

Cd对湿地甸灯藓叶绿体损伤与活性氧的影响

李朝阳, 肖钧文, 左深君, 曹子藤, 李垣鑫, 田向荣

引用本文:

李朝阳, 肖钧文, 左深君, 等. Cd对湿地甸灯藓叶绿体损伤与活性氧的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(3): 504–510.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-1067>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

Cd、Pb复合胁迫下湿地甸灯藓(*Plagiomnium acutum*)重金属累积效应及抗氧化系统响应

田向荣, 吴昊, 李菁, 李朝阳

农业环境科学学报. 2015, 34(5): 844–851 <https://doi.org/10.11654/jaes.2015.05.005>

蚯蚓(*Eisenia foetida*)对水稻土中Cd的富集及其氧化应激

陈娴, 王晓蓉, 季荣

农业环境科学学报. 2015, 34(8): 1464–1469 <https://doi.org/10.11654/jaes.2015.08.005>

外源一氧化氮对镉胁迫下紫花苜蓿幼苗活性氧代谢和镉积累的影响

陈银萍, 蓬苗苗, 苏向楠, NGABIRE Maurice, 杨志娟, 杨述文, 摆玉林

农业环境科学学报. 2015(12): 2261–2271 <https://doi.org/10.11654/jaes.2015.12.003>

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

农业环境科学学报. 2016(2): 240–246 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016.02.005>

铅胁迫对金丝草AsA-GSH循环及铅积累的影响

韩航, 陈顺钰, 赵雅曼, 侯晓龙, 蔡丽平, 刘爱琴, 周垂帆

农业环境科学学报. 2018, 37(4): 656–664 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1523>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

李朝阳, 肖钧文, 左深君, 等. Cd对湿地甸灯藓叶绿体损伤与活性氧的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(3): 504–510.

LI Zhao-yang, XIAO Jun-wen, ZUO Shen-jun, et al. Effects of cadmium stress on chloroplast damage and reactive oxygen metabolism of *Plagiomnium acutum*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(3): 504–510.

Cd对湿地甸灯藓叶绿体损伤与活性氧的影响

李朝阳^{1,2}, 肖钧文¹, 左深君¹, 曹子藤¹, 李垣鑫¹, 田向荣^{1,2}

(1. 湖南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:为探讨不同镉(Cd)浓度胁迫对湿地甸灯藓(*Plagiomnium acutum*)叶绿体、Cd的亚细胞分布及活性氧代谢的影响, 设置了4个Cd浓度梯度(0、1、5、10 mg·L⁻¹), 采用浸没培养方法对湿地甸灯藓进行处理。结果表明: 随Cd胁迫浓度增加, 细胞损伤加大, 叶绿体严重皱缩成球状, 同时细胞空泡化程度也逐渐加重。Cd在亚细胞组分中的分布为: 细胞壁>细胞器>可溶部分。随Cd浓度增加, 细胞器中Cd累积量增加; 随Cd胁迫浓度的增加, 湿地甸灯藓体内超氧阴离子自由基(O₂⁻)的产生速率先降后升, 过氧化氢(H₂O₂)的含量则持续上升, 均在10 mg·L⁻¹时达到最大值, 与对照相比, 二者分别增加了7.9%和13.7%; 与之对应, 抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性和谷胱甘肽还原酶(GR)活性均显著增加, 与对照相比, 两种酶活性分别增加了947%和430%、810%和765%、712%和1125%; 藓体内抗坏血酸含量与Cd存在剂量效应关系, 尤其是还原型抗坏血酸(ASA), 与对照相比分别增加了42.7%、72.7%和89.2%。综上所述, 进入藓体内的Cd可能通过攻击叶绿体, 使APX变性失活, 诱导活性氧产生; 而抗坏血酸-谷胱甘肽途径可能是湿地甸灯藓体内主要的活性氧清除机制。

关键词:湿地甸灯藓; 镉(Cd); 叶绿体损伤; Cd亚细胞分布; 活性氧代谢

中图分类号: Q942.5 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2020)03-0504-07 doi:10.11654/jaes.2019-1067

Effects of cadmium stress on chloroplast damage and reactive oxygen metabolism of *Plagiomnium acutum*

LI Zhao-yang^{1,2}, XIAO Jun-wen¹, ZUO Shen-jun¹, CAO Zi-teng¹, LI Yuan-xin¹, TIAN Xiang-rong^{1,2}

