

湿地甸灯藓(*Plagiomnium acutum*) 对 Pb 胁迫的生物标志物响应

李朝阳^{1,2}, 陈 玲^{1,2}, 马陶武¹, 李 菁^{1,2*}, 龚双姣^{1,2}, 李红亮¹

(1.吉首大学生物资源与环境科学学院, 湖南 吉首 416000; 2.植物资源保护与利用湖南省高校重点实验室, 湖南 吉首 416000)

摘 要:采用浸没培养实验研究了不同浓度 Pb 胁迫下湿地甸灯藓(*Plagiomnium acutum*)的总叶绿素、丙二醛、可溶性糖、游离脯氨酸含量以及抗氧化酶活性等生理生化生物标志物的变化,以探讨 Pb 胁迫下湿地甸灯藓的受损和耐受机理。结果表明,湿地甸灯藓外表伤害症状与 Pb 胁迫浓度存在明显的剂量-效应关系;低浓度(20 mg·L⁻¹)Pb 胁迫可以显著地促进湿地甸灯藓的总叶绿素含量增加,而中、高浓度(50 mg·L⁻¹)Pb 胁迫则导致总叶绿素含量显著降低。湿地甸灯藓对 Pb 具有较强的生物富集能力,且藓体 Pb 的累积量与环境 Pb 浓度呈显著正相关。湿地甸灯藓体内 MDA 和游离脯氨酸含量随 Pb 胁迫浓度的增加表现为显著升高。可溶性糖含量仅在高浓度 Pb 胁迫下显著升高。可溶性蛋白含量、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性均随 Pb 胁迫浓度的增加而显著下降,其中 CAT 活性的降幅最大,SOD 活性随 Pb 胁迫浓度的增加逐渐显著增加。在高浓度 Pb 胁迫下,由于细胞膜脂过氧化和蛋白质变性失活所导致的膜保护体系损伤可能是湿地甸灯藓 Pb 中毒的主要原因,而渗透调节可能是其缓解 Pb 毒害的一种主要方式,SOD 则在清除 Pb 胁迫产生的活性氧自由基过程中起重要作用。总叶绿素、丙二醛、游离脯氨酸、可溶性蛋白、CAT 和 SOD 可以作为湿地甸灯藓受 Pb 胁迫的敏感生物标志物。

关键词:湿地甸灯藓;铅;胁迫;生物标志物

中图分类号:X173 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2012)02-0292-07

Biomarker Responses of *Plagiomnium acutum* to Lead Stress

Li Zhao-yang^{1,2}, CHEN Ling^{1,2}, MA Tao-wu¹, LI Jing^{1,2*}, GONG Shuang-jiao^{1,2}, LI Hong-liang¹

(1.College of Biology and Environmental Science, Jishou University, Jishou 416000, China; 2.Laboratory of Plant Resources Conservation and Utilization, College of Hunan Province, Jishou 416000, China)

Abstract: To investigate the possible negative effects of Pb stress on moss *Plagiomnium acutum* and the possible mechanisms by which *P. acutum* can tolerate Pb stress, a submersion experiment was set up and the changes in biomarkers profiles (i.e. the contents of total chlorophyll, malondialdehyde (MDA), soluble sugar and free proline, as well as the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT)) in *P. acutum* under Pb stress were characterized. The results showed that there was an obvious dose-response relationship between the visible damages observed in *P. acutum* and Pb concentrations in the solutions. At low concentration (20 mg·L⁻¹), Pb could cause a significant increase in the content of total chlorophyll in *P. acutum*; whereas, at high concentrations (>50 mg·L⁻¹), Pb led to significant decreases in the content of total chlorophyll. *P. acutum* displayed a strong ability to accumulate Pb from the solutions. The concentrations of Pb in *P. acutum* were significantly positively correlated to the concentrations of Pb in the solutions. The levels of MDA and free proline in *P. acutum* significantly increased with increasing Pb concentrations in the solutions; however, a significant increase in the content of soluble sugar was only observed in *P. acutum* treated with the highest Pb concentration. The contents of soluble protein and the activities of POD and CAT significantly decreased with increasing concentrations of Pb in the solutions, with a maximum reduction of the CAT activity. In contrast, the activity of SOD significantly increased with the increasing concentrations of Pb in the solutions. The damage of membrane protection system

收稿日期:2011-07-01

基金项目:湖南省科技计划项目资助(2010SK3033)

作者简介:李朝阳(1969—),女,湖南古丈人,硕士,高级实验师,主要从事植物生物化学研究。E-mail:ligz0000@126.com

* 通讯作者:李 菁 E-mail:lkj@jssu.edu.cn

caused by lipid peroxidation, protein denaturation and inaction might be a primary cause of Pb toxicity in *P. acutum*. The osmotic regulation might be one of the major processes that are able to mitigate the toxicity of Pb in *P. acutum*, while SOD seems to play an important role in eliminating ROS under Pb stress. The levels of total chlorophyll, MDA, free proline, soluble protein, CAT, and SOD might be considered as sensitive biomarkers of Pb stress in *P. acutum*.

