参数,包括植物净光合作用速率、细胞间CO₂浓度、气孔导度和蒸腾速率,重复测量3次。温室中有效光辐射为1000 μmol/(m²·s),二氧化碳浓度为450 μmol/mol,气流为500 μmol/s,温度为25℃。

1.3 叶绿素含量测定

根据Wu等^[19]的分光光度法,用UV752N分光光度计在665(A₆₆₅)、649(A₆₄₉)和470(A₄₇₀) nm波长

处分别测定叶绿素a(C_a)、叶绿素b(C_b)和类胡萝卜素的含量。具体计算公式为:叶绿素a(mg/L)=13.95×A₆₆₅-6.88×A₆₄₉,叶绿素b(mg/L)=24.96×A₆₄₉-7.32×A₆₆₅,类胡萝卜素(mg/L)=(1000×A₄₇₀-2.05×C_a-114.8×C_b)/245。

1.4 镉含量的测定

每组选取9株油菜幼苗,用超纯水冲洗干净,再用0.02 mol/L EDTA溶液冲洗3遍且按组浸泡15 min,将地上部和地下部油菜分别在105℃下杀青30分钟,然后在70℃下烘干至恒重。用IPC-MS(X Series II, Thermo Science, USA)测定烘干的甘蓝型油菜地上部和地下部的Cd含量。

1.5 转录组测序和分析

使用RNA提取试剂盒(天根DP452,北京)4组共12个油菜叶片提取总RNA的,操作参照说明书,设置3次生物学重复。用NanoPhotometer分光光度计(Thermo Fisher Scientific,美国)测量样本中RNA纯度。使用反转录试剂盒(天根KR116,北京)获得cDNA,cDNA文库构建和测序由武汉迈特威尔生物技术有限公司进行,将测序获得的RNA-Seq数据比对到油菜基因组数据库(http://cbi.hzau.edu.cn/cgibin/rape/download_ext)的参考基因组上。使用DESeq2进行样品间差异表达分析,差异表达基因的筛选条件为|log₂Fold Change|≥1,错误发现率(FDR, false discovery rate)≤0.05^[20-21];并利用BLAST软件(<https://yanglab.hzau.edu.cn/>)和KOBAS 2.0软件对KEGG通路进行分析。GO(Gene Ontology)是基因功能国际标准分类体系^[22],以FDR≤0.05作为显著富集的GO条目进行下一步分析。

1.6 qRT-PCR 验证

选取6个在RNA-Seq实验中差异显著表达的基因(*C4H*、*LHY*、*DMR6*、*SKIP31*、*BRH1*、*PGR5*)。以β-Actin为内参进行qRT-PCR,以验证转录组结果的有效性。使用Primer 5.0软件设计基因的特异性引物(表1)。PCR反应仪器为Bio-Rad™ CFX96 Real-Time Detection System(美国),每个反应体系为20 μL,包含10 μL SYBR green Master Mix(生工,上海)、0.8 μL正向和反向引物、1 μL cDNA、8.2 μL ddH₂O。PCR反应程序参数设置为:95℃预变性5 min;95℃变性15 s,58℃退火20 s,50个循环;熔解曲线温度设置为:60℃~95℃。将β-Actin设为内参基因,利用2^{-ΔΔC_t}法^[23]分析各样本的相对表达量,3次生物学重复,其引物序列见表1。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列

Table 1 Primers used for qRT-PCR in this study

引物名称 Primer name	正向引物(5'-3') Forward primer sequence(5'-3')	反向引物(5'-3') Reverse primer sequence(5'-3')
<i>C4H</i>	CAAGGGACAGGACATGGTG	TGGTCGCAGAGTCTGGATT
<i>LHY</i>	GCGGAAACAGATGCCTTAG	CTGAAACGCTTTACGACCC
<i>DMR6</i>	ACCTGCTCATACCGACCCA	AGGATTAACGGCGAACCA
<i>SKIP31</i>	AGATAGAAACGGTGCAAAGA	CATAAGGATTCATCAGAGGC
<i>PGR5</i>	TTCTGCGAGTCAAGGTTTACTAGGA	GGCTGTACTCTGATGGGTTT
<i>BRH1</i>	CACATCTAACCCGACCCG	TGCAGTTTCTCAGCCACC
<i>β-actin</i>	TCCATCCATCGTCCACAG	GCATCATACAAGCATCCTT

1.7 统计与数据分析

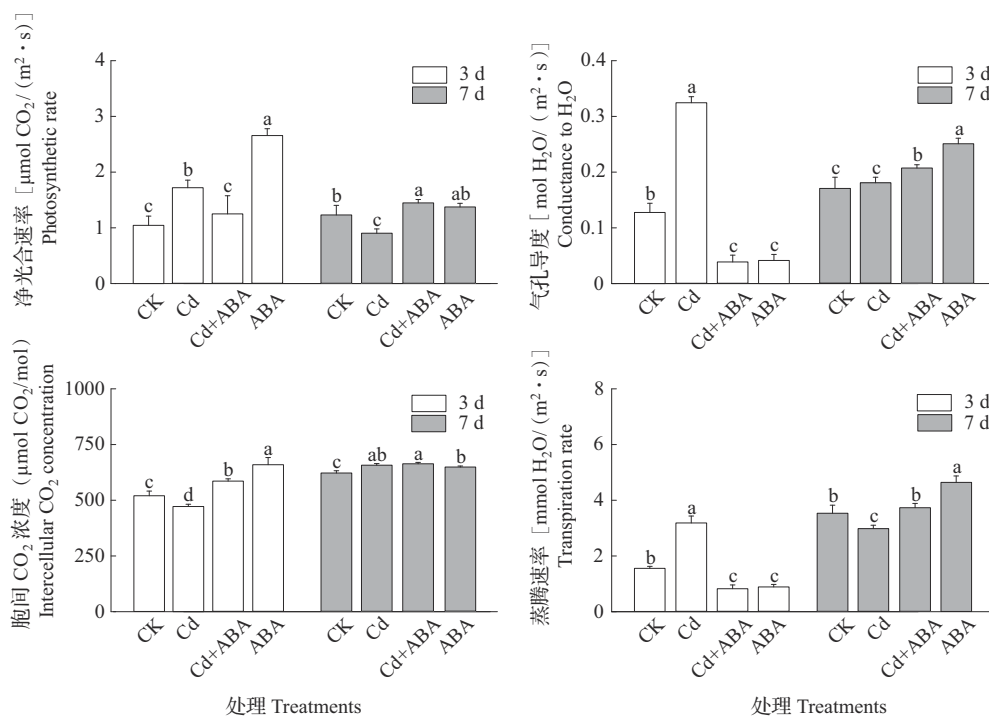
本研究利用 SPSS Statistics 26 进行单因素方差分析和 Duncan's test, 统计结果以平均值±标准差表示, 并使用 Origin 2021 软件对结果进行图形绘制。

2 结果与分析

2.1 脱落酸对油菜光合作用的影响

如图 1 所示, 脱落酸处理 3 d, 与 CK 组相比, Cd 组的净光合速率、蒸腾速率和气孔导度分别增加

65%、104% 和 155%; ABA 组的净光合速率和胞间 CO₂ 浓度分别增加 158% 和 26.8%, 气孔导度和蒸腾速率降低, 分别降低 211% 和 77.2%; 与 Cd 组相比, Cd+ABA 组的蒸腾速率和气孔导度分别下降 74.4% 和 88.3%。脱落酸处理 7 d, 与 CK 组相比, Cd 组的净光合速率、蒸腾速率分别下降了 36.4%、18.5%, ABA 组的气孔导度、胞间 CO₂ 浓度和蒸腾速率则分别增加 47%、4.1% 和 31.6%; 与 Cd 组相比, Cd+ABA 组的净光合速率、气孔导度和蒸腾速率分别提高



CK 为对照组; Cd 为镉处理组; Cd+ABA 为 Cd 胁迫 1 周后加入 5 μmol/L ABA 处理组; ABA 为单独 ABA 处理组; 柱形图上方的小写字母表示不同处理组之间的差异显著; 下同

CK is the control group; Cd is a separate cadmium treatment group; Cd+ABA group is treated with 5 μmol/L ABA after one week of Cd stress; ABA is a separate ABA treatment group; The lowercase letters above the bar chart indicate significant differences between different treatment groups; The same as below

图 1 脱落酸处理对油菜光合作用的影响

Fig.1 The effect of external application of abscisic acid on the photosynthesis of rapeseed

