

外源硝普钠对镉胁迫下水稻种子萌发和幼苗生理特性的影响

陈秀兰, 何俊瑜*, 任艳芳, 陈博, 陈会

(贵州大学 农学院, 贵州 贵阳 550025)

摘 要: 为了探讨外源 NO 供体硝普钠对镉胁迫下水稻种子萌发受抑的缓解作用, 研究 10、30、50、100、200、500 $\mu\text{mol/L}$ 硝普钠(SNP)对镉胁迫(100 $\mu\text{mol/L}$)下水稻种子萌发、幼苗生长及相关生理指标的影响。结果表明, 100 $\mu\text{mol/L}$ 镉胁迫使水稻种子萌发和幼苗生长受到抑制, 发芽势、发芽指数、活力系数、幼苗根长和芽长均显著降低, 丙二醛(MDA)含量显著增加, SOD、G-POD、APX 及 CAT 的活性明显受到抑制。较低浓度(100 $\mu\text{mol/L}$)硝普钠处理能提高镉胁迫下水稻种子的发芽指数和活力指数, 增加幼苗的根长、芽长、根和芽鲜重, 增强 SOD、G-POD 和 APX 活性并降低 MDA 含量, 从而缓解镉的毒害效应, 其中以 30 $\mu\text{mol/L}$ 硝普钠处理效果最好。但随着硝普钠浓度的增大, 其对镉胁迫的缓解效应逐渐减弱, 当硝普钠浓度达 500 $\mu\text{mol/L}$ 时, 会加剧镉胁迫的毒害作用。

关 键 词: 水稻; 镉; 一氧化氮; 种子萌发; 生理特性

中图分类号: Q945.78 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2012)01-0036-05

Effect of nitroprusside on seed germination and seedling physiological characteristics of rice under cadmium stress

CHEN Xiu-lan, HE Jun-yu*, REN Yan-fang, CHEN Bo, CHEN Hui

(College of Agronomy, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: In order to explore the ameliorating role of nitroprusside (SNP) on inhibition of seed germination caused by cadmium, the effects of 10, 30, 50, 100, 200 and 500 $\mu\text{mol/L}$ SNP on seed germination, seedling growth and physiological characteristics of rice were studied under cadmium stress. The results showed that the rice seed germination and seedling growth were significantly inhibited, the germination potential, germination index, vigor index, root and shoot length, and the activities of SOD, G-POD, APX and CAT significantly increased and the malondialdehyde (MDA) content significantly decreased under 100 $\mu\text{mol/L}$ cadmium stress compared to the control. Low concentration of SNP (100 $\mu\text{mol/L}$) could alleviate the inhibition effects of cadmium, under which the germination index, vigor index, root length, shoot length, root and shoot fresh weight, the activities of SOD, G-POD and APX of rice seedlings increased and the MDA content was significantly inhibited. Thirty $\mu\text{mol/L}$ SNP exhibited the most prominent alleviating effect, but the effect faded away with the increase of SNP concentration. When the concentration of SNP reached 500 $\mu\text{mol/L}$, the toxicity effect of cadmium stress on the rice seedlings was aggravated.

Key words: rice; cadmium; nitric oxide; seed germination; physiological characteristics

据统计, 目前中国受 Cd 等重金属污染的耕地面积近 $2.0 \times 10^7 \text{ hm}^2$, 约占总耕地面积的 $1/5^{[1]}$ 。当 Cd 毒害达到一定程度, 会抑制作物根系生长, 降低

其光合速率和叶绿素含量, 干扰碳、氮代谢及对水分和养分的吸收, 破坏作物体内保护酶系统, 使质膜透性加大, 表现出明显的中毒症状, 严重影响作

收稿日期: 2011-08-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(40901260)

作者简介: 陈秀兰(1986—), 女, 青海乐都人, 硕士研究生, 主要从事土壤重金属污染及治理研究, cxl19870127@126.com; *通信作者, junyuhe0303@126.com

