

镉敏感水稻突变体在镉胁迫下活性氧代谢的变化

林冬^{1,2}, 朱诚^{1*}, 孙宗修²

(1. 浙江大学生命科学院植物生理学与生物化学国家重点实验室, 杭州 310029; 2. 中国水稻研究所水稻生物学国家重点实验室, 杭州 310006)

摘要: 从粳稻中花 11 为受体构建的经农杆菌介导的 T-DNA 插入水稻突变体库中获得了 1 个对镉敏感的突变体, 野生型和突变体经 Cd^{2+} 胁迫表型上有显著差异. 结果表明: 镉敏感水稻突变体地上部对 Cd^{2+} 吸收与转运速率要快于野生型, 膜脂过氧化程度更高; 随 Cd^{2+} 胁迫浓度的增加, $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 在叶片中的积累增加, 诱导抗氧化代谢; 敏感突变体叶片 SOD 的抗氧化胁迫能力是有限的, 与野生型相比突变体叶片 CAT 受到更显著的抑制, 可能是其对 Cd^{2+} 胁迫更加敏感的生理原因. 而叶片 G-POD 活性整体差异不显著.

关键词: 镉; 镉敏感突变体; 水稻; 活性氧类; 抗氧化酶

中图分类号: X173; Q945.78; Q945.79 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)03-0561-06

Alterations of Oxidative Metabolism Respond to Cadmium Stress in Cd-Sensitive Mutant Rice Seedlings

LIN Dong^{1,2}, ZHU Cheng¹, SUN Zong-xiu²

(1. State Key Laboratory of Plant Physiology & Biochemistry, College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 2. State Key Laboratory of Rice Biology, China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China)

Abstract: Cd-sensitive mutant rice (*Oryza sativa* L. subsp. Japonica, cv. Zhonghua 11) was obtained using our *Agrobacterium tumefaciens* based gene derived system. Significant phenotypic differences between a Cd-sensitive mutant (ST) and wild type (WT) rice seedlings by Cd^{2+} treatment was observed. Results indicated the mutant had more intensive capability of cadmium transport in leaf, which led to more level of lipid peroxidation than that of the wild type. Furthermore, A rapid Cd-induced $\text{O}_2^{\cdot-}$ and H_2O_2 increase in the mutant leaves was observed, which induced activity of antioxidant enzymes. The maintaining of SOD activity for resisting stresses in leaves of the mutant was limited *in vivo*. The CAT activities in leaves of the mutant were more inhibited than that of wild type, which might be a physiological explanation for sensitivity to cadmium in the mutant. However, the difference of the G-POD activities in leaves between the mutant and wild type was not significant.

Key words: Cd; Cd-sensitive mutant (ST); *Oryza sativa* L.; active oxygen species (AOS); antioxidant enzymes

镉是非必需的有毒元素, 是农业环境和农产品的重要污染物质, 在工业化过程中进入环境, 通过食物链富集, 危及人体健康^[1]. 已有研究证明镉积累能引起植物光合能力的下降、水分和养分吸收的减少、代谢途径中一些关键酶活性的丧失, 从而导致植株出现生长矮小、叶片失绿、根尖发黄, 最终死亡^[2]. 重金属对植物的毒害机理一直是植物生理学和环 境生物学中的研究重点之一. 研究表明不同的植物种类或同种植物不同的基因型对于重金属胁迫忍耐的反应机制不完全相同^[3], 因此遗传背景不同使研究相当困难. 已有学者开始利用具有相同遗传背景的突变体来研究重金属对植物的毒害机理, Howden 等从拟南芥突变体中获得了 2 个镉敏感突变体 *cad1* 和 *cad2*, 通过对突变体的研究发现植物体中植物螯合肽的表达是植物耐受镉胁迫的重要机制^[4]. 笔者从农杆菌介导的 T-DNA 插入的水稻突变体库中也发现 1 个对镉敏感水稻突变体

(Cd-sensitive mutant rice, ST).