37.4%、0.9% 和 20.2%。综上可知在脱落酸处理 3 d, Cd 组可以增加蒸腾速率和气孔导度, 而 ABA 组对其显著抑制; 然而在脱落酸处理 7 d, Cd 组的净光合速率和蒸腾速率有不同程度降低, ABA 组则有不同程度增加。

2.2 脱落酸对油菜叶绿素和类胡萝卜素含量的影响

脱落酸处理 3 d 时, 与 CK 组相比, Cd 组的叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量均显著降低, 分别下降 30.6%、52.5% 和 29.5%; 与 Cd 组相比, Cd+ABA

组中只有叶绿素 b 含量显著增加 15.6%。脱落酸处理 7 d 时, 与 CK 组相比, Cd 组的叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量也均显著降低, 分别下降 49.6%、45.1% 和 72.1%; 与 Cd 组相比, Cd+ABA 组的叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量均显著增加, 分别增加 35.9%、41% 和 52.5% (图 2)。表明脱落酸处理可在一定程度上缓解 Cd 胁迫造成的油菜叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素含量降低, 这可能是脱落酸处理后镉胁迫的油菜光合速率相应增加的原因。

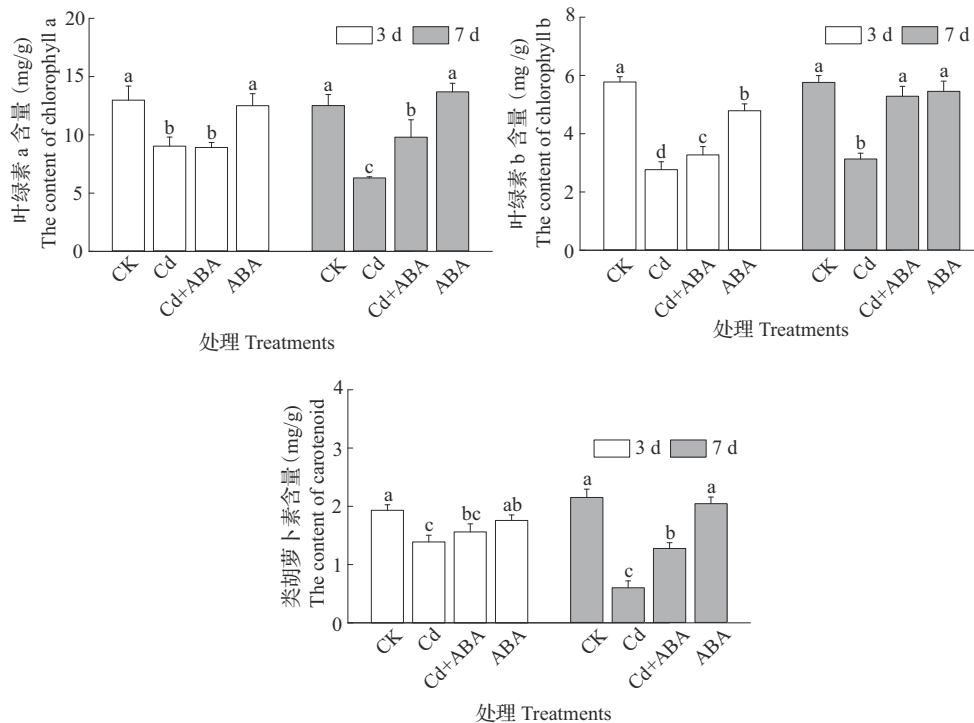


图 2 脱落酸处理 3 d 和 7 d 时油菜叶绿素和类胡萝卜素的含量

Fig.2 Pigment content in rapeseed treated with external abscisic acid for 3 and 7 days

2.3 脱落酸对 Cd 胁迫下油菜地下部和地上部镉含量的影响

从图 3 可知, 金属 Cd 主要富集在油菜地下部, 且脱落酸处理能够显著降低油菜地上部和地下部的镉含量。在脱落酸处理 3 d, 与 Cd 组相比, Cd+ABA 组油菜地上部和地下部的 Cd 含量, 分别降低了 89.5% 和 80.5%。在脱落酸处理 7 d, 与 Cd 组相比, Cd+ABA 组地上部和地下部 Cd 含量, 分别降低 28% 和 47.8%。同时, 脱落酸处理 3 d 的油菜地上部和地下部的 Cd 积累量均小于 7 d。

2.4 转录组分析

2.4.1 测序数据过滤结果 对 Illumina NovaSeq 6000 平台上获得的初始数据进行筛选, 然后对过滤后的总 Reads 数目和总碱基数目进行分析。高质量

碱基与 rRNA 含量是评判数据是否准确的重要指标, 本研究中的各样本质量值大于 30 的碱基 (Q30) 在原过滤数据中的占比大于 94%, 且 rRNA 的比重小于 10% (表 2), 表明本研究的转录组测序数据的质量较高。

12 个样本的转录组共获得 94.82 Gb Clean data, 每个样本的 Clean data 均达到 6 Gb。基于各组差异表达基因的功能注释和富集分析, 利用 Pearson 相关性评估样本时发现, 相同处理组的不同重复间的 Pearson 相关系数均超过 0.95 (图 4)。对照组 CK-1、CK-2、CK-3 过滤后的 Reads, 比对到参考基因组的总数分别为 55828660、54291864 和 55891894, 唯一比对的 Reads 的比例均大于 89%, 其他处理组也均高于 88% (表 3)。

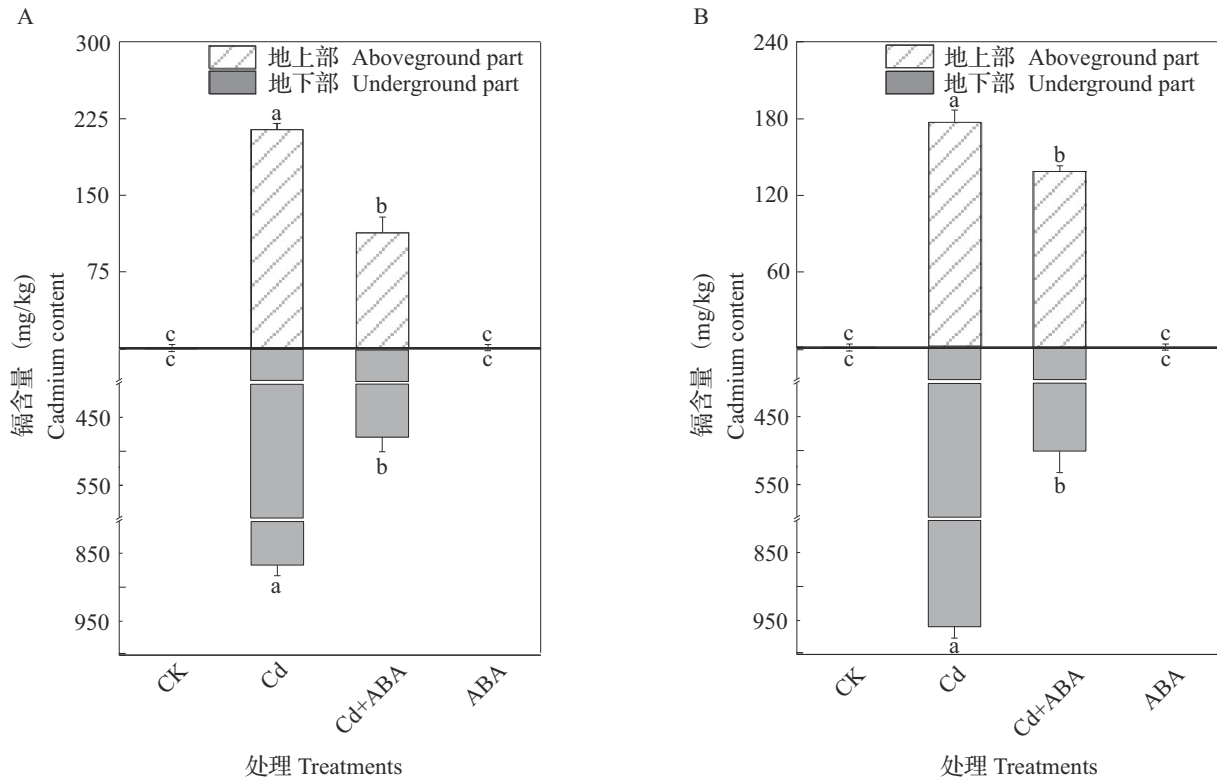


图3 脱落酸处理 3 d (A)和 7 d (B)时油菜地上部和地下部的镉含量
 Fig.3 Cadmium content in the underground and aboveground parts of rapeseed treated with external Abscisic acid for 3 (A) and 7 (B) days

