

# 黄瓜幼苗对镉胁迫下外源一氧化氮与铁氰化钾的响应

高荣侠

(淄博职业学院, 山东 淄博 255013)

**摘要:**以“津研4号”黄瓜为试材,研究了一氧化氮和铁氰化钾对镉胁迫的缓解作用。结果表明:以硝普钠为外源一氧化氮供体可以显著缓解镉胁迫对黄瓜幼苗生长的抑制,硝普钠可以促进幼苗的生长,缓解镉胁迫对幼苗生长的抑制作用;铁氰化钾处理后与镉相比,无明显变化;镉毒害后,叶片表现出明显的失绿现象,通过施加硝普钠提高了叶片中色素的含量,提高了叶片的净光合速率、蒸腾速率和气孔导度;同时,硝普钠可以提高镉胁迫下黄瓜叶片中抗氧化酶的活性及抗氧化能力,降低了丙二醛和  $H_2O_2$  积累。

**关键词:**黄瓜;镉胁迫;一氧化氮;铁氰化钾;缓解效应

**中图分类号:**S 642.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)07-0001-04

镉(Cd)是所有重金属中毒性最强的一种元素,镉进入土壤环境后由于不能被化学过程或微生物降解,不仅对土壤本身的环境造成严重污染,容易形成土壤生态地恶性循环,并且影响地上植物自身的正常生长,还会通过食物链对人类的健康造成威胁<sup>[1]</sup>。

一氧化氮广泛分布于生物有机体中,是生物体内重要的信号分子,在生物体呼吸作用、根系生长、器官衰老、植物胁迫响应等生长发育过程中具有重要作用。研究表明<sup>[2]</sup>,施加 100  $\mu\text{mol/L}$  的硝普钠(SNP)可以使番茄幼苗净光合速率(Pn)、蒸腾速率(Tr)和气孔导度(Gs)在镉胁迫下含量升高,只有胞间  $\text{CO}_2$  浓度(Ci)含量下降,说明硝普钠对缓解镉胁迫下的光合作用下降作用显著。

黄瓜(*Cucumis sativus* L.)是我国种植范围最广、供求量最大的蔬菜种类之一。近年来,镉污染对黄瓜产量与质量的影响日趋严重,该试验研究了外源一氧化氮(NO)供体 SNP 处理和铁氰化钾处理对黄瓜镉胁迫的缓解作用,以期为 NO 在缓解植物镉胁迫中的应用提供参考。

**作者简介:**高荣侠(1981-),女,硕士,讲师,现主要从事园艺教学工作。E-mail:grx614@163.com.

**基金项目:**国家“973”资助项目(2009CB119000);国家自然科学基金资助项目(30800751);国家大宗蔬菜产业技术体系资助项目(CARS-25-D-03)。

**收稿日期:**2013-12-13

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为“津研4号”黄瓜(*Cucumis sativus* L. ‘Jinyan No. 4’)品种。

营养液配方分为大量元素和微量元素,大量元素:Ca( $\text{NO}_3$ )<sub>2</sub> 5 mmol/L、KNO<sub>3</sub> 5 mmol/L、MgSO<sub>4</sub> 2 mmol/L、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.0 mmol/L;微量元素:H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 29.6  $\mu\text{mol/L}$ 、CuSO<sub>4</sub> 0.95  $\mu\text{mol/L}$ 、ZnSO<sub>4</sub> 1.0  $\mu\text{mol/L}$ 、(NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> · 4H<sub>2</sub>O 0.473  $\mu\text{mol/L}$ 、MnSO<sub>4</sub> 10  $\mu\text{mol/L}$ 、螯合铁 50  $\mu\text{mol/L}$ 。

### 1.2 试验方法

黄瓜种子常规浸种催芽,待发芽后播于育苗盘,用营养液浇灌,每盆 8 L 营养液,定植 6 株。试验设 3 个处理:100 mM CdCl<sub>2</sub> 处理(Cd)、100 mM CdCl<sub>2</sub> + 100  $\mu\text{M}$  硝普钠(Cd+SNP)、100 mM CdCl<sub>2</sub> + 100  $\mu\text{M}$  铁氰化钾处理(Cd+SF),以营养液为对照(CK)。CdCl<sub>2</sub>、硝普钠及铁氰化钾均在培养 3 d 后添加,分别在 5 d 和 10 d 后取样检测。