植物体中与电子传递相关的叶绿体、线粒体和质膜不可避免地会产生活性氧自由基 (Active oxygen species, AOS), AOS 包括超氧自由基 ($\text{O}_2^{\cdot-}$)、羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$)、单线态氧 ($^1\text{O}_2$)、过氧化氢 (H_2O_2)、烷氧自由基 ($\text{ROO}\cdot$)、过氧化物自由基 ($\text{RO}\cdot$) 等. 它们的存在对生物分子如类脂、蛋白质、核酸产生氧化损伤, 从而导致植物伤害. 植物体内的抗氧化酶类, 如超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 和愈创木酚过氧化物酶 (Guaiacol peroxidase, G-POD) 等, 能控制细胞内 H_2O_2 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 含量^[5-7], 清除

收稿日期: 2005-03-11; 修订日期: 2005-04-25

基金项目: 国家重点基础研究发展规划 (973) 项目 (2002CB10804)

作者简介: 林冬 (1979~), 男, 硕士研究生, 主要从事植物环境生理与分子生物学研究.

* 通讯联系人, E-mail: pzchc@zju.edu.cn

AOS, 避免过氧化损害. 前人研究指出 Cd^{2+} 胁迫能引起水稻^[8]、豌豆^[9]、小麦^[10]、玉米^[11]等作物体内氧化胁迫, 导致生成 AOS, 并诱导抗氧化系统某些酶的表达. 本文以镉敏感型水稻突变体为材料, 研究了 Cd^{2+} 胁迫下水稻突变体和野生型在 Cd^{2+} 吸收、AOS 和丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 积累上的差异与抗氧化酶系统应答机制的相互关系, 为植物在应答 Cd^{2+} 胁迫的生理机制方面提供佐证.

1 材料与方法

1.1 材料培养和镉处理

从中国水稻研究所以粳稻中花 11 (*Oryza sativa* L. subsp. Japonica, cv. Zhonghua 11) 为受体, 通过农杆菌介导法构建的 T-DNA 插入水稻突变体库^[12]中, 随机选 700 份独立的 T_2 代转基因株系, 溶液培养至七叶期, $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd}^{2+}$ 胁迫后定期观察表型变化, 获得了 1 份对镉敏感的突变体材料.

粳稻中花 11 野生型和 T_2 代镉敏感突变体株系的种子于 2003-05 浅播入水稻育秧盘中, 蒸馏水培养 15 d 后, 将水稻幼苗 (2 叶期) 移至含 8L 培养液的直径 25 cm 塑料桶中, 桶外壁涂黑, 每桶种 8 穴, 每穴 2 株, 用塑料板分隔各穴, 海绵固定使水稻垂直生长; 营养液按国际水稻研究所 (IRRI) 推荐配方配置^[13]. 水稻幼苗培养至七叶期末, 加 CdCl_2 处理, 处理浓度为 0、0.05、0.2、0.5 和 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd}^{2+}$, 培养液每隔 3 d 换 1 次, 调节 pH 值为 5.0~5.1.

1.2 测定和分析

取 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd}^{2+}$ 处理 0、3、5、10、15 d 后的水稻根和叶的干重样品测定 Cd^{2+} 含量, 参照 Shah 等的方法^[8], 采用 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ (4:1) 前处理, 用 SOLAAR-M6 原子分光光度计测定.

取不同浓度 Cd^{2+} 处理 10 d 后的样品测定各项生理指标, SOD 活性、CAT 活性、G-POD 活性、 $\text{O}_2^{\cdot -}$ 产生速率和蛋白含量测定参照刘鹏等的方法^[14]; MDA 积累量和 H_2O_2 积累量测定参照 Chien 等的方法^[15].

CAT 同工酶分析参照 Verma 等的方法^[5], 略做改动, 采用 7.5% 的分离胶和 3.9% 的浓缩胶, 上样蛋白的量为 10 μg .

所有生理生化指标测定重复 3 次, 突变体与野生型之间差异显著性分析由 SPSS 统计软件完成, 在图中表示为“*”和“**”分别代表有显著性差异

($p < 0.05$) 和极显著性差异 ($p < 0.01$).