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

Abstract: As pioneer species, mosses are frequently used to indicate atmospheric heavy metal pollution owing to their typical physiological characteristics. However, their mechanism of cadmium(Cd) adaptation is unclear. In this study, submerged culture experiments at different Cd concentrations(0, 1, 5, and 10 mg·L⁻¹) were employed to investigate the impact of Cd stress on chloroplasts and reactive oxygen metabolism in the leaves of *Plagiomnium acutum*. The results showed: Increasing the Cd concentration increased chloroplast damage, including chloroplast shrinkage and vacuolization. The contents of Cd in different locations in the leaves of *P. acutum* were distributed in the following order: cell wall > organelle > soluble fraction. The percentage of Cd in the organelles increased as the Cd concentration increased. With an increased Cd concentration, O₂⁻ initially decreased and then increased, but H₂O₂ continuously increased. Compared with the controls, the O₂⁻ and H₂O₂ both increased to the maximum values of 7.9% and 13.7%, respectively, when 10 mg·L⁻¹ of Cd was used. Cd stress obviously stimulated ascorbate peroxidase (APX) and glutathione reductase (GR) activities. Compared with the controls, the APX increased 947%, 810%, and 712%, while the GR increased 430%, 765%, and 1125%, respectively, at Cd concentrations of 1, 5, and 10 mg·L⁻¹. There was a dose-effect relationship between the ascorbic acid content and Cd concentration tested, especially regarding reduced ascorbic acid, which increased by 42.7%, 72.7%, and 89.2% compared with the controls, respectively, at Cd concentrations of 1, 5, and 10 mg·L⁻¹. In summary, Cd cause chloroplast damage, lead to denatured and inactivated APX, and abruptly induced the production of reactive oxygen species(ROS). Therefore, the Halliwell-Asada pathway can be the main ROS scavenging mechanism of *P. acutum*.

Keywords: *Plagiomnium acutum*; cadmium; chloroplast damage; cadmium subcellular distribution; reactive oxygen metabolism

收稿日期: 2019-09-26 录用日期: 2020-02-07

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

基金项目: 国家自然科学基金项目(31660119)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(31660119)

镉是“五毒”重金属元素(Cd、Hg、Pb、Cr、As)之首,属于环境优先污染物,在水中的溶解度很大,迁移性也很强。受工矿业生产排污和农耕施肥等人类活动影响,Cd已经成为我国农田土壤污染最广的重金属元素^[1],被列为当前农业面源污染防治的重要对象之一。Cd易被植物吸收,过量的Cd在植物体内积累会影响植物正常的生长发育,主要表现在对质膜的损伤以及植物细胞内稳态的影响^[2-3]。植物一方面可通过不同器官和亚细胞结构对Cd进行区隔化来减轻其对自身的毒害^[4],如细胞壁对Cd的固定作用以及胞内的液泡区室化机制等^[5-6];另一方面则是通过抗氧化体系的调节作用来减轻活性氧暴发对植物的伤害^[7]。

苔藓植物有许多能适应逆境的生理特征,如只由单层或者几层细胞构成、比表面积大、细胞膜上有很多阳离子交换位点、能从叶片表面直接吸收营养物质和其他金属离子等^[8],因此常被用来监测环境中的污染物及污染程度^[9]。研究表明细胞壁是苔藓植物累积重金属的主要场所^[10],抗氧化体系在藓类植物抵抗Cd毒过程中发挥了重要的作用^[11-12],然而Cd在藓体的亚细胞分布与抗氧化体系间的内在联系却较少有人关注。湿地匍灯藓(*Plagiomnium acutum*)是一种宽幅生态植物,我们前期研究发现它对Cd和Pb都有较强的吸收能力,并在2 h内就能对重金属胁迫作出反应,与青藓和尖叶拟船叶藓比较,低Cd($1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)胁迫下该藓类细胞表现出较强的耐性,在遭受Cd、Pb复合胁迫时,湿地匍灯藓采取了优先选择吸收Pb的避重就轻吸收策略,因此湿地匍灯藓是研究重金属胁迫的良好材料^[13-15]。基于此,本文继续以湿地匍灯藓为试验材料,研究其在不同浓度的Cd胁迫下叶绿体的变化、Cd在亚细胞中的分布及活性氧代谢特征,从微观水平探讨湿地匍灯藓对Cd胁迫的响应机制,以期更深入地探索藓类植物防御重金属伤害和耐重金属胁迫的机理,为重金属污染治理和修复提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

湿地匍灯藓采于湖南吉首大学校园绿化区($28^{\circ}17'27''\text{N}$, $109^{\circ}43'12''\text{E}$)。材料采回后立即用超纯水清洗干净,将表面水分用滤纸吸干后,进行Cd胁迫处理。

1.2 试验设计

本试验根据课题组对花垣矿区Cd的本底值调查结果($0.3 \sim 9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)和文献[16]设置Cd浓度分别为0、1、5、10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 共4个梯度,采用 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ (分析纯)进行处理,每个处理3个重复。试验采用浸没

培养方法进行,具体过程为:将鲜质量为2.0 g的藓体放入150 mL上述Cd浓度处理液中,常温下培养7 d后,将材料取出,先用纯水将其洗净,再用超纯水冲洗2~3遍后,分别测定各项指标。

1.3 叶绿体观察

剪取枝顶相同部位的叶片,压制成水封片后采用光学显微镜(Leica DM2000)于高倍镜下观察叶细胞形态变化(目镜10 $\times$,物镜100 $\times$),选择叶片同一个部位进行观察。

1.4 亚细胞组分分离

亚细胞组分分离参照Weigel^[17]及Rathore等^[18]的方法并进行改进。材料加入预冷后的匀浆液少许,冰浴研磨匀浆,匀浆液全部转入10 mL的离心管中,并用匀浆液补足体积至10 mL后离心($2200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 30 s),下部沉淀以及底层碎片即为细胞壁组分F1(包括胞间隙),将上清液在 $5500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的条件下离心45 min,沉在底层的碎片为细胞器组分F2,其上层清液即胞质组分F3(包括液泡和细胞质)。

