

# Cd、Fe及其复合污染对烟草叶片 几项生理指标的影响

李元\* 王焕校 吴玉树

(云南大学生物系, 昆明, 650201)

## 摘 要

本文通过盆栽和大田模拟试验, 研究了Cd、Fe、Cd+Fe、Fe+Cd处理下烟草红花大金元 (*Nicotiana tabacum* L.) 叶片的几项生理指标的变化情况。试验表明: 烟草叶片叶绿素a、叶绿素b、叶绿素a+b含量均随Cd处理浓度的增加而下降, 随Fe处理浓度的增加而上升。总烟碱含量随Cd处理浓度的增加(0—100ppm)而下降, Cd 150ppm时略有上升, 随Fe处理浓度的增加而上升。蛋白质含量随Cd处理浓度的增加而上升, 随Fe处理浓度的增加而下降。烟草的3个生理指标表明, Cd抑制Fe对生理指标的作用, Fe抑制Cd对它们的作用, Cd与Fe相互拮抗。Cd处理的烟草叶片过氧化物酶活性和细胞膜透性的测定结果表明, 过氧化物酶活性和细胞膜透性均随Cd处理浓度的增加而上升。

关键词: 烟草叶片, Cd, Fe, 生理指标, 拮抗作用。镉、铁、污染;

## 一、前 言

Cd作为一种对植物毒害的主要污染物, 现已有大量的研究报道<sup>[1-2]</sup>。Fe一般多作为植物生长所需的微量矿质营养元素, 其毒性研究尚不多见, 但目前已发现烟草被Fe<sup>2+</sup>含量超过1.5ppm的池水喷灌后产生毒害。水稻的“青铜色病”、“Alkagave病”、“Akiok病”、甘蔗的“斑叶病”也都与Fe的毒害有关<sup>[3]</sup>。对自然界中多种重金属的复合污染<sup>[4]</sup>, 国内外的学者研究了Cd与Fe的相互作用和对植物的影响<sup>[5-7]</sup>, 但多集中在Cd影响Fe的吸收与富集, 还未深入到生理生化水平。有人研究Cd污染对烟草的影响, 仍以Cd的吸收富集多见<sup>[8-12]</sup>。在Fe、Fe与Cd相互作用对烟草影响的研究中发现Cd降低烟草叶片内Fe含量, Fe增加烟草叶片内Cd含量, 而在对烟草叶片过氧化氢酶活性、吡啶乙酸氧化酶活性和氨基酸含量的影响方面, Cd与Fe相互拮抗<sup>[13]</sup>。本文仍以Cd、Fe及复合污染为对象, 研究了其对烟草叶片叶绿素、总烟碱、蛋白质含量的影响, 考察了Cd污染破坏烟草叶片正常的过氧化物酶活性和细胞膜透性, 并初步探讨了Cd、Fe相互作用的机制。

## 二、材料与方 法

### 1. 植物材料和处理

红花大金元 (*Nicotiana tabacum* L.) 烟草, 分别进行温室内的盆栽试验和大田模拟试

\* 现在云南农业大学植保系工作。

祖艳群和肖雪梅同志参加了部分试验工作, 谨此致谢。

本文于1990年6月20日收到。

验<sup>[13]</sup>。烟苗单株移苗栽培,待烟草恢复正常生长后,以污灌方法,按一定浓度一次施入 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 或 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 。Cd和Fe浓度的处理方式有4个系列,以单纯Cd和Fe计算,单一Cd系列为:10、50、100、150ppm,单一Fe系列为:100、500、1000、3000ppm, Cd+Fe系列为:50+100、50+500、50+1000、50+3000ppm, Fe+Cd系列为:1000+10、1000+50、1000+100、1000+150ppm。每处理重复3次。对照试验未加入Cd或Fe。

盆栽处理污灌后20d,取中部叶片,去主脉,测定叶绿素含量、过氧化物酶活性和细胞膜透性。大田试验处理的烟草待烟叶成熟后,采摘中部叶片在农村烤房烘烤(27—90℃, 5—7d),测定总烟碱和蛋白质含量,并与对照试验的结果比较。