### 1.3 项目测定

干物质重测定:用自来水冲洗干净后再用去离子水洗净,将地上部和地下部分开,105℃杀青 15 min,70℃烘至恒重,称量。光合参数采用 Li-6400 便携式光合系统测定;抗氧化酶液提取参照 Moerschbacher 等<sup>[4]</sup>的方法;超氧化物歧化酶(SOD)活性测定参照 Gisnopolitis 等<sup>[5]</sup>的方法;过氧化氢酶(CAT)活性测定参照 Kraus 等<sup>[6]</sup>的方法;抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性测定参照 Nakano

等<sup>[7]</sup>的方法;过氧化物酶(POD)活性测定参照 Moerschbacher 等<sup>[4]</sup>的方法;丙二醛(MDA)含量测定采用 Herth 等<sup>[8]</sup>的硫代巴比妥酸法; $H_2O_2$  含量测定采用 Brennan 等<sup>[9]</sup>的四氯化钛还原法;二苯代苦味酰基自由基(DPPH)清除能力、羟自由基( $\cdot OH$ )清除能力测定均参照 Manda 等<sup>[10]</sup>的方法。

#### 1.4 数据分析

采用 DPS 软件对数据进行方差分析及最小显著差异性检验(Duncan's 新复极差法,  $P < 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 外源一氧化氮对镉胁迫下黄瓜幼苗生长的影响

由图 1 可以看出,Cd 胁迫下,黄瓜幼苗的地上部和根干重均明显降低,施入硝普钠后,干重均明显升高;铁氰化钾处理的黄瓜幼苗的地上部干重和根干重与镉胁迫相比没有显著变化,说明铁氰化钾作为氰化物提供的  $CN^-$  对黄瓜幼苗的生长无明显作用;因此,硝普钠释放出 NO 后虽然会有副产物  $CN^-$  的产生,但对结果影响不大,从而证实了 NO 显著缓解了镉胁迫对黄瓜幼苗生长的抑制作用。

