外源一氧化氮对铅胁迫下玉米幼苗的缓解作用

王 芳,陈晓燕,曹廷俊,王汉宁,方永丰,王 威
(甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室 甘肃省干旱生境作物学重点实验室 甘肃农业大学农学院, 甘肃 兰州 730070)

摘 要: 为探讨 Pb 胁迫下外源一氧化氮(NO)对玉米幼苗伤害的缓解作用,利用室内盆栽试验研究了外源 NO 供体硝普钠(SNP)对铅(Pb)处理下玉米(*Zea mays*)幼苗生长及生理特性的影响。结果表明:与对照相比,1.0 mmol·L^{-1} Pb 处理明显抑制了玉米幼苗的生长,减缓了玉米幼苗可溶性蛋白和可溶性糖含量的积累,抗氧化酶活性下降,叶绿素含量减少,丙二醛(MDA)含量增加、质膜透性增大;添加 0.1 mmol·L^{-1}的 SNP 明显缓解了 Pb 胁迫对玉米幼苗生长的抑制作用,提高 Pb 胁迫下超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)的活性,增加了幼苗叶绿素和脯氨酸含量,促进了可溶性糖和可溶性蛋白的积累,降低了 MDA 含量、细胞质膜的透性。外源 NO 对 Pb 胁迫下玉米生长有一定的缓解作用,可以增强玉米幼苗对 Pb 毒害的抗性。

关键词: 玉米;外源 NO;Pb 胁迫;缓解作用
中图分类号: S513.01 **文献标志码**: A **文章编号**: 1000-7601(2014)04-0024-06

Mitigative effects of exogenous nitric oxide on Pb^{2+} stress in maize seedlings

WANG Fang, CHEN Xiao-yan, CAO Ting-jun, WANG Han-ning, FANG Yong-feng, WANG Wei
(*Gansu Key Laboratory of Crop Improvement and Germplasm Enhancement*, *Gansu Key Laboratory of Aridland Crop Science*, *Department of Agronomy*, *Gansu Agricultural University*, *Lanzhou*, *Gansu* 730070, *China*)

Abstract: The pot experiment was conducted to investigate the effects of exogenous nitric oxide (NO) on the growth and physiological characteristics of maize (*Zea mays*) seedlings under Pb^{2+} stress. The results demonstrated that, after treated with 1.0 mmol·L^{-1} Pb^{2+}, the growth of maize seedlings was inhibited, the accumulation of soluble protein and soluble sugar was slowed down, the activity of antioxidant enzymes and chlorophyll content were declined, while the MDA content and membrane permeability were increased. When 0.1 mmol·L^{-1} SNP was supplied, the inhibition effect of Pb^{2+} to the growth of seedlings was significantly relieved, the activity of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) was increased, the content of chlorophyll and proline (Pro) was increased, the accumulation of soluble sugar and soluble protein was promoted, and the MDA content and membrane permeability were declined. Therefore, exogenous NO has a significantly alleviatory effect on the growth of Pb^{2+} stressed maize seedlings, and may enhance the Pb^{2+} resistance of maize seedlings.

Keywords: maize; exogenous nitric oxide; Pb^{2+} stress; mitigative damage

铅是重金属“五毒”之一,是一种对植物有积累性危害的有毒物质[1],其不仅会降低农作物的产量和品质,且会通过食物链影响人类的健康[2]。因此,重金属铅给人体健康和农业生产带来不可忽视的负面影响[3]。研究表明,在铅胁迫下,高羊茅(*Festuca arundinacea*)根冠细胞有丝分裂减少、根量减少,胁迫严重时还会造成根系腐烂,叶片失绿,甚至植株的枯黄死亡[4];高浓度铅会降低匍茎翦股颖(*Agrostis stolonifera*)生物量和叶绿素含量[5]。铅对植物的毒害作用与活性氧自由基代谢有关[6],铅胁迫会导致豌豆(*Pisum sativum*)幼苗体内活性氧积累,破坏了叶绿体、线粒体等细胞器结构,最终影响植物呼吸作用和光合作用等生理生化过程的正常进行[7]。

一氧化氮(nitric oxide,NO)是一种广泛分布在生物体内的信号分子。在植物体内,NO 具有毒害和保护细胞的双重生理效应,参与种子萌发、根和幼苗的生长发育、光形态建成、细胞凋亡以及各种胁迫响应等生理过程[8-12]。因此,有关 NO 缓解盐、干旱、高

收稿日期:2013-09-03
基金项目:甘肃农业大学盛彤笙科技创新基金(GSAU-STS-1229);973 计划前期研究专项(2012CB722902)
作者简介:王 芳(1980—),女,甘肃民勤人,讲师,在读博士,主要研究方向为种子生理及玉米分子育种。E-mail:wangfang@gsau.edu.cn。

