

一氧化氮对杨树耐旱性的影响*

王淼^{1**} 李秋荣² 付士磊¹ 肖冬梅¹ 董百丽¹

(¹中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110016; ²南京军区总医院普外研究所, 南京 210002)

【摘要】 探讨了外源 NO 对水分胁迫下杨树叶片质膜相对透性、叶片光合作用和氧化伤害保护酶的影响。结果表明, NO 供体硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)能提高杨树叶片的含水率, 在水分胁迫(PEG-6000 渗透液处理)下, 能缓解叶片的水分丢失。NO 对杨树叶片光合作用具有双重性, 低浓度 SNP(200、500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)能促进叶片的光合, 高浓度 SNP(1 000、2 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)则明显抑制叶片的光合。较短时间水分处理胁迫(1 h)的杨树叶片 SOD 和 POD 活性显著高于较长时间(3 h)水分胁迫下叶片的酶活性。经 SNP 处理后, 各处理组 POD、SOD 活性明显上升。同时, 随 SNP 浓度的增加, POD 和 SOD 活性表现出先上升后下降的趋势。外源 NO 可通过诱导 POD 和 SOD 活性的上升, 延缓活性氧的积累, 从而减轻水分胁迫对杨树的伤害, 增强树木的耐旱能力。

关键词 杨树 水分胁迫 一氧化氮 氧化伤害 保护

文章编号 1001-9332(2005)05-0805-06 **中图分类号** Q945.3 **文献标识码** A

Effects of exogenous nitric oxide on drought-resistance of poplar. WANG Miao¹, LI Qiurong², FU Shilei¹, XIAO Dongmei¹, DONG Baili¹ (¹Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; ²General Hospital in Nanjing Military District, Nanjing 210002, China). -Chin. J. Appl. Ecol., 2005, 16(5):805~810.

This paper studied the effects of NO donor sodium nitroprusside (SNP) on the photosynthesis and active oxygen-scavenging enzyme activities of poplar leaves under drought stress. The results showed that SNP had a remarkable positive effect on leaf water content. When the SNP level was $>500 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, no significant difference in leaf water content was found between SNP treatments. SNP could increase photosynthesis rate, photochemical efficiency of PSII (F_v/F_m), and ratios of F_m/F_o and F_v/F_o , but the effects decreased with the prolongation of drought stress. The SOD and POD activities of poplar leaves were higher in short time (1 h) drought stress than in longer time (3 h) one. The activity of POD was increased by SNP, while that of SOD was changed little. With increasing SNP level, the POD and SOD activities first increased and then decreased. The NO donor could retard the accumulation of active oxygen through inducing POD and SOD activities, alleviate the effects of drought stress on photosynthesis, and increase the drought-resistance of poplar.

Key words Poplar, Water stress, Nitric oxide, Oxidation damage, Protection.

1 引 言

一氧化氮(NO)是一种活性氮。在自然环境中, 它主要来源于工业生产和某些生物过程所产生的空气污染物^[31], 及土壤中细菌脱氮作用^[18]。动物细胞中产生的 NO 具有信号传导、酶调节作用和免疫反应等重要的生理功能^[18, 20]。植物体内 NO 的生理和生化研究刚刚起步^[2, 9]。作为一种胁迫诱导分子, NO 能调节植物对生物与非生物胁迫的适应反应^[10, 11]。据报道, NO 参与植物体生理反应如植物对病原体反应^[10, 11], 细胞程序化死亡^[22]、发芽^[1]等。目前已在烟草、豆、玉米、豌豆和小麦等植物中观察到 NO 代谢的存在^[25], 但在植物细胞中的机理并不清楚^[3, 32]。

