

谷胱甘肽和丁硫堇对镉胁迫下辣椒幼苗生理特性的影响

雷 阳¹, 乔 宁¹, 苗如意¹, 杨玉花², 梁燕萍¹

(1. 山西农业大学园艺学院, 山西 太原 030031; 2. 山西农业大学农业基因与资源研究中心, 农业农村部黄土高原作物基因资源与种质创制重点实验室, 山西 太原 030031)

摘 要: 为探究谷胱甘肽 (GSH) 在辣椒响应镉胁迫过程中的生理作用, 在镉胁迫下测定了 GSH 和 GSH 合成抑制剂丁硫堇对辣椒叶部和根部各项生理指标的影响。结果表明, 100 $\mu\text{mol/L}$ 的镉离子对辣椒幼苗的生长有严重的抑制作用, 在镉胁迫下喷施 10 mmol/L 的 GSH 可以增加辣椒幼苗的根长、株高以及地下部和地上部鲜重, 与单独的镉处理相比增幅分别为 22.01%、6.59%、39.11% 和 26.47%; 叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素含量分别增加了 82.65%、51.33% 和 32.19%; 根部和叶部的镉含量分别增加了 11.26% 和 33.26%; 超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、抗坏血酸过氧化物酶、过氧化物酶、单脱氢抗坏血酸还原酶、脱氢抗坏血酸还原酶、谷胱甘肽还原酶、谷胱甘肽过氧化物酶在根部的活性分别提高 49.63%、68.15%、51.60%、59.72%、56.78%、17.48%、59.53% 和 23.27%, 在叶部分别提高 14.22%、28.11%、64.86%、40.47%、28.02%、14.30%、28.60% 和 47.46%; GSH 循环系统还原态/氧化态比例在叶部和根部分别提高了 93.78% 和 40.32%, 进而降低了超氧阴离子产生速率和 H_2O_2 含量; 添加 GSH 合成抑制剂丁硫堇则会逆转上述作用。结果说明, GSH 可有效缓解镉胁迫对辣椒造成的生理损害, 进而提高辣椒抵抗重金属胁迫的能力。

关键词: 镉胁迫; 谷胱甘肽; 丁硫堇; 辣椒; 生理特性

镉 (Cd) 是植物体内的有害元素, 极易被植物吸收, 并通过维管束从根转移至地上部^[1]。镉元素在植物体内大量富集会引发活性氧 (ROS) 积累, 造成氧化胁迫, 影响 RNA 和蛋白质的正常表达合成, 导致植物生长发育迟滞、光合作用受阻^[2]。据统计, 我国土壤重金属污染情况极其严重, 污染超标率高达 19.4%, 每年因重金属污染造成的粮食损失接近 1000 万 t, 其中 36.08% 的重金属污染为镉含量超标^[3-4]。

谷胱甘肽 (GSH) 是谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸缩合而成的水溶性氨基酸衍生物^[5], GSH 可直接或间接清除 ROS^[6], 同时也能通过后续反应与镉等重金属离子发生螯合, 降低重金属对植物的胁迫^[7]。 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶 (γ -GCS)

是植物体内 GSH 合成路径上游的关键酶, 丁硫堇 (BSO) 是该酶的抑制剂, 能够有效减少植物体内 GSH 的含量, 从而降低植物对重金属的耐受性^[8]。蔡仕珍等^[9]研究表明, 外源 GSH 可有效提高镉胁迫下绵毛水苏的生物量、光能的捕获与转换能力、抗氧化酶活性, 有效缓解镉胁迫对植株幼苗生长的抑制作用。杨志峰等^[10]研究表明, GSH 可有效减轻低温胁迫下叶绿体膜脂的过氧化程度, 增强黄瓜幼苗的抗寒性。Zhou 等^[11]研究表明, GSH 可有效缓解盐胁迫对番茄光合作用的抑制, 并提高抗氧化酶活性, 而添加 BSO 则会起到与 GSH 相反的作用。

近年来, 随着我国镉污染的情况不断恶化, 科研工作者做了大量关于缓解植物镉胁迫的研究^[12-14]。然而, 关于 GSH 和 BSO 对镉胁迫下辣椒叶片和根部生理影响的研究尚未见报道。鉴于此, 本研究针对辣椒生产中出现的镉污染问题, 探究了镉胁迫下 GSH 和 BSO 对辣椒幼苗各项生理性指标的影响, 旨在探讨 GSH 对辣椒逆境响应的调节机理, 丰富辣椒抗逆机理的理论认识, 以期为辣椒耐重金属栽培提供理论依据。

收稿日期: 2020-12-25; 录用日期: 2021-01-16

基金项目: 山西省青年基金 (20210302124152); 中央引导地方科技发展专项资金项目 (YDZJSX2021D003)。

作者简介: 雷阳 (1987-), 助理研究员, 硕士, 主要从事蔬菜病理学研究。E-mail: leiyanghd@163.com。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试辣椒品种为晋椒 503 (*Capsicum annuum* L. cv. Jinjiao 503), 由山西省园艺学院辣椒育种团队提供。CdCl₂、GSH 和 BSO 均购自 Sigma 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 种子萌发试验

选取均匀、无病害的晋椒 503 辣椒种子, 用灭

菌水在室温下浸泡 4 ~ 5 h。进而用 75% 乙醇冲洗 20 s, 15% 的 NaClO 冲洗 15 min, 灭菌水洗涤 3 次, 放入真空干燥箱 40℃ 烘干 30 min, 播种于 72 孔的穴盘中, 置于 25℃ (光/暗, 12 h/12 h) 光照培养箱中培养。培养 15 d 后, 取长势一致的幼苗, 分成对照组 (CK, 处理液为灭菌水) 和 4 个处理组 (表 1) 移栽至营养箱中。在处理 12 d 后分别取样测定各指标含量, 每处理测定 3 株, 3 次重复。

