

# Pb<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> 胁迫对棉花保护酶及丙二醛含量的影响

郑世英, 张秀玲, 王丽燕, 商学芳  
(德州学院 生物系, 山东 德州 253023)

**摘要:** 分别用离子浓度为 0 mol/L (ck), 6 mol/L, 10 mol/L, 20 mol/L, 30 mol/L, 50 mol/L, 100 mol/L 的 Pb<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> 溶液处理经过珍珠岩栽培后又在 1/2 Hoagland 培养液进行培养的棉花幼苗, 14 d 后对其叶片的保护酶 SOD, POD 和 CAT 的活性以及 MDA 的含量进行测定。结果显示: 低浓度 Pb<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> 胁迫下, SOD, POD, CAT 活性及 MDA 含量均高于对照。当 Cd<sup>2+</sup> 浓度达到 30 mol/L 时, SOD, POD 及 CAT 活性最高, 随着 Cd<sup>2+</sup> 浓度继续升高, SOD, POD 及 CAT 活性随之降低。当 Pb<sup>2+</sup> 浓度达到 50 mol/L 时, SOD, POD 及 CAT 活性最高, 随着 Pb<sup>2+</sup> 浓度继续升高, SOD, POD 及 CAT 活性随之降低。MDA 含量随着 Pb<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> 浓度逐渐升高呈升高的趋势。棉花幼苗对 Pb<sup>2+</sup> 胁迫的耐受力大于对 Cd<sup>2+</sup> 胁迫的耐受力。

**关键词:** Pb<sup>2+</sup>; Cd<sup>2+</sup>; 棉花; 保护酶; 丙二醛

**中图分类号:** 562      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1004 - 3268(2007)08 - 0043 - 04

## Effects of Pb<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup> Stress on the Protective Enzymes Activity and MDA Contents of Cotton

ZHENG Shi ying, ZHANG Xiu ling, WANG Li yan, SHANG Xue fang  
(Department of Biology, Dezhou University, Dezhou 253023, China)

**Abstract:** The SOD, POD and CAT activity and MDA contents of cotton leaves were analyzed after treated with different concentrations of Pb<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup> solution [0 mol/L (ck), 6 mol/L, 10 mol/L, 20 mol/L, 30 mol/L, 50 mol/L, 100 mol/L]. The results showed that the Pb<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup> stress at lower concentration condition could raise the activities of SOD, POD and CAT and the contents of MDA. The SOD, POD and CAT activities in the 30 mol/L of Cd<sup>2+</sup> treatment reached to the highest, but declined as continually increasing the Cd<sup>2+</sup> concentration. For Pb<sup>2+</sup>, the highest activities of SOD, POD and CAT came from the 50 mol/L treatment. MDA contents were increasing as the increase of Pb<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup> concentrations. The tolerance of cotton seedlings to Pb<sup>2+</sup> was bigger than to Cd<sup>2+</sup>.

**Key words:** Pb<sup>2+</sup>; Cd<sup>2+</sup>; Cotton; Protective enzymes; MDA

由于工业生产的迅速发展以及农田污灌等人类活动, 重金属已成为土壤污染的一个重要方面。铅和镉是主要的重金属元素<sup>[1]</sup>。土壤中的铅污染主要来自含铅汽油的燃烧废气以颗粒物的形式排到大气中, 经过光化学反应, 生成氧化铅、碳酸铅等无机铅化合物沉积到土壤中<sup>[2]</sup>。土壤中的镉主要来源于使用

含镉的肥料、灌溉含镉的污水及大气中漂浮的镉在土壤表面发生沉积等<sup>[3]</sup>。植物体内的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)是一类重要的抗氧化酶, 在清除重金属等诱导产生的氧自由基和过氧化物、抑制膜脂过氧化、保护细胞免遭伤害等方面起着重要作用, 抗氧化酶可以作为

收稿日期: 2007 - 03 - 06

基金项目: 德州学院科研项目(05031)