Keywords: *Plagiomnium acutum*; lead; stress; biomarker

目前, 环境质量日益严重, 如汽车尾气排放、大气沉降、矿山废渣等活动使越来越多的重金属被释放到环境中, 并通过食物链对生物造成各种危害, 重金属污染已成为一个世界性重大问题。铅(Pb)是主要的重金属环境污染物, 为“五毒”重金属元素之一, 大气沉降是其主要污染来源, 污染普遍存在, 它是植物的非必需元素, 对植物具有明显的毒害作用。藓类植物由于其特殊的结构如无角质层, 表面积大, 叶由单细胞构成, 且极易对污染因子作出反应, 可直接吸收和吸附大气中的重金属而成为监测大气重金属污染的指示植物^[1-4]。近年来, 利用苔藓植物进行重金属伤害机理方面的研究已有报道, 重金属 Pb、Cd 胁迫可使大羽藓(*Thuidium cymbifolium*)的叶绿体外膜破裂甚至解体, 类囊体片层膨胀, 线粒体外膜断裂甚至消失, 核质解体, 并且 Pb 处理的细胞内出现大量黑色颗粒^[5]。在 Pb、Ni 胁迫下, 大灰藓(*Hypnum plumaeforme*)及大羽藓的丙二醛含量和过氧化氢酶活性变化具有浓度依赖性, 而过氧化物酶在清除 Pb、Ni 胁迫产生的活性氧自由基的过程中起着重要作用^[6-7]。Saxena 等发现 Pb 使 *Sphagnum* 的硝酸还原酶活性降低, 过氧化物酶活性增加, 而谷胱甘肽能提高 *Sphagnum* 对 Pb 的生物富集潜力, 可有效缓解 Pb 的毒性^[3]。

生物标志物是指生物体暴露于亚致死剂量的有毒化合物时, 在分子、细胞等水平上发生异常变化的信号指标。如果这些异常变化先于严重的结构损伤, 标志物就有助于确定生物体所处的污染状态及其潜在危害, 可以为严重毒性伤害提供早期警报, 常用的生物标志物主要包括抗氧化防御系统、DNA 损伤、金属硫蛋白(MT)诱导等^[8]。湿地甸灯藓(*Plagiomnium acutum*)是比较常见的一种藓类植物, 龚双姣等初步研究了 Pb、Cd 对 3 种藓类抗氧化防御系统的影响, 发现超氧化物歧化酶(SOD)可能在清除由 Pb、Cd 胁迫产生的活性氧自由基中发挥关键作用^[9-10], 比较而言, 湿地甸灯藓对 Pb 胁迫的敏感性弱于尖叶拟船叶藓, 但强于甸枝青藓^[9]。本文继续以湿地甸灯藓为试验材料, 研究 Pb 胁迫下湿地甸灯藓的生物标志物响应,

以期探讨湿地甸灯藓对 Pb 胁迫的响应机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料与实验处理

湿地甸灯藓采于湖南吉首市德夯风景区(海拔高度 300~500 m), 该区植物资源丰富, 空气洁净, 环境基本未受污染。苔藓采回用自来水冲洗干净, 去除杂物后再用蒸馏水清洗, 然后用蒸馏水培养处理 2 d, 待其基本恢复正常生长状况时取出, 用滤纸吸干表面水分后, 电子天平称取 2 g 置于直径 12 cm 的玻璃培养皿中, 分别加入 150 mL 不同浓度的 Pb(0(对照)、20、50、100 mg · L⁻¹)溶液进行浸没培养, 重金属 Pb 采用 Pb(NO₃)₂(分析纯), 每处理设置 3 个重复。将培养皿放置在微电脑光照培养箱中(SPX225012G 型, 上海博迅)培养, 温度维持在(20±1)℃, 光暗对比为 16:8, 光照强度为 1 600 lx。暴露持续时间为 15 d, 每 2 d 更换 1 次处理液, 更换处理液时仔细观察湿地甸灯藓的生长状况及颜色变化并拍照和记录。暴露实验结束后对各处理组进行取样, 然后测定各生理生化指标。

1.2 生理生化指标的测定

1.2.1 Pb 积累量的测定

准确称取 0.2 g 样品, 烘干, 剪碎样品, 加入浓硝酸 8 mL 用微波消解系统(CEM, Mars 240/50)进行消解, 用去离子水定容到 25 mL, 采用 ICP-OES 测定 Pb 的含量。

1.2.2 叶绿素含量、可溶性蛋白、游离脯氨酸、丙二醛和可溶性糖含量的测定

叶绿素含量采用丙酮提取, 分光光度法测定^[11]; 可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝法^[12]; 游离脯氨酸含量采用硫代巴比妥酸提取, 茚三酮显色, 分光光度计比色测定^[12]。采用硫代巴比妥酸(TBA)法同时测定丙二醛含量和可溶性糖含量^[12]。

1.2.3 酶活性测定

粗酶液的制备参考龚双姣等^[9]方法稍加修改: 将每个处理的藓类植株用去离子水冲洗干净, 吸水纸吸干表面水分, 称取约 0.5 g 样品, 剪碎, 于研钵中加入

预冷的 3 mL $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (pH 8.0) Tris-HCl 缓冲液, 冰浴研磨匀浆, 转入到 10 mL 刻度离心管中, 定容到 5 mL, 在 $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 、 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下离心 20 min, 取上清液, 分成 3 份, 于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备测。过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚-过氧化氢法^[8]进行测定, 以每分钟 A470 nm 增加 1 为 1 个酶活力单位 (U), 单位为 $\text{U} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 。过氧化氢酶(CAT)活性采用过氧化氢分解法^[8]进行测定, 以每分钟内 A240 nm 减少 1 为 1 个酶活力单位(U), 单位为 $\text{U} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 。SOD 活性采用氯化硝基四氮唑蓝(NBT)光化学还原法^[8]进行测定, 以抑制 NBT 光化学还原的 50 % 作为 1 个酶活力单位(U), 单位为 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{h}^{-1}$ 。以上酶活都采用 UV757CRT 紫外分光光度计进行比色测定。

