

DOI: 10.5846/stxb202007131819

黎桂英,王兆丰,张娅,李嘉敏,蒋晓煜,杨颖丽.Cd 胁迫下 SA 和 NO 互作对小麦幼苗根生长和叶绿素含量的影响.生态学报,2021,41(23): 9448-9456.

Li G Y, Wang Z F, Zhang Y, Li J M, Jiang X Y, Yang Y L. Effects of SA and NO interaction on root growth and chlorophyll content of wheat seedlings under Cd stress. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(23): 9448-9456.

Cd 胁迫下 SA 和 NO 互作对小麦幼苗根生长和叶绿素含量的影响

黎桂英,王兆丰,张 娅,李嘉敏,蒋晓煜,杨颖丽*

西北师范大学生命科学学院, 兰州 730070

摘要:以“陇春 27”号水培小麦幼苗为研究材料,外源添加水杨酸(SA)、一氧化氮(NO)清除剂(carboxy-PTIO, c-PTIO)、NO 供体硝普钠(SNP)、硝酸还原酶(NR)抑制剂钨酸盐(Tungstate)及 NO 合成酶(NOS)抑制剂(L-NAME)进行不同预处理,分析其在镉(Cd)胁迫下根的生长和叶片叶绿素含量的变化,探讨 SA 和 NO 互作对小麦幼苗 Cd 胁迫的缓解机制。结果表明:随着 Cd 处理时间的延长,小麦幼苗根中 SA 含量显著降低,NO 含量则呈现先增加(6 h 和 12 h)后减少(24 h 和 48 h)的趋势;Cd 胁迫抑制了小麦幼苗根的生长,减少了叶片叶绿素的含量,而一定浓度的 SA 或 SNP 预处理可以缓解 Cd 胁迫对小麦幼苗根长的抑制作用,增加叶绿素的含量。c-PTIO、L-NAME 和 Tungstate 单独预处理显著抑制了小麦幼苗根的生长,减少了 NO 的含量,但不影响叶绿素含量。SA400+L-NAME 预处理可以缓解 Cd 胁迫对小麦幼苗根长的抑制作用以及叶绿素和 NO 含量的减少作用;SA400+c-PTIO 或 SA400+Tungstate 预处理可增加 Cd 胁迫下叶绿素的含量,但对根的伸长无影响。进一步研究发现,Cd 胁迫抑制了 NR 的活性,而 SA400 预处理可以使 Cd 胁迫下 NR 的活性增强,不同处理对 NOS 的活性均无影响。综上所述,Cd 胁迫导致小麦幼苗根内源 SA 含量降低和 NO 含量先升高再降低;外源添加 SA 或 SNP 预处理缓解了 Cd 胁迫对根生长的抑制和叶绿素含量降低的作用;外源 SA 通过影响 NO 的产生从而提高小麦幼苗对 Cd 胁迫的耐受性,最终缓解了 Cd 对小麦幼苗的毒害作用。

关键词: Cd 胁迫;SA;NO;小麦幼苗;根生长;叶绿素含量

Effects of SA and NO interaction on root growth and chlorophyll content of wheat seedlings under Cd stress

LI Guiying, WANG Zhaofeng, ZHANG Ya, LI Jiamin, JIANG Xiaoyu, YANG Yingli*

College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China

Abstract: Soil pollution of heavy metals is very severe in China, especially the cadmium pollution. Excessive cadmium not only causes severe damage to the growth and development of plants, leading to disorders of their physiological functions, reduced photosynthesis, and reduced organic matter accumulation and so on, but also greatly endangers human health. In this research, the growth of roots and the content of chlorophyll in the seedlings of wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Longchun 27) were analyzed after being pretreated with exogenous salicylic acid (SA), nitric oxide (NO) scavenger (Carboxy-PTIO, c-PTIO), NO donor sodium nitratol (SNP), nitrate reductase (NR) inhibitor (Tungstate), NO synthase inhibitor (L-NAME) and then being treated with 100 $\mu\text{mol/L}$ CdCl₂, to explore the mitigation mechanism of SA and NO interaction on Cd-induced phytotoxicity. The results showed that with the prolongation of cadmium treatment time, the content of SA decreased gradually, when the treatment time was extended to 24h, the SA content no longer changed, but

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31470464, 31860176);甘肃省重点研发计划(20YF3FA043)