温等非生物胁迫对植物生理生化特性影响的研究受到普遍关注[13-14]。外源 NO 对 Pb^{2+} 胁迫下向日葵(*Helianthus annuus*)幼苗叶片的伤害有明显的缓解作用[15];NO 供体 SNP(Sodium Nitroprusside,亚硝基铁氰化钠)处理能缓解 Cd^{2+}、Pb^{2+} 胁迫对白羽扇豆(*Lupinus luteus*)幼苗及根生长的抑制作用[16],能增强镉胁迫下水稻(*Oryza sativa*)幼苗的抗氧化能力,延缓水稻叶片叶绿素和蛋白含量的下降[17];外源 NO 促进 Pb^{2+} 胁迫下小麦(*Triticum aestivum*)种子萌发及幼苗生长,提高叶绿素和可溶性蛋白含量,诱导 CAT 活性升高[18];适宜浓度 SNP 可以降低 Pb^{2+} 胁迫下高羊茅膜质过氧化程度,增强镉胁迫下黑麦草(*Lolium perenne*)的抗氧化能力[19]。因此,适宜浓度的 NO 在植物遭受重金属胁迫下起着重要的保护作用。但有关 NO 对 Pb^{2+} 胁迫下玉米种子萌发和幼苗生理特性影响的研究报道很少。本试验主要研究外源 NO 供体 SNP 对 Pb^{2+} 胁迫下玉米种子萌发和幼苗生理生化特性的变化,以期为研究缓解重金属 Pb^{2+} 对植物毒害方面提供依据。

1　材料与方法

1.1　材料培养与处理

选饱满一致的"郑单 958"玉米种子,用 0.1% 的 NaClO 消毒 10 min 后漂洗 3~4 次,以蒸馏水浸种 12 h 后播种到垫有 2 层滤纸的直径为 15 cm 的培养皿中,滤纸用蒸馏水浸湿,置于 25℃培养箱中暗发芽 24 h,然后进行光暗交替,周期为 12 h,每隔 2 d 更换一次滤纸。待玉米幼苗长一周后,选取生长一致的幼苗转移到塑料花盆中,蛭石培养,每盆移植 8 株,每 2 d 用 1/4 浓度的 Hoaglands 营养液浇灌,待幼苗长出 3~4 片叶以后,选择生长相对一致的幼苗进行铅胁迫试验。

NO 供体硝普钠(Sodium nitropprusside,SNP,购自德国 Merck 公司),先配成 100 mmol·L^{-1}的母液,保存于 4℃,用时按处理所需的浓度进行稀释。Pb^{2+} 供体为硝酸铅($3Pb(NO_3)_2 \cdot 8H_2O$,分析纯)。

试验首先设置系列 Pb^{2+}(0、0.25、0.5、1.0、1.5 mmol·L^{-1}和 2.0 mmol·L^{-1})浓度梯度,用 Hoagland 营养液 + Pb^{2+} 处理玉米幼苗,培养 10 d 后根据幼苗相对生长速率,筛选出 1.0 mmol·L^{-1}为 Pb^{2+} 胁迫浓度;然后在选出的 1.0 mmol·L^{-1} Pb^{2+} 胁迫浓度中加入系列 SNP(0、0.05、0.1、0.5 mmol·L^{-1}和 1.0 mmol·L^{-1})浓度梯度进行 Hoagland 营养液处理,培养 10 d 后同样根据幼苗相对生长速率选出浓度为 0.1 mmol·L^{-1}的 SNP 用于进一步试验。因 SNP 分解产物除 NO 外,还会生成 NO^{-2},0.1 mmol·L^{-1}SNP 最多降解生成 1.0 μmol·L^{-1}的 NO^{-2},所以设 1.0 μmol·L^{-1}的 NO^{-2} 处理作为对照,根据筛选的 Pb^{2+} 和 SNP 浓度,试验设置 5 个处理:(1) 对照(CK),Hoagland 溶液;(2) 含 1.0 mmol·L^{-1} Pb^{2+} 的 Hoagland 溶液,以 Pb 表示;(3) 含 0.1 mmol·L^{-1} SNP 的 Hoagland 溶液,以 SNP 表示;(4) 含 1.0 mmol·L^{-1} Pb^{2+} 和 0.1 mmol·L^{-1} SNP 的 Hoagland 溶液,以 Pb + SNP 表示;(5) 含 1.0 mmol·L^{-1} Pb 和 1.0 μmol·L^{-1} $NaNO_2$ 的 Hoagland 溶液,以 Pb + $NaNO_2$ 表示。每处理 5 次重复,处理 7 d 后进行各项指标的测定。

1.2　测定方法

鲜重和干重的测定:不同处理随机取 10 株幼苗,用蒸馏水冲洗干净,然后用滤纸吸干外附水分,称鲜重;105℃杀青 10 min 后置于 80℃烘箱内烘干至恒重,称其干重。

粗酶液的提取:称取 0.5 g 玉米叶片,加入 5 mL 0.05 mol·L^{-1}(pH 值为 7)的磷酸缓冲液,在冰浴下研磨至匀浆,转入 5 mL 离心管中,再用磷酸缓冲液洗涤研钵,将洗涤液全部转入离心管中,4℃下 12 000 r·min^{-1}离心 20 min,上清液为粗酶液,4℃保存备用[20]。采用愈创木酚法测定 POD 活性[21],以每分钟内 A_{470}值减少 0.01 为 1 个过氧化物酶活力单位(U),酶活性以 U·g^{-1}·min^{-1}表示;CAT 的测定采用紫外吸收法[22],以 1 min 内 A_{240}减少 0.1 的酶量为 1 个酶活单位(U),酶活性以 U·g^{-1}·min^{-1}表示;SOD 的测定用 NBT 法[22],以抑制 NBT 光化还原的 50% 为一个酶活性单位表示,以 U·g^{-1}FW 表示。采用茚三酮显色法测定脯氨酸含量[23],采用硫代巴比妥酸法测定 MDA 含量[23],采用蒽酮比色法测定可溶性糖含量[23],采用考马斯亮蓝法测定可溶性蛋白含量[24],采用 DDS-11A 电导仪法测定质膜相对透性,以相对电导率表示[24]。采用冯双华等[25]的方法测定叶绿素含量。