表 1 试验处理

处理	土壤营养液	叶面营养液
CK	1/2 Hoglang 营养液	蒸馏水
Cd	1/2 Hoglang 营养液 + 100 μmol/L Cd ²⁺	蒸馏水
CdGSH	1/2 Hoglang 营养液 + 100 μmol/L Cd ²⁺	10 mmol/L GSH
CdBSO	1/2 Hoglang 营养液 + 100 μmol/L Cd ²⁺	1 mol/L BSO
CdGSHBSO	1/2 Hoglang 营养液 + 100 μmol/L Cd ²⁺	10 mmol/L GSH+1 mol/L BSO

1.2.2 幼苗生理指标的测定

叶部和根部 Cd 含量的测定: 称取晋椒 503 辣椒叶片或根部 0.1 g, 加入硝酸: 过氧化氢 (H₂O₂) = 3:2 的混合溶液 5 mL, 在消解炉中 160℃ 消解 4 h, 蒸馏水定容至 50 mL, 火焰原子吸收分光光度计测定。

叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量的测定: 避光条件下取晋椒 503 辣椒幼苗叶片 2 g, 采用丙酮溶解法提取, 然后分别在 470、649 和 665 nm 波长下测定。

GSH、氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 含量、超氧阴离子 (O₂^{·-}) 产生速率和 H₂O₂ 含量的测定采用 Murshed 等^[15] 的方法。根据试剂盒说明书 (苏州格锐思生物技术有限公司) 测定抗氧化物酶和抗坏血酸 (AsA) -GSH 循环关键酶活性。过氧化物酶 (POD): 在 470 nm 比色, 记录 10 s 和 1 min 10 s 吸光值。超氧化物歧化酶 (SOD): 静置 30 min, 在 450 nm 比色。过氧化氢酶 (CAT): 静置 30 min, 在 510 nm 比色。抗坏血酸过氧化物酶 (APX): 在 290 nm 比色, 记录 30 s 和 5 min 30 s 吸光值。单脱氢抗坏血酸还原酶 (MDHAR): 在 340 nm 比色, 记录 10 s 和 5 min 10 s 吸光值。脱氢抗坏血酸还原酶 (DHAR): 在 265 nm 比色, 记录 10 s 和 3 min 10 s 吸光值。谷胱甘肽还原酶 (GR): 在 412

nm 比色, 记录 30 s 和 10 min 吸光值。谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX): 在 340 nm 比色, 记录 3 s 和 10 min 吸光值。γ-GCS: 在 412 nm 比色, 记录 1 min 吸光值。

1.3 数据处理

采用 Excel 2016 整理数据和作图; SAS 1.2 分析数据, Duncan 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 谷胱甘肽和丁硫堇对镉胁迫下辣椒幼苗生物量的影响

由表 2 可知, 与 CK 相比, Cd 处理的根长、株高、地上部鲜重和地下部鲜重均有显著 ($P<0.05$, 下同) 下降, 降幅分别为 19.57%、14.69%、31.74% 和 29.04%。在镉胁迫下, 喷施谷胱甘肽的处理 CdGSH 比 Cd 处理的根长显著升高了 22.01%, 株高显著提高了 6.59%, 地上部鲜重显著增加了 39.11%, 地下部鲜重显著增加了 26.47%; 喷施谷胱甘肽合成抑制剂 BSO 可显著降低辣椒地下部鲜重, 而根长、株高和地上部鲜重与 Cd 处理差异不显著; 同时喷施 GSH 和 BSO, 比单独喷施 BSO 的处理 CdBSO 在根长、地上部鲜重和地下部鲜重均有显著提升, 而比 CdGSH 处理均有显著降低。

表 2 GSH 和 BSO 对镉胁迫下辣椒幼苗生物量的影响

处理	根长 (cm)	株高 (cm)	地上部鲜重 (g)	地下部鲜重 (g)
CK	6.23 ± 0.22a	18.43 ± 0.8a	19.15 ± 1.40a	16.01 ± 0.44a
Cd	5.01 ± 0.20c	15.72 ± 0.15c	12.88 ± 1.36c	11.36 ± 0.68d
CdGSH	6.12 ± 0.14a	16.76 ± 0.13b	18.18 ± 0.38a	14.37 ± 0.28b
CdBSO	4.78 ± 0.11c	15.00 ± 0.48c	12.75 ± 0.94c	9.66 ± 0.49e
CdGSHBSO	5.51 ± 0.21b	15.82 ± 0.70bc	15.51 ± 0.34b	13.06 ± 0.73c

注：不同字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。下同。

2.2 谷胱甘肽和丁硫堇对镉胁迫下辣椒幼苗叶片光合色素含量的影响

光合色素的含量可以作为衡量植物对重金属胁迫耐受性的一个重要指标。由表 3 可知，与 CK 相比，处于镉胁迫下 Cd 处理的叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素含量和叶绿素 a/叶绿素 b 均显著降低，分别降低了 48.36%、35.03%、40.13% 和 18.64%。在镉离子胁迫下，施加 GSH 与 Cd 处理相比，辣椒

幼苗叶片的叶绿素 a 含量显著提高了 82.65%，叶绿素 b 显著提高了 51.33%，类胡萝卜素含量显著提高了 32.19%，叶绿素 a/叶绿素 b 显著提高了 20.70%。喷施谷胱甘肽合成抑制剂 BOS 后，叶部的 3 种光合色素含量较 Cd 处理均有显著下降。同时喷施 GSH 和 BSO，比单独喷施 BSO 的 CdBSO 处理，叶片的叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素含量均有显著提升。

表 3 GSH 和 BSO 对镉胁迫下辣椒幼苗光合色素的影响

处理	叶绿素 a 含量 (mg/L)	叶绿素 b 含量 (mg/L)	类胡萝卜素含量 (mg/L)	叶绿素 a/叶绿素 b
CK	27.24 ± 0.31a	7.54 ± 0.27a	12.38 ± 0.43a	3.61 ± 0.11a
Cd	14.07 ± 0.27d	4.90 ± 0.41c	7.41 ± 0.22c	2.94 ± 0.22b
CdGSH	25.69 ± 0.29b	7.41 ± 0.07a	9.80 ± 0.37b	3.47 ± 0.07a
CdBSO	11.14 ± 1.49e	4.01 ± 0.12d	6.39 ± 0.32e	2.78 ± 0.29b
CdGSHBSO	15.84 ± 0.34c	5.72 ± 0.17b	8.09 ± 0.13c	2.77 ± 0.09b

