

田保华, 张彦洁, 张丽萍, 等. 镉/铬胁迫对谷子幼苗生长和 NADPH 氧化酶及抗氧化酶体系的影响[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(2):240–246.
TIAN Bao-hua, ZHANG Yan-jie, ZHANG Li-ping, et al. Effects of cadmium or chromium on growth and NADPH oxidase and antioxidant enzyme system of
foxtail millet seedlings[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(2):240–246.

镉/铬胁迫对谷子幼苗生长和 NADPH 氧化酶及抗氧化酶体系的影响

田保华, 张彦洁, 张丽萍, 马晓丽, 金竹萍, 刘志强, 刘旦梅, 裴雁曦*

(山西大学生命科学学院, 太原 030006)

摘要:为了探讨重金属镉(Cd)、铬(Cr)胁迫对谷子幼苗生长和生理的影响,采用营养液培养法,检测不同浓度的 Cd、Cr 胁迫对谷子幼苗生长以及过氧化氢(H₂O₂)含量、叶绿素含量、丙二醛(MDA)含量、NADPH 氧化酶和抗氧化酶活性的影响。结果表明:不同浓度(50/1000 μmol·L⁻¹)两种金属(Cd、Cr)胁迫下,谷子幼苗株高、根长显著减小($P<0.05$),H₂O₂ 和 MDA 含量升高,叶绿素含量降低;随 Cd、Cr 的浓度升高,根和叶片中 NADPH 氧化酶活性显著增强,高浓度 Cd、Cr 可导致过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性显著升高;同时 Cd、Cr 诱导编码 NADPH 氧化酶基因 *Sirboh D* 和 *Sirboh F* 的表达,而超氧化物歧化酶(SOD)活性呈低浓度增加高浓度下降的趋势。由此可知,Cd、Cr 对谷子幼苗的胁迫使其发生一系列生理指标变化,造成植株不同程度损伤,植株自身则通过增强抗氧化酶活性对机体起到保护作用。

关键词:镉;铬;NADPH 氧化酶;谷子

中图分类号:X503.231 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2016)02-0240-07 doi:10.11654/jaes.2016.02.005

Effects of cadmium or chromium on growth and NADPH oxidase and antioxidant enzyme system of foxtail millet seedlings

TIAN Bao-hua, ZHANG Yan-jie, ZHANG Li-ping, MA Xiao-li, JIN Zhu-ping, LIU Zhi-qiang, LIU Dan-mei, PEI Yan-xi*

(School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: Different heavy metals can induce various stress tolerance mechanisms in plants. Here a solution culture was used to investigate the effects of different concentrations of cadmium(Cd) or chromium(Cr) on growth, hydrogen peroxide(H₂O₂), chlorophyll, malondialdehyde(MDA) concentration, NADPH oxidase and antioxidant enzyme activities of foxtail millet seedlings. Results showed that plant height, root length and chlorophyll content were inhibited by Cd or Cr. Content of H₂O₂ and MDA was increased under Cd or Cr stresses. Increasing Cd or Cr concentrations increased NADPH oxidase activity in roots and leaves by inducing the expression of related genes, *Sirboh D* and *Sirboh F*, and peroxidase(POD), catalase(CAT) and ascorbate peroxidase(APX) activities at high concentrations. Superoxide dismutase(SOD) activity increased at low Cd or Cr concentrations, whereas it decreased at high concentrations. These results indicate that heavy metal stresses in foxtail millet alter physiological parameters, and cause various plant damages, but may also increase antioxidant enzyme activities, thus protecting the plant from further damages.

Keywords: cadmium; chromium; NADPH oxidase; foxtail millet

收稿日期:2015-09-11

基金项目:山西省青年科技研究基金(2014021026-2);山西省青年科技研究基金(2014021026-1);国家青年基金项目(31501772)

作者简介:田保华(1985—),男,山西原平人,博士研究生,从事植物分子遗传学研究。E-mail:tbh_3893765@163.com

*通信作者:裴雁曦 E-mail:peiyanyi@sxu.edu.cn

重金属镉(Cadmium, Cd)和铬(Chromium, Cr)是生物非必需金属元素,由于工业生产和农业实践,许多农田受其污染^[1],重金属通过作物根部吸收并传输到体内,可造成幼叶失绿、植株矮小、根损伤等中毒症状,严重时直接导致死亡^[2]。Cd、Cr对植物的毒性诱导其体内产生活性氧(Reactive oxygen species, ROS)^[3-4],这是一个复杂的胁迫响应过程。近年来,研究发现一些作物受到Cd或Cr胁迫时,产生大量过氧化氢(Hydrogen peroxide, H₂O₂)并增强膜脂质过氧化作用^[5-6]。而质膜NADPH氧化酶是最重要的H₂O₂酶源,它将电子从细胞质的NADPH转移给O₂形成O₂[·],随后又生成H₂O₂和·OH^[7],且NADPH氧化酶在植物生长发育、防卫和响应金属(包括Cu、Fe、Zn、Cd)缺乏或过量等过程中起重要作用^[8-11]。

