

镉胁迫对烟草根抗氧化能力和激素含量的影响

袁祖丽¹, 吴中红¹

(1. 河南农业大学生命科学学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 采用水培试验, 研究了镉胁迫对烟草 (*Nicotiana tabacum*) 根内的超氧阴离子含量、可溶性蛋白质含量、抗氧化系统 SOD、POD、CAT、APX、GR 活性、膜质过氧化水平及激素 IAA、ABA、GA₃、ZR 含量的影响。结果显示烟草根中的超氧阴离子含量随着镉浓度增大而升高; 镉浓度为 5mg/L 时, 可溶性蛋白质含量增加, 但随着镉浓度增加, 可溶性蛋白质含量急剧下降; SOD、CAT、APX 活性在镉浓度为 5mg/L 时上升, 但随着镉浓度升高其活性下降; POD、GR 活性在镉浓度为 5—25mg/L 时上升, 在镉浓度为 50mg/L 时下降, 但仍高于对照; MDA 含量随着镉浓度增加而升高; IAA 氧化酶活性在镉浓度 5mg/L 时下降, 但随着镉浓度的升高而降低; IAA 含量在镉浓度为 5mg/L 时上升, 但随着镉浓度增加, IAA 氧化酶活性升高, 导致 IAA 含量逐渐下降; 镉胁迫对烟草根中 ABA 合成表现为促进作用; GA₃ 含量在镉浓度为 5mg/L 时上升, 但随着镉浓度的增加其含量逐渐下降; ZR 含量在镉胁迫下迅速减少。

关键词: 镉; 烟草; 根; 抗氧化能力; 激素

Effect of cadmium on antioxidative capability and phytohormone level in tobacco roots

YUAN Zuli¹, WU Zhonghong¹

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

Abstract: Cadmium (Cd) is one of major environmental pollutants mainly emanating from mining, industrial trash, anthropogenic activity and use of agro-chemicals. Even in trace concentrations, Cd can cause serious problems to all organisms. In most plant species, Cd accumulated in the roots and was mainly retained in insoluble and soluble forms. Cd inhibited root growth, damaged root hair and root tips by modifying lipid composition of root plasma membrane, increasing the levels of lipid peroxidation. However, it is still unclear about the effect of Cd on the changes in superoxide anions and phytohormone levels, antioxidative capability of CAT, APX and GR in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) roots.

In the present study, the contents of superoxide anions, soluble proteins, phytohormones, the levels of antioxidative capability and lipid peroxidation in roots were determined. Tobacco seedlings with six leaves and same height were cultivated hydroponically in pots containing Hoagland's nutrient solution. After 15d Cd (NO₃)₂ was added to nutrient solution at 0, 25, and 50 mg/L (calculated as Cd). Each treatment was replicated three times. The seedlings were aerated 3 h everyday.

Root tip segments (3 cm) were used to determine the content of Cd. 0.1g dried root samples were ground and the powder was digested with a mixture of HNO₃ + HCl + HClO₄ 3:2:1.5). Samples were evaporated to dry on a plank heated by electricity at 300℃. The elements were extracted with 10% HCl. The samples were put in inductively coupled plasma to determine content of Cd.

The content of superoxide anions was assayed according to the method of colorimetry; The content of soluble protein and the activity of GR and APX was determined with UV spectrophotometer; The activity of SOD was determined according to the method of nitroblue tetrazolium; The activity of CAT was determined according to visible spectrophotometry; The

基金项目: 河南省教育厅自然科学基金资助项目(2006180012)

收稿日期: 2009-08-20; **修订日期:** 2010-04-06

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zuliuyan@yahoo.com.cn

content of MDA was determined according to the method of thiobarbituric acid reaction; The activity of POD was determined according to colorimetry; The level of phytohormones was assayed according to the enzyme-linked immunosorbent assay.

The results showed that the content of superoxide anions increased with the concentration of Cd. The content of soluble protein increased at 5mg/L of Cd, but decreased at higher Cd concentration. Activities of SOD, CAT and APX increased at 5mg/L Cd, but decreased at higher Cd concentration. Activities of POD and GR increased at the 5—25mg/L range of Cd, then decreased at 50 mg/L of Cd, but was still higher than the control. The content of MDA increased with concentration of Cd. Activity of IAA oxidase increased at 5mg/L of Cd, but decreased with the increase of Cd concentration. The content of IAA and GA at 5mg/L of Cd, but decreased at higher Cd concentrations. With Cd concentration increasing, the content of ABA gradually increased, while the content of ZR sharply decreased. This study will help us to further understand Cd toxicity to tobacco roots.

Key Words: cadmium; tobacco; roots; antioxidative capability; phytohormones

镉是一种植物非必需的重金属元素,对植物的生长发育造成一系列伤害,如降低光合作用、减少水分养分的吸收,结果造成叶片失绿、生长障碍、根尖褐变,甚至死亡^[1-3]。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的大量积累,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^[4]。植物的生长过程既受体内产生的各种酶变化影响,同时也受各种内源激素的调控,由于各种内源激素的合成都需要一定的环境条件,所以当环境条件不利时则影响某种内源激素合成而影响植物生长发育。当植物受到逆境胁迫时,其体内酶和激素都会发生变化,产生防御胁迫的适应能力^[5]。烟草是普遍栽培的经济作物,云烟 85 品种是我国栽培的主要品种之一,其产量、产值和上中等烟比例最高^[6]。我国烟草的不少主产区也是金属元素的富集地区,如昆明西郊环境镉污染状况土壤中镉含量高达 $23.1\mu\text{g/g}$,均值为 $5.1\mu\text{g/g}$,为昆明地区背景值的 6.3 倍,镉污染区占农田总面积的 53.3%^[7]。虽然不少作者从不同侧面研究了镉胁迫对烟草部分抗氧化能力的影响^[8-10],但未涉及超氧阴离子自由基浓度的变化及过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和谷胱甘肽还原酶(GR)抗氧化能力的报道。某些外源激素可减缓重金属引起的氧化胁迫^[11],但镉胁迫下烟草激素含量的变化也未见报道,因此本试验旨在探讨镉胁迫下烟草根氧化胁迫状况、抗氧化能力、膜脂过氧化水平及内源激素含量的变化,以期能深入了解镉毒害的机理,并为烟草抗镉胁迫机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设计

