

镉对小白菜根细胞质膜氧化还原系统的影响

孙光闻¹, 朱祝军², 陈日远¹, 刘厚诚¹

(1. 华南农业大学园艺学院, 广东 广州 510642; 2. 浙江大学农业与生物技术学院园艺系, 浙江 杭州 310029)

摘要:小白菜根细胞质膜上存在氧化还原系统。1 mg/L Cd 使 2 个小白菜品种的根细胞质膜 NADH 氧化速率显著升高, 对 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 和 EDTA-Fe^{3+} 还原速率无明显影响; 10 mg/L Cd 使 2 个小白菜品种根细胞质膜的 NADH 氧化速率、 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 和 EDTA-Fe^{3+} 还原速率显著降低, 说明高浓度 Cd 抑制了小白菜根细胞质膜的氧化还原系统活性。Cd 处理后, 2 品种小白菜根细胞质膜 NADPH 氧化速率表现不同趋势。

关键词: 镉; 小白菜; 根系质膜; 氧化还原系统

中图分类号: S634.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2007)03-0065-03

Effect of Cadmium on the Redox System of Root Plasma Membrane in Pakchoi

SUN Guang-wen¹, ZHU Zhu-jun², CHEN Ri-yuan¹, LIU Hou-cheng¹

(1. College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2. Department of Horticulture, College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: The redox system existed in root plasma membrane of pakchoi. 1 mg/L Cd significantly increased the oxidation rate of NADH, and had no effects on the reduction rates of $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ and EDTA-Fe^{3+} of plasma membrane in roots of two pakchoi cultivars. 10 mg/L decreased the oxidation rate of NADH, the reduction rates of $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ and EDTA-Fe^{3+} of plasma membrane in roots of two pakchoi cultivars. The oxidation rate of NADPH had different tendency between two cultivars in presence of Cd.

Key words: Cadmium; Pakchoi; Root plasma membrane; Redox system

质膜氧化还原系统是质膜中除 ATP 酶外的另一重要的能量转换系统, 它在能量传递、营养物质的吸收和运转、生长发育、信息传导和抵御病原物等方面起着重要的作用^[1]。质膜氧化还原系统和质膜 H^+ -ATPase 共同参与跨质膜质子电化学势的建立^[2,3]。研究发现, 多种逆境条件对植物细胞质膜氧化还原系统产生影响^[4-9]。小白菜质膜上是否存在氧化还原系统? Cd 存在条件下其氧化还原系统是否有变化? 目前国内外还未见报道。本试验以小白菜为材料, 证实其根细胞质膜上存在氧化还原系统, 并探讨了 Cd 对小白菜根细胞质膜氧化还原系统的影响。

1 材料和方法

试验所用小白菜品种为沪青 1 号和杭州油冬儿, 种子经消毒处理后播于湿润的蛭石中, 出苗后浇稀释的完全营养液, 14 d 后挑选生长一致的幼苗移栽到装有 4 L 营养液的塑料桶中进行预培养, 每桶 4 株。全

营养液配方如下 (mmol/L): $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 3.0, KNO_3 4.0, KH_2PO_4 1.0, MgSO_4 1.0, MnCl_2 3.6×10^{-3} , H_3BO_3 4.5×10^{-2} , CuSO_4 8×10^{-4} , ZnSO_4 1.5×10^{-3} , H_2MoO_4 9.1×10^{-5} , EDTA-Fe 9.0×10^{-2} (pH 6.0)。预培养 14 d 后, 向营养液中加入 CdSO_4 使营养液中 Cd 的浓度为 1 mg/L (Cd_1) 和 10 mg/L (Cd_{10}), 以不加 Cd 为对照 (Cd_0)。试验期间, 营养液每 3 天更换 1 次, 并连续通气。随机区组排列, 每处理重复 4 次。处理 10 d 后植株收获, 地上部及根部分开, 根用去离子水冲洗净, 称取 10 g 鲜根用于各项指标的测定。质膜提取及氧化还原系统测定同刘慧英^[6]的方法。

2 结果与分析

2.1 小白菜根细胞质膜氧化还原系统的存在

表 1 表明, 当分别向含有对照及 Cd 处理的小白菜根系提取的膜制剂的反应系统中加入 50 mmol/L NADH 时, 均表现出 NADH 被缓慢氧化, 而当加入人工电子受体 100 mmol/L $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 时, NADH 被氧化

的速率均迅速提高。同样,当分别向含有对照及 Cd 处理的小白菜根系提取的膜制剂的反应系统中单独加入 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 时, $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 被还原的速率均较低,其电子供体可能是体内的 NAD(P)H ,而当再加

