

镉胁迫对烤烟叶片抗氧化系统的影响

袁祖丽, 吴中红, 刘秀敏

(河南农业大学 生命科学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 通过水培试验, 研究了不同浓度镉胁迫(0 mg/L, 5 mg/L, 25 mg/L, 50 mg/L)对烤烟叶片抗氧化系统的影响。结果表明: 25 mg/L 镉胁迫下, 过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)的活性最大; 5 mg/L 时, 过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)及谷胱甘肽还原酶(GR)活性最大; 随着镉浓度增大, 烤烟叶片抗氧化酶活性逐渐降低; 丙二醛(MDA)含量随镉浓度增大而逐渐增加。

关键词: 烤烟; 镉胁迫; 活性氧; 抗氧化酶

中图分类号: S572 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2008)07-0043-04

Effects of Cadmium Stress on Activity of Antioxidant Enzymes in Flue-cured Tobacco Leaves

YUAN Zu-li, WU Zhong-hong, LIU Xiu-min

(College of Life Sciences, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The effects of cadmium stress on active oxygen-scavenging system in flue-cured tobacco leaves were studied by hydroponics. The results showed that the activities of peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD) reach maxima when the concentration of the cadmium was at 25mg/L; The activities of catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) and glutathione reductase (GR) reach maxima when the concentration of the cadmium was at 5mg/L; Antioxidant enzymes activity considerably increased at first, then declined; but malondialdehyde (MDA) gradually enhanced with the concentrations of the cadmium increasing.

Key words: Cadmium stress; Flue-cured tobacco; Activated oxygen; Anti-oxidative enzymes

镉(cadmium)是一种植物非必需的重金属元素, 很容易被根吸收且部分被运输到地上部^[1,2]。镉污染可以对植物生长发育造成一系列伤害。有研究表明, 重金属胁迫影响植物生长发育的重要原因之一是胁迫条件下植物体内超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)和过氧化氢(H_2O_2)等活性氧(AOS)的产生和清除平衡被打破后大量积累, 破坏蛋白质、核酸和细胞膜等结构, 干扰细胞的正常代谢, 使植物的生长和发育受阻^[3]。正常情况下植物体内的活性氧和抗氧化系统之间存在动态平衡, 使活性氧保持在较低水平。植物在逆境胁迫下, 大量活性氧产生, 为了避免氧化伤

害, 植物体内有一套由抗氧化酶包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和谷胱甘肽还原酶(GR)等组成的高效抗氧化系统来抵御活性氧的攻击。SOD可清除超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)并能将其转化为活性较弱的 H_2O_2 , 而CAT, APX和GR清除 H_2O_2 , 将其还原为水^[4]。袁祖丽^[5]等采用水培试验研究了镉对烟草叶片超微结构及部分元素含量的影响, 严重玲^[6]采用盆栽试验研究了烟草叶片膜保护酶系统SOD, POD, CAT对土壤中镉胁迫的响应, 高家合^[7]通过营养液水培试验, 研究了不同浓度镉对烤烟抗氧化酶系统SOD,

收稿日期: 2008-03-25

基金项目: 河南省教育厅自然基金项目(2006180012)

作者简介: 袁祖丽(1963-), 女, 河南南阳人, 副教授, 博士, 主要从事植物资源及污染生态方面的研究。

POD 及 MDA 含量的影响, 虽然不少研究者从不同侧面研究了镉胁迫对烤烟抗氧化能力的影响, 但仍有许多不完善的方面, 没有涉及 CAT, APX 和 GR 对活性氧的清除。因此, 本试验以烤烟品种云烟 85 为材料对抗氧化酶系统做了更全面的研究, 探讨不同浓度镉胁迫对烤烟叶片抗氧化酶活性及膜脂过氧化水平的影响, 旨在为深入了解重金属毒害烟草的机理及烟草抗重金属胁迫机制提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验材料为烤烟品种云烟 85。营养液的配制按 Hoagland 配方配制。