2 结果与分析

2.1 镉胁迫下镉敏感水稻突变体的表型

图 1 可见, 镉敏感突变体和野生型正常条件下生长基本一致, 但经过 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd}^{2+}$ 处理后, 生长第 10 d 二者具有显著表型差异, 与未处理的相比, 野生型叶鞘与叶鲜重下降了 52.4% 和 54.4%, 突变体叶鞘与叶鲜重下降 58.7% 和 71.1% (图 2), 突变体的地上部分生长受到了更明显的抑制.

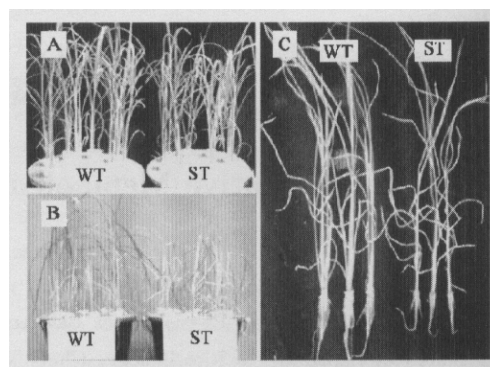


图 1 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd}^{2+}$ 胁迫 10 d 后水稻突变体和野生型之间表型差异 (A. 正常条件下生长; B, C. Cd^{2+} 胁迫下生长)

Fig. 1 Growth of wild type (WT) and Cd-sensitive mutant (ST) rice with $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd}^{2+}$ treatment for 10 days (A. WT and ST rice grew without Cd^{2+} ; B, C. WT and ST rice grew with Cd^{2+})

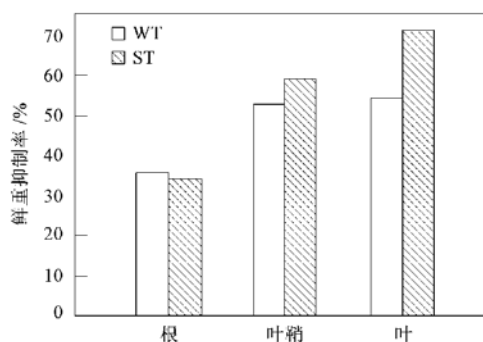


图 2 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd}^{2+}$ 胁迫 10 d 对水稻突变体和野生型不同组织鲜重的影响

Fig. 2 Effect of $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd}^{2+}$ on fresh weight of different organ of wild type (WT) and Cd-sensitive mutant (ST) rice for 10 days treatment

2.2 水稻突变体中 Cd^{2+} 含量

$0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd}^{2+}$ 胁迫下, 随着胁迫时间的延长野生型和突变体植株体内的 Cd^{2+} 积累量逐渐增加 (图 3); 野生型叶片中的 Cd^{2+} 积累量在第 10~15 d 增长最快, 增加幅度为 79.6%, 而突变体在第 5

~ 10 d 增长最快, 增加幅度为 111%, 且第 10 d 时其叶片内 Cd^{2+} 积累量为野生型的 2 倍, 可见突变体地上部分积累量明显地高于野生型. 突变体和野生型根中的 Cd^{2+} 积累量没有显著差异.

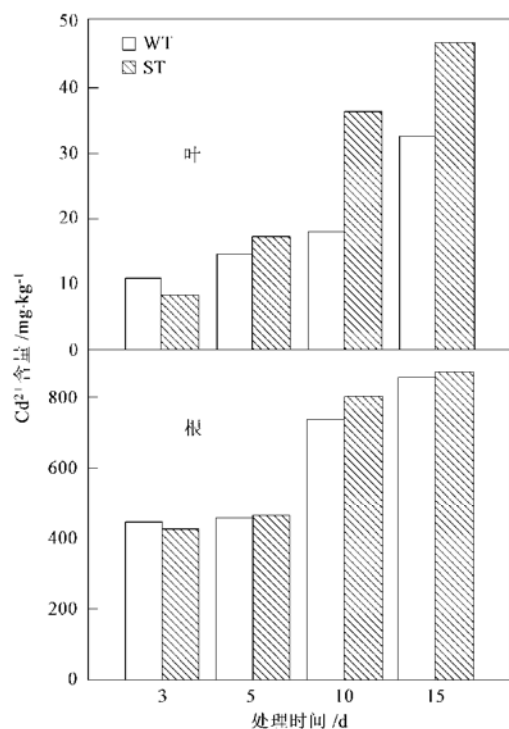


图 3 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$ 胁迫下水稻突变体根和叶片中的 Cd^{2+} 积累量