收稿日期:2020-07-13; 网络出版日期:2021-07-24

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xbsfxbsdyang@163.com

the content of NO increased firstly (6 h and 12 h), then decreased (24 h and 48 h) in the roots of wheat seedlings. Cd stress significantly inhibited the root growth and reduced the chlorophyll content of the leaves. However, pretreatment with suitable SA or SNP could moderate the inhibition of Cd stress on the growth of roots and increase the content of chlorophyll in wheat seedlings. The single pretreatment of c-PTIO, L-NAME and Tungstate restrained the growth of roots significantly and reduced the content of NO, but had little effect on the content of chlorophyll. The pretreatment of SA400+L-NAME could alleviate the inhibition of root elongation and the reduction of chlorophyll as well as NO content in wheat seedlings were induced by Cd stress; the pretreatment SA400+c-PTIO or SA400+Tungstate could augment the content of chlorophyll, but there was no effect on root elongation under Cd stress. Further studies showed that Cd stress significantly weaken NR activity, while the pretreatment of SA400 could increase the NR activity of wheat seedlings roots under Cd stress; NOS activity was not affected by different treatments. In summary, Cd stress caused the decrease of endogenous SA content and the first increase of NO content and then decrease of wheat seedlings; the pretreatment with exogenous SA or SNP reduced the inhibition of root growth and the decrease of chlorophyll content by Cd stress; exogenous SA improved the tolerance of wheat seedlings to Cd stress by affecting the production of NO, ultimately, the phytotoxic effects of Cd on wheat seedlings were alleviated.

Key Words: Cd stress; SA; NO; wheat seedlings; root growth; chlorophyll content

随着工业化进程的加快,我国环境遭到严重污染。《全国土壤污染状况调查公报》显示,我国土壤总污染率为 16%,其中重金属污染约占全部污染的 82%,尤以镉污染为重^[1]。《中国生态环境状况公报》中也指出,重金属是影响农用土壤环境质量的主要污染物,其中镉为首要污染物^[2]。过量的镉不仅对植物的生长发育造成严重的破坏^[3-4],也严重威胁着人类的身体健康。

水杨酸(SA)作为一种酚类物质广泛存在于各种植物中,其在植物的种子萌发、呼吸、气孔关闭、开花和衰老等方面起着非常重要的作用^[5-6]。此外,SA 也参与植物对生物和非生物胁迫的耐受性调节机制,如重金属胁迫^[6-8]。近年来,SA 对植物 Cd 胁迫耐受性的调节机制成为研究者关注的热点,众多的研究者在对水稻、大麦、蓖麻、豌豆、小麦、亚麻、大豆和花生等多种植物研究时发现 SA 可以增强植物对 Cd 胁迫的耐受性^[9-16]。这种耐受性调节机制主要包括以下几个方面:稳定细胞膜的完整性^[12-14]、维持离子平衡^[10,14]、影响其他激素的含量^[13]、改变 Cd 的摄取和分配^[15-16]、增强抗氧化防卫系统^[9,12]、增强光合作用^[11,13]以及调节其他的信号通路^[9]等。一氧化氮(NO)是普遍存在于动植物中的一种活性分子,它可以作为抗氧化剂,直接清除因胁迫引起的活性氧(ROS)积累;在抵抗重金属胁迫时,NO 可以增加植物细胞壁果胶和半纤维素的含量,从而增强植物对 Cd 的耐受性^[17],但是 NO 的这种保护效应主要还是依赖于植物种类、作用剂量和作用时间等^[18-19]。此外,NO 可以和多种激素形成交叉作用从而调节植物的生长发育。已有研究发现 NO 可以和乙烯(ETH)信号交互作用,调节植物抗病性、细胞死亡以及包括盐、重金属在内的非生物胁迫的耐受性^[20]。如 Mur 等^[21]研究发现,烟草发生由细菌病原体引起的超敏反应时会迅速产生 NO,在 NO 产生 6 h 后 ETH 产生,这可能是在高 NO 浓度下 ETH 合成基因被启动,而后 NO 和 ETH 相互作用,起到抵御疾病,调节细胞死亡的作用;刘菁等^[22]实验观察到 ETH 可以诱导拟南芥保卫细胞 NO 水平升高,而清除 NO 则会减弱这种诱导效应;有研究者发现,盐胁迫初期拟南芥愈伤组织中 NO 和 ETH 会迅速增加,并且 ETH 的产生依赖于 NO,二者相互作用调控离子平衡,以此来提高植物对盐胁迫的耐受性^[23];袁满等^[24]以荷花为实验材料,研究发现外源添加 SNP 和 ETH 信号转导抑制剂可以显著缓解 Cd 胁迫处理下荷花叶片的毒害症状。另有研究报道,植物在重金属与盐的耐受性调节、衰老、细胞程序性死亡、气孔关闭和丹酚酸 B 的积累等方面与 NO 和 SA 的交互作用有关联^[25-30]。如 SA 和 NO 可显著降低镉对红花的毒性、减缓盐胁迫对番茄幼苗的损伤等^[25-26];此外,外源 SA 可诱导植物大量产生 NO,从而延缓叶片的衰老,调节气孔关闭,而若将 NO 清除,效应则会消失^[27,29]等。诸多研究者以不同植物为实验材料研究表明,SA 可以诱导 NO 的产生,NO 也可以影响 SA 的积累^[31-32]。然而在以小

麦为材料的研究中,SA 和 NO 对 Cd 胁迫的耐受性调节机制仍不清楚。

小麦是全球最重要的粮食作物之一,供养着全世界大约三分之一的人口,但是近年来由于人为及自然等因素,全球重金属污染土壤面积不断扩大,尤以镉污染为重^[1]。过量的镉不仅严重影响小麦等植物的生长发育,且通过食物链进入人体,严重危害人类的健康,所以如何减少小麦对 Cd 的吸收,增强小麦的耐 Cd 能力,一直是研究者关注的热点。本研究以“陇春 27”号小麦幼苗为研究材料,探讨 SA 和 NO 互作在小麦对 Cd 胁迫响应过程中的调节作用,为小麦早期抗 Cd 胁迫的调节机制研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料的培养