1.5 测定方法

超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)产生速率参考Elstner等^[19]方法测定; H_2O_2 含量采用Patterson等^[20]方法测定;蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝法^[17];谷胱甘肽还原酶(GR)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性测定参考黄爱纛等^[21]方法进行;参考文献[22]对抗坏血酸含量进行测定,脱氢型抗坏血酸(DHA)可由二硫苏糖醇还原成还原型抗坏血酸(ASA),测得总抗坏血酸(ASC),然后从中减去ASA得到DHA的含量;各亚细胞组分的Cd含量参考文献[23]方法进行。

1.6 数据分析与作图

采用SPSS 17.0对数据进行处理和差异显著性分析,用WPS作图。

2 结果与分析

2.1 Cd胁迫对湿地匍灯藓细胞的损伤

由图1可看出,对照组细胞大小均匀,细胞壁边界清晰,叶绿体鲜绿色,均匀分布于细胞内,胞内无空隙(图1a)。当遭受到 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd胁迫时,湿地匍灯藓细胞出现中毒症状,细胞大小不一,形状变得不规则,细胞壁木质化明显,细胞内形成较大的空泡,叶绿体缩小成球状并被挤到细胞的边缘(图1b)。当Cd浓度增加到 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,细胞出现剧烈肿胀,细胞间隙变大,叶绿体被严重挤压变形,部分细胞的叶绿体出现解体(图1c)。当Cd浓度增加到 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,细胞

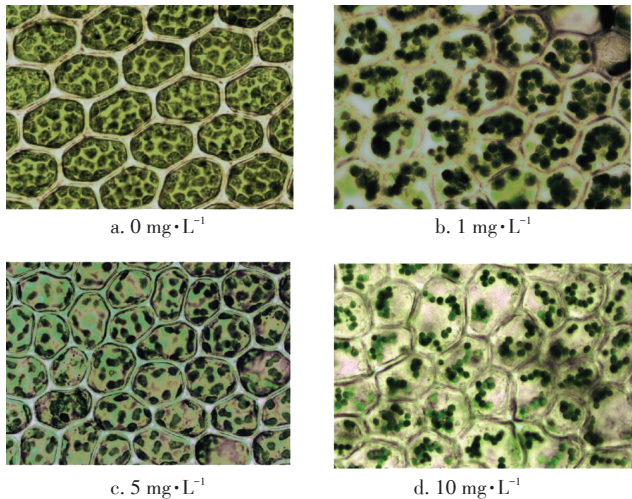


图1 Cd对湿地甸灯藓细胞的损伤($\times 1000$)

Figure 1 The damage of cells in *Plagiomnium acutum* under Cd stress

完全变形,细胞壁木质化程度更加严重,叶绿体进一步缩小成颗粒并聚集成团,细胞空泡化严重(图1d),表明植物体已经受到了较严重的伤害。

2.2 Cd在湿地甸灯藓亚细胞组分中的分布

为了揭示湿地甸灯藓细胞损伤的原因,分析了Cd在藓体内的分布情况。由表1可知,随Cd胁迫浓度的增加,湿地甸灯藓各亚细胞组分中的Cd含量也显著增加,与环境Cd含量存在显著的浓度效应关系。大部分Cd都集中分布在湿地甸灯藓的细胞壁(F1)中,占Cd吸收总量的58.4%~76.5%;细胞器(F2)中含量次之,分布比例为19.2%~27.3%,细胞质(F3)中占比最少,仅为4.3%~16.5%。随着Cd胁迫浓度增加,F2和F3中的Cd含量逐渐增加,F1中的Cd分配比例减少,由76.5%降低至58.4%,F2和F3中的Cd分配比例则显著上升,F2中的分配比例由19.2%增加到27.3%,F3中的分配比例则从4.3%急剧升高到16.5%,尽管10 mg·L⁻¹ Cd处理时略有回落,仍高达14.3%,表明湿地甸灯藓细胞壁是Cd的主要吸收场所,但随着Cd浓度加大,细胞壁阻留Cd的能力达到饱和,Cd进入细胞内,并主要停留于细胞器内。

2.3 Cd胁迫对湿地甸灯藓O₂⁻和H₂O₂含量的影响

为了进一步阐明细胞受损伤的原因,对Cd胁迫下藓体内活性氧自由基(O₂⁻和H₂O₂)的累积情况进行了分析,结果如图2所示。总体而言,藓体内的O₂⁻累积量随Cd浓度的增加呈现先降后升的趋势,当Cd浓度低于5 mg·L⁻¹时,藓体内的O₂⁻累积量出现随Cd浓度增加而降低的现象,并在5 mg·L⁻¹时达到最低值,比对照组减少了15.8%,然而当Cd浓度增加到10

表1 不同浓度Cd处理湿地甸灯藓亚细胞组分Cd含量($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
Table 1 Contents of Cd in subcellular fractions of *Plagiomnium acutum* under Cd treatments(mean $\pm$ SE, $n=3$)($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)

Cd/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	亚细胞组分 Subcellular component			总累积量 Total concentration
	细胞壁 Cell wall	细胞器 Organelle	胞质 Cytoplasm	
0	ND	ND	ND	ND
1	10.6 $\pm$ 0.22c	2.67 $\pm$ 0.11c	0.59 $\pm$ 0.02c	13.9 $\pm$ 0.35c
5	33.9 $\pm$ 4.31b	11.9 $\pm$ 0.78b	9.03 $\pm$ 0.86b	54.8 $\pm$ 5.95b
10	46.9 $\pm$ 3.02a	21.9 $\pm$ 2.42a	11.5 $\pm$ 0.40a	80.3 $\pm$ 5.83a