表2 过滤数据统计

Table 2 Clean data output statistics

样本名称 Sample name	过滤得到的 总 reads 数目 (Mb) Clean reads number	过滤得到的 总碱基数目 (Gb) Clean reads base	Q20 (%)	Q30 (%)	rRNA 含量 (%) rRNA ratio
CK-1	55.82	8.37	98.60	95.46	0.41
CK-2	54.29	8.14	98.58	95.45	0.38
CK-3	55.89	8.38	98.64	95.56	0.34
Cd-1	60.97	9.15	98.38	94.85	0.34
Cd-2	56.05	8.41	98.61	95.48	0.33
Cd-3	56.12	8.42	98.58	95.42	0.34
Cd+ABA-1	46.41	6.96	98.58	95.44	0.36
Cd+ABA-2	54.05	8.11	98.65	95.60	0.45
Cd+ABA-3	45.93	6.89	98.60	95.49	0.41
ABA-1	52.14	7.82	98.21	94.52	0.36
ABA-2	51.61	7.74	98.20	94.50	0.45
ABA-3	42.85	6.43	98.23	94.55	0.54

-1, -2, -3 为 3 次不同的重复; 下同

-1, -2 and -3 represent three duplicates; The same as below

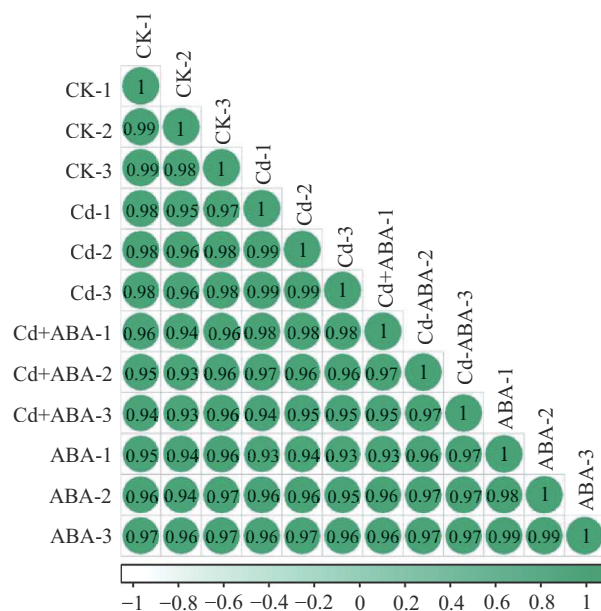


图4 不同处理组转录组间的 Pearson 相关分析

Fig.4 Pearson correlation analysis between transcriptomes of different treatment groups

表3 参考基因组对比结果统计

Table 3 Reference genome comparison results statistics

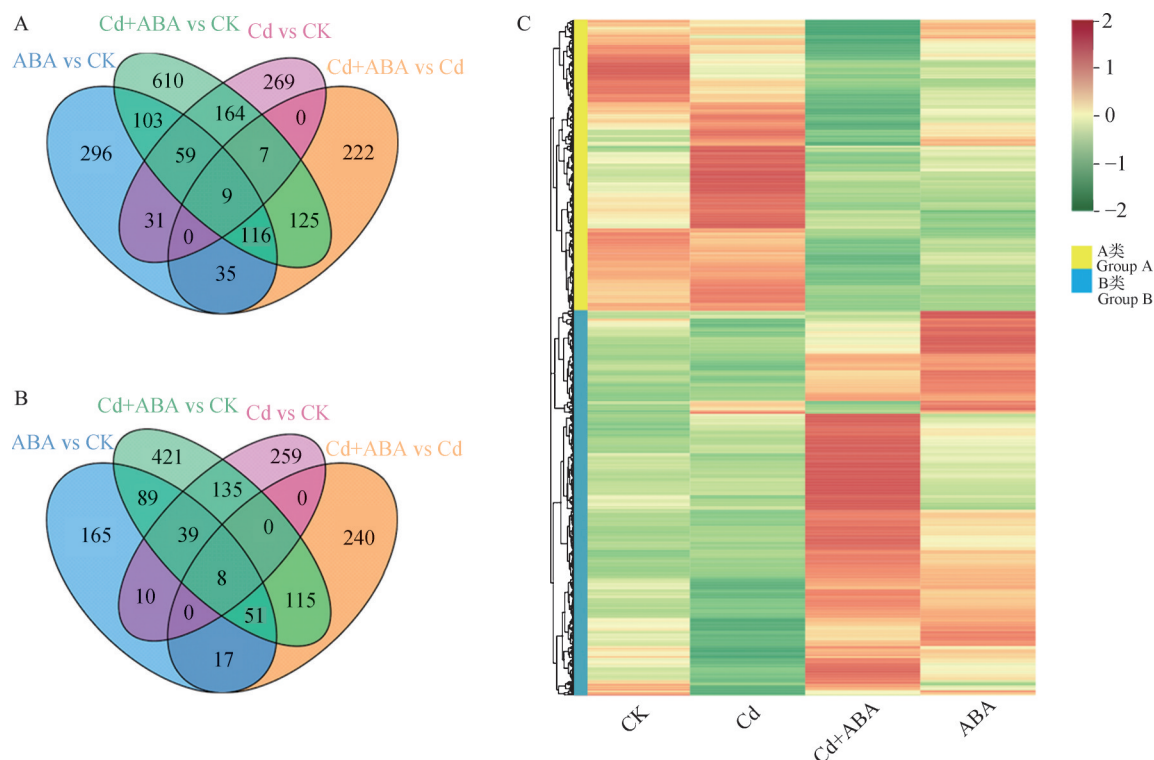
样本 Sample	过滤数据总数目 Total reads	唯一比对的 reads 数目 Uniq-Mapped	比对到多处的 reads 数目 Multi-Mapped	不能比对的 reads 数目 Un-Mapped
CK-1	55828660	50112201 (89.76%)	3166235 (5.67%)	2550224
CK-2	54291864	48639262 (89.59%)	3054580 (5.63%)	2598022
CK-3	55891894	50089151 (89.62%)	3257347 (5.83%)	2545396
Cd-1	60976546	54505566 (89.39%)	3504854 (5.75%)	2966126
Cd-2	56054376	50248428 (89.64%)	3251709 (5.80%)	2554239
Cd-3	56129798	50350620 (89.70%)	3178170 (5.66%)	2601008
Cd+ABA-1	46410854	41597603 (89.63%)	2733831 (5.89%)	2079420
Cd+ABA-2	54052248	48466302 (89.67%)	3164481 (5.85%)	2421465
Cd+ABA-3	45930080	41126906 (89.54%)	2581581 (5.62%)	2221593
ABA-1	52142598	46421591 (89.03%)	2913981 (5.59%)	2807026
ABA-2	51607110	45906900 (88.95%)	2955779 (5.73%)	2744431
ABA-3	42846640	38174963 (89.10%)	2453589 (5.73%)	2218088

括号内的数据为比对数量占总数目的百分比

The data in parentheses represents the percentage of comparison quantity to the total number

2.4.2 脱落酸对油菜镉胁迫下差异表达基因筛选及共表达模式分析 脱落酸处理3 d, ABA组相对于CK组(ABA vs CK组)共鉴定出1028个差异表达基因(DEGs, differentially expressed genes)(图5A、B), 其中649个差异表达基因上调, 379个差异表达基因

下调; Cd+ABA组相对于Cd组(Cd+ABA vs Cd组)共鉴定出945个差异表达基因, 514个差异表达基因上调, 431个差异表达基因差异表达基因下调。Cd+ABA vs Cd组的差异表达基因可能在脱落酸调控油菜幼苗镉胁迫发挥重要作用。



A: 上调基因韦恩图; B: 下调基因韦恩图; C: 上调和下调基因共有差异表达基因聚类图; ABA vs CK 表示脱落酸处理组相较于对照组; Cd vs CK 表示 Cd 胁迫组相较于对照组; Cd+ABA vs CK 表示 Cd 胁迫后加脱落酸处理相较于对照组; Cd+ABA vs Cd 表示 Cd 胁迫后加脱落酸处理相较于 Cd 胁迫组; 下同