Fig. 3 Amount of absorbed cadmium in wild type (WT) and Cd-sensitive mutant (ST) rice with $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$ treatment for increasing days of growth

2.3 水稻突变体中 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率和 H_2O_2 、MDA 积累量

$\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 是 2 类最主要的 AOS. 实验结果显示随 Cd^{2+} 胁迫浓度增加, 突变体和野生型叶片内 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率和 H_2O_2 的积累量明显升高 (图 4). 在 0.05 、 0.2 和 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$ 胁迫 10 d 后, 突变体叶片内 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率都高于野生型 ($p < 0.05$), 而只在 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$ 胁迫下结果相反. 图 5 显示低浓度, $0.05 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$ 胁迫 10 d 后野生型叶片内 H_2O_2 的积累量略高于突变体, 而在 0.2 和 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$ 胁迫下突变体叶片内 H_2O_2 的积累量比野生型高出 50% 和 25% ($p < 0.01$).

植物体内 MDA 的积累量反映植物体内膜脂过氧化程度^[15]. 图 6 显示, 镉敏感突变体和野生型叶片中 MDA 积累量都随着 Cd^{2+} 胁迫浓度的增加而增加. 在 $0.05 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 0.5

$\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$ 胁迫第 10 d, 突变体叶片中 MDA 积累量分别比野生型高出 41%、77% 和 37% ($p < 0.01$), 可见在 Cd^{2+} 胁迫下突变体叶片中膜脂过氧化程度更深, 但再升高 Cd^{2+} 胁迫浓度至 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 两者叶片中 MDA 积累量又趋于一致.

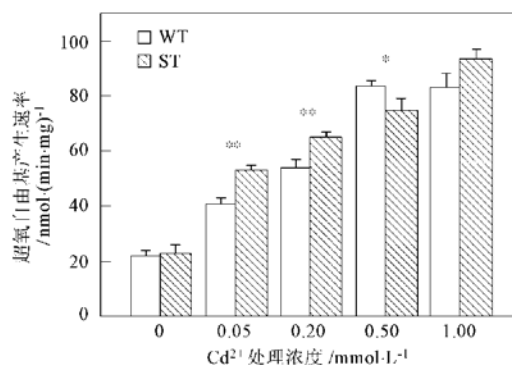


图 4 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫 10 d 后对水稻突变体叶片 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率的影响

Fig. 4 Effect of increasing external Cd^{2+} concentration on generation rate of $\text{O}_2^{\cdot-}$ in wild type (WT) and Cd-sensitive mutant (ST) rice for growing 10 days

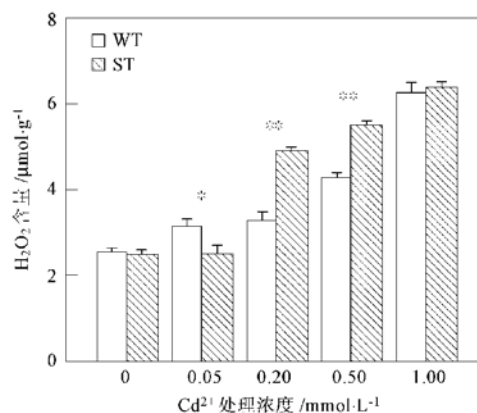


图 5 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫 10 d 后对水稻突变体叶片 H_2O_2 含量的影响

Fig. 5 Effect of increasing external Cd^{2+} concentration on H_2O_2 content in leaves of wild type (WT) and Cd-sensitive mutant (ST) rice for growing 10 days

2.4 水稻突变体抗氧化酶活性

SOD 广泛分布于细胞各组成部分, 可以催化 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 形成 H_2O_2 和 O_2 ^[14]. 图 7 显示了突变体在不同浓度 Cd^{2+} 胁迫下其叶片 SOD 活性上升, t 检验发现突变体在 $0.2 \sim 1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$ 胁迫下 SOD 活性差异不显著. 而野生型随 Cd^{2+} 胁迫浓度升高其叶片 SOD 活性上升, t 检验发现其在 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$ 胁迫下, 叶片 SOD 活性无显著差异.