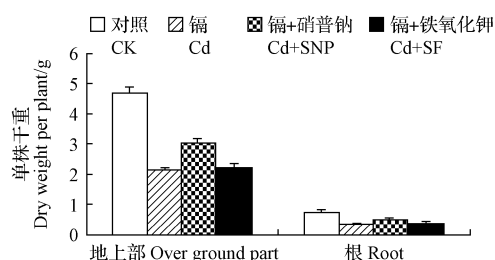


图 1 硝普钠对镉胁迫下黄瓜幼苗生长的影响

Fig. 1 Effect of SNP on the growth of cucumber seedlings under Cd stress

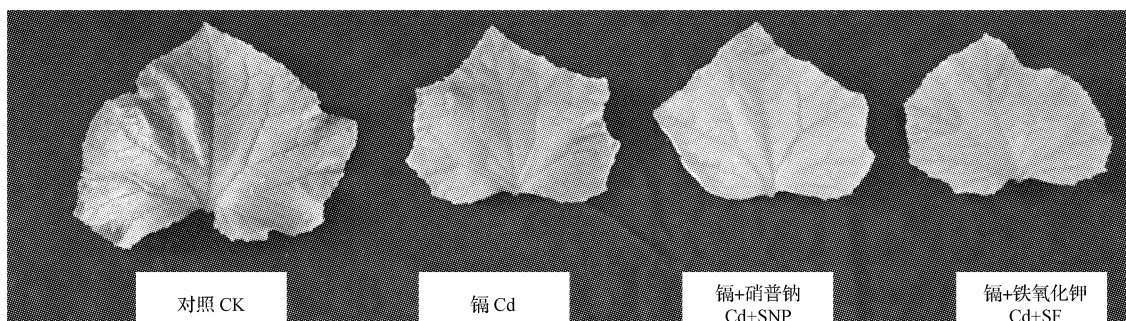


图 2 硝普钠对镉胁迫下黄瓜幼苗叶片的影响

Fig. 2 Effect of SNP on the leaves of cucumber seedlings under Cd stress

### 2.3 外源一氧化氮对镉胁迫下黄瓜叶片光合作用的影响

由表 2 可以看出,Cd 胁迫下,黄瓜叶片的净光合速

### 2.2 外源一氧化氮对镉胁迫下黄瓜叶片各色素含量的影响

植株受 Cd 毒害后最常见的现象是叶片发黄,其可能原因是 Cd 胁迫导致叶片养分不均衡,该研究中 Cd 处理后,黄瓜叶片呈现出明显的失绿现象(图 2),加入硝普钠后则显著逆转了叶片失绿。从表 1 可以看出,Cd 胁迫下,叶片中的类胡萝卜素、叶绿素 a、b 和总光合色素含量明显的比 CK 中少;加 SF 的黄瓜叶片中各色素含量与 Cd 处理相比无显著变化,硝普钠处理的类胡萝卜素、叶绿素 a、b 和总光合色素含量同 Cd 处理相比则显著提高,但与对照相比还是显著降低的。说明 NO 提高了叶片中各色素含量,缓解了镉胁迫对幼苗叶片的伤害。

表 1 硝普钠对镉胁迫下黄瓜叶片各色素含量的影响

Table 1 Effect of SNP on different pigments of leaves of cucumber seedlings under Cd stress

处理 Treatment	对照 CK	镉 Cd	镉+硝普钠 Cd+SNP	镉+铁氰化钾 Cd+SF
叶绿素 a 含量 Chlorophyll a content /mg · g <sup>-1</sup> FW	1.41±0.05a	0.68±0.07c	0.94±0.07b	0.70±0.06c
叶绿素 b 含量 Chlorophyll b content /mg · g <sup>-1</sup> FW	0.26±0.04a	0.16±0.02c	0.19±0.02b	0.15±0.03c
类胡萝卜素含量 Carotenoid content /mg · g <sup>-1</sup> FW	0.36±0.02a	0.18±0.01c	0.29±0.04b	0.19±0.02c
光合色素含量 Photosynthetic pigments content /mg · g <sup>-1</sup> FW	2.03±0.04a	1.02±0.03c	1.42±0.04b	1.04±0.04c

注:同列不同小写字母代表 0.05 水平下差异显著,下同。

Note: Different lowercase letters in the same column mean significant difference at 0.05 level, the same below.

率( $P_n$ )、蒸腾速率( $T_r$ )和气孔导度( $G_s$ )明显受到抑制,  $C_i$  明显增高。加入硝普钠后,  $P_n$ 、 $T_r$  和  $G_s$  值得到显著提高,且降低了黄瓜叶片  $C_i$  值,铁氰化钾处理则无明显

表 2 硝普钠对镉胁迫下黄瓜叶片光合作用的影响

Table 2 Effect of SNP on the photosynthesis of cucumber seedlings leaves under Cd stress

Parameter	对照 CK	镉 Cd	镉+硝普钠 Cd+SNP	镉+铁氰化钾 Cd+SF
净光合速率 $P_n$ $/\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	17.57±0.75a	7.87±0.50c	12.13±0.70b	8.2±1.06c
蒸腾速率 $T_r$ $/\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	10.15±0.67a	2.76±0.44c	6.48±0.79b	2.83±0.62c
气孔导度 $G_s$ $/\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	0.42±0.04a	0.09±0.01c	0.29±0.05b	0.10±0.02c
胞间 $\text{CO}_2$ 浓度 $C_i$ $/\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$	295.00±7.00c	353.67±4.93a	318.67±2.89b	345.33±11.93a

变化,说明 NO 可以减轻 Cd 胁迫对幼苗叶片伤害。

#### 2.4 外源一氧化氮对镉胁迫下黄瓜叶片荧光参数的影响

图 3 反映了叶绿素荧光参数的变化情况,  $F_v/F_m$  表示光反应中心 PSII 的原初光能转化效率,结果表明, Cd 处理显著抑制了黄瓜叶片中的  $F_v/F_m$ ,而硝普钠的处理显著缓解了这一状况。加入铁氰化钾的处理,与 Cd 处理相比则没有显著变化,由此也可以看出,硝普钠提供的 NO 提高了黄瓜叶片中荧光性能,缓解了 Cd 胁迫对叶片荧光参数的抑制。

