

# 外源 $H_2O_2$ 对镉胁迫下裸燕麦叶绿素荧光参数和镉积累特性的影响

刘建新, 欧晓彬, 王金成

(甘肃省高校陇东生物资源保护与利用省级重点实验室/陇东学院生命科学与技术学院, 甘肃 庆阳 745000)

**摘要:** 镉(Cd)是最具生物毒性的重金属污染物之一,过氧化氢( $H_2O_2$ )是参与植物逆境响应调节的信号分子。为探讨 $H_2O_2$ 对Cd胁迫下植物生理响应的调控机制,以裸燕麦品种‘定莜6号’为材料,采用砂培方法研究了 $H_2O_2$ 外源喷施对 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{Cd}^{2+}$ 胁迫下幼苗生长、叶片叶黄素循环、叶绿素荧光参数和植株Cd积累特性的影响。结果表明:与单独Cd胁迫相比,喷施 $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{H}_2\text{O}_2$ 使Cd胁迫下的裸燕麦幼苗根系和地上部干重分别提高了18.5%和26.9%,叶片光系统II(PSII)最大光化学效率( $F_v/F_m$ )、实际光化学效率( $\Phi_{\text{PSII}}$ )、光化学猝灭系数( $qP$ )、光系统I激发能分配系数( $\alpha$ )和吸收光能用于光化学反应的份额( $P$ )分别提高了15.7%、98.6%、61.6%、40.9%和98.6%,叶片叶黄素循环脱环氧化状态( $A+Z$ )/( $V+A+Z$ )、PSII非光化学猝灭系数(NPQ)、调节性能量耗散 $Y(\text{NPQ})$ 、非调节性能量耗散 $Y(\text{NO})$ 、PSII激发能分配系数( $\beta$ )、双光系统间激发能分配不平衡偏离系数( $\beta/\alpha-1$ )、吸收光能用于天线热耗散的份额( $D$ )和PSII反应中心非光化学耗散的份额( $E_x$ )分别下降了11.2%、7.9%、13.9%、12.2%、12.7%、55.2%、19.1%和10.6%。同时,喷施 $H_2O_2$ 还使Cd胁迫下裸燕麦幼苗根系Cd含量及根系和地上部Cd积累量分别提高了52.0%、92.4%和25.2%,Cd由根系向地上部的转运率下降了34.4%,但地上部Cd含量没有显著变化。由此表明,外源 $H_2O_2$ 可能一方面通过提高PSII光化学效率而非依赖叶黄素循环的热耗散减轻了Cd胁迫诱导的光抑制,另一方面通过增强根系对Cd的滞留和降低Cd由根系向地上部的转运,从而缓解了Cd胁迫对裸燕麦幼苗生长的抑制,提高了裸燕麦对Cd胁迫的耐性。

**关键词:** 过氧化氢( $H_2O_2$ ); 裸燕麦; 镉胁迫; 叶绿素荧光参数; 镉积累特性

**中图分类号:** S512.6; Q945 **文献标志码:** A

## Effects of exogenous hydrogen peroxide on chlorophyll fluorescence parameters and cadmium accumulation characteristics in naked oat under cadmium stress

LIU Jianxin, OU Xiaobin, WANG Jincheng

(University Provincial Key Laboratory for Protection and Utilization of Longdong Bio-resources in Gansu Province/  
College of Life Sciences and Technology, Longdong University, Qingyang, Gansu 745000, China)

**Abstract:** Cadmium (Cd) is one of the most biotoxic heavy metal pollutants. Hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) is a signaling molecule involved in plant response regulation to different stresses, including heavy metal stress. The objective of this study was to analyze the physiological mechanism of exogenous  $H_2O_2$  mitigating Cd induced stress damage in naked oat (*Avena nuda* L.) seedlings. Seedlings of naked oat cultivar ‘Dingyou 6’ were used in a sand culture experiment to investigate the effect of spraying  $H_2O_2$  on seedling growth, leaf xanthophyll cycle, chlorophyll fluorescence parameters, and cadmium accumulation characteristics with  $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{Cd}^{2+}$  treatment. The results showed that Cd exposure depressed plant growth. However, after foliar-spraying with  $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{H}_2\text{O}_2$ , the dry weights of roots and shoots were increased by 18.5% and 26.9%, respectively. In addition, the PSII maximal photochemistry efficiency ( $F_v/F_m$ ), practical photochemical efficiency ( $\Phi_{\text{PSII}}$ ), photochemical quenching coefficient ( $qP$ ), photosynthetic system I excitation energy distribution coefficient ( $\alpha$ ), and quotient of absorbed luminous

energy used for photochemical action ( $P$ ) in leaves of naked oat seedlings under Cd stress after foliar-spraying  $H_2O_2$  increased by 15.7%, 98.6%, 61.6%, 40.9% and 98.6%, respectively, compared with Cd stress treatment alone. The leaf de-epoxidation extent of xanthophyll cycle  $(A+Z)/(V+A+Z)$ , photosynthetic system II (PS II) non-photochemical quenching coefficient (NPQ), regulated energy dissipation  $Y(NPQ)$ , non-regulated energy dissipation  $Y(NO)$ , PS II excitation energy distribution coefficient ( $\beta$ ), unbalanced distribution of coefficient deviation on excitation energy between two photosystems  $(\beta/\alpha-1)$ , quotient of absorbed luminous energy used for antenna heat dissipation ( $D$ ), and quotient of absorbed luminous energy used for non-photochemical dissipation ( $E_x$ ) in reaction center of PS II decreased by 11.2%, 7.9%, 13.9%, 12.2%, 12.7%, 55.2%, 19.1% and 10.6%, respectively. Moreover, the Cd content and accumulation in roots and shoots increased by 52.0%, 92.4% and 25.2%, respectively, and the transport rate of Cd from roots to shoots decreased by 34.4% after foliar-spraying  $H_2O_2$  under Cd stress, but there was no significant change in Cd content in shoots. Therefore, foliar-spraying  $H_2O_2$  not only decreased photoinhibition caused by Cd stress through improving PS II photochemical efficiency rather than the xanthophyll cycle-dependent energy dissipation, but also enhanced the immobilization of Cd in roots and reduced its transportation from root to shoot in naked oat seedlings under Cd stress, thus mitigated the inhibition of Cd stress on seedlings growth and enhanced the tolerance of naked oat to Cd stress.