1.3 数据分析

本文数据处理及分析都在 SPSS16.0 中进行, 采用 Duncan's multiple range test 方法进行不同处理间的差异显著性检验; 部分指标与 Pb 浓度之间的相关显著性采用 Pearson 积差相关分析, 显著水平均取 0.05。

2 结果与分析

2.1 Pb 胁迫下湿地甸灯藓的表现伤害、总叶绿素含量及 Pb 积累量的变化

在整个胁迫期间, 与对照组相比, 在 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组中未观察到明显的伤害症状; $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组的植株在培养 8 d 后出现轻微失绿症状, 随胁迫时间的延长略微变黄, 表现为轻度伤害; $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组的植株受到明显的伤害, 在 6 d 时即出现失绿症状, 并随培养时间的延长而逐渐变黄, 10 d 时藓体全部变黄, 培养液变混浊, 12 d 时茎部开始变黑(图1)。这说明湿地甸灯藓外表伤害症状与 Pb 浓度存在较明显的剂量-效应关系。

Pb 胁迫下湿地甸灯藓总叶绿素和 Pb 积累量的变化见表 1。与对照相比, 湿地甸灯藓总叶绿素含量

表 1 Pb 胁迫对湿地甸灯藓总叶绿素含量和 Pb 积累量的影响

Table 1 Effects of different concentrations of Pb in solutions on the contents of total chlorophyll and the concentrations of Pb in

<i>Plagiommium acutum</i>		
Pb 浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Pb concentration	总叶绿素/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ Total chlorophyll	Pb 积累量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{DW}$ Pb concentration
0	$1.56 \pm 0.02 \text{ b}$	$0.03 \pm 0.00 \text{ d}$
20	$1.84 \pm 0.09 \text{ a}$	$2.52 \pm 1.76 \text{ c}$
50	$1.00 \pm 0.06 \text{ c}$	$65.44 \pm 0.81 \text{ b}$
100	$0.88 \pm 0.01 \text{ c}$	$100.65 \pm 12.02 \text{ a}$

注: 不同字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

Note: Numbers followed by different letters in the same column are significantly different ($P < 0.05$). The same as below.

随 Pb 浓度的增加呈现先增后降趋势。 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组植株总叶绿素含量比对照组增加了 17.9%, 但当 Pb 浓度为 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 及以上时, 湿地甸灯藓的总叶绿素含量显著下降, 并随 Pb 胁迫浓度增加而持续降低。

表 1 还显示, 随 Pb 处理浓度的增加, 湿地甸灯藓 Pb 积累量显著增加, 呈现显著的正相关关系 ($r = 0.966, P < 0.05$)。当 Pb 浓度为 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 植株积累的 Pb 为对照组的 87 倍; 而当 Pb 浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 植株积累的 Pb 为对照组的 3 469 倍。

2.2 Pb 胁迫下湿地甸灯藓丙二醛含量的变化

由图 2 可见, 湿地甸灯藓体内 MDA 含量随 Pb 胁迫浓度的增加而显著升高, 存在明显的浓度-效应关系。与对照组相比, 各胁迫处理组的 MDA 含量分别增加了 527%、800% 和 2 527%。

2.3 Pb 胁迫下湿地甸灯藓的可溶性糖和游离脯氨酸含量的变化

可溶性糖和游离脯氨酸是反应植物细胞渗透调节能力的重要指标。图 3 的结果显示, Pb 胁迫可使湿地甸灯藓可溶性糖含量增加, 但 Pb 浓度为 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 及以下时对可溶性糖的增加不显著, 当 Pb 浓度达到 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 则使可溶性糖含量显著增加, 比对照

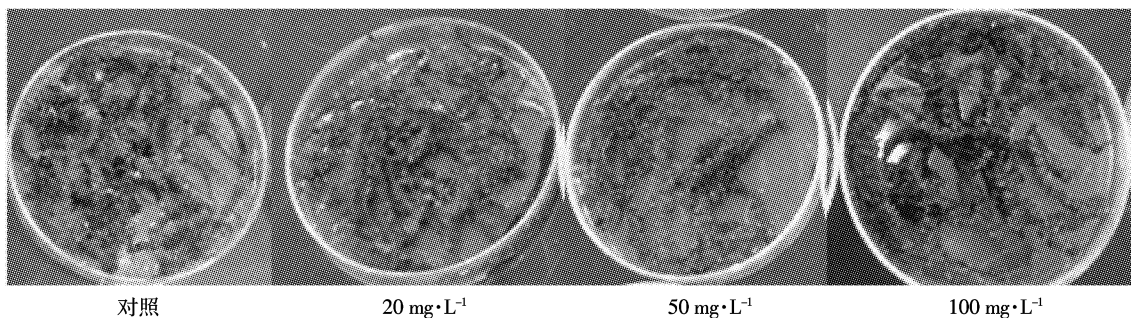
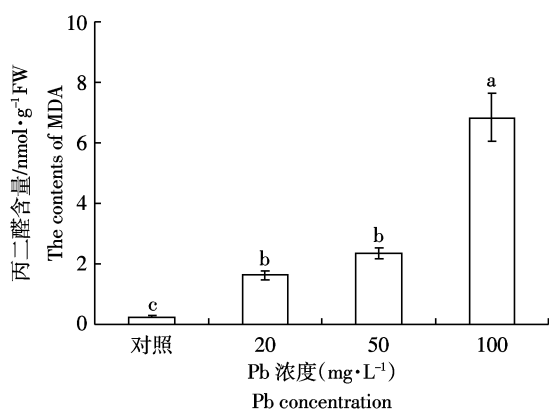