1.2 试验设计

试验共设 4 个处理: 在营养液中加入 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ 配置成每升营养液中纯镉浓度为 0mg(对照), 5mg, 25mg, 50mg 的溶液, 每个处理重复 3 次。

1.3 试验方法

烟草种子经 1%高锰酸钾消毒 15 min 后播种于漂浮盘(草炭:珍珠岩:蛭石=3:1:1)中, 放置于光照 16h/d、光强 4000lx, 温度 26℃/20℃(昼/夜)、相对湿度 70%~80%的组培室中, 漂浮盘每天定时通气 3h, 每隔 5d 换一次新营养液。当幼苗长至 6 片叶时, 取长势一致的幼苗, 用流水仔细漂去根上泥土, 再用去离子水冲洗 3 次, 移栽至营养液中, 移栽后每天定时用加氧泵通气 3h, 培养 15d 后移栽至按试验设计加入 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ 的营养液中, 处理 3d 取样。

1.4 测定项目 与方法

选取长势一致植株, 取其相同叶位(自下而上第 3 片)中部叶片, 除去叶脉。SOD, MDA, CAT 按邹琦等的方法测定^[8]; POD 按照萧浪涛等的方法测定^[9]; GR 和 APX 的测定按照宋松泉^[10] 等的方法测定。

1.5 数据处理

试验数据用 DPS v3.01 专业版软件中试验设计进行单因素统计分析。

2 结果与分析

2.1 镉胁迫对烤烟叶片 SOD 活性的影响

由图 1 可知, 随着镉胁迫浓度增大, 烤烟叶片 SOD 活性呈现缓慢先升后降趋势。当镉浓度为 5mg/L 时, SOD 活性比对照增加 4.6%。其中镉浓度为 25mg/L 时, SOD 活性最大, 较对照增加 6.8%;当镉浓度> 25mg/L 时, SOD 活性开始下降;当镉浓度高至 50mg/L 时, SOD 活性比对照降低 4.4%。各处理与对照间差异均不显著。

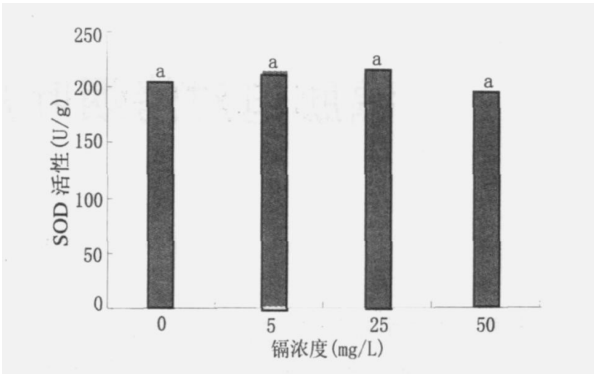


图 1 不同浓度镉胁迫对烤烟叶片 SOD 活性的影响

2.2 镉胁迫对烤烟叶片 POD 活性的影响

试验结果表明(图 2), 烤烟叶片在不同浓度镉胁迫下, POD 活性呈现先升高后下降趋势。当镉浓度为 5mg/L 时, POD 活性比对照增加 62%, 差异显著;当镉浓度为 25mg/L 时, POD 活性最大, 其 POD 活性显著高于另外 3 个处理;当镉浓度为 50mg/L 时, POD 活性显著高于对照 61%。5mg/L 和 50mg/L 2 个处理间差异不显著。

