

外源一氧化氮对盐胁迫下黑麦草幼苗生长及生理特性的影响

孙立荣¹, 郝福顺^{1,*}, 吕建洲², 吕鹏飞¹, 赵世领¹

(1. 河南大学植物逆境生物学重点实验室, 生命科学学院, 开封 475004; 2. 辽宁师范大学生命科学学院, 大连 116029)

摘要:研究了外源一氧化氮(nitric oxide, NO)对盐胁迫下多年生黑麦草幼苗生长及相关生理指标变化的影响。结果表明, 与对照相比, 50 ~ 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NO 供体硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)可缓解盐胁迫对黑麦草幼苗生长的抑制作用, 其中 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SNP 缓解作用最强。外施 SNP 显著缓解了盐胁迫导致的叶片相对电导率、 K^+ 与 Na^+ 比率、丙二醛含量和活性氧水平的增加, 提高了盐胁迫下幼苗叶子中脯氨酸含量和超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、抗坏血酸过氧化物酶和过氧化物酶等抗氧化酶的活性。这些结果说明, NO 可能通过降低细胞吸收 Na^+ 的量、增加细胞吸收 K^+ 的量和脯氨酸含量以及激活抗氧化保护酶等减轻了盐对黑麦草的伤害, 提高了黑麦草的抗盐性。

关键词:一氧化氮; 盐胁迫; 多年生黑麦草; 活性氧; 抗氧化酶

文章编号: 1000-0933(2008)11-5714-09 中图分类号: Q142 文献标识码: A

Effects of exogenous nitric oxide on growth and physiological characteristics of ryegrass seedlings under salt stress

SUN Li-Rong¹, HAO Fu-Shun^{1,*}, LÜ Jian-Zhou², LÜ Peng-Fei¹, ZHAO Shi-Ling¹

1 Henan Key Laboratory of Plant Stress Biology, College of Life Science, Henan University, Kaifeng 475004, China

2 College of Life Science, Liaoning Normal University, Dalian 116029, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(11): 5714 ~ 5722.

Abstract: Effects of exogenous nitric oxide (NO) on growth and changes in some physiological characteristics of perennial ryegrass seedlings under salt stress were investigated. The results indicated that exogenous NO donor, named sodium nitroprusside (SNP), at concentrations of 50 — 200 mol L^{-1} obviously alleviated the inhibition of salt upon the ryegrass seedling growth in comparison with the control; and 100 mol L^{-1} SNP had the strongest effects. Furthermore, treatments of the seedlings with SNP resulted in the pronounced alleviation in the increases of relative electrolyte leakage, K^+ to Na^+ ratio, the content of malondialdehyde and levels of reactive oxygen species in leaves under salt stress compared with the control. In addition, SNP treatments markedly enhanced the proline content and the activities of the main antioxidant enzymes superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase and peroxidase in leaves of the seedlings under salt stress. These findings suggest that NO may alleviate the damage caused by salt in ryegrass seedlings via decreasing the Na^+

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30670183); 河南省教育厅自然科学基金资助项目(2007180004); 河南大学植物逆境生物学重点实验室开放基金资助项目

收稿日期:2008-03-16; **修订日期:**2008-07-10

作者简介:孙立荣(1968 ~), 女, 山东人, 主要从事植物生理生态学研究. E-mail: lirongsun92@126.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: haofsh@henu.edu.cn

Foundation item: The project was financially supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30670183), Natural Science Foundation of Henan Educational Committee (No. 2007180004) and Exoteric Foundation of Henan University Key Laboratory of Plant Stress Biology

Received date:2008-03-16; **Accepted date:**2008-07-10

Biography: SUN Li-Rong, mainly engaged in plant physio-ecology. E-mail: lirongsun92@126.com

content, increasing the contents of K^+ and proline, and activating the antioxidant protest enzymes, thus improves salt resistance of the perennial ryegrass plants.

Key Words: nitric oxide; salt stress; perennial ryegrass; reactive oxygen species; antioxidant enzyme

盐是影响植物生长发育的主要环境因子^[1],它主要通过改变植物细胞吸收 Na^+ 和 K^+ 的量、产生渗透胁迫以及使细胞积累过氧化氢(H_2O_2)和超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)等活性氧(ROS)对植物产生毒害^[1~3]。植物则主要通过限制盐分过量吸入细胞、将盐离子区域化以及提高体内脯氨酸含量和抗氧化酶活性等对盐胁迫产生抗性^[1~4]。

一氧化氮(NO)是生物体内的信号分子,在植物生长发育以及应答干旱、盐、冷和病原菌侵染等逆境胁迫反应中起重要作用^[5,6]。研究表明,NO 对植物生长的作用具有双重性,既可促进植物生长,又可起抑制作用,具体表现依其浓度、作用部位及生理条件不同而异^[7,8]。实验证实,外源 NO 参与了植物应答盐胁迫的反应。盐胁迫下,NO 可缓解小麦(*Triticum aestivum* L.)叶片的氧化损伤^[9]、延缓水稻(*Oryza sativa* L.)叶片叶绿素的降解^[10]、缓解小麦根尖细胞的氧化损伤^[11]、增加芦苇(*Phragmites communis* Trin.)愈伤组织^[12]和玉米(*Zea mays* L.)幼苗^[13]中 K^+ 与 Na^+ 的比率、减轻盐对黄瓜(*Cucumis sativus* L.)幼苗的伤害^[14]。但外源 NO 对盐胁迫下草坪草植物生长和生理特性的影响及其机制还未见报道,为此,研究了外源 NO 对盐胁迫下多年生黑麦草(*Lolium perenne* L.)幼苗生长的影响,发现 NO 能明显缓解盐产生的抑制作用。