注:ND表示未检测到Cd。不同小写字母表示不同浓度Cd处理在0.05水平存在显著差异。

Note: ND indicates no Cd was detected. Different lowercase letters indicate that there is a significant difference between different Cd concentrations.

mg·L⁻¹时,藓体内的O₂⁻累积量出现了激增,比对照组增加了7.9%。

由图2可以看出,H₂O₂含量随Cd胁迫浓度增加而持续增大,尽管在1 mg·L⁻¹时H₂O₂累积量低于对照,但当Cd浓度由5 mg·L⁻¹增加到10 mg·L⁻¹时,藓体H₂O₂含量分别比对照增加了3.4%和13.7%。

2.4 Cd胁迫对湿地甸灯藓APX和GR酶活性的影响

APX和GR均为藓体内重要的氧化还原酶类,APX能以AsA作为电子供体使H₂O₂转化为H₂O,而

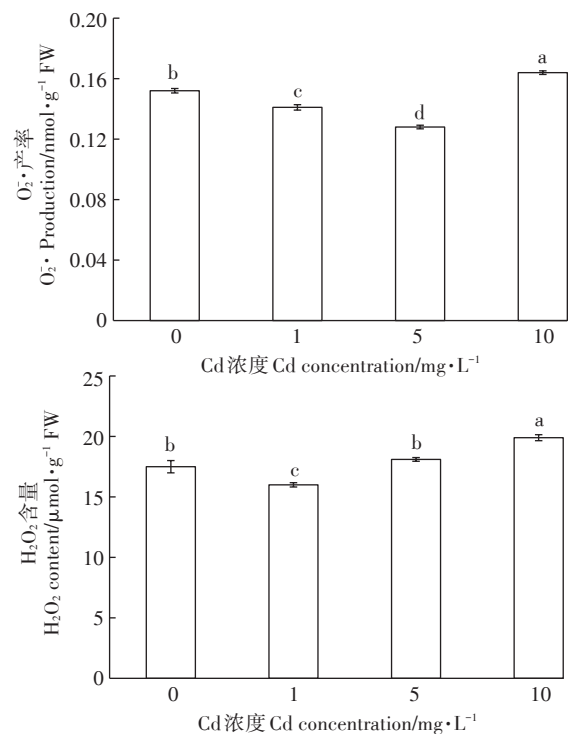


图2 Cd胁迫对湿地甸灯藓O₂⁻和H₂O₂含量的影响

Figure 2 Effects of Cd stress on O₂⁻ and H₂O₂ contents in *Plagiomnium acutum*

GR则是通过参与AsA-GSH循环在清除机体产生的活性氧中发挥作用。图3结果表明, Cd胁迫使藓体内两种酶活性均显著增强, 不同的是, APX活性随Cd胁迫浓度增加而逐渐下降, 而GR活性则表现为逐渐增强。当Cd浓度从 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 增加到 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, APX活性分别比对照增加了947%、810%和712%, GR活性分别比对照增加了430%、765%和1124%。APX活性随Cd胁迫浓度增加逐渐降低表明其保护作用是有限的, 当环境Cd超过一定浓度后其保护作用逐渐减弱。GR酶活性随Cd浓度增加而逐渐增加表明其在湿地甸灯藓抵抗Cd毒过程中起着至关重要的作用。

2.5 Cd胁迫对湿地甸灯藓抗坏血酸含量的影响

为了进一步考察湿地甸灯藓对活性氧清除机制, 对其抗坏血酸含量变化进行了分析, 结果见图4。由图4可以看出, 湿地甸灯藓体内ASC和ASA含量均随Cd胁迫浓度增加显著升高, 呈现出显著的剂量效应关系。与对照相比, 随Cd胁迫浓度增加, ASC和ASA含量分别增加了37.5%和42.7%、46.9%和72.7%、71.3%和89.2%, 其中ASA增长的幅度显著高于ASC, 同时ASA/DHA比值持续增加, 最高达到了1.3, 表明Cd胁迫促进了湿地甸灯藓ASA的生成, ASA在藓体解除Cd毒害中可能发挥了重要作用。