**Keywords:** hydrogen peroxide; naked oat; Cd stress; chlorophyll fluorescence parameter; cadmium accumulation characteristics

随着工业发展和农业中化肥、农药大量使用,土壤重金属污染日益严重。镉(cadmium, Cd)是最具植物毒性的重金属元素之一,主要以离子型化合物形态存在,容易被植物根系吸收并转移到籽粒中积累,进而通过食物链危及人类健康<sup>[1]</sup>。植物遭受Cd胁迫时会诱导细胞代谢酶活性下降<sup>[2]</sup>、根系营养元素吸收转运受阻<sup>[3]</sup>、叶片光系统电子传递活性<sup>[4]</sup>和光合速率<sup>[5]</sup>降低、地上部Cd吸收积累增加、叶绿素含量和植物生长量降低<sup>[6]</sup>。因此,探索提高植物Cd胁迫耐性的措施或技术途径,是缓解植物Cd胁迫伤害亟需解决的问题。

过氧化氢(Hydrogen peroxide,  $H_2O_2$ )是参与植物生长发育和胁迫应答调节的一种重要信号分子。研究证明,内源性 $H_2O_2$ 代谢的调控有助于转基因水稻光合能力的提高<sup>[7]</sup>和诱导大豆根尖及边缘细胞的耐铝反应<sup>[8]</sup>。外源 $H_2O_2$ 能够增强葡萄对低温<sup>[9]</sup>和玉米对盐胁迫<sup>[10]</sup>的耐性,缓解干旱对黄瓜叶绿体膜的伤害<sup>[11]</sup>,增强受旱欧薄荷的光合性能<sup>[12]</sup>。关于 $H_2O_2$ 增强植物对金属胁迫耐性方面的研究表明:外源 $H_2O_2$ 能够提高黑豆对铝胁迫的耐性<sup>[13]</sup>,抑制水稻根系Cd向地上部的转移<sup>[14]</sup>,提高Cd胁迫蚕豆的抗氧化能力<sup>[15]</sup>,通过调节光系统II活性和气孔运动,维持镍胁迫下芥菜较高的光合潜力<sup>[16]</sup>。

裸燕麦(*Avena nuda* L.)是我国西北、西南和华北等地广泛种植的禾本科燕麦属杂粮作物,其籽粒的蛋白质和脂肪含量远高于小麦、水稻等主要粮食作物,尤其是其富含的 $\beta$ -葡聚糖和燕麦黄酮对控制

血脂、血压和血糖升高及改善胃肠功能具有保健功效<sup>[17]</sup>。裸燕麦具有较强的耐盐抗旱和耐贫瘠特性,常种植在盐碱地或受重金属污染等质地较差的土壤上,土壤重金属成为制约其生长发育的重要因素。有研究表明,根施 $H_2O_2$ 可缓解Cd胁迫对裸燕麦生长的抑制<sup>[18]</sup>。然而,外源 $H_2O_2$ 减轻Cd胁迫伤害的生理机制仍尚不清楚。为此,本研究以西北地区广泛种植的高产抗旱抗病裸燕麦品种‘定菽6号’为材料,通过砂培试验,研究喷施 $H_2O_2$ 对Cd胁迫下植株生长及叶绿素荧光参数、光系统吸收光能分配和Cd积累的影响,探讨 $H_2O_2$ 对Cd胁迫下裸燕麦生理响应的调控机制,以期应用 $H_2O_2$ 增强作物耐镉性提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试裸燕麦品种‘定菽6号’种子购自甘肃省定西市农业科学研究院。30%  $H_2O_2$ 为Sigma公司产品,分析纯氯化镉( $CdCl_2 \cdot 2.5H_2O$ )作为Cd供体。

挑选均匀、饱满的裸燕麦种子用5%次氯酸钠将其表面消毒、洗净后晾干,播种在口径20 cm、高14 cm的塑料盆中,以清水充分洗净的膨胀珍珠岩(未检出Cd)作基质,每盆播种量约80粒,浇500 mL水后置日光温室中培养,常规管理。温室内昼/夜温度为(24~37)℃/(16~22)℃,光照强度为400~560  $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ ,湿度70%±10%。当幼苗长

至 2 片叶子时进行间苗,每盆保留一致壮苗约 50 株,并浇灌 1/2 Hoagland 营养液 250 mL 补充养分,当幼苗第 3 片叶完全展开时进行试验处理。

