

外源一氧化氮对 NaCl 胁迫下黄瓜幼苗生长、 活性氧代谢和光合特性的影响

樊怀福 郭世荣* 焦彦生 张润花 李娟

(南京农业大学园艺学院,南京 210095)

摘要 采用营养液水培的方法,研究了外源一氧化氮(Nitric oxide, NO)对 50mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫下黄瓜幼苗生长、活性氧代谢和光合特性的影响。结果表明:10~400 μmol·L⁻¹ NO 供体硝普钠(Sodium nitroprusside, SNP)能显著缓解 NaCl 胁迫对黄瓜植株造成的伤害,100 μmol·L⁻¹ SNP 缓解效果最好,可提高幼苗的生长量,增强幼苗叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性,提高了叶片叶绿素和脯氨酸(Pro)含量、净光合速率(*P_n*)、蒸腾速率(*Tr*)及气孔导度(*G_s*),降低了叶片丙二醛(MDA)和过氧化氢(H₂O₂)的含量、超氧阴离子(O₂⁻)的产生速率、质膜透性和胞间二氧化碳浓度(*C_i*)。

关键词 一氧化氮; NaCl 胁迫; 黄瓜幼苗; 活性氧; 光合作用

文章编号:1000-0933(2007)02-0546-08 中图分类号:Q142,Q948,S314 文献标识码:A

The effects of exogenous nitric oxide on growth, active oxygen metabolism and photosynthetic characteristics in cucumber seedlings under NaCl stress

FAN Huai-Fu, GUO Shi-Rong*, JIAO Yan-Sheng, ZHANG Run-Hua, Li Juan

College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

Acta Ecologica Sinica 2007, 27(2): 546-553.

Abstract: The study was conducted in nutrient solution to investigate the effects of exogenous nitric oxide (NO) on growth of cucumber seedlings, active oxygen metabolism and photosynthetic characteristics in cucumber leaves under 50mmol·L⁻¹ NaCl stress. The results showed that 10-400 μmol·L⁻¹ exogenous sodium nitroprusside (SNP), a nitric oxide donor, especially 100 μmol·L⁻¹ SNP, significantly alleviated the injury to seedlings and increased seedling growth, activity of SOD, POD, CAT, APX, the content of photosynthetic pigment and proline under 50mmol·L⁻¹ NaCl stress. Similarly, net photosynthetic rate (*P_n*), stomatal conductance (*G_s*) and transpiration rate (*Tr*) were also increased significantly. However, exogenous nitric oxide markedly decreased membrane permeability, rate of O₂⁻ production, the content of MDA and H₂O₂, intercellular CO₂ concentration (*C_i*) under 50mmol·L⁻¹ NaCl stress.

Key Words: nitric oxide; NaCl stress; cucumber seedling; active oxygen; photosynthesis

基金项目:江苏省农业三项工程资助项目(SX(2005)088);国家教育部博士点科研基金资助项目(20050307031)

收稿日期:2005-12-19;修订日期:2006-05-30

作者简介:樊怀福(1979~),男,山东济宁人,博士生,主要从事蔬菜生理生态研究。E-mail:wwghff@126.com

*通讯作者 Corresponding author. E-mail: srguo@njau.edu.cn

Foundation item: This work was financially supported by Three Engineering Projects of Agriculture of Jiangsu Province (No. SX(2005)088); The Scientific Research Foundation of Ph. D. Programs, China (No. 20050307031)

Received date 2005-12-19; **Accepted date** 2006-05-30

Biography: FNA Huai-Fu, Ph. D. candidate, mainly engaged in ecology and physiology of vegetable. E-mail: wwghff@126.com

盐害是目前影响植物生产的主要因素之一^[1]。据报道,在世界范围内,近 $2.3 \times 10^9 \text{ hm}^2$ 灌溉土地的 1/3 受到盐分胁迫,我国有 $2.001 \times 10^7 \text{ hm}^2$ 盐荒地和 $6.67 \times 10^6 \text{ hm}^2$ 盐渍化耕地,约占可耕地面积的 25%。过量的灌溉及降雨的缺乏也加剧了盐化程度,使土壤盐渍化面积逐年增加。随着园艺作物设施栽培面积的日益扩大,温室土壤的次生盐渍化也已成为国内外设施栽培中普遍存在的问题^[2]。

NO 是生物体中一种重要的氧化还原信号分子和毒性分子,也是一种活性氮 (reactive nitrogen species, RNS)。在植物体内主要通过一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS) 和硝酸还原酶 (nitrate reductase, NR) 催化形成^[3,4]。NO 对植物的作用具有双重性,其具体表现视其浓度、作用部位及细胞的生理条件不同而异。一方面,可以通过与有效分子反应而直接起作用或者通过改变细胞氧化还原电位差而间接起作用,参与植物的生长发育和对环境适应的信号转导过程;另一方面,高浓度 NO 与 O_2^- 相互作用生成大量的过氧亚硝酸阴离子,后者经质子化形成具有强氧化性的过氧亚硝酸,破坏生物大分子的结构与功能^[5]。