## 2. 测定方法

叶绿素含量的测定:分光光度法<sup>[14]</sup>。单位为mg/g鲜叶。

总烟碱含量的测定:紫外分光光度法<sup>[15]</sup>。单位为总烟碱%。

蛋白质含量的测定:凯氏定氮法<sup>[16]</sup>。测定总氮,按总烟碱分子式 $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2$ 算出烟碱氮。

$$\text{蛋白质}\% = (\text{总氮} - \text{烟碱氮}) \times 6.25.$$

过氧化物酶活性的测定:分光光度法<sup>[14]</sup>。活性单位为每分钟光密度的变化值,即以 $\Delta\text{D}_{470}/\text{min} \cdot \text{mg FW}$ 表示。

细胞膜透性的测定:用 $\phi 0.7\text{cm}$ 打孔器取烟草叶片0.2g于三角瓶中,加去离子水50ml,振荡1h,过滤,用DDS-11型电导仪测定滤液的电导度,即表示细胞膜透性。单位为 $\text{m}\Omega^{-1}$ 。

## 三、结果与讨论

### 1. Cd、Fe及其复合污染对烟草叶片叶绿素含量的影响

试验结果表明(表1),在Cd处理中,烟草叶片叶绿素a、叶绿素b、叶绿素a+b含量均随Cd处理浓度的增加而降低,相关系数 $r$ 分别为-0.9659、-0.9853、-0.9742,均为极显著的负相关。这一结论与Cd引起植物叶片失绿<sup>[6,16]</sup>和Cd使植物叶片叶绿素含量下降<sup>[17,18]</sup>是一致的。

在Fe+Cd处理中,烟草叶片叶绿素a、叶绿素b、叶绿素a+b含量随Cd处理浓度的增加而降低,相关系数 $r$ 分别为-0.9757、-0.9895、-0.9794,均为极显著负相关。Cd处理和Fe+Cd处理影响烟草叶片叶绿素a、叶绿素b、叶绿素a+b含量的趋势是一致的,但Fe+Cd处理中各处理浓度下烟草叶片叶绿素a、叶绿素b、叶绿素a+b含量均比Cd处理中相应浓度高得多,Fe抑制了Cd对叶绿素a、叶绿素b、叶绿素a+b含量的影响,Fe对Cd拮抗。这与Cd毒害症状(指缺绿)可被叶面喷Fe改良<sup>[19]</sup>,及施加Fe盐于营养液中改良<sup>[20]</sup>的报道一致。

在Fe处理中,烟草叶片叶绿素a、叶绿素b、叶绿素a+b含量均随Fe处理浓度的增加而上升,相关系数 $r$ 分别为0.9507、0.9030、0.9327,均为显著正相关。业已证明<sup>[21]</sup>,Fe在叶绿体结构的形成方面是必需的,而叶绿体结构是形成叶绿素的先决条件。这可能就是Fe处理增加叶绿素含量的原因。

在Cd+Fe处理中,烟草叶片叶绿素a、叶绿素b、叶绿素a+b含量随Fe处理浓度的增加

表 1 Cd、Fe及其复合污染对烟草叶片叶绿素含量的影响(mg/g)  
Table 1 The effects of Cd and Fe on the contents of chlorophyll in leaves of tobacco (mg/g)

| 处理方式<br>Treatment way | 处理浓度(ppm)<br>Treatment concentration | 叶绿素a含量<br>Chl a content | 叶绿素b含量<br>Chl b content | 叶绿素(a+b)含量<br>Chl(a+b) content |
|-----------------------|--------------------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------------|
| 对 照<br>Control        | 0                                    | 0.603                   | 0.220                   | 0.823                          |
| Cd                    | 10                                   | 0.596                   | 0.213                   | 0.809                          |
|                       | 50                                   | 0.581                   | 0.204                   | 0.785                          |
|                       | 100                                  | 0.431                   | 0.168                   | 0.599                          |
|                       | 150                                  | 0.371                   | 0.154                   | 0.524                          |
| Fe                    | 100                                  | 0.626                   | 0.236                   | 0.862                          |
|                       | 500                                  | 0.634                   | 0.253                   | 0.887                          |
|                       | 1000                                 | 0.652                   | 0.274                   | 0.926                          |
|                       | 3000                                 | 0.687                   | 0.293                   | 0.980                          |
| Cd + Fe               | 50 + 100                             | 0.604                   | 0.217                   | 0.821                          |
|                       | 50 + 500                             | 0.612                   | 0.221                   | 0.833                          |
|                       | 50 + 1000                            | 0.623                   | 0.236                   | 0.859                          |
|                       | 50 + 3000                            | 0.653                   | 0.245                   | 0.898                          |
| Fe + Cd               | 1000 + 10                            | 0.598                   | 0.217                   | 0.815                          |
|                       | 1000 + 50                            | 0.586                   | 0.211                   | 0.797                          |
|                       | 1000 + 100                           | 0.493                   | 0.191                   | 0.684                          |
|                       | 1000 + 150                           | 0.435                   | 0.173                   | 0.608                          |