1 材料与方法

1.1 材料的培养与处理

试验以多年生黑麦草顶峰(Pinnacle)品种为材料。种子播于装有蛭石的塑料盆中(5粒/ cm^2),浇 1/2 Hoagland 营养液温室中培养(光/暗 16 h/8 h,温度 18~22℃,光照 100~150 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$,相对湿度约 60%),播种后第 10 天用下列试剂浇苗处理,每 2 d 浇一次苗,每个处理均重复 3 次。

处理一:分别用不同浓度 NaCl(0、50、100、150、200、250、300、350、400 $mmol\cdot L^{-1}$)的 1/2 Hoagland 营养液处理。

处理二:分别用 200 $mmol\cdot L^{-1}$ NaCl 和不同浓度 SNP(0、50、100、150、200、250、300、400、500、600 $\mu mol\cdot L^{-1}$)的 1/2 Hoagland 营养液处理。

每次处理后第 10 天分别取 30 株幼苗测定其株高、鲜重和干重。根据处理二的实验结果确定后续实验 SNP 的浓度。因 SNP 会降解生成 NO_2^- ,故设 $NaNO_2$ 作对照。

处理三:

(1)1/2 Hoagland;

(2)1/2 Hoagland + 200 $mmol\cdot L^{-1}$ NaCl;

(3)1/2 Hoagland + 200 $mmol\cdot L^{-1}$ NaCl + 100 $\mu mol\cdot L^{-1}$ SNP;

(4)1/2 Hoagland + 200 $mmol\cdot L^{-1}$ NaCl + 100 $\mu mol\cdot L^{-1}$ $NaNO_2$ 。

分别取处理后第 0、3、6、9、12、15 天的幼苗叶片,液氮速冻后测定有关生理指标。每次测定一个生理指标用 1 g 叶片。

1.2 测定方法

株高增加值的测定 分别测量处理 10 d 前后幼苗地上部高度,用后者减去前者即得株高增加值。

鲜重和干重测定 取处理 10 d 后的地上部幼苗,蒸馏水冲洗 2~3 次,吸水纸吸干后称量鲜重,105℃ 处理 15 min,75℃ 烘干至恒重,称量干重。

相对电导率和脯氨酸含量参照《现代植物生理学实验指南》的方法测定^[15];钠、钾含量用火焰原子吸收分光光度法测定^[16];丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定^[17]; H_2O_2 含量参照 Brennan 和 Frenkel 的方

法测定^[18]; $O_2^{\cdot-}$ 产生速率按照 Elster 和 Heupel 的方法测定^[19]; 超氧化物歧化酶(SOD)活性采用 Giannopolitis 和 Ries 的方法测定^[20]; 过氧化氢酶(CAT)活性按 Jiang 和 Zhang 的方法确定^[21], 以 1 min 内 A_{240} 减少 0.1 的酶量为 1 个酶活单位(U); 抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性采用 Nakano 和 Asada 的方法测定^[22]; 谷胱甘肽还原酶(GR)活性参照 Schaedle 和 Bassham 的方法测定^[23]; 过氧化物酶(POD)活性用愈创木酚法测定^[24]。

1.3 统计分析

每次实验均重复 3 次, 数据采用 OriginPro 7.0 软件绘图, 在 0.05 概率水平用 Duncan 检验法计算处理与对照有关指标平均数的显著性差异。

2 结果与分析

2.1 外源 NO 对盐胁迫下幼苗生长的影响

研究了盐胁迫对黑麦草幼苗生长的影响, 如表 1 所示, 盐处理 10 d 后, 幼苗株高的增加值、鲜重和干重均低于未处理的对照, NaCl 浓度越高, 处理与对照的差异越显著, 说明盐胁迫明显抑制了黑麦草幼苗的生长。当 NaCl 浓度分别为 50、100 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 150 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 处理与对照鲜重、株高增加值和干重的差异均达到了显著水平, 当 NaCl 浓度为 200 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 幼苗株高增加值、鲜重和干重分别约为对照的 59%、56% 和 67%, 而且处理与对照之间 3 个生长指标的差异均达到了极显著水平, 故选用此浓度作为处理浓度进行后续研究。

表 1 不同浓度 NaCl 对黑麦草幼苗生长的影响
Table 1 Effects of different concentrations of NaCl on growth of ryegrass seedlings

NaCl 处理 NaCl treatment ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	株高增加值 Enhanced plant height (cm)	鲜重 Fresh weight (mg/plant)	干重 Dry weight (mg/plant)
0	5.97 ± 0.31	32.70 ± 2.25	3.53 ± 0.15
50	4.53 ± 0.50	$26.93 \pm 1.40^*$	3.37 ± 0.21
100	$4.17 \pm 0.60^{**}$	$22.87 \pm 2.76^{**}$	3.07 ± 0.31
150	$3.93 \pm 0.42^{**}$	$19.77 \pm 0.87^{**}$	$2.87 \pm 0.21^*$
200	$3.50 \pm 0.20^{**}$	$18.33 \pm 0.85^{**}$	$2.37 \pm 0.21^{**}$
250	$2.60 \pm 0.52^{**}$	$18.33 \pm 2.32^{**}$	$2.33 \pm 0.32^{**}$
300	$1.87 \pm 0.61^{**}$	$13.77 \pm 1.70^{**}$	$1.97 \pm 0.25^{**}$
350	$1.77 \pm 0.15^{**}$	$12.37 \pm 0.47^{**}$	$1.80 \pm 0.00^{**}$
400	$1.47 \pm 0.15^{**}$	$11.90 \pm 0.85^{**}$	$1.77 \pm 0.06^{**}$