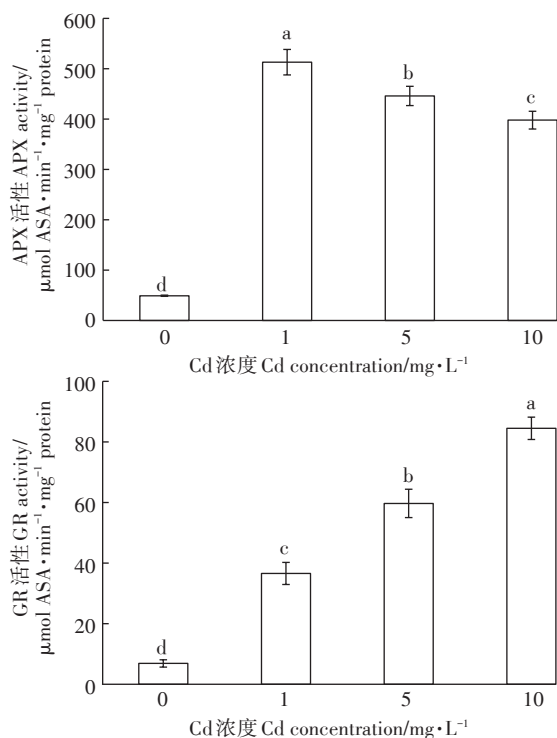


图3 Cd胁迫对湿地甸灯藓APX和GR活性的影响

Figure 3 Effects of Cd stress on APX and GR activities in *Plagiomnium acutum*

2.6 Cd胁迫下各指标间的相关性分析

为了研究湿地甸灯藓体内活性氧产生、抗氧化体系与Cd亚细胞分布间的联系, 对所测定的指标进行了Pearson相关性分析, 结果如表2所示。在55对相关分析中, 显著性相关4对($P < 0.05$), 均为正相关; 极显著性相关30对($P < 0.01$), 其中正相关27对, 负相关3对。表明所分析的各指标间相互联系较为紧密。 $\text{O}_2 \cdot$ 的产生与所有指标的相关性都不显著, 但 H_2O_2 含量却与各亚细胞组分Cd含量及GR活性极显著正相关($P < 0.01$), 与ASC和ASA含量显著正相关($P < 0.05$)。APX活性与GR活性、ASC和ASA含量极显著正相关($P < 0.01$), 与DHA含量显著正相关($P < 0.05$), 与各亚细胞组分Cd含量极显著负相关($P < 0.01$)。GR活性除了与APX活性和 H_2O_2 含量极显著正相关外($P < 0.01$), 还与ASC、ASA和DHA含量以及各亚细胞组分Cd含量均极显著正相关($P < 0.01$)。

3 讨论

叶绿体对环境变化反应很灵敏, 宇克莉等^[24]采用透射电镜观察Cd胁迫下的玉米细胞时发现, $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$ 处理10 d后叶绿体数量显著减少, 且叶绿体膨胀呈圆球形, 基粒类囊体排列紊乱; 魏海英等^[10]采用 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}$ 处理大羽藓7 d后观察到叶绿体双层膜破裂, 类囊体片层膨胀减少, 仅使线粒体外膜有破损和嵴突膨胀。本研究同样发现随Cd胁迫浓度增加, 叶绿体受伤害程度也显著增加, 具体表现为叶绿体急剧的皱缩, 与上述结果相一致。

细胞壁是重金属离子跨膜进入细胞质的第一道屏障, 是植物响应重金属胁迫的功能信号分子和代谢的场所^[5, 25]。耐Cd植物的一个显著特征就是细胞壁对

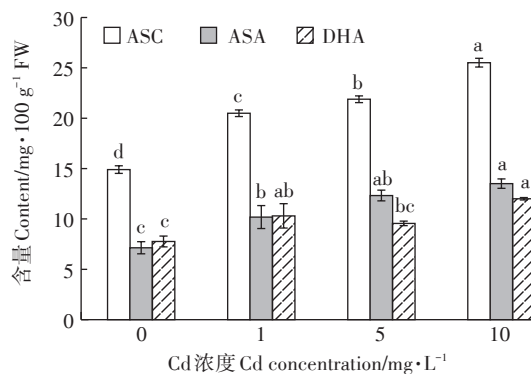


图4 Cd胁迫对湿地甸灯藓抗坏血酸含量的影响

Figure 4 Effects of Cd stress on ascorbic acid pool in *Plagiomnium acutum*

表2 Cd胁迫下各指标间的相关性分析

Table 2 The correlation analysis between all indicators under Cd stress

	ASA/DHA	APX	ASC	ASA	DHA	O ₂ ·	H ₂ O ₂	Cd _{F1}	Cd _{F2}	Cd _{F3}
APX	0.312									
ASC	0.311	0.741**								
ASA	0.703**	0.655**	0.886**							
DHA	-0.375	0.560*	0.751**	0.361						
O ₂ ·	-0.258	-0.358	0.142	0.013	0.268					
H ₂ O ₂	0.122	-0.067	0.562*	0.528*	0.379	0.479				
Cd _{F1}	0.325	-0.978**	0.920**	0.854**	0.636**	0.149	0.757**			
Cd _{F2}	0.264	-0.974**	0.895**	0.812**	0.646**	0.330	0.824**	0.980**		
Cd _{F3}	0.328	-0.963**	0.842**	0.807**	0.546*	0.130	0.805**	0.983**	0.966**	
GR	0.300	0.651**	0.970**	0.866**	0.720**	0.157	0.665**	0.979**	0.960**	0.930**

注:**表示在0.01水平(双侧)上显著相关。*表示在0.05水平(双侧)上显著相关。

Notes:** indicates significant correlation at the 0.01 level(bilateral). * indicates significant correlation at the 0.05 level(bilateral).