A: Venn diagram of up-regulated genes; B: Venn diagram of down-regulated genes; C: Cluster diagram of differentially expressed genes shared by upregulated and downregulated genes; ABA vs CK represents the abscisic acid treatment group compared to the control group; Cd vs CK represents the Cd stress group compared to the control group; Cd+ABA vs CK indicates that after Cd stress, abscisic acid treatment was added compared to the control group; Cd+ABA vs Cd indicates that after Cd stress, abscisic acid treatment was added compared to the Cd stress group; The same as below

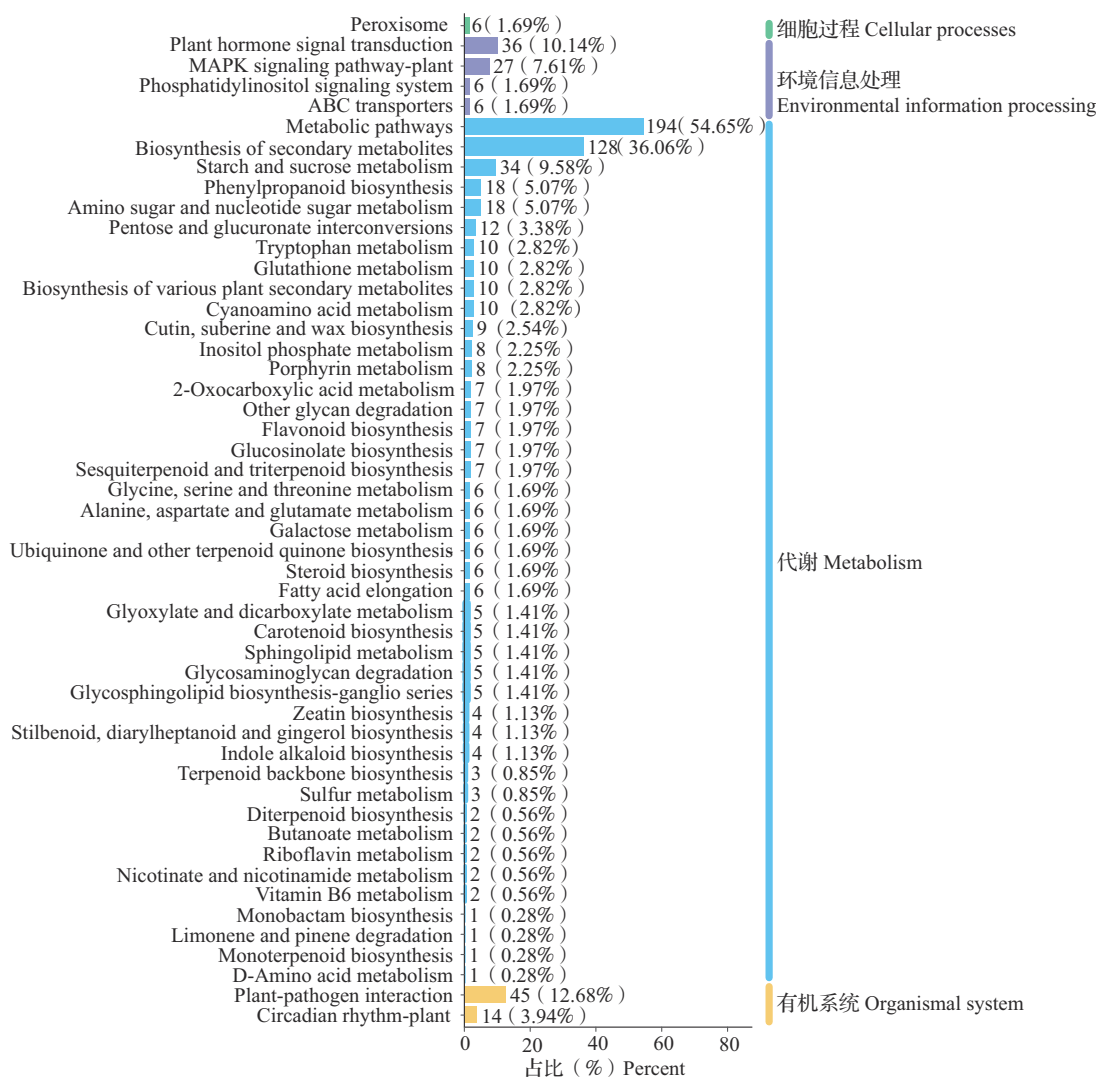
图5 脱落酸调控油菜 Cd 胁迫的差异表达基因韦恩图及共有差异表达基因聚类

Fig. 5 Venn diagram of differentially expressed genes alleviated by external application of ABA under cadmium stress and cluster diagram of shared differentially expressed genes

对 Cd+ABA vs Cd 上调的 514 个差异表达基因与下调的 431 个差异表达基因进行共有差异表达基因的聚类分析,通过各组的 FPKM 表达值,得到差异表达基因的聚类图(图 5C)。其中聚类图包括 2 类基因, A 类基因 Cd+ABA 组相对于 Cd 组下调表达,该类基因主要富集在半纤维素代谢、苯丙烷类生物合成、谷胱甘肽代谢、半乳糖代谢、木葡聚糖代谢等代谢通路。B 类基因 Cd+ABA 组相对于 Cd 组上调表达,该类基因主要富集在蔗糖和淀粉代谢、次生代谢物合成合成、ABC 转运蛋白等代谢通路。

2.4.3 差异表达基因的功能注释和富集分析
KEGG 通路功能分类及富集分析结果表明,差异表达基因主要富集在细胞过程、环境信息处理、代谢和有机系统(图 6)。在脱落酸处理 3 d 的 Cd+ABA vs Cd 中识别到 635 个差异表达基因被分配到 106 个途径,主要富集在蔗糖和淀粉代谢(ko00500: Starch and sucrose metabolism)、次生代谢物生物合成

(ko01110: Biosynthesis of secondary metabolites)、代谢途径(ko01100: Metabolic pathways)、植物激素信号转导(ko04075: Plant hormone signal transduction)、MAPK 信号通路(ko04016: MAPK signaling pathway-plant)等通路中。有 36 个差异表达基因富集在植物激素信号转导(ko04075)通路中,其中 *BnaC08G0407500ZS* (*AR-F18*)、*BnaA05G0391500ZS* (*AHP4*)、*BnaA03G0345700ZS* (*AHP4*)、*BnaA08G0185200ZS* (*ARR18*) 等 17 个基因上调表达,而 3 个编码 IAA14 蛋白的基因 *BnaA08G0089200ZS*、*BnaC08G0127100ZS*、*BnaC02G0529200ZS*, 1 个编码 IAA19 蛋白的基因 *BnaC03G0412800ZS* 等 19 个基因则表现为下调(图 6)。KEGG 富集显示在植物激素信号转导、MAPK 信号通路、代谢途径、次生代谢物生物合成等通路上差异表达基因富集程度较高,这些信号通路可能与脱落酸调节 Cd 胁迫的代谢相关。



括号内为注释到该通路的差异表达基因数占注释到该背景通路的背景基因数的百分比

The parentheses represents the percentage of differentially expressed genes annotated to this pathway compared to the background genes annotated to this pathway

图6 差异表达基因 KEGG 分类

Fig.6 Bar chart of KEGG classification of differentially expressed genes

2.5 差异表达基因 GO 功能分类及富集分析

将 Cd+ABA vs Cd 进行 GO 富集分析, 共有 945 个差异表达基因富集到分子功能、细胞组分和生物过程 3 个大类的 50 个功能类别中, 其中分子功能中包含 17 个功能类别, 生物过程包含 33 个功能类别。在富集到的前 20 个 GO 条目中(图 7), 脱落酸缓解 Cd 胁迫引起的差异表达基因主要富集在油菜幼苗的半纤维素代谢(Hemicelluloses metabolism)、氧化还原酶活性(Oxidoreductase activity)、含苯化合物代谢(Benzene compound metabolism)、细胞壁大分子代谢过程(Cell wall macromolecular metabolism)以及系统获得性抗性(Systemic acquired resistance)等相关通路中, 这些过程可能是外源脱落酸在油菜幼苗抵抗 Cd 胁迫中起到重要的作用。