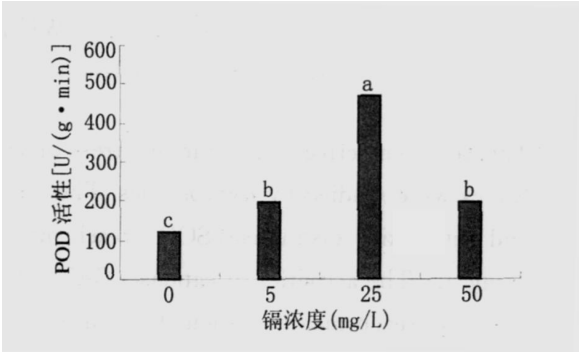


图 2 不同浓度镉胁迫对烤烟叶片 POD 活性的影响

2.3 镉胁迫对烤烟叶片 CAT 活性的影响

由图 3 可以看出, 随着镉浓度的增大 CAT 活性先升后降。其中镉浓度为 5mg/L 时, CAT 活性最大, 较对照增加 16.8%, 差异显著;当镉浓度达到 25mg/L 时, CAT 的活性有所下降, 但略高于对照 1.8%, 差异不显著;当镉浓度为 50mg/L 时, CAT 活性显著下降, 比对照低 22.2%。

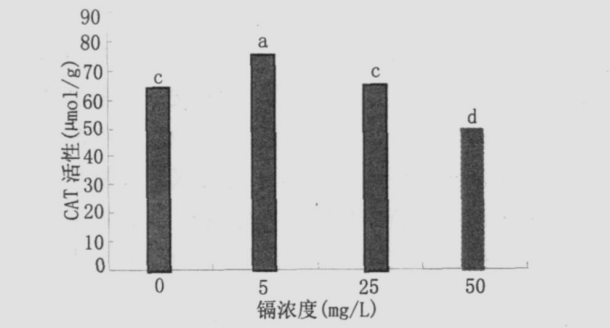


图 3 不同浓度镉胁迫对烤烟叶片 CAT 活性的影响

2.4 镉胁迫对烤烟叶片 APX 活性的影响

由图 4 可知, 烤烟叶片在不同浓度镉胁迫下,

APX 活性呈现缓慢先升高后下降的趋势。在镉浓度为 5mg/L 时, APX 活性最大, 显著高于对照 10.8%; 当镉浓度为 25mg/L 时, APX 活性较对照增加 9.1%, 差异显著; 当镉浓度为 50mg/L 时, APX 活性比 25mg/L 下降 8.5%, 但仍比对照增加 0.5%, 和对照差异不显著。

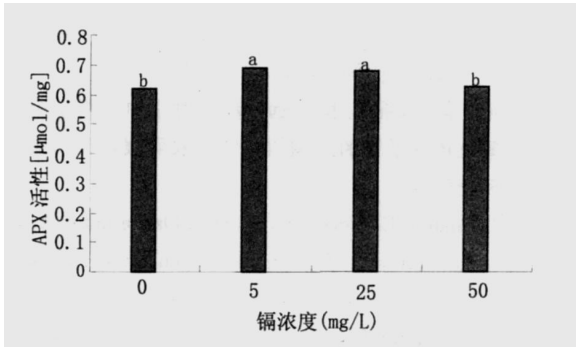


图 4 不同浓度镉胁迫对烤烟叶片 APX 活性的影响

2.5 镉胁迫对烤烟叶片 GR 活性的影响

试验结果显示(图 5), 在不同浓度镉胁迫下, GR 活性先增加后减少。其中烤烟叶片在镉浓度为 5mg/L 时, GR 活性最大, 与对照相比差异显著, 比对照高 31.2%; 当镉浓度 > 5mg/L 时, GR 活性呈逐渐下降趋势; 但在镉浓度为 25mg/L 时, GR 活性仍显著高于对照 9%; 在镉浓度为 50mg/L 时, GR 活性略低于对照 0.3%, 两者间差异不显著。