数据为平均值 \pm 标准误 ($n=3$), * 与 ** 分别指处理与对照差异达到显著水平 ($P<0.05$) 和极显著水平 ($P<0.01$) The data are means \pm SE ($n=3$); one and two asterisks respectively represent that there exist significant differences ($P<0.05$) and extremely significant differences ($P<0.05$) between the treatments and the control

为了确定外源 NO 对盐胁迫的效应, 用不同浓度 SNP 与 200 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 一起处理黑麦草幼苗, 结果发现, 不同浓度 SNP 对黑麦草生长的影响不同, 50 ~ 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SNP 与盐复合处理幼苗 10 d 后株高的增加值、鲜重和干重均高于盐单独处理, 其中 SNP 为 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时效果最明显, 两种处理之间 3 个指标的差异均达到了显著水平, 复合处理比盐单独处理这 3 个指标分别增加了约 63%、69% 和 44%。SNP 浓度超过 250 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 后缓解作用消失, 高于 400 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 SNP 对幼苗生长表现出抑制效应(表 2)。

2.2 外源 NO 对盐胁迫下叶片相对电导率和脯氨酸含量变化的影响

叶片相对电导率可反映细胞膜受损伤的程度。如图 1 A 所示, 盐处理明显增加了叶片相对电导率, 6 d 后处理与未加盐对照的差异达到了显著水平, 并且相对电导率随处理时间延长显著增加, 而对照变化不明显。第 15 天, 处理的相对电导率为对照的 4 倍多, 说明盐胁迫时间愈长, 细胞质膜受损伤的程度愈重。用 SNP 和盐同时处理黑麦草幼苗, 其相对电导率小于盐单独处理, 第 6 天以后, 两种处理之间的差异达到了显著水平, 第 15 天时, 前者比后者降低约 25%。盐与 NaNO_2 复合处理的叶片电导率稍高于盐单独处理, 说明 SNP 缓解盐胁迫对细胞膜的伤害是由于 NO 而非 NO_2^- 的作用。

表2 外源 NO 对盐胁迫下黑麦草幼苗生长的影响

Table 2 Effects of exogenous nitric oxide on growth of ryegrass seedlings under NaCl stress

处理 Treatment	株高增加值 Enhanced plant height (cm)	植株鲜重 Fresh weight (mg/plant)	植株干重 Dry weight (mg/plant)
1/2 Hoagland	5.97 ± 0.31a	32.70 ± 2.25a	3.53 ± 0.15a
NaCl	3.50 ± 0.20c	18.33 ± 0.85c	2.43 ± 0.32c
NaCl + 50 μmol·L ⁻¹ SNP	4.83 ± 0.40ab	25.33 ± 2.52b	3.00 ± 0.10b
NaCl + 100 μmol·L ⁻¹ SNP	5.70 ± 0.40ab	30.93 ± 2.87ab	3.50 ± 0.20a
NaCl + 150 μmol·L ⁻¹ SNP	5.00 ± 0.36ab	26.37 ± 2.12b	3.00 ± 0.10b
NaCl + 200 μmol·L ⁻¹ SNP	4.80 ± 0.40b	25.40 ± 2.51b	3.00 ± 0.10b
NaCl + 250 μmol·L ⁻¹ SNP	3.50 ± 0.44c	18.27 ± 1.07c	2.40 ± 0.35cd
NaCl + 300 μmol·L ⁻¹ SNP	2.93 ± 0.15c	15.43 ± 0.75d	1.87 ± 0.11d
NaCl + 400 μmol·L ⁻¹ SNP	2.80 ± 0.10cd	15.00 ± 0.20d	1.77 ± 0.15d
NaCl + 500 μmol·L ⁻¹ SNP	2.70 ± 0.10d	14.80 ± 0.20d	1.63 ± 0.15de
NaCl + 600 μmol·L ⁻¹ SNP	2.50 ± 0.10d	14.47 ± 0.15d	1.47 ± 0.06e

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

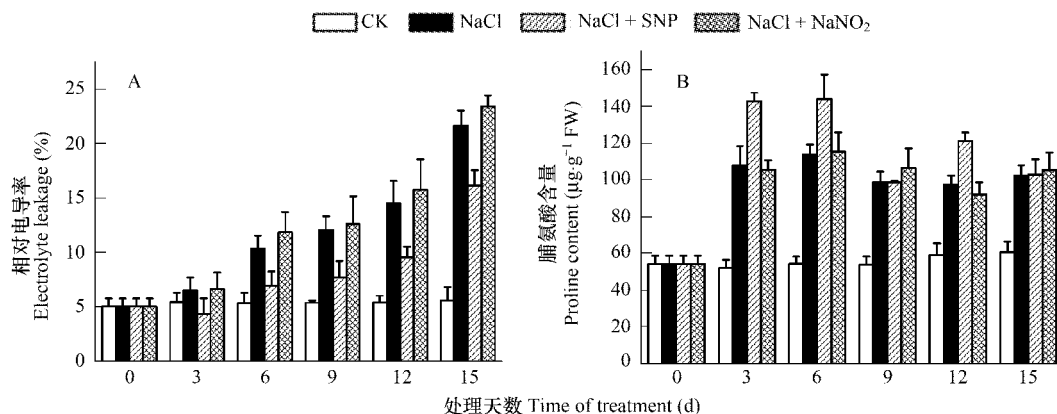


图1 外源 NO 对 NaCl 胁迫下黑麦草幼苗叶片相对电导率(A)和脯氨酸含量(B)变化的影响

Fig.1 Effects of exogenous nitric oxide on changes in electrolyte leakage (A) and proline content (B) in leaves of ryegrass seedlings under NaCl stress