2.6 脱落酸缓解镉胁迫的差异代谢通路分析

对 Cd+ABA vs Cd 组中 GO 分类条目中富集差异表达基因最多的半纤维素代谢通路以及和 KEGG 差异表达基因较多的木质素合成通路进行进一步分析。

半纤维素代谢通路 对油菜叶片中半纤维素代谢相关的差异表达基因进行筛选, 共筛选到 10 个差异表达基因。对这 10 个差异表达基因进行聚类分析发现, 编码木葡聚糖内转葡糖基酶/水解酶(XTH, xyloglucan endo-transglycosylase/hydrolase)的 *XTH33*、*XTH6*、*XTH20*、*XTH22* 基因在 Cd 处理后发生上调, 脱落酸处理后其表达量则下调。编码 β -木糖苷酶(BXL, beta-xylosidase)的 *BXL1* 基因在 Cd 处理后表达下调, 脱落酸处理后其表达量进一步下调(图 8A)。

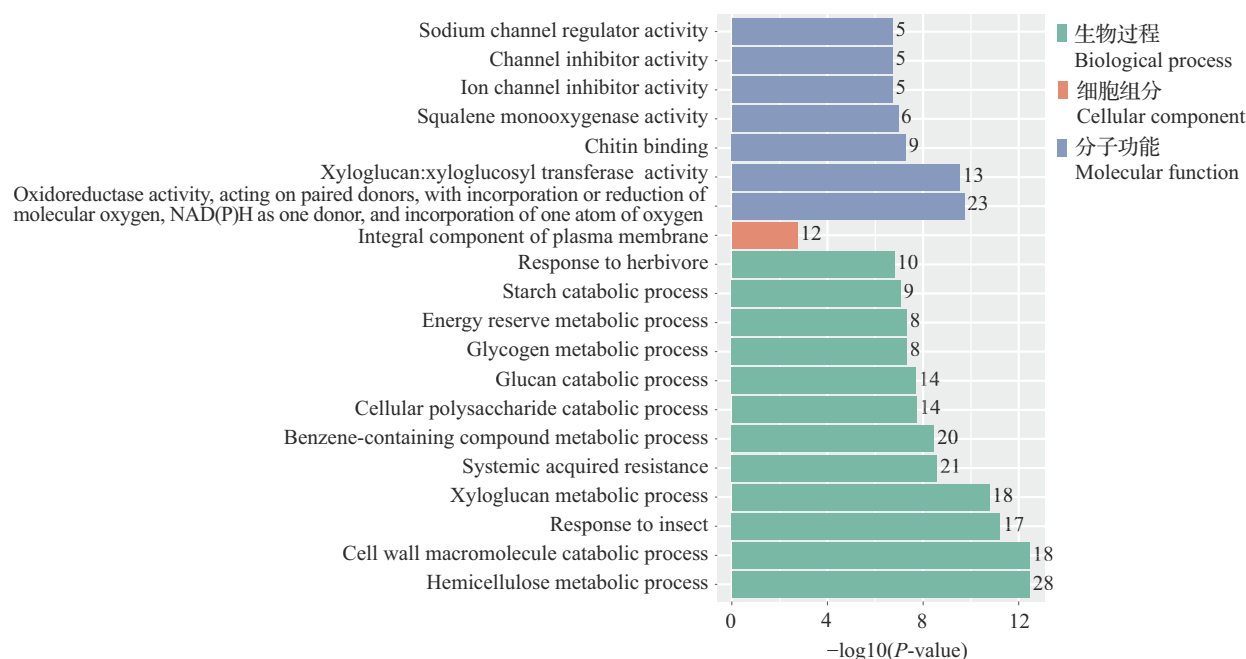
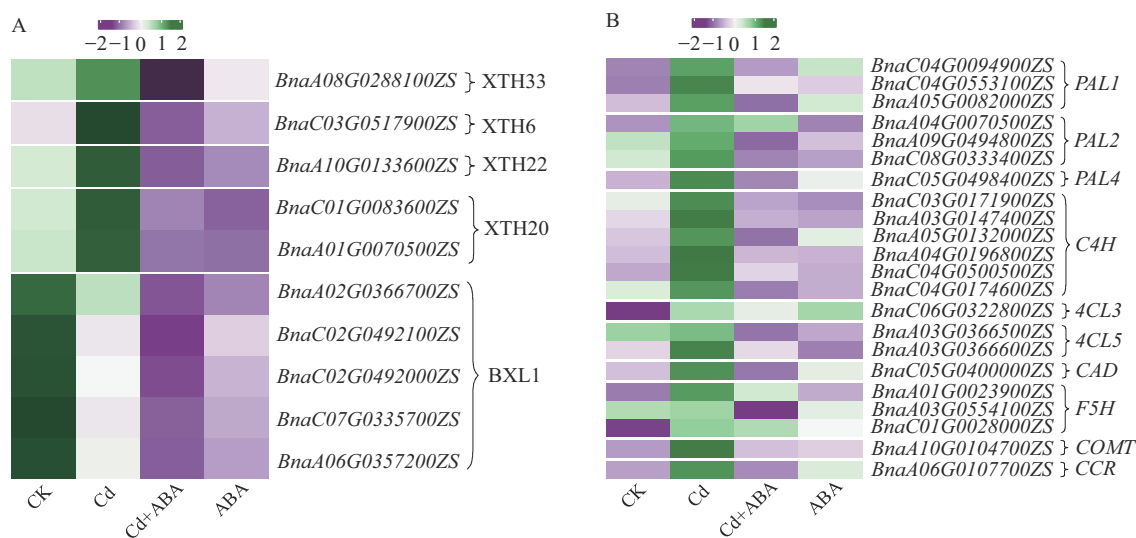


图7 差异表达基因GO分类

Fig.7 Differentially expressed gene GO classification



A: 半纤维素代谢相关基因分析; B: 木质素合成相关基因分析

A: Analysis of genes related to hemicellulose metabolism; B: Genes related to lignin synthesis

图8 细胞壁中与半纤维素代谢和木质素合成相关基因表达量

Fig. 8 Expression levels of genes related to hemicellulose metabolism and lignin synthesis in cell walls

木质素合成通路 与CK组相比,Cd处理组在初始苯丙烷通路中,7个编码苯丙氨酸解氨酶(PAL, phenylalanine ammonia-Lyase)的基因,6个编码肉桂酸-4-羟化酶(C4H, cinnamic acid-4-hydroxylase)的基因,3个编码4-香豆酸:辅酶A连接酶(4CL, 4-coumarate: CoA ligase)的基因在Cd组表现为大部分上调表达,而Cd+ABA组则大部分下调表达。在木质素合成通路中,与CK组相比,编码肉桂酰辅酶A还原酶

(CCR, cinnamoyl-CoA reductase)、肉桂醇脱氢酶(CAD, cinnamyl alcohol dehydrogenase)、阿魏酸5-羟化酶(F5H, ferulate 5-hydroxylase)和咖啡酸-O-甲基转移酶(COMT, caffeic acid O-methyltransferase)的基因在Cd处理组大部分上调表达,在Cd+ABA处理组表达量发生大部分下调(图8B)。上述结果表明,脱落酸处理在一定程度上抑制了Cd胁迫下油菜叶片中木质素的合成。