2.3 谷胱甘肽和丁硫堇对镉胁迫下辣椒幼苗镉含量和转运系数的影响

由表 4 可知，各个处理的叶部镉含量均小于根部的镉含量。在镉胁迫下喷施 GSH 后，辣椒幼苗叶部和根部的镉含量均比 Cd 处理显著升高，增幅分别为 11.26% 和 33.26%，转运系数有所降低，但

差异不显著。在喷施 BSO 后，叶部镉含量比 Cd 处理显著下降了 12.82%，而根部则降低了 10.53%。同时喷施 GSH 和 BSO，比单独喷施 BSO 的 CdBSO 处理，叶片和根部镉含量分别显著提升了 16.34% 和 35.56%，而比 CdGSH 处理叶片和根部镉含量分别显著降低了 10.00% 和 18.94%。

表 4 GSH 和 BSO 对镉胁迫下辣椒幼苗镉含量和转运系数的影响

处理	叶部镉含量 (mg/kg)	根部镉含量 (mg/kg)	转运系数
CK	0.03 ± 0.00d	0.04 ± 0.01a	0.75 ± 0.20a
Cd	24.56 ± 1.14b	45.38 ± 0.72d	0.54 ± 0.03bc
CdGSH	27.68 ± 1.44a	67.90 ± 3.11b	0.41 ± 0.01c
CdBSO	21.41 ± 0.31c	40.60 ± 3.94e	0.53 ± 0.06bc
CdGSHBSO	24.91 ± 1.30b	55.04 ± 2.32c	0.45 ± 0.00c

2.4 谷胱甘肽和丁硫堇对镉胁迫下辣椒幼苗抗氧化酶活性的影响

SOD、CAT、APX 和 POD 是植物重要的抗氧化酶，在植物体清除 ROS 的过程中起到重要作用。由图 1 可知，辣椒叶部的 4 种抗氧化酶活性总体上均高于根部的酶活性。与 CK 相比，Cd 处理根部的 SOD 活性以及根部和叶部的 CAT、APX 和 POD 活性均显著下降。在镉胁迫下，喷施 GSH 对根部的 SOD、CAT、APX 和 POD 活性均显著提升，比

Cd 处理分别增加了 49.63%、68.15%、51.60% 和 59.72%；喷施 GSH 对叶部的 CAT、APX 和 POD 酶活性均显著提升，相比于 Cd 处理分别有 28.11%、64.86% 和 40.47% 的增幅。在喷施 BSO 后，辣椒叶部 SOD、CAT 和 POD 活性均显著下降。同时喷施 GSH 和 BSO，叶部的 CAT、APX 和 POD 酶活性和根部的 SOD、CAT、APX、POD 酶活性比 CdBSO 处理均显著提升。

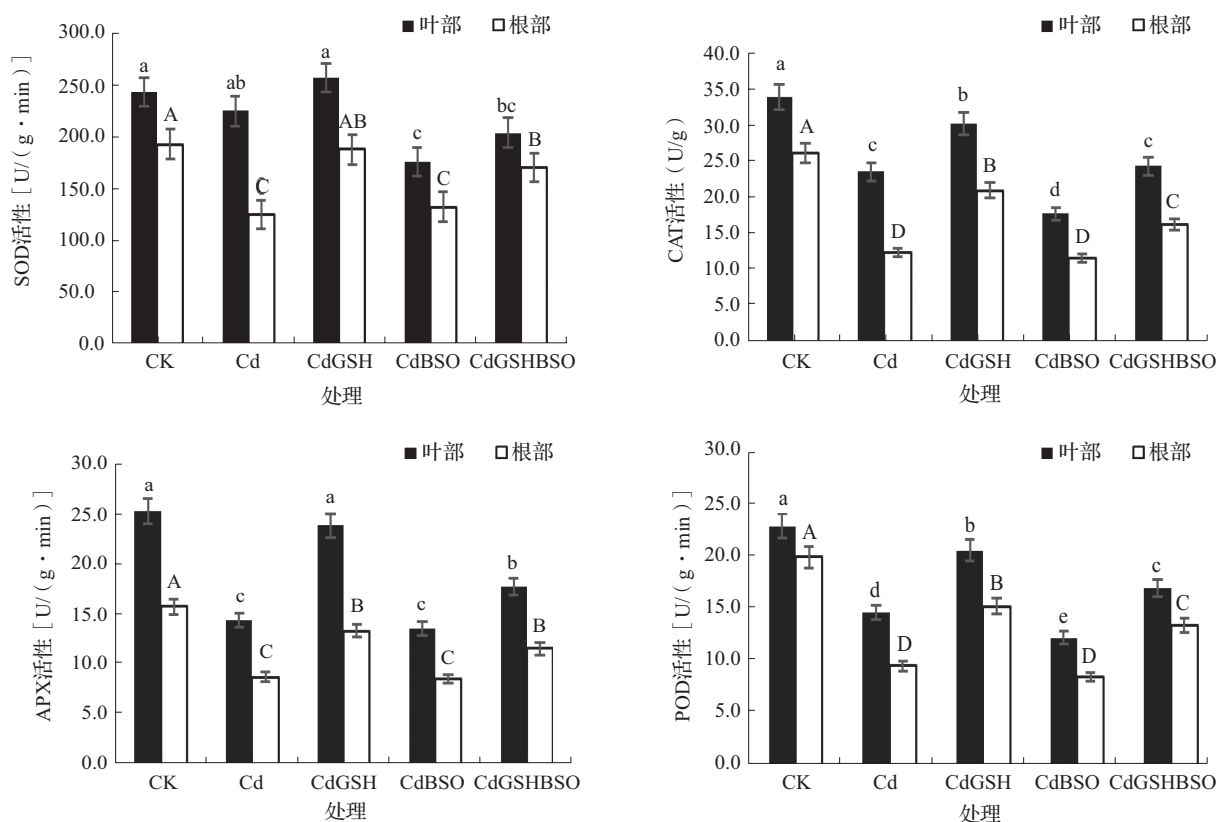


图 1 谷胱甘肽和丁硫堇对镉胁迫下辣椒抗氧化酶活性的影响

注：不同小写字母表示叶部差异显著 ($P < 0.05$)，不同大写字母表示根部差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