CK: 1/2 Hoagland; NaCl: 1/2 Hoagland + 200 mmol·L⁻¹ NaCl; NaCl + SNP: 1/2 Hoagland + 200 mmol·L⁻¹ NaCl + 100 μmol·L⁻¹ SNP; NaCl + NaNO₂: 1/2 Hoagland + 200 mmol·L⁻¹ NaCl + 100 μmol·L⁻¹ NaNO₂; 下同 the same below

脯氨酸是植物应答盐胁迫反应的重要渗透物质。研究显示,盐胁迫下黑麦草叶子中脯氨酸含量明显增加,0~3 d 增加速度很快,第6天达到最大,处理比对照增加约1倍,以后缓慢下降,但均显著高于对照。与盐单独处理相比,第3、6和12天,SNP与盐一起处理的叶片脯氨酸含量显著增加,第3天两者差异最大,后者比前者增加32%。尽管有时NaNO₂与盐复合处理的叶片脯氨酸含量高于盐单独处理,但两者差异不显著,表明外源NO能够增加盐胁迫下黑麦草的脯氨酸含量(图1B)。

2.3 外源 NO 对盐胁迫下叶片 Na⁺、K⁺ 含量及 K⁺ 与 Na⁺ 比率变化的影响

研究表明,与未加盐的对照相比,200 mmol·L⁻¹ NaCl 处理极显著地增加了叶片中 Na⁺ 的含量,降低了 K⁺ 的含量,明显降低了 K⁺ 与 Na⁺ 的比率,其中 Na⁺ 含量增加很大,第15天时处理约为对照的15倍。处理叶片中 K⁺ 含量降低的幅度较小,但均低于对照。叶片中 K⁺ 与 Na⁺ 比率随 NaCl 处理时间延长而变小。用 SNP 与盐同时处理黑麦草幼苗后,细胞中 Na⁺ 含量增加及 K⁺ 含量减少的速度均明显减缓,两种处理除第3天的 K⁺ 含量外,其它的差异均达到了显著水平,说明 SNP 可通过降低细胞吸收 Na⁺ 的量和增加细胞吸收 K⁺ 的量缓

解盐对黑麦草的伤害。从 K^+ 与 Na^+ 的比率看, SNP 与盐复合处理显著高于盐单独处理, 第 15 天, 前者约为后者的 1.4 倍。在整个实验过程中 $NaNO_2$ 的作用不显著(图 2)。

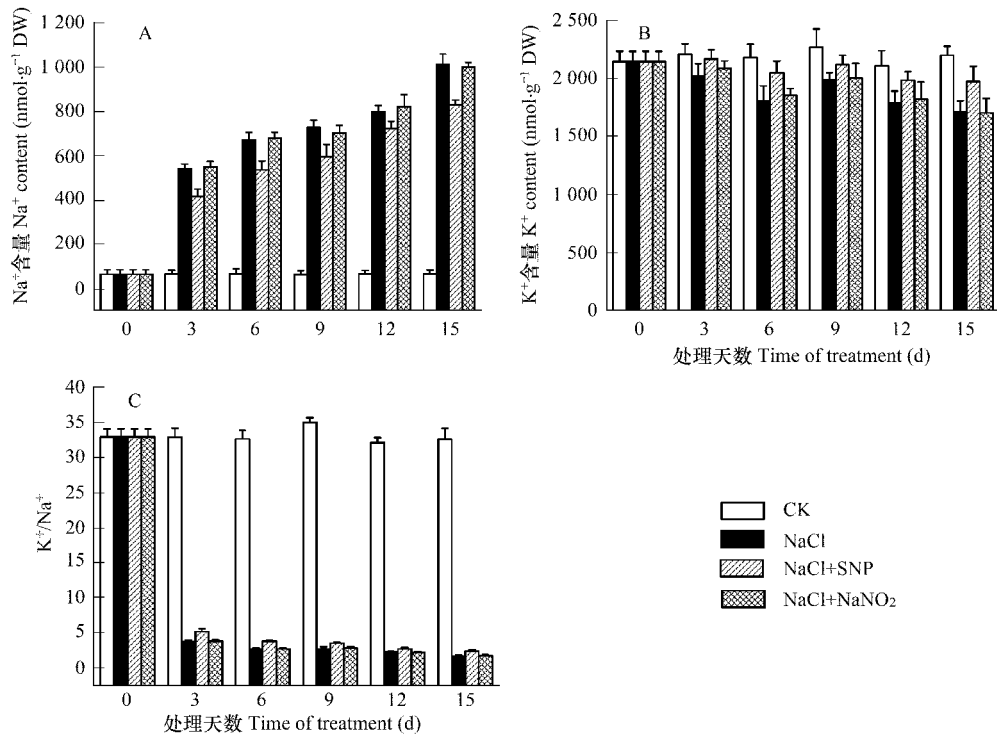


图2 外源 NO 对 NaCl 胁迫下黑麦草幼苗叶片中 Na^+ 含量(A)、 K^+ 含量(B)和 K^+ 与 Na^+ 比率(C)变化的影响

Fig. 2 Effects of exogenous nitric oxide on changes in contents of Na^+ (A), K^+ (B) and the rate of K^+ to Na^+ (C) in leaves of ryegrass seedlings under NaCl stress