“陇春 27”号小麦购自甘肃省农业科学院,种子用 0.1% 的氯化汞消毒 10 min,流水冲洗 10 h,黑暗中萌发 24 h,挑选均一饱满、发芽基本一致的种子于小烧杯中(培养条件为 12 h/12 h(光照/黑暗)、温度(25±2)℃及光照强度 300 μmol m⁻² s⁻¹),用 1/4 Hoagland 营养液培养 3 d 后:(1) 100 μmol/L 的氯化镉(CdCl₂)分别处理 0 h、6 h、12 h、24 h 和 48 h;(2) 0、50、100、200、400 μmol/L 和 800 μmol/L 的 SA 或 SNP 预处理小麦幼苗 6 h 后,用 100 μmol/L 的 CdCl₂胁迫处理 24 h;(3) 分别用 SA(400 μmol/L)、c-PTIO(100 μmol/L)、L-NAME(100 μmol/L)、Tungstate(100 μmol/L)单独处理小麦幼苗 6 h,再培养 24 h;用 CdCl₂(100 μmol/L)胁迫处理小麦幼苗 24 h;分别用 SA(400 μmol/L)、SA(400 μmol/L)+c-PTIO(100 μmol/L)、SA(400 μmol/L)+L-NAME(100 μmol/L)、SA(400 μmol/L)+Tungstate(100 μmol/L)预处理小麦幼苗 6 h,再用 CdCl₂(100 μmol/L)胁迫处理 24 h,取小麦根测定相关指标,剩余根剪下于液氮中迅速冷冻,放置于-80℃下保存用于后续实验。对照组均用 1/4 Hoagland 营养液处理,每个实验至少重复 3 次。

1.2 测定方法

1.2.1 SA 含量的测定

SA 含量的测定参考马莉等^[33]的方法,采用反相高效液相色谱法(HPLC);以 AT. Lichrom ODS(4.6 mm×250 mm,5 μm)为色谱柱,流动相乙腈-1%醋酸水溶液(25:75),检测波长 225 nm,流速 1.0 mL/min,柱温为室温。

1.2.2 NO 含量的测定

参照 Orozco-Ca'rdenas^[34]和 Murphy^[35]等方法测定 NO 的含量。将 0.5 g 小麦幼苗根在 100 U 过氧化氢酶(CAT)和 100 U 的超氧化物歧化酶(SOD)中孵化 5 min,除去内源 ROS,然后加入 5 mL 10 μmol/L 的氧合血红蛋白,37℃孵育 5 min 后,使用分光光度法测定在 401 nm 处和 421 nm 处提取物中氧合血红蛋白转化成甲基血红蛋白的量来计算 NO 的含量。

1.2.3 根长和叶绿素含量的测定

不同处理培养小麦后,用直尺测量小麦幼苗根长;叶绿素的测定参照 Lichtenthaler 等^[36]的方法,取 0.5 g 小麦幼苗叶片,加入适量的 95%乙醇研磨,离心后收集上清液,向沉淀中再次加入 95%乙醇进行洗涤离心,收集上清液,合并两次收集的上清液,定容至 25 mL,测定其在 470 nm、663 nm、646 nm 处的吸光值,并计算其含量。

1.2.4 NR 活性的测定

按照 Tian 等^[37]的方法测定 NR 的活性。取 0.2 g 小麦幼苗根加入 2 mL 提取缓冲液(50 mmol/L Hepes-KOH(pH 7.5),5%甘油,10 mmol/L MgCl₂,1 mmol/L 二硫苏糖醇(DTT),1 mmol/L 苯甲基磺酰氟(PMSF)、1 mmol/L 苯甲脒和 10 μmol/L 腺嘌呤黄素(FAD)),研磨成匀浆,4℃,15000 g 离心 20 min。250 μL 上清液中加入 250 μL 的反应缓冲液(50 mmol/L Hepes-KOH(pH 7.5)、10 mmol/L MgCl₂,1 mmol/L DTT,2 mmol/L KNO₃,10 μmol/L 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸),30℃下反应 5 min 后,用 50 μL 0.5 mol/L 乙酸锌、150 μL 1%磺胺和 150 μL 0.02% N-(1-萘基)乙二胺盐酸盐混合液终止反应,然后 15000 g 离心 2 min,取上清液在 540 nm 处