## 1.2 试验设计

前期预实验发现 50 mg · L<sup>-1</sup> Cd<sup>2+</sup> 溶液浇灌 3 叶期裸燕麦幼苗 14 d 后光合速率和植株干重显著低于浇灌蒸馏水的对照。因此, Cd 胁迫浓度设定为 50 mg · L<sup>-1</sup> Cd<sup>2+</sup>。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 喷施的有效生理浓度为 1.5 ~ 10 mmol · L<sup>-1</sup> [11, 19-20]。据此, Cd 胁迫和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 喷施交叉试验设置如下 4 个处理: (1) CK, 用蒸馏水喷施幼苗叶面, 用 Hoagland 营养液根部浇灌幼苗; (2) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理, 用 5 mmol · L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 喷施幼苗叶面, 用 Hoagland 溶液根部浇灌幼苗; (3) Cd 处理, 用蒸馏水喷施幼苗叶面, 用含 50 mg · L<sup>-1</sup> Cd<sup>2+</sup> 的 Hoagland 溶液根部浇灌幼苗; (4) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + Cd 处理, 用 5 mmol · L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 喷施幼苗叶面, 用含 50 mg · L<sup>-1</sup> Cd<sup>2+</sup> 的 Hoagland 溶液根部浇灌幼苗。叶面喷施与根部浇灌于 2017 年 5 月 14 日 20:00 时同时进行, 喷施液中加 0.5% Tween-20 以增加与叶面的粘附程度, 喷施量每盆 15 mL 左右, 浇灌量每盆约 300 mL。叶面喷施和根部浇灌每隔 2 d 进行 1 次, 处理 14 d 后进行各项指标测定。试验重复 3 次。

## 1.3 测定项目和和方法

1.3.1 植株生长量 取 30 株幼苗, 洗净后从根结处分成根系和地上部, 置烘箱 105℃ 杀青 30 min, 70℃ 烘干至恒重, 称干重, 重复 3 次。

1.3.2 叶黄素循环色素物质 取 0.50 g 幼苗第 2~3 片叶冻样于预冷研钵中, 加入 85% 丙酮 5 mL 研磨匀浆后转移至离心管以 4 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 5 min, 上清液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 按 Cheng [21] 的方法用 LC-3000 型高效液相色谱仪测定叶黄素循环色素紫黄质(V)、环氧玉米黄质(A)和玉米黄质(Z)的含量, 以 (A+Z)/(V+A+Z) 表示脱环氧化状态。

1.3.3 叶绿素荧光参数 采用英国 Hansatech 公司 FMS-2 型调制式荧光仪于 9:00~11:00 测定光强为 6 000 μmol · m<sup>-2</sup> · s<sup>-1</sup> 下裸燕麦幼苗第 2~3 片叶的稳态荧光 (F<sub>s</sub>)、最大荧光 (F'<sub>m</sub>) 和最小荧光 (F'<sub>o</sub>)。然后暗适应 30 min 后测定初始荧光 (F<sub>o</sub>) 和最大荧光 (F<sub>m</sub>)。按文献 [22-23] 方法计算光系统 II (PS II) 最大光化学效率 (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>) = (F<sub>m</sub> - F<sub>o</sub>)/F<sub>m</sub>、实际光化学效率 Φ<sub>PSII</sub> = (F'<sub>m</sub> - F<sub>s</sub>)/F'<sub>m</sub>、光化学猝灭系数 qP = (F'<sub>m</sub> - F<sub>s</sub>)/(F'<sub>m</sub> - F'<sub>o</sub>)、非光化学猝灭系数 NPQ = F<sub>m</sub>/F'<sub>m</sub> - 1、调节性能量耗散 Y(NPQ) = 1 - Φ<sub>PSII</sub> - 1/[NPQ + 1 + qP × F'<sub>o</sub>/F<sub>s</sub> × (F<sub>m</sub>/F<sub>o</sub> - 1)] 和非调节性能量耗散 Y(NO) = 1/[NPQ + 1 + qP × F'<sub>o</sub>/F<sub>s</sub> ×

(F<sub>m</sub>/F<sub>o</sub> - 1)]。按 Braun 等 [24] 的公式计算光系统 I (PS I) 激发能分配系数 α = [(F'<sub>m</sub> - F<sub>s</sub>)/(F'<sub>m</sub> - F'<sub>o</sub>)]/[1 + (F'<sub>m</sub> - F<sub>s</sub>)/(F'<sub>m</sub> - F'<sub>o</sub>)], PS II 激发能分配系数 β = 1/[1 + (F'<sub>m</sub> - F<sub>s</sub>)/(F'<sub>m</sub> - F'<sub>o</sub>)], 两光系统间激发能分配的不平衡偏离系数用 (β/α - 1) 表示。按 Demmig-Adams 等 [25] 的方法计算吸收光能用于光化学反应的份额 P = F'<sub>v</sub>/F'<sub>m</sub> × qP、天线热耗散的份额 D = 1 - F'<sub>v</sub>/F'<sub>m</sub> 和非光化学反应耗散的份额 E<sub>x</sub> = F'<sub>v</sub>/F'<sub>m</sub> × (1 - qP)。

1.3.4 Cd 含量 将植株从盆中取出后充分洗净, 根部浸入 0.2 mol · L<sup>-1</sup> EDTA-Na<sub>2</sub> 溶液 30 min 以除去表面吸附的 Cd, 再用蒸馏水冲净后吸干表面水分, 将根系和地上部分开, 置烘箱 105℃ 杀青 0.5 h, 70℃ 烘干至恒重, 分别称干重。然后粉碎、磨细、过 1 mm 尼龙筛, 参照 Zhang 等 [26] 的方法分别称取 0.500 g 根系和地上部样品, 用 20 mL 混合酸 (HNO<sub>3</sub> : HClO<sub>4</sub> = 4 : 1, V/V) 消煮后定容至 50 mL, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤后用日立 ZA3000 原子吸收分光光度计测定 Cd 含量, 并计算 Cd 积累量 = 植株根系或地上部 Cd 含量 × 根系或地上部生物量, 转运率 (%) = 植株地上部 Cd 含量 / 根系 Cd 含量 × 100。

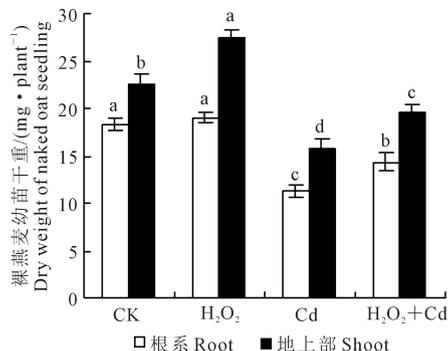
## 1.4 数据分析

采用 SPSS 20.0 方差分析和 Duncan 法多重比较 (P < 0.05), 结果以平均值 ± 标准差表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 外源 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对 Cd 胁迫下裸燕麦幼苗生长量的影响

从图 1 可见, 与 CK 相比, 单施 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理对裸燕麦幼苗根系干重无显著影响, 但显著提高了裸燕麦



注: 图中不同字母表明同一组织不同处理间差异显著 (P < 0.05)。

Note: Different letters indicate the significant differences among treatments at 0.05 levels for the same tissue.