水分缺乏是最为广泛的一种环境胁迫。提高植物的耐旱性是植物抗逆境研究的重要课题。已知干旱胁迫下植物细胞叶绿体和线粒体电子传递中泄露

的电子增加, 活性氧(reactive oxygen species, ROS)大量产生, 在细胞内造成过氧化伤害, 引起叶绿素降解、膜结构损伤、蛋白质变性, 甚至细胞死亡。研究表明, 在动物体内, NO 是一种新的信号调节分子及活性氧清除剂, 具有双重作用: 一方面, 低浓度 NO 能迅速清除超氧阴离子(O_2^-)和脂质自由基(R), 阻断 ROS 参与的包括脂质过氧化在内的各种伤害效应, 诱导抗氧化酶基因的表达, 具有保护作用; 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($-\text{OONO}$), 后者经质子化后形成具有强氧化性的过氧亚硝酸(HOONO), 破坏生物大分子的结构与功能, 因而具有生物毒性^[19, 21]。Beligni 等^[1]提出, NO 对植物体也具有双重性, 其对植物的

* 国家自然科学基金项目(30271068)和中国科学院沈阳应用生态研究所领域前沿项目和中国科学院知识创新工程重大资助项目(KZCXSW0101B12)。

** 通讯联系人。

2004-05-18 收稿, 2004-09-28 接受。

影响取决于植物生理条件和 NO 浓度. 树木由于其生命周期长和受其复杂生境影响, 比草本植物经历更多、更强的逆境. 目前, NO 对树木生理反应及调控作用的研究仍为空白^[28,29]. 本研究以杨树为材料, 研究外源 NO 在干旱胁迫下的树木叶片气孔运动的调节、水分状况和氧化伤害的保护作用, 以及 NO 对树木叶片的光合作用的影响, 探讨 NO 在树木对水分胁迫适应性中的作用机理.

2 材料与方法

2.1 供试材料和处理

试验在沈阳农业大学植物园试验地进行, 供试材料为乡土树种小青杨 (*Populus pseudo-simonii*). 2003 年 5 月 15 日扦插于营养钵中, 共 200 钵. 每钵扦插一株. 营养钵直径 10 cm、高 15 cm, 营养钵盛有蛭石和 Hoagland 溶液. 当扦插苗长至第 5 片叶子完全展开时, 将随机分 5 组. 每组 5 株, 进行 NO 处理, 所用 NO 供体为硝普钠 (sodium nitroprusside, SNP), 5 个处理组分别为 CK (蒸馏水)、S₂₀₀ (SNP 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、S₅₀₀ (SNP 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、S₁₀₀₀ (SNP 1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 S₂₀₀₀ (SNP 2 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 溶液进行培养. 连续培养 5 d 后, 将上述幼苗移入含 -0.9 ~ -1.2 MPa 的聚乙二醇 (分子量 6 000) 的营养液里, 进行水分胁迫处理, 以正常营养液培养的植株为对照. 处理 0.1 h 和 3 h 后取叶片进行相关测定.

2.2 研究方法

2.2.1 生理指标测定 苗木叶片的相对含水量 (称重法)、叶片水势、质膜相对透性 (电导率法)、可溶性蛋白含量和可溶性糖含量测定分别参照任红旭^[23]、阮海华等^[24]的方法. 用 LI-6400 光合作用测定仪分别在 PAR 800 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 和 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 下测定叶片净光合速率、蒸腾速率和气孔导度和叶绿素荧光参数的测定, 每一品种随机取 5 片叶, 经暗适应 10 min 后, 用 Hansatech 叶绿素荧光仪 (PEA) (英) 测定各自的荧光动力学参数, 初始荧光 (F_0)、最大荧光 (F_m)、光系统 II (PSII) 原初光能转化效率 (F_v/F_m)、PSII 潜在活性 (F_v/F_0) 等参数.