Cd的过量累积,同时植物还可通过调整Cd在细胞各组分中的分布来适应Cd胁迫^[26]。如与Cd敏感型植物相比,耐性植物的Cd多数被细胞壁所固定^[27]。本研究发现,Cd在湿地甸灯藓体内的分布趋势为细胞壁>细胞器>细胞质(表2),Cd主要累积在藓体的细胞壁上,但随着环境Cd浓度增加,细胞器内Cd占比增加,从19.2%升高至27.3%,与杨卫东等^[28]的结果相一致。有研究认为叶绿体是最易累积Cd的细胞器,如藻类植物的叶绿体内Cd含量高达总量的40%^[29]。本研究中,叶绿体损伤随各亚细胞组分中的Cd含量增加而增加,说明藓类植物的叶绿体也很可能是累积Cd的主要场所之一,是Cd毒性的直接作用位点。

Cd是非氧化还原态金属,低浓度下进入到细胞后可以被体内非酶物质如ASA或GSH螯合,叶绿体是细胞活性氧产生的主要部位之一^[30],然而只有在叶绿体严重受损后,才会激活膜中的NADPH氧化酶,促进O₂·和H₂O₂的形成^[31-32]。本研究发现,藓体内的O₂·含量随Cd浓度增加呈现先降后升趋势,H₂O₂含量则随Cd浓度增加而显著增加(图2),该结果与庞杰等^[33]的结果相一致。相关性分析表明,O₂·的产生与所有指标的相关性都不显著,但H₂O₂含量却与各亚细胞组分Cd含量及GR活性极显著正相关($P<0.01$)。孙光闻等^[34]认为这种现象的出现是过多的O₂·不能被及时清除而质子化成为毒性更强的OH自由基所致。本文推测可能是低浓度下Cd刺激细胞器内抗氧化酶系统的启动,将体内原有的活性氧清除,导致其低于对照,本研究中显著高于对照的APX和GR活性也可以在一定程度上支持这个假设,表明低浓度Cd胁迫

下湿地甸灯藓的活性氧代谢与种子植物相比有其特殊性,可能对低浓度Cd有较强的耐受能力。

Smeets等^[35]认为抗坏血酸-谷胱甘肽循环是Cd胁迫下刺激H₂O₂转化的主要途径。APX和GR是该循环中重要的氧化还原酶类,APX主要存在于质体,尤其是叶绿体中^[36],该酶催化了该循环的第一步反应,同时将H₂O₂转化成H₂O。本研究中,APX活性与两种活性氧含量不相关,却与ASC和ASA极显著正相关($P<0.01$),与DHA显著正相关($P<0.05$),说明叶绿体受损伤后Cd进入叶绿体内,使受损部分的APX变性失活。GR为该循环的限速酶,主要位于线粒体内^[37],以NADPH为电子供体促使GSSG还原成GSH。本研究中GR活性与O₂·含量不相关,却与H₂O₂含量以及各亚细胞组分Cd含量均极显著正相关($P<0.01$),也与ASC、ASA和DHA含量极显著正相关($P<0.01$),并与APX酶活性极显著正相关($P<0.01$),说明亚细胞组分中Cd含量和H₂O₂含量增加以及叶绿体受损是GR活性增加的主要原因,两种酶具有协同效应。

ASA是体内清除活性氧的重要物质之一,H₂O₂可以诱导ASA含量增加^[33],ASC、ASA和DHA均与3种亚细胞组分中的Cd含量极显著正相关($P<0.01$),其中ASC和ASA还与H₂O₂含量显著正相关($P<0.05$),这与庞杰等^[33]结果相一致。该结果也从侧面进一步证明了Cd胁迫产生的H₂O₂主要依赖抗坏血酸-谷胱甘肽循环体系(Halliwell-Asada途径)完成,这与吴旭红等^[38]的研究结果相一致。暗示Halliwell-Asada途径可能是湿地甸灯藓体内主要的活性氧清除机制。

4 结论

(1) 湿地甸灯藓的细胞壁是累积重金属Cd的主要场所,进入细胞内的Cd则主要累积在细胞器里,尤其可能累积在叶绿体,致使以叶绿体为主要反应场所的APX变性失活,引起体内活性氧代谢紊乱。

(2) 低浓度Cd胁迫下湿地甸灯藓的活性氧代谢不同于种子植物, Halliwell-Asada途径可能是湿地甸灯藓体内主要的活性氧清除机制, APX和GR在此过程中具有协同效应。

(3) 湿地甸灯藓对低浓度Cd有较强的耐受能力。

参考文献:

- [1] 郭静怡, 张曼, 张锡洲, 等. 水稻镉安全材料的镉吸收动力学特征[J]. 应用生态学报, 2018, 29(1): 278-284.
- [2] GUO Jing-yi, ZHANG Man, ZHANG Xi-zhou, et al. Characterization of cadmium uptake kinetics in cadmium pollution-safe rice material[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2018, 29(1): 278-284.
- [3] Meers E, Van SS, Adriaenssens K, et al. The use of bio-energy crops (*Zea mays*) for 'phytoattenuation' of heavy metals on moderately contaminated soils: A field experiment[J]. *Chemosphere*, 2010, 78(1): 35-41.
- [4] Jiang W S, Liu D H, Xu P. Cd-induced system of defence in the garlic root meristematic cells[J]. *Biologia Plantarum*, 2009, 53(2): 369-372.
- [5] 董萌, 赵运林, 库文珍, 等. 菱蒿对镉的富集特征及亚细胞分布特点[J]. 植物学报, 2013, 48(4): 381-388.
- [6] DONG Meng, ZHAO Yun-lin, KU Wen-zhen, et al. Cadmium accumulation and subcellular distribution in different organs of *Artemisia selen-gensis*[J]. *Bulletin of Botany*, 2013, 48(4): 381-388.
- [7] Dalcorsio G, Farinati S, Furini A. Regulatory networks of cadmium stress in plants[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2010, 5(6): 663-667.
- [8] Lai H Y. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Impatiens walleriana* in relation to its phytoextraction potential[J]. *Chemosphere*, 2015, 138: 370-376.
- [9] 刘灿玉, 夏杰, 韩敏, 等. 镉对姜叶片活性氧代谢影响的时间和剂量效应[J]. 园艺学报, 2016, 43(5): 927-934.
- [10] LIU Can-yu, XIA Jie, HAN Min, et al. Time and dose effects of cadmium on active oxygen metabolism in ginger leaves[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2016, 43(5): 927-934.
- [11] 方炎明, 魏勇, 张晓平, 等. 苔藓生物监测大气重金属污染研究进展[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2000, 24(5): 64-68.
- [12] FANG Yan-ming, WEI Yong, ZHANG Xiao-ping, et al. Advance in bry-monotoring of atmospheric heavy metal pollution[J]. *Journal of Nan-jing Forestry University*, 2000, 24(5): 64-68.
- [13] 吴玉环, 黄国宏, 高谦, 等. 苔藓植物对环境变化的响应及适应性研究进展[J]. 应用生态学报, 2001, 12(6): 943-946.
- [14] WU Yu-huan, HUANG Guo-hong, GAO Qian, et al. Research advance in response and adaptation of bryophytes to environmental change[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2001, 12(6): 943-946.
- [15] 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.
- [16] WEI Hai-ying, YIN Zeng-fang, FANG Yan-ming, et al. Effects of Pb, Cd pollution on ultrastructure of *Thuidium cymbifolium*[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2003, 23(12): 2066-2071.
- [17] 龚双姣, 马陶武, 姜业芳, 等. 镉胁迫下3种藓类植物抗氧化酶活性变化的比较研究[J]. 西北植物学报, 2008, 28(9): 1765-1771.
- [18] GONG Shuang-jiao, MA Tao-wu, JIANG Ye-fang, et al. Antioxidant enzyme activities induced by cadmium stress in three species mosses[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2008, 28(9): 1765-1771.
- [19] 李朝阳, 陈玲, 吴昊, 等. 湿地甸灯藓(*Plagiomnium acutum*)的防御机制对镉胁迫的响应[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(9): 1665-1671.
- [20] LI Zhao-yang, CHEN Ling, WU Hao, et al. Response of defense mechanisms in *Plagiomnium acutum* under Cd stress[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(9): 1665-1671.
- [21] 龚双姣, 马陶武, 李菁, 等. 镉胁迫下三种藓类植物的细胞伤害及光合色素含量的变化[J]. 应用生态学报, 2010, 21(10): 2671-2676.
- [22] GONG Shuang-jiao, MA Tao-wu, LI Jing, et al. Leaf cell damage and changes in photosynthetic pigment contents of three moss species under cadmium stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 21(10): 2671-2676.
- [23] 田向荣, 吴昊, 李菁, 等. Cd、Pb复合胁迫下湿地甸灯藓(*Plagiomnium acutum*)重金属累积效应及抗氧化系统响应[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(5): 844-851.
- [24] TIAN Xiang-rong, WU Hao, LI Jing, et al. Heavy metal accumulation and antioxidative system response of *Plagiomnium acutum* under combined cadmium and lead stresses[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2015, 34(5): 844-851.
- [25] Carginale V, Sorbo S, Capasso C, et al. Accumulation, localisation, and toxic effects of cadmium in the liverwort *Lunularia cruciata*[J]. *Protoplasma*, 2004, 223(1): 53-61.
- [26] 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.
- [27] WEI Hai-ying, FANG Yan-ming, YIN Zeng-fang, et al. Effects of Pb, Cd single and joint pollution on some physiological characters of *Hypnum revolutum*[J]. *Guihaia*, 2003, 23(1): 69-72.
- [28] Weigel J H, Jäger J H. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plants[J]. *Plant Physiology*, 1980, 65(3): 480-482.
- [29] Rathore V S, Bajaj Y P S, Wittwer S H. Subcellular localization of zinc and calcium in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) tissues[J]. *Plant Physiology*, 1972, 49(2): 207-211.
- [30] Elstner E F, Heupel A. Inhibition of nitrite formation from hydroxylammoniumchloride: A simple assay for superoxide dismutase[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 70(2): 616-620.
- [31] Patterson B D, Macrae E A, Ferguson I B. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium(IV)[J]. *Analytical Biochemistry*, 1984, 139(2): 487-492.
- [32] 黄爱缙, 吴珍龄. 水稻谷胱甘肽过氧化物酶的测定法[J]. 西南大学