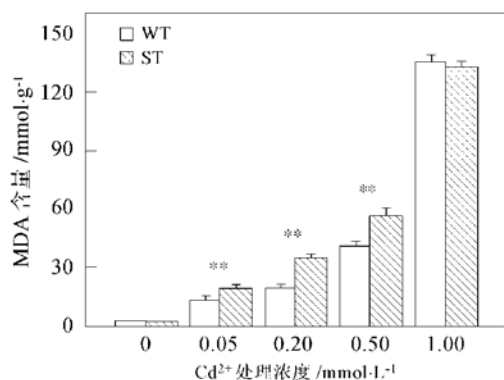


图 6 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫 10 d 后对水稻突变体叶片膜脂过氧化的影响

Fig. 6 Effect of increasing external Cd^{2+} concentration on lipid peroxides in leaves of wild type (WT) and Cd-sensitive mutant (ST) rice for growing 10 days

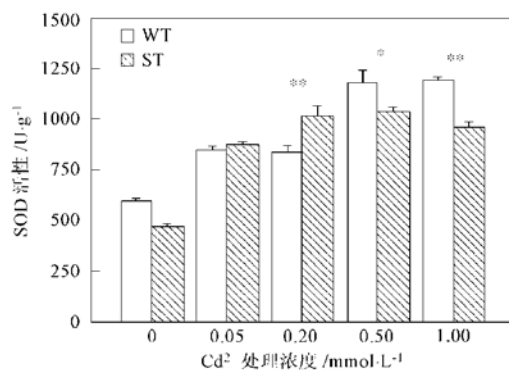


图 7 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫 10 d 后对水稻突变体叶片 SOD 活性的影响

Fig. 7 Effect of increasing external Cd^{2+} concentration on SOD activity in leaves of wild type (WT) and Cd-sensitive mutant (ST) rice for growing 10 days

CAT 定位于线粒体、过氧化物体与乙醛酸循环体中,可专一清除在光呼吸和脂肪酸 β -氧化生成的 H_2O_2 ^[16]. 图 8 显示了 Cd^{2+} 胁迫第 10 d 后突变体和野生型叶片 CAT 活性随 Cd^{2+} 浓度升高先下降,后略有回升. 在 $0.05 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$ 胁迫下突变体 CAT 活性高于野生型,但再升高浓度,突变体 CAT 活性显著低于野生型,且在 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$ 胁迫浓度下野生型叶片 CAT 活性比突变体高出 144%,差异最显著.

G-POD 定位于胞质、液泡、细胞壁和胞外空间. 以愈创木酚作为受体,清除各种生物和非生物胁迫过氧化产生的 H_2O_2 ^[18]. 图 9 显示了突变体和野生型叶片 G-POD 活性随 Cd^{2+} 胁迫浓度先上升后下降趋

势,只在 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$ 胁迫下突变体 G-POD 活性显著低于野生型.

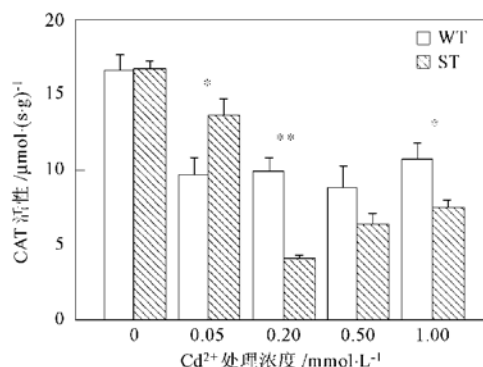


图 8 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫 10 d 后对水稻突变体叶片 CAT 活性的影响

Fig. 8 Effect of increasing external Cd^{2+} concentration on CAT activity in leaves of wild type (WT) and Cd-sensitive mutant (ST) rice for growing 10 days