图 1 外源 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对 Cd 胁迫裸燕麦幼苗干重的影响

Fig.1 Effect of exogenous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on dry weight of naked oat seedlings under Cd stress

麦幼苗地上部干重。Cd 处理显著降低了裸燕麦幼苗根系和地上部干重,分别比 CK 下降了 33.2% 和 32.0%。 $H_2O_2$ +Cd 处理的幼苗根系和地上部干重分别比 Cd 处理提高了 18.5% 和 26.9%, 差异显著。

## 2.2 外源 $H_2O_2$ 对 Cd 胁迫下裸燕麦幼苗叶片叶黄素循环组分和脱环氧化状态的影响

从表 1 可知,与 CK 相比,单独  $H_2O_2$  处理显著降低了裸燕麦幼苗叶片中紫黄质(V)的含量,而环氧玉米黄质(A)和总叶黄素(V+A+Z)含量差异不显著,玉米黄质(Z)含量和脱环氧化状态(A+Z)/(V+A+Z)显著提高。Cd 胁迫下的 V 和 (V+A+Z) 含量显著低于 CK,分别降低了 49.4% 和 9.9%,而 A、Z 含量和(A+Z)/(V+A+Z)显著高于 CK,分别提高 24.3%、21.6% 和 35.8%。与 Cd 胁迫处理相比,外源  $H_2O_2$ +Cd 处理显著提高了 V 含量,增幅为 23.8%,却显著降低了 A、Z、(V+A+Z) 含量和(A+Z)/(V+A+Z),降幅分别为 37.8%、7.5%、5.1% 和 11.2%。

## 2.3 外源 $H_2O_2$ 对 Cd 胁迫下裸燕麦幼苗叶片叶绿素荧光参数的影响

从表 2 可见,单独  $H_2O_2$  处理的裸燕麦幼苗叶片 PS II 最大光化学效率( $F_v/F_m$ )、实际光化学效率( $\Phi_{PSII}$ )、光化学猝灭系数(qP)、非光化学猝灭系数(NPQ)、调节性能量耗散 Y(NPQ) 和非调节性能量耗散 Y(NO) 均与 CK 无显著差异。与 CK 相比,Cd 胁迫显著降低了  $F_v/F_m$ 、 $\Phi_{PSII}$  和 qP,降幅分别为 21.1%、70.8% 和 54.7%,NPQ、Y(NPQ) 和 Y(NO) 分别显著提高了 72.3%、70.6% 和 24.7%。与 Cd 处理相比, $H_2O_2$ +Cd 处理显著提高了  $F_v/F_m$ 、 $\Phi_{PSII}$ 、qP,增幅分别为 15.7%、98.6% 和 61.6%,而 NPQ、Y(NPQ)、Y

(NO) 明显降低,降幅分别为 7.9%、13.9% 和 12.2%。

## 2.4 外源 $H_2O_2$ 对 Cd 胁迫下裸燕麦幼苗叶片两光系统间激发能分配的影响

如表 3 所示,单独  $H_2O_2$  处理的裸燕麦幼苗叶片 PS I 激发能分配系数( $\alpha$ )、PS II 激发能分配系数( $\beta$ ) 和两光系统间激发能分配的不平衡系数( $\beta/\alpha - 1$ ) 均与 CK 无显著差异。与 CK 相比,Cd 胁迫显著降低了  $\alpha$ ,提高了  $\beta$  和  $\beta/\alpha - 1$ 。 $H_2O_2$ +Cd 处理的  $\alpha$  比单独 Cd 处理提高了 40.9%,而  $\beta$  和 ( $\beta/\alpha - 1$ ) 分别下降了 12.7% 和 55.2%。

## 2.5 外源 $H_2O_2$ 对 Cd 胁迫下裸燕麦幼苗叶片 PS II 吸收光能分配的影响

从表 4 可见,单独  $H_2O_2$  处理的裸燕麦幼苗叶片光化学反应份额(P)、天线热耗散份额(D) 和非光化学反应耗散的份额( $E_x$ ) 与 CK 无显著差异。Cd 胁迫下 P 较 CK 显著降低了 70.8%,D 和  $E_x$  分别显著升高了 83.0% 和 40.7%。与 Cd 处理相比, $H_2O_2$ +Cd 处理的 P 显著提高了 98.6%,而 D 和  $E_x$  分别显著降低了 19.1% 和 10.6%。

## 2.6 外源 $H_2O_2$ 对 Cd 胁迫下裸燕麦幼苗 Cd 吸收积累和转运率的影响

由表 5 可知,与 CK 相比,单独  $H_2O_2$  处理对裸燕麦幼苗根系和地上部 Cd 含量、Cd 积累量和 Cd 转运率均没有显著影响。Cd 胁迫显著提高了根系和地上部 Cd 含量、Cd 积累量及转运率,其中根系 Cd 含量和 Cd 积累量均大于地上部。与 Cd 处理比较, $H_2O_2$ +Cd 处理显著提高了根系 Cd 含量,而对地上部 Cd 含量无显著影响;根系和地上部 Cd 积累量显著提高,而 Cd 转运率则显著下降。