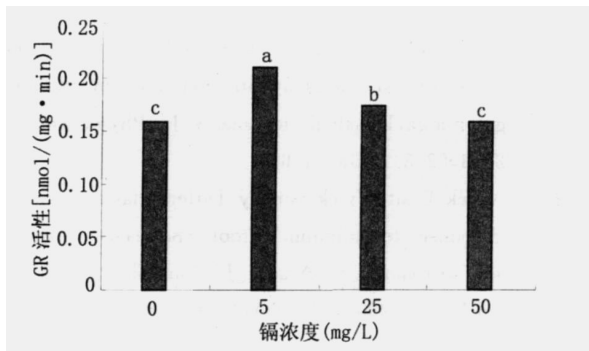


图 5 不同浓度镉胁迫对烤烟叶片 GR 活性的影响

2.6 镉胁迫对烤烟叶片 MDA 含量的影响

由图 6 可知, 随着镉浓度的增大, 烤烟叶片

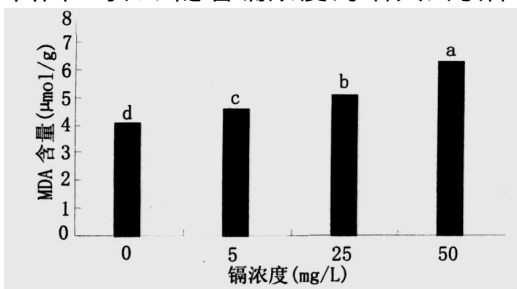


图 6 不同浓度镉胁迫对烤烟叶片 MDA 含量的影响

MDA 含量逐渐升高。当镉浓度达到 50mg/L 时, MDA 含量最大, 比对照增加 57%; 当镉浓度为 5mg/L 时 MDA 含量比对照升高 13.5%; 当镉浓度为 25mg/L 时, MDA 含量比对照增加 25%。各处理间差异均达显著水平。

3 结论与讨论

试验结果显示, 随着镉胁迫浓度增大, 烤烟叶片抗活性氧毒害的内源保护酶(SOD, POD, CAT)活性先升后降, 可能是低浓度镉胁迫下, 生物体内活性氧增多, 抗氧化酶活性也应急性的升高, 共同组成能够有效清除活性氧的抗氧化系统, 在一定程度上减轻了活性氧对膜的伤害; 随着镉浓度的增大, 活性氧增多, 超过了酶防御反应限度, 导致酶活性降低。这与薛泰麟等^[11]、林匡飞等^[12]、姚晓惠^[13]、孙光闻^[14]研究相一致。

APX 以抗坏血酸(ASA)为底物将 H_2O_2 还原为 H_2O 。Okmanen^[15]等在拟南芥中发现, ASA 含量不足时, APX 活性低, 因此高活性 APX 与高含量 ASA 一致。本试验中, APX 活性呈现先升后降的趋势, 可能与 ASA 作为反应底物的浓度有关, 低浓度镉胁迫下, ASA 具有还原和络合重金属的作用, 能清除植物体内受重金属胁迫产生的活性氧。但重金属浓度超过一定界限时, ASA 浓度下降, APX 活性降低。

抗坏血酸(ASA)—谷胱甘肽(GSH)循环系统是清除活性氧和自由基的重要途径。ASA—GSH 循环系统可直接清除活性氧或通过产生非酶抗氧化剂降低细胞内活性氧水平^[16], 抑制膜脂过氧化作用。GR 是 ASA—GSH 循环系统的一种关键酶, 它能把氧化型谷胱甘肽(GSSG)还原成还原型谷胱甘肽(GSH)。植物细胞在较高浓度 GSH 时可有效还原—S—S 键, 稳定—SH 族, 使膜蛋白结构稳定^[17], GSH 可以清除因重金属诱导产生的活性氧^[18], 也可作为合成植物螯合肽(phytochelatins, PCs)的原料^[19], 而 PCs 在解除重金属毒害过程中有重要作用。GR 在镉浓度较低时活性上升, 浓度高时活性下降。原因可能是低浓度镉与 GSH 相结合, 形成金属络合物, 降低游离镉离子含量, 提高 GR 活性, 而高浓度镉能破坏 GSH 的结构, 且 GSH 与镉的结合能力有限, 使 GSH 清除 $OH\cdot$ 的能力和 GR 活性下降。

