

Cd、Pb 胁迫对烟草叶片中活性氧清除系统的影响*

严重玲 洪业汤⁽¹⁾ 付舜珍 方重华 雷基祥⁽²⁾ 沈 芹

(贵州省环保科研所, 贵阳, 550002)

⁽¹⁾ (中国科学院地球化学研究所, 贵阳, 550002) ⁽²⁾ (贵州农学院林学系, 贵阳, 550025)

摘要 Cd、Pb 胁迫对烟草叶片活性氧清除系统的影响表明: 随着Cd、Pb 处理浓度的增大, 叶绿素含量、叶绿素 a/b 值、CAT (过氧化氢酶) 活性逐渐减小; SOD (超氧化物歧化酶) 活性先升后转而下降低; POD (过氧化物酶) 活性则逐渐增加, 对烟草活性氧清除系统的影响, Cd、Pb 之间存在明显的协合作用。Cd、Pb 胁迫明显地影响活性氧清除系统, 导致烟草叶片活性氧代谢失调和加速叶片的老化。

关键词: Cd、Pb 胁迫, 活性氧清除系统, 烟草。

EFFECT OF Cd, Pb STRESS ON SCARENGING SYSTEM OF ACTIVATED OXYGEN IN LEAVES OF TOBACCO

Yan Chongling Hong Yetang* Fu Shunzhen Fang Chonghua

Lei Jixiang** Shen Q in

(Guizhou Institution of Environmental Protection, Guiyang, 550002, China)

(* Institute of Geochemistry Chinese Academy of Sciences, Guiyang, 550002, China)

(** Department of forest, Guizhou Agriculture University, Guiyang, 550025, China)

Abstract The effect of Cd, Pb stress on scarenging system of activated oxygen indicated that content of chlorophyll, chlorophyll a/b ratio and activity of CAT gradually decrease, the activity of SOD increase first and decrease afterwards, the activity of POD gradually increase with the consistency of Cd, Pb treatment. Between Cd and Pb, there is a synergistical action on effect of scarenging system of activated oxygen. The results indicated that Cd, Pb stress affect scarenging system of activated oxygen and result in imbalance of activated oxygen metabolism.

Key words: Cd, Pb stress, scarenging system of activated oxygen, tobacco.

关于膜伤害机制有多种学说, 但是以生物氧毒害的超氧学说研究进展很快。许多研究表明, 植物在逆境中(如干旱、涝、盐、环境污染等)会产生大量的氧自由基^[1,2], 这些活性氧能够直接或间接启动膜脂过氧化, 导致膜的损伤和破坏。SOD、POD、CAT 对这些自由基和过氧化物起着清除作用。SOD 清除O₂⁻而形成H₂O₂, POD 和CAT 则催化H₂O₂形成H₂O, 从而有效阻止O₂⁻和H₂O₂的积累, 限制了这些自由基对膜脂的

* 贵州省自然科学基金资助项目。

收稿日期: 1995-10-27, 修改稿收到日期: 1996-03-27。

过氧化启动。SOD、POD 和 CAT 是植物体内活性氧酶促防御系统的3种重要保护酶。

Cd、Pb 作为对植物毒害的主要重金属污染物已有报道,但这些研究多集中在探讨对重金属的吸收积累,生长发育、光合、呼吸及品质等方面^[3,4],而重金属对植物活性氧清除系统的影响的研究则不够系统。本文以烟草为材料,系统地探讨 Cd、Pb 胁迫对叶绿素及活性氧清除系统的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 烟草,红花大金元(*Nicotiana tabacum* L.)

1.2 方法

1.2.1 栽培方法 供试土壤为贵州典型酸性黄壤,肥源为复合化肥,全部肥料做基肥一次施入。烟苗单株移苗盆栽,成活后以污灌方式按一定浓度一次施入 CdCl₂·2.5H₂O 和 Pb(Ac)₂。Pb、Cd 设4个系列,以单纯 Cd、Pb 计算,各系列浓度(mg/kg)为:

Cd	Pb	Cd+ Pb	Pb+ Cd
10	100	30+ 100	300+ 10
30	300	30+ 300	
50	500	30+ 500	300+ 50
100	1000	30+ 1000	300+ 100