试验材料为烤烟品种云烟 85(*Nicotiana tabacum* L)。营养液的配制按 Hoagland^[12] 配方配制。

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镉浓度为 0(对照 CK)、5、25、50mg 的溶液,每个处理重复 3 次。

1.2 试验方法

烟草种子经 1% 高锰酸钾消毒 15min 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 $50\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$,温度 $26^\circ\text{C}/20^\circ\text{C}$ (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 1 次新营养液。当幼苗长至 6 片叶时,取长势一致的幼苗,用流水仔细洗去根上泥土,再用去离子水冲洗 3 次,移栽至 Hoagland 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。取样部位为自根尖顶端起至 3cm 处,先将样品用去离子水洗净、用吸水纸吸干表面水分,待测。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 烟草根内镉含量的测定

称取烘干磨碎的烟草根 0.1g,将试验材料放入 6mL 的硝酸 + 盐酸 + 高氯酸(按 3:2:1.5 比例)的酸液中

(硝酸浓度 1.40g/mL;盐酸浓度 1.19g/mL;高氯酸浓度 1.67g/mL),置于 300℃ 的电热板蒸干,然后用 1mL 10% 的盐酸提取,定容至 10mL,用电感耦合等离子体(ICP-AES)IRIS INTREPID 型全谱直读光谱仪测定(美国 Thermo Elemental)。0.38m 焦距,中阶梯光栅 52.6 条/mm,21℃ 石英棱镜,电荷注入式(CID)检测器,INTELLIFRAME TM IMAGE RESEARCH SYSTEM 智能摄谱 512×512 像素(pixel),波长范围 165—1050nm,每个处理重复 3 次。

1.3.2 超氧阴离子自由基浓度的测定

按吴荣生等的方法测定^[13-14]。

1.3.3 可溶性蛋白质含量的测定

采用紫外吸收法^[15]。

1.3.4 抗氧化酶及丙二醛(MDA)含量的测定

超氧化物歧化酶(SOD)、CAT 活性及 MDA 的含量按邹琦等的方法测定^[16]。过氧化物酶(POD)活性按照萧浪涛等的方法测定^[17]。GR 和 APX 活性按照宋松泉^[18]等人的方法测定。

1.3.5 生长素氧化酶活性的测定

采用紫外分光光度计法^[19]。

1.3.6 植物内源激素含量的测定

按酶联免疫法测定生长素(IAA)、脱落酸(ABA)、赤霉素(GA₃)、玉米素核苷(ZR),试剂盒购自中国农业大学作物化控研究室。按说明书进行操作。

1.4 数据处理

每项测定重复 3 次。实验数据用 DPS v3.01 专业版软件中实验设计进行单因素统计分析。

2 结果与分析

2.1 烟草根内镉含量

由图 1 可以看出,烟草根内镉含量随着镉胁迫浓度的增加而显著增加,当镉浓度为 5mg/L 时,根内镉含量为 208.3μg/g 干重;当镉浓度为 25mg/L 时,根内镉含量为 573.2μg/g 干重;当镉浓度为 50mg/L 时,根内镉含量为 986.4μg/g 干重。

2.2 镉胁迫对烟草根超氧阴离子浓度的影响

图 2 显示,随着镉胁迫浓度增加,根中超氧阴离子含量急剧升高。当镉浓度为 5mg/L 时,根中超氧阴

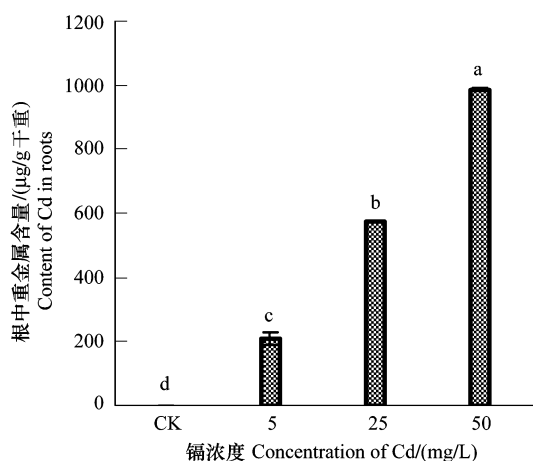


图 1 烟草根中镉含量

Fig. 1 Content of cadmium in tobacco roots

图中相同字母的表示差异未达到 5% 显著水平

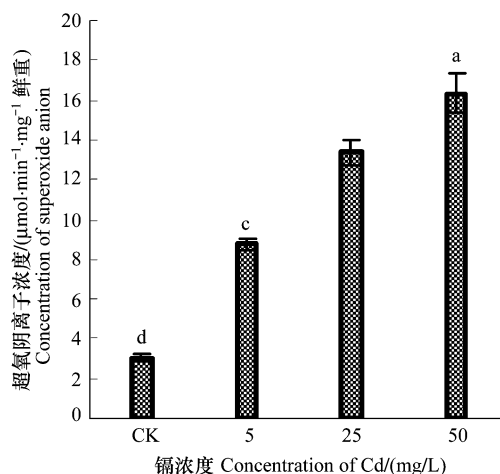


图 2 镉对烟草根超氧阴离子浓度的影响

Fig. 2 Effect of cadmium on superoxide anion concentration in tobacco roots

图中相同字母的表示差异未达到 5% 显著水平

离子浓度比对照显著上升 186.7% ;当镉浓度为 25mg/L 时,根中超氧阴离子含量显著高于对照 338.2% ;当镉胁迫浓度高至 50mg/L 时,根中超氧阴离子含量最高,比对照显著增加了 436.2% 。可见镉胁迫引起了烟草根内活性氧的大量产生。