作者简介: 郑世英(1962 - ), 女, 山东德州人, 教授, 主要从事植物抗性生理研究。

检测环境污染物胁迫的生物标记物<sup>[4]</sup>。植物器官在  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  胁迫下受到伤害往往发生膜脂过氧化作用, 丙二醛(MDA)是膜脂过氧化最终分解产物, 其含量可以反映植物遭受重金属伤害的程度<sup>[5]</sup>。本试验以棉花为材料研究不同浓度  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  胁迫下抗氧化酶活性的变化及丙二醛含量的变化, 为进一步阐明  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  对植物毒害的生理机制提供依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试棉花品种为鲁棉研 22 号, 由德州市农业科学研究所提供; 氯化镉、硝酸铅购于天津圣奥化学试剂有限公司。所用试剂均为分析纯试剂, 水为去离子水。

1.2 幼苗萌发试验

精选棉花种子, 经消毒、浸泡播于珍珠岩中培养棉花幼苗, 待长至两叶一心时移栽至白瓷缸中, 用 1/2 Hoagland 培养液进行培养, 7d 后更换一次培养液, 培养 14d 后移入  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  浓度分别为 0mol/L (ck), 6mol/L, 10mol/L, 20mol/L, 30mol/L, 50mol/L, 100mol/L 的 1/2 Hoagland 培养液, 试验设 3 次重复, 每盆 6 株, 处理 14d 后取样。

1.3 测定方法

粗酶液的制备: 称新鲜叶片 3g, 加入 50mmol/L pH 7.8 的磷酸缓冲液(PBS)15 mL, 冰浴充分研磨, 冷冻离心(14000 r/min, 20 min), 取上清液冷藏备用。

超氧化物歧化酶(SOD)活性测定: 采用邹琦方法<sup>[6]</sup>; 过氧化氢酶(CAT)活性测定: 采用陈利锋等方法<sup>[7]</sup>; 过氧化物酶(POD)活性测定: 采用张志良的方法<sup>[8]</sup>; 丙二醛(MDA)含量测定: 采用赵世杰等方法<sup>[9]</sup>。

2 结果与分析

2.1  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  胁迫对棉花叶片 SOD 活性的影响

由图 1 可以看出, 随着  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  浓度的提高, SOD 活性逐渐上升, 当离子浓度达到一定时, SOD 活性达到最高, 然后随着离子浓度的提高, SOD 活性逐渐下降。  $Pb^{2+}$  处理下, 处理浓度为 50mol/L 时 SOD 活性达到最高;  $Cd^{2+}$  处理下, 胁迫浓度为 30mol/L 时 SOD 活性达到最高。

SOD 作为超氧自由基清除剂, 其活性高低与植物的抗逆性有一定的相关性, 在适度的逆境下, SOD 活性增加以提高植物的适应能力。

2.2  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  胁迫对棉花叶片 POD 活性的影响

由图 2 可以看出, 随着  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  浓度的提高, POD 活性逐渐上升, 当离子浓度达到一定浓度时, POD 活性达到最高, 然后随着离子浓度的提高, POD 活性逐渐下降。  $Pb^{2+}$  处理下, 处理浓度为 50mol/L 时 POD 活性达到最高;  $Cd^{2+}$  处理下, 胁迫浓度为 30mol/L 时 POD 活性达到最高。

POD 是活性较高的适应性酶, 能够反映植物生长发育的特性、体内代谢状况以及对外界环境的适应性。因为植物在  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  胁迫下, 产生大量的对植物有害的过氧化物, POD 能够对这些过氧化物进行氧化和分解以维持自身的正常代谢, 从而诱导了 POD 活性的增加<sup>[10]</sup>。