谷子[*Setaria italica*(L.) P. Beauv.]是我国北方重要谷类作物,具有耐逆性强、适应性广等特性。2012年,Nature杂志发表两篇谷子全基因组序列文章,加快了谷子抗逆机制的研究步伐^[12-13]。国内外有关重金属对谷子生长发育毒害作用的报道甚少,研究发现在Pb、Cu胁迫下不同基因型谷子幼苗的DNA稳定性、生长状态和吸收积累存在差异^[14-15],而Cd、Cr胁迫对谷子幼苗的毒理效应和NADPH氧化酶的影响目前还未见报道。本文在实验室条件下,研究了高/低浓度Cd、Cr胁迫对谷子幼苗生长状态、H₂O₂、叶绿素、丙二醛含量和NADPH氧化酶及ROS相关酶活性的影响,旨在探讨谷子响应重金属胁迫的机理。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试谷子品种为晋谷21号,购买于山西省农科院谷子所。

1.2 试验设计

种子经75%的乙醇溶液消毒1 min,6%的次氯酸钠消毒10 min,用去离子水冲洗3次,23℃黑暗浸泡24 h。然后播种于铺有3层纱布的有盖培养皿中,于23℃黑暗萌发2 d后,转入培养条件(光强度160 μE·m⁻²·s⁻¹,光暗周期16 h/8 h,相对湿度60%)进行以下不同的处理:

种子萌发2 d后,用10 mL不同浓度的镉(0、50、1000 μmol·L⁻¹ CdCl₂)或铬(0、50、1000 μmol·L⁻¹ K₂Cr₂O₇)的1/4 Hoagland营养液处理幼苗,每天更换1次处理液,生长7 d后测定其株高、根长、H₂O₂含量、叶绿素含量及MDA含量。

种子萌发2 d后,转入光照培养条件下生长,每天更换1次营养液,7 d后用10 mL不同浓度的镉(0、50、1000 μmol·L⁻¹)或铬(0、50、1000 μmol·L⁻¹)的1/4 Hoagland营养液处理幼苗24 h,检测 $rboh D/F$ ($Sirboh D/F$)基因的表达水平和NADPH氧化酶及ROS相关酶的活性。

1/4 Hoagland营养液为硝酸钙945 mg·L⁻¹、硝酸钾607 mg·L⁻¹、磷酸铵115 mg·L⁻¹、硫酸镁493 mg·L⁻¹、铁盐溶液2.5 mL·L⁻¹、微量元素5 mL·L⁻¹,pH6.0。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 生理参数

谷子幼苗整株取出,蒸馏水冲洗后,测量幼苗的株高、根长(以20株幼苗平均值计,mm)。叶绿素含量采用96%乙醇提取法测定^[16]。MDA含量采用硫代巴比妥酸(TBA)显色法测定^[17]。H₂O₂含量通过检测过氧化钛复合物在410 nm的吸光值计算^[18]。

1.3.2 酶活的测定

分别提取谷子幼苗叶片和根的粗酶液,5000 r·min⁻¹离心3 min,取上清液测定超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD, EC 1.15.1.1),过氧化物酶(Peroxidase, POD, EC 1.11.1.7),过氧化氢酶(Catalase, CAT, EC 1.11.1.6)和抗坏血酸过氧化物酶(Ascorbate Peroxidase, APX, EC 1.11.1.11)的活性。酶活测定参照Lata等^[19]的方法;NADPH氧化酶活性的测定参照GENMED试剂盒(杰美基因GMS50096.3)。

1.3.3 叶片H₂O₂定位

取适量二氨基联苯胺(3,3'-diaminobenzidine, DAB)染液(1% DAB溶于10 mmol·L⁻¹ MES缓冲液,pH 6.5)加入预处理的叶片,28℃避光保存8 h,蒸馏水冲洗3次,加入无水乙醇沸水浴直到叶片完全脱色为止;再次更换无水乙醇,置4℃冰箱保存一段时间后观察并拍照^[3]。

1.3.4 根细胞死亡检测

不同处理的谷子幼苗离体根尖用蒸馏水冲洗后,置于0.25%(W/V)伊文思蓝溶液染色5 min,然后用蒸馏水冲洗3次,制片观察并拍照^[3]。

1.3.5 NADPH氧化酶编码基因 $rboh D/F$ 的qRT-PCR分析

取适量不同处理的谷子幼苗叶片和根,用RNAiso Plus提取RNA,反转录成cDNA,以cDNA为模板,用Bio-Rad CFX96荧光定量PCR仪进行检测,用2^{-ΔΔC_t}法分析基因表达水平。qRT-PCR特异性引物见表1,引物由上海生工生物工程股份有限公司