2.3 镉胁迫对烟草根可溶性蛋白质含量的影响

在镉浓度为 5mg/L 时(图 3),烟草根中可溶性蛋白质含量达到最大并且显著高于对照 25.6% ,但随着镉浓度增大,根中蛋白质含量急剧下降;当镉浓度达 25mg/L 时,根中可溶性蛋白质含量比对照显著下降 33.2% ;当镉浓度为 50mg/L 时,根中可溶性蛋白比对照显著下降 75.2% 。

2.4 镉胁迫对烟草根抗氧化能力的影响

2.4.1 镉胁迫对烟草根 SOD 活性的影响

从图 4 可以看出,当镉浓度为 5mg/L 时 SOD 活性最大,显著高于其它处理,随着镉浓度增加,SOD 活性迅速下降;当镉浓度达到 25mg/L 时,SOD 活性比 5mg/L 显著下降 47.5% ,但仍显著高于对照 39.6% ;当镉浓度为 50mg/L 时,SOD 活性比 25mg/L 显著下降 58.1% ,比对照显著下降 41.5% ;这表明镉浓度在 5—25mg/L 期间时,能促进叶片中 SOD 活性,而高于此浓度时,则导致 SOD 活性下降。

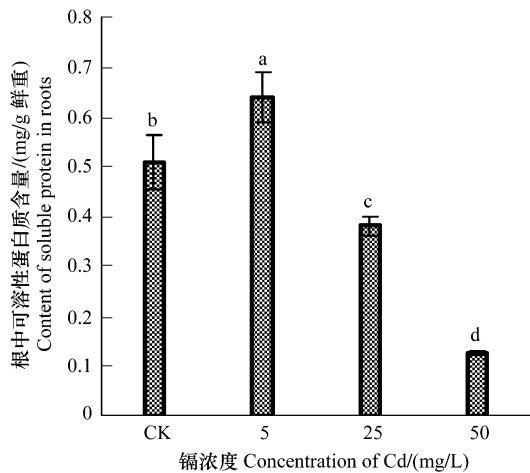


图 3 镉对烟草根可溶性蛋白质含量的影响

Fig. 3 Effect of cadmium on soluble protein content in tobacco roots

图中相同字母的表示差异未达到 5% 显著水平

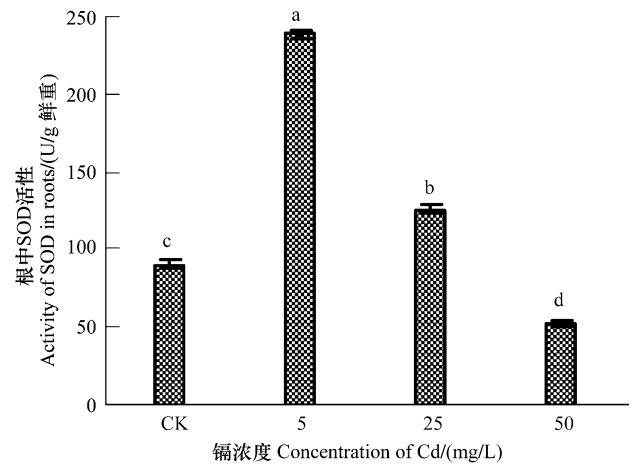


图 4 镉对烟草根 SOD 活性的影响

Fig. 4 Effect of cadmium on SOD activity in tobacco roots

图中相同字母的表示差异未达到 5% 显著水平

2.4.2 镉胁迫对烟草根 POD 活性的影响

图 5 表明,镉浓度为 5mg/L 时,POD 活性比对照升高 4.0% ;当镉浓度为 25mg/L 时,POD 活性达到最大,比对照显著提高了 48.5% ;当镉浓度在 50mg/L 时,POD 活性开始下降,仍显著高于对照 23.8% 。

2.4.3 镉胁迫对烟草根 CAT 活性的影响

CAT 活性在镉浓度为 5mg/L 时达到最大(图 6) ;当镉浓度大于 5mg/L 时,CAT 活性开始下降;当镉浓度增大至 25mg/L 时,CAT 的活性降到最低,显著低于对照 45.7% 。当镉浓度为 50mg/L 时,比对照显著下降 12.8% ;

2.4.4 镉胁迫对烟草根 APX 活性的影响

由图 7 可以看出,随着镉胁迫浓度增大,APX 活性呈现先增加后下降的趋势。当镉浓度为 5mg/L 时,APX 活性达到最大,显著高于对照 11.5% ,随着镉浓度增大,APX 活性逐渐下降,当镉浓度增大至 25mg/L 时,比对照下降 2.2% ;当镉浓度增大至 50mg/L,APX 活性比对照下降 5.8% 。

2.4.5 镉胁迫对烟草根 GR 活性的影响

图 8 显示,当镉浓度为 5mg/L 时,GR 活性显著高于对照 36.5%;当镉浓度为 25mg/L 时,GR 活性达到最大,显著高于对照 145.3%;当镉浓度增大至 50mg/L 时,GR 活性虽然下降,但仍显著高于对照 29.5%。