2.4 外源 NO 对盐胁迫下叶片 MDA、 H_2O_2 和 $O_2^{\cdot-}$ 产生的影响

如图 3 所示,与对照相比,盐处理明显增加了黑麦草幼苗叶子中 MDA 和 H_2O_2 的含量及 $O_2^{\cdot-}$ 的产生速率。细胞中 MDA 含量随盐处理时间的延长一直增加,表明长时间处理对膜伤害比短时间处理大,SNP 处理有效减缓了盐诱导的 MDA 含量增加(图 3 A),第 15 天缓解作用最显著,加 SNP 比不加 SNP 的降低了 22%,6 d 后两者差异达到了显著水平。盐胁迫下 H_2O_2 产生量开始随处理时间延长迅速增加,第 3 天达到最大,以后缓慢下降。加 SNP 的处理在第 3、6 天和 15 天对盐的影响大,显著减弱了盐对 H_2O_2 产生的促进作用,第 3 天的减弱作用最强,加 SNP 处理的 H_2O_2 含量比不加 SNP 的降低了约 34%,第 9 天和 12 天两种处理差异不显著(图 3 B)。无论盐单独处理还是 SNP 和盐复合处理, $O_2^{\cdot-}$ 产生速率均与 H_2O_2 含量的变化规律类似,即 SNP 在第 3、6 和 15 天缓解了盐对 $O_2^{\cdot-}$ 产生的促进作用,但与 H_2O_2 不同的是,第 15 天时各种处理下 $O_2^{\cdot-}$ 的产生速率均高于第 12 天。在整个实验过程中, $NaNO_2$ 对盐胁迫下黑麦草幼苗 MDA、 H_2O_2 和 $O_2^{\cdot-}$ 的影响不显著(图 3 C)。

2.5 外源 NO 对盐胁迫下叶片抗氧化酶活性变化的影响

NaCl 和 SNP 处理明显改变了黑麦草幼苗叶子中 SOD、CAT、APX、GR 和 POD 的活性。NaCl 显著促进了 SOD 的活性,其总的变化规律是先快速升高,然后缓慢下降,最后又升高。第 3 天到第 12 天,SNP 处理显著增加了 SOD 的活性,其中第 3 天和第 6 天增加的幅度大,以后增幅变小,第 15 天时 SNP 的作用与盐单独处理差异不显著(图 4 A)。盐处理也增加了 CAT 的活性,处理第 6 天以前增加不显著,第 9 天后达到了显著水平。SNP 同样促进了 CAT 的活性,第 12 天时 SNP 的作用最大(图 4 B)。盐处理在总体上促进了黑麦草叶子中 APX 的活性,第 3 天到第 9 天促进作用显著,其它时间不显著。SNP 增加了盐胁迫下 APX 的活性,其活性变化的规律与盐的作用规律类似(图 4 C)。盐处理能够增加叶子中 GR 的活性,但增幅较小,处理与对照之间

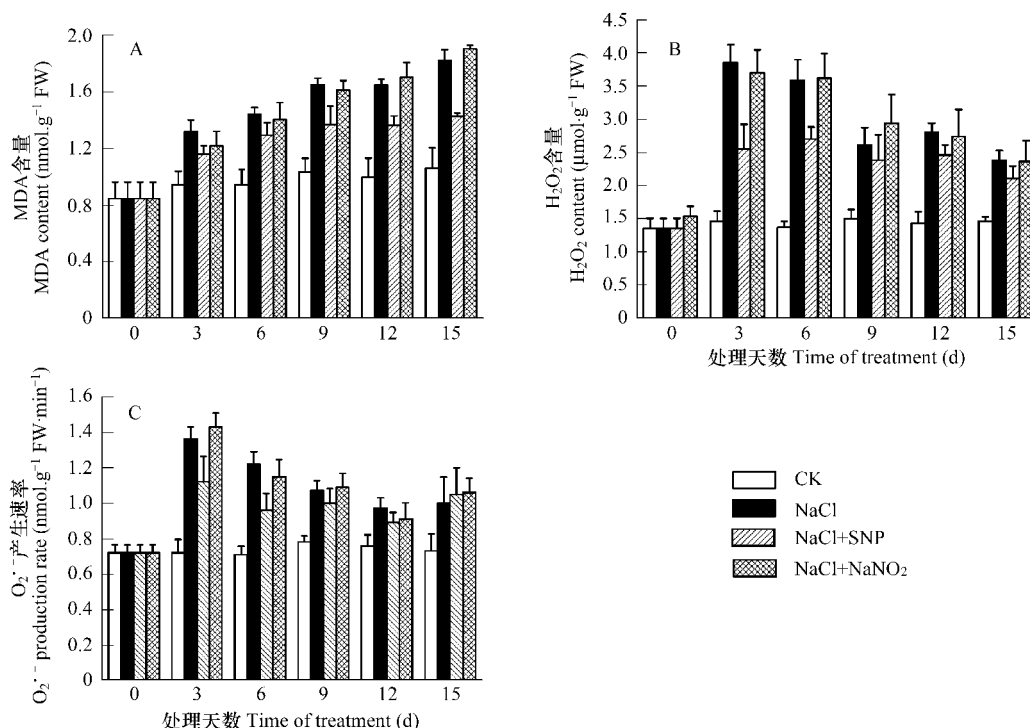


图3 外源 NO 对 NaCl 胁迫下黑麦草幼苗叶片 MDA (A)、H₂O₂ (B) 和 O₂⁻ (C) 产生的影响

Fig. 3 Effects of exogenous nitric oxide on production of MDA (A) and H₂O₂ (B) and rate of O₂⁻ (C) in leaves of ryegrass seedlings under NaCl stress

差异不显著, SNP 的作用也不显著(图 4 D)。盐处理第 3 和第 6 天显著提高了 POD 的活性, 但其它时间盐的作用不明显。SNP 处理能够增加盐胁迫下 POD 的活性, 第 3 天时 SNP 的效应显著, 其它时间盐和 SNP 复合处理与盐单独处理差异不显著(图 4 E)。在整个实验过程中, NaNO₂ 与盐共同处理其抗氧化酶活性的变化与盐单独处理差异不显著。