表 1 外源  $H_2O_2$  对 Cd 胁迫下裸燕麦幼苗叶片叶黄素循环组分和脱环氧化状态的影响

Table 1 Effect of exogenous  $H_2O_2$  on xanthophyll cycle components and de-epoxidation state of xanthophyll cycle in leaves of naked oat seedlings under Cd stress

处理 Treatment	紫黄质 V Violaxanthin /(mmol · mol <sup>-1</sup> )	环氧玉米黄质 A Antheraxanthin /(mmol · mol <sup>-1</sup> )	玉米黄质 Z Zeaxanthin /(mmol · mol <sup>-1</sup> )	总叶黄素 Total xanthophyll /(mmol · mol <sup>-1</sup> )	脱环氧化状态 De-epoxidation state (A+Z)/(V+A+Z)
CK	34.45±0.21a	12.33±0.42b	33.53±0.31c	80.50±0.82a	0.570±0.002d
$H_2O_2$	30.91±1.37b	12.47±1.22b	36.50±0.60b	79.40±1.51a	0.617±0.011c
Cd	17.42±0.71d	15.33±1.12a	40.77±0.91a	72.53±1.11b	0.774±0.006a
$H_2O_2$ +Cd	21.57±0.85c	9.53±0.93c	37.70±1.20b	68.80±1.42c	0.687±0.007b

注:同列不同字母表明处理间差异显著( $P < 0.05$ ),下同。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference between treatments at  $P < 0.05$ . The same below.

表 2 外源  $H_2O_2$  对 Cd 胁迫下裸燕麦幼苗叶片叶绿素荧光参数的影响

Table 2 Effect of exogenous  $H_2O_2$  on chlorophyll fluorescence parameters in leaves of naked oat seedlings under Cd stress

处理 Treatment	最大光化学效率 $F_v/F_m$	实际光化学效率 $\Phi_{PSII}$	光化学猝灭系数 qP	非光化学猝灭 NPQ	调节性能量耗散 Y(NPQ)	非调节性能量耗散 Y(NO)
CK	0.814±0.001a	0.480±0.008a	0.685±0.006a	0.905±0.001c	0.316±0.007c	0.275±0.001c
$H_2O_2$	0.816±0.003a	0.476±0.004a	0.684±0.011a	0.902±0.014c	0.321±0.002c	0.274±0.008c
Cd	0.642±0.002c	0.140±0.004c	0.310±0.006c	1.559±0.004a	0.539±0.002a	0.343±0.002a
$H_2O_2$ +Cd	0.743±0.001b	0.278±0.005b	0.501±0.008b	1.436±0.007b	0.464±0.004b	0.301±0.001b

表 3 外源  $H_2O_2$  对 Cd 胁迫下裸燕麦幼苗叶片两光系统间激发能分配的影响Table 3 Effect of exogenous  $H_2O_2$  on distribution of excitation energy between two photosystems in leaves of naked oat seedlings under Cd stress

处理 Treatment	PS I 激发能分配系数 PS I excitation energy distribution coefficient, $\alpha$	PS II 激发能分配系数 PS II excitation energy distribution coefficient, $\beta$	光系统间激发能分配不平衡偏离系数 Unbalanced distribution of coefficient deviation on excitation energy between two photosystems, $\beta/\alpha-1$
CK	0.407±0.003a	0.593±0.003c	0.460±0.014c
$H_2O_2$	0.406±0.004a	0.594±0.004c	0.463±0.022c
Cd	0.237±0.003c	0.763±0.003a	2.223±0.060a
$H_2O_2$ +Cd	0.334±0.004b	0.666±0.004b	0.997±0.030b

表 4 外源  $H_2O_2$  对 Cd 胁迫下裸燕麦幼苗叶片 PS II 吸收光能分配的影响Table 4 Effect of exogenous  $H_2O_2$  on distribution of PS II luminous energy in leaves of naked oat seedlings under Cd stress

处理 Treatment	光化学反应份额 Quotient of absorbed luminous energy used for photochemical action, $P$	天线热耗散份额 Quotient of absorbed luminous energy used for antenna heat dissipation, $D$	非光化学反应耗散份额 Quotient of absorbed luminous energy used for non-photochemical dissipation, $E_x$
CK	0.480±0.008a	0.300±0.004c	0.221±0.003c
$H_2O_2$	0.476±0.004a	0.304±0.005c	0.220±0.009c
Cd	0.140±0.004c	0.549±0.005a	0.311±0.004a
$H_2O_2$ +Cd	0.278±0.005b	0.444±0.003b	0.278±0.004b

表 5 外源  $H_2O_2$  对 Cd 胁迫下裸燕麦幼苗 Cd 吸收积累和转运率的影响Table 5 Effect of exogenous  $H_2O_2$  on Cd uptake, accumulation and translocation rate in naked oat seedlings under Cd stress

处理 Treatment	Cd 含量 Cd content/( $mg \cdot kg^{-1}$ )		Cd 积累量 Cd accumulation/( $\mu g \cdot plant^{-1}$ )		转运率/% Translocation rate
	根系 Root	地上部 Shoot	根系 Root	地上部 Shoot	
CK	5.64±0.73c	0.44±0.09b	0.103±0.009c	0.010±0.003c	7.76±0.71c
$H_2O_2$	6.59±0.67c	0.58±0.10b	0.126±0.017c	0.016±0.002c	8.96±1.95c
Cd	162.79±4.69b	78.86±2.98a	1.842±0.111b	1.234±0.053b	48.44±0.69a
$H_2O_2$ +Cd	247.43±4.11a	78.62±2.64a	3.543±0.222a	1.545±0.011a	31.79±1.58b