1.3　数据统计分析

数据采用 Microsoft Excel 软件进行绘图,用 SPSS 16.0 软件进行方差分析。

2　结果与分析

2.1　不同浓度 Pb 处理对玉米幼苗生长的影响

不同浓度(0.25~2.0 mmol·L^{-1})Pb 处理玉米幼苗后,其株高、地上地下鲜重和干重均呈明显下降趋势(表 1)。与对照相比,当 Pb 浓度为 1.0 mmol·L^{-1} 时,株高、地上鲜重、地上干重、地下鲜重和地下干重均显著降低($P < 0.05$),分别比对照降低了52.60%、

68.63%、64.66%、14.10%和 10.42%。

表 1 不同浓度 Pb^{2+} 处理对玉米幼苗生长的影响(平均数 ± SE)

Table 1 Effects of different contents of Pb^{2+} on growth of maize seedlings(mean ± SE)

Pb^{2+} 浓度 Contents of Pb^{2+} /mmol·L^{-1}	株高 Height /cm	地下鲜重 Root fresh weight /(g·$plant^{-1}$)	地下干重 Root dry weight /(g·$plant^{-1}$)	地上鲜重 Shoot fresh weight /(g·$plant^{-1}$)	地上干重 Shoot dry weight /(g·$plant^{-1}$)
CK	17.933 ± 0.581a	1.237 ± 0.085a	0.116 ± 0.001a	2.418 ± 0.146a	0.245 ± 0.010a
0.25	16.533 ± 0.233b	0.948 ± 0.060b	0.105 ± 0.004b	2.208 ± 0.028ab	0.242 ± 0.003a
0.5	14.767 ± 0.219c	0.885 ± 0.042b	0.104 ± 0.003b	2.178 ± 0.002ab	0.241 ± 0.002a
1.0	8.500 ± 0.802d	0.388 ± 0.113c	0.041 ± 0.001c	2.077 ± 0.032b	0.220 ± 0.003b
1.5	6.400 ± 0.208e	0.291 ± 0.038cd	0.039 ± 0.004c	1.945 ± 0.068b	0.217 ± 0.005b
2.0	5.500 ± 0.058e	0.093 ± 0.014d	0.023 ± 0.003d	1.601 ± 0.155c	0.214 ± 0.003b

注:不同小写字母代表不同处理间在 0.05 水平上差异显著。下同。

Note: Different small letters show a significant difference at 0.05 probability level among the treatments. The same below.

2.2 不同浓度外源 NO 对 Pb 胁迫下玉米幼苗生长的影响

与对照相比,1.0 mmol·L^{-1} Pb 处理使玉米幼苗株高、地上鲜重、地上干重、地下鲜重和地下干重均显著下降($P < 0.05$),分别下降了 63.91%、85.88%、61.00%、35.38%和 9.00%(表 2)。与 1.0 mmol·L^{-1} Pb 胁迫处理相比,添加 0.05 ~ 1.0 mmol·L^{-1}SNP 均使玉米幼苗在 Pb 胁迫下的生物量发生变化。不同浓度 SNP 处理对玉米幼苗生物量积累的影响存在差异,其中以 SNP 0.1 mmol·L^{-1}处理效果最好,株高、地上鲜重、地上干重、地下鲜重和地下干重均显著高于 Pb 单独处理,分别提高了 5.84%、41.92%、23.53%、3.07%和 2.98%。当 SNP 浓度高于 0.1 mmol·L^{-1}后,生物量积累又呈下降趋势。

表 2 不同浓度外源 NO 对 Pb 胁迫下玉米幼苗生长的影响(平均数 ± SE)

Table 2 Effect of exogenous nitric oxide on growth of maize seedlings under Pb stress (mean ± SE)

处理 Treatment	株高 Height /cm	地下鲜重 Root fresh weight /(g·$plant^{-1}$)	地下干重 Root dry weight /(g·$plant^{-1}$)	地上鲜重 Shoot fresh weight /(g·$plant^{-1}$)	地上干重 Shoot dry weight /(g·$plant^{-1}$)
CK	20.969 ± 0.418a	0.942 ± 0.102a	0.100 ± 0.002a	3.516 ± 0.086a	0.322 ± 0.005a
1.0 mmol·L^{-1} Pb^{2+}	7.567 ± 0.145bc	0.133 ± 0.001d	0.039 ± 0.001c	2.272 ± 0.069c	0.293 ± 0.006c
1.0 mmol·L^{-1} Pb^{2+} + 0.01 mmol·L^{-1}SNP	7.333 ± 0.067c	0.184 ± 0.014c	0.041 ± 0.001c	2.307 ± 0.043c	0.282 ± 0.006d
1.0 mmol·L^{-1} Pb^{2+} + 0.05 mmol·L^{-1}SNP	7.467 ± 0.145c	0.215 ± 0.030c	0.045 ± 0.004bc	2.312 ± 0.045b	0.286 ± 0.005d
1.0 mmol·$L^{-1}$$Pb^{2+}$ + 0.1 mmol·L^{-1}SNP	8.067 ± 0.145b	0.229 ± 0.030b	0.051 ± 0.004b	2.344 ± 0.143b	0.302 ± 0.016b
1.0 mmol·$L^{-1}$$Pb^{2+}$ + 0.5 mmol·L^{-1}SNP	7.267 ± 0.033c	0.150 ± 0.011d	0.038 ± 0.005c	2.329 ± 0.063b	0.293 ± 0.015c
1.0 mmol·$L^{-1}$$Pb^{2+}$ + 1.0 mmol·L^{-1}SNP	6.667 ± 0.067d	0.119 ± 0.004d	0.037 ± 0.001c	2.170 ± 0.116c	0.282 ± 0.010d