2.2.2 酶活性测定 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性测定按 Giannopolitis 和 Ries 的方法^[13], 以抑制 NBT (氯化硝基四氮唑蓝) 光化还原 50% 作为一个酶活力单位. POD 酶活性测定 0.5 g 叶片按 1:5 的比例加入酶提取液 (50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ pH 8.7 的硼酸缓冲液, 含 2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的亚硫酸氢钠), 冰浴研磨匀浆, 4 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻离心 (10 000 $\times g$, 15 min), 取上清液经 SePhadex G-25 脱盐后置于冰浴内待用. 粗酶液的 POD 活力测定按 Hammerschmich 等^[14]方法稍加改进, 催化反应体系以愈创木酚 (0.25%) 和过氧化氢 (0.75%) 为底物, 加入适量酶液后, 测定 460 nm 吸光值的上升.

2.2.3 数据分析 所得数据采用 Microsoft Excel 进行统计分析 & 绘图; 用 SPSS 统计软件方差分析检验其差异显著性及 Duncan 多重比较.

3 结果与分析

3.1 干旱胁迫下外源 NO 对杨树叶片相对含水量的影响

由图 1 可见, 不同浓度 SNP 处理对杨树叶片含水率具有显著影响 ($P < 0.01$), 杨树叶片的含水量随着 SNP 浓度的提高而增加. SNP 不同处理后分别比对照组提高 9.64%、18.22%、18.07% 和 28.88%. 当 SNP 浓度增加到 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 后, 各处理杨树叶片的含水率之间变化趋于稳定 (图 1).

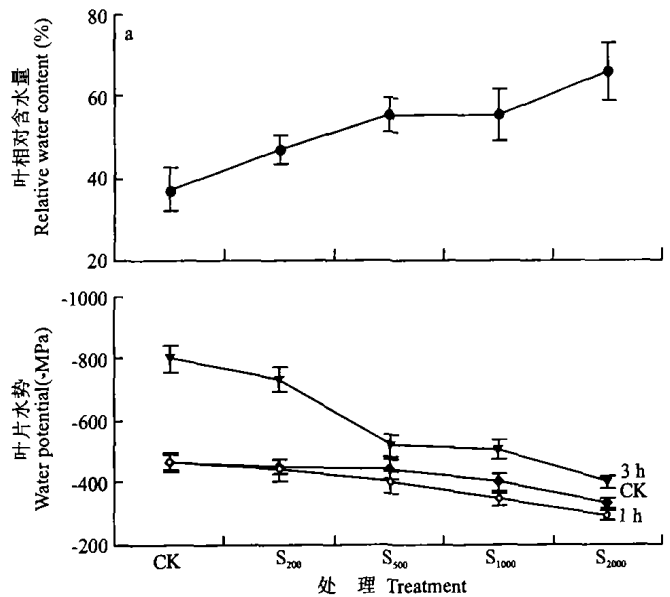


图 1 NO 供体 SNP 对叶片水分状况的影响

Fig. 1 Effect of SNP on water status of leaves under different treatments. CK: SNP 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; S₂₀₀: SNP 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; S₅₀₀: SNP 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; S₁₀₀₀: SNP 1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; S₂₀₀₀: SNP 2 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Bars = SE ($n = 6$). 下同 The same below.

图 1 结果表明, 较短时间 (1 h) PEG 干旱处理条件下, 不同浓度 SNP 处理的杨树叶片水势高于对照组, 并随 SNP 浓度的增大叶片水势明显提高. 在较长时间 (3 h) PEG 干旱处理下, 杨树叶片水势低于对照组, 并随 SNP 处理组浓度的增高叶片水势下降的幅度减少 ($P < 0.05$). 如在 PEG 干旱处理前, 杨树水势随 SNP 浓度的增大而降低, S₂₀₀、S₅₀₀、S₁₀₀₀ 和 S₂₀₀₀ 分别比对照组降低 3.6%、5.7%、14.3% 和 28.6%. 而 PEG 干旱处理时间 3 h 时, 则分别比对照组提高 71.4%、62.93%、18.2%、26.7% 和 20.0%.