### 3 讨论

生长量是植物对 Cd 胁迫耐性的直接反映<sup>[3]</sup>。本试验表明,用  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2$  喷施可缓解  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} Cd^{2+}$  胁迫对裸燕麦幼苗生长的抑制(图 1)。这与 Hu 等<sup>[14]</sup>以水稻为材料的研究结果一致。说明外源  $H_2O_2$  能够增强裸燕麦对 Cd 胁迫的耐性。

光合作用是植物生长发育所需物质和能量的重要来源,也是对 Cd 胁迫最为敏感的生理过程<sup>[4-5]</sup>。叶绿素荧光参数反映植物对光能吸收、传递、耗散和分配的特性。其中  $F_v/F_m$  代表 PS II 原初光化学效率; $\Phi_{PSII}$  反映 PS II 实际光化学效率,其值大小与光系统反应中心激发能捕获效率和开放程度有关<sup>[25]</sup>。张玲等<sup>[18]</sup>研究表明,  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} Cd$  胁迫下根施  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2$  对裸燕麦幼苗的  $F_v/F_m$  和  $\Phi_{PSII}$  没有影响。本研究表明,喷施  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2$  对正常条件下的裸燕麦幼苗叶片  $F_v/F_m$  和  $\Phi_{PSII}$  影响不大,但缓解了  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} Cd^{2+}$  胁迫诱导的  $F_v/F_m$  和  $\Phi_{PSII}$  的下降幅度(表 3)。表明喷施  $H_2O_2$  能够减轻 Cd 胁迫对裸燕麦叶片 PS II 反应中心的光抑制程度,从而提高 PS II 电子传递速率和光

能转换效率。这与外源  $H_2O_2$  可提高干旱胁迫下欧薄荷<sup>[12]</sup>和镍胁迫下芥菜<sup>[16]</sup>光合活性的研究结果一致。

$qP$  是天线色素吸收的光能用于光化学反应的份额<sup>[23]</sup>,而 NPQ 是天线色素吸收的光能以热能耗散的部分<sup>[25]</sup>。NPQ 主要包括调节性能量耗散  $Y(NPQ)$  和非调节性能量耗散  $Y(NO)$ ,  $Y(NPQ)$  与高能态猝灭有关,而  $Y(NO)$  与光抑制有关<sup>[27]</sup>。本试验中, Cd 胁迫下裸燕麦幼苗  $qP$  下降的同时, NPQ 和  $Y(NPQ)$  提高(表 2)。说明 Cd 胁迫降低 PS II 光化学效率的同时,启动了过剩激发能耗散机制以免光合机构遭受进一步破坏。但是 Cd 胁迫下光化学活性下降引起的过剩光能最终还是造成了光合机构的光抑制破坏,表现为  $Y(NO)$  的上升(表 2)。叶黄素循环是植物叶绿体中类囊体膜上的叶黄素组分  $V$ 、 $A$  和  $Z$  相互转化的现象,而 NPQ 的诱导与依赖跨类囊体膜质子梯度的叶黄素循环密切相关<sup>[21]</sup>。Cd 胁迫下裸燕麦幼苗 NPQ 增加(表 2)的同时,叶黄素循环组分  $V$  下降,而  $A$ 、 $Z$  和脱环氧化状态  $(A+Z)/(V+A+Z)$  提高(表 1)。表明 Cd 胁迫下依赖叶黄素循环中  $V$  向  $A$  和  $Z$  转化的热耗散机制可能是

裸燕麦耗散过剩光能的重要途径。田武英等<sup>[28]</sup>研究发现,外源  $H_2O_2$  处理能够提高菜豆 (*Phaseolus vulgaris*) 叶片的  $qP$  及  $\Phi_{PSII}$ , 而降低 NPQ 和  $Y$  (NPQ)。本研究结果表明,喷施  $5\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2$  降低了正常条件下裸燕麦幼苗叶片的  $V$  含量,提高了  $Z$  含量和  $(A+Z)/(V+A+Z)$  (表 1), 而对  $A$  含量及  $qP$ 、NPQ、 $Y$ (NPQ) 和  $Y$ (NO) (表 2) 没有影响,但缓解了  $50\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} Cd^{2+}$  胁迫诱导的  $V$  和  $qP$  的下降程度,降低了 Cd 胁迫下的  $A$ 、 $Z$ 、 $(A+Z)/(V+A+Z)$ 、NPQ、 $Y$ (NPQ) 和  $Y$ (NO) (表 1、2)。说明外源  $H_2O_2$  主要是通过提高 PS II 的光化学效率而非增强依赖叶黄素循环的热耗散来降低 Cd 胁迫对光合机构的光抑制破坏。其原因之一可能与  $H_2O_2$  能够提高抗氧化防御能力,从而减轻 Cd 引发的氧化伤害<sup>[15,18]</sup> 和叶绿体超微结构得到保护<sup>[11]</sup> 等有关。