其吸光值, 计算 NR 的活性。

1.2.5 NOS 活性的测定

按照 Murphy 等^[35]的方法测定 NOS 的活性, 略有改动。1 g 小麦幼苗根在 2 mL 提取缓冲液 (50 mmol/L Tris-HCl (pH 7.4)、1 mmol/L 乙二胺四乙酸 (EDTA)、320 mmol/L 蔗糖、1 mmol/L DTT、1 μ mol/L 亮抑蛋白、1 μ mol/L 胃抑蛋白和 1 mmol/L PMSF、0.1% 聚乙烯吡咯烷酮) 中研磨成匀浆, 然后 4℃、10000 g 离心 30 min, 取适量上清液加入 5 mL 100 U 的 CAT 和 100 U 的 SOD, 孵化 5 min, 然后加入 5 mL 10 μ mol/L 氧合血红蛋白, 在 37℃ 下孵育 30 min 后, 使用分光光度法测定在 401 nm 处和 421 nm 处测定其吸光值并计算 NOS 活性。

1.3 统计学分析

每个数据平行 3 次实验, 用 SPSS Statistics 23.0、Origin 2018 和 Adobe Photoshop CC 2018 对实验数据进行统计学分析及整理作图, $P < 0.05$ 表示有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 Cd 胁迫对小麦幼苗根中内源 SA 和 NO 含量的影响

由图 1 可以看出, 小麦幼苗根中 SA 含量的变化趋势是随着 Cd 处理时间的延长逐渐下降, 与对照相比, 处理 6 h 和 12 h 时 SA 含量分别降低了 15.8% 和 39.8%, 处理时间为 24 h 和 48 h 时, 分别降低了 65% 和 63.8%, 可以看出 SA 的含量在这两个时间点之间并无显著差异, 而由图 1 可以看到, 小麦幼苗根中内源 NO 含量随着时间的延长呈现先上升后降低的趋势, 与对照相比, 100 μ mol/L 的 CdCl_2 处理后, 小麦幼苗根中内源 NO 的含量在 6 h 时达到最大, 是对照的 1.5 倍, 处理 24 h 和 48 h 后, 其根中内源 NO 含量明显低于对照, 分别降低为对照的 83% 和 62%。

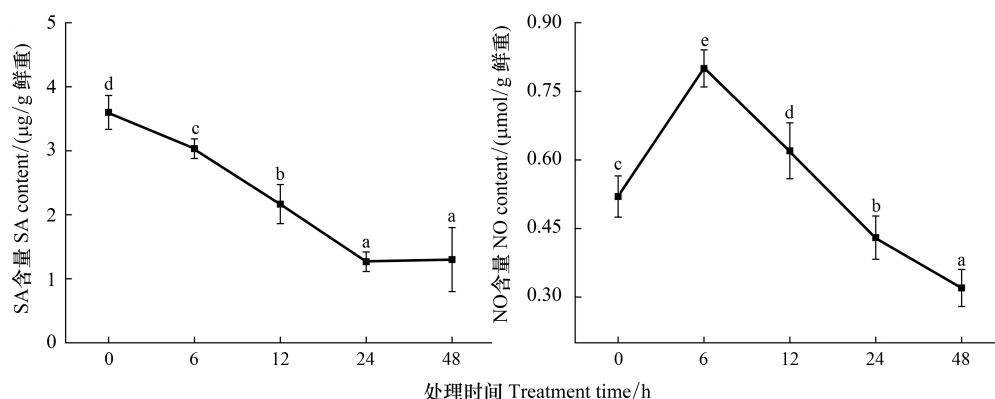


图 1 100 μ mol/L 的 CdCl_2 处理小麦幼苗不同时间后其根中 SA 和 NO 含量的变化

Fig.1 The changes of SA and NO content in roots of wheat seedlings treated with 100 μ mol/L CdCl_2 for different time

SA: 水杨酸 Salicylic Acid; NO: 一氧化氮 Nitric Oxide; 图中各小写字母表示各处理间差异显著 ($P < 0.05$)

2.2 SA 和 NO 对 Cd 胁迫下小麦幼苗的缓解作用

由图 2 可以看出, Cd 胁迫下, 外源添加不同浓度的 SA 和 SNP 预处理小麦幼苗, 随着 SA 或 SNP 浓度的增加, 小麦幼苗根长和叶绿素含量均呈现先升高后降低的趋势, 其中添加 400 μ mol/L SA 和 200 μ mol/L SNP 预处理对 Cd 抑制的缓解效果最好, 小麦幼苗根长和叶绿素含量基本恢复正常水平, 用 400 μ mol/L SA 预处理后其叶绿素含量甚至略微高于对照, 之后随着 SA 或 SNP 浓度的升高, 根长和叶绿素含量均显著降低。

2.3 不同处理对小麦幼苗根长及叶绿素和内源 NO 含量的影响

如表 1 所示, 与对照相比, 单独的 c-PTIO、L-NAME、Tungstate 预处理显著降低了小麦幼苗的根长, 而对其叶绿素含量影响不大。此外, 单独 400 μ mol/L SA 预处理使小麦幼苗内源 NO 含量显著升高, 而单独 c-PTIO、L-NAME、Tungstate 预处理的效果与其相反, 呈现显著降低的趋势。在 Cd 胁迫下, 外源添加 400 μ mol/L SA 预