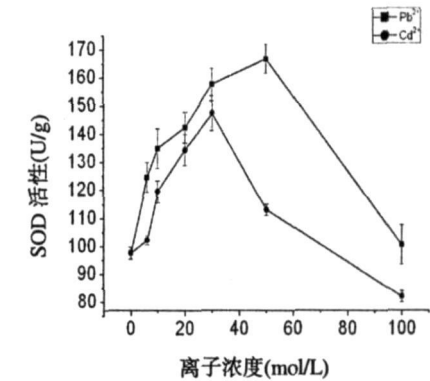


图 1 不同浓度  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  对棉花叶片 SOD 活性的影响

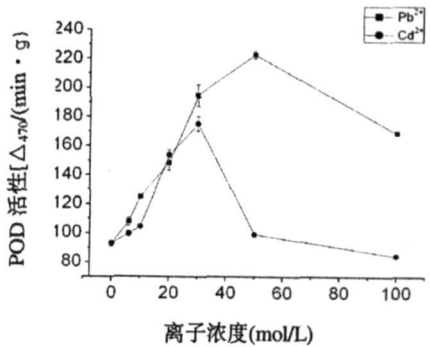


图 2 不同浓度  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  对棉花叶片 POD 活性的影响

2.3  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  胁迫对棉花叶片 CAT 活性的影响

由图 3 可以看出, 随着  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  浓度的提高, CAT 活性逐渐上升, 当离子浓度达到一定浓度时, CAT 活性达到最高, 然后随着离子浓度的提高, CAT 活性逐渐下降。  $Pb^{2+}$  处理下, 处理浓度为 50mol/L 时 CAT 活性达到最高;  $Cd^{2+}$  处理下, 胁迫浓度为 30mol/L 时 CAT 活性达到最高。

CAT 是含 Fe 的蛋白酶, 能将 SOD 的歧化产物  $H_2O_2$  分解成水, 达到清除体内多余  $H_2O_2$  的目的, 避免了  $H_2O_2$  对植物组织的伤害<sup>[11]</sup>。

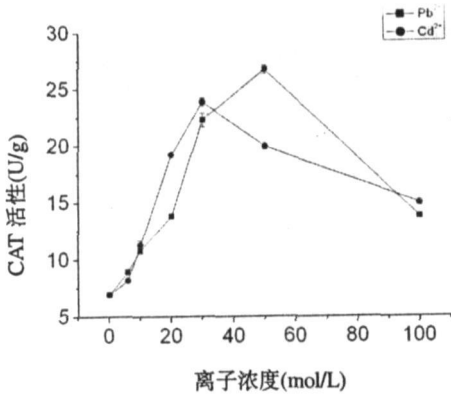


图3 不同浓度  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  对棉花叶片 CAT 活性的影响

#### 2.4 $\text{Pb}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ 胁迫对棉花叶片 MDA 含量的影响

由图4可以看出,随着  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  浓度的提高,棉花叶片内 MDA 含量逐渐上升,当离子浓度处于 0~50 mol/L 之间时,MDA 含量急剧升高,当离子浓度大于 50 mol/L 时,MDA 含量缓慢升高。

植物在  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫下膜脂过氧化作用进程加快,增加植物体内的活性氧,打破活性氧的代谢平衡,从而启动膜脂过氧化作用或膜脂脱脂作用,破坏膜的结构,影响膜的功能。重金属是脂质过氧化的诱变剂,浓度越高,脂质过氧化产物 MDA 积累越多,两者密切相关<sup>[12]</sup>。

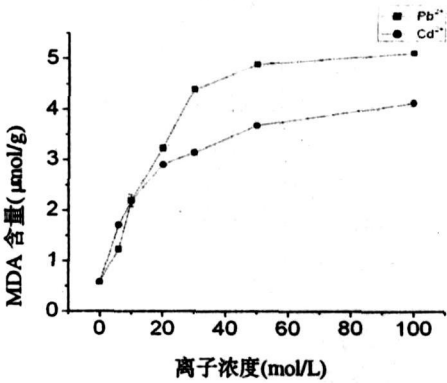


图4 不同浓度  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  对棉花叶片 MDA 含量的影响

### 3 讨论

Fridovich<sup>[13]</sup> 自由基学说认为,逆境条件下植物体同时存在膜保护系统,能够清除体内多余的自由基,其活性氧自由基代谢是一个动态的变化过程,这一保护酶系统实际上是一个抗氧化系统,它是由许多酶和还原型物质组成,其中 SOD, POD, CAT 是主要的抗氧化酶,可清除有害的体内活性氧,从而保护植物的膜系统。

本研究的结论是低浓度  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫下 SOD, POD, CAT 活性均高于对照,但随着  $\text{Cd}^{2+}$  处