3.2 干旱胁迫下外源 NO 对杨树叶片细胞膜透性的影响

水分胁迫对植物的伤害表示为质膜相对透性的增加. 图 2 结果表明, 随着 SNP 浓度的增加, 杨树叶片质膜相对透性有不同程度的减少. 未经 SNP 诱导

处理的对照组杨树叶片膜质透性最高,而经过 SNP 诱导处理后,杨树叶片膜质透性均呈下降趋势.经进一步分析检验,不同浓度 SNP 处理组间膜质透性存在显著差异($P < 0.01$),CK、 S_{200} 和 S_{500} 处理组之间差异不显著,而与高 SNP 浓度($100、2\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)差异明显.与对照组相比,经 SNP 200、500、1 000 和 $2\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 诱导处理后,膜质相对透性分别平均降低了 4.06%、11.28%、27.99% 和 33.41%.

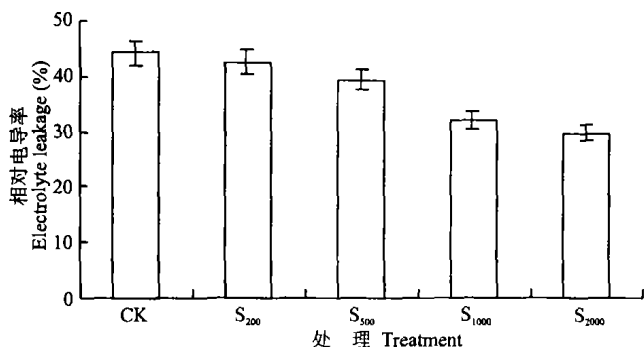


图 2 NO 供体 SNP 对叶片膜质相对透性的影响

Fig.2 Effect of SNP on electrolyte leakage of leaves under different treatments.

3.3 外源 NO 干旱胁迫下对杨树叶片渗透调节物质含量的影响

3.3.1 杨树叶片可溶性糖含量 图 3 结果表明,杨树叶片可溶性糖含量上升,并随 SNP 浓度增加而升高趋势.在干旱处理 1 h 后, S_{500} 、 S_{1000} 和 S_{2000} 处理组分别比对照组提高 18.92%、36.03% 和 57.65%.干旱处理 3 h 后,则分别比对照提高 16.19%、24.64% 和 36.62%.说明水分胁迫下,杨树通过可溶性糖的积累和合成来参与体内的渗透调节.杨树积累和合成可溶性糖的能力随干旱胁迫的时间和 SNP 诱导处理浓度的增加而提高($P < 0.01$),表明可溶性糖的增加是杨树对水分胁迫的适应性反应.

3.3.2 杨树叶片可溶性蛋白含量 由图 3 可见,在水分胁迫条件下,杨树叶片可溶性蛋白呈上升趋势,表现为随 SNP 浓度增加而升高.在干旱处理 1 h 后, S_{500} 、 S_{1000} 和 S_{2000} 处理组比对照组分别提高 38.64%、57.38% 和 110.22%;干旱处理 3 h 后则分别提高 28.18%、41.82% 和 100%.说明水分胁迫下,杨树通过可溶性蛋白的积累和合成来参与体内的渗透调节.杨树积累和合成可溶性蛋白的能力随干旱胁迫的时间和 SNP 诱导处理浓度的增加而明显提高($P < 0.01$).表明可溶性蛋白的增加是杨树对水分胁迫的适应性反应,水分胁迫和 NO 供体 SNP 可导致杨树可溶性糖和可溶性蛋白含量的加速积累和合成增加.