本试验结果表明, 镉在 50mg/L 时, MDA 含量最高, 这可能是在低浓度镉胁迫下, 烤烟叶片可通过

提高 SOD, POD, CAT, GR, APX 活性, 以清除由于镉胁迫产生的活性氧, 但随着镉浓度增大, SOD, POD, CAT, GR, APX 活性随之下降, 高浓度镉产生的活性氧不能被及时清除, 进而启动膜脂过氧化连锁反应, 对质膜产生不可逆的过氧化伤害, 从而使 MDA 从膜上释放量增加, 这与 Vivek Dixit 等^[20]观点一致。

参考文献:

- [1] Salt D E, Prince R C, Pickering I J. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard[J]. *Plant Physiology*, 1995, 109(4): 1427—1433.
- [2] Gong J M, Lee D A, Schroeder J I. Long-distance root-to-shoot transport of phytochelatin and cadmium in *Arabidopsis*[J]. *Plant biology*, 2003, 100(17): 10118—10123.
- [3] Jonathan J Hart, Ross M Welch, Wendell A Norvell. Characterization of cadmium binding, uptake, and translocation in intact seedlings of bread and durum wheat cultivars[J]. *Plant Physiol*, 1998, 116(4): 1413—1420.
- [4] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance[J]. *Trends Plant Sci*, 2002, 7(9): 405—410.
- [5] 袁祖丽, 马新明, 韩锦峰. 镉污染对烟草叶片超微结构及部分元素含量的影响[J]. *生态学报*, 2005, 25(11): 2920—2926.
- [6] 严重玲, 林鹏, 王晓蓉. 烟草叶片膜保护酶系统对土壤 Hg, Cd, Pb 胁迫的响应[J]. *实验生物学报*, 2002, 35(3): 170—172.
- [7] 高家合, 王树会. 镉胁迫对烤烟生长及生理特性的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2006, 25(5): 1167—1170.
- [8] 邹琦. 植物生理生化实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [9] 萧浪涛, 王三根. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005.
- [10] 宋松泉, 程红焱, 龙春林. 种子生物学研究指南[M]. 北京: 科学出版社, 2005.
- [11] 薛泰麟, 侯少范, 谭见安, 等. 硒对高等植物抗氧化系统的影响[J]. *科学通报*, 1993, 38(3): 274—277.
- [12] 林匡飞, 徐小清, 金鑫, 等. 硒对水稻的生态毒理效应及临界指标研究[J]. *应用生态学报*, 2005, 16(4): 678—682.
- [13] 姚晓惠. 重金属镉污染对黄瓜生理生化特性的影响[J]. *河南农业科学*, 2007(10): 81—83.
- [14] 孙光闻, 朱祝军, 陈日远, 等. 镉对小白菜根细胞质膜氧化还原系统的影响[J]. *华北农学报*, 2007, 22(3): 65—67.
- [15] Okmanen E, Hoikio E, Sober J. Ozone-induced H₂O₂ accumulation in field-grown aspen birch is linked to foliar ultrastructure and peroxisomal activity [J]. *New Phytol*, 2004, 161(3): 791—799.
- [16] Noctor G, Foyer C H. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control[J]. *Alms Rev Plant Physiol Plant Mol Biology*, 1998, 49: 249—279.
- [17] 陈沁, 刘友良. 谷胱甘肽对盐胁迫大麦叶片活性氧清除系统的保护作用[J]. *作物学报*, 2000, 26(3): 365—371.
- [18] Schützendüble A, Nikolova P, Rudolf C. Cadmium and H₂O₂ induced oxidative stress in populus canescens roots[J]. *Plant Physiol Biochemistry*, 2002, 40: 577—584.
- [19] Tsuji N, Hirayanagi N, Iwabe O. Regulation of phytochelation synthesis by zinc and cadmium in marine green alga, *Dunaliella tertiolecta*[J]. *Phytochemistry*, 2003, 62(3): 453—459.
- [20] Vivek Dixit, Vivek Panday. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad) [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2001, 52(358): 1101—1109.