表1 qRT-PCR 特异性引物

Table 1 Primers used for real-time quantitative PCR

基因 Gene	基因注释 Gene notation	引物 Primer		长度 Length/bp
<i>Actin</i>	Millet_GLEAN_10003390	F:GGTATGGAGTCGCCTGGAATCC	R:GCGGTCAGCAATACCAGGGAAC	110
<i>rboh D</i>	Millet_GLEAN_10016136	F:TCCTCTACCGCTCCCAGTTC	R:CCCAAAGAAACAACAAAACCC	134
<i>rboh F</i>	Millet_GLEAN_10029917	F:TGTATGTTGGGAGAGGACG	R:TTGTAACGGAATGTGGGAGG	130

(Sangon)合成。

1.4 数据分析

所有数据均采用3个生物学重复的平均值,差异显著性分析采用SPSS 13.0(IBM, New York, USA)软件进行Duncan检验,然后用SigmaPlot 10.0(Systat Software Inc., London, UK)软件作图。

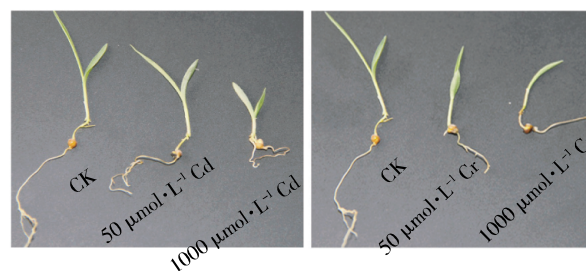
2 结果与分析

2.1 高/低浓度Cd、Cr对谷子幼苗生长表型的影响

图1A显示,萌发一致的谷子幼苗经低浓度($50\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的Cd、Cr处理7d后,与对照组相比,幼苗变矮,根变短;高浓度($1000\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的Cd、Cr显著抑制幼苗植株和根的生长,导致植株矮小、叶片卷曲、根减小。统计分析(表2)可知,Cd、Cr处理后谷子幼苗株高和根长显著减小($P<0.05$)。叶片中过氧化氢DAB染色表明,低浓度的Cd、Cr诱导红褐色斑点产生于叶尖和叶脉,而高浓度的Cd、Cr处理使整个叶片产生大面积斑点(图1B)。与对照组相比,不同浓度的Cd、Cr均可显著诱导谷子幼苗产生 H_2O_2 (表2)。在根尖染色观察发现,与低浓度处理相比,高浓度Cd、Cr胁迫后根尖细胞染色较深(图1C)。

2.2 高/低浓度Cd、Cr对谷子幼苗生理的影响

与对照组相比,高浓度Cd、Cr使根中的MDA含量显著升高($P<0.05$),低浓度胁迫也可导致根中MDA含量升高,但差异不显著;而叶片中高/低浓度Cd、Cr处理后MDA含量都升高,但只有高浓度Cr处理后具有显著差异性($P<0.05$)。与对照组相比(表3),叶绿素含量随着重金属Cd、Cr浓度的升高而下降,具有显著性差异($P<0.05$)。



(A) 植株生长状态 Plant growth

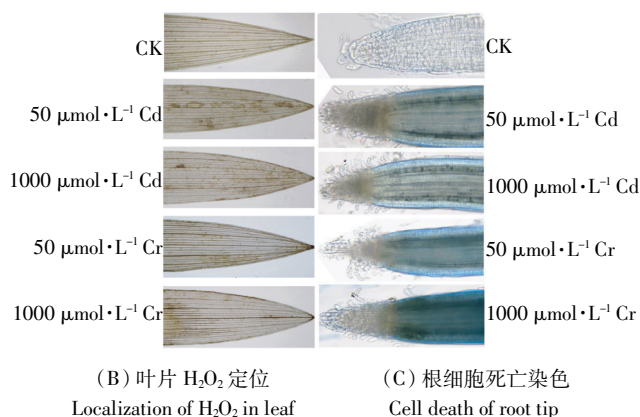
(B) 叶片 H_2O_2 定位
Localization of H_2O_2 in leaf(C) 根细胞死亡染色
Cell death of root tip