研究表明,NO 广泛存在于植物组织中^[6],并参与植物呼吸作用^[7]、光形态建成^[8]、种子萌发^[9]、衰老^[10]、对胁迫的响应^[6]、细胞程序性死亡 (programmed cell death, PCD)^[11] 以及抗病防御反应^[12-14] 等过程,但 NO 在这些生理过程中的作用机理基本上还是一片空白^[5]。研究发现,外源 NO 能缓解马铃薯由喷施草甘膦和百草枯两种除草剂引起的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 介导的氧化伤害^[6];低浓度的 NO 预处理能延缓水稻在盐胁迫和高温胁迫下叶片叶绿素的降解、维持光系统 II 的高活性等^[7];NO 能有效缓解盐胁迫引起的小麦根尖细胞的氧化损伤^[8];NO 能通过提高盐胁迫下芦苇愈伤组织中质膜 H^+ -ATPase 的表达和活性,进而提高组织中 K^+/Na^+ 而提高抗盐性^[9]。但 NO 对于 NaCl 胁迫下黄瓜生长影响及其机理未见相关报道,本文研究了外源 NO 对 NaCl 胁迫下黄瓜幼苗生长抑制的缓解作用,并初步探讨相关生理机制。

1 材料与方法

1.1 试材与处理

试验于 2005 年 9 月至 11 月在南京农业大学玻璃温室内进行。以黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 品种 '改良津春 2 号' 为材料。种子在 28°C 恒温箱催芽 30h 后,播入装有石英砂的穴盘中育苗,昼温 $25 \sim 30^\circ\text{C}$,夜温 $16 \sim 20^\circ\text{C}$,自然光照。在幼苗第 2 片真叶展开时,选整齐一致的幼苗移入 20L 塑料周转箱中进行水培,每小时通气 40min,营养液为山崎黄瓜专用配方,预培养 3d 后用 NaCl ($50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 处理,同时在营养液中加入 NO 供体亚硝酸钠 (Sodium nitroprusside, SNP) 处理,SNP 浓度设定 10、25、50、100、200、 $400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 等 6 个浓度,以单纯 NaCl 胁迫和正常营养液植株为对照,处理 8d 后测量幼苗各项生长指标,相关生理指标和光合参数测定设:正常营养液栽培 (CK)、 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫 (NaCl)、 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫 + $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 亚硝酸钠 (NaNO_2) ($\text{NaCl} + \text{NaNO}_2$)、 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫 + $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SNP ($\text{NaCl} + \text{SNP}$) 等 4 个处理。因 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SNP 最多能降解生成 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NO_2^- 副产物,所以设了 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 亚硝酸钠 (NaNO_2) 处理作为其对照,处理后第 0、2、4、6、8 天取生长点下第 2 片展开叶进行各项生理指标的测定,处理 8d 后测定幼苗叶片的光合色素和光合参数。为了保证处理浓度的稳定性,处理期间 2d 更换 1 次营养液。实验设 3 次重复。

1.2 测定方法

株高 (茎基部到生长点),用直尺测量;茎粗 (茎基部):用游标卡尺测量;鲜重、干重:鲜样先用自来水冲洗 2~3 次,再用蒸馏水冲洗 2 次,用吸水纸吸干后称量鲜重, 105°C 杀青 15min, 75°C 烘干至恒重,称干重。

采用丙酮乙醇混合液法测定叶绿素 a (chl a)、叶绿素 b (chl b) 和类胡萝卜素 (car) 含量^[20]。

超氧化物歧化酶 (SOD) 活性采用 Giannopolitis 和 Ries^[21] 方法测定,过氧化物酶 (POD) 活性按曾韶西等^[22] 的方法测定,过氧化氢酶 (CAT) 活性采用 Dhindsa 等^[23] 方法测定,抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 采用 Nakano 和 Asada^[24] 的方法测定,丙二醛 (MDA) 采用硫代巴比妥酸法测定^[25],质膜透性采用相对电导率法^[26] 测定,超氧阴离子 (O_2^-) 产生速率按照王爱国和罗广华^[27] 的方法测定, H_2O_2 含量采用 Uchida 等^[28] 的方法测定,脯氨酸 (Pro) 采用水合茚三酮法测定^[29]。

用便携式光合速率测定仪 (Li-Cor 6400 型,美国 Li-Cor 公司) 测定生长点下第 2 片展开叶的净光合速率

(P_n)、气孔导度 (G_s)、胞间二氧化碳浓度 (C_i)、蒸腾速率 (Tr),测定条件为:光量子通量密度为 $800 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, CO_2 气体采自相对稳定的 3~4m 的空中,叶室温度为 25°C 。

所有数据用 SAS 软件进行单因素方差分析,并对平均数用 Duncan's 新复极差法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 外源 NO 对 NaCl 胁迫下幼苗生长的影响

由表 1 可知,在 $50\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaCl 胁迫条件下 8d 后,黄瓜幼苗的株高、茎粗、鲜重、干重明显下降,与正常生长差异显著,NaCl 处理明显抑制了黄瓜幼苗的生长。而外施 $10\sim 400\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP 能够不同程度的缓解 NaCl 对黄瓜幼苗生长的抑制, $50\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上的 SNP 处理效果差异达显著水平,株高、茎粗、鲜重和干重显著增加,其中 $100\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP 的处理效果最好。故选用 $100\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP 作为以下实验 NO 的处理浓度。