3 讨论

目前在我国, 尤其是沿海地区, 许多城市居民小区和工厂都建在了盐碱地上, 城市绿化需要解决的重要问题之一就是提高草坪草的抗盐性。尽管不少草坪草品种中度耐盐, 但盐胁迫下草坪草的生长仍然受到了明显抑制, 因此开展提高草坪草抗盐性的研究意义重大。

近年来研究发现, NO 作为信号分子在植物应答逆境胁迫反应中起重要作用。外源 NO 供体 SNP 能够提高黄瓜、小麦、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* L.) 等植物的抗盐性已有不少报道^[25], 但 NO 对盐胁迫下草坪草生长的影响以及具体的机制还不清楚。

本研究发现, 不同浓度 SNP 对盐胁迫下黑麦草幼苗的生长表现出不同的效应, 50 ~ 200 μmol·L⁻¹ SNP 能够减轻盐对幼苗的抑制作用, 说明在此浓度范围内 SNP 具有缓解盐胁迫的作用。当 SNP 浓度超过 250 μmol·L⁻¹ 后其缓解作用消失, 高于 400 μmol·L⁻¹ 的 SNP 则加重了盐对黑麦草幼苗生长的抑制作用(表 2), 其原因可能是低浓度的 NO 能够激发植物的抗盐机制, 而高浓度 NO 本身作为胁迫因子阻碍了植物的生长, 这与陈明在研究一氧化氮对盐胁迫下小麦幼苗根生长和氧化损伤的影响时得到的结果类似^[11]。

盐能够破坏植物细胞膜结构使组织相对电导率增加, 植物则通过提高体内渗透物质如脯氨酸含量抵抗盐胁迫^[1]。研究发现 100 μmol·L⁻¹ SNP 可部分抑制盐胁迫诱导的黑麦草叶片相对电导率增加, 提高叶中脯氨酸含量(图 1), 这与阮海华等以小麦为材料得到的结果一致^[9, 26]。

植物是否耐盐的一个关键指标是植物能否保持较高的 K⁺ 与 Na⁺ 比率。实验表明, 盐胁迫下黑麦草叶片 Na⁺ 含量增加, K⁺ 含量降低, K⁺ 与 Na⁺ 含量比率以时间依赖的方式明显降低, 而对照的变化不明显(图 2 C),

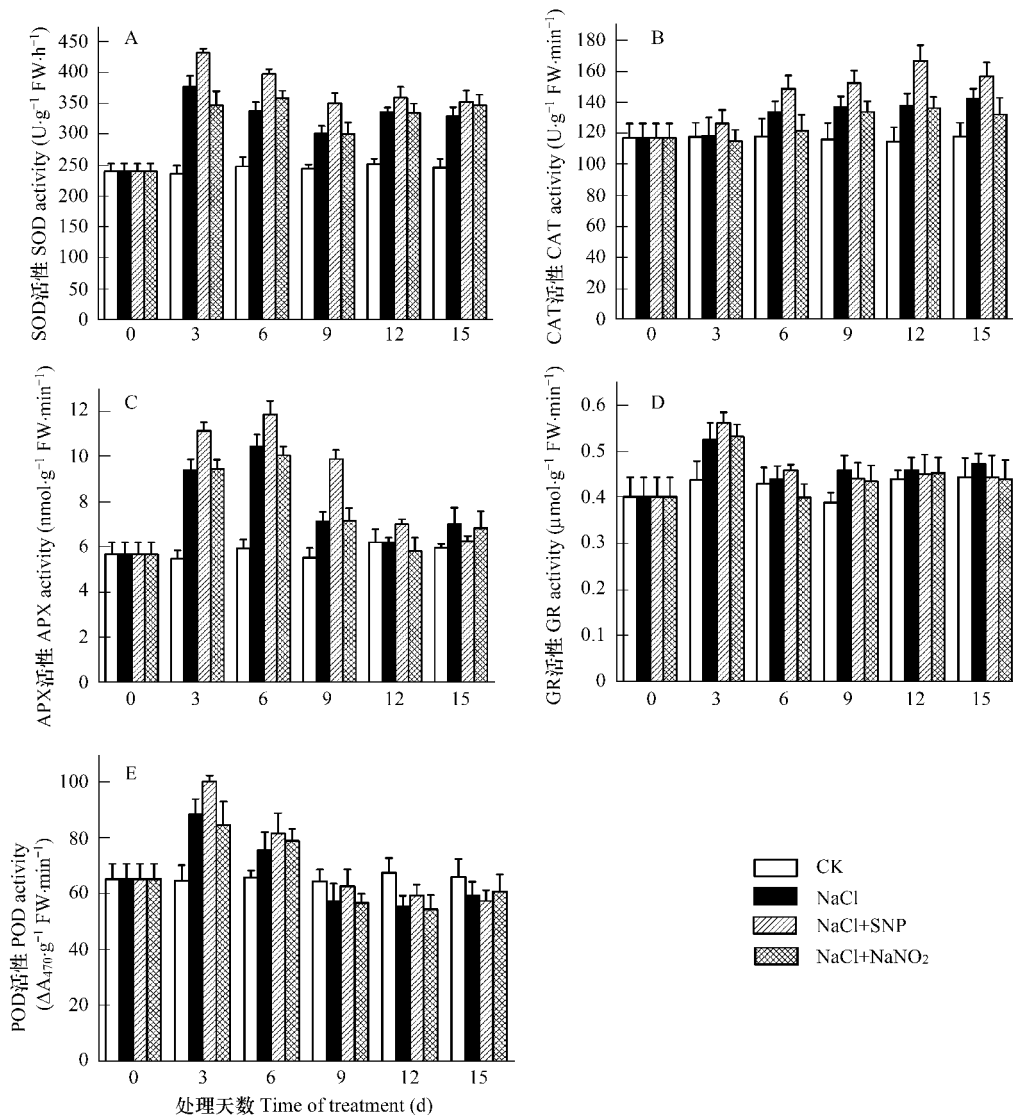


图4 外源 NO 对 NaCl 胁迫下黑麦草幼苗叶片 SOD (A)、CAT (B)、APX (C)、GR (D) 和 POD (E) 活性变化的影响

Fig. 4 Effects of exogenous nitric oxide on changes in the activities of SOD (A), CAT (B), APX (C), GR (D) and POD (E) in leaves of ryegrass seedlings under NaCl stress