图1 镉、铬对谷子生长影响

Figure 1 Effects of Cd or Cr stresses on plant growth

2.3 Cd、Cr对谷子幼苗中SOD酶和NADPH氧化酶的影响

与对照组相比,7d谷子幼苗经高/低浓度的Cd、Cr处理24h后,SOD活性增强。在叶片中,低浓度Cd、Cr显著诱导SOD活性升高;而在幼苗根中,高浓度的Cd、Cr处理显著抑制SOD活性(图2)。在叶片中,低浓度Cd、Cr显著抑制NADPH氧化酶的活性,而高浓度Cd、Cr处理显著增强NADPH氧化酶的

表2 镉、铬处理下谷子幼苗的株高、根长、过氧化氢含量

Table 2 Plant height, root length, and H_2O_2 concentration of foxtail millet seedlings with Cd or Cr treatments

处理 Treatment/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	CK	Cd 50	Cd 1000	Cr 50	Cr 1000
株高 Plant height/mm	67.65±3.36a	36.25±0.79b	17.20±0.75c	35.00±1.36b	13.30±0.59c
根长 Root length/mm	35.45±0.79a	30.90±1.15b	18.65±0.89d	26.70±0.76c	20.20±0.51d
过氧化氢 H_2O_2 concentration/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ FW	1.683 0±0.016 2a	2.160 5±0.024 5b	3.453 0±0.054 8d	2.797 5±0.028 0c	4.531 0±0.122 4e

注:表中不同小写字母表示各处理间差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: Different letters indicate significant differences ($P<0.05$) between different treatments. The same below.

表 3 镉、铬处理下谷子幼苗的总叶绿素和丙二醛含量

Table 3 Chlorophyll and MDA concentrations of foxtail millet seedlings with Cd or Cr treatments

处理 Treatment/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	总叶绿素 Chlorophyll concentration/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	丙二醛 MDA concentration/ $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$	
		叶片 leaf	根 root
CK	0.069 9 $\pm$ 0.004 6a	6.930 9 $\pm$ 0.453 9a	5.086 9 $\pm$ 0.104 4a
Cd 50	0.056 6 $\pm$ 0.002 8b	8.494 4 $\pm$ 0.570 0a	5.337 9 $\pm$ 0.164 9a
Cd 1000	0.024 6 $\pm$ 0.000 3c	9.796 5 $\pm$ 1.256 2a	10.172 5 $\pm$ 1.409 1b
Cr 50	0.025 9 $\pm$ 0.000 4c	8.556 4 $\pm$ 0.266 8a	5.621 4 $\pm$ 0.128 6a
Cr 1000	0.014 1 $\pm$ 0.001 6d	13.042 4 $\pm$ 0.620 0b	16.264 7 $\pm$ 0.580 5c

活性($P<0.05$,图 3A);在根中,各浓度的 Cd、Cr 均可诱导 NADPH 氧化酶活性升高,高浓度 Cd、Cr 处理诱导作用强于低浓度(图 3B)。

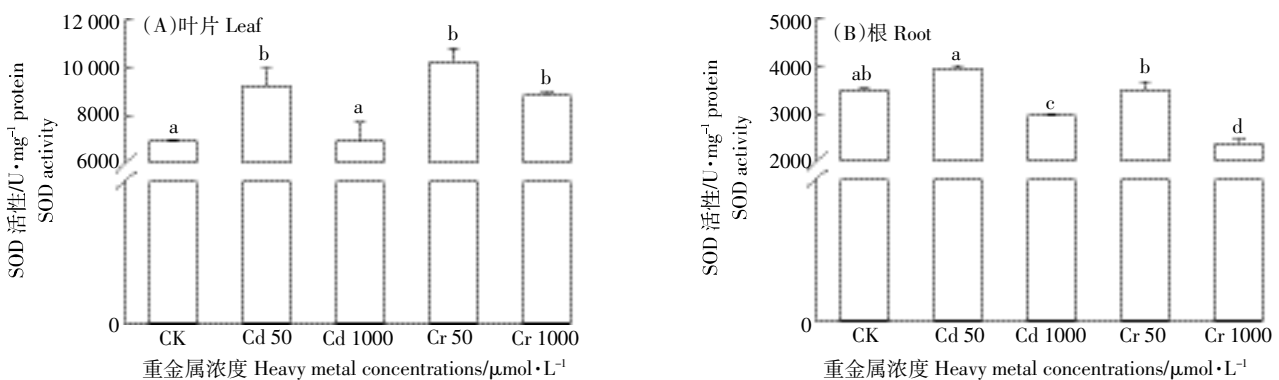
2.4 Cd、Cr 对 NADPH 氧化酶转录水平的影响

通过检测 NADPH 氧化酶编码基因的表达可知,*rboh D*(*Sirboh D*)和*rboh F*(*Sirboh F*)两个基因在谷子

幼苗叶片和根中均有表达。与对照相比,高浓度 Cd 处理后根部 *rboh D* 表达量增多,低浓度 Cd 处理后幼苗根和叶片中 *rboh D* 基因的表达下调;Cr 处理后叶片和根中 *rboh D* 表达显著上调($P<0.05$,图 4A)。与对照相比,在低浓度 Cd 处理后编码 NADPH 氧化酶的 *rboh F* 在叶片和根中的表达下调,在叶片中,高浓度的 Cd 诱导 *rboh F* 基因表达上调,差异显著;不同浓度 Cr 处理幼苗后,*rboh F* 基因在叶片和根中表达显著上调($P<0.05$,图 4B)。