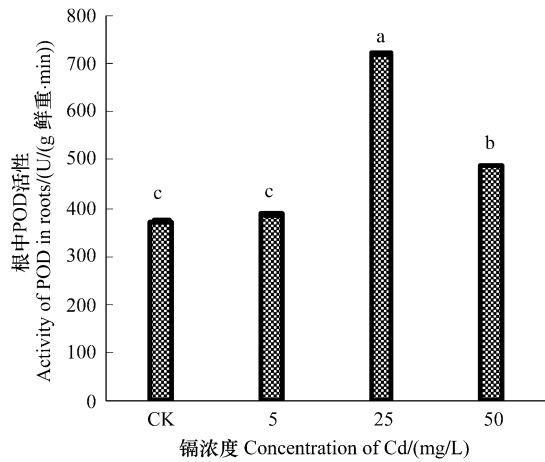


图 5 镉对烟草根 POD 活性的影响

Fig. 5 Effect of cadmium on POD activity in tobacco roots

图中相同字母的表示差异未达到 5% 显著水平

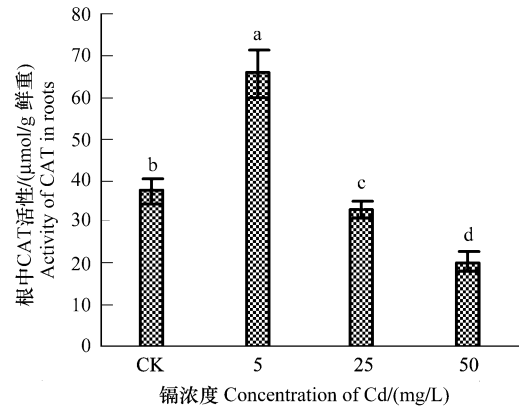


图 6 镉对烟草根 CAT 活性的影响

Fig. 6 Effect of cadmium on CAT activity in tobacco roots

图中相同字母的表示差异未达到 5% 显著水平

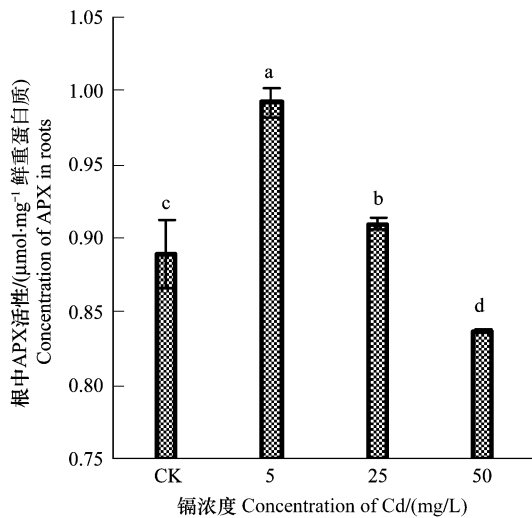


图 7 镉对烟草根 APX 活性的影响

Fig. 7 Effect of cadmium on APX activity in tobacco roots

图中相同字母的表示差异未达到 5% 显著水平

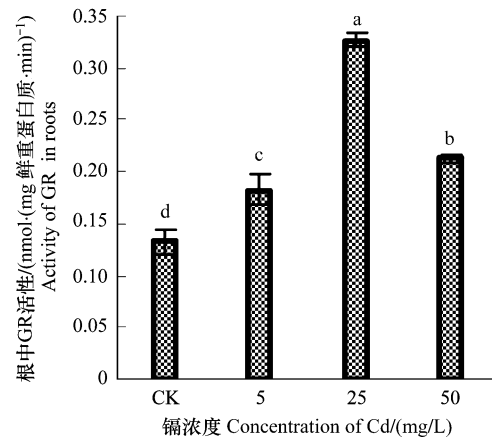


图 8 镉对烟草根 GR 活性的影响

Fig. 8 Effect of cadmium on GR activity in tobacco roots

图中相同字母的表示差异未达到 5% 显著水平

2.4 镉胁迫对烟草根膜脂过氧化水平 MDA 含量的影响

试验结果显示(图 9),随着镉浓度升高,烟草根中膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)含量逐渐增加,与对照相比,当镉浓度为 5mg/L 时,增幅最小,但仍比对照显著增加 11.7%;当镉浓度为 25mg/L 时,比对照显著增加 91.4%;当镉浓度为 50mg/L 时,MDA 含量最高,比对照显著增加 186.1%;

2.5 镉胁迫对烟草根激素的影响

2.5.1 镉胁迫对烟草根生长素氧化酶的影响

IAA 氧化酶活性在低浓度镉胁迫时下降,而高浓度镉胁迫时上升(图 10)。当镉浓度在 5mg/L 时,IAA 氧化酶活性急剧下降,显著低于对照 33.2%;当镉浓度增至 25mg/L 时,根中 IAA 酶活性急剧上升,与对照相比

显著高于对照 155.1% ;当镉浓度高至 50mg/L 时,IAA 氧化酶活性达到最高,比对照显著升高 196.7%。

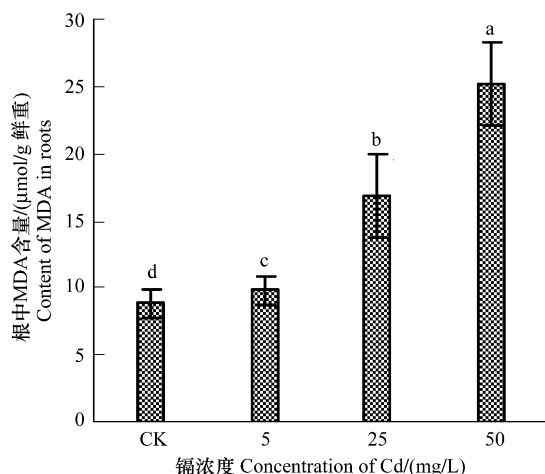


图9 镉对烟草根 MDA 含量的影响

Fig. 9 Effect of cadmium on MDA content in tobacco roots

图中相同字母的表示差异未达到 5% 显著水平

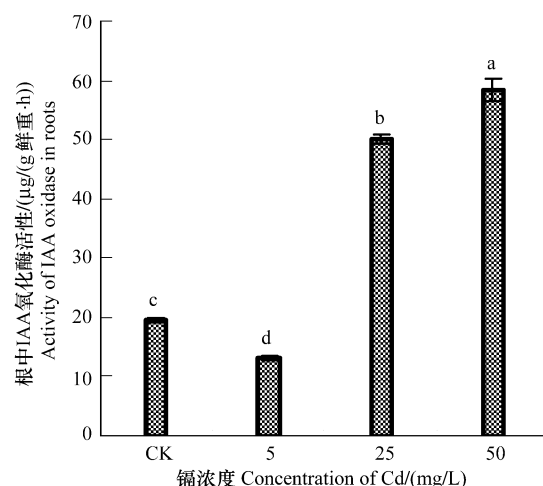


图10 镉对烟草根 IAA 氧化酶活性的影响

Fig. 10 Effect of cadmium on IAA oxidase activity in tobacco roots

图中相同字母的表示差异未达到 5% 显著水平

2.5.2 镉胁迫对烟草根 IAA 含量的影响

图 11 表明,当镉浓度为 5mg/L 时,根中 IAA 含量急剧升高,显著高于对照 67.4% ;当镉浓度增至 25mg/L 时,根中 IAA 含量比对照显著下降了 14.4% ;当镉浓度增大至 50mg/L 时,IAA 含量比对照下降 27.7%。该结果可能是在镉浓度为 5mg/L 时,IAA 氧化酶活性低,随着镉浓度增高,IAA 氧化酶活性显著升高所致。

