

SNP 处理的辣椒幼苗对 Cd²⁺ 胁迫的生理响应

陈世军¹, 张明生^{2,*}, 韦美玉¹

¹黔南民族师范学院生命科学系, 贵州都匀 558000; ²贵州大学生命科学学院, 贵阳 550025

摘要: 采用溶液培养方法研究外源NO供体硝普钠(SNP)对Cd²⁺胁迫下辣椒幼苗生长和生理特性影响的结果表明: 75 μmol·L⁻¹ SNP能在一定程度上缓解较高浓度Cd²⁺对辣椒幼苗生长、叶中Chl a和Chl b含量以及根系活性的抑制作用, 降低丙二醛(MDA)含量, 增强超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)的活性。

关键词: 辣椒; 幼苗; 硝普钠; 镉胁迫; 生理响应

Physiological Response of *Capsicum frutescens* L. var. *longum* Bailey Seedling with SNP to Cd²⁺ Stress

CHEN Shi-Jun¹, ZHANG Ming-Sheng^{2,*}, WEI Mei-Yu¹

¹Department of Life Sciences, Qiannan National Normal College, Duyun, Guizhou 558000, China; ²School of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, China

Abstract: Effects of sodium nitroprusside (SNP, an exogenous nitric oxide donor) on seedling growth and physiological characteristics of *Capsicum frutescens* under Cd²⁺ stress were studied by solution culture. The results showed that the inhibition of Cd²⁺ to seedling growth, chlorophyll contents in leaves and root activity were alleviated by 75 μmol·L⁻¹ SNP in *Capsicum frutescens* seedling. And MDA content decreased, the activities of SOD, CAT and POD in plant were enhanced.

Key words: *Capsicum frutescens*; seedling; sodium nitroprusside; Cd²⁺ stress; physiological response

重金属镉(Cd)是植物的非必需元素, 生物迁移性很强, 极易被植物吸收并累积。近年来, 由于城市化和工业化的发展, 工业“三废”的不合理排放、固体废弃物处理不善以及农药和化肥用量的不断增加, 导致土壤中Cd含量急剧增加。农业生产中, 施用化肥特别是磷肥、石灰、有机废物、污泥肥及污水灌溉等都会增加土壤中的Cd含量。据统计, 目前我国受Cd等重金属污染的耕地面积近2000万公顷, 约占总耕地面积的1/5。土壤中Cd的增加, 严重影响农作物生产及食品安全。

自从Delledonne等(1998)和Dumer和Klessig(1999)发现一氧化氮(NO)可以作为植物抗病反应的信号分子后, NO在植物体中生理生化作用的研究引起了人们的关注。NO是一种气体分子, 具有自由基性质, 容易得失一个电子, 能以NO自由基(NO·)、亚硝酸正离子(NO⁺)和硝酰自由基(NO⁻)三种具有生物学效应的形式存在(Neill等2003)。在植物体内, NO具有毒害和保护细胞的双重生理效应(Furchgott 1995), 参与种子萌发、光形态建成(Beligni和Lamattina 2000)、细胞凋亡(Beligni 2002)、根和叶片的生长发育(梁五生和李德葆

2001)以及各种胁迫响应等生理过程(阮海华等2001; 张华等2003; 王宪叶等2004)。NO与植物非生物胁迫的关系已是目前植物界研究的热点之一, 但这些研究主要集中在干旱胁迫、高温胁迫、低温胁迫、盐胁迫等方面, 而NO对植物重金属胁迫缓解作用的研究近几年才开始, 并且报道不多。已有的研究表明, 外源NO供体硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)预处理能减轻Cd²⁺、Pb²⁺胁迫对羽扇豆根生长的抑制作用(Kopyra和Gwozdz 2003), 缓解Cd²⁺胁迫对向日葵叶片的伤害(Laspina等2005)及绿豆幼苗根尖生长的抑制(王松华等2007)。有关NO对Cd²⁺胁迫下辣椒生长和生理特性的影响未见报道。辣椒是我国重要的经济作物, 其产地几乎遍布全国。本文探讨了SNP处理的辣椒幼苗对Cd²⁺胁迫的生理响应, 以期为进一步研究辣椒类农作物Cd²⁺毒害的缓解技术提供参考。

收稿 2008-10-09 修定 2008-12-30

资助 贵州省年度攻关项目(2003NGY006)、黔南民族师范学院项目(2008Y024)和贵州大学实践教学改革创新研究建设项目。

* 通讯作者(E-mail: mszhang@gzu.edu.cn; Tel: 0851-3856374)。

材料与方法

辣椒(*Capsicum frutescens* L. var. *longum* Bailey)品种为‘火椒王’,是江苏省镇江市镇研种业公司生产。种子催芽后播于育苗穴盘中,放入培养室育苗,出苗后作实验用。外源NO供体用硝普钠(SNP,分析纯), $500\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP约能产生 $2.0\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的NO(Delledonne等1998)。Cd由 $\text{CdCl}_2\cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 提供,浓度以 Cd^{2+} 计。