入 NADH 则可显著地促进 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 的还原。这表明小白菜 Cd 处理与否其根细胞质膜均具有氧化 NADH ,还原 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 的氧化还原活性,同时证明小白菜质膜上存在氧化还原系统。

表 1 外源 NADH 和 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 对小白菜根细胞质膜氧化还原活性的作用

Tab 1 Application of NADH and $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ on the plasma membrane

品种 Cultivar	Cd 水平 / (mg/L) Cd level	NADH 氧化速率/ (nmol/(mg·min)) NADH oxidation		$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 还原速率/ (nmol/(mg·min)) $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ reduction	
		NADH	NADH+ $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$	$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$	NADH+ $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$
沪青 1 号 Huqing No. 1	0	85.1±11.3	567.3±44.0	259.0±15.4	2721.5±319.9
	1	71.1±5.1	880.3±28.5	424.4±25.5	2955.8±295.0
	10	38.9±5.3	282.2±20.5	105.9±16.7	983.3±166.0
杭州油冬儿 Hangzhou youdong	0	71.5±1.9	543.8±18.6	401.1±42.4	1050.5±120.6
	1	65.7±1.3	750.5±33.4	306.4±50.7	1110.8±158.5
	10	40.5±2.6	252.9±26.7	112.6±6.7	437.8±25.8

2.2 Cd 对小白菜根细胞质膜 NADH 氧化速率的影响

由图 1 可知, Cd 对小白菜根细胞质膜 NADH 氧化速率的影响因 Cd 处理浓度不同而有差异。1 mg/L Cd 使 2 品种小白菜根细胞质膜 NADH 氧化速率显著增加, 增加幅度分别为 55.2% 和 38.0%。10 mg/L Cd 则使 2 品种小白菜根细胞质膜 NADH 氧化速率显著降低, 降低幅度分别为 50.3% 和 53.5%。

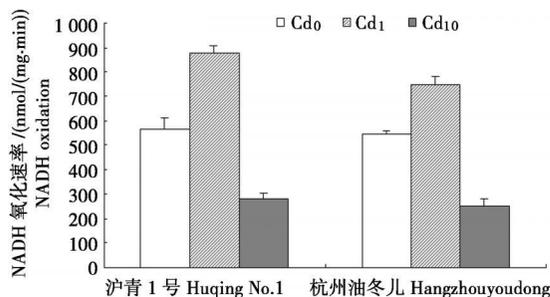


图 1 小白菜根细胞质膜 NADH 氧化速率

Fig 1 NADH oxidation in root plasma membrane of pakchoi

2.3 Cd 对小白菜根细胞质膜 NADPH 氧化速率的影响

由图 2 可以看出, 小白菜根细胞质膜 NADPH 氧化速率 2 品种表现趋势不同, 沪青 1 号的 NADPH 氧化速率随着 Cd 浓度升高先升高而后又下降到对照水平; 杭州油冬儿 NADPH 氧化速率随着 Cd 浓度升高而显著降低。

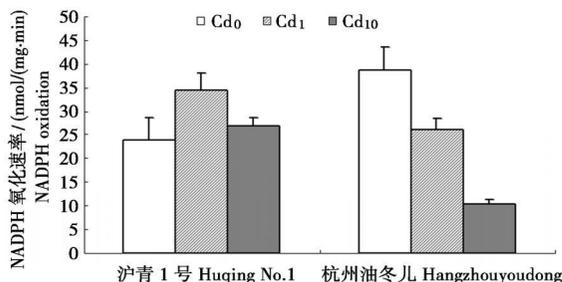


图 2 小白菜根细胞质膜 NADPH 氧化速率

Fig 2 NADPH oxidation in root plasma membrane of pakchoi

2.4 Cd 对小白菜根细胞质膜 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 还原速率的影响

由图 3 可以看出, Cd 对小白菜根细胞质膜 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 还原速率的影响 2 品种趋势相同。1 mg/L Cd 对 2 品种小白菜 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 还原速率没有显著影响; 10 mg/L Cd 则使 2 品种小白菜 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 还原速率显著降低, 降低幅度分别为 63.9% 和 58.3%。