表 1 外源 NO 对 NaCl 胁迫下黄瓜幼苗生长的影响

Table 1 Effects of exogenous nitric oxide on the plant growth of cucumber seedlings under NaCl stress

处理 Treatment	株高 Plant height (cm)	茎粗 Stem thickness (mm)	鲜重 Fresh weight (g/plant)	干重 Dry weight (g/plant)
NaCl	14.94 ± 0.99e	4.77 ± 0.18d	19.56 ± 0.76e	1.54 ± 0.06e
NaCl + $10\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP	18.41 ± 1.34d	4.98 ± 0.08cd	22.69 ± 1.20de	1.90 ± 0.10d
NaCl + $25\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP	19.68 ± 0.83cd	4.96 ± 0.07cd	23.29 ± 1.09de	2.00 ± 0.14cd
NaCl + $50\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP	20.38 ± 0.82bcd	5.13 ± 0.17bcd	25.03 ± 1.76cd	2.00 ± 0.14cd
NaCl + $100\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP	23.00 ± 0.73b	5.49 ± 0.14ab	31.17 ± 0.94b	2.42 ± 0.07b
NaCl + $200\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP	22.05 ± 1.02bc	5.32 ± 0.15bc	27.70 ± 1.63bc	2.24 ± 0.13bc
NaCl + $400\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP	20.54 ± 0.80bcd	5.26 ± 0.22bc	26.64 ± 1.93cd	2.17 ± 0.15bcd
CK	29.03 ± 1.04a	5.91 ± 0.15a	43.00 ± 1.23a	2.80 ± 0.11a

同列数值不同字母表示差异达 5% 显著水平,下同 Different letters within the same column indicate significant difference at 5% level; the same below

2.2 外源 NO 对 NaCl 胁迫下叶片抗氧化系统的影响

从图 1 可以看出,黄瓜幼苗在遭受 NaCl 胁迫后 0~8d 内, SOD、POD、CAT、APX 活性均高于对照,外源 NO 处理进一步提高了它们的活性,NaNO₂ 处理没有显著影响。黄瓜幼苗在遭受 NaCl 胁迫后,叶片 SOD 活性明显升高,在处理的第 6 天达到最大值(图 1A),外源 NO 处理幼苗的 SOD 活性显著高于单独 NaCl 处理,且在胁迫的 0~8d 内, SOD 活性一直是升高的。在处理的第 2、4、8 天与 NaCl 胁迫差异显著,第 8 天时差别最大,分别为单独 NaCl 处理和对照的 149.35% 和 224.57%。

经 $50\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaCl 处理后, POD 的活性一直是上升, SNP 处理 POD 的活性始终高于单独 NaCl 处理,且在第 4、6、8 天与单独 NaCl 处理差异达显著水平(图 1B)。

由图 1C 可知, CAT 活性在 NaCl 胁迫初期缓慢升高, 4d 后迅速增加,第 6 天时达到最大值。SNP 处理 2d 后叶片 CAT 活性就显著高于 NaCl 处理,第 8 天时为对照的 188.35%,为单独 NaCl 处理的 157.90%,差异显著。

APX 活性在 NaCl 胁迫条件下升高,并呈现出先上升后下降的趋势,在胁迫后第 4 天达到最大值,结合 SNP 处理在第 2 天就有明显上升,以后其活性也一直高于单独 NaCl 处理,两处理间有显著性差异(图 1D)。

2.3 外源 NO 对质膜透性、 O_2^- 产生速率、MDA 和 H_2O_2 含量的影响

在 NaCl 胁迫条件下,黄瓜幼苗的质膜透性增加,电解质大量外渗,胁迫 2d 时,膜透性有所增加,4d 后迅速增加,随后增加缓慢。在胁迫 6d、8d 时 SNP 处理和单独 NaCl 处理分别为对照的 153%、200% 和 200%、231%,两处理间差异显著(图 2A)。说明外源 NO 显著降低了黄瓜幼苗叶片的质膜透性,使细胞膜的离子渗漏减少,保护了细胞结构的完整性。

NaCl 胁迫后, O_2^- 的产生速率增加,在 6d 时最大,结合 SNP 处理后, O_2^- 的产生速率明显减小,在胁迫 8d 后, SNP 处理组 O_2^- 的产生速率下降到与对照相同的水平,而单独 NaCl 处理仍然显著高于对照(图 2B)。