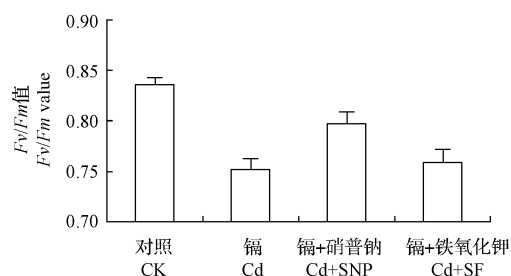


图 3 硝普钠对镉胁迫下黄瓜幼苗叶片荧光参数的影响

Fig. 3 Effect of SNP on the  $F_v/F_m$  of cucumber seedlings leaves under Cd stress

#### 2.5 外源一氧化氮对镉胁迫下黄瓜幼苗叶片丙二醛(MDA)和 $\text{H}_2\text{O}_2$ 含量的影响

MDA 和  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量的多少反映了植物受逆境胁迫的程度。从图 4 可以看出,镉胁迫下,黄瓜叶片 MDA 和  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量显著增加,硝普钠处理的 MDA 含量和  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量高于镉处理,铁氰化钾处理的 MDA 含量和  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量与 Cd 处理相比没有明显差异,说明 NO 可以缓解镉胁迫造成的膜脂过氧化作用。

#### 2.6 外源一氧化氮对镉胁迫下黄瓜幼苗叶片抗氧化酶活性的影响

从图 5 可以看出,镉处理对黄瓜幼苗叶片 SOD、

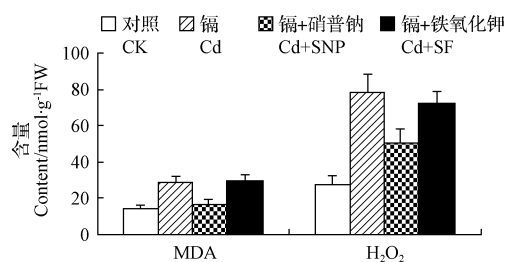
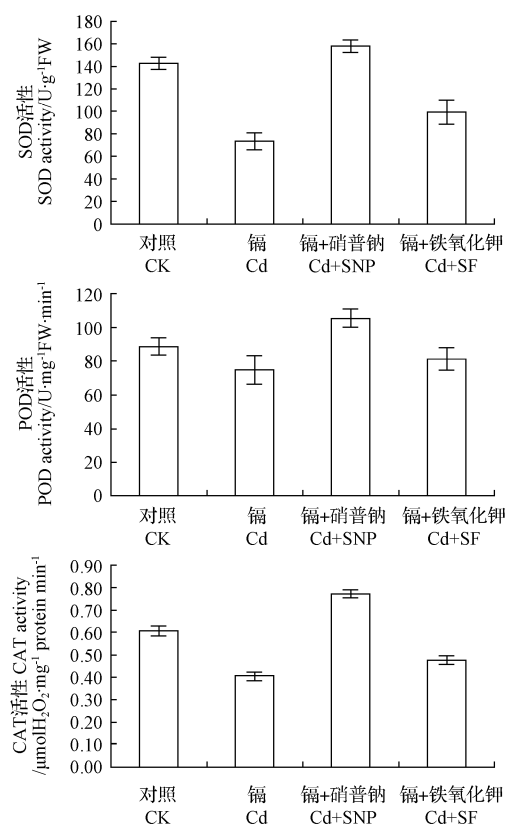
图 4 硝普钠对镉胁迫下黄瓜幼苗叶片 MDA 含量和  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量的影响Fig. 4 Effect of SNP on MDA content and  $\text{H}_2\text{O}_2$  content of cucumber seedlings leaves under Cd stress

图 5 硝普钠对镉胁迫下黄瓜幼苗叶片抗氧化酶活性的影响

Fig. 5 Effect of SNP on antioxidant enzyme activity of cucumber seedlings leaves under Cd stress

POD、CAT 活性均有明显的抑制作用,硝普钠显著地缓解了镉的胁迫抗氧化酶活性,分别比对照高了 9.36%、16.01%和 21.42%。

#### 2.7 外源一氧化氮对镉胁迫下黄瓜幼苗叶片抗氧化能力的影响

由图 6 可以看出,与对照处理相比,镉胁迫处理显著抑制了黄瓜幼苗叶片的抗氧化能力,使其 DPPH 自由

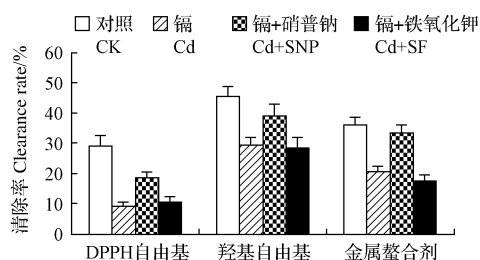


图6 硝普钠对镉胁迫下黄瓜叶片抗氧化能力的影响

Fig. 6 Effect of SNP on antioxidant ability of cucumber seedlings leaves under Cd stress