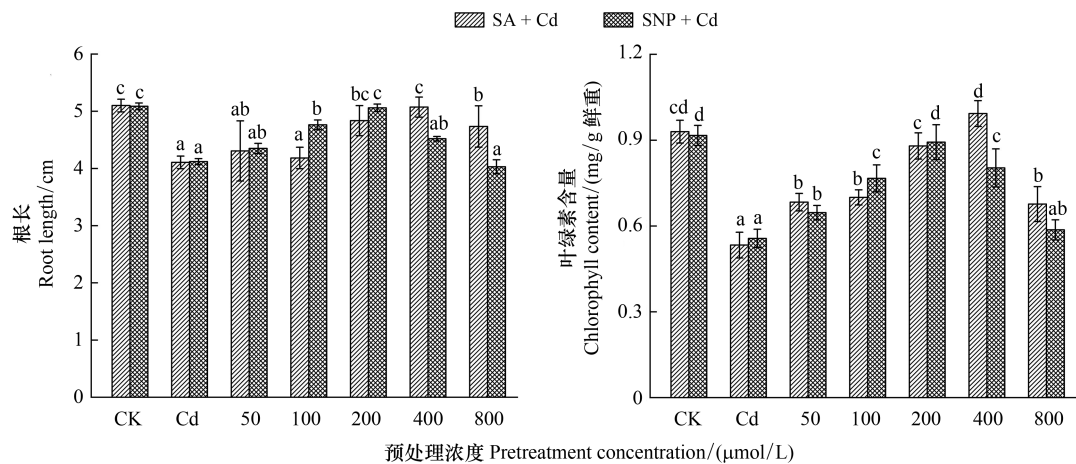


图2 不同浓度 SA 和 SNP 预处理的小麦在 100 μmol/L CdCl₂胁迫下其幼苗根长和叶绿素含量变化

Fig.2 The changes of root length and chlorophyll content of wheat seedlings under 100 μmol/L CdCl₂ stress after being pretreated with different concentrations of SA and SNP

Cd: 100 μmol/L 氯化镉 Cadmium chloride; SNP: 硝普钠 Sodium Nitroprusside;图中各小写字母表示各处理间差异显著(P<0.05)

处理小麦幼苗使根的长度,叶绿素和内源 NO 的含量得到显著增加,但是外源 SA 的诱导效应被 c-PTIO 和 Tungstate 所抑制,而添加 L-NAME 对外源 SA 的诱导效应几乎没有影响。另外,与单独的 400 μmol/L SA 预处理相比,400 μmol/L SA 预处理使 Cd 胁迫下小麦幼苗表现出更好的根系长势,但是 SA 对 Cd 胁迫下小麦幼苗根长的保护效应在添加 c-PTIO 和 Tungstate 预处理后被逆转。

表1 不同处理下小麦幼苗根长(cm)及叶绿素(mg/g Fw)和内源 NO 含量(μmol/g Fw)的变化

Table 1 The changes of root length, chlorophyll and endogenous NO content in wheat seedlings under different treatments

处理 Treatment	根长 Root length	叶绿素含量 Chlorophyll content	NO 含量 NO content
CK	5.08±0.05d	0.91±0.07e	0.51±0.05d
SA400	4.91±0.10cd	0.89±0.02e	0.86±0.06f
c-PTIO	4.70±0.15b	0.81±0.02de	0.34±0.02a
L-NAME	4.82±0.07bc	0.90±0.06e	0.44±0.08bc
Tungstate	4.76±0.14b	0.76±0.07cd	0.43±0.03bc
Cd	4.12±0.05a	0.55±0.06a	0.43±0.05bc
SA400+Cd	5.07±0.04d	0.91±0.03e	0.66±0.06e
SA400+c-PTIO+Cd	4.16±0.04a	0.68±0.10bc	0.37±0.04ab
SA400+L-NAME+Cd	5.05±0.06d	0.90±0.03e	0.61±0.04e
SA400+Tungstate+Cd	4.20±0.06a	0.64±0.07b	0.43±0.04bc

CK: 对照 Control; SA400: 400 μmol/L 水杨酸 Salicylic Acid; c-PTIO: 100 μmol/L 一氧化氮清除剂 Nitric oxide scavenger; L-NAME: 100 μmol/L 一氧化氮合成酶抑制剂 Nitric Oxide Synthase inhibitor; Tungstate: 100 μmol/L 硝酸还原酶抑制剂 Nitrate Reductase inhibitor; Cd: 100 μmol/L 氯化镉 Cadmium chloride;表中同一列不同小写字母表示各处理间差异显著(P<0.05)

2.4 SA 对 Cd 胁迫下 NR 和 NOS 活性的影响

从图3可以看出,与对照相比,单独外源 400 μmol/L SA 预处理使得小麦幼苗根中 NR 的活性显著升高为对照的 2.4 倍,而单独 Cd 处理显著抑制了 NR 的活性,使其降低为对照的 81%,添加外源 SA 预处理后这种抑制作用被解除,相比之下,不同处理下 NOS 的活性(图3)不受影响。