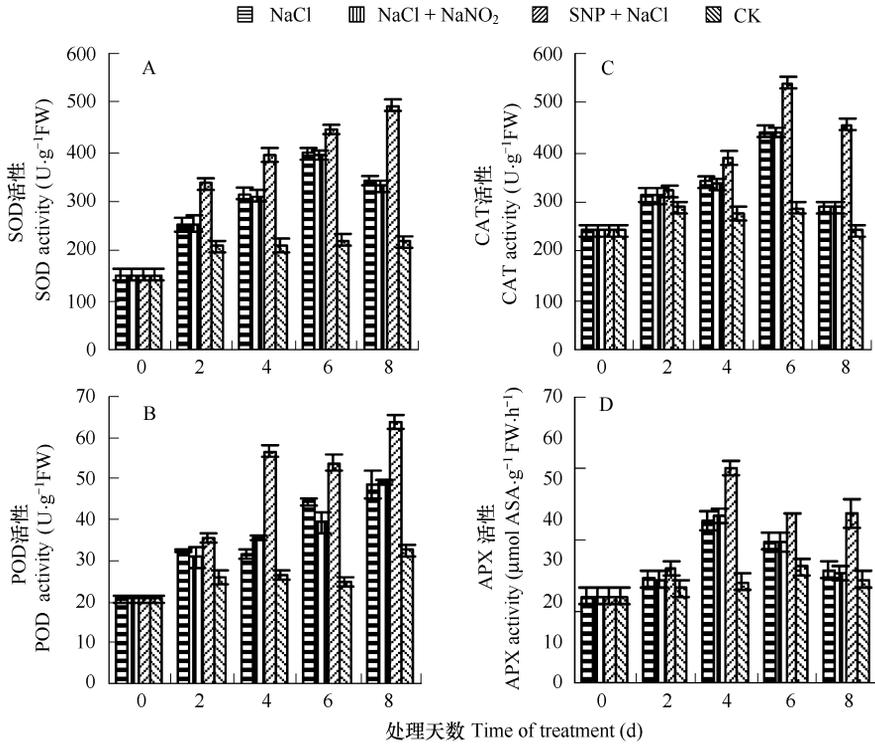


图1 外源 NO 对 NaCl 胁迫下黄瓜幼苗叶片抗氧化酶活性的影响

Fig. 1 Effects of exogenous nitric oxide on activity of SOD (A), POD (B), CAT (C) and APX (D) in leaves of cucumber seedlings under NaCl stress

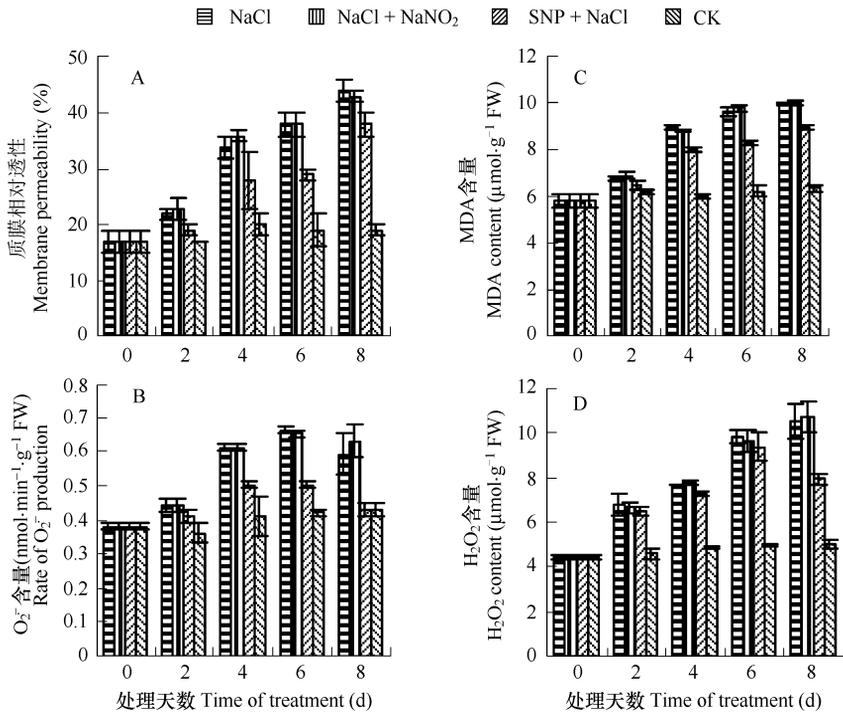


图2 外源 NO 对 NaCl 胁迫下黄瓜幼苗叶片质膜透性 (A)、O₂⁻ 产生速率 (B)、MDA (C) 和 H₂O₂ (D) 含量的影响

Fig. 2 Effects of exogenous nitric oxide on membrane permeability (A), rate of O₂⁻ production (B), the content of MDA (C) and H₂O₂ (D) in leaves of cucumber seedlings under NaCl stress

NaCl 胁迫后,MDA 含量随着时间的延长而增加,说明细胞已经受到伤害,用 SNP 处理黄瓜幼苗根部显著缓解了叶片 MDA 的积累(图 2C)表明 NO 可以缓解由于 NaCl 胁迫造成的膜脂过氧化作用。

与正常生长的黄瓜幼苗相比较,在 NaCl 胁迫后,叶片 H_2O_2 含量显著增加,并且随处理时间的延长而上升,胁迫初期增加较缓,胁迫 4d 后迅速增加,SNP 处理则明显缓解了 H_2O_2 的积累,在胁迫 8d 时,SNP 处理 H_2O_2 含量为对照的 1.58 倍,而纯 NaCl 处理为对照的 2.09 倍(图 2D)。NaCl 胁迫下添加 $NaNO_2$ 处理对质膜透性、 O_2^- 产生速率、MDA 和 H_2O_2 含量均无显著影响。