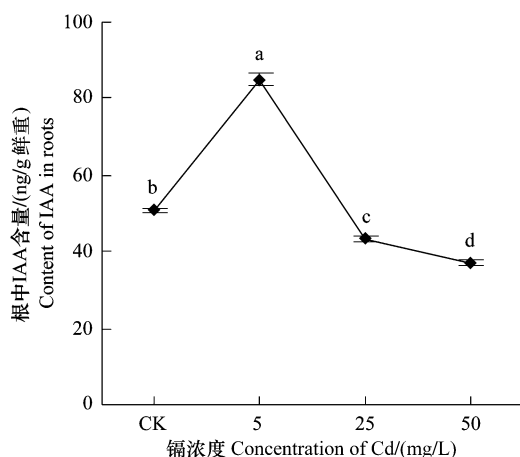


图11 镉对烟草根 IAA 含量的影响

Fig. 11 Effect of cadmium on IAA content in tobacco roots

图中相同字母的表示差异未达到 5% 显著水平

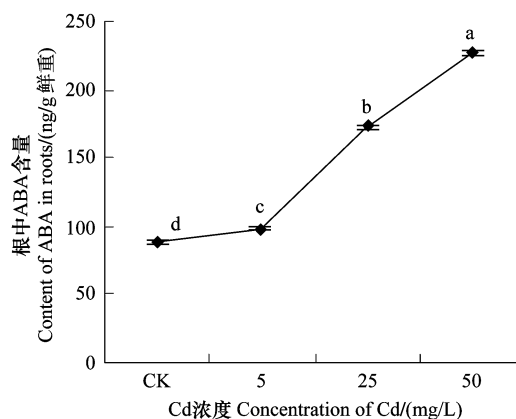


图12 镉对烟草根 ABA 含量的影响

Fig. 12 Effect of cadmium on ABA content in tobacco roots

图中相同字母的表示差异未达到 5% 显著水平

2.5.3 镉胁迫对烟草根 ABA 含量的影响

镉胁迫对烟草根中 ABA 合成均表现为促进作用(图 12)。当镉浓度为 5mg/L 时,ABA 含量比对照显著上升 11.4% ;当镉浓度为 25mg/L 时,根中 ABA 显著高于对照 96.1%。当镉浓度为 50mg/L 时,根中 ABA 含量达到最大值,显著高于对照 157.4%。

2.5.4 镉胁迫对烟草根 GA₃ 含量的影响

从图 13 可知,当镉浓度为 5mg/L 时,GA₃ 含量显著高于 18.0% ,但是随着镉浓度增加,根中 GA₃ 含量逐渐

下降,当镉浓度增至 25mg/L 时,烟草根中 GA_3 的含量显著低于对照 15.6%;当镉浓度增至 50mg/L 时,烟草根中 GA_3 的含量比对照低 37.8%。

2.5.5 镉胁迫对烤烟根 ZR 含量的影响

图 14 表明,不同浓度镉胁迫对烟草根中 ZR 合成具有明显抑制作用。试验结果显示,随着镉浓度增加,根中 ZR 含量逐渐减少,当镉浓度在 5mg/L 时,根中 ZR 含量急剧下降,比对照显著下降 72.9%;当镉浓度增至 25mg/L 时,ZR 含量低于对照,比对照降低 75.7%;但随着镉浓度的增大,ZR 含量下降幅度趋向较缓慢,当镉浓度增加至 50mg/L 时,显著低于对照 80.5%。