Cd 胁迫既阻碍光合电子传递,又使 PS II 供体侧、受体侧和反应中心遭受伤害<sup>[5]</sup>;保持 PS I 和 PS II 激发能的均衡分配是光合电子高效运转和协调传递的保证<sup>[29]</sup>。本试验中,Cd 胁迫导致裸燕麦幼苗分配给 PS I 的激发能  $\alpha$  减少,而分配给 PS II 的激发能  $\beta$  增加,致使表征两光系统间激发能分配不平衡的偏离系数  $\beta/\alpha-1$  增大(表 3)。说明 Cd 胁迫使激发能在两个光系统间的分配失衡。PS II 激发能的增加会诱导反应中心的失活和结构的破坏,从而阻止光合电子的传递,导致光合作用的下降<sup>[30]</sup>。本试验中,用  $5\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2$  喷施处理降低了  $50\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} Cd^{2+}$  胁迫诱导的裸燕麦幼苗叶片  $\beta$  和  $\beta/\alpha-1$  的增幅,提高了  $\alpha$  (表 3)。表明外源  $H_2O_2$  能够通过调节双光系统间激发能的均衡分配促进光合电子的协调传递。而外源  $H_2O_2$  对双光系统间激发能均衡分配的调节又是其提高 Cd 胁迫裸燕麦幼苗吸收光能用于光化学反应份额  $P$  (表 4) 的重要因素, $P$  值的升高将有利于 PS II 过剩光能的减少,进而降低天线热耗散的激发能份额  $D$ 。在 Cd 胁迫导致 PS II 反应中心失活甚至完全关闭的情况下,已传递到反应中心的激发能因不能用于光化学反应只能通过增加反应中心耗散份额  $E_x$ , 从而诱导活性氧的大量产生并损伤叶绿素结构蛋白,造成  $\Phi_{PSII}$  的下降<sup>[5]</sup>。喷施  $H_2O_2$  对 Cd 胁迫诱导的  $E_x$  升高显著的缓解作用(表 4)表明,外源  $H_2O_2$  可以通过降低 PS II 非光化学反应耗散来缓解 Cd 胁迫对裸燕麦叶片反应中心的损伤。这与外源  $H_2O_2$  可缓解干旱对黄瓜叶绿体超微结构破坏的研究结果类似<sup>[11]</sup>。

植物根部吸收的 Cd 随蒸腾作用向地上部发生转运,为降低 Cd 转运对生长发育和细胞代谢产生

的不利影响,植物具有一系列抵御 Cd 毒害的机制。如通过腺体或质膜将 Cd 排出体外,或将 Cd 区室于液泡中钝化<sup>[31]</sup>;或通过抑制 Cd 转运体合成来限制 Cd 的转运<sup>[3]</sup>;或与金属硫蛋白(MTs)和植物螯合肽(PCs)等螯合将有毒  $Cd^{2+}$  转变为无毒 Cd 形态<sup>[32]</sup>。Arasimowicz-Jelonek 等<sup>[33]</sup> 研究表明,NO 信号能够缓解 Cd 胁迫对植物的毒害,但促进植物体 Cd 的积累。本研究结果表明, $H_2O_2$  对 Cd 胁迫下裸燕麦幼苗地上部 Cd 含量没有影响,却提高了根系 Cd 含量及根系和地上部 Cd 积累量,降低了 Cd 由根系向地上部的转运率(表 5)。说明外源  $H_2O_2$  能够增强植物根系对 Cd 的滞留和转运限制作用,这可能也是其能够降低 Cd 胁迫对裸燕麦生长和光化学活性抑制的重要因素。其原因可能与  $H_2O_2$  能够促进根系细胞壁果胶、半纤维素、纤维素和木质素合成,从而使 Cd 在根系细胞壁沉积有关<sup>[34]</sup>;也可能是  $H_2O_2$  能够提高根系非蛋白巯基(NPT)、PCs 和谷胱甘肽转硫酶(GST)活性<sup>[14]</sup>,使游离态  $Cd^{2+}$  形成络合物钝化而解毒所致。植物对 Cd 胁迫的防御机制是包括一系列复杂信号转导的生理生化过程, $H_2O_2$  增强植物 Cd 耐性的诸多机制尚需进一步深入探究。

## 4 结 论

喷施  $5\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2$  可缓解  $50\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} Cd^{2+}$  胁迫对裸燕麦幼苗生长的抑制,提高 Cd 胁迫下裸燕麦叶片 PS II 的  $F_v/F_m$ 、 $\Phi_{PSII}$ 、 $qP$  及光系统 I 激发能分配系数( $\alpha$ )和吸收光能光化学反应份额( $P$ ),降低叶黄素循环脱环氧化状态  $(A+Z)/(V+A+Z)$  及 NPQ、 $Y$ (NPQ)、 $Y$ (NO)、PS II 激发能分配系数( $\beta$ )、双光系统间激发能分配不平衡偏离系数( $\beta/\alpha-1$ )、吸收光能天线热耗散份额( $D$ )和 PS II 反应中心非光化学耗散份额( $E_x$ )。同时,喷施  $H_2O_2$  还提高了 Cd 胁迫下裸燕麦根系 Cd 含量及根系和地上部 Cd 积累量,降低了根系向地上部 Cd 的转运率。表明外源  $H_2O_2$  可通过提高 PS II 光化学效率及增强根系 Cd 滞留和限制 Cd 由根系向地上部转运,增强裸燕麦耐镉性。

## 参 考 文 献:

- [1] Brigitta B, Giuseppe L, Ádám S, et al. Changes induced by cadmium stress and iron deficiency in the composition and organization of thylakoid complexes in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) [J]. Environmental and Experimental Botany, 2014, 101(5):1-11.
- [2] 郑爱珍. 镉胁迫对芥蓝根系质膜过氧化及 ATPase 活性的影响[J]. 生态学报, 2012, 32(2): 483-488.
- [3] 王学华,戴力. 作物根系镉滞留作用及其生理生化机制[J]. 中国农