选取具有2片真叶、地上部分长4.5 cm左右、长势一致的辣椒幼苗,移植在装有1/2 Hoagland营养液的培养杯中预培养7 d。在幼苗正常生长后,转移到盛有不同处理水平营养液的培养杯中,在避雨的自然条件下培养。设6组营养液(经预备实验确定),分别为0(不含 Cd^{2+} 和SNP)、 $20\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$ 、 $30\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$ 、 $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}$ 、 $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}+20\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$ 、 $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}+30\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$,以1/2Hoagland营养液为基础配制,以不加 Cd^{2+} 和SNP为对照。每个处理有4杯,每杯植入7株苗,重复3次。整个实验期间,为了维持培养液pH、含氧量、处理浓度的稳定,每天更换一次培养液。培养15 d后,测定植株根长、株高、根系活力、叶绿素(Chl)含量、丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量以及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)的活性。

叶绿素含量测定采用丙酮提取法(张志良和瞿伟菁2004);根系活力用氯化三苯基四氮唑(TTC)法(张志良和瞿伟菁2004);MDA含量用硫代巴比妥酸法(张志良和瞿伟菁2004);SOD活性采用NBT光还原法(张志良和瞿伟菁2004);POD活性采用愈创木酚法(张志良和瞿伟菁2004);CAT活性参照Cakmak和Marschner(1992)文中的方法。实验数据用SPSS 13.0软件统计分析。

结果与讨论

1 SNP对 Cd^{2+} 胁迫下辣椒幼苗生长的影响

从表1可以看出,20、 $30\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$ 处理与对照相比,显著抑制根和苗的生长, $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}$ 处理则显著促进根和苗的生长。 $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}+20\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$ 处理的根长和苗长分别是20

表1 SNP对 Cd^{2+} 胁迫下辣椒根长和苗长的影响

Table 1 Effects of SNP on root length and seedling length of *C. frutescens* under Cd^{2+} stress

处理	根长/cm	苗长/cm
对照	6.3 ± 0.21^b	7.1 ± 0.15^b
$20\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$	4.4 ± 0.15^d	5.3 ± 0.06^d
$30\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$	4.0 ± 0.10^e	4.9 ± 0.11^e
$75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}$	6.7 ± 0.15^a	8.1 ± 0.10^a
$75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}+20\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$	4.8 ± 0.10^c	5.6 ± 0.15^c
$75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}+30\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$	4.4 ± 0.10^d	5.2 ± 0.13^d

不同小写字母表示在0.05水平差异显著(LSD法)。下表同此。

$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$ 单独处理时的109.0%和105.7%,差异显著,但低于对照及 $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}$ 处理; $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}+30\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$ 处理的根长和苗长分别是 $30\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$ 处理时的110.0%、106.1%,差异显著,但仍低于对照及 $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}$ 处理的。这说明, $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}$ 能一定程度缓解较高浓度 Cd^{2+} 对辣椒根和苗生长的抑制作用,但仍恢复不到对照水平。

2 SNP对 Cd^{2+} 胁迫下辣椒幼苗几种生理生化指标的影响

从表2、3、4可以看出:(1)不同处理辣椒幼苗叶中叶绿素含量几乎都表现出明显差异,20、 $30\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$ 处理与对照相比,Chl a、Chl b的含量及Chl a/b显著降低, $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}$ 处理则提高了Chl a、Chl b的含量及Chl a/b。 $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}+20\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$ 处理的Chl a、Chl b含量分别是 $20\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$ 单独处理时的132.9%、104.1%,差异显著,但低于对照及 $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}$ 处理; $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}+30\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$ 处理的Chl a、Chl b含量分别是 $30\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$ 单独处理时的129.0%、104.0%,差异显著,但也低于对照及 $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}$ 处理; $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}+20\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$ 、 $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}+30\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$ 处理的Chl a/b值分别比20、 $30\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$ 提高了128.3%、123.7%。以上结果说明, $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}$ 能一定程度缓解较高浓度 Cd^{2+} 对辣椒叶片Chl a、Chl b合成的抑制作用,但仍恢复不到对照水平,其中对Chl a的缓解作用比Chl b大(表2)。

(2)20、 $30\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$ 处理显著抑制了根系活性, $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}$ 处理使根系活力提高,但差异不显著; $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{SNP}+20\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Cd}^{2+}$ 处理的

表2 SNP对Cd²⁺胁迫下辣椒叶中叶绿素和根系活力的影响Table 2 Effects of SNP on chlorophyll contents and root activity in *C. frutescens* under Cd²⁺ stress