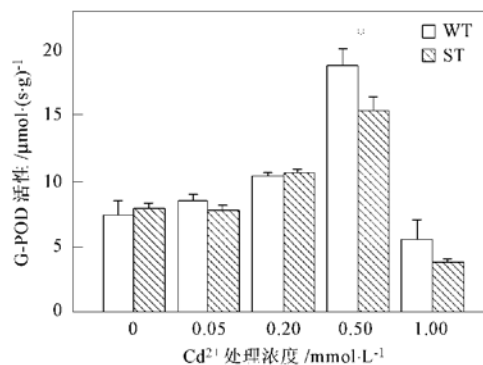


图 9 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫 10 d 后对水稻突变体叶片 G-POD 活性的影响

Fig. 9 Effect of increasing external Cd^{2+} concentration on G-POD activity in leaves of wild type (WT) and Cd-sensitive mutant (ST) rice for growing 10 days

2.5 水稻突变体叶片 CAT 同工酶分析

突变体和野生型叶片中都呈现出 2 条 CAT 同工酶谱带,迁移率 (R_f) 分别为 0.047 和 0.094 (图 10). 随着 Cd^{2+} 胁迫浓度的增加至 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 突变体叶片 CAT 同工酶 2 条谱带变暗、消失,而野生型中 2 条谱带仍存在.

2.6 讨论

许多研究证明氧化胁迫是植物受不同环境胁迫的一个主要的破坏因素,细胞中有毒金属的存在能导致活性氧类 (AOS) 的形成^[2]. 本研究结果显示 Cd^{2+} 胁迫都能导致野生型和突变体水稻体内 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 累积. $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 可以反应生成羟自由基

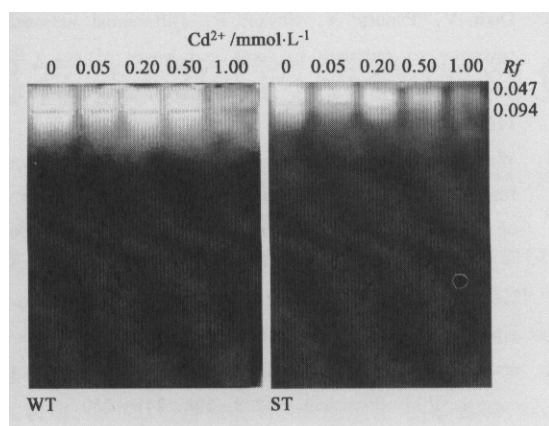


图 10 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫 10 d 后对水稻突变体叶片 CAT 同工酶影响

Fig. 10 Analysis of PAGE-CAT isozyme for leaves of wild type (WT) and Cd-sensitive mutant (ST) rice for growing 10 days at increasing external Cd^{2+} concentration

($\cdot\text{OH}$), 它能转化脂肪酸为有毒的过氧化物, 破坏生物膜, 造成 MDA 累积. 突变体叶片 MDA 积累量显著地高于野生型, 这一结果与 Wu 等对 4 个小麦基因型的研究中发现 3 个耐受基因型比相对敏感的基因型更少积累 MDA 相一致^[10].

同时, 活性氧可以作为第二信使, 启动细胞的防御反应, SOD 是保卫植物细胞免受自由基伤害的第一道防线^[3]. 研究结果显示, 在野生型叶片中, 随 Cd^{2+} 胁迫浓度的增加, $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率增加而同时 SOD 活性增加, 在不同浓度 Cd^{2+} 胁迫下 $\text{SOD}/\text{O}_2^{\cdot-}$ 比值接近(表 1). SOD 活性的增加是酶蛋白的从头合成过程^[8], $\text{O}_2^{\cdot-}$ 能诱导 SOD 活性上升的应激反应. 然而在敏感型突变体叶片中, $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率与 SOD 活性的变化不一致, 但其 $\text{SOD}/\text{O}_2^{\cdot-}$ 比值随 Cd^{2+} 胁迫浓度的增加而降低. 这意味着在 Cd^{2+} 胁迫下敏感水稻突变体叶片 SOD 的抗氧化胁迫能力是有限的. 其 SOD 活性的下降可能是由于叶片内更高浓度的 Cd^{2+} 胁迫下, 影响到 SOD 同工酶的合成, 从而抑制了 SOD 活性^[17].