2.5 Cd、Cr 对谷子幼苗抗氧化酶活性的影响

与对照组相比,Cd、Cr 处理均可使谷子幼苗叶片和根中 POD、CAT 和 APX 活性增强(表 4)。在根中 Cd、Cr 诱导 POD 活性高于叶片,而叶片中 POD 活性随 Cd 浓度增大显著升高($P<0.05$);CAT 活性在叶片和根中均随重金属浓度的升高而升高;在叶片中,高浓度 Cd、Cr 处理均可使 APX 活性显著升高,在根中,高/低浓度 Cd 诱导 APX 的活性显著升高($P<0.05$),而



图中不同小写字母表示各处理间差异显著($P<0.05$)。下同

Different letters indicate significant differences($P<0.05$) between different treatments. The same below

图 2 镉、铬对谷子 SOD 活性影响

Figure 2 Effects of Cd or Cr stresses on SOD activity

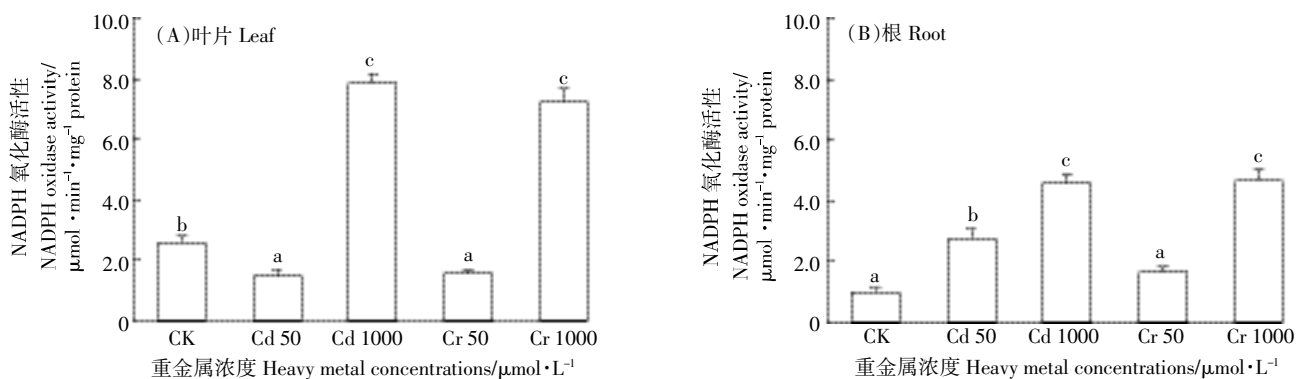


图 3 镉、铬对谷子 NADPH 氧化酶活性影响

Figure 3 Effects of Cd or Cr stresses on NADPH oxidase activity

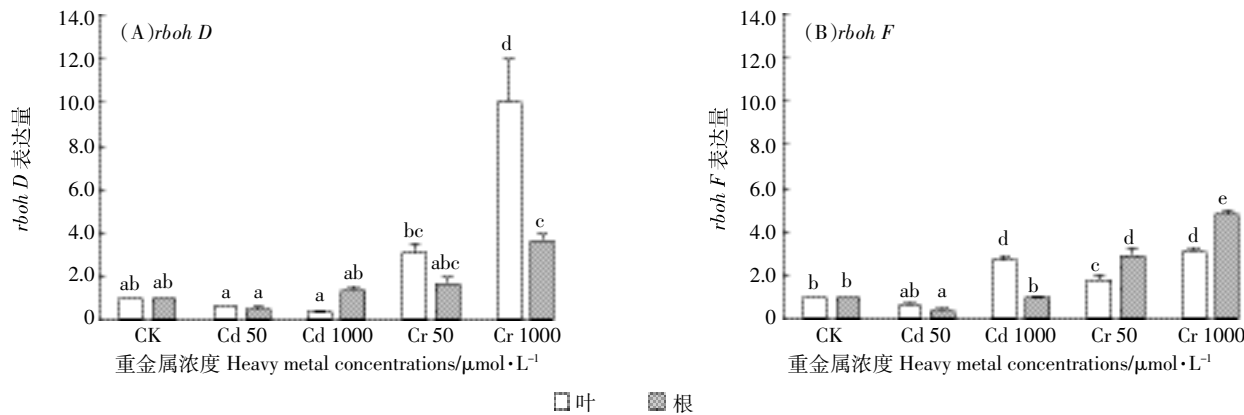


图 4 镉、铬对谷子 NADPH 氧化酶编码基因表达量影响
Figure 4 Effects of Cd or Cr stresses on NADPH oxidase encoding genes