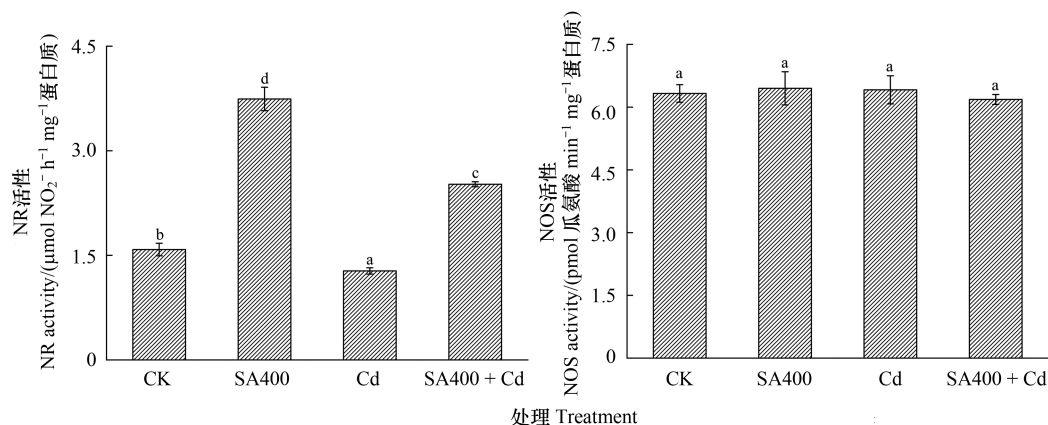


图3 SA 预处理的小麦幼苗在 Cd 胁迫下其根中 NR 和 NOS 活性的变化

Fig.3 The changes of NR and NOS activities in the roots of wheat seedlings under Cd stress after being pretreated with SA

NR: 硝酸还原酶 Nitrate Reductase; NOS: 一氧化氮合成酶 Nitric Oxide Synthase; 图中各小写字母表示各处理间差异显著 ($P < 0.05$)

3 讨论

3.1 Cd 胁迫下小麦幼苗根中 SA 和 NO 含量的变化

SA 广泛存在于植物体内,不仅在植物的生长发育中起着重要的作用,而且能够通过调节各项生理活动,从而降低逆境胁迫对植物的伤害^[5-6]。在重金属胁迫下,SA 可以通过整合重金属从而降低重金属引起的毒性并使 ROS 分解,因此从而提高植物对重金属胁迫的耐受性^[38]。郑慧芳^[39]研究发现,Cd 胁迫导致杨树茎中 SA 含量显著降低,这与本研究的结果相似。本研究中,随 Cd 胁迫处理时间的延长,小麦幼苗根中 SA 含量呈现逐渐降低的趋势(图 1),可能是因为它与 Cd 整合,减少了 Cd 胁迫引起的毒性,并使 ROS 分解,从而导致 SA 含量降低。

NO 是调节植物生长和发育的关键气体信号分子,能够在多种胁迫环境下维持植物正常的生理生化活动,从而增强植物对胁迫环境的耐受能力^[37,40]。研究发现,铝(Al)诱导了小麦 Al 耐受性品种 Jian-864 中 NO 含量早期的爆发,这种爆发发生在 3 h,随后在 6 h 下降,12 h 和 24 h 时又开始上升,且其含量全部高于对照,进一步深入研究发现这种早期 NO 含量的剧增对于小麦耐受 Al 胁迫具有非常重要的意义,但是在对 Al 敏感的小麦品种中并未发现类似的现象^[41]。胡炎^[42]的研究中也发现类似的现象,发现东南景天超积累生态型和非超积累生态型根系 NO 含量分别在镉处理 24 h 和 36 h 时达到最大,随后随着时间的加长逐渐降低,这种短期的镉胁迫诱导植物根系 NO 的积累可能与其对镉的耐受性有关。本实验通过测定小麦幼苗在不同时间 Cd 处理后内源 NO 的含量发现,NO 含量在 6 h 时相比对照极显著地升高了,随后持续下降(图 1)。因此,本研究中 6 h 时 NO 含量的升高可能对小麦抵抗 Cd 胁迫起着非常重要的作用。

3.2 外源 SA 或 SNP 预处理对 Cd 胁迫下小麦幼苗根长及叶绿素含量的影响

大量的研究表明,当胁迫环境诱导特定物质(抗氧化分子、激素、信号分子等)减少时,通过外源添加缓解物质或补偿特定的供体能部分或完全恢复植物的耐受性。一定浓度的外源 SA 预处理可以减轻 Cd 胁迫对番茄生长的毒害作用,促进其根茎的生长^[43];此外,外源 SA 也显著促进了 Cd 胁迫下甜瓜幼苗的生长,提高了叶片叶绿素的含量^[44]。相似,本实验中外源添加一定浓度的 SA 显著促进了小麦幼苗根的生长,并使叶片叶绿素含量显著增加(图 2),其中以 400 μmol/L SA 预处理效果最好,可见外源添加 SA 能降低小麦幼苗因 Cd 胁迫造成的伤害,说明 Cd 胁迫下 SA 对小麦幼苗具有直接的保护作用,但是这种保护作用与其含量息息相关。