CAT 是 C_3 植物中 H_2O_2 清除的关键酶, 而且是 C_3 植物耐受胁迫所必需的保护酶^[16]. 在研究中 Cd^{2+} 胁迫导致水稻叶片中 H_2O_2 的累积和 CAT 活性的下降, $\text{CAT}/\text{H}_2\text{O}_2$ 比值随 Cd^{2+} 胁迫浓度升高显著下降(表 1), Shah 等^[8]报道过水稻在 Cd^{2+} 胁迫下 CAT 活性显著下降, 认为 Cd^{2+} 引起的 CAT 活性下降可能与酶合成的抑制或酶亚单位组装上的改变有关, 并且 H_2O_2 过多累积可能抑制了 CAT 的活性.

表 1 不同浓度 Cd^{2+} 胁迫下水稻突变体叶片 $\text{CAT}/\text{H}_2\text{O}_2$ 和 $\text{SOD}/\text{O}_2^{\cdot-}$ 值的比较

Table 1 Comparison of ratios of $\text{CAT}/\text{H}_2\text{O}_2$ and $\text{SOD}/\text{O}_2^{\cdot-}$ in leaves of wild-type (WT) and Cd-sensitive mutant rice (ST) at increasing external Cd^{2+} concentration

Cd^{2+} / $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{CAT}/\text{H}_2\text{O}_2$		$\text{SOD}/\text{O}_2^{\cdot-}$	
	WT	ST	WT	ST
0	1	1	1	1
0.05	0.47	0.82	0.77	0.81
0.2	0.46	0.12	0.57	0.76
0.5	0.31	0.17	0.52	0.67
1	0.26	0.18	0.53	0.50

从 CAT 活性和同工酶谱分析发现突变体叶片中的 CAT 比野生型受到更深的抑制, 但在同工酶谱带数量上没有差异. 在植物体内, G-POD 和 CAT 都有降解 H_2O_2 的能力. 在 $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd^{2+} 胁迫下, G-POD 活性的显著上升, 可能是 CAT 活性的下降和 H_2O_2 累积的结果, 但过高的 Cd^{2+} 胁迫浓度也会抑制 G-POD 的活性. Mocquot 等^[18]指出植物体内的过氧化物酶活性可能被作为一个潜在的生物标记. Shah 等^[8]也报道了水稻 2 个基因型随 Cd^{2+} 胁迫浓度增加而 G-POD 活性增强, 并且认为 G-POD 能作为镉敏感水稻基因型的生物学指标. 从本实验的结果分析野生型和突变体在叶片中的 G-POD 活性整体差异不显著, 深入实验发现突变体根中 G-POD 活性要显著高于野生型(数据未列出), 可能 G-POD 活性在不同组织上表达存在差异.

植物体内内源保护系统抗胁迫能力及生物膜的稳定性是决定植物对逆境胁迫响应特征的关键因素^[14]. 镉敏感型水稻突变体叶片抗氧化酶系统, 特别是 CAT 活性受到更大的抑制, 积累更多的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 , 诱导了过氧化物酶的活性, 刺激二次代谢, 改变细胞结构如木质化沉积, 甚至细胞死亡^[19], 进而表型出现显著差异. 但植物对于镉的解毒机制短期内可能是受多基因控制, 植物体对镉真正的耐受是一个长期的人工或自然的选择, 可能是单基因/寡基因控制, 这就需要提出了一个整体和综合方法研究高等植物应答镉机制^[1]. 本研究仅从活性氧代谢的角度分析了该突变体对镉胁迫敏感的原因, 要更进一步阐明其镉毒害机制还需要其更多的遗传信息以及在亚细胞和分子水平上作更深的研究.

3 结论

(1) 筛选到对重金属镉敏感的水稻突变体株系, 在 $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd^{2+} 胁迫第 10 d 后, 其地上部的

生长发育比野生型受到更明显的抑制, 叶片对 Cd^{2+} 吸收与转运速率明显快于野生型.

(2) 随着 Cd^{2+} 胁迫浓度的增加, $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 在叶片中的积累量明显增加, 诱导抗氧化酶代谢. 但突变体叶片中 SOD 和 CAT 活性的受抑制程度比野生型大, 从而导致了 AOS 累积, 引起了更程度的膜脂过氧化, 这可能是突变体对 Cd^{2+} 胁迫更敏感的生理原因之一.