表 4 镉、铬处理下谷子幼苗中抗氧化酶的活性(U·mg⁻¹ protein)
Table 4 Activities of anti-oxidative enzymes in foxtail millet seedlings with Cd or Cr treatments(U·mg⁻¹ protein)

处理 Treatment/ μmol·L ⁻¹	POD 活性 POD activities		CAT 活性 CAT activities		APX 活性 APX activities	
	叶片 Leaf	根 Root	叶片 Leaf	根 Root	叶片 Leaf	根 Root
CK	693.01±15.77a	1 612.4±83.39a	2.190 7±0.633 7a	1.764 3±0.091 2a	0.026 47±0.000 53a	0.021 63±0.000 56a
Cd 50	821.79±8.48b	3 037.32±103.97c	4.818 4±0.709b	4.461 2±0.372 1ab	0.029 02±0.00 059ab	0.070 03±0.014 45c
Cd 1000	919.42±41.64c	2 647.39±140.99bc	6.192 3±0.620 4b	9.815 7±1.580 7c	0.058 07±0.003 55c	0.050 67±0.004 06bc
Cr 50	882.57±19.87bc	2 329.56±348.09b	5.673 6±0.382 9b	2.679 4±0.499 7a	0.041 21±0.005 76b	0.038 14±0.007 14ab
Cr 1000	881.36±21.95bc	2 499.77±207.41bc	10.743±1.243 9c	6.826 9±0.917 5b	0.065 59±0.005 69c	0.061 99±0.007 02bc

Cr仅在高浓度时诱导 APX 活性升高($P<0.05$)。

3 讨论

植物在环境中往往受到各种不利因素的胁迫,如干旱、盐、极端温度和重金属等,在长期进化过程中作物会形成不同的反应机制来应对这些胁迫,同时产生多种中毒症状,包括叶片变形^[17]、叶片失绿、根变短、生长与发育受到抑制^[9]等。本研究证实重金属 Cd、Cr 对谷子幼苗的根系与叶片的发育产生类似的影响,同时诱发植物产生一系列的生理变化。NADPH 氧化酶可通过自身的激活或失活迅速引起 ROS 的升高或降低,由此产生的 ROS 充当信号分子来激活机体应答胁迫,可见 NADPH 氧化酶在作物生长与发育中起重要作用^[8]。近来的研究发现 NADPH 氧化酶与 Cd 及 Cr 重金属胁迫关系密切,本研究发现低浓度 Cd 抑制叶片中 NADPH 氧化酶活性,该结果与 Groppa 等^[20]用 0.1 mmol·L⁻¹ 和 0.5 mmol·L⁻¹ Cd 处理向日葵(*Helianthus annuus* L.) 叶片后 NADPH 氧化酶活性变化一致。高浓度 Cr 处理谷子幼苗后,叶片和根中 NADPH 氧化酶的活性升高, Pandey 等^[4]研究发现

六价 Cr 处理豌豆(*Pisum sativum* L.cv. Azad)根可导致 NADPH 氧化酶的迅速增高,其机理可能是重金属离子与 Ca²⁺竞争性的结合到 NADPH 氧化酶的 EF-hand 结构域,从而影响酶的活性,损害根质膜的结构和功能,降低光合作用且阻碍生长^[20]。Fang 等^[17]研究发现Cr 影响体内Ca²⁺的含量,从而激活谷子编码钙转运蛋白和钙受体基因的表达。植物 NADPH 氧化酶被预测含有 6 个跨膜螺旋结构,包含 2 个血红素结合位点、位于 C-端的 NADPH 和 FAD 结合位点与 N-端 2 个 Ca²⁺结合 EF-hand 结构域^[21],使 NADPH 氧化酶活性增强,产生 ROS 并诱发多种生理学效应。

Osrboh A 是第一个被鉴定的 NADPH 氧化酶编码基因,之后大量的 *rboh* 基因在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、番茄(*Solanum lycopersicum*)、烟草(*Nicotiana tabacum* L.)、马铃薯(*Solanum tuberosum*)、玉米(*Zea mays*)、西瓜(*Citrullus lanatus*)、小麦(*Triticum aestivum* L.)、苜蓿(*Medicago sativa*)、葡萄(*Vitis vinifera*)等植物中被报道^[22]。*rboh* 基因在不同植物中的表达存在组织差异性,如 *Atrboh E*、*Hvrboh E*、*Vvrboh E* 在根中表达,*Atrboh F*、*Hvrboh F1*、*Hvrboh F2* 和