2.4 外源 NO 对 NaCl 胁迫下叶片 Pro 含量的影响

Pro 是植物体内一种重要的渗透调节物质和抗氧化物质。NaCl 胁迫处理 2d 后,叶片内 Pro 含量明显增加,以后持续增加,与正常栽培的黄瓜幼苗间有显著性差异,结合 SNP 处理后,进一步促进了 Pro 的积累,在胁迫 8d 后,SNP 处理的 Pro 含量为纯 NaCl 处理的 112%,两处理间有显著性差异。正常栽培的黄瓜幼苗叶片的 Pro 含量一直维持在较低水平。 $NaNO_2$ + NaCl 处理与单独 NaCl 处理叶片中 Pro 含量水平基本相当(图 3)。

2.5 外源 NO 对 NaCl 胁迫下叶片光合色素和光合参数的影响

由表 2 可知,在 NaCl 胁迫下 8d 后,叶片内 chl_a、chl_b、car、chl_a + chl_b 含量均显著低于对照;外源 NO 处理显著提高了各种光合色素的含量,显著高于对照和 NaCl 处理;而 $NaNO_2$ 处理对光合色素含量无显著影响。

胁迫 8d 后,与对照相比较,NaCl 胁迫条件下黄瓜幼苗的 P_n 、 G_s 、 Tr 显著降低, C_i 显著增加,而经 SNP 处理后,缓解了由于遭受胁迫造成的 P_n 的下降, G_s 和 Tr 也显著增加, C_i 显著下降,而 $NaNO_2$ 处理光合参数变化与单独 NaCl 处理基本相同(表 3)。

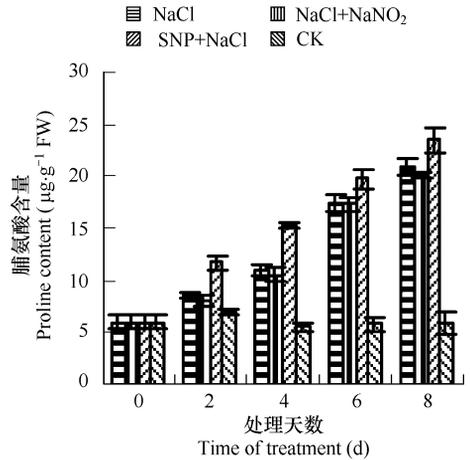


图 3 外源 NO 对 NaCl 胁迫下黄瓜幼苗叶片 Pro 含量的影响
Fig.3 Effects of exogenous nitric oxide on Pro content in leaves of cucumber seedlings under NaCl stress

表 2 外源 NO 对 NaCl 胁迫下黄瓜幼苗叶片光合色素的影响

Table 2 Effects of exogenous nitric oxide on photosynthetic pigment content in leaves of cucumber seedlings under NaCl stress

处理 Treatment	叶绿素 a chl _a (mg·g ⁻¹ FW)	叶绿素 b chl _b (mg·g ⁻¹ FW)	类胡萝卜素 Car (mg·g ⁻¹ FW)	叶绿素总量 chl _a + chl _b (mg·g ⁻¹ FW)
NaCl	1.12 ± 0.02c	0.34 ± 0.02c	0.86 ± 0.04c	1.46 ± 0.04c
NaCl + NaNO ₂	1.19 ± 0.08c	0.37 ± 0.02bc	0.89 ± 0.06c	1.56 ± 0.10c
SNP + NaCl	1.56 ± 0.04a	0.49 ± 0.02a	1.19 ± 0.02a	2.05 ± 0.05a
CK	1.35 ± 0.02b	0.42 ± 0.01b	1.03 ± 0.01b	1.77 ± 0.02b

表 3 外源 NO 对 NaCl 胁迫下黄瓜幼苗叶片光合参数的影响

Table 3 Effects of exogenous nitric oxide on photosynthetic indexes in leaves of cucumber seedlings under NaCl stress

处理 Treatment	净光合速率 Net photosynthetic rate (µmol·m ⁻² ·s ⁻¹)	气孔导度 Stomatal conductance (µmol·m ⁻² ·s ⁻¹)	胞间 CO ₂ 浓度 Intercellular CO ₂ concentration (µL·L ⁻¹)	蒸腾速率 Transpiration rate (µmol·m ⁻² ·s ⁻¹)
NaCl	5.81 ± 0.18c	0.16 ± 0.02c	311.67 ± 8.21a	1.67 ± 0.13c
NaCl + NaNO ₂	6.05 ± 0.43c	0.17 ± 0.03c	313.33 ± 18.37a	1.72 ± 0.19c
SNP + NaCl	10.87 ± 0.72b	0.27 ± 0.02b	288.67 ± 10.89b	2.50 ± 0.16b
CK	15.20 ± 0.12a	0.59 ± 0.01a	268.00 ± 10.58c	3.73 ± 0.01a

3 讨论

盐胁迫对植物的伤害是多方面的。它可以打破养分平衡,抑制营养元素的吸收和运转,改变植物细胞内离子的浓度和种类,导致膜完整性和某些酶功能的降低等。其中膜系统、尤其是细胞质膜是盐胁迫对植物伤害的最敏感部位和原初位点^[50]。自由基学说认为,盐逆境首先引起植物离子失衡和高渗胁迫,如各种 ROS 的积累,导致膜结构完整性的破坏,叶绿素降解、蛋白质变性、核酸断裂,甚至细胞死亡^[51]。