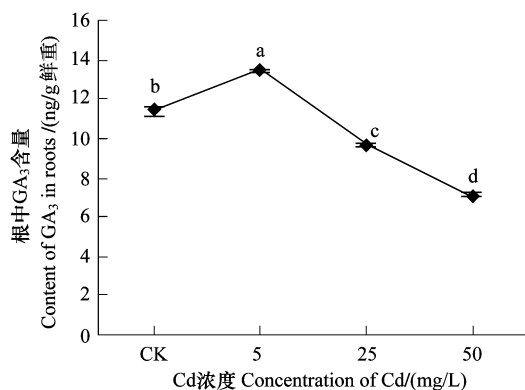


图 13 镉对烟草根 GA_3 含量的影响

Fig. 13 Effect of cadmium on GA_3 content in tobacco roots

图中相同字母的表示差异未达到 5% 显著水平

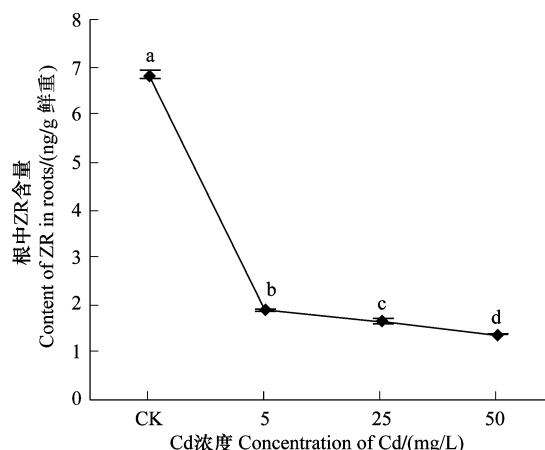


图 14 镉对烟草根 ZR 含量的影响

Fig. 14 Effect of cadmium on ZR content in tobacco roots

图中相同字母的表示差异未达到 5% 显著水平

3 结语与讨论

3.1 镉胁迫对烤烟超氧阴离子自由基抗氧化系统的影响

活性氧自由基包括超氧阴离子(O_2^-)、羟自由基($OH\cdot$)和过氧化氢(H_2O_2)等。由于自由基外层具有奇数价电子,因此其化学性质非常活泼,它既是电子供体,又是电子受体,即既具有很强的还原性,又具有很强的氧化性,过量生成可致组织损伤。它们可攻击所有的生物分子,如核酸、蛋白质、脂类、和氨基酸^[20-21],导致不可修复的机能障碍和细胞死亡。正常条件下,植物细胞中产生活性氧与其清除保持平衡,而当环境胁迫长期作用于植株,产生的活性氧超出了清除系统的清除能力时,使活性氧产生和清除的动态平衡被打破,引起活性氧累积而产生氧化伤害,从而使细胞功能失常,机体出现各种自由基综合症^[22]。SOD 在植物体内是清除活性氧的有效酶,可将其转变为氧化作用相对较弱的 H_2O_2 ;而细胞一方面可通过过氧化氢酶分解 H_2O_2 ,另一方面 CAT 可利用 H_2O_2 氧化各种有害的底物,阻止它们进一步产生氧化性质更强的 $OH\cdot$,使之变成无毒性的物质;第三,通过 POD 把 H_2O_2 转化为 H_2O 和 O_2 ;第四,通过抗坏血酸(ASA)-谷胱甘肽(GSH)循环系统将 H_2O_2 还原为 H_2O ,该系统是清除活性氧和自由基的重要途径,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^[23,24],抑制膜脂过氧化作用。在抗坏血酸-谷胱甘肽系统中,APX 以 ASA 为底物将 H_2O_2 还原为 H_2O ,而 GR 是抗坏血酸-谷胱甘肽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^[25],GSH 也可作为合成植物螯合肽(phytochelatins,PCs)的原料^[26],而 PCs 在解除重金属毒害过程中有重要作用。总之,各种抗氧化系统相互补充、相互依赖协调组成防御体系。

烟草根中的超氧阴离子含量随着镉浓度增大而逐渐升高,且显著高于对照。在镉浓度为 5mg/L 时,SOD、CAT、APX 活性上升,然后随着镉浓度升高其活性下降;POD,GR 活性在镉浓度为 5—25mg/L 时上升,然后随着镉浓度升高活性下降,但均高于对照。在低浓度镉胁迫下,烟草体内活性氧增多,抗氧化酶活性也应急性升

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,但随着镉浓度的增大,活性氧增多,超过了抗氧化能力限度,可能抑制了酶的合成,或导致酶失活,从而造成酶活性降低。这与薛泰麟等^[27-28]研究相一致。APX 活性呈现先升后降趋势,可能与 ASA 作为反应底物浓度有关。Okmanen 等人发现 APX 活性与 ASA 含量一致。低浓度镉胁迫下,ASA 具有还原和络合镉的作用,能清除植物体内受镉胁迫产生的活性氧。但镉浓度超过一定界限时,ASA 浓度下降,APX 活性降低^[29]。GR 活性均高于对照,原因可能是低浓度镉胁迫加强了基因的表达^[30]。

低浓度镉胁迫时,可溶性蛋白质含量增加,而高浓度镉胁迫时,可溶性蛋白质含量急剧下降,这与 John 和 Dinakar 的结果一致^[31, 28]。Rumaih 发现镉胁迫下加入 GA_3 可增加蛋白质含量^[32]。本研究中,可溶性蛋白质含量与 GA_3 的变化趋势一致。

3.2 镉胁迫对烤烟膜脂过氧化的影响

MDA 含量是反映膜脂过氧化作用强弱的一个指标。MDA 可通过产生共价结合物对蛋白质造成损害,这些共价结合物可能在老化的过程中参与了对组织的破坏^[33]。本试验结果表明,MDA 含量随着镉浓度增加而升高,MDA 含量的增加象征着活性氧自由基的形成。这与 Dixit^[34]观点一致。

3.3 镉胁迫对烤烟内源激素含量的影响

IAA 氧化酶活性在镉浓度 5mg/L 时下降,但随着镉浓度的升高而降低;IAA 含量在镉浓度 5mg/L 时上升,但随着 IAA 氧化酶活性的升高,IAA 含量逐渐下降。这与 Parmar^[35]的研究结果一致。IAA 氧化酶是一种调节植物体内生长素水平的酶,IAA 主要通过 IAA 氧化酶而降解,IAA 氧化酶通过调节 IAA 水平从而影响植物体生长发育^[36]。IAA 含量与其氧化酶之间存在着反比关系^[37]。IAA 氧化酶活性愈高,IAA 含量愈少,生长受抑制的程度也就越大^[38]。

镉胁迫对烤烟根中 ABA 合成均表现为促进作用,与前人的研究结果一致^[39-41]。大量研究结果表明重金属阻碍植物的生长,可能原因是增加了植物体内 ABA 含量,因为 ABA 是一种有效的植物生长抑制激素,而根尖是 ABA 生物合成的位点之一,而这个位点也是根吸收重金属的重要位点^[42]。植物体内 ABA 的积累与抗逆性增强也存在着显著正相关^[43, 40]。ABA 可诱导或增强抗性基因的转录活性,进一步对植物提供保护作用^[44]。

GA_3 含量在镉浓度为 5mg/L 时上升,这与在该浓度时 IAA 氧化酶活性低一致,因为 GA_3 通过抑制 IAA 氧化酶活性而提高 IAA 水平。 GA_3 还可促进 IAA 合成前体增多,并促进 IAA 由束缚型转为游离型,但随着镉浓度的增加, GA_3 含量逐渐下降,所以 IAA 含量也逐渐减少。