2.3 外源 NO 对 Pb 胁迫下玉米幼苗细胞质膜透性和 MDA 含量的影响

1.0 mmol·L^{-1}Pb 胁迫使玉米幼苗叶片的细胞质膜透性显著增加,与对照相比,增加了 60.87%(图 1A)。用 0.1 mmol·L^{-1}SNP 单独处理,玉米幼苗的细胞质膜透性显著低于对照,下降了 28.54%。Pb + SNP 处理显著降低了叶片的细胞质膜透性,与单独 Pb 胁迫相比,下降了 38.62%。$NaNO_2$ + SNP 处理无缓解效应。

Pb 胁迫下玉米幼苗叶片中 MDA 含量显著提高($P < 0.05$),比对照增加了 46.08%(图 1 B);0.1 mmol·L^{-1}SNP 处理下玉米幼苗的 MDA 含量与对照差异不显著($P > 0.05$);Pb + SNP 处理则显著降低了 Pb 胁迫下玉米叶片中 MDA 的含量。Pb + $NaNO_2$ 处理无缓解效应。

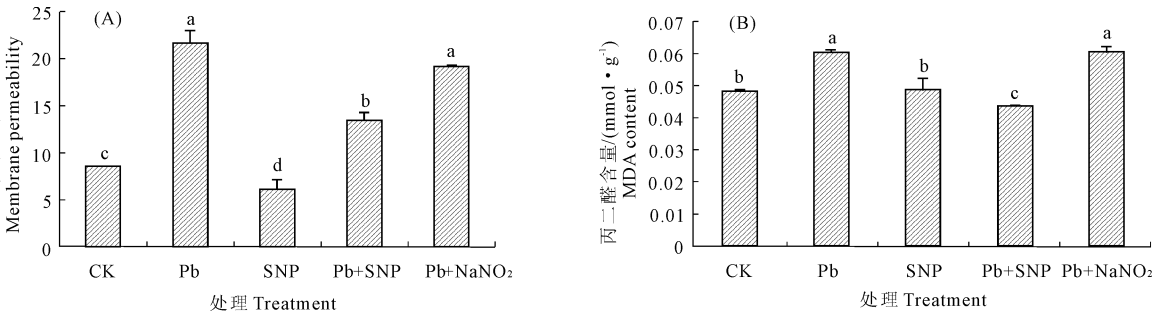

图 1　外源 NO 对 Pb 胁迫下玉米幼苗细胞膜透性和 MDA 含量的影响(平均数 ± SE)

Fig.1　Effect of exogenous nitric oxide on membrane permeability and MDA content in maize seedlings under Pb stress (mean ± SE)

2.4　外源 NO 对 Pb 胁迫下玉米幼苗过氧化物酶活性的影响

Pb 处理显著降低了玉米幼苗叶片中三种酶的活性,其中 POD 活性比对照降低了 65.99%(图 2A),CAT 活性比对照降低了 62.87%(图 2B),SOD 活性比对照降低了 30.06%(图 2C)。用 0.1 mmol·L^{-1}SNP 单独处理,玉米叶中 POD 活性低于对照,但差异不显著($P>0.05$),CAT 和 SOD 的活性分别高于相应对照。与单独 Pb 胁迫处理相比,Pb + SNP 处理显著缓解了 Pb 胁迫对三种酶活性的抑制作用($P<0.05$),POD、CAT 和 SOD 活性比 Pb 处理分别增加了 64.13%、63.76%和 30.64%。Pb + $NaNO_2$ 处理的 SOD、CAT、POD 活性均与 Pb 处理无显著差异($P>0.05$)。

2.5　外源 NO 对 Pb 胁迫下玉米幼苗叶片脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量的影响

Pb 胁迫使玉米幼苗叶片脯氨酸含量显著下降($P<0.05$),与对照相比下降了 72.70%;用 SNP + Pb 处理,叶片中脯氨酸的含量显著增加($P<0.05$)(图 3A)。Pb + $NaNO_2$ 处理的脯氨酸含量与 Pb 处理无显著差异($P>0.05$)。

Pb 胁迫抑制了可溶性蛋白的积累,与对照相比下降了 37.49%,而 SNP 缓解了这种抑制作用,用 SNP + Pb 处理,可溶性蛋白含量增加,与 Pb 胁迫相比,增加了 34.02%,而用 Pb + $NaNO_2$ 处理的可溶性蛋白含量与 Pb 处理无显著差异($P>0.05$)(图 3B)。

Pb 胁迫使可溶性糖的含量显著下降,比对照降低了 21.33%;用 SNP 处理后,玉米幼苗可溶性糖含量高于对照,但差异不显著($P>0.05$);用 SNP + Pb 处理,可溶性糖含量增加,与 Pb 胁迫相比,增加了 19.55%,而用 Pb + $NaNO_2$ 处理的可溶性糖含量与 Pb 处理无显著差异($P>0.05$)(图 3C)。