NO 是植物体中广泛存在的一种正常代谢物或副产物,也是一种重要的信使分子。其生理效应往往与其对 ROS 代谢的调控有关,并涉及有关的信号转导^[52,53]。细胞中 ROS 水平的提高可以诱发脂质过氧化作用,从而导致细胞完整性的破坏。本研究结果表明,100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SNP 处理能明显减轻 50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 对黄瓜幼苗生长的抑制,株高、茎粗、鲜重和干重明显增加,这与 NO 可通过质外体直接作用于细胞壁组分,使细胞壁松弛,以及 NO 作用于膜的磷脂双分子层,增强膜的流动性,从而促进细胞扩展、植株生长有关^[54];SNP 处理不同程度地提高了黄瓜幼苗叶片抗氧化酶的活性,显著降低 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率、细胞膜的离子渗漏、 H_2O_2 和 MDA 的含量,而其主要副产物 NO_2^- 没有这种效果。SOD 是一种诱导酶,受底物的诱导,NaCl 胁迫促进 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 生成,诱导 SOD 活性明显升高。外源 NO 处理后,SOD 活性明显增加,说明对 NaCl 胁迫具有明显的缓解作用,SOD 歧化 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生 H_2O_2 ,因此 SOD 活性增加会伴随 H_2O_2 含量的增加,NaCl 胁迫后,POD、CAT、APX 等清除和分解 H_2O_2 的酶活性增加缓慢、增加幅度小(如 POD、APX 活性)或短时间内增加后又下降,而 NO 对 SOD、POD、CAT、APX 活性均有明显的促进作用,进而提高了清除自由基防御系统的防御能力,从而缓解了 NaCl 胁迫对黄瓜幼苗的氧化伤害作用,质膜透性降低,MDA 含量下降。NO 对植物内源 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 水平的调节另一种可能是 NO 直接与 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 反应从而起清除作用^[51,55]。外源 NO 提高保护酶活性,主要原因在于 NO 对含铁的相关酶类有很高的亲和性,例如,NO 可以通过调节 CAT、APX 和细胞色素 c 氧化酶(cytochrome c oxidase, COX)等含血红素铁的酶类活性以及抑制含非血红素铁的顺乌头酸酶等靶酶的活性来参与植物体内一系列抗性生理反应^[56]。SOD、POD、CAT、APX 活性的提高,降低了导致膜脂过氧化的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 等 ROS 的大量生成,也使得细胞的渗透调节能力和耐盐能力的提高成为可能^[51]。外源 NO 降低了细胞膜的相对透性,缓和了膜相变化,缓解了膜透性的增大,可防止离子渗漏,说明外源 NO 对细胞膜具有良好的修复和保护作用,可以减轻细胞膜系统的伤害。

Pro 不仅可作为渗透调节物质,还可以清除 ROS,提高抗氧化能力,稳定生物大分子的结构,降低细胞酸性以及解除氨毒等^[57]。外源 NO 能促进低温胁迫下黑麦草 Pro 的积累,提高抗冷性^[58],阮海华等^[59]报道了 NO 可通过提高盐胁迫下小麦叶片中的 Pro 含量,增强耐盐性。本实验结果也表明外源 NO 能促进 NaCl 胁迫下黄瓜幼苗 Pro 的积累。因此,外源 NO 促进 Pro 的积累可能是缓解 NaCl 胁迫下黄瓜幼苗伤害的另一重要原因。

蒋明义等^[60]证实渗透胁迫下叶绿素的降解主要由活性氧的氧化损伤引起,而质膜电解质外渗的增加与脂质过氧化速率呈显著正相关。本研究中外源 NO 提高了 NaCl 胁迫下叶绿素含量和抗氧化酶的活性,降低了电解质渗漏,从而缓解了盐胁迫对黄瓜幼苗带来的损伤。NO 能够提高叶绿素含量的具体原因可能是激活了叶绿素生物合成过程中的某些酶类,关于这一点,还有待于进一步研究。

盐胁迫条件下,植物的光合作用会受到明显的影响^[1],而维持光合功能是植物耐盐的重要机理之一^[61]。本实验结果表明,在 50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫下,黄瓜幼苗的 P_n 明显下降、 G_s 显著降低、 C_i 显著升高,即 P_n 下降的主要原因是叶肉细胞的光合活性降低所致;外源 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SNP 显著提高了 NaCl 胁迫下黄瓜幼苗的 P_n 、 T_r 和 G_s ,而 C_i 显著下降,说明 SNP 显著缓解了 NaCl 胁迫造成的叶肉细胞光合活性的下降,NO 使叶绿素含量增加,使植株的 P_n 提高。较高的 G_s 说明具有较高的光合底物传导能力,为叶片同化更多的光合产物提供了生理基础; T_r 的提高增强了植株吸水及运输的动力,有利于植株光合作用的进行和抗盐性的提高。

References :

[1] Parida A K, Das A B. Salt tolerance and salinity effects on plants : a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2005, 60: 324 - 349.