2.5 谷胱甘肽和丁硫堇对镉胁迫下辣椒幼苗 AsA-GSH 循环关键酶活性的影响

AsA-GSH 循环是除了抗氧化酶系统以外，另一套植物体清除 ROS 的重要系统，GR、DHAR、MDHAR、GPX 和 γ -GCS 是该系统的关键酶。由图 2 可知，与 CK 相比，Cd 处理根部和叶部的 GR、DHAR、MDHAR 和 γ -GCS 活性均显著降低，而 GPX 活性则显著升高。在镉胁迫下，补充 GSH 可显著提升 GR、DHAR、MDHAR 和 GPX 在辣椒叶片和根部的活性，而 γ -GCS 活性在叶部降低，在

根部则与 Cd 处理差异不显著。在施加了 BSO 后，叶部的 GR、DHAR、GPX、 γ -GCS 活性和根部的 MDHAR、DHAR、GPX、 γ -GCS 活性与 Cd 处理相比均显著降低。同时喷施 GSH 和 BSO，叶部和根部的 GR、DHAR、MDHAR、GPX 酶活性比 CdBSO 处理均显著提升。

2.6 谷胱甘肽和丁硫堇对镉胁迫下辣椒幼苗 GSH 循环的影响

GSH 是植物体内清除 ROS 的重要还原性物质，GSH/GSSG 代表了细胞内还原氧化性物质的能

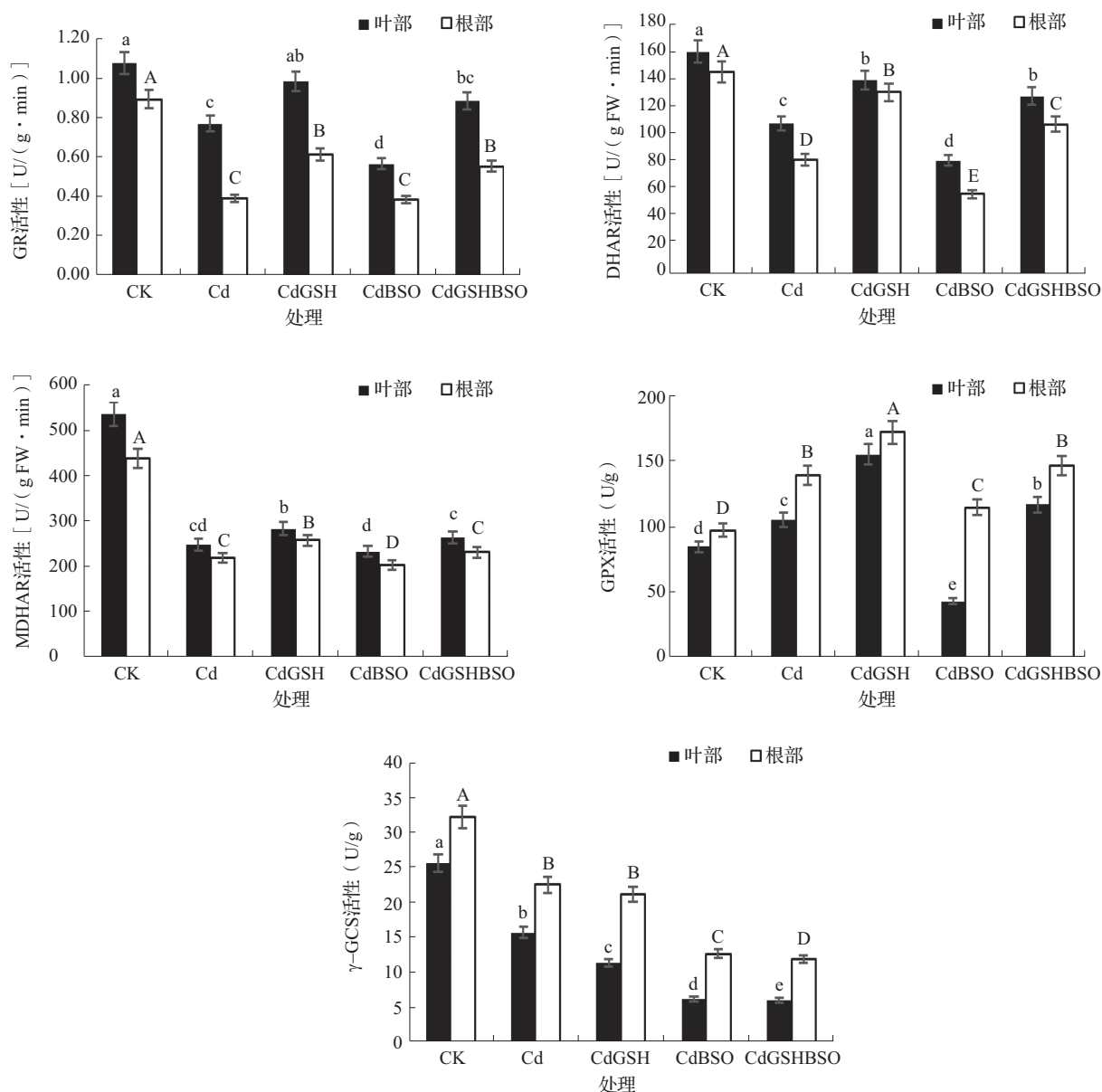


图2 谷胱甘肽和丁硫堇对镉胁迫下辣椒 AsA-GSH 循环关键酶活性的影响

力,与植物抵抗非生物胁迫能力相关。由图3可知,Cd处理比CK处理根部和叶部的GSH、GSSG含量显著升高,叶部GSH/GSSG显著降低,而根部GSH/GSSG变化不显著。相比于Cd处理,CdGSH处理可显著提升镉胁迫下的辣椒叶片和根部GSH、GSSG含量和GSH/GSSG,增幅分别为165.83%、62.62%、37.18%和15.89%、93.78%、40.32%。相比于Cd处理,CdBSO处理可显著降低辣椒叶部和根部GSH、GSSG含量以及叶部的GSH/GSSG。同时喷施GSH和BSO,叶部和根部GSH、GSSG含量和GSH/GSSG比CdBSO处理均显著提高;与CdGSH处理相比,CdGSHBSO处理叶部的GSH、