- 学报(自然科学版), 1999, 21(4): 324-327.
- HUANG Ai-ying, WU Zhen-ling. Determination of glutathione peroxidase in rice seedlings[J]. *Journal of Southwest Agricultural University*, 1999, 21(4): 324-327.
- [22] 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 314.
- Shanghai Institute of Plant Physiology, Chinese Academy of Sciences & Shanghai Plant Physiology Society. A guide to modern plant physiology experiments[M]. Beijing: Science Press, 1999: 314.
- [23] 李朝阳, 陈玲, 马陶武, 等. 湿地甸灯藓(*Plagiomnium acutum*)对Pb胁迫的生物标志物响应[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(2): 292-298.
- LI Zhao-yang, CHEN Ling, MA Tao-wu, et al. Biomarker responses of *Plagiomnium acutum* to lead stress[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(2): 292-298.
- [24] 宇克莉, 孟庆敏, 邹金华. 镉对玉米幼苗生长、叶绿素含量及细胞超微结构的影响[J]. 华北农学报, 2010, 25(3): 118-123.
- YU Ke-li, MENG Qing-min, ZOU Jin-hua. Effects of Cd²⁺ on seedling growth, chlorophyll contents and ultrastructures in maize[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2010, 25(3): 118-123.
- [25] Chen G, Liu Y, Wang R, et al. Cadmium adsorption by willow root: The role of cell walls and their subfractions[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2013, 20(8): 5665-5672.
- [26] 周守标, 徐礼生, 吴龙华, 等. 镉和锌在皖景天细胞内的分布及化学形态[J]. 应用生态学报, 2008, 19(11): 2515-2520.
- ZHOU Shou-biao, XU Li-sheng, WU Long-hua, et al. Subcellular distribution and chemical forms of Cd and Zn in *Sedum jinianum*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(11): 2515-2520.
- [27] Uraguchi S, Kiyono M, Sakamoto T, et al. Contributions of apoplasmic cadmium accumulation, antioxidative enzymes and induction of phytochelatins in cadmium tolerance of the cadmium-accumulating cultivar of black oat (*Avena strigosa* Schreb.)[J]. *Planta*, 2009, 230(2): 267-276.
- [28] 杨卫东, 陈益泰, 屈明华. 镉在旱柳中亚细胞分布及存在的化学形态[J]. 西北植物学报, 2009, 29(7): 110-115.
- YANG Wei-dong, CHEN Yi-tai, QU Ming-hua. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Salix matsudana*[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2009, 29(7): 110-115.
- [29] Mendoza-Cozatl D, Devars S, Loza-Tavera H, et al. Cadmium accumulation in the chloroplast of *Euglena gracilis*[J]. *Physiologia Plantarum*, 2002, 115(2): 276-283.
- [30] 耿兴敏, 肖丽燕, 赵晖, 等. H₂O₂预处理及高温胁迫下杜鹃叶片活性氧及抗氧化酶亚细胞定位分析[J]. 西北植物学报, 2019, 39(5): 791-800.
- GENG Xing-min, XIAO Li-yan, ZHAO Hui, et al. Subcellular localization of ROS-scavenging system in *Rhododendron* leaves under heat stress and H₂O₂ pretreatment[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2019, 39(5): 791-800.
- [31] Sharma S S, Dietz K J. The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance[J]. *Trends in Plant Science*, 2009, 14(1): 43-50.
- [32] Gallego S M, Pena L B, Barcia R A, et al. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: Insight into regulatory mechanisms[J]. *Environmental & Experimental Botany*, 2012, 83: 33-46.
- [33] 庞杰, 郝丽珍, 张凤兰, 等. 沙芥叶片活性氧和抗坏血酸对干旱胁迫的响应[J]. 植物生理学报, 2013, 49(1): 57-62.
- PANG Jie, HAO Li-zhen, ZHANG Feng-lan, et al. The response of active oxygen species and ascorbic acid in *Pugionium cornutum* (L.) Gaertn. leaves to drought stress[J]. *Plant Physiology Journal*, 2013, 49(1): 57-62.
- [34] 孙光闻, 朱祝军, 方学智. 镉对白菜活性氧代谢及H₂O₂清除系统的影响[J]. 中国农业科学, 2004, 37(12): 2012-2015.
- SUN Guang-wen, ZHU Zhu-jun, FANG Xue-zhi. Effects of different cadmium levels on active oxygen metabolism and H₂O₂-scavenging system in *Brassica campestris* L. ssp. *chinensis*[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2004, 37(12): 2012-2015.
- [35] Smeets K, Ruytinx J, Semane B, et al. Cadmium-induced transcriptional and enzymatic alterations related to oxidative stress[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2008, 63(1/2/3): 1-8.
- [36] 于飞, 陈银萍, 杨宗娟, 等. 低温胁迫对两种圆柏属植物亚细胞抗氧化酶活性的影响[J]. 广西植物, 2014, 34(5): 686-693.
- YU Fei, CHEN Yin-ping, YANG Zong-juan, et al. Effects of low temperature stress on antioxidant enzymes activities in the subcellular of two *Sabina* species[J]. *Guihaia*, 2014, 34(5): 686-693.
- [37] Buchanan B B, Grussem W, Jones R L. Biochemistry and molecular biology of plants[M]. American Society of Plant Biologist, 2000: 1367.
- [38] 吴旭红, 付本丽. 不同浓度镉对苜蓿生长及抗氧化系统的影响[J]. 黑龙江大学自然科学学报, 2005, 22(3): 363-365.
- WU Xu-hong, FU Ben-li. Effects of different concentrations of cadmium on growth and antioxidant system in *Medicago sativa* L. cv[J]. *Journal of Natural Science of Heilongjiang University*, 2005, 22(3): 363-365.