- [2] Wei G Q, Zhu Z J, Fang X Z, *et al.* The effects of NaCl stress on growth, chlorophyll fluorescence characteristics and active oxygen metabolism in seedlings of two cucumber cultivars. *Scientia Agricultura Sinica*, 2004, 37 (11) :1754 – 1759.
- [3] Wendehenne D, Pugin A, Klessig D F. Nitric oxide :comparative synthesis and signaling in animal and plant cells. *Trend Plant Sci*, 2001, 6 (4) : 177 – 183.
- [4] Yamasaki H, Shaniiohi S Y, Takahashi S. An alternative pathway for nitric oxide production in plant : new feature of an old enzyme. *Trends plant Sci*, 1999, 6 (4) :177 – 183.
- [5] Zhang Y Y, Liu Y L. Source and function of nitric oxide in plants. *Acta Bot Boreal Occident Sin*, 2004, 24 (5) :921 – 929.
- [6] Ruan H H, Shen W B, Xu L L. Nitric oxide modulates the activities of plasma membrane ATPase and PPase in wheat seedling roots and promotes the salt tolerance against salt stress. *Acta Bot Sin*, 2004, 46 (4) :415 – 422.
- [7] Millar A H, Day D A. Nitric oxide inhibits the cytochrome oxidase but not the alternative oxidase of plant mitochondria. *FEBS*, 1996, 398 :155 – 158.
- [8] Beligni M V, Lamattina L. Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three light-inducible responses in plants. *Planta*, 2000, 210 :215 – 221.
- [9] Giba Z, Grubisic D, Todorovic S, *et al.* Effect of nitric oxide releasing compounds on phytochrome-controlled germination of empress tree seeds. *Plant Growth Regul*, 1998, 26 :175 – 181.
- [10] Leshem Y Y, Wills R B H, Ku V V V. Evidence for the function of the free radical gas-nitric oxide (NO) as an endogenous maturation and senescence regulating factor in higher plant. *Plant Physiol Biochem*, 1998, 36 :825 – 833.
- [11] Beligni M V, Fath A, Bethake P C, *et al.* Nitric oxide acts as an antioxidant and delays programmed cell death in barley aleurone layers. *Plant Physiol*, 2002, 129 :1642 – 1650.
- [12] Durner J, Wendehenne D, Klessig D F. Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP, and cyclic ADP-ribose. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95 :10328 – 10333.
- [13] Van Camp W, Van Montagu M, Inze D. H₂O₂ and NO :redox signals in disease resistance. *Trends Plant Sci*, 1998, 3 :330 – 334.
- [14] Chandok M R, Ytterberg A J, Van Wijk K J, *et al.* The pathogen-inducible nitric oxide synthase (iNOS) in plant is a variant of the P protein of the glycine decarboxylase complex. *Cell*, 2003, 113 (4) :469 – 482.
- [15] Liu P C, Wang H, Cheng J Q, *et al.* Regulation of nitric oxide on drought-induced membrane lipid peroxidation in wheat leaves. *Acta Bot Boreal Occident Sin*, 2004, 24 (1) :141 – 145.
- [16] Beligni M V, Lamattina L. Nitric oxide protects against cellular damage produced by methylviologen herbicides in potato plants. *Nitric Oxide*, 1999, 3 (3) :199 – 208.
- [17] Akio U, Andre T J, Takashi H, *et al.* Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. *Plant Sci*, 2002, 163 :515 – 523.
- [18] Chen M, Shen W B, Ruan H H, *et al.* Effects of nitric oxide on root growth and its oxidative damage in wheat seedling under salt stress. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2004, 30 (5) :569 – 576.
- [19] Zhao L Q, Zhang F, Guo J K, *et al.* Nitric oxide functions as a signal in salt resistance in the calluses from two ecotypes of reed. *Plant Physiol*, 2004, 134 :849 – 857.
- [20] Yu B J, Li S N, Liu Y L. Comparison of ion effects of salt injury in soybean seedlings. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2002, 25 (1) : 5 – 9.
- [21] Giannopolitis C N, Ries S K. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedling. *Plant Physiol*, 1977, 59 :315 – 318.
- [22] Zeng S X, Wang Y R, Li M R. Comparison of changes of membrane protective system in rice seedlings during enhancement of chilling resistance by different stress pretreatment. *Acta Botanica Sinica*, 1997, 39 (4) :308 – 314.
- [23] Dhindsa R S, Plumb-Dhindsa P, Thorpe T A. Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of ascorbate and catalase. *J Exp Bot*, 1982, 32 :91 – 101.
- [24] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol*, 1981, 22 :867 – 880.
- [25] Heath R L, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochem Biophys*, 1986, 125 :189 – 198.
- [26] Scotti C, Thu P T. Effect of abscisic pretreatment on membrane leakage and lipid composition of *Vigna unguiculata* leaf discs subjected to osmotic stress. *Plant Sci*, 1997, 130 :11 – 18.
- [27] Wang A G, Luo G H. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plant, *Plant Physiol Commun*, 1990, 26 (6) :55 – 57.