图 1 不同浓度 Pb 胁迫对湿地甸灯藓的表现伤害

Figure 1 *Plagiommium acutum* showing visible damage as a result of Pb stress



不同字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。下同
bars with different letters are significantly different($P<0.05$).
The same as below

图2 Pb胁迫对湿地甸灯藓丙二醛含量的影响

Figure 2 Effects of different concentrations of Pb in solutions on the contents of malondialdehyde(MDA) in *Plagiomnium acutum*

增加了36%。同时,湿地甸灯藓的游离脯氨酸含量随Pb胁迫浓度的增加而显著增加,与对照相比,分别增加了159%、855%和1085%。

2.4 Pb胁迫下湿地甸灯藓的可溶性蛋白和抗氧化酶活性的变化

图4的结果显示,Pb胁迫使湿地甸灯藓的可溶性蛋白含量显著降低,与对照相比,各处理组的可溶性蛋白含量分别减少了70%、81%和83%(图4A)。作为植物防御活性氧伤害的重要保护酶类,湿地甸灯藓SOD活性随Pb胁迫浓度的增加持续增加,且当Pb浓度在 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上时活性显著增加,与对照相比,分别增加了54%、164%和220%(图4B)。各处理组湿地甸灯藓的POD和CAT的活性随Pb胁迫浓度的增加而显著降低,但CAT活性

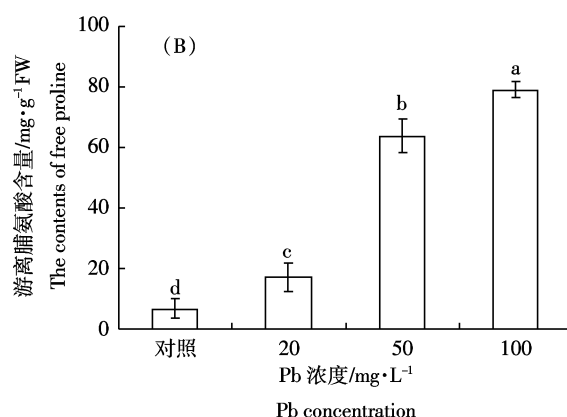
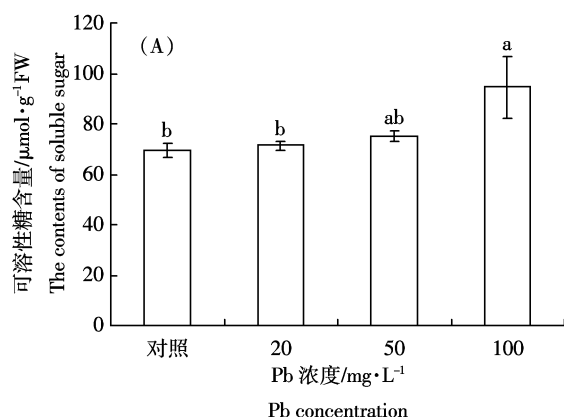


图3 Pb胁迫对湿地甸灯藓可溶性糖(A)和游离脯氨酸(B)含量的影响

Figure 3 Effects of different concentrations of Pb in solutions on the contents of soluble sugar(A) and free proline(B) in *Plagiomnium acutum*

下降更显著,与对照相比,分别下降了75%、72%、90%(图4C和图4D)。

3 讨论

Maevskaya等^[13]在用同属植物 *Plagiomnium undulatum* 为材料研究Pb在藓体内的累积和分布时发现,*P. undulatum* 有很强的累积Pb的能力,在100 mL Pb总量为 2.07 mg 的溶液中培养1 h后 *P. undulatum* 的Pb累积量便达到了 $2\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{ FW}$,几乎相当于溶液中溶解的Pb总量。Sun等^[6]发现 *H. plumaeforme* 有很强的富集Pb能力, $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Pb处理48 h后 *H. plumaeforme* 对Pb的累积量可达 $25\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{ DW}$ 左右。在本研究中,当Pb浓度为 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,植株积累的Pb达到 $100.65\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{ DW}$,本研究结果与上述结果基本一致,表明湿地甸灯藓具有很强的富集Pb能力。