ZR 含量在镉胁迫下迅速减少,原因可能是镉提高了 ZR 氧化酶的活性^[45]。ZR 含量高可减少膜质过氧化^[46],Thomas 认为铜胁迫可造成 MT-L2 mRNA 转录水平显著减少,MT-L2 mRNA 转录水平可能直接由 ZR 调节,或间接的由 ZR 调节的抗氧化活性而调节^[47]。

References:

- [1] Padmaja K, Prasad D D K, Prasad A R K. Inhibition of chlorophyll synthesis in *Phaseolus vulgaris* Seedlings by cadmium acetate. *Photosynthetica*, 1990, 24: 399-405.
- [2] Moya J L, Ros R, Picazo I. Influence of cadmium and nickel on growth, net photosynthesis and carbohydrate distribution in rice plants. *Photosynthesis Research*, 1993, 36: 75-80.
- [3] Sch tzend bel A, Nikolova P, Rudolf C, Polle A. Cadmium and H_2O_2 -induced oxidative stress in *Populus canescens* roots. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2002, 40: 577-584.
- [4] Jonathan J H, Ross M W, Wendell A N. Characterization of cadmium binding, uptake, and translocation in intact seedlings of bread and durum wheat cultivars. *Plant Physiology*, 1998, 116: 1413-1420.
- [5] Xia H P. Research progress of soil-plant system. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 1997, 3(3): 289-298.
- [6] Wei J Y, Jin Y B, Wu F, Qv R. Study on adaptability of flue-cured tobacco varieties K326, Yunyan 85, Yunyan 87. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 2008, 36(6): 2362-2363. 2372

- [7] Zhu F M, Liu F, Zou X X, Effect of cadmium pollution on human health. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2002, 12(5): 602-603.
- [8] Yuan Z L, Ma X M, Han J F. Effect of Cd contamination on ultramicroscopic structure and some elements content of tobacco leaves. Acta Ecologica Sinica, 2005, 25(11): 2920-2926.
- [9] Gao J H, Wang S H. Effects of cadmium stress on the growth and physiological characteristics of flue-cured tobacco. Journal of Agro-Environment Science, 2006, 25(5): 1167-1170.
- [10] Yan C L, Lin P, Wang X R. Response of membrane protection enzyme system of tobacco leaves on Hg, Cd and Pb stress in soil. Acta Biologiae Experimentalis Sinica, 2002, 35(3): 170-172.
- [11] Zhou H W, Shi G X, Chen J Y. Relieving to Hg^{2+} injury of alternanthera philoxeroides 'antioxidant enzyme system by sprayed 6-BA. Acta Ecologica Sinica, 2003, 23 (2): 387-391.
- [12] Hoagland D R and Arnon D I. The water culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experimental Station, Circular, 1938, 347: 1-39.
- [13] Wu R S, Jiao D M, Tong H Y. Survey and application of rice leaves superoxide radical. Jiangsu Agricultural Sciences, 1994, 1: 16-17.
- [14] Wang A G, Luo G H. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants. Plant Physiology Communication. 1990, 6: 55-57.
- [15] Gao J F. Guidance of plant physiology. Beijing: Higher Education Press, 2006: 143-144.
- [16] Zou Q. Guidance of plant physiological and biochemical experiment. Beijing: China Agricultural Press, 2000: 168-170.
- [17] Xiao L T, Wang S G. Technique of plant physiological experiment. Beijing: China Agricultural Press, 2005: 66-67.
- [18] Song S Q, Cheng H Y, Long C L. Guide of study on seed biology. Beijing: Science Press, 2005.
- [19] Li B Z. The Measurement of IAA oxidase in "Ping Guo Li" leaves. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2001, 21(6): 837-839.
- [20] Mehta R A, Fawcett T W, Porath D, Matto A R. Oxidativestress causes lipid membrane translocation and in vivo degradation of ribulase 1,5 biphosphate carboxylase/oxygenase. The Journal of Biological Chemistry, 1992, 267: 2810-2816.
- [21] Luna C M, Gonzalez V S, Trippi V S. Oxidative damage caused by excess copper in oat leaves. Plant Cell Physiology, 1994, 35: 11-15.
- [22] Zeng Q P, Guo Y. A diversity response and systematic resistance induction in plants. Chemistry of Life, 1997, 17(3): 31-33.
- [23] Noctor G, Foyer C H. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1998, 49: 249-279.
- [24] Schützendüble A, Nikolova P, Rudolf C. Cadmium and H_2O_2 induced oxidative stress in *Populus canescens* roots. Plant Physiol Biochemistry, 2002, 40: 577-584.
- [25] Chen Q, Liu Y L. Effect glutathione on active oxygen scavenging system in leaves of Barley seedling under salt stress. Acta Agronomica Sinica, 2000, 26(3): 365-371.
- [26] Tsuji N, Hirayanagi N, Iwabe O. Regulation of phytochelation synthesis by zinc and cadmium in marine green alga, *Dunaliella tertiolecta*. Phytochemistry, 2003, 62(3): 453-459.
- [27] Dixit V, Pandey V, Shyam R. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad). Journal of Experimental Botany, 2001, 52(358): 1101-1109.
- [28] Dinakar N, Nagajyothi P C, Suresh S, Udaykiran Y, Damodharam T. Phytotoxicity of cadmium on protein, proline and antioxidant enzyme activities in growing *Arachis hypogaea* L. seedlings. Journal of Environmental Sciences, 2008, 20: 199-206.
- [29] Okmanen E, H ikiö E, Sober J. Ozone-induced H_2O_2 accumulation in field-grown aspen birch is linked to foliar ultrastructure and peroxisomal activity. New Phytologist, 2004, 161 (3): 791-799.
- [30] Wu T M, Hsu Y T, Lee T M. Effects of cadmium on the regulation of antioxidant enzyme activity, gene expression, and antioxidant defenses in the marine macroalga *Ulva fasciata*. Botanical Studies 2009, 50: 2534.
- [31] John R, Ahmad P, Gadgil K, Sharma S. Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L. Plant Soil and Environment, 2008, 54 (6): 262-270.
- [32] Al-Rumaih, M M, Rushdy S S, Warsy A S. Alteration in the Protein Electrophoretic Patterns of Cowpea, (*Vigna unguiculata* L.) Treated with Cadmium in the Presence or Absence of Gibberellic Acid. Saudi Journal of Biological Science, 2002, 9(1): 47-55.
- [33] Traverso, N, Menini S, Maineri E P, Patriarca S, Odett P, Cottalasso D, Marinari UM, Pronzato M A. Malondialdehyde, a Lipoperoxidation-Derived Aldehyde, Can Bring About Secondary Oxidative Damage To Proteins. Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences, 2004, 59: 890-895.
- [34] Dixit V, Panday V, Shyam R. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad). Journal of Experimental Botany, 2001, 52(358): 1101-1109.