GSSG含量和GSH/GSSG均显著下降,根部只有GSH显著下降。

2.7 谷胱甘肽和丁硫堇对镉胁迫下辣椒幼苗ROS的影响

$O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 是植物体内主要的ROS, $O_2^{\cdot-}$ 产生速率和 H_2O_2 含量可代表植物细胞内ROS的积累程度。由图4可知,与CK相比,Cd处理叶部和根部的 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率分别显著下降44.01%和60.63%, H_2O_2 含量在叶部和根部分别显著下降53.83%和119.98%。在镉胁迫下,喷施GSH后,叶部和根部的 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率比Cd处理分别降低27.92%和23.99%, H_2O_2 含量分别降低24.99%和31.81%。在喷施BSO后,叶

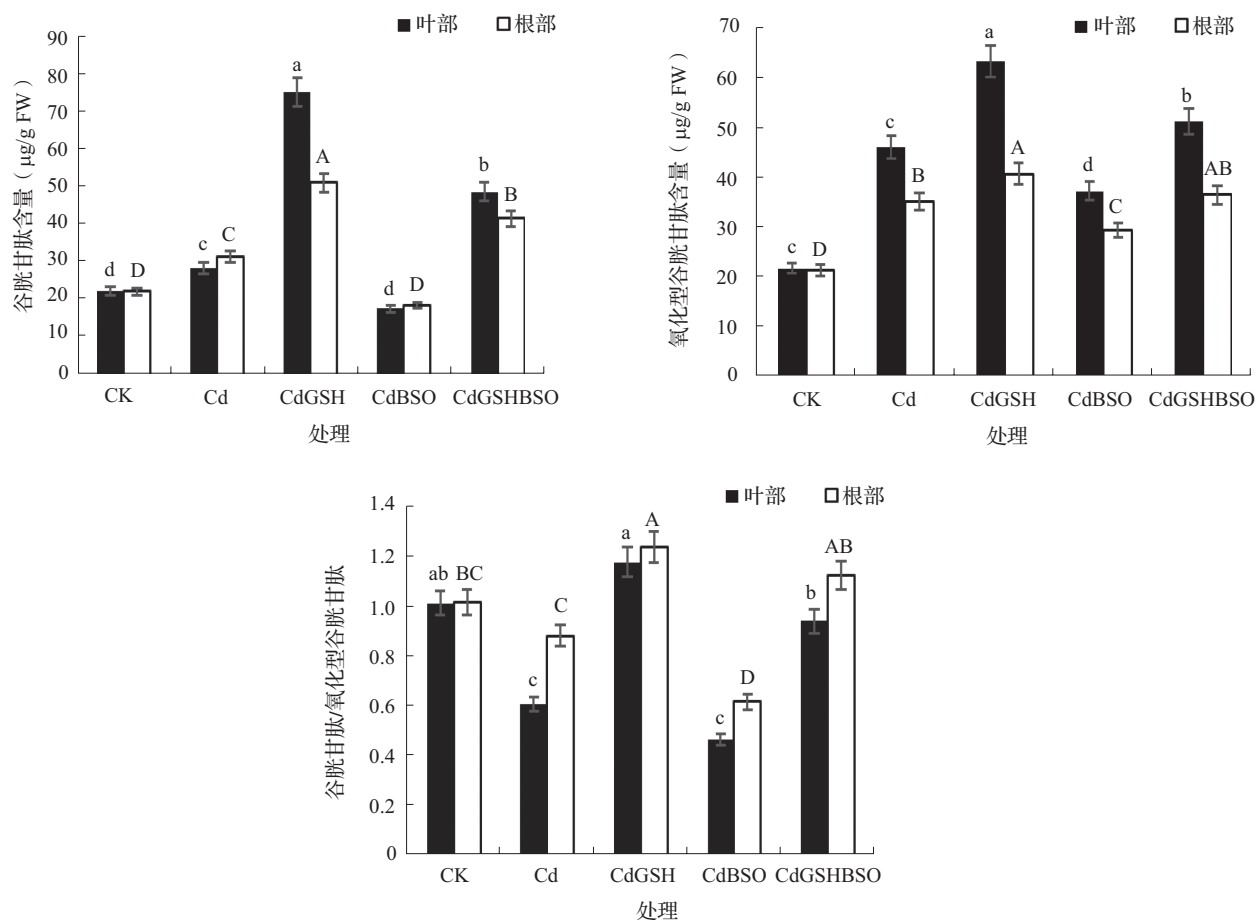
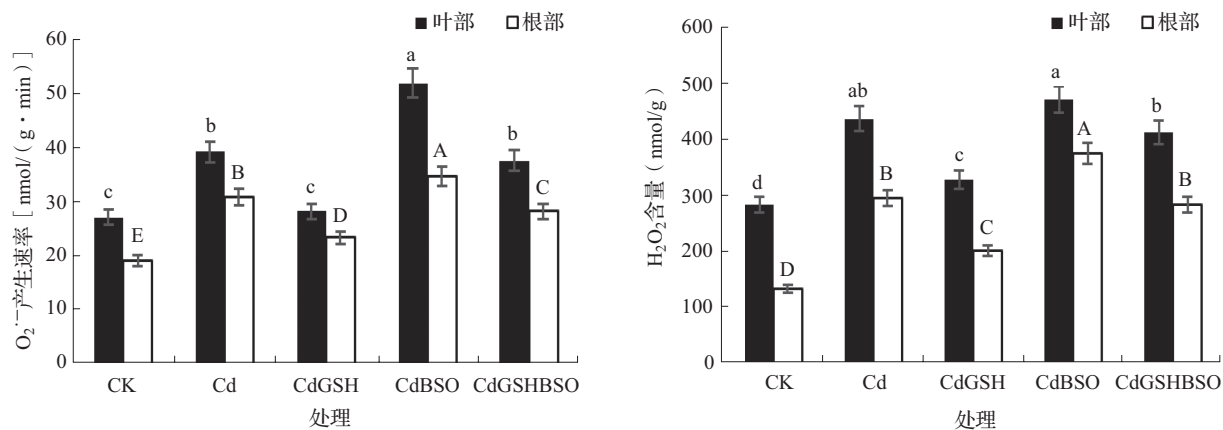