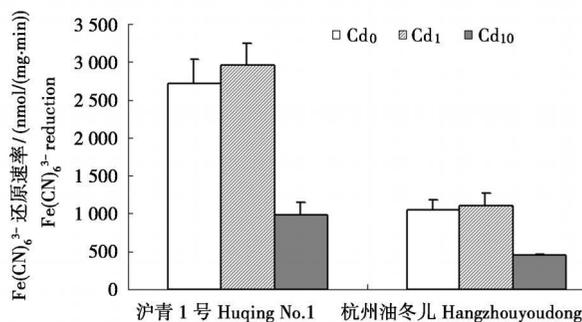


图 3 小白菜根系质膜 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 还原速率

Fig 3 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ reduction in root plasma membrane of pakchoi

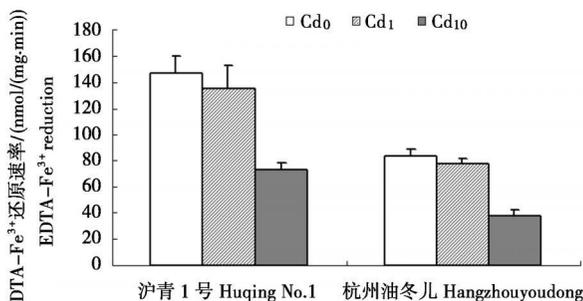


图 4 小白菜根系质膜 EDTA- Fe^{3+} 还原速率

Fig 4 EDTA- Fe^{3+} reduction in root plasma membrane of pakchoi

2.5 Cd 对小白菜根细胞质膜 EDTA- Fe^{3+} 还原速率的影响

图 4 表明, Cd 对小白菜根细胞质膜 EDTA- Fe^{3+} 还原速率的影响 2 品种趋势相同。1 mg/L Cd 对两

品种小白菜 EDTA-Fe³⁺ 还原速率没有显著影响; 10 mg/L Cd 则使两品种小白菜 EDTA-Fe³⁺ 还原速率显著降低, 降低幅度分别为 50.0% 和 54.9%。

3 讨论

质膜氧化还原系统是指存在于质膜上的电子传递链体系。其天然电子供体是 NAD(P)H, 天然电子受体为 O₂。现已在花生、小麦^[8]、水稻^[9]、绿豆^[10]、春小麦^[11]、玉米^[12]、西瓜^[6]、燕麦^[13]、甘蔗^[14] 和 大豆^[15] 等多种植物细胞质膜上发现氧化还原系统。本试验证明了小白菜根细胞质膜上存在氧化还原系统, 能够氧化外源电子供体 NAD(P)H 和还原外源电子受体 Fe(CN)₆³⁻。

氧化还原系统是质膜上的又一能化系统, 该系统对逆境胁迫也很敏感。Barr^[16] 曾发现萝卜细胞质膜氧化还原系统对盐胁迫极为敏感, 质膜 NADH 氧化、Fe(CN)₆³⁻ 还原以及 H⁺ 分泌等在盐胁迫下受到抑制。邱全胜等^[4] 发现水分胁迫下小麦根细胞质膜 NADH 和 NADPH 的氧化速率及 Fe(CN)₆³⁻ 和 EDTA-Fe³⁺ 的还原速率明显降低。Zhao 等^[5] 首次报道冷锻炼提高了黑松幼苗根细胞质膜氧化还原系统的活性, 刘慧英^[6] 发现自根及嫁接西瓜低温胁迫后其根细胞质膜氧化还原活性下降。龚月桦等^[10] 发现, 在水分胁迫条件下, 绿豆活体质膜和离体纯化质膜的氧化还原活性均降低、变化趋势相似。

本试验结果表明: Cd 对小白菜根细胞质膜氧化还原系统的影响因品种及 Cd 处理浓度而有差异。10 mg/L Cd 处理时, 2 个品种的 NADH 氧化速率、Fe(CN)₆³⁻ 和 EDTA-Fe³⁺ 还原速率都显著降低, 表明高浓度 Cd 降低了小白菜根细胞质膜氧化还原活性。Qiu 等^[17] 证明质膜氧化还原系统产生的活性氧自由基引发了膜脂过氧化, 因此, 推测由于水分胁迫中断了质膜氧化还原系统的电子传递^[4,17], 使产生大量活性氧, 引发膜脂过氧化, 损伤细胞膜。Rubinstein 等^[18] 认为质膜氧化还原系统活性氧的产生可能为逆境信号诱导所致, 并且成为逆境信号传导的一部分而共同完成细胞的防御功能。推测高浓度 Cd 胁迫致使质膜氧化还原活性受损, 可能因此导致了膜脂过氧化程度的加重。