理浓度的继续提高, SOD, POD, CAT 活性均表现为下降的趋势,抑制作用逐渐加强。可能是高浓度的  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫超过 SOD, POD, CAT 的承受极限而破坏了它的功能<sup>[14]</sup>。另外,从 2 种重金属胁迫对棉花 SOD, POD, CAT 活性的影响可以看出,棉花对  $\text{Pb}^{2+}$  胁迫的耐受能力大于对  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫的耐受能力。当  $\text{Pb}^{2+}$  浓度为 50 mol/L 时, SOD, POD, CAT 活性达到最高,而在  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫下,  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫浓度为 30 mol/L 时, SOD, POD, CAT 活性达到最高。随着  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫浓度的提高, MDA 的含量呈逐渐上升的趋势,棉花叶片中 MDA 含量与遭受  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫程度呈正相关。

综上所述,棉花遭受  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫时,作为内源活性氧清除剂的 SOD, POD 和 CAT 能够在一定程度上清除体内过剩的活性氧,维持活性氧代谢平衡,保护膜结构,使棉花具有一定忍耐或抵抗重金属的能力。但这种维持有一定的限度,当  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫超过棉花的承受极限时, SOD, POD 和 CAT 活性下降或被破坏,膜脂过氧化作用加剧, MDA 积累增加,细胞的正常代谢被破坏,植物生长受到抑制<sup>[15]</sup>。同时在本试验中,棉花幼苗在遭受  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫时,棉花叶片对  $\text{Pb}^{2+}$  的耐受力要大于对  $\text{Cd}^{2+}$  的耐受能力。

#### 参考文献:

- [1] 陈志良, 莫大伦. 镉污染对生物有机体的危害及防治对策[J]. 环境保护科学, 2001, 27(3): 37-39.
- [2] 孔祥生, 王尔栋, 祖常华, 等. 铅对棉花生长的危害机理[J]. 农业环境保护, 1999, 18(3): 133-134.
- [3] 李子芳, 刘惠芬, 熊肖霞, 等. 镉胁迫对小麦种子萌发幼苗生长及生理生化特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(S1): 17-20.
- [4] 曹莹, 黄瑞冬, 曹志强. 铅胁迫对玉米生理生化特性的影响[J]. 玉米科学, 2005, 13(3): 61-64.
- [5] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系[J]. 植物生理学通讯, 1990, 26(6): 51-57.
- [6] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [7] 陈利锋, 宁玉立. 抗恶赤霉病小麦品种超氧化物歧化酶和过氧化酶的活性比较[J]. 植物病理学报, 1997, 27(3): 209-213.
- [8] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990.
- [9] 赵世杰, 许长成, 邹琦, 等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进[J]. 植物生理学通讯, 1991, 30(3): 207-210.

(下转第 63 页)

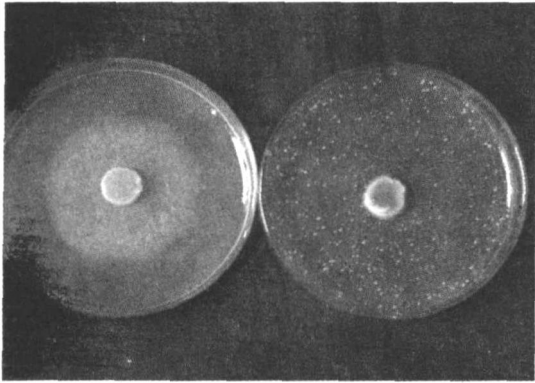


图3 对峙法抑制效果

从图3可以看出,在靠近拮抗菌一侧,全蚀菌生长受到抑制。

2.4 拮抗菌对小麦全蚀病的盆栽防治效果

从表3可以看出,第一组(空白对照组),小麦正常生长,植株鲜重的平均值为0.4110g。而第二组(加小麦全蚀菌),小麦发病严重,植株鲜重平均值仅为0.1853g。拮抗菌处理的3~13组与对照组②相比,植株鲜重平均值均超过第二组,有明显的抑病效果,其中第4组(JK<sub>4</sub>)抑病效果最好,植株鲜重达0.3398g,接近正常小麦。