另再设一组对照(未加 Cd、Pb),每处理5株重复,盆栽25 d 后,取相同叶位的中部叶片,洗净并用蒸馏水冲洗,吸水纸揩干待测。

1.2.2 测定方法 叶绿素含量及叶绿素 a/b 值 Arnon (1949) 法单位(mg·g⁻¹FW)。SOD 活性和 POD 活性 方法见文献[5],单位分别为(×10³units·g⁻¹FW)和(ΔOD₄₅₀·mg⁻¹Protein)。CAT 活性 采用碘量法,单位(H₂O 2mg·m⁻¹·g⁻¹FW)。

2 结果与讨论

2.1 Cd、Pb 胁迫对烟草叶片叶绿素含量的影响

实验结果表明(图1),与对照相比,各处理系列叶绿素含量随着 Cd、Pb 处理浓度的增大而逐渐减少,其中以 Cd+ Pb 和 Pb+ Cd 两个处理系列最明显。各处理系列在所测定的3个生育期中,叶绿素含量与 Cd、Pb 浓度均表现出显著的负相关。同时以植株外部形态来看,这4个处理系列的叶片明显较对照失绿而发黄,这一结论与文献[6,7]研究结果一致。

叶绿素含量的减少,可能是由于 Cd、Pb 进入体内,使叶绿体酶活性比例失调,致使叶绿素分解加快。同时由于 Cd、Pb 局部积累过多,与叶绿体中蛋白质上的-SH 基结合或取代其中的 Fe²⁺、Zn²⁺、Mg²⁺^[6],而使叶绿素蛋白质中心离子组成变化而失活,如 Cd 与 Zn,具有相近的核外电子构型而发生替代,从而使叶绿素中心离子组成改变而失活所造成。Cd 与 Pb 的复合作用明显大于单一的 Cd 或 Pb 作用,这说明两者具有对叶绿素破坏的协合作用。

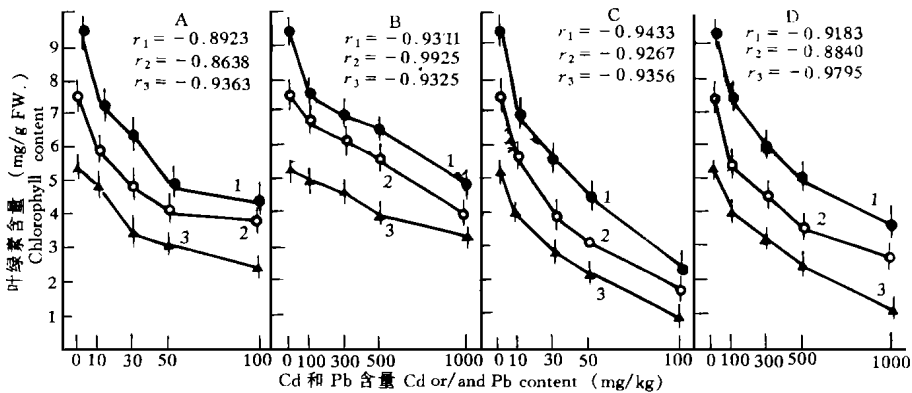


图1 Cd、Pb 胁迫对叶绿素含量的影响

Fig. 1 Effect of Cd、Pb stress on chlorophyll content

A. Cd, B. Pb single Pb, C. Pb+ Cd (Pb 300mg/kg), D. Cd+ Pb (Cd 30mg/kg). ····伸根期(r₁), root extension period - - 旺长期(r₂) vigorous period - - 成熟期(r₃) mature period r: 相关系数 correlation coefficient

2.2 Cd、Pb 胁迫对叶绿素 a/b 值的影响

实验结果表明(表1),各处理系列在不同的生育期中,叶绿素 a/b 值随着 Cd、Pb 处理浓度的增加而具有逐渐减少的趋势。Woolhouse 认为:随着叶片的衰老,叶绿素含量逐渐下降,叶绿素 a 比叶绿素 b 下降得更快,叶绿素 a/b 值可作为叶片衰老的指标^[8]。在该研究中,叶绿素含量及叶绿素 a/b 值随着 Cd、Pb 处理浓度增加而减少,这说明 Cd、Pb 具有加速烟草叶片老化的作用。