说明盐破坏了植物 Na⁺ 与 K⁺ 平衡,影响了 K⁺ 的吸收,这与别人报导的结果类似^[27,28]。盐胁迫下,外源 NO 既能降低黑麦草对 Na⁺ 吸收,也能增加其对 K⁺ 的吸收,从而有效增加了 K⁺ 与 Na⁺ 含量的比率,缓解了盐对离子平衡的破坏。从研究结果看,盐处理极显著地增加了植物对 Na⁺ 的吸收,但对 K⁺ 的吸收影响较小,SNP 对黑麦草 Na⁺ 吸收的影响也大于对 K⁺ 的吸收。Zhao 等^[12] 报道,在盐存在的情况下,芦苇能够通过提高质膜和液泡膜 H⁺-ATPase 的活性将细胞内的 Na⁺ 排到细胞外和液泡中,从而降低 Na⁺ 对植物的伤害,而 Zhang 等以玉米为材料的研究证实,盐可提高细胞中 H⁺-ATPase、H⁺-PPase 和 Na⁺/H⁺ 反向转运体的活性,减少植物吸收 Na⁺ 的量^[29]。另外,Zhang 等以胡杨(*Populus euphratica* Oliv)为材料也得出了类似的结论^[30]。NO 增加盐胁迫下植物吸收 K⁺ 的机理还不清楚,研究显示,NO 能够增加植物细胞中 Ca²⁺ 的含量,Ca²⁺ 可能作为第二信使通过调节 K⁺ 通道活性等提高了细胞对 K⁺ 的吸收^[31]。外源 NO 降低盐胁迫下黑麦草 Na⁺ 含量和增加 K⁺ 吸收的机理还有待于深入研究。

盐胁迫通过产生大量 ROS 使植物受害已有不少报道^[4,32,33]。本研究表明,盐胁迫下,黑麦草幼苗叶中 MDA、H₂O₂ 和 O₂⁻ 的值均随处理时间延长明显增加(图 3),说明高浓度 NaCl 能够导致氧化胁迫,这与别人在

小麦^[9]和玉米^[13]等作物上的研究结果类似。盐胁迫下,黑麦草叶子 MDA 含量随着盐处理时间延长逐渐增大,说明盐产生的氧化胁迫对膜脂的伤害开始小,以后逐渐增大(图 3 A)。与盐单独处理相比,SNP 与盐的复合处理有效降低了叶中 MDA、H₂O₂ 和 O₂^{·-} 含量,表明 SNP 有减缓盐产生氧化胁迫的功能,这与阮海华等^[9]的报道一致。

盐胁迫下,黑麦草幼苗叶子中 SOD、CAT、APX、GR 和 POD 活性总体的变化趋势是先升高后降低,说明这些酶在植物应答盐胁迫反应中起重要作用。SNP 处理能够增加抗氧化酶的活性,但不同抗氧化酶对 SNP 的反应不完全一致,SNP 对 SOD 和 CAT 活性的影响较大,对 GR 影响较小,说明不同抗氧化酶在植物应答盐胁迫和 NO 的反应中所起的作用不同。另外,SNP 处理不同时间即使是同一种抗氧化酶表现结果也不同,说明 SNP 缓解盐胁迫的效应依赖于处理时间,这与其他研究者的实验结果相似^[9,10,11,14,34,35],其具体的机制仍需进一步深入研究。

References:

- [1] Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 2008, 59: 651—681.
- [2] Zhu J K. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 2002, 4: 401—406.
- [3] Zhu J K. Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Current Opinion in Plant Biology*, 2003, 6: 441—445.
- [4] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 2002, 7: 405—410.
- [5] Crawford N M, Guo F Q. New insights into nitric oxide metabolism and regulatory functions. *Trends in Plant Science*, 2005, 10: 195—200.
- [6] Besson-Bard A, Pugin A, Wendehenne D. New insights into nitric oxide signaling in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 2008, 59: 21—39.
- [7] Beligni M V, Lamattina L. Is nitric oxide toxic or protective? *Trends in Plant Science*, 1999, 4: 229—300.
- [8] Zhao M G, Tian Q Y, Zhang W H. Nitric oxide synthase-dependent nitric oxide production is associated with salt tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 2007, 144: 206—217.
- [9] 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. *Chinese Science Bulletin*, 2001, 46 (23): 1993—1997.
- [10] Uchida A, Jagendorf A T, Hibino J, *et al.* Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. *Plant Science*, 2002, 163: 515—523.
- [11] 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.
- [12] Zhao L Q, Zhang F, Guo J K, *et al.* Nitric oxide function as a signal in salt resistance in the calluses from two ecotypes of reed. *Plant Physiology*, 2004, 134: 849—857.
- [13] Zhang Y Y, Liu J, Liu Y L. Nitric oxide alleviates growth inhibition of maize seedlings under NaCl stress. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2004, 30 (4): 455—459.
- [14] Fan H F, Guo S R, Jiao Y S, *et al.* The effects of exogenous nitric oxide on growth, active oxygen metabolism and photosynthetic characteristics in cucumber seedlings under NaCl stress. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27 (2): 546—553.
- [15] Cai W M, Tang Z C. Environment and resistance physiology. In: Tang Z C ed. *Modern Plant Physiology Experiment Guide*. Beijing: Science Press, 2004. 294—335.
- [16] Hunt J. Dilute hydrochloric acid extraction of plant material for routine cation analysis. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 1982, 13: 49—55.
- [17] Du Z Y, Bramlage W J. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 1992, 40: 1566—1570.
- [18] Brennan T, Frenkel C. Involvement of hydrogen peroxide in the regulation of senescence in pear. *Plant Physiology*, 1977, 59: 411—416.
- [19] Elster E F, Heupel A. Inhibition of nitrite from hydroxylammoniumchloride: a simple assay for superoxide dismutase. *Analytical Biochemistry*, 1976, 70: 616—620.
- [20] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 1977, 59: 309—314.
- [21] Jiang M Y, Zhang J H. Effect of ABA on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. *Plant and Cell Physiology*, 2001, 42 (11): 1265—1273.
- [22] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 1981, 22: 867—880.