诸多研究报道,当植物遭遇胁迫环境时,外源添加缓解物质可有效促进植物的生长发育。敬岩等^[45]研究报道,缺铁胁迫下,外源加入 NO 诱导剂能显著促进玉米叶片中叶绿体的发育,并提高光合链的电子传递速

- (10): 1669-1677.
- [13] 李汝佳, 李雪梅. 水杨酸、脱落酸和过氧化氢对镉胁迫小麦幼苗光合及抗氧化酶活性的影响. 生态学杂志, 2007, 26(12): 2096-2099.
- [14] Belkhadi A, Hediji H, Abbas Z, Nouairi I, Barhoumi Z, Zarrouk M, Chaibi W, Djebali W. Effects of exogenous salicylic acid pre-treatment on cadmium toxicity and leaf lipid content in *Linum usitatissimum* L. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2010, 73(5): 1004-1011.
- [15] Drazic G, Mihailovic N. Modification of cadmium toxicity in soybean seedlings by salicylic acid. Plant Science, 2005, 168(2): 511-517.
- [16] Dong Y J, Chen W F, Xu L L, Kong J, Liu S, He Z L. Nitric oxide can induce tolerance to oxidative stress of peanut seedlings under cadmium toxicity. Plant Growth Regulation, 2016, 79(1): 19-28.
- [17] Zhang L, Zhen C, Zhu C. Endogenous nitric oxide mediates alleviation of cadmium toxicity induced by calcium in rice seedlings. Journal of Environmental Sciences, 2012, 24(5): 940-948.
- [18] 王达菲. 外源 NO(硝普钠) 对镉胁迫下苧麻耐受性影响及机理探究[D]. 长沙: 湖南大学, 2015.
- [19] Wang Q H, Liang X, Dong Y J, Xu L L, Zhang X W, Hou J, Fan Z Y. Effects of exogenous nitric oxide on cadmium toxicity, element contents and antioxidative system in perennial ryegrass. Plant Growth Regulation, 2013, 69(1): 11-20.
- [20] Yang Y X, Ahammed J A, Wu C J, Fan S Y, Zhou Y H. Crosstalk among jasmonate, salicylate and ethylene signaling pathways in plant disease and immune responses. Current Protein & Peptide Science, 2015, 16(5): 450-461.
- [21] Mur L A J, Lloyd A J, Cristescu S M, Harren F J M, Hall M, Smith A. Biphasic ethylene production during the hypersensitive response in Arabidopsis. Plant Signaling & Behavior, 2009, 4(7): 610-613.
- [22] 刘菁, 侯丽霞, 刘国华, 刘新, 王学臣. NO 介导的 H₂S 合成参与乙烯诱导的拟南芥气孔关闭. 科学通报, 2011, 56(30): 2515-2522.
- [23] 王华华. Ethylene, NO 及 H₂O₂ 在拟南芥愈伤组织盐适应中调节作用的机理研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2009.
- [24] 袁满, 徐迎春, 牛叶青, 周慧, 安奕霖, 金奇江, 王彦杰. 乙烯与 NO 互作对镉胁迫下荷花的抗坏血酸-谷胱甘肽循环的影响. 应用生态学报, 2018, 29(10): 3433-3440.
- [25] Namdjoyan S, Kermanian H, Soorki A A, Tabatabaei S M, Elyasi N. Interactive effects of Salicylic acid and nitric oxide in alleviating zinc toxicity of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Ecotoxicology, 2017, 26(6): 752-761.
- [26] 孙德智, 韩晓日, 彭靖, 范富, 杨恒山, 马玉露, 宋桂云. 外源水杨酸和一氧化氮对盐胁迫番茄幼苗光系统 II 功能及激发能分配利用的影响. 植物营养与肥料学报, 2018, 24(1): 170-178.
- [27] Ji Y B, Liu J, Xing D. Low concentrations of salicylic acid delay methyl jasmonate-induced leaf senescence by up-regulating nitric oxide synthase activity. Journal of Experimental Botany, 2016, 67(17): 5233-5245.
- [28] Métraux J P, Durner J. The role of salicylic acid and nitric oxide in programmed cell death and induced resistance//Sandermann H, ed. Molecular Ecotoxicology of Plants. Berlin Heidelberg: Springer, 2004: 111-150.
- [29] Liu X, Zhang S Q, Lou C H. Involvement of nitric oxide in the signal transduction of salicylic acid regulating stomatal movement. Chinese Science Bulletin, 2003, 48(5): 449-452.
- [30] 张婧一, 陈红艳, 张洪培, 朱楠, 董娟娥. 水杨酸诱发的 NO 介导了丹参悬浮培养细胞中丹酚酸 B 的生物合成. 植物科学学报, 2015, 33(1): 81-89.
- [31] Zottini M, Costa A, De Michele R, Ruzzene M, Carimi F, Schiavo F L. Salicylic acid activates nitric oxide synthesis in *Arabidopsis*. Journal of Experimental Botany, 2007, 58(6): 1397-1405.
- [32] Klessig D F, Durner J, Noad R, Navarre D A, Wendehenne D, Kumar D, Zhou J M, Shah J, Zhang S Q, Kachroo P, Trifa Y, Pontier D, Lam E, Silva H. Nitric oxide and salicylic acid signaling in plant defense. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2000, 97(16): 8849-8855.
- [33] 马莉, 唐健元, 李祖伦, 赵艳玲, 廖庆文, 肖小河, 赵祥军, 金城. 板蓝根提取物中总有机酸和水杨酸含量测定方法研究. 中国中药杂志, 2006, 31(10): 804-806.
- [34] Orozco-Cardenas M L, Ryan C A. Nitric oxide negatively modulates wound signaling in tomato plants. Plant Physiology, 2002, 130(1): 487-493.
- [35] Murphy M E, Noack E. Nitric oxide assay using hemoglobin method. Methods in Enzymology, 1994, 233: 240-250.
- [36] Lichtenthaler H K, Wellburn A R. Determinations of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions, 1983, 11(5): 591-592.
- [37] Tian Q Y, Sun D H, Zhao M G, Zhang W H. Inhibition of nitric oxide synthase (NOS) underlies aluminum-induced inhibition of root elongation in *Hibiscus moscheutos*. New Phytologist, 2007, 174(2): 322-331.
- [38] Emamveridian A, Ding Y L, Mokhberdoran F. The role of salicylic acid and gibberellin signaling in plant responses to abiotic stress with an emphasis on heavy metals. Plant Signaling & Behavior, 2020, 15(7): 1777372.
- [39] 郑慧芳. 镉胁迫下杨树耐受性和次生生长的氮、硅调控[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2018.
- [40] Shan C J, Zhou Y, Liu M J. Nitric oxide participates in the regulation of the ascorbate-glutathione cycle by exogenous jasmonic acid in the leaves of