2.7 实时荧光定量PCR验证

为了验证转录组的可靠性,筛选了4个加镉后上调表达和2个下调表达的差异表达基因进行qRT-

PCR验证,基因的相对表达量以CK为对照组,图9结果显示,qRT-PCR与RNA-seq两者表达趋势一致,表明RNA-seq的试验结果是可靠的。

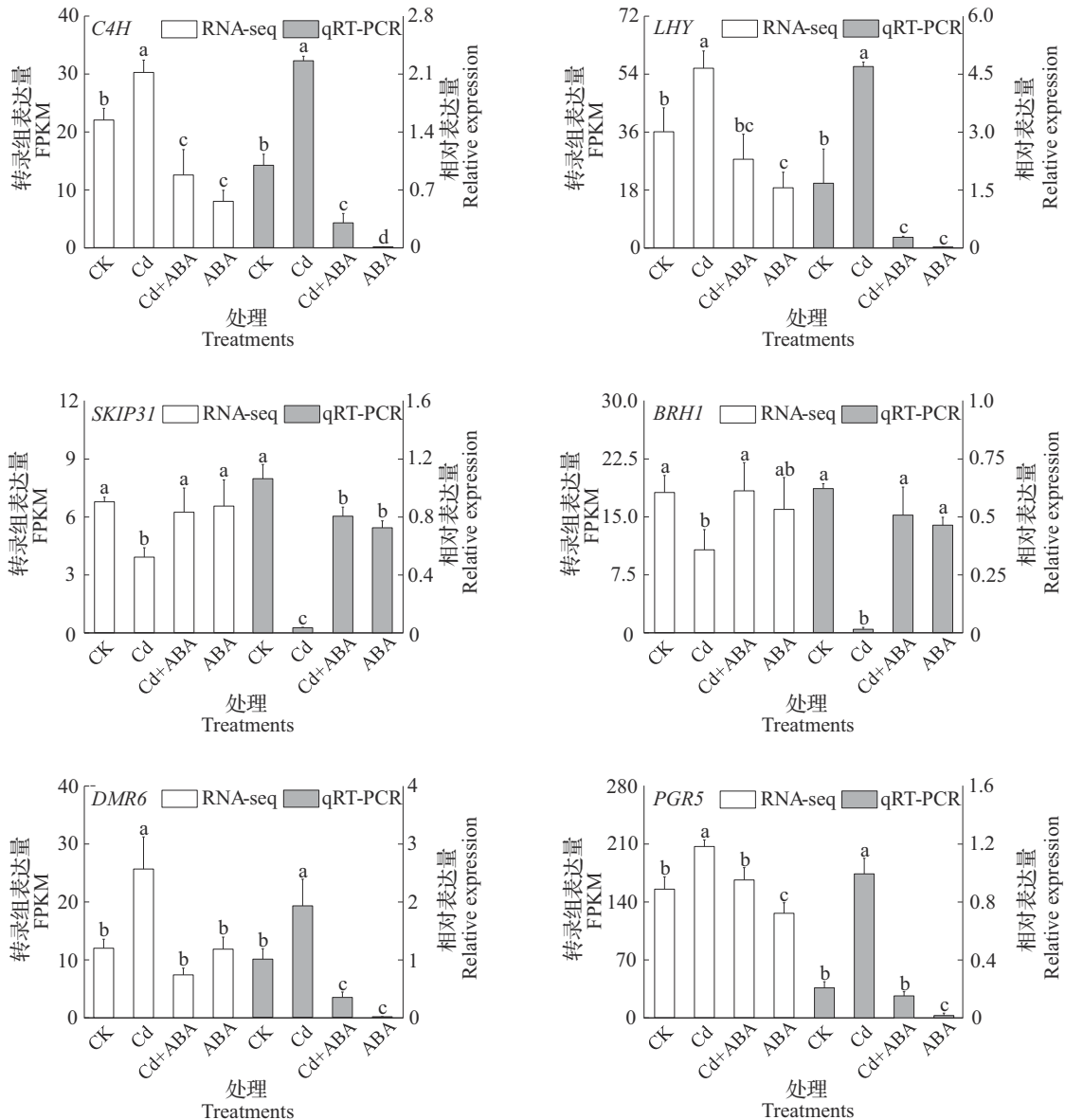


图9 差异表达基因的RNA-seq与qRT-PCR验证结果

Fig.9 RNA-seq and qRT-PCR validation results of differentially expressed genes

3 讨论

目前已有研究表明外源脱落酸能够减缓植物根部吸收的Cd向地上部转移,而蒸腾速率的差异是导致植物Cd转移速度不同的主要原因^[24-25]。用5 μmol/L脱落酸预处理镉敏感水稻品种幼苗2周后再用0.5mmol/L Cd处理,其蒸腾速率显著降低^[26];美洲商陆枝条在5 μmol/L脱落酸预处理后再用0.1 mmol/L Cd处理,因为蒸腾作用受到抑制使得其Cd含量明显下降^[27]。莴苣中Cd转移也受蒸腾速率

的影响,通过外源脱落酸的处理后也能有效缓解镉胁迫^[28-29]。本研究中加入10 μmol/L的Cd对油菜处理后,叶片净光合速率显著提高,并且气孔导度和蒸腾速率也显著增加;进一步施加外源脱落酸后,其净光合速率、气孔导度和蒸腾速率均显著降低。在本研究中,脱落酸处理3 d和7 d,无论是地上部还是地下部,Cd+ABA组镉含量比Cd组镉含量都有显著下降,这与上述研究的结论一致。推测脱落酸可以通过促进保卫细胞的细胞壁多糖代谢,降低气孔导度而抑制蒸腾作用,从而调控植物体内的Cd易

位。蒸腾速率是植物将镉从根向地上部迁移的主要驱动力,然而大多数研究仅停留在生理水平上,相关的分子机制仍有待阐明。植物在遭受重金属胁迫时,叶绿素含量是评估植株受损害程度的一个重要指标^[28-30]。在本研究中外施脱落酸7 d, Cd+ABA组较Cd组叶绿素a和类胡萝卜素含量均有显著增加,说明外源脱落酸对油菜叶片遭受镉胁迫具有一定的缓解效果。

细胞壁作为金属离子跨膜进入细胞质的第一道屏障,在重金属离子固定、吸收和转运过程中起着重要作用^[31]。前人研究中,在5 μmol/L的Cd胁迫处理相比下,通过喷施10 mol/L的脱落酸使秋英细胞壁上的镉含量增加84.84%,并且Cd在根细胞壁上的吸附量是单独Cd处理细胞壁吸附量的5.31倍,表明外源脱落酸处理增强了根细胞壁对Cd的吸附能力,促进了Cd在细胞壁中的分布,这说明在合适浓度的脱落酸处理下,细胞壁对Cd的结合能力更强^[32]。以上研究表明,脱落酸能够增强细胞壁对镉的固定作用,进而增强植物对镉的抗性。

细胞壁中含有大量的还原性官能团(-OH和-SH等),半纤维素、果胶等细胞壁多糖,这些成分能够结合Cd等重金属,从而减少Cd由根部向地上部的转移^[33]。而合成木葡聚糖类的半纤维素则需要木葡聚糖内切糖苷酶/水解酶(XTH, endotransglucosylase/hydrolases)和各种糖基转移酶的共同作用, XTH基因编码木葡聚糖内切水解酶(XEH, xyloglucan endohydrolase)和木葡聚糖内切转葡糖基酶(XET, xyloglucan endonuclease)活性,分别通过切割或切割并重新连接木葡聚糖链而参与细胞壁延伸^[34-35]。已有研究发现,XTH在细胞重塑和细胞壁的重金属结合方面具有重要作用,以此减缓植物的重金属胁迫^[36]。拟南芥XTH33突变体对Cd胁迫具有抵抗力,并且拟南芥XTH33的突变体积累的Cd较少,说明XTH33可以促Cd在细胞壁的积累^[37]。前人研究发现2 μmol/L Cd胁迫诱导了花生XTH1和XTH23两个基因的表达,而在另外一个花生品种中则诱导了XTH1、XTH2、XTH6、XTH30和XTH32等5个基因的表达^[38]。类似的结果在胡杨中也有相关报道,低镉胁迫下诱导XTH基因表达水平增加,而将胡杨XTH基因转入烟草其耐镉性增加^[39]。说明前人的研究表明XTH基因与镉胁迫是密切相关的。本研究中,油菜Cd胁迫处理后,XTH33、XTH6、XTH20、XTH22有不同程度的上调,在脱落酸处理3 d后却显著下调,说明叶片镉含量增加时可以激活

XTH33、XTH6、XTH20、XTH22,从而将Cd固定在细胞壁上来减少对植株的伤害,施用外源脱落酸后,脱落酸可能减少了地上部Cd的含量,使得XTH的表达量下降,从而提高植物对镉的耐受性。此外,目前对于半纤维素如何与Cd结合还不清楚。因此,有必要进一步探讨半纤维素在Cd积累和耐受中的生理作用及其潜在的分子作用机制。编码β-木糖苷酶可降解植物细胞壁中的结构多糖,在细胞壁相关的生物过程起作用^[40-41]。本研究中5个编码BXL1蛋白的基因在10 μmol/L Cd胁迫后表达量显著下降,可能是机体对Cd胁迫的防御反应,而脱落酸处理后油菜叶片BXL基因显著下调,可能通过抑制木聚糖的降解而在细胞壁中保持一定量的多糖用于固定Cd,以阻止Cd进入细胞。