表1 Cd、Pb 胁迫对烟草叶绿素 a/b 值的影响

Table 1 Effect of Cd、Pb stress on chlorophyll a/b values in leaves of tobacco

处理 Treatment	(mg/kg)	伸根期 Root extension period	旺长期 Vigorous period	成熟期 Mature period
CK	0	1.277	1.940	1.834
Cd	10	1.182	1.832	1.844
	30	1.191	1.854	1.677
	50	1.171	1.145	1.453
	100	0.844	1.017	1.385
Pb	100	1.187	1.901	1.806
	300	1.212	1.785	1.665
	500	1.053	1.620	1.548
Cd+ Pb	1000	0.980	1.496	1.528
	30+ 100	1.190	1.853	1.776
	30+ 300	1.119	1.811	1.801
	30+ 500	1.161	1.521	1.621
Pb+ Cd	30+ 1000	1.073	1.461	1.430
	300+ 10	1.210	1.836	1.812
	300+ 30	1.119	1.811	1.801
	300+ 50	1.051	1.807	1.703
	300+ 100	0.936	1.705	1.532

列中,POD 活性除了受 Cd、Pb 胁迫直接增加外,还有由于 Cd、Pb 胁迫使植株衰老速度加快(叶绿素含量减少、叶绿素 a/b 值减小等)间接所引起的增加,同时还包括植株正常衰老所增加的部分。

Cd、Pb 的复合作用对 POD 活性的影响明显大于单一 Cd、Pb 处理,这与 Cd、Pb 影响叶绿素含量是一致的。

2.4 Cd、Pb 胁迫对 SOD 活性的影响

实验结果表明(图3),各处理系列中,SOD 活性随着 Cd、Pb 浓度的增加,先出现增加,但是,随着 Cd、Pb 的浓度继续增大,SOD 活性转而急剧或缓慢下降,甚至低于同一生育期的对照水平。

SOD 是防护氧自由基对细胞膜系统伤害的防护酶,它作为超氧自由基清除剂,其活性高低与植物抗性大小有一定的相关性。在适度逆境诱导下,其活性有所提高,以增加其抗逆能力而适应逆境得以生存。在 Cd、Pb 的胁迫下,烟草体内所具有的活性氧清除酶系统和具抗性特征的生理活动被诱导而加快,SOD 在此诱导下,其活性逐渐增加,用以消除土壤中 Cd、Pb 胁迫导致叶片所产生过多的 O_2^- ,但是随着 Cd、Pb 浓度的继续增加,叶片中的 O_2^- 的增加超过了正常的歧化能力极限而对叶细胞多种功能膜及酶系统破坏,以至抑制 SOD 活性增加而急剧或缓慢下降。Cd、Pb 的复合作用与单一 Cd、Pb 作用相比,SOD 活性下降幅度更大,表现出明显的协合作用。

2.5 Cd、Pb 胁迫对 CAT 活性的影响

CAT 能够清除细胞内过多的 H_2O_2 以维持细胞内 H_2O_2 在一个正常水平,从而保护膜结构。该实验表

2.3 Cd、Pb 胁迫对 POD 活性的影响

图2表明,各处理系列中,随着 Cd、Pb 处理浓度的增大,其 POD 活性逐渐增加,其中以 Cd+ Pb 和 Pb+ Cd 两个处理系列变化幅度最大,单一的 Cd、Pb 处理系列活性变化相对较小。

POD 活性的增加是由于 Cd、Pb 进入植物体后,通过一系列生理生化反应产生了对自身有害的过氧化物,随着这种物质的增加,POD 利用 H_2O_2 来催化这些对自身有害的过氧化物的氧化分解,因此随着植物体内这些 POD 酶底物浓度的增加,致使 POD 活性逐渐增加所致*。

许多实验表明,POD- H_2O_2 分解系统参与了叶绿素的降解^[9-11],并且 POD 活性与叶绿素含量呈高度负相关^[12,13]。在本实验中,随着 Cd、Pb 处理浓度的增加,POD 活性逐渐增加,叶绿素含量减少,叶绿素 a/b 值减小,这也说明 Cd、Pb 也通过 POD 活性增加直接或间接地影响叶绿素的降解作用。