- 业科学, 2016, 49(22): 4323-4341.
- [4] 李耕, 张善平, 刘鹏, 等. 镉对玉米叶片光系统活性的影响[J]. 中国农业科学, 2011, 44(15): 3118-3126.
- [5] 王利, 杨洪强, 范伟国, 等. 平邑甜茶叶片光合速率及叶绿素荧光参数对氯化镉处理的响应[J]. 中国农业科学, 2010, 43(15): 3176-3183.
- [6] Stoyanova Z, Simova Stoilova L, DemirevskaKepova K. Effect of Cd toxicity on growth parameters, photosynthetic pigments, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation and oxidative damage to proteins in young barley plants[J]. Environmental Pollution, 2004, 170(8): 32-38.
- [7] Ren C G, Li X. Effect of exogenous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on photosynthetic characteristics in PEPC transgenic rice[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2010, 25(4): 130-135.
- [8] 王芳妹, 蔡妙珍, 张淑娜, 等. NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导大豆根尖和边缘细胞耐铝反应的作用[J]. 植物生态学报, 2011, 35(9): 981-989.
- [9] 李希东, 侯丽霞, 刘新, 等. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 与葡萄 VvIPK2 基因表达及其低温胁迫响应的关系[J]. 园艺学报, 2011, 38(6): 1052-1062.
- [10] André Dias de Azevedo Neto, José Tarquinio Prisco, Joaquim Enéas-Filho, et al. Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt-stress acclimation in maize plants[J]. Journal of Plant Physiology, 2005, 162(10): 0-1122.
- [11] 刘忠静, 郭廷奎, 林少航, 等. 外源过氧化氢对干旱胁迫下温室黄瓜叶绿体超微结构和抗氧化酶的影响[J]. 园艺学报, 2009, 36(8): 1140-1146.
- [12] Nobakht P, Ebadi A, Parmoon G, et al. Effect H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on fluorescence pigments photosynthetic, dry weight and some secondary metabolic Peppermint (*Mentha piperita* L.) in water stress condition [C]// Second National Congress of Agricultural Engineering and Sciences to Develop and Promote Iranian Soil. 2016.
- [13] 王琳, 陈奇, 武孔焕, 等. 过氧化氢预处理增强敏感型黑豆抗铝能力的生理机制[J]. 西北植物学报, 2013, 33(2): 336-342.
- [14] 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.
- [15] 李源, 李金娟, 魏小红. 镉胁迫下蚕豆幼苗抗氧化能力对外源 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的响应[J]. 草业学报, 2009, 18(6): 186-191.
- [16] Khan M I R, Khan N A, Masood A, et al. Hydrogen peroxide alleviates nickel-inhibited photosynthetic responses through increase in use-efficiency of nitrogen and sulfur, and glutathione production in mustard[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: Article 44. Doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00044>.
- [17] Drzikova B, Dongowski G, Gebhardt E. Dietary fibre-rich oat-based products affect serum lipids, microbiota, formation of short-chain fatty acids and steroids in rats[J]. British Journal of Nutrition, 2005, 94(6): 1012-1025.
- [18] 张玲, 金丹丹, 陈红星, 等. 水杨酸或过氧化氢减轻镉对裸燕麦毒性的研究[J]. 沈阳师范大学学报(自然科学版), 2012, 30(2): 282-288.
- [19] 王艳, 李建龙, 姜涛, 等. SA、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 6-BA 预处理对沟叶结缕草耐寒性的影响[J]. 草业学报, 2010, 19(2): 76-81.
- [20] 马纯艳, 徐昕, 郝林, 等. 小白菜幼苗对二氧化氮胁迫的应答及过氧化氢的调节[J]. 中国农业科学, 2007, 40(11): 2556-2562.
- [21] Cheng L L. Xanthophyll cycle pool size and composition in relation to the nitrogen content of apple leaves[J]. Journal of Experimental Botany, 2003, 54(381): 385-393.
- [22] Schreiber U, Schliwa U, Bilger W. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer[J]. Photosynthesis Research, 1986, 10(1/2): 51-62.
- [23] Genty B, Briantais J M, Baker N R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence[J]. Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects, 1989, 990(1): 87-92.
- [24] Braun G, Malkin S. Regulation of the imbalance in light excitation between photosystem II and photosystem I by cations and by the energized state of the thylakoid membrane[J]. Biochimica et Biophysica Acta- Bioenergetics, 1990, 1017(1): 79-90.
- [25] Demmig-Adams B, Adams III W W, Barker D H, et al. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation[J]. Physiologia Plantarum, 1996, 98(2): 253-264.
- [26] Zhang S, Lin H, Deng L, et al. Cadmium tolerance and accumulation characteristics of *Siegesbeckia orientalis* L.[J]. Ecological Engineering, 2013, 51: 133-139.
- [27] Gilmore A M. Mechanistic aspects of xanthophyll cycle-dependent photoprotection in higher plant chloroplasts and leaves [J]. Physiologia Plantarum, 1997, 99(1): 197-209.
- [28] 田武英, 焦青松, 石岱龙, 等. 胞外 ATP 通过 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对菜豆叶片光系统II光化学特性的系统性影响[J]. 植物研究, 2016, 36(3): 368-373.
- [29] Rochaix J D. Regulation and dynamics of the light-harvesting system [J]. Annual Review of Plant Biology, 2014, 65(1): 287-309.
- [30] Cui Z H, Wang Y P, Zhang A, et al. Regulation of reversible dissociation of LHCII from PSII by phosphorylation in plants[J]. American Journal of Plant Sciences, 2014, 5(2): 42441-42449.
- [31] Sanità di Toppi L, Gabbriellini R. Response to cadmium in higher plants[J]. Environmental and Experimental Botany, 1999, 41(2): 105-130.
- [32] 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.
- [33] Arasimowicz-Jelonek M, Floryszak-Wieczorek J, Gwozdz E A. The message of nitric oxide in cadmium challenged plants[J]. Plant Science, 2011, 181(5): 612-620.
- [34] Pnueli L, Liang H J, Rozenberg M, et al. Growth suppression, altered stomatal responses, and augmented induction of heat shock proteins in cytosolic ascorbate peroxidase (Apx1)-deficient *Arabidopsis* plants[J]. The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology, 2003, 34(2): 187-203.