- [35] Parmar N G, Chand S V. Effects of Mercury and Chromium on Peroxidase and IAA Oxidase Enzymes in the Seedlings of *Phaseolus vulgaris*. Turkish Journal of Biology, 2005, 29: 15-21.
- [36] Reinnecke D M, Bandurski R S. Oxidation of indole-3-acetic acid to oxindole-3-acetic acid by an enzyme preparation from *Zea mays*. Plant Physiology, 1988, 86: 867-872.
- [37] Jain M L, Kadakade P G, Van H P. The effect of growth regulatory chemicals on abscission and IAA-oxidizing enzyme system of dwarf bean seedlings. Plant Physiology, 1969, 22: 1038-1042.
- [38] Yuan C X, Ding J. Effects of water stress on the content of IAA and the activities of IAA oxidase and peroxidase in cotton leaves. Acta Phytophysiological Sinica, 1990, 16(2): 179-184.
- [39] Rauser W E, Dumbroff E B. Effects of excess cobalt, nickel and zinc on water relations of *Phaseolus vulgaris*. Environmental and Experimental Botany, 1981, 21: 249-255.
- [40] Aitic O, Agar G, Battal P. Changes in phytohormone contents in chickpea seeds germinating under lead or zinc stress. Biologia Plantarum, 2005, 49(2): 215-222.
- [41] Talanova V V, Titov A F and Boeva N P. Effect of increasing concentrations of lead and cadmium on cucumber seedlings. Biologia Plantarum, 2000, 43(3): 441-444.
- [42] Shanti S S, Kumar V. Responses of wild type and abscisic acid mutants of *Arabidopsis thaliana* to cadmium. Journal of Plant Physiology, 2002, 159(12): 1323-1328.
- [43] Munzurolo O, Zengin F K, Yahyagi Z. The abscisic acid levels of wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Cakmak 79) seeds that were germinated under heavy metal (Hg^{++} , Cd^{++} , Cu^{++}) stress. Journal of Science, 2008, 21(1): 1-7.
- [44] Fusco N, Micheletto L, Corso G D, Borgato L, Furini A. Identification of cadmium-regulated genes by cDNA-AFLP in the heavy metal accumulator *Brassica juncea* L. Journal of Experimental Botany, 2005, 56: 3017-3027.
- [45] Veselov D, Kudoyarova G, Symonyan M, Veselov S. Effect of cadmium on ion uptake, transpiration and cytokinin content in wheat seedlings. Bulgarian Journal of Plant Physiology, Special Issue, 2003, 353-359.
- [46] Yakhin O I, Yakhin I A, Lubyantsev A A, Vakhitov V A. Effect of cadmium on the content of phytohormones and free amino acids, its cytogenetic effect, and accumulation in cultivated plants. Doklady Biological Sciences, 2009, 426: 714-717.
- [47] Thomas J C, Perron M, LaRosa P C, Smigocki A C. Cytokinin and the regulation of a tobacco metallothionein-like gene during copper stress. Physiologia Plantarum, 2005, 123(3): 263-271.

参考文献:

- [5] 夏汉平. 土壤-植物系统中的镉研究进展. 应用与环境生物学报, 1997, 3(3): 289-298.
- [6] 韦建玉, 金亚波, 吴峰, 屈冉. 烤烟品种 K326、云烟 85 及云烟 87 的适应性研究. 安徽农业科学, 2008, 36(6): 2362-2363.
- [7] 朱凤鸣, 刘贤, 邹学贤. 昆明西郊镉污染对人健康的影响. 中国卫生检疫杂志, 2002, 12(5): 602-603.
- [8] 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. 生态学报, 2005, 25(11): 2920-2926.
- [9] 高家合, 王树会. 镉胁迫对烤烟生长及生理特性的影响. 农业环境科学学报, 2006, 25(5): 1167-1170.
- [10] 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. 实验生物学报, 2002, 35(3): 170-172.
- [11] 周红卫, 施国新, 陈景耀, 朱蕾. 6-BA 对水花生抗氧化酶系 Hg^{2+} 毒害的缓解作用. 生态学报, 2003, 23(2): 387-391.
- [13] 吴荣生, 焦德茂, 童红玉. 水稻叶片超氧自由基的检测与应用. 江苏农业科学, 1994, 1: 16-17.
- [14] 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. 植物生理通讯, 1990, (6): 55-57.
- [15] 高俊凤主编. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 2006: 143-144.
- [16] 邹琦. 植物生理生化实验指导. 北京: 中国农业出版社, 2000: 168-170.
- [17] 萧浪涛, 王三根. 植物生理学实验技术. 北京: 中国农业出版社, 2005.
- [18] 宋松泉, 程红焱, 龙春林. 种子生物学研究指南. 北京: 科学出版社, 2005.
- [19] 李秉真. 苹果梨叶片中 IAA 氧化酶的测定. 光谱学与光谱分析, 2001, 21(6): 837-839.
- [22] 曾庆平, 郭勇. 植物的逆境应答与系统性诱导. 生命的化学, 1997, 17(3): 31-33.
- [39] 袁朝兴, 丁静. 水分胁迫对棉花叶片 IAA 含量、IAA 氧化酶和过氧化物酶活性的影响. 植物生理学报, 1990, 16(2): 179-180.