表3 盆栽防治效果

组别	盆栽数	平均植株鲜重(g/株)
1	7	0.4110
2	9	0.1853
3(JK <sub>1</sub> )	9	0.2949
4(JK <sub>4</sub> )	9	0.3398
5(JK <sub>14</sub> )	10	0.2882
6(JK <sub>15</sub> )	10	0.2677
7(JK <sub>16</sub> )	10	0.2233
8(JK <sub>17</sub> )	10	0.2533
9(JK <sub>18</sub> )	10	0.2534
10(JK <sub>19</sub> )	10	0.3148
11(JK <sub>20</sub> )	9	0.2702
12(JK <sub>21</sub> )	9	0.2492
13(JK <sub>22</sub> )	10	0.2541

注:第一组:空白对照(不加病原菌、不加拮抗菌);第二组:对照(加小麦全蚀菌)

3 结论

由本试验结果看,从开封北郊麦田的原位土壤中能够分离筛选得到抑制小麦全蚀病原菌效果明显且与之能够共存的土壤有益菌。为后期工作开发高效的生物防治剂提供了必要的理论和物质基础。在分离出的原位土壤微生物中,有11株对小麦全蚀病菌有拮抗作用,对它们进行生理生化实验,鉴定为4个种。即:巨大芽孢杆菌(*B. megaterium*)、蜡样芽孢杆菌(*B. cereus*)、苏云金芽孢杆菌(*B. thuringiensis*)、凝结芽孢杆菌(*B. coagulans*)。

本试验分离到的11株拮抗菌株,平板拮抗性检测结果显示,有较强的拮抗作用,在盆栽活体小麦中控病效果检测结果显示,可以降低发病程度,同种菌不同菌株间的生防作用有所不同。由于本试验采用原位土壤筛选拮抗菌并将其大量繁殖后再应用于该环境条件下的土壤,因而筛选出的拮抗菌对当地环境应具有很强的适应性。为开发适应开封地区的小麦全蚀病生物防治剂提供了理论依据。

参考文献:

[1] Walker J. Review of plant[ J] . Pathology, 1975( 3) : 12 - 14.

[2] 宫岛帮之. 小麦全蚀病的发生生态与防治研究[ J] . 植物检疫( 日), 1990(3): 11 - 13.

[3] 刘汉文. 严防小麦全蚀病病残体随种子传播[ J] . 陕西农业科技, 1991(5): 17 - 20.

[4] 王兴帮, 彭于法, 李效禹, 等. 宁夏小麦全蚀病发生发展和防治策略探讨[ J] . 宁夏农业科技, 1991( 5): 6 - 8.

[5] 师存恩, 田玉丹, 周景武, 等. 小麦全蚀病病害流行及预测研究[ J] . 内蒙古农业科技, 1995(5): 9 - 12.

[6] Penrose L. Evidence for resistance in wheat cultivars grown in sand culture to the take all pathogen, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*[ J] . Annals of Applied Biology 1985, 107: 105 - 108.

[13] Fridovich I. Free radical in biology Vo1 1[ M] . New York: Academic Press New York, 1976.

[14] Macfarlane G R, Burdett M D. Photosynthetic pigments and peroxidase activity as indicators of heavy metal stress in the grey mangrove, *avicenna marina* ( Fork) [ J] . Marine Pollution , 2001, 42( 3) : 233 - 240.

[15] 张玉秀, 柴团耀, Gerard B . 植物耐重金属机理研究进展[ J] . 植物学报, 1999, 41(5): 453 - 457.

(上接第45页)

[10] 费伟, 陈火英, 曹忠等. 盐胁迫对番茄幼苗生理特性的影响[ J] . 上海交通大学学报, 2005, 23( 1) : 5 - 9.

[11] 张风琴, 王友绍, 董俊德, 等. 重金属污水对木榄幼苗几种保护酶及膜脂质过氧化作用的影响[ J] . 热带海洋学报, 2006, 25( 2) : 66 - 70.

[12] Converso D A, Fernandez M E, Tomaro M L. Cadmium inhibition of a structural wheat peroxidase[ J] . Jenzy Inhibit, 2000, 15: 171 - 183.