低浓度 (1 mg/L) Cd 处理, 对 2 小白菜根细胞质膜 Fe(CN)₆³⁻ 和 EDTA-Fe³⁺ 还原速率无显著影响, 但却显著增加其 NADH 氧化速率。这说明, 低浓度 Cd 对根系质膜没有产生明显影响, 而 NADH 氧化速率的增加, 可能是对 Cd 的一种适应性反应。NADH 氧化速率与 Fe(CN)₆³⁻ 和 EDTA-Fe³⁺ 还原速率变化不

成比例, 说明除了 Fe(CN)₆³⁻ 和 EDTA-Fe³⁺ 作为 NADH 的电子受体以外, 还存在其他的电子受体。

笔者测得的 NADPH 氧化速率与 NADH 相比很低, 但 2 个品种却表现出完全不同的趋势, 沪青 1 号的 NADPH 氧化速率随 Cd 处理浓度增加先增加而后恢复到对照水平, 而杭州油冬儿的 NADPH 氧化速率则随着 Cd 浓度的增加而呈显著下降趋势。这说明 NADPH 氧化速率在 2 个品种之间表现的差异, 可能是 2 个品种耐 Cd 性不同的原因之一。

参考文献:

- [1] 陈思学, 焦新之. 植物质膜氧化还原系统的生理作用 [J]. 生命科学, 1995, 7(4): 24-31.
- [2] Poole R, Energy J. Coupling for membrane transport [J]. Ann Rev Physiol, 1978, 29: 437-460.
- [3] Kochain L V, Locus W J. Potassium transport in corn roots, perturbation by exogenous NADH and ferricyanide [J]. Plant Physiol, 1985, 77: 429-436.
- [4] 邱全胜, 李琳, 梁厚果, 等. 水分胁迫对小麦根细胞质膜氧化还原系统的影响 [J]. 植物生理学报, 1994, 20(2): 145-151.
- [5] Zhao S, Colombo S J, Blumwald E. The induction of freezing tolerance in jack pine seedlings: the role of root plasma membrane H⁺-ATPase and redox activities [J]. Physiol Plant, 1995, 93: 55-60.
- [6] 刘慧英. 嫁接影响西瓜果实品质和幼苗耐冷性的生理机制研究 [D]. 杭州: 浙江大学博士学位论文, 2003.
- [7] 许勇, 张海英, 康国斌, 等. 西瓜野生种质幼苗耐冷性的生理生化特性与遗传研究 [J]. 华北农学报, 2000, 15(2): 67-71.
- [8] 曹翠玲, 高俊凤, 曹薇. 小麦根细胞质膜氧化还原系统对干旱胁迫反应与 K⁺ 累积的关系 [J]. 西北农业大学学报, 1996, 24(3): 25-29.
- [9] 郑桂珍, 关军锋, 李广敏. 渗透胁迫对小麦根、胚芽生长及其质膜氧化还原系统的影响 [J]. 中国生态农业学报, 2003, 11(3): 48-50.
- [10] 龚月桦, 高俊凤, 王俊儒, 等. 绿豆下胚轴质膜氧化还原系统及其对水分胁迫的反应 [J]. 干旱地区农业研究, 1999, 17(1): 78-82.
- [11] 宫海军, 陈坤明, 陈国仓, 等. 春小麦叶片质膜氧化还原系统及其对缓慢干旱胁迫的响应 [J]. 西北植物学报, 2003, 23(2): 229-234.
- [12] 王宝山, 赵可夫. NaCl 胁迫对玉米根质膜 H⁺ 分泌和氧化还原系统的影响 [J]. 植物学报, 1997, 39(4): 341-346.
- [13] Rubinstein B, Stern A I, Stovt R G. Redox activity at the surface of oat root cell [J]. Plant Physiol, 1984, 76: 386-391.
- [14] Margaret D, Martezki A. Evidence for a plasmalemma redox system in sugarcane [J]. Plant Physiol, 1985, 77: 873-876.
- [15] Brightman T A, Barr R, Crane F L, et al. Auxin-stimulated NADH oxidase purified from plasma membrane of soybean. [J]. Plant Physiol, 1988, 86: 1264-1269.
- [16] Barr R. The possible role of redox-associated protons in growth of plant cells [J]. J Bioenerg Biomembr, 1991, 23: 443-450.
- [17] Qiu Q S, Liang H G. Lipid peroxidation caused by the redox system of plasma membrane from wheat roots [J]. J Plant Physiol, 1995, 145: 261-265.
- [18] Rubinstein B, Luster D G. Plasma membrane redox activity: components and role in plant processes [J]. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1993, 44: 131-155.