处理	叶绿素 a 含量/mg·g ⁻¹ (FW)	叶绿素 b 含量/mg·g ⁻¹ (FW)	叶绿素 a/b	根系活力/μg·g ⁻¹ (FW)·h ⁻¹
对照	1.34±0.006 ^b	0.509±0.002 ^a	2.63±0.006 ^{ab}	77.67±5.51 ^a
20 mg·L ⁻¹ Cd ²⁺	0.76±0.021 ^e	0.389±0.007 ^c	1.94±0.040 ^d	31.00±2.00 ^d
30 mg·L ⁻¹ Cd ²⁺	0.69±0.015 ^f	0.373±0.003 ^d	1.86±0.056 ^d	27.33±6.81 ^d
75 μmol·L ⁻¹ SNP	1.40±0.021 ^a	0.512±0.002 ^a	2.74±0.044 ^a	85.00±2.00 ^a
75 μmol·L ⁻¹ SNP+20 mg·L ⁻¹ Cd ²⁺	1.01±0.066 ^c	0.405±0.005 ^b	2.49±0.193 ^b	51.33±3.51 ^b
75 μmol·L ⁻¹ SNP+30 mg·L ⁻¹ Cd ²⁺	0.89±0.020 ^d	0.388±0.006 ^c	2.30±0.075 ^c	39.67±3.21 ^c

根系活力是 20 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 单独处理时的 165.6%, 差异显著, 但低于对照和 75 μmol·L⁻¹ SNP 处理; 75 μmol·L⁻¹ SNP+30 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 处理的根系活力是 30 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 单独处理时的 145.2%, 差异显著, 但仍低于对照和 75 μmol·L⁻¹ SNP 处理(表 2)。说明 75 μmol·L⁻¹ SNP 能一定程度缓解较高浓度 Cd²⁺ 对辣椒根系活力的抑制。

(3) 20、30 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 处理辣椒幼苗根和叶的 MDA 含量显著增加, 表明其细胞膜系统受到损伤;

75 μmol·L⁻¹ SNP 处理的 MDA 含量比对照有所降低; 75 μmol·L⁻¹ SNP+20 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 处理的根和叶 MDA 含量分别是 20 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 单独处理时的 93.2%、89.3%, 差异显著; 75 μmol·L⁻¹ SNP+30 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 处理的根和叶 MDA 含量分别是 30 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 单独处理时的 90.0%、88.7%, 差异显著(表 3)。说明 75 μmol·L⁻¹ SNP 能一定程度缓解较高浓度 Cd²⁺ 对辣椒幼苗细胞膜系统的损伤。

(4) 20、30 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 处理的根和叶中 SOD 活性受到显著抑制; 75 μmol·L⁻¹ SNP 处理的 SOD 活性增强; 75 μmol·L⁻¹ SNP+20 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 处理的根和叶中 SOD 活性是 20 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 单独处理时的 117.8%、103.6%, 差异显著; 75 μmol·L⁻¹ SNP+30 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 处理的根和叶中 SOD 活性分别是 30 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 单独处理时的 127.3%、106.3%, 差异显著。20、30 mg·L⁻¹ Cd²⁺、75 μmol·L⁻¹ SNP 处理与对照相比, 其根和叶的 POD 活性受到促进, 75 μmol·L⁻¹ SNP 处理的根和叶中 POD 活性比 20、30 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 处理小, 差异显著; 75 μmol·L⁻¹ SNP+20 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 的根和叶中 POD 活性是 20 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 单独处理时的 104.7%、102.1%, 差异显著; 75 μmol·L⁻¹

表3 SNP对Cd²⁺胁迫下辣椒根和叶中MDA含量的影响
Table 3 Effects of SNP on MDA content in roots and leaves of *C. frutescens* under Cd²⁺ stress

处理	MDA 含量/μmol·g ⁻¹ (FW)	
	根	叶
对照	0.516±0.007 ^e	0.487±0.004 ^e
20 mg·L ⁻¹ Cd ²⁺	0.654±0.079 ^c	0.593±0.007 ^c
30 mg·L ⁻¹ Cd ²⁺	0.793±0.009 ^a	0.702±0.008 ^a
75 μmol·L ⁻¹ SNP	0.423±0.007 ^f	0.455±0.008 ^f
75 μmol·L ⁻¹ SNP+20 mg·L ⁻¹ Cd ²⁺	0.610±0.008 ^d	0.529±0.005 ^d
75 μmol·L ⁻¹ SNP+30 mg·L ⁻¹ Cd ²⁺	0.714±0.010 ^b	0.622±0.009 ^b