2.6　外源 NO 对 Pb 胁迫下玉米幼苗叶片叶绿素含量的影响

Pb 胁迫下玉米幼苗叶片叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素 a + b 含量均显著下降($P<0.05$),与对照相比,分别下降了 71.09%、66.67%、69.57%(表 3);用 SNP + Pb 处理则显著缓解了 Pb 胁迫导致的叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素 a + b 含量的下降($P<0.05$);单独用 SNP 处理,玉米叶片的叶绿素含量与对照差异均不显著($P>0.05$),Pb + $NaNO_2$ 处理的叶绿素含量与 Pb 处理无差异。

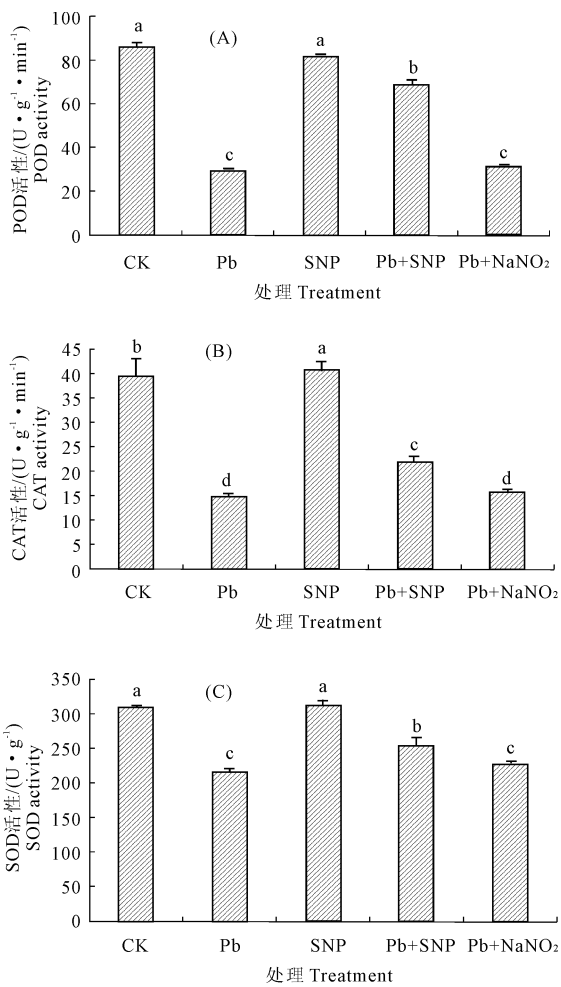

图 2　外源 NO 对 Pb 胁迫下玉米幼苗 POD、CAT 和 SOD 活性的影响(平均值 ± SE)

Fig.2　Effect of exogenous nitric oxide on POD, CAT and SOD activity in maize seedlings under Pb stress (mean ± SE)

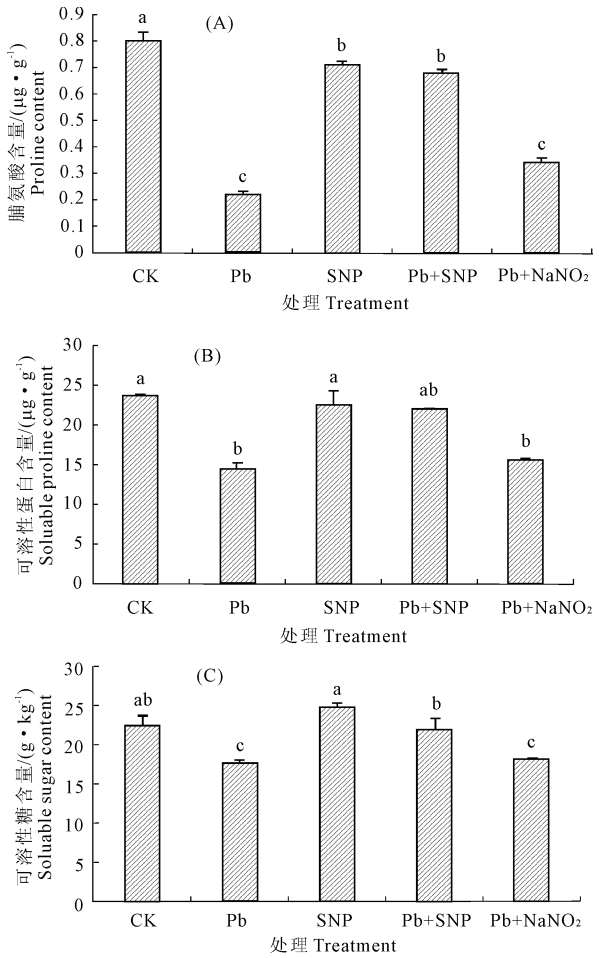

图 3 外源 NO 对 Pb 胁迫下玉米幼苗脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量的影响(平均数 ± SE)

Fig.3 Effect of exogenous nitric oxide on proline, soluble protein and soluble sugar content in maize seedlings under Pb stress (mean ± SE)

表 3 外源 NO 对 Pb 胁迫下玉米幼苗叶片叶绿素含量的影响

Table 3 Effect of exogenous nitric oxide on chlorophyll content in leaves of maize seedlings under Pb stress (mg·g^{-1}·FW)

处理 Treatments	叶绿素 a 含量 Chlorophyll a content	叶绿素 b 含量 Chlorophyll b content	叶绿素 a + b 含量 Chlorophyll (a + b) content
CK	1.28 ± 0.07a	0.45 ± 0.02a	1.84 ± 0.03a
Pb	0.37 ± 0.02c	0.15 ± 0.01b	0.56 ± 0.02c
SNP	1.27 ± 0.04a	0.44 ± 0.00a	1.79 ± 0.00a
Pb + SNP	1.0 ± 0.03b	0.40 ± 0.04a	1.52 ± 0.07b
Pb + $NaNO_2$	0.45 ± 0.04c	0.23 ± 0.01b	0.73 ± 0.04c