物产量^[2-4]。

已有研究表明,外源NO供体硝普钠(SNP)预处理能减轻Cd、Pb胁迫对羽扇豆根生长的抑制作用^[5];缓解Cd胁迫对向日葵叶片的伤害^[6]和绿豆幼苗根尖生长的抑制^[7]。外源NO还可有效缓解盐胁迫对水稻、黄瓜幼苗的伤害^[8-9]。笔者模拟Cd污染的方法,研究了不同浓度SNP处理对Cd胁迫下的水稻种子萌发和幼苗生长及生理特性的影响,旨在确定水稻种子萌发及幼苗生长抗Cd胁迫的最佳SNP处理浓度,为客观评价SNP诱导植物抗重金属污染的应用价值提供依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

供试水稻品种为吉优9号(*Oryza sativa* L. cv. Jiyou No.9);硝普钠($[\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5]\cdot\text{NO}$, SNP)购自Sigma公司,现用现配。

1.2 试验设计

用不同浓度(0、5、10、25、50、100、200、500 $\mu\text{mol/L}$) Cd^{2+} 处理水稻种子,观察种子萌发状况,根据活力指数、根和芽的长度及鲜重,筛选出镉半致死浓度大约为100 $\mu\text{mol/L}$,将100 $\mu\text{mol/L}$ 作为 Cd^{2+} 胁迫浓度。

精选健康饱满的水稻种子,经5%次氯酸钠溶液消毒15 min、去离子水反复冲洗干净、30 $^{\circ}\text{C}$ 恒温催芽48 h后,均匀播于铺有双层滤纸、含有100 $\mu\text{mol/L}$ Cd和不同浓度(0、10、30、50、100、200、500 $\mu\text{mol/L}$)SNP的直径为12 cm的培养皿中(分别表示为S0、S10、S30、S50、S100、S200、S500^[10],每

皿50粒。以蒸馏水处理为对照(CK)。于30 $^{\circ}\text{C}$ 下恒温培养7 d,培养箱内保持相对湿度85%~90%。各处理均设3个重复,每天定时定量更换相应培养液。

1.3 测定项目与方法

水稻种子萌发期,每日观察萌发种子数。至第3天统计发芽势。培养7 d后,测定芽长、根长、芽和根的鲜质量,并统计发芽率、发芽指数、活力指数。

种子萌发7 d后,取根、芽用于测定超氧化物歧化酶(SOD)^[11]、过氧化氢酶(CAT)^[12]、抗坏血酸过氧化氢酶(APX)^[13]、愈创木酚过氧化物酶(G-POD)^[14]活性和丙二醛(MDA)含量^[11]。

1.4 数据处理

所有数据采用 Microsoft Excel 2003 和 DPS7.55 统计分析软件进行分析及差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 SNP 对 Cd 胁迫下水稻种子萌发的影响

从表1可以看出,100 $\mu\text{mol/L}$ Cd(S0)对水稻种子的发芽率没有明显的影响,但是发芽势、发芽指数和活力指数与CK相比分别降低了7.53%、18.14%和36.36%。SNP浓度低于100 $\mu\text{mol/L}$ 时,对Cd胁迫下水稻种子的发芽势、发芽指数、活力指数均起到一定的促进作用,SNP浓度为30 $\mu\text{mol/L}$ 时,促进作用最强,发芽势、发芽指数、活力指数分别比单独镉处理(S0)提高了8.14%、22.37%和38.93%,且差异显著或极显著。但是SNP浓度为500 $\mu\text{mol/L}$ 的处理反而会降低发芽势、发芽指数和活力指数,特别是发芽指数和活力指数下降更大。

表1 镉胁迫下 SNP 处理的水稻种子发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数

Table 1 Germination percentage, germination potential, germination index and vigour index of rice seeds treated with sodium nitroprusside under Cd stress