目前脱落酸对油菜苯丙烷途径中与木质素合成相关的代谢物和基因影响的研究较少。木质素是细胞壁的重要组成部分,可维持细胞壁的刚性并为细胞提供机械支撑,是保护细胞原生质体免受许多生物和非生物胁迫的重要物理屏障,木质化会降低细胞壁的穿透性,是阻止Cd进入细胞的有效屏障^[42-43]。苯丙氨酸解氨酶、肉桂醇脱氢酶、辅酶A连接酶和咖啡酸-O-甲基转移酶等酶的基因编码苯丙烷途径中的化合物,这些化合物可导致木质素的合成,且木质素水平与这些基因呈正相关^[43]。苯丙氨酸解氨酶是木质素生物合成的关键酶,苯丙氨酸解氨酶活性的增强被认为对控制木质素细胞壁沉积至关重要^[44]。刘荣鹏等^[45]对镉胁迫下车前子的转录组分析发现差异表达基因主要富集在蔗糖和淀粉代谢、苯丙烷生物合成等途径中,其中参与苯丙烷木质素途径的辅酶A连接酶、过氧化物酶、β-葡萄糖苷酶的基因通过上调表达提高对植物的防御反应。类似地,Zhao等^[46]用Cd处理美洲商陆,参与木质素合成的基因F5H等上调表达,使得次生细胞壁增厚,阻碍Cd进入原生质中。倪显春等^[47]对Cd处理后的艾纳香进行转录组测序,通过KEGG分析发现在苯丙烷生物合成,黄酮类生物合成等有显著富集,其中参与苯丙烷生物合成中的COMT、F6H等基因均上调表达。研究表明,采用1mg/L Cd和0.2 mg/L的Se联合处理辣椒幼苗后,编码PAL、CAD、4CL和COMT的表达量也显著提高。此外,纳米硒的应用还诱导了木质素相关基因和代谢产物的生物合成,从而增强了细胞壁的机械强度并抑制了细胞对Cd的吸收^[48]。本研究中,Cd胁迫诱导了油菜叶片PAL1、PAL4、CAD、4CL和COMT的表达量上升,表

明这些基因可能与镉胁迫密切相关,与Cd处理组相比,Cd+ABA处理后,这些基因在叶片中却出现了不同程度的下调(下调到正常水平附近),这可能是外源脱落酸的施用降低了油菜地上部镉的含量。

4 结论

本研究对甘蓝型油菜幼苗在低浓度镉(10 $\mu\text{mol/L}$ Cd)胁迫下外施 5 $\mu\text{mol/L}$ 脱落酸,通过分析油菜叶片生理指标和转录组结果,发现外源脱落酸可以有效降低蒸腾速率,增加叶绿素含量,降低油菜镉含量;并引起一系列差异表达基因的表达变化且主要涉及蔗糖和淀粉代谢、半纤维素代谢、细胞壁大分子代谢等代谢等信号通路。此外,木质素和半纤维素代谢通路的相关基因在脱落酸调控油菜镉胁迫中发挥重要作用。

参考文献

- [1] Wu S, Wu K, Shi L, Sun X, Tan Q, Hu C. Recruitment of specific microbes through exudates affects cadmium activation and accumulation in *Brassica napus*. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 442: 130066
- [2] Wu X, Tian H, Li L, Guan C. Higher Cd-accumulating oilseed rape has stronger Cd tolerance due to stronger Cd fixation in pectin and hemicellulose and higher Cd chelation. *Environmental Pollution*, 2021, 285: 117218
- [3] Shen S, Li Y, Chen M, Huang J, Liu F. Reduced cadmium toxicity in rapeseed via alteration of root properties and accelerated plant growth by a nitrogen-fixing bacterium. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 449: 131040
- [4] 赵铭. 土壤重金属污染现状、原因、危害及修复研究. *资源节约与环保*, 2016(4): 181, 184
Zhao M. Research on the status, causes, hazards, and remediation of soil heavy metal pollution. *Resources Economization & Environmental Protection*, 2016 (4) : 181, 184
- [5] 林琳, 且增卓嘎, 吴玲玲. 铅、镉单一及复合胁迫对生菜幼苗抗氧化酶及亚细胞结构的毒性效应. *生态毒理学报*, 2022, 17(2): 337-348
Lin L, Dolker T Z, Wu L L. Toxicity of single and combined Pb and Cd stress on antioxidant enzymes and subcellular structure of lettuce. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2022, 17(2): 337-348
- [6] 张慧, 张欣雨, 袁旭, 陈伟达, 杨婷. 烟草叶片响应镉胁迫的差异表达基因鉴定及分析. *作物学报*, 2024, 50(4): 944-956
Zhang H, Zhang X Y, Yuan X, Chen W D, Yang T. Transcriptome analysis of tobacco in response to cadmium stress. *Acta Agronomica Sinica*, 2024, 50(4): 944-956
- [7] 卞建林, 郭俊梅, 王学东, 杨俊兴, 杨军, 陈同斌, 曹柳, 成永霞, 任战红, 王杰, 周小勇. 两种不同镉富集能力油菜品种耐性机制. *环境科学*, 2020, 41(2): 970-978
Bian J L, Guo J X, Wang X D, Yang J X, Yang J, Chen T B, Cao L, Cheng Y X, Ren Z H, Wang J, Zhou X Y. Tolerance mechanism and cadmium enrichment abilities in two *Brassica napus* L. cultivars. *Environmental Science*, 2020, 41 (2) : 970-978
- [8] 王涛, 唐天娇, 廖佳元, 姚珺玥, 官春云, 张振华. 外源 ABA 提高甘蓝型油菜抗镉胁迫能力和氮素生理利用效率. *植物营养与肥料学报*, 2020, 26(3): 522-531
Wang T, Tang T J, Liao J Y, Yao J Y, Guan C Y, Zhang Z H. Exogenous abscisic acid improves resistance to cadmium stress and physiological nitrogen use efficiency in *Brassica napus*. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2020, 26 (3) : 522-531
- [9] 朱晓琛, 张汉马, 南文斌. 脱落酸调控植物根系生长发育的研究进展. *植物生理学报*, 2017, 53(7): 1123-1130
Zhu X C, Zhang H M, Nan W B. Research progress on regulation of ABA in plant root development. *Plant Physiology Journal*, 2017, 53 (7): 1123-1130
- [10] Hsu Y T, Kao C H. Role of abscisic acid in cadmium tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Plant, Cell & Environment*, 2003, 26(6): 867-874
- [11] Deng B, Zhang W, Yang H. Abscisic acid decreases cell death in *malus hupehensis* rehder. Under Cd Stress by reducing root Cd^{2+} influx and leaf transpiration. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2022, 41(2): 639-646
- [12] Shen G, Niu J, Deng Z. Abscisic acid treatment alleviates cadmium toxicity in purple flowering stalk (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *purpurea* Hort.) seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2017, 118: 471-478
- [13] Pan W, You Y, Shentu J, Weng Y, Wang S, Xu Q, Liu H, Du S. Abscisic acid (ABA)-importing transporter 1 (AIT1) contributes to the inhibition of Cd accumulation via exogenous ABA application in *Arabidopsis*. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 391: 122189
- [14] Meng Y, Huang J, Jing H, Wu Q, Shen R, Zhu X. Exogenous abscisic acid alleviates Cd toxicity in *Arabidopsis thaliana* by inhibiting Cd uptake, translocation and accumulation, and promoting Cd chelation and efflux. *Plant Science*, 2022, 325: 111464
- [15] 张大为, 杜云燕, 吴金锋, 周定港, 刘丽莉, 刘忠松, 严明理. 镉胁迫对甘蓝型油菜幼苗生长及基因表达的影响. *中国油料作物学报*, 2020, 42(4): 613-622
Zhang D W, Du Y Y, Wu J F, Zhou D G, Liu L L, Liu Z S, Yan M L. Effect of cadmium stress on plant growth and gene expression in *Brassica napus* seedlings. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2020, 42(4): 613-622
- [16] Feng J, Jia W, Lv S, Bao H, Miao F, Zhang X, Wang J, Li J, Li D, Zhu C, Li S, Li Y. Comparative transcriptome combined with morpho-physiological analyses revealed key factors for differential cadmium accumulation in two contrasting sweet sorghum genotypes. *Plant Biotechnology*