有研究表明,随着植物叶片衰老,POD 活性总是显著增加^[13,5]。该实验也表明,烟草叶片随着生育期进程,叶片 POD 活性逐渐增加。因此在处理系

* 待发表

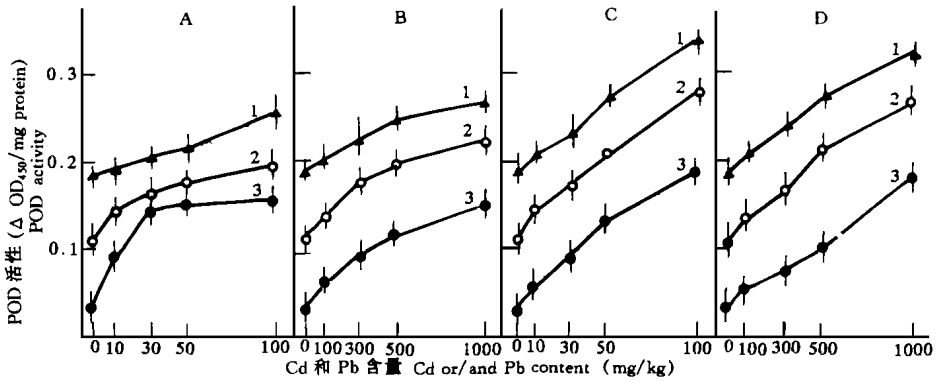


图2 Cd、Pb 胁迫对 POD 活性的影响

Fig. 2 Effect of Cd、Pb stress on activity of POD

A. Cd, B. Pb, C. Pb+ Cd (Pb 300mg/kg), D. Cd+ Pb (Cd 30mg/kg)

●●●伸根期 root extension period - - 旺长期 vigorous period - - 成熟期 mature period

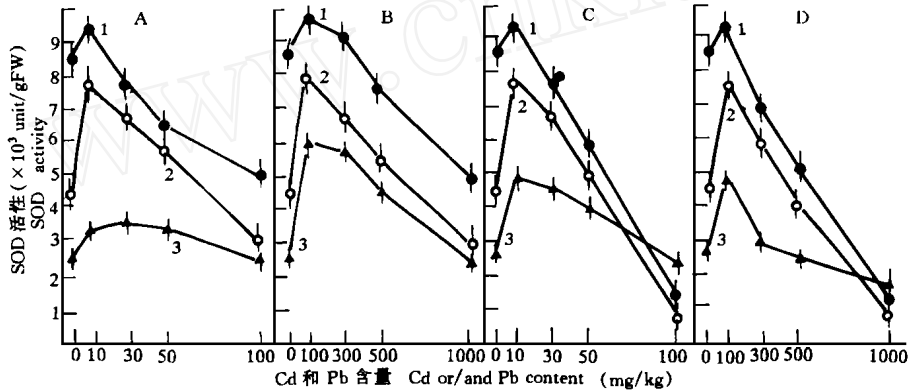


图3 Cd、Pb 胁迫对 SOD 活性的影响

Fig. 3 Effect of Cd、Pb stress on activity of SOD

A. Cd, B. Pb, C. Pb+ Cd (Pb 300mg/kg), D. Cd+ Pb (Cd 30mg/kg)

●●●伸根期 root extension period - - 旺长期 vigorous period - - 成熟期 mature period

明, 在各生育期中, 各处理系列叶片中 CA T 活性随着处理浓度的增加而逐渐减小, 由于 CA T 活性的降低, 清除活性氧的功能减小, 过氧化作用加强, 内源抗御活性氧毒害的能力减弱。

在各生育期中, 成熟期叶片中 CA T 活性变化幅度最小, 并且在一定程度上有所增加, 这是由于随着生育期进程, 植株自身抗性有所增加所致。

3 小结

Cd、Pb 胁迫使叶绿素含量减少, 叶绿素 a/b 值减小, 这不仅是由于 Cd、Pb 与叶绿素中蛋白结构上的 -SH 基结合或取代其中的 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Fe^{2+} 使蛋白的中心离子组成发生变化, 造成叶绿素失活或分解所造成, 也包括由于 POD 活性增高, SOD 和 CA T 活性变化, 致使叶绿体膜系统破坏而使叶绿素降解和失活所致。