处理	发芽率/%	发芽势/%	发芽指数	活力指数
CK	98.00±0.00	(97.33±0.67)aA	(53.36±0.19)aA	(2.19±0.23)aA
S0	96.33±1.20	(90.00±3.46)bcAB	(43.68±3.03)bBC	(1.31±0.16)cCD
S10	95.67±1.76	(91.33±0.67)abAB	(50.12±0.51)aAB	(1.61±0.07)bBC
S30	96.67±0.67	(97.33±0.67)aA	(53.45±0.55)aA	(1.82±0.05)bB
S50	95.33±2.67	(96.00±1.16)abA	(52.88±0.80)aA	(1.70±0.05)bB
S100	96.67±1.76	(92.67±2.40)abAB	(52.15±0.96)aA	(1.39±0.14)cC
S200	94.67±1.76	(89.33±1.76)bcAB	(48.47±2.30)aAB	(1.16±0.10)cD
S500	95.00±0.58	(86.67±3.53)cB	(38.64±1.64)cC	(0.84±0.08)dE

2.2 SNP 对 Cd 胁迫下水稻幼苗根和芽生长的影响

100 μmol/L Cd 胁迫下,水稻幼苗根长和芽长与 CK 相比分别下降了 53.55%和 25.48%,差异极显著。SNP 对 Cd 胁迫下水稻幼苗根长和芽长起双重作用,即低浓度促进,高浓度抑制。SNP 浓度为 30 μmol/L 时,对水稻幼苗根长和芽长促进作用最大,与单独

Cd 处理(S0)相比,根长和芽长分别提高了 55.78%和 14.73%,差异极显著或显著。继续提高 SNP 浓度,根长和芽长都逐渐降低,当 SNP 浓度达到 500 μmol/L 时,根长和芽长略低于单独 Cd 处理。SNP 对 Cd 胁迫下水稻幼苗根鲜重、芽鲜重的影响与其对根长、芽长的影响基本相似(表 2)。

表 2 镉胁迫下 SNP 处理的水稻幼苗根长、芽长及其鲜质量

Table 2 Root length, shoot length, root fresh weight and shoot fresh weight of rice seedlings treated with sodium nitroprusside under Cd stress

处理	根长/cm	芽长/cm	根重/mg	芽重/mg
CK	(6.33±0.37)aA	(5.65±0.27)aA	(22.60±2.09)aA	(18.55±0.97)aA
S0	(2.94±0.16)dD	(4.21±0.14)cBC	(14.06±0.93)dC	(14.38±1.50)cdBC
S10	(3.63±0.27)bcBC	(4.47±0.11)bcBC	(16.09±2.04)cdBC	(15.20±0.91)bcB
S30	(4.58±0.29)bB	(4.83±0.26)bB	(18.8±1.16)bB	(16.42±1.34)bAB
S50	(4.02±0.25)bB	(4.68±0.26)bB	(17.21±1.66)bcBC	(15.88±0.72)bcB
S100	(3.25±0.29)cdCD	(4.24±0.20)cBC	(15.95±1.34)cdBC	(14.61±1.18)cdB
S200	(3.24±0.36)cdCD	(4.13±0.21)cC	(13.93±1.05)dC	(13.65±0.76)dC
S500	(2.84±0.17)dD	(4.11±0.17)cC	(9.68±0.84)eD	(11.12±0.68)eD

2.3 SNP 对 Cd 胁迫下水稻幼苗根和芽中 MDA 含量的影响

与 CK 相比,100 μmol/L Cd(S0)胁迫使水稻幼

苗根和芽的 MDA 含量增加,分别是 CK 的 2.88 倍和 2.60 倍(表 3)。随着 SNP 浓度的增加,水稻幼苗体内 MDA 含量呈现先降低后增加的趋势,当 SNP

表 3 镉胁迫下 SNP 处理的水稻幼苗根和芽中 MDA 含量和抗氧化酶活性

Table 3 MDA content and the activities of anti-oxidative enzymes in root and shoot of rice seedlings treated with sodium nitroprusside under Cd stress