有研究表明,植物铅中毒主要是通过破坏生物膜的结构,引起叶绿体、线粒体及细胞核等重要细胞器的损伤,进而影响光合作用、呼吸作用及代谢过程,引起植物生长减缓甚至死亡^[5,14],但不同藓类的反应存在种类差异。本研究结果与针对大灰藓^[6]和大羽藓^[7]的研究结果类似;尖叶走灯藓(*Plagiomnium cuspidatum*)^[14]、弯叶灰藓(*Hypnum revolutum*)^[15]、东亚砂藓(*Racomitrium japonicum*)和拟垂枝藓(*Rhytidiadelphus squarrosus*)^[16]、*Sphagnum squarrosum*^[3]以及鳞叶藓(*Taxiphyllum taxirameum*(Mitt.))^[17]的总叶绿素含量却随重金属的浓度增加而显著下降。在较高浓度重金属胁迫下,可能使叶绿体的双层膜结构部分不完整或完全消失,从而导致叶绿体最终解体^[5],同时严重破坏了光合作用中心色素^[14];也可能是重金属与相关Chl合成酶的巯基结合,改变了酶的构象而使酶失活引起^[16]。可见,

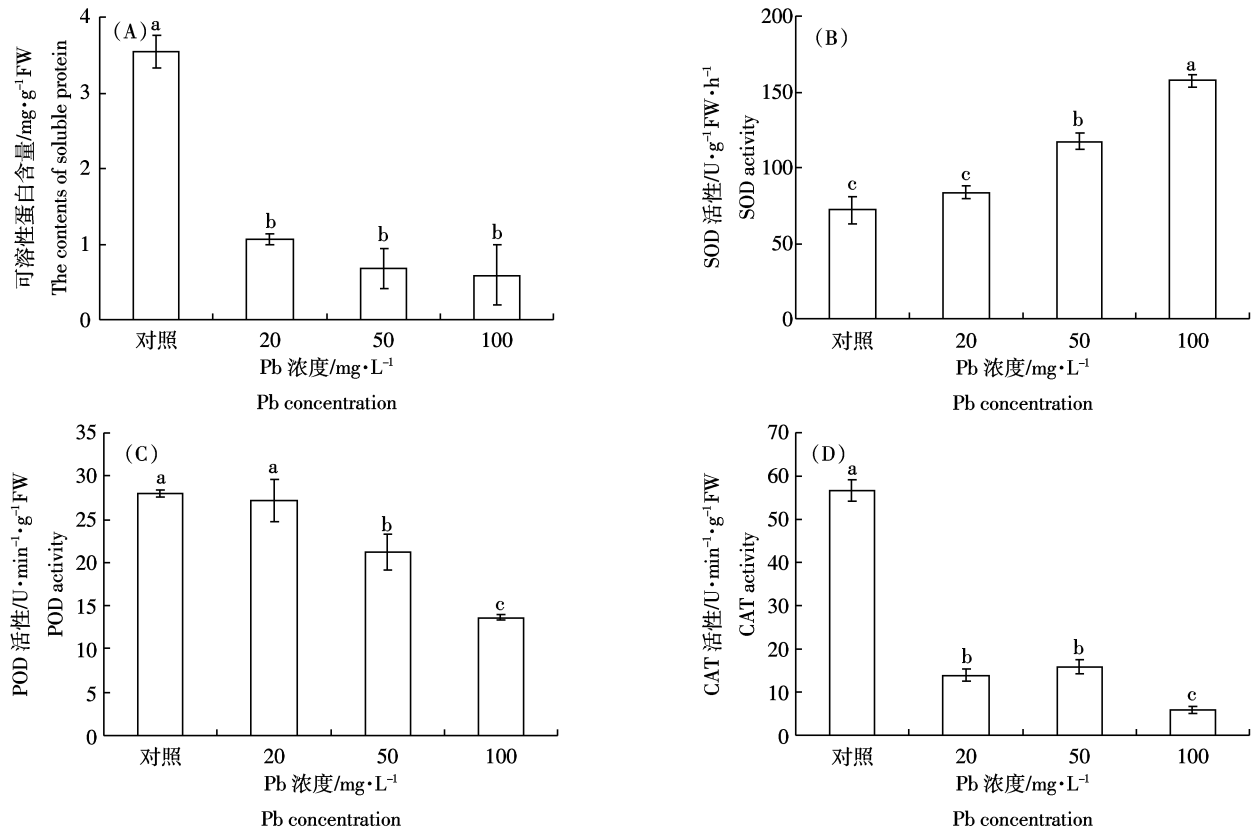


图 4 Pb 胁迫对湿地甸灯藓可溶性蛋白含量(A)、SOD(B)、POD(C)和 CAT(D)活性的影响

Figure 4 Effects of different concentrations of Pb in solutions on the contents of soluble protein(A), and the activities of SOD(B), POD(B), and CAT(C) in *Plagiomnium acutum*

不同的藓类植物对重金属胁迫具有不同的光合系统响应机制。大羽藓、大灰藓以及本研究中的湿地甸灯藓总叶绿素含量在低浓度 Pb 胁迫下出现小幅升高则体现了毒物的兴奋效应,这可能是保护植物体免受 Pb 毒害的一种机制。

MDA 含量反映了细胞膜脂过氧化程度和植物对逆境条件反应的强弱^[16],通常膜脂过氧化还伴随有活性氧产生^[18]。Pb 胁迫下,湿地甸灯藓的 MDA 含量增加,表明膜脂过氧化程度加剧,引起细胞膜透性逐渐增加,导致细胞内含物流失加重,对植物的毒害作用增强,高浓度 Pb(100 mg·L⁻¹)胁迫中培养液逐渐变混浊也证实了这一点。几乎所有的藓类在重金属胁迫下都伴随有 MDA 含量增加^[7,18-22],表明细胞膜脂过氧化引起膜结构损伤可能是藓类植物遭受重金属毒害的主要原因。