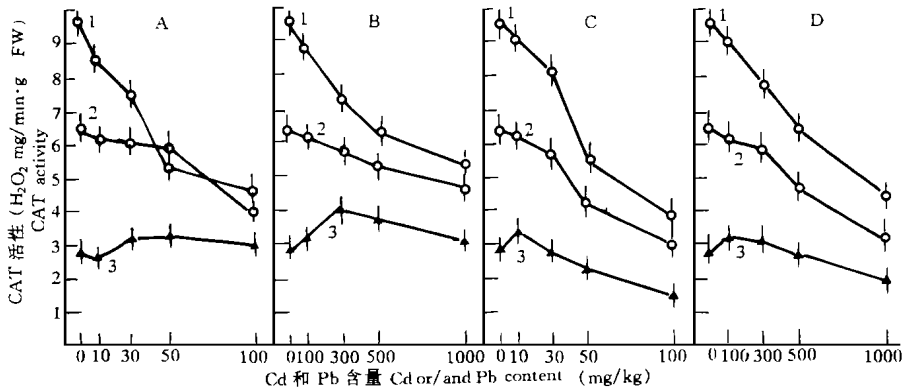


图4 Cd、Pb胁迫对CAT活性的影响

Fig 4 Effect of Cd, Pb stress on activity of SOD

A、Cd, B、Pb, C、Pb+ Cd (Pb 300mg/kg), D、Cd+ Pb (Cd 30mg/kg)

●---●伸根期 root extension period ▲---▲旺长期 vigorous period ■---■成熟期 mature period

Cd、Pb胁迫明显影响活性氧清除系统,致使系统中酶活性比失调,降低了内源活性氧清除功能, O₂⁻、H₂O₂、OH[·]等的积累,使细胞膜功能紊乱和伤害。

Cd、Pb对烟草叶片的叶绿素和活性氧清除系统的影响,两者之间具有明显的协合作用。

参 考 文 献

- 1 刘燕云,曹洪法.酸雨和SO₂作用下SOD酶活性与菠菜叶片损伤相关性研究.应用生态学报,1993,4(2):223~225
- 2 邹晓燕,刘厚田.植物对SO₂的敏感性与其超氧化物歧化酶活性的关系.中国环境科学,1989,9(6):427~432
- 3 任继凯等.土壤中镉、铅、锌及其相互作用对作物的影响.植物生态学与地植物学丛刊,1982,6(4):320~329
- 4 夏增禄等.Cd、Zn、Pb及其相互作用对烟草小麦的影响.生态学报,1984,4(3):231~236
- 5 严重玲,李瑞智,钟章成.模拟酸雨对绿豆、玉米生理生态特性的影响.应用生态学报,1995,6(Supp):124~131
- 6 孙赛初等.水生维管束植物受Cd污染后的生理生化变化及受害机制初探.植物生理学报,1985,11:113~121
- 7 Burton KW, et al. Chlorophyll as an indicator of upper critical tissue concentration of cadmium in plants. *Water Air Soil Pollut.* 1986, 27(1-2): 147~154
- 8 Woolhouse H W. Longevity and senescence in plant. *Sci Prog Oxford* 1974, 61: 23
- 9 Yamouchi N, Minamide T. Chlorophyll degradation by peroxidase in parsley leaves. *J Jap Soc Hort Sci*, 1985, 54: 265
- 10 Kar R K, Choudhuri MA. possible mechanisms of light-induced chlorophyll degradation in senescing leaves of *Hydrilla Verticillata*. *Physiol Plant*, 1987, 70: 729
- 11 Misako K, Shimizu S. Chlorophyll metabolism in higher plant VI. Involvement of peroxidase in chlorophyll degradation. *Plant Cell Physiol*, 1985, 26: 1291
- 12 曾绍西,王以柔,刘鸿先.低温光照下与黄瓜子叶叶绿素降低有关的酶促反应.植物生理学报,1991,17:177
- 13 Ishida A, Ono K, Matsusaka T. Cell wall-associated peroxidase in cultured cells of liverwort, *M. archantidis polymorpha* L. changes of peroxidase level and its localization in the cell wall. *Plant Cell Rep*, 1985, 4: 54