图3 谷胱甘肽和丁硫堇对镉胁迫下辣椒 GSH 循环的影响

图4 谷胱甘肽和丁硫堇对镉胁迫下辣椒 $\text{O}_2^{\cdot -}$ 产生速率和 H_2O_2 含量的影响

部和根部的 $\text{O}_2^{\cdot -}$ 产生速率和根部的 H_2O_2 含量均显著升高。同时喷施 GSH 和 BSO, 叶部和根部的 $\text{O}_2^{\cdot -}$ 产生速率和 H_2O_2 含量比 CdBSO 处理均显著降低, 而与 CdGSH 处理相比则显著上升。

3 讨论

3.1 谷胱甘肽和丁硫堇对镉胁迫下辣椒幼苗生物

量和光合色素的影响

镉胁迫会导致植物体内过量的 ROS 迅速积累, 影响光合色素的稳定性, 阻碍光合作用对能量的转化, 破坏营养物质的正常积累, 从而严重影响植物生物量的增长^[16]。本研究结果表明, 在镉胁迫条件下辣椒幼苗根长、株高、地上部鲜重和地下部鲜重以及叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量明显

下降,在叶面喷施 GSH 则可有效提升镉胁迫下辣椒生物量和光合色素的含量,而喷施 GSH 合成抑制剂 BSO 则会加重镉胁迫下辣椒生物量和光合色素含量的下降。正面和反面的结果共同说明 GSH 可以缓解镉胁迫辣椒幼苗生长发育的抑制和对光合色素的降解,有效保护辣椒光合系统,从而提升幼苗对镉胁迫的耐受性。

3.2 谷胱甘肽和丁硫堇对镉胁迫下辣椒幼苗镉含量和转运系数的影响

GSH 可通过聚合反应形成多聚物骨架,进而与重金属阳离子发生螯合形成螯合肽,在重金属吸收和转运方面起着重要作用^[17-18]。本研究结果表明,在叶面喷施 GSH 可增加叶部和根部的镉含量,其中根部镉含量的增加更为明显,因此转运系数反而下降;喷施 BSO 可同等程度地降低叶部和根部的镉含量,因此转运系数变化不显著。Yuan 等^[19]的研究表明,对马蔺喷施 GSH 会显著增加根部和叶部的铅含量,这与本研究结果相一致,但马蔺对铅的转移系数会因 GSH 而增加,这与本研究结果不同。Nakamura 等^[20]的研究结果表明,对油菜喷施 BSO 可降低根中镉含量,但会增加油菜茎叶中的镉含量,也与本研究结果部分不同,这可能是植物种类、重金属种类和施用方式不同导致的。喷施 GSH 显著增加了辣椒根部和叶部的镉含量,但却没有对辣椒的生长和光合作用造成损害,反而增加了辣椒的生物量和光合色素含量。这可能是由于 GSH 通过螯合作用将原本可自由移动的镉离子固定为金属螯合肽,螯合物可被转运蛋白运送至细胞外或储存于液泡内。辣椒镉元素的总含量虽然在上升,但是可对植物细胞产生胁迫的活性镉的有效浓度却明显下降,因此减轻了细胞膜的过氧化程度,保护了光合色素的稳定性,维护了营养物质的正常积累。

3.3 谷胱甘肽和丁硫堇对镉胁迫下辣椒幼苗抗氧化酶的影响

植物体内清除 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 等 ROS 的机制可分为抗氧化酶和非酶 2 个清除系统:抗氧化酶系统的关键酶为 POD、SOD、CAT、APX;非酶系统又称为 AsA-GSH 循环系统^[21]。SOD 可将 $O_2^{\cdot-}$ 催化分解为 H_2O_2 和 O_2 ,而 H_2O_2 可分别由 POD 催化还原原型辅酶代谢以及 APX 催化 AsA 代谢,或者是 CAT 直接清除,因而抗氧化酶在响应重金属胁迫中具有重要作用^[22]。本研究结果表明,镉胁迫会造成辣

椒幼苗的抗氧化酶活性降低,这可能是镉离子替换了抗氧化酶活性中心的镁、铁和锰等金属阳离子,造成部分酶的功能丧失。对镉胁迫下的辣椒幼苗喷施外源 GSH 后,抗氧化酶活性均显著提高,而添加 BSO 则会抑制这些酶的活性,从正反两方面说明 GSH 可有效保护抗氧化酶行使正常功能,降低镉胁迫对酶活性的影响。

3.4 谷胱甘肽和丁硫堇对镉胁迫下辣椒幼苗 AsA-GSH 循环及其关键酶活性的影响

AsA 和 GSH 可直接还原 ROS,氧化产物分别为 DHA 和 GSSG。GR 则可将氧化态的 GSSG 还原为 GSH^[23],MDHAR 和 DHAR 酶可分别将单脱氢抗坏血酸(MDHA)和 DHA 还原为 AsA^[24],GPX 以 GSH 为电子供体还原 ROS, γ -GCS 是植物体内 GSH 合成路径上游的关键酶^[25-28]。本研究结果表明,在镉胁迫下,辣椒根部和叶部的 GR、DHAR、MDHAR 和 γ -GCS 活性以及 GSH/GSSG 均显著降低,而 GPX 活性以及 GSH、GSSG 含量则显著上升。同时本研究结果也表明,补充 GSH 可显著提升辣椒叶片和根部 GR、DHAR、MDHAR 和 GPX 的活性以及 GSH、GSSG 含量和 GSH/GSSG,而 γ -GCS 在叶部的活性则随着 GSH 的增加而降低;添加 BSO 可不同程度地降低 MDHAR、GR、DHAR、GPX 和 γ -GCS 活性以及 GSH、GSSG 含量和 GSH/GSSG。结果从正反两方面说明 GSH 可通过激活 AsA-GSH 循环系统关键酶活性来提升 AsA-GSH 的循环速率,通过提高 GSH 循环系统还原态/氧化态比例来加快清除 ROS 效率。