而上升, 相关系数 $r$ 分别为 0.9971、0.9301、0.9833, 分别呈极显著正相关、显著正相关和极显著正相关。Fe处理和Cd + Fe处理影响叶绿素a、叶绿素b、叶绿素a + b含量的趋势是一致的, 但Cd + Fe处理中各浓度处理的叶绿素a、叶绿素b、叶绿素a + b含量均比Fe处理中相应浓度低得多, Cd降低了Fe对叶绿素a、叶绿素b、叶绿素a + b含量的影响, Cd对Fe拮抗。Cd降低叶绿素含量, Fe可使叶绿素含量增加。Cd抑制了Fe促进烟草叶绿素增高的作用, 这有可能是由于Cd的存在降低了烟草对Fe的吸收积累及烟草叶片内Fe含量<sup>[13]</sup>, 从而影响叶绿素合成。也有人认为, 植物体内的Fe是在被利用之前受到重金属(如Cd)的危害形成所谓非活性Fe, 从而抑制合成叶绿素。还有人认为Cd使叶绿素酶活性增加而导致叶绿素分解加快, 含量减少。孙赛初等(1985)<sup>[17]</sup>提出Cd使叶绿素含量降低, 很可能是Cd进入叶内, 在局部积累过多, 与叶绿体中蛋白质上的-SH等结合或取代其中的 $Fe^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 等, 破坏了叶绿素体结构和功能活性。

## 2. Cd、Fe及其复合污染对烟草叶片总烟碱含量的影响

如图1所示, 在单一Cd处理时, 烟草叶片总烟碱含量随Cd处理浓度的增加(0—100 ppm)而下降, 而当Cd处理浓度为150ppm时, 总烟碱含量略有上升, 相关系数 $r$ 为-0.9943, 呈极显著的负相关。在Fe + Cd处理中, 烟草叶片总烟碱含量随Cd处理浓度的增加而上升, 相关系数 $r$ 为0.9925, 呈极显著的正相关。Fe 1000ppm完全改变了Cd对总烟碱含量的影响, 当Cd中加入Fe后, 使Cd的处理浓度与总烟碱含量的极显著负相关变为极显著正相关。

图2表明, 在Fe处理和Cd + Fe处理中, 随Fe处理浓度的增加, 烟草叶片总烟碱含量上

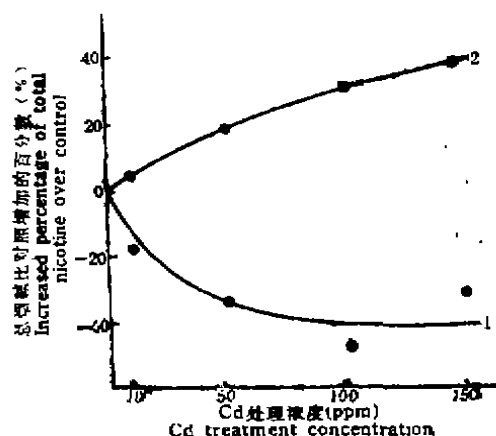


图1 加Fe前后,烟草叶片总烟碱含量与Cd浓度的关系

1. 单-Cd处理, 2. Fe+Cd处理, Fe, 1000ppm

Fig.1 The relation between the contents of nicotine in leaves of tobacco and Cd treatment concentration before and after the addition of Fe