- [28] Uchida A, Andre T J, Takashi H. Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. *Plant Sci*, 2002, 163 : 515 - 523.
- [29] Zhao F G, Liu Y L. The biosynthesis of polyamines is more sensitive than that of proline to salt stress in barley seedlings. *Acta Phytophysiolgica Sin*, 2000, 26 (4) : 243 - 349.
- [30] Liu K L, Han H R, Xu Y J, *et al.* Exogenous nitric oxide alleviates salt stress-induced membrane lipid peroxidation in rice seedling roots. *Chinese J Rice Sci*, 2005, 19 (4) : 333 - 337.
- [31] Zhu J K. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Physiol Mol Biol*, 2002, 53 : 247 - 273.
- [32] Delledonne M, Xia Y J, Dixon R A. Nitric oxide function as a signal in plant disease resistance. *Nature*, 1998, 394 (6693) : 585 - 588.
- [33] Garcia-Mata C, Lamattina L. Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant response against drought stress. *Plant Physiol*, 2001, 126 : 1196 - 1204.
- [34] Leshem Y Y, Hamaraty E. Plant aging : the emission of NO and ethylene and effect of NO-releasing compounds on growth of pea (*Pisum sativum*) foliage. *J Plant Physiol*, 1996, 148 : 258 - 263.
- [35] Beligni M V, Lamattina L. Is nitric oxide toxic or protective ? *Trends Plant Sci*, 1999, 4 (8) : 299 - 300.
- [36] Wang X Y, Shen W B, Xu L L. Exogenous nitric oxide alleviates osmotic stress-induced membrane lipid peroxidation in wheat seedling leaves. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2004, 30 (2) : 195 - 200.
- [37] Hou C X, Tang Z C. Function and mechanism of compatible solutes. *Plant Physiology Communications*, 1999, 35 (1) : 1 - 7.
- [38] Ma X L, Wei X H, Long R J, *et al.* Studies on mechanism of enhancing the chilling resistance of annual ryegrass by exogenous nitric oxide. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25 (6) : 1269 - 1274.
- [39] Ruan H H, Shen W B, Ye M B, *et al.* Protective effects of nitric oxide on salt stress-induced oxidative damage to wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. *Chin Sci Bull*, 2001, 46 (23) : 1993 - 1997.
- [40] Jiang M Y, Yang W Y, Xu J, *et al.* Active oxygen damage effect of chlorophyll degradation in rice seedlings under osmotic stress. *Acta Bot Sin*, 1994, 36 (4) : 289 - 295.
- [41] Liu Y L, Wang L J, Responses to salt stress in plants and its salt tolerance. In : Yu S W, Tang Z C eds. *Plant Physiology and Molecular Biology*, Beijing : Science Press, 1998, 752 - 769.

参考文献 :

- [2] 魏国强, 朱祝军, 方学智, 等. NaCl 胁迫对不同品种黄瓜幼苗生长、叶绿素荧光特性和活性氧代谢的影响. *中国农业科学*, 2004, 37 (11) : 1754 - 1759.
- [15] 刘鹏程, 王辉, 程佳强, 等. NO 对小麦叶片干旱诱导膜脂过氧化的调节效应. *西北植物学报*, 2004, 24 (1) : 141 - 145.
- [18] 陈明, 沈文飏, 阮海华, 等. 一氧化氮对盐胁迫下小麦幼苗根生长和氧化损伤的影响. *植物生理与分子生物学报*, 2004, 30 (5) : 569 - 576.
- [20] 於丙军, 李锁娜, 刘友良. 大豆苗期盐害离子效应的研究. *南京农业大学学报*, 2002, 25 (1) : 5 - 9.
- [22] 曾韶西, 王以柔, 李美如. 不同胁迫预处理提高水稻幼苗抗寒期间膜保护系统变化比较. *植物学报*, 1997, 39 (4) : 308 - 314.
- [27] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧自由基与羟胺反应的定量关系. *植物生理学通讯*, 1990, 26 (6) : 55 - 57.
- [29] 赵福庚, 刘友良. 大麦幼苗多胺合成比脯氨酸合成对盐胁迫更敏感. *植物生理学报*, 2000, 26 (4) : 243 - 349.
- [30] 刘开力, 韩航如, 徐颖洁, 等. 外源一氧化氮对水稻根部脂质过氧化的缓解作用. *中国水稻科学*, 2005, 19 (4) : 333 - 337.
- [36] 王宪叶, 沈文飏, 徐朗莱. 外源 NO 对渗透胁迫下小麦幼苗叶片膜脂过氧化缓解作用. *植物生理与分子生物学报*, 2004, 30 (2) : 195 - 200.
- [37] 侯彩霞, 汤章城. 细胞相溶性物质的生理功能及其作用机制. *植物生理学通讯*, 1999, 35 (1) : 1 - 7.
- [38] 马向丽, 魏小红, 龙瑞军, 等. 外源一氧化氮提高一年生黑麦草抗冷性机制. *生态学报*, 2005, 25 (6) : 1269 - 1274.
- [39] 阮海华, 沈文飏, 叶茂炳, 等. 一氧化氮对盐胁迫下小麦叶片氧化损伤的保护效应. *科学通报*, 2001, 46 (23) : 1993 - 1997.
- [40] 蒋明义, 杨文英, 徐江, 等. 渗透胁迫下水稻幼苗中叶绿素降解的活性氧损伤作用. *植物学报*, 1994, 36 (4) : 289 - 295.
- [41] 刘友良, 汪良驹. 植物对盐胁迫的反应和耐盐性. 见余叔文, 汤章城主编. *植物生理与分子生物学*, 北京 : 科学出版社, 1998, 752 - 769.