表4 SNP对Cd²⁺胁迫下辣椒根和叶SOD、POD、CAT活性的影响Table 4 Effects of SNP on SOD, POD and CAT activities in roots and leaves of *C. frutescens* under Cd²⁺ stress

处理	SOD 活性/U·g ⁻¹ (FW)		POD 活性/U·g ⁻¹ (FW)·min ⁻¹		CAT 活性/U·g ⁻¹ (FW)·min ⁻¹	
	根	叶	根	叶	根	叶
对照	254±3.6 ^b	263±4.5 ^b	382±6.0 ^f	370±4.0 ^f	64±3.6 ^b	73±4.0 ^b
20 mg·L ⁻¹ Cd ²⁺	163±7.5 ^e	194±4.6 ^d	616±5.1 ^d	609±6.2 ^d	46±2.6 ^c	61±2.0 ^c
30 mg·L ⁻¹ Cd ²⁺	139±4.7 ^f	174±3.6 ^f	702±6.1 ^b	639±8.0 ^b	32±3.5 ^d	50±2.6 ^d
75 μmol·L ⁻¹ SNP	287±3.5 ^a	296±2.6 ^a	583±5.5 ^e	533±7.5 ^e	93±5.0 ^a	92±2.0 ^a
75 μmol·L ⁻¹ SNP+20 mg·L ⁻¹ Cd ²⁺	192±2.5 ^c	201±3.0 ^c	645±6.7 ^c	622±2.6 ^c	50±2.5 ^c	70±5.6 ^b
75 μmol·L ⁻¹ SNP+30 mg·L ⁻¹ Cd ²⁺	177±4.5 ^d	185±4.7 ^e	721±6.7 ^a	661±9.1 ^a	45±5.2 ^c	62±4.3 ^c

SNP+30 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 处理的根和叶中 POD 活性分别是 30 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 单独处理时的 102.7%、103.4%, 差异显著。20、30 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 处理的根和叶中 CAT 活性与对照相比受到显著抑制; 75 μmol·L⁻¹ SNP 处理的 CAT 活性增强; 75 μmol·L⁻¹ SNP+20 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 处理的叶中 CAT 活性是 20 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 单独处理时的 114.8%, 差异显著, 但根中 CAT 活性差异不显著; 75 μmol·L⁻¹ SNP+30 mg·L⁻¹ 处理的根和叶中 CAT 活性分别是 30 mg·L⁻¹ Cd²⁺ 单独处理时的 140.6%、124.0%, 差异显著(表 4)。

参考文献

- 梁五生, 李德葆(2001). 一氧化氮(NO)对植物的生理和病理功能. 植物生理学通讯, 37 (6): 562~569
- 阮海华, 沈文飏, 叶茂炳, 徐朗莱(2001). 一氧化氮对盐胁迫下小麦叶片氧化损伤的保护效应. 科学通报, 46 (23): 1993~1997
- 王松华, 周正义, 陈庆榆, 张强, 张晓龙(2007). 外源一氧化氮对镉胁迫下绿豆幼苗根尖抗氧化酶的影响. 激光生物学报, 16 (1): 62~67
- 王宪叶, 沈文飏, 徐朗莱(2004). 外源一氧化氮对渗透胁迫下小麦幼苗叶片膜脂过氧化的缓解作用. 植物生理与分子生物学学报, 30 (2): 195~200
- 张华, 沈文飏, 徐朗莱(2003). 一氧化氮对渗透胁迫下小麦种子萌发及其活性氧代谢的影响. 植物学报, 45 (8): 901~905
- 张志良, 瞿伟菁(2004). 植物生理学实验指导(第3版). 北京: 高等教育出版社, 39~276
- Beligni MV, Lamattina L (2000). Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three light-inducible responses in plants. *Planta*, 210: 215~221
- Beligni MV, Fath A, Bethke PC, Lamattina L, Jones RL (2002). Nitric oxide acts as an antioxidant and delays programmed cell death in barley aleuronelayers. *Plant Physiol*, 129: 1642~1650
- Cakmak I, Marschner H (1992). Magnesium deficiency and high light intensity on enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiol*, 98: 1222~1227
- Delledonne M, Xia YJ, Dixon RA (1998). Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. *Nature*, 394: 585~588
- Dumer J, Klessig DF (1999). Nitric oxide as a signal in plants. *Curr Opin Plant Biol*, 2: 369~374
- Furchgott RF (1995). A research trail over half a century. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 35: 1~27
- Kopyra M, Gwozdz EA (2003). Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus*. *Plant Physiol Biochem*, 41: 1011~1017
- Laspina NV, Groppa MD, Tomaro ML, Benavides MP (2005). Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. *Plant Sci*, 169 (2): 323~330
- Neill SJ, Desikan R, Hancock JT (2003). Nitric oxide signalling in plants. *New Phytol*, 159 (1): 11~35