3 讨 论

铅是土壤中主要的重金属污染元素之一,也是抑制植物生长和影响农产品安全的重要因素[26-27]。在含铅的土壤中,植物生长过程中很多代谢途径如光合作用、呼吸作用、色素合成、抗氧化酶活性等都会受到影响[28-29]。铅能诱导活性氧的产生,导致膜质过氧化和生物大分子的损伤,叶绿素含量降低,从而使光合作用等生理过程发生紊乱,最终抑制植株的生长[30]。NO 普遍存在于生物体,可减少非生物胁迫下植物体内活性氧 ROS 的积累,缓解各种胁迫造成的氧化损伤,从而增强植物的适应能力[31]。本研究表明,1.0 mmol·L^{-1}的 Pb^{2+} 处理显著抑制了玉米幼苗的生长和生物量的增加,降低了玉米幼苗可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸等渗透调节物质和叶绿素含量,使 MDA 含量增加、质膜透性增大、抗氧化酶活性下降。因此,Pb^{2+} 多方面干扰玉米正常生理和生化代谢,最终导致产量下降。添加 0.1 mmol·L^{-1} SNP 处理对 Pb 胁迫下玉米幼苗生长具有明显的保护作用,包括促进玉米幼苗根和茎的生长,提高 3 种保护酶活性和可溶性糖的含量、缓解叶绿素降解、降低 Pb 胁迫导致的玉米幼苗叶片 MDA 含量的上升和质膜透性增加等。

正常条件下,细胞膜对物质具有选择透性的能力,对维持细胞的微环境和正常代谢起着重要的作用。在逆境胁迫下,细胞质膜透性会由于环境的影响而发生不同程度的增大,细胞膜结构功能遭到破坏,细胞内溶质大量外渗。MDA 是脂质过氧化的主要产物之一,是膜系统受到伤害的重要标志之一,其含量的多少反映了细胞膜脂过氧化的程度和植物对逆境条件反应的强弱[32-33]。本试验表明,用 1.0 mmol·L^{-1}的 Pb 处理玉米幼苗后,MDA 含量和质膜透性增大,而添加 0.1 mmol·L^{-1}SNP 能明显缓解 MDA 含量的增加和细胞质膜透性的增大,说明外源 NO 对植物细胞膜具有良好的保护或修复作用,其原因可能是外源 NO 可以减少植物对 Pb^{2+} 的吸收,从而减轻 Pb 胁迫对玉米造成的伤害。

植物在自身有氧代谢过程中以及外界逆境胁迫下,其体内会产生大量的活性氧毒害物质,这类物质在植物体内如不能及时清除,将会对植物的生长发育产生严重的毒害作用[34]。植物抗氧化系统是植物清除体内活性氧毒害物质的一个主要途径,植物抗氧化酶(POD、CAT、SOD 等)普遍存在于植物的各种组织中[35],是植物适应多种逆境胁迫的重要酶类,被称为植物保护酶系统[36]。SOD 能将 O_2^- 歧化为 H_2O_2,而 H_2O_2 被 POD 和 CAT 转化成无害的 O_2 和 H_2O[37]。因此,提高逆境下植物体内的 SOD、CAT 和 POD 酶活性能缓减膜脂过氧化过程。本试验表明,0.1 mmol·L^{-1}SNP 处理可以增强铅胁迫下玉米幼苗的抗性,提高 Pb 胁迫下玉米幼苗 SOD、CAT 和 POD 活性。这与外源 NO 可提高镉胁迫下蚕豆(*Vicia faba*)幼苗抗氧化能力[38]、NO 清除其活性氧而减轻 Cd

对水稻的毒害作用的研究结果[39]相一致。

脯氨酸、可溶性蛋白和可溶性糖均为植物体内的渗透调节物质,可以在一定程度上反映植物的抗逆性[35]。当植物受到逆境胁迫时,脯氨酸含量显著增加,维持细胞的正常结构和调节渗透压,从而增强植物的抗逆性。本研究表明,0.1 mmol·L^{-1}SNP 处理 Pb 胁迫下的玉米幼苗其脯氨酸含量显著高于对照处理。在逆境胁迫下,植物正常蛋白合成受阻,逆境蛋白被诱导合成[40]。洪仁远等[41]、吴桂容[42]等研究指出镉胁迫会诱导可溶性蛋白含量增加,可能是植物抵抗镉毒害的一种解毒机制。本研究表明,Pb^{2+}胁迫使玉米幼苗叶片可溶性蛋白含量明显下降,其原因可能与蛋白质合成受到抑制有关,或是由于蛋白结构受到破坏降解所致。与单独 Pb^{2+}胁迫相比,SNP + Pb 处理明显增加了玉米幼苗叶片可溶性蛋白和可溶性糖含量,从而缓解重金属 Pb^{2+}的毒害作用,提高玉米抗重金属铅毒害的能力。本试验结果较好地反映了外源 NO 可缓解 Pb 对玉米幼苗造成的伤害。