处理	MDA/(μmol·g ⁻¹)		SOD/(U·g ⁻¹)		G-POD/(U·g ⁻¹)	
	根	芽	根	芽	根	芽
CK	(0.17±0.03)aA	(0.25±0.03)aA	(181.05±13.27)aA	(248.54±15.23)aA	(3 113.57±193.64)aA	(2 200.60±259.83)aA
S0	(0.49±0.04)dC	(0.65±0.06)dD	(70.00±7.74)eD	(134.04±9.84)eC	(2 469.43±367.78)bBC	(1 280.20±210.97)dD
S10	(0.41±0.01)cdBC	(0.51±0.03)cC	(132.80±11.76)cdBC	(143.09±10.74)deC	(2 686.87±86.18)bAB	(1 506.53±99.07)cdCD
S30	(0.33±0.03)bB	(0.43±0.02)bB	(155.46±10.64)bAB	(203.59±12.36)bB	(2 788.17±165.43)abAB	(1 936.10±106.26)abAB
S50	(0.34±0.06)bB	(0.47±0.02)cC	(145.44±11.98)bcBC	(201.84±16.33)bB	(2 667.57±259.85)bAB	(1 822.21±128.40)bAB
S100	(0.38±0.01)bcB	(0.50±0.06)cC	(126.11±13.52)cdBC	(170.08±24.53)cBC	(2 554.47±118.31)bB	(1 813.33±105.61)bAB
S200	(0.51±0.02)eD	(0.63±0.04)dD	(119.05±8.12)dC	(165.45±10.19)cdC	(2 487.13±189.05)bBC	(1 772.20±90.97)bcBC
S500	(0.59±0.03)eD	(0.69±0.04)dD	(60.26±15.39)eD	(141.97±10.82)deC	(2 009.23±35.98)cC	(1 667.70±84.26)bcBC
处理	APX/(U·g ⁻¹)		CAT/(U·g ⁻¹)			
	根	芽	根	芽		
CK	(0.15±0.02)aA	(0.38±0.01)aA	(7.17±0.32)aA	(40.79±2.67)aA		
S0	(0.10±0.01)cB	(0.26±0.03)cC	(5.64±0.24)cB	(32.01±1.87)cdBC		
S10	(0.10±0.01)bcB	(0.30±0.05)bcBC	(6.15±0.24)bAB	(35.00±2.05)bcB		
S30	(0.12±0.02)bB	(0.34±0.03)abAB	(6.56±0.29)abAB	(36.89±1.55)bAB		
S50	(0.11±0.01)bcB	(0.33±0.02)bAB	(5.92±0.57)bcB	(34.09±2.14)bcBC		
S100	(0.11±0.01)bcB	(0.32±0.04)bAB	(5.84±0.95)bcB	(33.59±1.85)cBC		
S200	(0.10±0.01)bcB	(0.32±0.01)bAB	(5.59±0.24)cB	(30.34±1.67)dCD		
S500	(0.10±0.01)bcB	(0.31±0.02)bcBC	(5.42±0.42)cB	(29.49±1.61)dD		

浓度达到 30 $\mu\text{mol/L}$ 时,MDA 含量的降幅最大,与单独 Cd 处理(S0)相比,根和芽的 MDA 含量分别下降了 32.65%和 33.85%,差异极显著。随着 SNP 浓度的继续提高,MDA 含量也随之提高,当 SNP 浓度达到 500 $\mu\text{mol/L}$ 时,根和芽中 MDA 含量都超过单独 Cd 处理(S0),特别是根中 MDA 含量增加了 20.41%,差异极显著,可见高浓度 SNP 处理会产生更严重的毒害作用。