Atrobh D、*Vvrboh D* 在所有的组织中均有表达^[22]。本研究发现 *Sirboh D*、*Sirboh F* 基因在谷子幼苗的根和叶片中都有表达。不同浓度的 Cd、Cr 诱导 *Sirboh D* 和 *Sirboh F* 基因的表达存在差异性,*Sirboh D* 和 *Sirboh F* 在叶片和根中表达规律不同(图 4)。在拟南芥中,基因转录分析显示不同的 *rboh* 基因对 Cd 响应表现出不同的转录变化:*rboh F* 表达是瞬时增加,而 *rboh C* 和 *rboh D* 的转录水平不变^[23]。由此推测 Cd、Cr 诱导 *Sirboh D* 和 *Sirboh F* 基因表达的差异,存在两方面可能的原因:一方面,Cd、Cr 胁迫产生大量 ROS,进一步将这一信号传递给不同组织中的转录因子,调节编码 NADPH 氧化酶基因的表达;另一方面,Cd、Cr 胁迫激活体内其他信号分子来调控 NADPH 氧化酶基因的转录水平。

本研究中发现编码 NADPH 氧化酶的两个基因 *Sirboh D* 和 *Sirboh F* 表达水平与其活性不完全显示相关,分析其可能的原因是 *Sirboh D* 和 *Sirboh F* 表达只反应 mRNA 转录水平的变化,而酶活则体现蛋白水平,这是两种不同的分子机制,所以 *Sirboh D* 和 *Sirboh F* 基因的高表达不一定显示出 NADPH 氧化酶活性的增强。Jakubowska 等^[24]研究发现,10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 处理黄瓜 3 d 增加 *CsRbohF1*、*CsRbohF2*、*CsRbohF3* 和 *CsRbohJ* 基因的表达水平,但这并没有导致 NADPH 氧化酶活性增加。在植物体内 NADPH 氧化酶和 SOD 酶参与催化的反应可产生 H_2O_2 ^[25],但在 Cd、Cr 胁迫下二者响应存在差异(图 2 和图 3);POD、APX 和 CAT 三种抗氧化酶被认为参与清除体内 ROS ($\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 、 $^1\text{O}_2$ 及 $\text{OH}^{\cdot}$),且在重金属胁迫下有活性增强的趋势^[6,17]。Cd、Cr 显著诱导 POD、APX 和 CAT 的活性升高(表 4),从而增强胞内对 H_2O_2 的清除能力,表明植物体自身能够缓解 H_2O_2 对机体的氧化损伤^[25]。由此推测,植物在重金属胁迫下,能够通过 NADPH 氧化酶这条途径来调节 ROS 代谢,响应重金属胁迫的损伤。

4 结论

(1)Cd、Cr 抑制谷子幼苗生长,并产生一系列生理指标的变化,主要表现为叶绿素含量降低、脂质过氧化作用增强、产生大量的 H_2O_2 造成植株不同程度的损伤。

(2)Cr 胁迫上调 *Sirboh D* 和 *Sirboh F* 基因表达,Cd 仅增加叶片中 *Sirboh F* 表达量;低浓度胁迫时 SOD 活性升高,而高浓度时 NADPH 氧化酶的活性增

强,两者活性的变化在响应 Cd、Cr 胁迫时存在差异,机体通过增强 POD、APX 和 CAT 的活性来应对氧化胁迫,在一定程度上对植物体产生保护作用。

参考文献:

- [1] Andresen E, Kupper H. Cadmium toxicity in plants[J]. *Metal Ions in Life Sciences*, 2013, 11:395–413.
- [2] Yadav S K. Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants [J]. *South African Journal of Botany*, 2010, 76(2): 167–179.
- [3] Romero-Puertas M C, Rodriguez-Serrano M, Corpas F J, et al. Cadmium-induced subcellular accumulation of $\text{O}_2^{\cdot-}$ and H_2O_2 in pea leaves[J]. *Plant Cell and Environment*, 2004, 27(9): 1122–1134.
- [4] Pandey V, Dixit V, Shyam R. Chromium(VI) induced changes in growth and root plasma membrane redox activities in pea plants[J]. *Protoplasma*, 2009, 235(1/2/3/4): 49–55.
- [5] Gill S S, Tuteja N. Cadmium stress tolerance in crop plants: Probing the role of sulfur[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2011, 6(2): 215–222.
- [6] Hayat S, Khaliq G, Irfan M, et al. Physiological changes induced by chromium stress in plants: An overview[J]. *Protoplasma*, 2012, 249(3): 599–611.
- [7] Babior B M. NADPH oxidase[J]. *Current Opinion in Immunology*, 2004, 16(1): 42–47.
- [8] Lherminier J, Elmayan T, Fromentin J, et al. NADPH oxidase-mediated reactive oxygen species production: Subcellular localization and re-assessment of its role in plant defense[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2009, 22(7): 868–881.
- [9] Foreman J, Demidchik V, Bothwell J H, et al. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth[J]. *Nature*, 2003, 422(6930): 442–446.
- [10] Mohammadi-Bardbori A, Rannug A. Arsenic, cadmium, mercury and nickel stimulate cell growth via NADPH oxidase activation[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2014, 224: 183–188.
- [11] Heyno E, Klose C, Krieger-Liszkay A. Origin of cadmium-induced reactive oxygen species production: Mitochondrial electron transfer versus plasma membrane NADPH oxidase[J]. *The New Phytologist*, 2008, 179(3): 687–699.
- [12] Bennetzen J L, Schmutz J, Wang H, et al. Reference genome sequence of the model plant *Setaria*[J]. *Nature Biotechnology*, 2012, 30(6): 555–561.
- [13] Zhang G Y, Liu X, Quan Z W, et al. Genome sequence of foxtail millet (*Setaria italica*) provides insights into grass evolution and biofuel potential[J]. *Nature Biotechnology*, 2012, 30(6): 549–556.
- [14] 张义贤, 付亚萍, 肖志华, 等. 铅胁迫对不同基因型谷子幼苗生理特性及基因组 DNA 多态性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(3): 478–484.

ZHANG Yi-xian, FU Ya-ping, XIAO Zhi-hua, et al. Effects of Pb^{2+} stress on physiological characteristics and DNA polymorphism of genome in different genotypes foxtail millet[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(3): 478–484.

- [15] 肖志华, 张义贤, 张喜文, 等. 外源铅、铜胁迫对不同基因型谷子幼苗生理生态特性的影响[J]. 生态学报, 2012, 32(3): 889–897.
XIAO Zhi-hua, ZHANG Yi-xian, ZHANG Xi-wen, et al. Effects of exogenous Pb and Cu stress on eco-physiological characteristics on foxtail millet seedlings of different genotypes[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(3): 889–897.
- [16] Baglieri A, Cadili V, Mozzetti M C, et al. Fertilization of bean plants with tomato plants hydrolysates; Effect on biomass production, chlorophyll content and N assimilation[J]. *Scientia Horticulturae*, 2014, 176: 194–199.
- [17] Fang H H, Jing T, Liu Z Q, et al. Hydrogen sulfide interacts with calcium signaling to enhance the chromium tolerance in *Setaria italica*[J]. *Cell Calcium*, 2014, 56(6): 472–481.
- [18] Hu Y L, Ge Y, Zhang C H, et al. Cadmium toxicity and translocation in rice seedlings are reduced by hydrogen peroxide pretreatment[J]. *Plant Growth Regulation*, 2009, 59(1): 51–61.
- [19] Lata C, Jha S, Dixit V, et al. Differential antioxidative responses to dehydration-induced oxidative stress in core set of foxtail millet cultivars [*Setaria italica*(L.)][J]. *Protoplasma*, 2011, 248(4): 817–828.
- [20] Groppa M D, Ianuzzo M P, Rosales E P, et al. Cadmium modulates NADPH oxidase activity and expression in sunflower leaves[J]. *Biologia Plantarum*, 2012, 56(1): 167–171.
- [21] Torres M A, Dangl J L. Functions of the respiratory burst oxidase in biotic interactions, abiotic stress and development[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2005, 8(4): 397–403.
- [22] Cheng C X, Xu X Z, Gao M, et al. Genome-wide analysis of respiratory burst oxidase homologs in grape (*Vitis vinifera* L.)[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, 14(12): 24169–24186.
- [23] Horemans N, Raeymaekers T, Van Beek K, et al. Dehydroascorbate uptake is impaired in the early response of Arabidopsis plant cell cultures to cadmium[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(15/16): 4307–4317.
- [24] Jakubowska D, Janicka-Russak M, Kabała K, et al. Modification of plasma membrane NADPH oxidase activity in cucumber seedling roots in response to cadmium stress[J]. *Plant Science*, 2015, 234: 50–59.
- [25] Zhang F Q, Zhang H X, Wang G P, et al. Cadmium-induced accumulation of hydrogen peroxide in the leaf apoplast of *Phaseolus aureus* and *Vicia sativa* and the roles of different antioxidant enzymes[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 168(1): 76–84.