逆境条件(旱、涝、盐害等)下,植物体内的某些物质如可溶性糖、脯氨酸等能够提高其抗性以维持对逆境的适应性^[23]。脯氨酸累积是由脯氨酸合成酶的活化、生物降解的抑制以及参与合成的蛋白质的减少而产生的,它是一种亲和性渗透调节物质,主要是保持

原生质与环境的渗透平衡,增加蛋白质的可溶性^[24]。有研究认为,脯氨酸具有稳定生物大分子结构、降低细胞毒性及清除羟基自由基的作用,是逆境胁迫的重要生理指标之一^[25]。同时,脯氨酸含量及可溶性糖的变化也是复苏植物在干旱胁迫时最常见的一种现象^[19]。本研究结果与多数藓类研究结果类似^[20-22,26],在重金属胁迫下脯氨酸含量显著上升。很可能是 Pb 进入藓类体内后以共价键形式被结合而难以解吸,引起细胞死亡导致植物体坏死黑斑的形成^[13],而可溶性糖的积累,则可抵抗这种伤害,它能维持小分子内部或它们之间的氢键来保障膜系统的完整性和稳定性^[27]。重金属胁迫也可能是通过减缓电子传递过程引起辅酶 I (NADH+H⁺)积累,脯氨酸则可减少这种积累,并增加细胞内的酸度,从而达到解毒的目的^[18]。另外,脯氨酸也可通过与磷脂的相互作用来稳定膜的结构^[27]。但重金属胁迫下,东亚砂藓和拟垂枝藓的脯氨酸含量变化与本研究结果仍有所不同,重金属浓度较低时,两种藓的脯氨酸含量是降低的,当重金属浓度达到较大值时,脯氨酸含量急剧上升,但当金属离子浓度进一步增加后,两种藓的脯氨酸含量又急剧下降^[16],而弯叶

灰藓和大羽藓^[28]则是先升后降,这表明不同藓类植物对重金属胁迫具有不同的渗透调节机制。

可溶性蛋白多是未与膜系统特异结合的一些酶类,其含量越高表明该部位的生理生化反应与代谢活动越旺盛,有利于植物抵抗不良环境的胁迫和伤害^[16]。而重金属离子进入植物体后,可与其他化合物结合成金属络合物或螯合物,如金属硫蛋白(MT)和植物螯合素(PC),从而抑制植物各种代谢活动尤其是蛋白质的合成。本研究结果与鳞叶藓^[17]和泥炭藓^[3]的结果相似,但与东亚砂藓和拟垂枝藓^[16]、弯叶灰藓和大羽藓^[28]的结果有所不同,随重金属浓度增加可溶性蛋白先升后降,这极有可能是蛋白合成起始阶段所需离子 Mg^{2+} 被重金属替换,而导致蛋白质合成受阻,而且这种影响即与植物种类有关,也与重金属浓度和种类有关^[29]。湿地匍灯藓可溶性蛋白含量随Pb胁迫浓度增加而下降,很可能是原有蛋白质变性失活与分解,另一方面也抑制了新蛋白质合成^[30]。SOD是超氧阴离子自由基的清除剂,是抗氧化保护酶系统的第一道防线,其活性的高低与植物抗逆性大小有一定的相关性^[7],而POD活性的维持和提高是植物耐受重金属胁迫的重要机制^[28],POD和CAT共同作用催化 H_2O_2 形成 H_2O ,从而有效的阻止 O_2 和 H_2O_2 在植物体内的积累。Pb胁迫过程中,湿地匍灯藓的POD和CAT活性都表现为持续下降,表明 H_2O_2 浓度已经超过了其能正常分解的范围,体内活性氧积累加剧^[7],可能导致防御系统功能的崩溃,同时Pb也能引起酶变性,而导致两种酶最终失活,从结果来看,CAT活性受Pb影响更大,说明湿地匍灯藓的CAT活性对Pb的刺激比较敏感,本研究结果与大多数研究结果类似^[7,16,26,28],但大灰藓^[6]和鳞叶藓^[17]的研究结果仍与本研究结果有所不同,Pb胁迫引起大灰藓POD活性持续上升而CAT活性下降。此外,本研究结果表明,SOD活性随Pb胁迫浓度的增加而显著的增加,这与尖叶拟船叶藓^[9]的结果类似,但与上述藓类的研究结果仍有不同,这说明酶活性变化的差异性可能与酶自身的特性和对外界刺激的敏感性有关^[28],同时也可能与植物种类有关。

4 结论

(1)湿地匍灯藓对Pb具有较强的生物富集能力,湿地匍灯藓外表伤害症状与Pb胁迫浓度存在明显的剂量-效应关系,且藓体的Pb累积量与Pb胁迫浓度呈显著正相关。湿地匍灯藓总叶绿素含量在低浓度