3.5 谷胱甘肽和丁硫堇对镉胁迫下辣椒幼苗 ROS 的影响

在非胁迫状态下,植物细胞内的 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 等 ROS 的产生和清除处于动态平衡状态,而过多的镉离子会打破该平衡状态^[29]。本研究结果表明,在镉胁迫下,辣椒幼苗叶部和根部 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率和 H_2O_2 含量均显著升高,喷施 GSH 可有效清除辣椒体内的 ROS,而 BSO 则会加剧 ROS 的积累。结合上文的结果不难得出,镉胁迫下辣椒体内的抗氧化酶和非酶清除系统受到抑制,造成了体内 ROS 的大量积累,而补充 GSH 则一方面可直接参与 ROS 的清除,另一方面可通过提高抗氧化酶系统和 AsA-GSH 循环系统的 ROS 清除效率,有效缓解镉离子造成的细胞 ROS 胁迫效应。

4 结论

本研究以在高浓度镉胁迫下的晋椒 503 为试验材料,探究镉胁迫下 GSH 和 BSO 对辣椒幼苗叶部和根部各项生理性指标的影响。研究结果表明,高浓度镉离子对辣椒的胁迫主要表现在抑制抗氧化酶和 AsA-GSH 循环关键酶活性而造成 ROS 过度积累,添加外源 GSH 一方面可直接清除 ROS,另一方面可显著提高 POD、SOD、CAT、APX、GR、DHAR、MDHAR 和 GPX 酶活性,提高 GSH 循环系统还原态/氧化态比例,两个路径共同作用降低了 $O_2^{\cdot -}$ 的产生速率和 H_2O_2 的含量,缓解了镉对辣椒幼苗的正常生长和光合作用的抑制效应;而添加 GSH 合成抑制剂 BOS 则会逆转上述作用,从反面证明了 GSH 在辣椒响应镉胁迫的过程中起到重要作用。外源 GSH 虽然增加了辣椒幼苗镉的总含量,但未对辣椒的各项生理指标产生副作用,这可能是由于 GSH 与镉离子形成了螯合肽,被转运至细胞外和液泡内,降低了叶绿体内和各个酶活动区域的镉离子浓度,从而缓解了镉对于光合作用和 ROS 清除系统的抑制作用。而在喷施外源 GSH 和 BSO 的条件下,辣椒细胞内重金属螯合肽与活性镉离子的具体变化情况还需要进一步研究。

参考文献:

- [1] Smeets K, Opdenakker K, Remans T, et al. The role of the kinase oxil in cadmium- and copper-induced molecular responses in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell & Environment*, 2013, 36 (6): 1228-1238.
- [2] 鲜靖苹,王勇,马晖玲. 一氧化氮信号途径参与草地早熟禾耐镉机制的研究 [J]. *草地学报*, 2019, 27 (6): 1577-1586.
- [3] 杨颂娟,王秋月,华丽君,等. 镉胁迫对桉树 (*Eucalyptus*) 保护酶活性及相关基因表达的影响 [J]. *分子植物育种*, 2020, 18 (6): 2006-2012.
- [4] 陈能场,郑煜基,何晓峰,等.《全国土壤污染状况调查公报》探析 [J]. *农业环境科学学报*, 2017, 36 (9): 1689-1692.
- [5] Xia Z L, Xu Z W, Wei Y Y, et al. Overexpression of the maize sulfite oxidase increases sulfate and GSH levels and enhances drought tolerance in transgenic tobacco [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 298-308.
- [6] Andr  s K, L  r  nt K, Gyrgy K, et al. Glutathione can compensate for salicylic acid deficiency in tobacco to maintain resistance to tobacco mosaic virus [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10 (9): 1115-1133.
- [7] Qin S, Liu H, Nie Z, et al. AsA-GSH cycle and antioxidant enzymes play important roles in Cd tolerance of wheat [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2018, 101 (5): 2471-2479.
- [8] Vezza M E, Luna D F, Agostini E, et al. Glutathione, a key compound for as accumulation and tolerance in soybean plants treated with AsV and AsIII [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2019, 162: 272-282.
- [9] 蔡仕珍,龙聪颖,邓辉茗,等. 外源 SA、GSH 对 Cd 胁迫下绵毛水苏生理和生长的影响 [J]. *核农学报*, 2021, 35 (1): 211-220.
- [10] 杨志峰,王小宇,崔金霞,等. 低温胁迫下外源 NO 与 GSH 协同作用提高黄瓜幼苗耐冷性 [J]. *植物生理学报*, 2020, 56 (7): 1573-1582.
- [11] Zhou Y, Diao M, Cui J X, et al. Exogenous GSH protects tomatoes against salt stress by modulating photosystem II Efficiency, absorbed light allocation and H_2O_2 -scavengingsystem in chloroplasts [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2018, 17 (10): 2257-2272.
- [12] Sanjari S, Keramat B, Nadernejad N, et al. Ameliorative effects of 24-epibrassinolide and thiamine on excess cadmium-induced oxidative stress in Canola (*Brassica napus* L.) plants [J]. *Journal of Plant Interactions*, 2019, 14 (1): 359-368.
- [13] Chen L, Long C, Wang D, et al. Phytoremediation of cadmium (Cd) and uranium (U) contaminated soils by *Brassica juncea* L. enhanced with exogenous application of plant growth regulators [J]. *Chemosphere*, 2020, 242: 125112-125112.
- [14] Sumira J, Nasser A M, Leonard W, et al. Interactive effect of 24-epibrassinolide and silicon alleviates cadmium stress via the modulation of antioxidant defense and glyoxalase systems and macronutrient content in *Pisum Sativum* L. seedlings [J]. *Bmc Plant Biology*, 2018, 18 (1): 146.
- [15] Murshed R, Lopez-lauri F, Sallanon H. Effect of water stress on antioxidant systems and oxidative parameters in fruits of tomato (*Solanum lycopersicon* L. cv. Micro-tom) [J]. *Physiology & Molecular Biology of Plants*, 2013, 19 (3): 363-378.
- [16] 俞明宏,王力明,刘继,等. 表油菜素内酯对镉胁迫下番茄幼苗生长及镉累积的影响 [J]. *中国土壤与肥料*, 2020 (3): 151-156.
- [17] Semane B, Cuypers A, Smeets K, et al. Cadmium responses in arabidopsis Thaliana: Glutathione metabolism and antioxidative defence system [J]. *Physiologia Plantarum*, 2010, 129 (3): 519-528.
- [18] Mendoza-c  zatl D G, Butko E, Springer F, et al. Identification of high levels of phytochelatin, glutathione and cadmium in the phloem sap of *Brassica napus*: A role for thiol-peptides in the long-distance transport of cadmium and the effect of cadmium on iron translocation [J]. *Plant Journal*, 2008, 54: 249-259.
- [19] Yuan H, Guo Z, Liu Q, et al. Exogenous glutathione increased lead uptake and accumulation in *Iris lactea* var. *chinensis* exposed to excess lead [J]. *International Journal of Phytoremediation*,