- [23] Schaedle M, Bassham J A. Chloroplast glutathione reductase. *Plant Physiology*, 1977, 59: 1011—1012.
- [24] Li Z G, Li J H, Du C K, *et al.* Simultaneous measurement of five antioxidant enzyme activities using a single extraction system. *Journal of Yunnan Normal University*, 2002, 22 (6): 44—48.
- [25] Liu W Z, Zhang R J, Pei Z M, *et al.* Investigation on functions of nitric oxide as a signal molecular in plants: advance and perspective. *Progress in Natural Science*, 2008, 18 (1): 10—24.
- [26] Ruan H H, Shen W B, Xu L L. Nitric oxide involved in the abscisic acid induced proline accumulation in wheat seedling leaves under salt stress. *Acta Botanica Sinica*, 2004, 46 (11): 1307—1315.
- [27] Peng Y H, Zhu Y F, Mao Y Q, *et al.* Alkali grass resists salt stress through high $[K^+]$ and an endodermis barrier to Na^+ . *Journal of Experimental Botany*, 2004, 55 (398): 939—949.
- [28] Yang X Y, Yang J S. Effects of salt stress on growth of ryegrass seedlings and its mitigative effects of P fertilizer. *Chinese Journal of Soil Science*, 2005, 36 (6): 899—902.
- [29] Zhang Y Y, Wang L L, Liu Y L, *et al.* Nitric oxide enhances salt tolerance in maize seedlings through increasing activities of proton-pump and Na^+/H^+ antiport in the tonoplast. *Planta*, 2006, 224: 545—555.
- [30] Zhang F, Wang Y P, Yang Y L, *et al.* Involvement of hydrogen peroxide and nitric oxide in salt resistance in the calluses from *Populus euphratica*. *Plant Cell and Environment*, 2007, 30: 775—785.
- [31] García-Mata C, Gay R, Sokolowski S, *et al.* Nitric oxide regulates K^+ and Cl^- channels in guard cells through a subset of abscisic acid-evoked signaling pathways. *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, 2003, 100 (19): 11116—11121.
- [32] Agrawal S, Pandey V. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum*, 2004, 48 (4): 555—560.
- [33] Cossett D R, Banks S W, Millhollon E P, *et al.* Antioxidant response to NaCl stress in a control and an NaCl-tolerant cotton cell line grown in the presence of paraquat, buthionine sulfoximine, and exogenous glutathione. *Plant Physiology*, 1996, 112: 803—809.
- [34] Wu X X, Zhu Y L, Zhu W M, *et al.* Protective effects of exogenous nitric oxide on oxidative damage in tomato seedling leaves under NaCl stress. *Journal of Jiangsu Agricultural Science*, 2006, 22 (3): 276—280.
- [35] Huang B K, Liu K L, Xu S, *et al.* Regulation of nitric oxide donor on lipid peroxidation in rice seedling leaves under salt stress. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2005, 28 (3): 22—25.

参考文献:

- [9] 阮海华, 沈文彪, 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.
- [11] 陈明, 沈文彪, 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学报*, 2004, 30 (5): 569—576.
- [13] 张艳艳, 刘俊, 刘友良. 一氧化氮缓解盐胁迫对玉米生长的抑制作用. *植物生理与分子生物学学报*, 2004, 30 (4): 455—459.
- [14] 樊怀福, 郭世荣, 焦彦生, 等. 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. *生态学报*, 2007, 27 (2): 546—553.
- [15] 蔡伟明, 汤章城. 环境和抗逆生理. 见: 汤章城主编. *现代植物生理学实验指南*. 北京: 科学出版社, 2004, 294—335.
- [24] 李忠光, 李江鸿, 杜朝昆, 等. 在单一提取系统中同时测定五种植物抗氧化酶. *云南师范大学学报*, 2002, 22 (6): 44—48.
- [25] 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. *自然科学进展*, 2008, 18 (1): 10—24.
- [28] 杨晓英, 杨劲松. 盐胁迫对黑麦草幼苗生长的影响及磷肥的缓解作用. *土壤通报*, 2005, 36 (6): 899—902.
- [34] 吴雪霞, 朱月林, 朱为民, 等. 外源一氧化氮对 NaCl 胁迫下番茄幼苗叶片氧化损伤的保护效应. *江苏农业学报*, 2006, 22 (3): 276—280.
- [35] 黄本开, 刘开力, 徐晨, 等. 一氧化氮供体对盐胁迫下水稻幼苗叶片脂质过氧化的调节. *南京农业大学学报*, 2005, 28 (3): 22—25.