- Journal, 2018, 16(2): 558-571
- [17] Liao Y, Tang Y, Wang S, Su H, Chen J, Zhang D, Wu J, Zhou D. Abscisic acid modulates differential physiological and biochemical responses to cadmium stress in *Brassica napus*. *Environmental Pollutants and Bioavailability*, 2023, 35(1): 2168216
- [18] Jiao Z, Shi Y, Wang J, Wang Z, Zhang X, Jia X, Du Q, Niu J, Liu B, Du R, Ji G, Cao J, Lv P. Integration of transcriptome and metabolome analyses reveals sorghum roots responding to cadmium stress through regulation of the flavonoid biosynthesis pathway. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14:1144265
- [19] Wu X, Song H, Guan C, Zhang Z. Boron alleviates cadmium toxicity in *Brassica napus* by promoting the chelation of cadmium onto the root cell wall components. *Science of the Total Environment*, 2020, 728: 138833
- [20] Love M I, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with deseq2. *Genome Biology*, 2014, 15(12): 1-21
- [21] Varet H, Brillet-Guéguen L, Coppée J-Y, Dillies M-A. SARTools: A DESeq2- and EdgeR-based r pipeline for comprehensive differential analysis of RNA-seq data. *PLoS ONE*, 2016, 11(6): e0157022
- [22] Ashburner M, Ball C A, Blake J A, Botstein D, Butler H, Cherry J M, Davis A P, Dolinski K, Dwight S S, Eppig J T, Harris M A, Hill D P, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese J C, Richardson J E, Ringwald M, Rubin G M, Sherlock G. Gene ontology: Tool for the unification of biology. *Nature Genetics*, 2000, 25(1): 25-29
- [23] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408
- [24] Uruguchi S, Mori S, Kuramata M, Kawasaki A, Arao T, Ishikawa S. Root-to-shoot Cd translocation via the xylem is the major process determining shoot and grain cadmium accumulation in rice. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(9): 2677-2688
- [25] Khanna K, Kohli S K, Ohri P, Bhardwaj R, Ahmad P. Agroecotoxicological aspect of Cd in soil-plant system: Uptake, translocation and amelioration strategies. *Environmental Science and Pollution Research*, 2022, 29(21): 30908-30934
- [26] Hsu Y T, Kao C H. Role of abscisic acid in cadmium tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Plant, Cell & Environment*, 2003, 26(6): 867-874
- [27] Liu X, Peng K, Wang A, Lian C, Shen Z. Cadmium accumulation and distribution in populations of *Phytolacca americana* L. and the role of transpiration. *Chemosphere*, 2010, 78(9): 1136-1141
- [28] Aroca R, Vernieri P, Ruiz-Lozano J M. Mycorrhizal and non-mycorrhizal *Lactuca sativa* plants exhibit contrasting responses to exogenous ABA during drought stress and recovery. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(8): 2029-2041
- [29] Dawuda M M, Liao W, Hu L, Yu J, Xie J, Calderón-Urrea A, Wu Y, Tang Z. Foliar application of abscisic acid mitigates cadmium stress and increases food safety of cadmium-sensitive lettuce (*Lactuca sativa* L.) genotype. *PeerJ*, 2020, 8(7): e9270
- [30] Wang Z, Zhang Y, Huang Z, Huang L. Antioxidative response of metal-accumulator and non-accumulator plants under cadmium stress. *Plant and Soil*, 2008, 310(1-2): 137-149
- [31] Chen G, Liu Y, Wang R, Zhang J, Owens G. Cadmium adsorption by willow root: The role of cell walls and their subfractions. *Environmental Science and Pollution Research*, 2013, 20(8): 5665-5672
- [32] Yu X, Yang L, Fan C, Hu J, Zheng Y, Wang Z, Liu Y, Xiao X, Yang L, Lei T, Jiang M, Jiang B, Pan Y, Li X, Gao S, Zhou Y. Abscisic acid (ABA) alleviates cadmium toxicity by enhancing the adsorption of cadmium to root cell walls and inducing antioxidant defense system of *Cosmos bipinnatus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2023, 261: 115101
- [33] Kong X, Li C, Zhang F, Yu Q, Gao S, Zhang M, Tian H, Zhang J, Yuan X, Ding Z. Ethylene promotes cadmium-induced root growth inhibition through EIN3 controlled XTH33 and LSU1 expression in *Arabidopsis*. *Plant, Cell & Environment*, 2018, 41(10): 2449-2462
- [34] Cosgrove D J. Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2005, 6(11): 850-861
- [35] Van Sandt V S T, Suslov D, Verbelen J P, Vissenberg K. Xyloglucan endotransglucosylase activity loosens a plant cell wall. *Annals of Botany*, 2007, 100(7): 1467-1473
- [36] Eklöf J M, Brumer H. The XTH gene family: An update on enzyme structure, function, and phylogeny in xyloglucan remodeling. *Plant Physiology*, 2010, 153(2): 456-466
- [37] Leng Y, Li Y, Ma Y, He L, Li S. Abscisic acid modulates differential physiological and biochemical responses of roots, stems, and leaves in mung bean seedlings to cadmium stress. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, 28(5): 6030-6043
- [38] Yu R, Jiang Q, Xv C, Li L, Bu S, Shi G. Comparative proteomics analysis of peanut roots reveals differential mechanisms of cadmium detoxification and translocation between two cultivars differing in cadmium accumulation. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1): 1-15
- [39] 韩彦莎, 胡杨 XTH 调控烟草盐诱导肉质化及缓解重金属胁迫的机理研究. 北京: 北京林业大学, 2013
- Han Y S. *Populus euphratica* XTH mediates salinity-induced leaf succulence and alleviates heavy metal stress in tobacco plants. Beijing: Beijing Forestry University, 2013
- [40] 李娜, 张蕊, 黄遵锡, 周峻沛. β -木糖苷酶的生物活性物质转化功能研究进展. *微生物学通报*, 2020, 47(7): 2290-2299
- Li N, Zhang R, Huang Z X, Zhou J P. Research progress in bioactive substances transformation by β -xylosidases.

- Microbiology China, 2020, 47 (7): 2290-2299
- [41] Chandrasekar B, Van der Hoorn R A L. Beta galactosidases in Arabidopsis and tomato-a mini review. Biochemical Society Transactions, 2016, 44(1): 150-158
- [42] Zhang Q, Wang L, Wang Z, Zhang R, Liu P, Liu M, Liu Z, Zhao Z, Wang L, Chen X, Xu H. The regulation of cell wall lignification and lignin biosynthesis during pigmentation of winter jujube. Horticulture Research, 2021, 8(1):3257-3270
- [43] Micheli F. Pectin methylesterases: Cell wall enzymes with important roles in plant physiology. Trends in Plant Science, 2001, 6(9): 414-419
- [44] Liu Y, Tao Q, Li J, Guo X, Luo J, Jupa R, Liang Y, Li T. Ethylene-mediated apoplastic barriers development involved in cadmium accumulation in root of hyperaccumulator *Sedum alfredii*. Journal of Hazardous Materials, 2021, 403: 123729
- [45] 刘荣鹏, 盛莎莎, 王晓云, 袁俊. 江西道地药用植物车前镉富集特点及其响应镉胁迫的转录组分析. 分子植物育种, 2024, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.s.20230228.1513.013.html>
- Liu R P, Sheng S S, Wang X Y, Yuan J. Characteristics of cadmium enrichment of Jiangxi daodi medicinal plant *Plantago asiatica* L. and its transcriptome analysis in response to cadmium stress. Molecular Plant Breeding, 2024, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.s.20230228.1513.013.html>
- [46] Zhao L, Zhu Y, Wang M, Ma L, Han Y, Zhang M, Li X, Feng W, Zheng X. Comparative transcriptome analysis of the hyperaccumulator plant *Phytolacca americana* in response to cadmium stress. 3 Biotech, 2021, 11(7): 327
- [47] 倪显春, 任建国, 庞玉新, 王俊丽. 转录组测序分析艾纳香对镉胁迫响应机制. 分子植物育种, 2024, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230119.0907.002.html>
- Ni X C, Ren J G, Pang Y X, Wang J L. Transcriptome sequencing analysis of the response mechanism of *Blumea balsamifera* Dc to cadmium stress. Molecular Plant Breeding, 2024, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230119.0907.002.html>
- [48] Li, D, Zhou C, Ma J, Wu Y, Kang L, An Q, Zhang J, Deng K, Li J, Pan C. Nanoselenium transformation and inhibition of cadmium accumulation by regulating the lignin biosynthetic pathway and plant hormone signal transduction in pepper plants. Journal of Nanobiotechnology, 2021, 19(1): 1-14