- 2018, 20 (11): 1136–1143.
- [20] Nakamura S I, Suzui N, Ito-Tanabata S, et al. Application of glutathione and dithiothreitol to oil seed rape (*Brassica napus* L.) roots affects cadmium distribution in roots and inhibits Cd translocation to shoots [J]. *Soil Science & Plant Nutrition*, 2016, 62 (4): 379–385.
- [21] Cengiz K. Nitrate reductase is required for salicylic acid-induced water stress tolerance of pepper by upraising the AsA–GSH pathway and glyoxalase system [J]. *Physiologia Plantarum*, 2020, 15 (6): 13153–13160.
- [22] 覃勇荣, 汤丰瑜, 严海杰, 等. 重金属胁迫对任豆种子萌发及幼苗抗氧化酶活性的影响 [J]. *种子*, 2017, 36 (10): 31–36.
- [23] Feng J, Chen L C, Zuo J R. Protein S-nitrosylation in plants: current progresses and challenges [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2019, 61 (12): 1206–1223.
- [24] Shan C, Wang B, Sun H, et al. H_2S induces NO in the regulation of AsA–GSH cycle in wheat seedlings by water stress [J]. *Protoplasma*, 2020, 257 (5): 1487–1493.
- [25] Yu H Y, Jing Y, Zhang X L, et al. Comparison of intracellular glutathione and related antioxidant enzymes: Impact of two glycosylated whey hydrolysates [J]. *Process Biochemistry*, 2020, 97 (10): 80–86.
- [26] 王丹. 外源谷胱甘肽对缺硫胁迫下小白菜硫代葡萄糖苷生物合成的影响 [D]. 杭州: 浙江农林大学, 2019.
- [27] Khullar S, Reddy M S. Cadmium induced glutathione bioaccumulation mediated by γ -glutamylcysteine synthetase in ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum* [J]. *Biometals*, 2018, 32 (1): 101–110.
- [28] 段喜华, 唐中华, 郭晓瑞. 植物谷胱甘肽的生物合成及其生物学功能 [J]. *植物研究*, 2010, 30 (1): 98–105.
- [29] Liang Y, Zheng P, Li S, et al. Nitrate reductase-dependent NO production is involved in H_2S -induced nitrate stress tolerance in tomato via activation of antioxidant enzymes [J]. *Scientia Horticulturae*, 2018, 229 (2): 207–214.

Effects of GSH and BSO on physiological characteristics of pepper seedlings under cadmium stress

LEI Yang¹, QIAO Ning¹, MIAO Ru-yi¹, YANG Yu-hua², LIANG Yan-ping¹ (1. College of Horticulture, Shanxi Agriculture University, Taiyuan Shanxi 030031; 2. Center for Agricultural Genetic Resources Research, Shanxi Agricultural University, Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement on Loess Plateau, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Taiyuan Shanxi 030031)

Abstract: In order to explore the physiological role of glutathione (GSH) in pepper response to cadmium stress, the effects of GSH and GSH synthesis inhibitor buthionine sulfoximine (BSO) on various physiological indexes of pepper leaves and roots were determined under cadmium stress. The results showed that 100 $\mu\text{mol/L}$ cadmium ions seriously inhibited the growth of pepper seedlings. Spraying 10 mmol/L GSH under cadmium stress increased the root length, plant height, fresh weight of underground parts and aboveground parts of pepper seedlings, which increased by 22.01%, 6.59%, 39.11% and 26.47%, respectively, compared with Cd-only treatment; The contents of chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoid increased by 82.65%, 51.33% and 32.19%, cadmium content in roots and leaves increased by 11.26% and 33.26% respectively; The activities of superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase, peroxidase, dehydroascorbate reductase, dehydroascorbate reductase, glutathione reductase and glutathione peroxidase in roots increased by 49.63%, 68.15%, 51.60%, 59.72%, 56.78%, 17.48%, 59.53% and 23.27%, respectively; while in leaves increased by 14.22%, 28.11%, 64.86%, 40.47%, 28.02%, 14.30%, 28.60% and 47.46%, respectively; The ratio of reduced state to oxidized state in GSH circulation system increased by 93.78% and 40.32% in leaves and roots, respectively, thus reducing the production rate of superoxide anion and the content of H_2O_2 . Adding BSO, an inhibitor of GSH synthesis, would reverse the above effects. GSH can effectively alleviate the physiological damage of pepper caused by cadmium stress, and then improve the ability of pepper to resist heavy metal stress.

Key words: cadmium stress; glutathione (GSH); buthionine sulfoximine (BSO); pepper; physiological characteristics