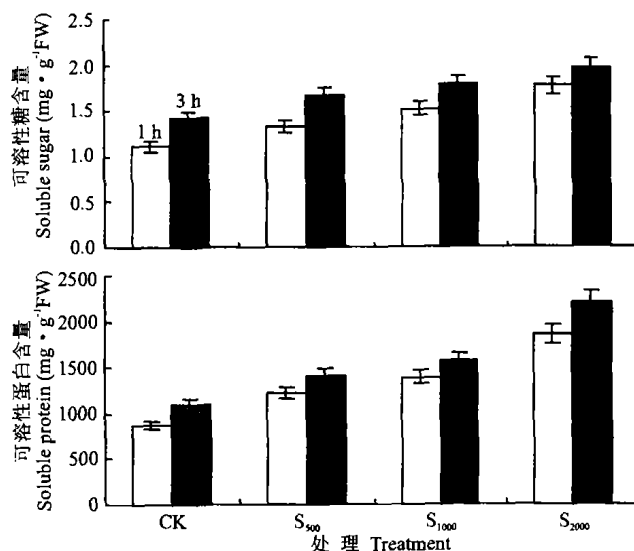


图 3 NO 供体 SNP 对叶片可溶性糖和可溶性蛋白含量的影响

Fig.3 Effect of SNP on soluble sugar and soluble protein of leaves under different treatments.

3.4 外源 NO 对杨树叶片气体交换参数的影响

干旱胁迫下杨树叶片 P_n 下降(图 4).短时间胁迫(1 h) P_n 下降幅度较少,随着胁迫时间的增加, P_n 值下降明显.而 P_n 在 NO 供体 SNP 作用下的变化幅度较对照组小,但随干旱胁迫时间的延长,也出现明显的下降趋势.通过 Duncan 分析,不同处理中叶片 P_n 随干旱时间的延长均表现出显著降低.在干旱处理 1 h 下, P_n 值随 SNP 浓度的增大先升后降,表明 SNP 对树木叶片光合具有双重性,低浓度 SNP 具有促进光合作用,高浓度 SNP 抑制叶片光合作用.随干旱胁迫程度的增加,SNP 的作用明显降低.

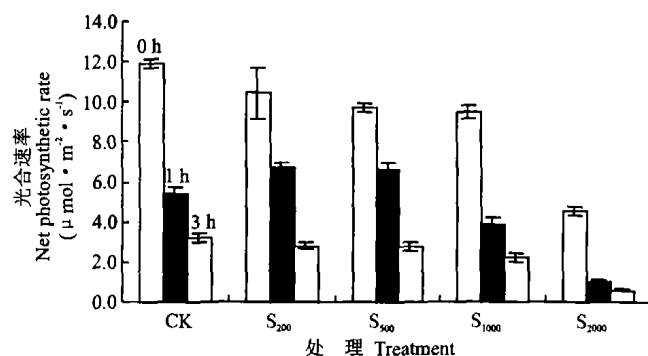


图 4 NO 供体 SNP 对叶片净光合速率的影响

Fig.4 Effect of SNP on net photosynthetic rate of leaves under different treatments.

3.5 干旱胁迫下外源 NO 对杨树叶片荧光参数的影响

F_m/F_0 值是反映光系统 II 电子传递状况的一个荧光参数^[16].由图 5 可以看出,加入 NO 供体 SNP 未使 F_0 受到影响,却显著提高了最大荧光 (F_m) 值,从而使可变荧光与初始荧光 (F_0) 的比值增加.其中 SNP $1\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 影响最大,SNP 对杨

树影响效应随 SNP 浓度的增加而增加. 例如在对照组中, F_m/F_o 值随干旱处理时间的延长明显降低; 而在经过 SNP500 处理后的干旱处理组 F_m/F_o 值比对照有所提高. 光合作用的光抑制以最大荧光或可变荧光($F_v = F_m - F_o$)的降低为特征. F_v/F_m 和 F_v/F_o 常用于度量叶片光合系统 II 原初光能转换效率及 PSII 潜在活力. 不同浓度 SNP 处理的杨树在受干旱处理后, 树木叶片的 Chla 荧光参数 F_o 与对照相近, 由于 F_v 与对照处理植株有显著降低, 结果 F_v/F_o 和 F_v/F_m 的比值有所提高. 提高幅度最大的是 SNP 1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理的未受干旱胁迫的植株. 在干旱处理植株中, SNP 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 对干旱胁迫植株的 F_v/F_o 和 F_v/F_m 的比值提高最大(图 5). 表明干旱胁迫下, 杨树叶片中 F_m/F_o 、 F_v/F_o 和 F_v/F_m 值均出现下降趋势. 这说明干旱胁迫可促进杨树叶片的光合作用发生光抑制现象. 而 NO 供体 SNP 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 干旱处理 1 h 的 F_m/F_o 、 F_v/F_o 和 F_v/F_m 分别提高了 18.23%、23.43% 和 4.41%, 以后随着处理时间的延长, SNP 处理植株 Chla 荧光参数 F_m/F_o 、 F_v/F_o 和 F_v/F_m 仍较相对应的干旱处理低.