1. Single Cd treatment, 2. Fe+cd treatment, Fe, 1000ppm

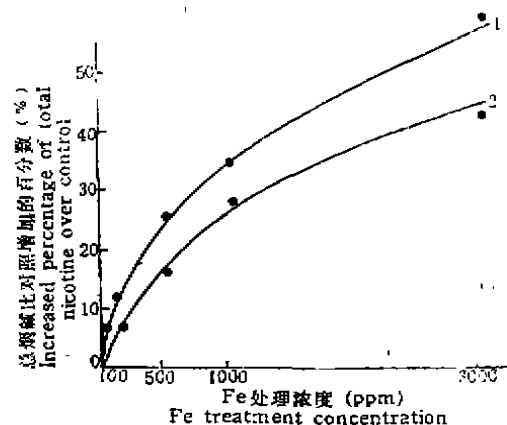


图2 加Cd前后,烟草叶片总烟碱含量与Fe浓度的关系

1. 单-Fe处理, 2. Cd+Fe处理, Cd, 50ppm

Fig.2 The relation between the contents of nicotine in leaves of tobacco and Fe treatment concentration before and after the addition of Cd

1. Single Fe treatment, 2. Cd+Fe treatment, Cd, 50ppm

升, 相关系数 $r$ 分别为0.8708和0.9060, 分别呈正相关和显著正相关, 但Cd+Fe处理中各处理浓度下的总烟碱含量均比Fe处理中相应浓度的低得多。Cd抑制了Fe使总烟碱含量的增加, Cd对Fe拮抗。

总烟碱是烟草品质的一个重要指标, 一般认为, 在一定范围内, 烟叶中总烟碱含量的增加, 有利于提高烟叶品质。所以, Cd污染后会降低烟叶品质, 而加入适量的Fe, 可缓解Cd对烟叶质量的影响。Cd的存在导致烟草叶片总烟碱量降低, 可能是Cd影响了烟碱在烟草根部的合成和向茎叶运输转移受阻。该机理还有待深入研究。

### 3. Cd、Fe及其复合污染对烟草叶片蛋白质含量的影响

如图3所示, 在单-Cd处理中, 随Cd处理浓度的增加, 烟草叶片蛋白质含量上升, 相关系数 $r$ 为0.9737, 呈极显著正相关。在Fe+Cd处理中, 当Cd处理浓度为10ppm时, 蛋白质含量略有下降, 比对照降低1.5%; 当Cd处理浓度为10—150ppm时, 随Cd处理浓度的增加, 蛋白质含量上升, 相关系数 $r$ 为0.9718, 呈极显著正相关。Fe+Cd各处理浓度的蛋白质含量均比Cd处理中相应浓度的低, 1000ppm的Fe降低了Cd对蛋白质含量的影响, Fe对Cd拮抗。

图4表明, 在单一Fe处理中, 随Fe处理浓度的增加, 烟草叶片蛋白质含量下降, 相关系数 $r$ 为0.9738, 呈极显著的负相关。在Cd+Fe处理中, 随Fe处理浓度的增加, 烟草叶片蛋白质含量上升, 相关系数 $r$ 为0.9368, 呈显著正相关。当在Fe中加入50ppm的Cd后, 改变了Fe对蛋白质含量的影响, 使蛋白质含量与单一Fe浓度的显著负相关, 变为与Cd+Fe浓度的显著正相关。

在Cd、Fe、Cd+Fe、Fe+Cd 4个系列的浓度处理下, 蛋白质含量变化的情况与相应浓度处理时的蛋白水解氨基酸总含量的变化情况<sup>[13]</sup>是完全吻合的。蛋白质含量是烟草品质

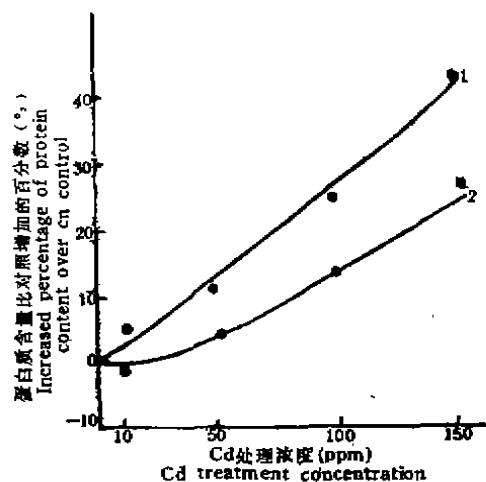


图3 加Fe前后,烟草叶片蛋白质含量与Cd浓度的关系

1. 单-Cd处理, 2. Fe+Cd处理, Fe: 1000ppm.