Pb胁迫下出现小幅升高体现了毒物的兴奋效应,可能是保护植物体免受Pb毒害的一种机制。

(2)湿地匍灯藓体内MDA、游离脯氨酸含量随Pb胁迫浓度的增加表现为显著升高。可溶性蛋白含量、POD和CAT活性均随Pb胁迫浓度的增加而显著下降。在高浓度Pb胁迫下,由于细胞膜脂过氧化和蛋白质变性失活所导致的膜保护体系损伤可能是湿地匍灯藓Pb中毒的主要原因,而渗透调节可能是其缓解Pb毒害的一种主要方式,SOD则在清除Pb胁迫产生的活性氧自由基过程中起重要作用。

(3)总叶绿素、丙二醛、游离脯氨酸、可溶性蛋白、CAT和SOD可以作为湿地匍灯藓受Pb胁迫的敏感生物标志物。

参考文献:

- [1] 崔明昆. 附生苔藓植物对城市大气环境的生态监测[J]. 云南师范大学学报, 2001, 21(3): 54-57.
CUI Ming-kun. Ecological monitoring of epiphytic bryophytes for air pollution in urbanization[J]. *Journal of Yunnan Normal University*, 2001, 21(3): 54-57.
- [2] Choudhury S, Panda S K. Induction of oxidative stress and ultrastructural changes in moss *Taxithelium nepalense*(Schwaegr)Broth. under lead and arsenic phytotoxicity[J]. *Current Science*, 2004, 87: 342-348.
- [3] Saxena A, Saxena D K, Srivastava H S. The influence of glutathione on physiological effects of lead and its accumulation in moss *Sphagnum Squarrosum*[J]. *Water Air and Soil Pollution*, 2003, 143: 351-361.
- [4] Čeburnis D, Valiulis D. Investigation of absolute metal uptake efficiency from precipitation in moss[J]. *The Science of the Total Environment*, 1999, 226: 247-253.
- [5] 魏海英, 尹增芳, 方炎明, 等. Pb、Cd污染胁迫对大羽藓超微结构的影响[J]. 西北植物学报, 2003, 23(12): 2066-2071.
WEI Hai-ying, YIN Zeng-fang, FANG Yan-ming, et al. Effects of Pb, Cd pollution on ultrastructure of *Thuidium cymbifolium* [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 2003, 23(12): 2066-2071.
- [6] Sun S Q, He M, Cao T, et al. Response mechanisms of antioxidants in bryophyte(*Hypnum plumaeforme*) under the stress of single or combined Pb and/or Ni[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2009, 149: 291-302.
- [7] 孙守琴, 何明, 曹同, 等. Pb、Ni胁迫对大羽藓抗氧化酶系统的影响[J]. 应用生态学报, 2009, 20(4): 937-942.
SUN Shou-qin, HE Ming, CAO Tong, et al. Effects of Pb and Ni stress on antioxidant enzyme system of *Thuidium cymbifolium* [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, 20(4): 937-942.
- [8] 赵顺顺, 孟范平, 王震宇, 等. 监测水体重金属污染的分子生物标志物研究进展[J]. 生态环境学报, 2010, 19(2): 453-458.
ZHAO Shun-shun, MENG Fan-ping, WANG Zhen-yu, et al. Progress in molecular biomarkers for monitoring heavy metal pollution of water system[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2010, 19(2): 453-458.
- [9] 龚双姣, 马陶武, 姜业芳, 等. 铅胁迫对3种藓类植物抗氧化酶活性