- wheat seedlings under drought stress. *Protoplasma*, 2015, 252(5): 1397-1405.
- [41] Sun C L, Lu L L, Liu L J, Liu W J, Yu Y, Liu X X, Hu Y, Jin C W, Lin X Y. Nitrate reductase-mediated early nitric oxide burst alleviates oxidative damage induced by aluminum through enhancement of antioxidant defenses in roots of wheat (*Triticum aestivum*). *New Phytologist*, 2014, 201(4): 1240-1250.
- [42] 胡炎. 东南景天对镉胁迫的响应和镉再转运的生理与分子机制[D]. 杭州: 浙江大学, 2019.
- [43] 王小红, 郭军康, 贾红磊, 李艳萍, 吕欣, 任倩. 外源水杨酸缓解镉对番茄毒害作用的研究. *农业环境科学学报*, 2019, 38(12): 2705-2714.
- [44] 张永平, 陈幼源, 杨少军, 许爽. 外源水杨酸对镉胁迫甜瓜幼苗生长与光合气体交换和叶绿素荧光特性的影响. *西北植物学报*, 2014, 34(4): 778-785.
- [45] 敬岩, 孙宝腾, 符建荣. 一氧化氮改善铁胁迫玉米光合组织结构及其活性. *植物营养与肥料学报*, 2007, 13(5): 809-815.
- [46] Zhao X, Wang J, Yuan J, Wang X L, Zhao Q P, Kong P T, Zhang X. Nitric oxide-associated protein1 (AtNOA1) is essential for salicylic acid-induced root waving in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, 2015, 207(1): 211-224.
- [47] 刘建福, 王明元, 唐源江, 杨晨, 钟书淳, 陈钦, 范燕萍. 水杨酸和一氧化氮对姜黄生长及次生代谢产物的影响. *园艺学报*, 2015, 42(4): 741-750.
- [48] Singh A P, Dixit G, Kumar A, Mishra S, Kumar N, Dixit S, Singh P K, Dwivedi S, Trivedi P K, Pandey V, Dhankher O P, Norton G J, Chakrabarty D, Tripathi R D. A protective role for nitric oxide and salicylic acid for arsenite phytotoxicity in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 2017, 115: 163-173.
- [49] Kazemi N, Khavari-Nejad R A, Fahimi H, Saadatmand S, Nejad-Sattari T. Effects of exogenous salicylic acid and nitric oxide on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in leaves of *Brassica napus* L. under nickel stress. *Scientia Horticulturae*, 2010, 126(3): 402-407.
- [50] Neill S, Bright J, Desikan R, Hancock J, Harrison J, Wilson I. Nitric oxide evolution and perception. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(1): 25-35.
- [51] Peng D D, Wang X J, Li Z, Zhang Y, Peng Y, Li Y P, He X S, Zhang X Q, Ma X, Huang L K, Yan Y H. NO is involved in spermidine-induced drought tolerance in white clover via activation of antioxidant enzymes and genes. *Protoplasma*, 2016, 253(5): 1243-1254.
- [52] Yu L Z, Wu X Q, Ye J R, Zhang S N, Wang C. NOS-like-mediated nitric oxide is involved in *Pinus thunbergii* response to the invasion of *Bursaphelenchus xylophilus*. *Plant Cell Reports*, 2012, 31(10): 1813-1821.