Fig.3 The relation between the contents of protein in leaves of tobacco and Cd treatment concentration before and after the addition of Fe

1. Single Cd treatment,

2. Fe+Cd treatment, Fe: 1000ppm

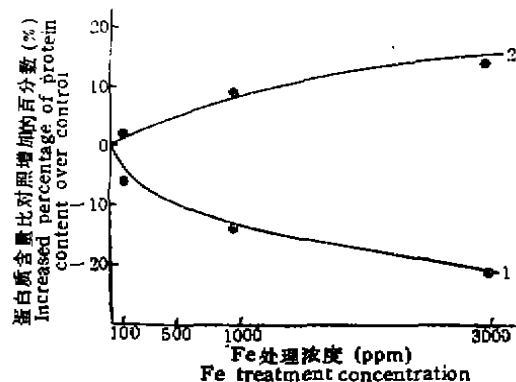


图4 加Cd前后,烟草叶片蛋白质含量与Fe浓度的关系

1. 单-Fe处理, 2. Cd+Fe处理, Cd: 50ppm.

Fig.4 The relation between the contents of Protein in leaves of tobacco and Fe treatment concentration before and after the addition of Cd

1. Single Fe treatment,

2. Cd+Fe treatment, Cd: 50ppm

的一个指标,一般认为,在一定范围内,烟草叶片蛋白质含量降低,有利于烟草品质的提高。所以,Cd污染会降低烟叶品质,而加入适当的Fe,缓解了Cd对烟草品质的影响。Cd存在时提高了烟草叶片蛋白质的含量,其原因可能是Cd与DNA结合<sup>[22]</sup>后,刺激DNA的活性,增加蛋白质的合成。Cd刺激而产生的蛋白质合成是一种Cd毒害的反应,合成蛋白质很可能是一种解毒机制,如Cd诱导烟草产生金属硫蛋白和Cd-硫蛋白<sup>[23]</sup>。

#### 4. Cd污染对烟草叶片过氧化物酶活性的影响

如图5所示,随Cd处理浓度的增加,烟草叶片过氧化物酶活性急剧上升,相关系数 $r$ 为0.9608,呈极显著正相关,其结果与Lee(1976)<sup>[24]</sup>和孙赛初等(1985)<sup>[18]</sup>的观点一致。

过氧化物酶是植物体内常见的氧化还原酶,它可催化有毒物质氧化分解,它又是一种对环境因子十分敏感的酶,环境被污染时,其活性和同工酶都发生急剧变化。这种自我调节保证了植物对污染环境的适应,同时可利用其变化来判断污染物毒性的大小<sup>[18]</sup>。Cd引起过氧化物酶活性上升的原因可能是由于Cd使有毒物质过氧化氢急剧增加,增加了过氧化物酶底物的缘故。因此,过氧化物酶活性可作为Cd污染的生理指标。

#### 5. Cd污染对烟草叶片细胞膜透性的影响

图6表明,随Cd处理浓度的增加,烟草叶片细胞膜透性大,相关系数 $r$ 为0.9664,呈极显著正相关,这与孙赛初等(1985)<sup>[18]</sup>在水生维管束植物凤眼莲、菜、苕菜和紫背萍中的试验结果和Jurg(1982)<sup>[15]</sup>的结论一致。

细胞膜是选择透过性膜,它能调节和控制细胞内外物质的运输和交换。当烟草受到Cd毒害时,细胞膜被破坏,其选择透性机能受损,透性增大,使细胞内一些可溶性物质外渗,破坏了细胞内酶及代谢作用原有的区域性,这是烟草受害的原因之一。