基清除能力、羟基自由基清除能力和铁离子螯合能力分别降低了68.11%、35.23%、42.63%。与镉处理相比,硝普钠处理下黄瓜幼苗叶片的DPPH自由基清除能力、羟基自由基清除能力和铁离子螯合能力显著提高,分别提高了99.89%、32.00%、61.32%。而SF处理对黄瓜幼苗叶片的抗氧化能力没有明显的影响。说明NO可以显著缓解镉胁迫,提高黄瓜幼苗叶片的抗氧化能力。

### 3 结论

叶片黄化是植物常见的镉毒害症状,该试验中随着 $Cd^{2+}$ 浓度的增加,黄瓜幼苗叶片的黄化程度明显加重,而NO提高了叶片中类胡萝卜素、叶绿素a、叶绿素b和总光合色素含量,缓解了镉胁迫对幼苗叶片的伤害。

外源NO能显著提高黄瓜叶片的净光合速率,提高镉胁迫下黄瓜幼苗叶片抗氧化酶的活性和抗氧化能力,

降低MDA和 $H_2O_2$ 含量,从而缓解镉胁迫造成的膜脂过氧化作用。

### 参考文献

- [1] 刘劲松. 镉胁迫对黄瓜幼苗根系吸水的影响及外源钙的改善作用[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2011.
- [2] 任小林, 张少颖, 于建娜. 一氧化氮与植物成熟衰老的关系[J]. 西北植物学报, 2004, 24(1): 167-171.
- [3] 赵世杰, 史国安, 董新纯. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2002: 119-121.
- [4] Moerschbacher B M, Noll U M, Flott B E, et al. Lignin biosynthetic enzymes in stem rust infected, resistant and susceptible near-isogenic wheat lines[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 1988, 33(1): 33-46.
- [5] Gismopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutases[J]. Occurrence in higher plants[J]. Plant Physiology, 1977, 59: 309-314.
- [6] Kraus T E, Fletcher R A. Paclobutrazol protects wheat seedlings from heat and paraquat injury. Is detoxification of active oxygen involved? [J]. Plant and Cell Physiology, 1994, 35(1): 45-52.
- [7] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. Plant and Cell Physiology, 1981, 22: 867-880.
- [8] Herth R L, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts I kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation[J]. Archives Biochemistry and Biophysics, 1986, 125: 189-198.
- [9] Brennan T, Frenkel C. Involvement of hydrogen peroxide in the regulation of senescence in pear[J]. Plant Physiology, 1977, 59: 411-416.
- [10] Manda K D, Adams C, Ercal N. Biologically important thiols in aqueous extracts of spices and evaluation of their *in vitro* antioxidant properties[J]. Food Chemistry, 2010, 118: 589-593.

## Response of Exogenous Nitric Oxide and Potassium Ferricyanide Under Cadmium Stress in Cucumber Seedlings

GAO Rong-xia

(Zibo Vocational College, Zibo, Shandong 255013)

**Abstract:** With 'Jinyan No. 4' as experimental material, the roles of nitric oxide and potassium ferricyanide in alleviating cadmium stress were studied. The results indicated that using SNP as an exogenous NO donor could significantly relieve the inhibition of cadmium stress on the growth of cucumber seedlings. SNP could promote the growth of seedlings and alleviate the inhibitory effect of cadmium stress on cucumber growth. Potassium ferricyanide processing compared with cadmium treatment had no obvious change. Cadmium toxic resulted in an obvious chlorosis of leaves, however, SNP additive treatment increased the pigment content, and improved net photosynthetic rate, transpiration rate, and stomatal conductance. Meanwhile, SNP could increase activities of antioxidant enzymes and antioxidant capacity and decrease contents of MDA and  $H_2O_2$ .

**Key words:** cucumber; cadmium stress; nitric oxide; potassium ferricyanide; alleviating effect