- 的影响[J]. 西北植物学报, 2007, 27(10):2035-2040.
- GONG Shuang-jiao, MA Tao-wu, JING Ye-fang, et al. Effects of Pb stress on the activities of antioxidant enzymes in three mosses species[J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 2007, 27(10):2035-2040.
- [10] 龚双姣, 马陶武, 姜业芳, 等. 镉胁迫对 3 种藓类植物抗氧化酶活性的影响[J]. 西北植物学报, 2008, 28(9):1765-1771.
- GONG Shuang-jiao, MA Tao-wu, JING Ye-fang, et al. Antioxidant enzyme activities induced by cadmium stress in three species of mosses[J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 2008, 28(9):1765-1771.
- [11] Arnon D I. Copper enzyme in isolated chloroplasts: Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*[J]. *Plant Physiology*, 1949, 24:1-15.
- [12] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003:159-259.
- [13] Maevskaya S M, Kardash A R, Demkiv O T. Absorption of cadmium and lead ions by gametophyte of the moss *Plagiomnium undulatum*[J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2001, 48(6):820-824.
- [14] 衣艳君, 李芳柏, 刘家尧. 尖叶走灯藓(*Plagiomnium cuspidatum*)叶绿素荧光对复合重金属胁迫的响应[J]. 生态学报, 2008, 28(11):5437-5444.
- YI Yan-jun, LI Fang-bai, LIU Jia-yao. Physiological response of chlorophyll fluorescence in moss *Plagiomnium cuspidatum* to mixture heavy metal solution[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(11):5437-5444.
- [15] 魏海英, 方炎明, 尹增芳. Pb、Cd 单一及复合污染对弯叶灰藓某些生理特性的影响[J]. 广西植物, 2003, 23(1):69-72.
- WEI Hai-ying, FANG Yan-ming, YIN Zeng-fang. Effects of Pb, Cd single and joint pollution on some physiological characters of *Hypnum revolutum*[J]. *Guihaia*, 2003, 23(1):69-72.
- [16] 孙天国, 沙伟, 刘岩. 复合重金属胁迫对两种藓类植物生理特性的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(9):2332-2339.
- SUN Tian-guo, SHA Wei, LIU Yan. The effects of compound heavy metal stress on some physiological characteristics of two moss species[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(9):2332-2339.
- [17] 陈洋尔. 苔藓植物中重金属含量的测定以及重金属胁迫对苔藓生理指标的影响[D]. 成都: 四川大学硕士学位论文, 2007.
- [18] Choudhary M, Jetley U K, Khan M A, et al. Effect of heavy metal stress on proline, malondialdehyde, and superoxide dismutase activity in the cyanobacterium *Spirulina platensis*-S5[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, 66(2):204-209.
- [19] 魏琳. 卷柏干旱生理基础及差异蛋白质组学研究[D]. 福州: 福建师范大学硕士学位论文, 2006.
- WEI Lin. The Research about Physiological Basis and Differential Proteomics of *Selaginella Tamariscina* (Beauv.) Spring under Drought Stress [D]. Fujian Normal University Master's Degree Thesis, Fuzhou, 2006.
- [20] 陆亚芳. 大气污染梯度下树木附生苔藓植物体内生理生化指标的变化[D]. 南京: 南京林业大学硕士学位论文, 2005.
- LU Ya-fang. The change of physiological and biochemical indexes in the bodies of epiphytic bryophytes under different air pollution [D]. Nanjing Forestry University Master's Degree Thesis, Nanjing, 2005.
- [21] 孙守琴. 环境指示植物苔藓对 Pb-Ni 复合胁迫的响应机理及其生物标志物研究[D]. 上海: 上海交通大学博士学位论文, 2008.
- SUN Shou-qin. Studies on biomarkers and response mechanisms of mosses as environmental bioindicators to the stress induced by combined Pb and Ni [D]. Ph.D. Dissertation Submitted to Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 2008.
- [22] 徐燕云, 吴晓梅, 沈秋仙, 等. 铅胁迫对大灰藓几种生理指标的影响[J]. 武汉植物学研究, 2010, 28(5):606-611.
- XU Yan-yun, WU Xiao-mei, SHEN Qiu-xian, et al. Effect of Pb stress on some physiological indices of *Hypnum plumaeforme*[J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 2010, 28(5):606-611.
- [23] 丁海东, 朱为民, 杨少军, 等. 镉、锌胁迫对番茄幼苗生长及脯氨酸和谷胱甘肽含量的影响[J]. 江苏农业学报, 2005, 21(3):191-196.
- DING Hai-dong, ZHU Wei-min, YANG Shao-jun, et al. Effects of cadmium and zinc stress on growth and content of proline and glutathione (GSH) in tomato seedlings[J]. *Jiangsu Journal of Agriculture Science*, 2005, 21(3):191-196.
- [24] 张义贤, 李晓科. 镉、铅及其复合污染对大麦幼苗部分生理指标的影响[J]. 植物研究, 2008, 28(1):43-46, 53.
- ZHANG Yi-xian, LI Xiao-ke. Effects of Cd, Pb and their combined pollution on physiological indexes in leaf of the *Hordeum vulgare* seedling[J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2008, 28(1):43-46, 53.
- [25] 蒋明义, 郭绍川, 张学明. OH 胁迫下稻苗体内脯氨酸积累及其抗氧化作用[J]. 科学通报, 1997, 42(6):646-649.
- JIANG Ming-yi, GUO Shao-chuan, ZHANG Xue-ming. Accumulation of proline and its antioxidation induced by OH stress in rice seedling[J]. *Chinese Science Bulletin*, 1997, 42(6):646-649.
- [26] 蔡琪敏, 陈洁, 张志祥, 等. 铜胁迫对两种苔藓植物生理生化的影响[J]. 浙江林业科技, 2008, 28(6):24-27.
- CAI Qi-min, CHEN Jie, ZHANG Zhi-xiang, et al. Influence of copper stress on physiological and biochemical characteristics of bryophytes[J]. *Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology*, 2008, 28(6):24-27.
- [27] 吴楠, 魏美丽, 张元明. 生物土壤结皮中刺叶赤藓质膜透性对脱水、复水过程的响应[J]. 自然科学进展, 2009, 19(9):942-951.
- WU Nan, WEI Mei-li, ZHANG Yuan-ming. Membrane permeability response of *Syntrichia caninervis* Mitt. during desiccation and rehydration process in microbiotic soil crusts[J]. *Progress in Natural Science*, 2009, 19(9):942-951.
- [28] 张敏. Pb、Cd 污染胁迫对四种苔藓植物生长发育的影响[D]. 南京: 南京林业大学硕士学位论文, 2005.
- ZHANG Min. Effects of Lead and/or Cadmium pollution on the growth and development of four mosses [D]. Nanjing Forestry University Master's Degree Thesis, Nanjing, 2005.
- [29] 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]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2001, 7(1):92-99.
- [30] 秦天才, 吴玉树, 王焕校, 等. 镉、铅及其相互作用对小白菜根系生理生态效应的研究[J]. 生态学报, 1998, 18(3):320-328.
- QIN Tian-cai, WU Yu-shu, WANG Huan-xiao, et al. Effect of cadmium, lead and their interactions on the physiological and ecological characteristics of root system of *Brassica chinensis*[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 1998, 18(3):320-328.