2.4 SNP 对 Cd 胁迫下水稻幼苗根和芽中抗氧化酶活性的影响

100 $\mu\text{mol/L}$ Cd(S0)胁迫会降低水稻幼苗体内 SOD 活性,与 CK 相比,根和芽中 SOD 活性分别降低了 61.34%和 46.07%,差异极显著(表 3)。随着 SNP 浓度的提高,SOD 活性呈现先上升后下降的趋势,SNP 浓度为 30 $\mu\text{mol/L}$ 时,促进作用最强,水稻幼苗根和芽中 SOD 活性分别是单独 Cd 处理(S0)的 2.22 和 1.52 倍,差异极显著。之后,随 SNP 浓度的增加,SOD 活性开始降低,SNP 浓度为 500 $\mu\text{mol/L}$ 时,根中 SOD 活性要低于单独 Cd 处理。

表 3 表明,100 $\mu\text{mol/L}$ Cd 处理(S0)与 CK 相比,降低了水稻根和芽中的 G-POD 活性,随着 SNP 浓度的增加,G-POD 的活性呈现先增加后降低的趋势。30 $\mu\text{mol/L}$ SNP 处理下的 G-POD 活性增幅最大,与单独 Cd 处理(S0)相比,根、芽的 G-POD 活性分别提高了 12.91%和 51.23%。继续增加 SNP 浓度,G-POD 活性变化与 SOD 相似,当 SNP 浓度为 500 $\mu\text{mol/L}$,根中的 G-POD 活性低于单独 Cd 处理。

镉及 SNP 对 CAT 和 APX 活性的影响与 SOD 基本相似,即 100 $\mu\text{mol/L}$ Cd 胁迫明显降低水稻根和芽中的 CAT 和 APX 活性,SNP 处理可提高 CAT 和 APX 的活性,其中 30 $\mu\text{mol/L}$ SNP 处理时提高幅度最大(表 3)。

3 讨 论

NO 作为一种重要的信号分子,广泛参与植物的许多重要生理过程,适宜浓度的 NO 可以减轻盐害、干旱、低温、臭氧和紫外线照射等对植物细胞的伤害^[5-9,15-19]。本试验结果表明,不同浓度的 SNP

对 100 $\mu\text{mol/L}$ Cd 胁迫下水稻种子的萌发和根、芽生长的影响表现出双重性,即“低浓度促进,高浓度抑制”,这与在白羽扇豆、绿豆、蚕豆、辣椒上的研究结果^[5-7]基本一致。100 $\mu\text{mol/L}$ Cd 胁迫下水稻幼苗根、芽中 SOD、G-POD、CAT、APX 的活性下降,MDA 含量明显增加,说明在 Cd 胁迫下,水稻幼苗体内发生了严重的膜脂过氧化损伤^[3,20]。加入一定浓度 SNP 处理后,特别是 30 $\mu\text{mol/L}$ SNP,SOD、G-POD、CAT、APX 的活性均有所上升,同时 MDA 含量明显降低,这说明在 Cd 胁迫下,SNP 处理增强了水稻幼苗根和芽中自由基的清除能力,清除体内过多的活性氧,降低膜脂过氧化程度,从而减轻对细胞的伤害作用,这可能是 SNP 缓解 Cd 抑制种子萌发和幼苗生长的内在基础。这与刘建新^[21]和张义凯^[22]的结果类似。SOD、G-POD、CAT 和 APX 活性上升是由于 NO 作为信号分子提高相关编码基因的表达^[16],但具体的信号通路还尚未有一致的结论。此外,500 $\mu\text{mol/L}$ SNP 处理时,SOD、G-POD 活性反而降低,MDA 含量提高,表现出毒害效应,加重了 Cd 的毒害。这可能是由于高浓度 NO 与超氧阴离子自由基相互作用生成过氧亚硝酸阴离子(ONOO^-),经质子化形成具有强氧化性的过氧亚硝酸(HOONO),从而破坏了生物大分子的结构与功能^[23]。至于使用 SNP 诱导能否影响水稻幼苗对 Cd 的吸收,有待深入研究。

参考文献:

- [1] 赵其国,周炳中,杨浩.江苏省环境质量与农业安全问题研究[J].土壤,2002(1):1-8.
- [2] Das P, Samantaray S, Rout G R. Studies on cadmium toxicity in plants: A review[J]. Environ Pollut, 1998, 98: 29-36.
- [3] 何俊瑜,任艳芳,朱诚,等.镉胁迫对镉敏感水稻突变体活性氧代谢及抗氧化酶活性的影响[J].生态环境,2008,17(3):1004-1008.
- [4] 黄运湘,廖柏寒,王志坤,等.不同大豆品种镉毒害效应及耐镉差异性[J].湖南农业大学学报:自然科学版,2008,34(5):519-524.
- [5] Kopyra M, Gwozdz E A. Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus*[J]. Plant Physiol Biochem, 2003, 41: 1011-1017.

- [6] Laspina N V, Groppa M D, Tomaro M L, et al. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd induced oxidative stress[J]. Plant Sci, 2005, 169(2): 323-330.
- [7] 王松华, 周正义, 陈庆榆, 等. 外源一氧化氮对镉胁迫下绿豆幼苗根尖抗氧化酶的影响[J]. 激光生物学报, 2007, 16(1): 62-67.
- [8] Uchida A, Jagendorf A T, Hibino T, et al. Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice[J]. Plant Sci, 2002, 163: 515-523.
- [9] 樊怀福, 郭世荣, 段九菊, 等. 外源NO对NaCl胁迫下黄瓜(*Cucumis sativus* L.)幼苗生长和谷胱甘肽抗氧化酶系统的影响[J]. 生态学报, 2008, 28(6): 2511-2517.
- [10] Muhammad A, Xu J M, Li Z J. Effects of lead and cadmium nitrate on biomass and substrate utilization pattern of soil microbial communities[J]. Chemosphere, 2005, 60(4): 508-514.
- [11] 张志良, 瞿伟. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1980.
- [12] Aebi H. Catalase in vitro[J]. Method Enzymol, 1984, 105: 121-126.
- [13] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. Plant Cell Physiol, 1981, 22: 867-880.
- [14] Klapheck S, Zimmer I, Cosse H. Scavenging peroxide in the endosperm of *Ricinus communis* peroxidase[J]. Plant Cell Physiol, 1990, 31: 1005-1013.
- [15] Zhao Z G, Chen G C, Zhang C L. Interaction between reactive oxygen species and nitric oxide in drought-induced ABA synthesis in root tip of wheat seedlings[J]. Aust J Plant Physiol, 2001, 28(10): 1061-1066.
- [16] 刘维仲, 张润杰, 裴真明, 等. 一氧化氮在植物中的信号分子功能研究: 进展和展望[J]. 自然科学进展, 2008, 18(1): 10-24.
- [17] Leshem Y Y, Haramaty E. The characterization and contrasting effects of the nitric oxide free radical in vegetative stress and senescence of *Pisum sativum* Linn foliage[J]. J Plant Physiol, 1996, 148: 258-263.
- [18] 张芬琴, 张华. CdCl₂、SNP、CdCl₂+SNP对白三叶草种子萌发生理生化的影响[J]. 草业科学, 2006, 23(6): 32-37.
- [19] 李想. 一氧化氮(NO)对水稻萌发、生长及相关机理的研究[D]. 北京: 首都师范大学, 2004: 33-36.
- [20] 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.
- [21] 刘建新, 胡浩斌. 外源一氧化氮供体对镉胁迫下黑麦草幼苗活性氧代谢、光合作用和叶黄素循环的影响[J]. 环境科学学报, 2009, 29(3): 627-633.
- [22] 张义凯. 外源一氧化氮对番茄幼苗铜、镉毒害缓解效应的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2009.
- [23] Beligni M V, Lamattina L. Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three light-inducible responses in plants[J]. Planta, 2000, 210: 215-221.

责任编辑: 罗慧敏