叶绿素参与植物光合作用中光能吸收、传递和转化,其含量是反映光合强度的重要指标[43]。植物受到重金属胁迫时,各种生理过程都会受到影响,直接或间接地影响到叶绿素的含量。本研究中,1.0 mmol·$L^{-1}$$Pb^{2+}$胁迫下,玉米叶片叶绿素含量显著下降,导致了植物的光合能力降低。施加外源 NO 后显著增加了叶绿素含量,从而维持 Pb 胁迫下玉米幼苗较高的光合速率。这说明外源 NO 能增加玉米幼苗对铅胁迫的抗性,这与王林[44]在萝卜(*Raphanus sativus*)上的研究结果类似。

4　结　论

综上所述,铅胁迫抑制了玉米种子萌发和干物质的积累,使玉米幼苗抗氧化酶活性,叶绿素、可溶性糖、可溶性蛋白及脯氨酸含量降低,MDA 含量增加、质膜透性增大。Pb^{2+}多方面干扰玉米幼苗正常生理和生化代谢,最终导致其生物量下降。外源 NO 处理提高了玉米幼苗叶绿素、脯氨酸含量,诱导抗氧化酶活性升高,促进了可溶性糖、可溶性蛋白的积累;促使 MDA 含量下降,质膜氧化损伤得以修复。因此,外源 NO 多方面对铅毒害表现出缓解作用,修复玉米幼苗因铅胁迫引起的伤害,恢复和维持生理和生化代谢的稳定,增强玉米植株的抗逆能力。

参 考 文 献:

[1] 张远兵,刘爱荣,张雪平,等.外源一氧化氮对铅胁迫下高羊茅生长和无机离子含量的影响[J].广西植物,2009,29(3):360-365.

[2] 任安芝,高玉葆,刘　爽.铬、镉、铅胁迫对青菜叶片几种生理生化指标的影响[J].应用与环境生物学报,2000,6(20):112-116.

[3] 魏学玲.重金属铅胁迫对小麦种子萌发及幼苗生理生化特性的影响[D].兰州:西北师范大学,2010.

[4] 王慧忠,何翠屏,杨　华.土壤重金属污染对草坪性状影响的调查研究[J].草业科学,2003,20(1):53-55.

[5] 赵树兰,多立安.匍茎翦股颖对 Cu^{2+}、Zn^{2+}、Cd^{2+}与 Pb^{2+}胁迫的生长响应与阈限浓度[J].广西植物,2008,28(1):100-106.

[6] 李锋民,熊治廷,王　狄,等.铜铁铅单一及复合污染对铜草幼苗生长的影响[J].农业环境保护,2001,20(2):71-73.

[7] 刘延盛,鲁家米,周晓阳.Pb 在豌豆幼苗细胞中的超微结构分布与毒性研究[J].应用与环境生物学报,2007,13(5):647-651.

[8] Furchgott R F. A research trail over half a century[J]. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 1995,35:1-27.

[9] Beligni MV, Lamattina L. Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyls elongation, three light-inducible responses in plants[J]. Planta, 2000,210:215-221.

[10] Beligni MV, Fath A, Bethke PC, et al. Nitric oxide acts as an antioxidant and delays programmed cell death in barley aleurone layers [J]. Plant Physiology, 2002,129:1642-1650.

[11] 梁五生,李德葆.一氧化氮对植物的生理和病理功能[J].植物生理学通讯,37(6):562-569.

[12] 张　华,沈文飚,徐朗莱.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[J].植物学报,2003,45(8):901-905.

[13] Delledonne M, Xia YJ, Dixon RA. Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance[J]. Nature, 1998,394:585-588.

[14] Dumer J, Klessig DF. Nitric oxide as a signal in plants[J]. Current Opinion in Plant Biology, 1999,2:369-374.

[15] Laspina NV, Groppa MD, Tomaro ML, et al. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress[J]. Plant Science, 2005,169(2):323-330.

[16] Kopyra M, Gw, Zcdzc EA. Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of Lupinus luteus[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2003,41:1011-1017.

[17] Hsu Y T, Kao K H. Cadmium toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves[J]. Plant Growth Regulation, 2004,42:227-238.

[18] 魏学玲,史如霞,贾凌云.外源一氧化氮对铅胁迫下小麦种子萌发及幼苗生理特性的影响[J].植物研究,2011,31(1):34-39.

[19] 张远兵,刘爱荣,方　蓉.外源一氧化氮对镉胁迫下黑麦草生长和抗氧化酶活性的影响[J].草业学报,2008,17(4):57-64.

[20] Chander M S. Enzymic associations with resistance to rust and powdery mildew in pea[J]. Indian Journal of Horticulture, 1990,47(3):341-345.

[21] 王韶唐.植物生理学实验指导[M].西安:陕西科学技术出版社,1986.

[22] 陈建勋,王晓峰.植物生理学实验指导[M].广州:华南理工大学出版社,2002.

[23] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000.

(下转第 36 页)