参考文献:

- [1] Sanità di Toppi L, Gabbriellini R. Response to cadmium in higher plants[J]. Environ. Exp. Bot., 1999, **41**: 105~ 130.
- [2] Schültzendübel A, Schwanz P, Teichmann T, *et al.* Cadmium-induced changes in antioxidative systems, hydrogen peroxide content, and differentiation in Scots pine roots[J]. Plant Physiol., 2001, **127**: 887~ 898.
- [3] Schültzendübel A, Polle A. Plant responses to abiotic stress: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization[J]. J. Exp. Bot., 2002, **53**: 1351~ 1365.
- [4] Lee S, Moon J S, Ko T-S, *et al.* Overexpression of *Arabidopsis* phytochelatin synthase paradoxically leads to hypersensitivity to cadmium stress[J]. Plant Physiol., 2003, **131**: 656~ 663.
- [5] Verma S, Dubey R S. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants[J]. Plant Sci., 2003, **164**: 645~ 655.
- [6] Kanazawa S, Sano S, Koshiha T, *et al.* Changes in antioxidative in cucumber cotyledons during natural senescence: comparison with those during dark-induced senescence[J]. Physiol. Plant, 2000, **109**: 211~ 216.
- [7] Noctor G, Foyer C H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control[J]. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 1998, **49**: 249~ 279.
- [8] Shah K, Kumar R G, Verma S, *et al.* Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings[J]. Plant Sci., 2001, **161**: 1135~ 1144.
- [9] Dixit V, Pandey V, Shyam R. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad) [J]. J. Exp. Bot., 2001, **52**: 1101~ 1109.
- [10] Wu F B, Zhang G P, Dominy P. Four barley genotypes respond differently to cadmium: lipid peroxidation and activities of antioxidant capacity[J]. Environ. Exp. Bot., 2003, **50**: 67 ~ 78.
- [11] Lagriffoul A, Mocquot B, Mench M, *et al.* Cadmium toxicity affects on growth, mineral and chlorophyll contents and activities of stress related enzymes in young maize plants (*Zea mays* L.) [J]. Plant Soil., 1998, **200**: 241~ 250.
- [12] Zhu Z G, Fu Y P, Xiao H. The *Ac/Ds* transposition activity in transgenic rice population and the DNA flanking sequence of *Ds* insertion sites[J]. Acta Bot. Sin., 2003, **45**(1): 102~ 107.
- [13] 邵国胜, Muhammad J H, 章秀福, 等. 镉胁迫对不同水稻基因型植株生长和抗氧化酶系统的影响[J]. 中国水稻科学, 2004, **18**(3): 239~ 244.
- [14] 刘鹏, 杨玉爱. 钼、硼对大豆叶片膜脂过氧化及体内保护系统的影响[J]. 植物学报, 2000, **42**(5): 461~ 466.
- [15] Chien H F, Wang J W, Lin C C, *et al.* Cadmium toxicity of rice leaves is mediated through lipid peroxidation[J]. Plant Growth Regul., 2001, **33**: 205~ 213.
- [16] Willekens H, Chamnongpol S, Davey M, *et al.* Catalase is a sink for H_2O_2 and is indispensable for stress defence in C3 plants [J]. The EMBO J., 1997, **16**: 4806~ 4816.
- [17] Milone M T, Sgherri C, Clijsters H, *et al.* Antioxidative responses of wheat treated with realistic concentration of cadmium[J]. Environ. Exp. Bot., 2003, **50**: 265~ 276.
- [18] Mocquot B, Vangronsveld J, Clijsters H, *et al.* Copper toxicity in young maize (*Zea mays* L.) plants: effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and enzyme activities[J]. Plant Soil., 1996, **182**: 287~ 300.
- [19] Jiménez A, Hernández J A, del Río L A, *et al.* Evidence for the presence of the ascorbate-glutathione cycle in mitochondria and peroxisomes of pea Leaves[J]. Plant Physiol., 1997, **114**: 275~ 284.