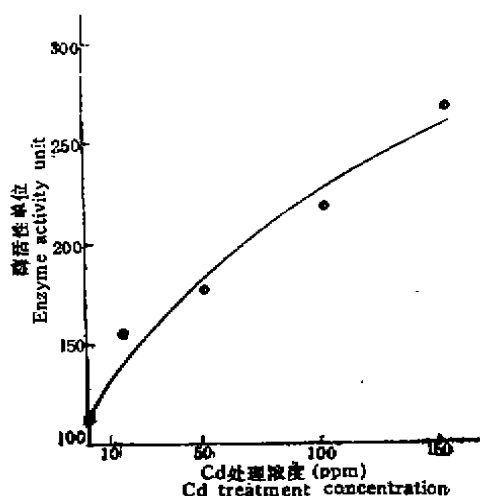


图5 烟草叶片过氧化物酶活性与Cd浓度的关系  
Fig.5 The relation between the activity of peroxidase in leaves of tobacco and Cd treatment concentration

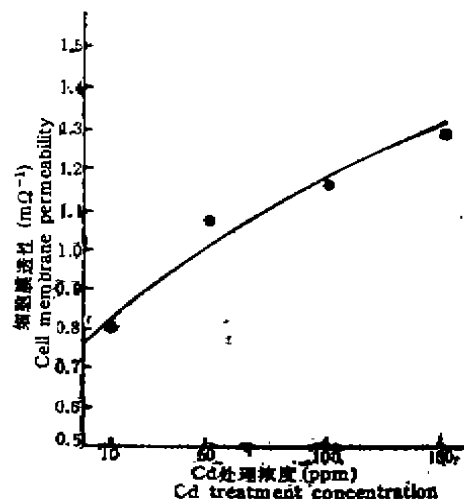


图6 烟草叶片细胞膜透性与Cd浓度的关系  
Fig.6 The relation between the CMP in leaves of tobacco and Cd treatment concentration

Cd处理导致细胞膜透性增大的原因可能是Cd与膜蛋白的-SH结合,或与磷酸酰乙醇胺和单分子层的磷脂丝氨酸反应<sup>[20]</sup>,造成膜蛋白的磷脂结构的改变,致使膜结构改变,膜透性增大。

#### 四、小 结

##### 1. Cd与Fe的相互作用

在本试验的土壤条件下,烟草叶片叶绿素含量、总烟碱含量、蛋白质含量3个指标的试验结果表明,Cd与Fe有交互作用,Cd与Fe相互拮抗。

##### 2. 加Fe可缓解Cd对烟草的毒害

从过氧化氢酶活性、吡啶乙酸氧化酶活性氨基酸总含量,脯氨酸和氨含量<sup>[18]</sup>及本文的3个生理指标的试验结果表明,Cd的毒害可通过加Fe得到缓解。在Cd污染的地区,叶面经喷施Fe溶液<sup>[19]</sup>和施加Fe盐<sup>[20]</sup>以减弱Cd毒害,是可行的。

##### 3. 过氧化物酶活性和细胞膜透性可作为烟草Cd毒害的生理指标

Cd污染会导致烟草叶片过氧化物酶活性和细胞膜透性增加,且均为极显著正相关,因此,它们可作为烟草Cd毒害的生理指标。

#### 参 考 文 献

- [1] Weigel H. J. et al, Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plants, *Plant Physiol* 1980, 65:480-482.
- [2] Lepp N. W., Effects of heavy metal pollution on plants, *Applied Science* 1,2,1981.
- [3] 邹邦基等,植物的营养,农业出版社,1985,207-226.
- [4] Coughtrey P. J. et al, Tolerance of *Holus lanatus* of lead zinc and cadmium in factorial combination, *New Phytologist* 1978, 81:147-154.