作用的影响[J].干旱地区农业研究,2010,28(3):188-190,198.
[12] 付秋实,李红岭,崔 健,等.水分胁迫对辣椒光合作用及相关生理特性的影响[J].中国农业科学,2009,42(5):1859-1866.
[13] 黄海霞.干旱荒漠区辣椒耗水规律及对调亏灌溉的影响[D].兰州:甘肃农业大学,2012.
[14] 张爱民,杨 红,耿广东.干旱胁迫对辣椒幼苗形态指标的影响[J].贵州农业科学,2011,39(10):54-56.
[15] 齐 健,宋凤斌,刘胜群.苗期玉米根叶对干旱胁迫的生理响应[J].生态环境,2006,15(6):1264-1268.
[16] Zobel R W. Sensitivity analysis of computer - based diameter measurement from digital images[J]. Crop Sci, 2003,(43):583-591.
[17] 马 甜,范兴科,吴普特,等.花期线辣椒适宜土壤水分上下限指标研究[J].灌溉排水学报,2007,26(3):31-34.
[18] 高世斌,冯质雷,李晚忱,等.干旱胁迫下玉米根系性状和产量的 QTLs 分析[J].作物学报,2005,31(6):718-722.
[19] 王家顺,李志友.干旱胁迫对茶树根系形态特征的影响[J].河南农业科学,2011,40(9):55-57.
[20] 金不换,陈雅君,吴艳华,等.早熟禾不同品种根系分布及生物量分配对干旱胁迫的响应[J].草地学报,2009,17(6):813-816.
[21] 胡承伟,张学昆,邹锡玲,等.PEG 模拟干旱胁迫下甘蓝型油菜的根系特性与抗旱性[J].中国油料作物学报,2013,35(1):48-53.
[22] 高志红,陈晓远.聚乙二醇造成的水分胁迫对水稻根系生长的影响[J].华北农学报,2009,24(2):128-133.
[23] 葛体达,隋方功,李金政,等.干旱对夏玉米根冠生长的影响[J].中国农学通报,2005,21(1):103-109.
[24] 韦小丽.喀斯特地区 3 个榆科树种整体抗旱性研究[D].南京:南京林业大学,2005:5-111.
[25] 李 博,王刚卫,田晓莉,等.不同干旱方式和干旱程度对玉米苗期根系生长的影响[J].干旱地区农业研究,2008,26(5):148-152.
[26] Green S R, Clothier B E. Root water uptake by kiwifruit vines following partial wetting of the root zone[J]. Plant and Soil, 1995,173:317-328.
[27] 丁 红,张智猛,戴良香,等.干旱胁迫对花生根系生长发育和生理特性的影响[J].应用生态学报,2013,24(6):1586-1592.
[28] 尚晓颖,刘化冰,张小全,等.干旱胁迫对不同烤烟品种根系生长和生理特性的影响[J].西北植物学报,2010,30(2):357-361.

(上接第 29 页)

[24] 邹 琦.植物生理学实验指导[M].北京:中国农业出版社,2000.
[25] 冯双华.水稻叶绿素含量的简易测定[J].福建农业科技,1997,4(2):104-105.
[26] 刘 霞,刘树庆,王胜爱.河北主要土壤中 Cd 和 Pb 的形态分布及其影响因素[J].土壤学报,2003,40(3):393-400.
[27] 郑海龙,陈 杰,邓文靖.六合蒋家湾蔬菜基地重金属污染现状与评价[J].土壤,2004,36(5):557-560.
[28] 刘素纯,萧浪涛,廖柏寒,等.铅胁迫对黄瓜幼苗抗氧化酶活性及同工酶的影响[J].应用生态学报,2006,17(2):300-304.
[29] 王 艳,辛士刚,马莲菊,等.翦股颖和高羊茅对铜、铅吸收及耐受性[J].应用生态学报,2007,18(3):625-630.
[30] 梁 芳,郭晋平.植物重金属毒害作用机理研究进展[J].山西农业科学,2007,35(11):56-61.
[31] 张绪成,上官周平,高世铭.NO 对植物生长发育的调控机制[J].西北植物学报,2005,25(4):812-818.
[32] 杜润峰,郝文芳,王龙飞.达乌里胡枝子抗氧化保护系统及膜脂过氧化对干旱胁迫及复水的动态响应[J].草业学报,2012,21(2):51-61.
[33] 杜连彩.铅胁迫对小白菜幼苗叶绿素含量和抗氧化酶系统的影响[J].中国蔬菜,2008,(5):17-19.
[34] 张桂芝,耿 莎,杨海燕.植物抗氧化成分的研究进展[J].食品科学,2007,28(12):551-553.
[35] 赫春长.外源钙对低温下麻疯树生理生化调节效应的研究[D].福州:福建农林大学,2010.
[36] 张 政,王转花.Cu^{2+}、Pb^{2+} 和 Cd^{2+} 对荞麦种子中抗氧化酶活性的影响[J].中国生物化学与分子生物学学报,1999,15(5):848-851.
[37] 赵可夫.植物抗盐生理[M].北京:中国科学技术出版社,1993:232-233.
[38] 李 源,李金娟,魏小红.镉胁迫下蚕豆幼苗抗氧化能力对外源 NO 和 H_2O_2 的响应[J].草业学报,2009,18(6):186-191.
[39] Hsu Y T, Kao K H. Cadmium toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves[J]. Plant Growth Regulation, 2004,42(3):227-238.
[40] 贺志理,王洪春.盐胁迫下苜蓿中盐蛋白的诱导产生[J].植物生理学报,1991,17(1):71-79.
[41] 洪仁远,杨广笑,刘东华,等.镉对小麦幼苗的生长和生理生化反应的影响[J].华北农学报,1991,6(3):70-75.
[42] 吴桂容,严重玲.镉对桐花树幼苗生长及渗透调节的影响[J].生态环境,2006,15(5):1003-1008.
[43] 张明生,谢 波,谈 锋,等.甘薯可溶性蛋白、叶绿素及 ATP 含量变化与品种抗旱性关系的研究[J].中国农业科学,2003,36(1):13-16.
[44] 王 林,史衍玺.镉、铅及其复合污染对萝卜生理生化特性的影响[J].中国生态农业学报,2008,16(2):411-414.