- [5] Smith G. C. et al, Cadmium sensitivity of soybean related to efficiency in iron utilization, *Environ. Experi. Bot.* 1985, 25(2):99—106.
- [6] Wong M. K. et al, The uptake of cadmium by *Brassica chinensis* and its effect on plant zinc and iron distribution *Environ. Experi* 1984, 24(2):189—195.
- [7] Foster P. L. et al, Reversal of cadmium toxicity in diatom: An interaction between cadmium activity and iron, *Limnol. Oceanogr* 1982, 27:745—752.
- [8] Frank R. H. et al, Metal contents and insecticida residues in tobacco soil and cured tobacco leaves collected in southern Ontario, *Tob. sci.* 1977, 21:74—80.
- [9] 任继凯等, 土壤中铜、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.
- [10] Clarke B. B. et al, Tobacco leaves accumulate cadmium from root applications of the heavy metal, *Tob. sci.* 1983, 28:152—153.
- [11] 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.
- [12] George J. W. et al, Variation in cadmium accumulation potential and tissue distribution of cadmium in tobacco, *Plant Physiol* 1986, 82:247—249.
- [13] 李 元等, Cd、Fe及其复合污染对烟草生理的影响, *环境科学学报* 1990, 10(4):494—500.
- [14] 华东师范大学生物系植物生理教研组, *植物生理学实验指导*, 人民教育出版社, 1980, 189—191.
- [15] 云南省烟草工业研究所翻译本, *烟草及烟草制品常规化学分析操作规程*, 1980, 4—13.
- [16] Root R. A. et al, Uptake of cadmium - its toxicity and effect on the iron ratio in hydroponically grown corn, *J. Environ. Qual.* 1975, 54:473—478.
- [17] 孙泰初等, 水生维管束植物受镉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.
- [18] Burton K. W. et al, Chlorophyll as an indicator of the upper critical tissue concentration of cadmium in plants, *Water Air Soil Pollu.* 1986, 27(1—2):147—154.
- [19] Hewitt E. J., Relation of manganese and some other metals to the iron status of plants of plants, *Nature Land.* 1948, 161:489—490.
- [20] Kin M. J. et al, Effect of zinc, phosphorus and iron on the cadmium uptake and accumulation by hydroponically grown tomato, *J. Koren. Agric. Chem. Soc.* 1978, 21:40—50.
- [21] Bogorad L. et al, The structure of chlorophylls in leaf tissue of iron deficient Xanthium, *Brookhaven Symp.* 1959, 11:651—660.
- [22] Verma M. P. et al, Macromolecular interaction with cadmium and the effects of zinc, copper, lead and mercury ions, *Biological Trace Element Research.* 1982, 4:35—43.
- [23] Wagner G. J. et al, Inducible cadmium binding complexes of cabbage and tobacco, *Plant Physiol.* 1982, 69:804—808.
- [24] Lee K. C. et al, Effect of cadmium on respiration rate and activities of several enzymes in soybean seedling, *Physiol. Plant* 1976, 34:4—6.
- [25] Jurg Fuhre, Ethylene biosynthesis and cadmium toxicity in leaf tissue of beans (*Phaseolus vulgaris* L.), *Plant Physiol.* 1982, 70:162—167.
- [26] Vallee B. I. et al, Biochemical effects of mercury, cadmium and lead, *Annu. Rev. Biochem.* 1972, 41:81—128.

## EFFECTS OF CADMIUM AND IRON ON THE SOME PHYSIOLOGICAL INDICATORS IN LEAVES OF TOBACCO

Li Yuan Wang Huan-Xiao Wu Yu-Shu

(Biology Department, Yunnan University, Kunming, 65001)

Based on the pots and simulated field experiments, this paper provided information about the changes of some physiological indicators in leaves of tobacco *Nicotiana tabacum* under the treatment of single Cd, single Fe, Cd+Fe and Fe+Cd. The results showed the contents of chlorophyll a, chlorophyll

b and chlorophyll a+b in leaves of tobacco decreased with the increase of the concentration of Cd, and increased with the increase of the concentration of Fe. The contents of nicotine decreased with the increase of the concentration of Cd(0—100ppm), and increased a little by Cd 150ppm, and increased with the increase of the concentration of Fe. The contents of protein increased with the increase of the concentration of Cd, and decreased with the increase of the concentration of Fe. Therefore, the effect of Cd on chlorophyll, nicotine and protein decreased by Fe, the effect of Fe on them decreased by Cd. The interaction between Cd and Fe was antagonistical, antagonistical mechanism have been frequently investigated. Besides, We researched the changes of the activity of peroxidase and CMP in leaves of tobacco under the treatment of single Cd. The results showed the activity of peroxidase and CMP increased with the increase of the concentration of Cd.

**Key words:** the leaves of tobacco, Cd, Fe, physiological indicator, antagonism.