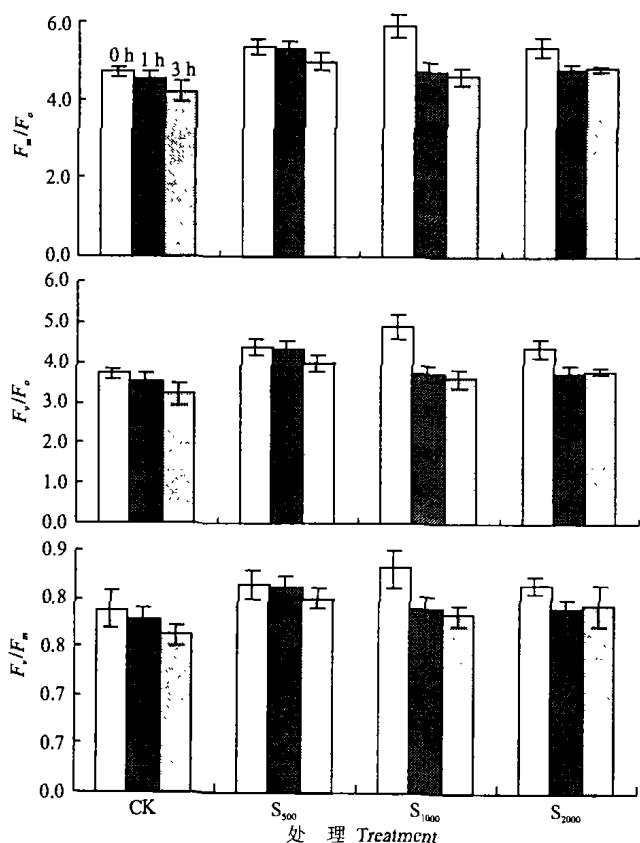


图 5 NO 供体 SNP 对叶绿素荧光参数的影响
Fig. 5 Effect of SNP on chlorophyll fluorescence parameter of leaves under different treatments.

3.6 干旱胁迫下外源 NO 对杨树叶片 SOD 和 POD

活性的影响

由图 6 可见, NO 对杨树叶片 SOD 和 POD 活力具有显著影响($P < 0.01$), 随着 SNP 浓度的增加, SOD 和 POD 酶活性呈下降趋势. 进一步 Duncan 分析表明, 不同浓度 SNP 对杨树叶片 POD 酶活性具有显著提高作用($P < 0.01$), 当浓度达到 1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 后, POD 活性出现下降. 这表明 NO 供体 SNP 能明显提高杨树叶片体内清除活性氧 POD 酶的活性. 当 PEG 干旱处理 1 h 后, NO 供体 SNP 对干旱胁迫的杨树叶片的 POD 具有显著影响, 随着干旱时间的延长至 3 h, NO 供体 SNP 对杨树叶片 POD 活性仍有影响. 在相同 SNP 浓度处理条件下, 杨树 POD 活性随干旱时间的延长而明显下降. 例如 SNP500 干旱处理 1 h 和 3 h 分别比对照组降低 55.59% 和 73.42%, SNP2000 干旱处理 1 h 和 3 h 分别比对照组降低 57.87% 和 62.71%. 经 NO 供体 SNP 处理后不同干旱强度处理下 POD 酶的活性均明显提高(图 6).

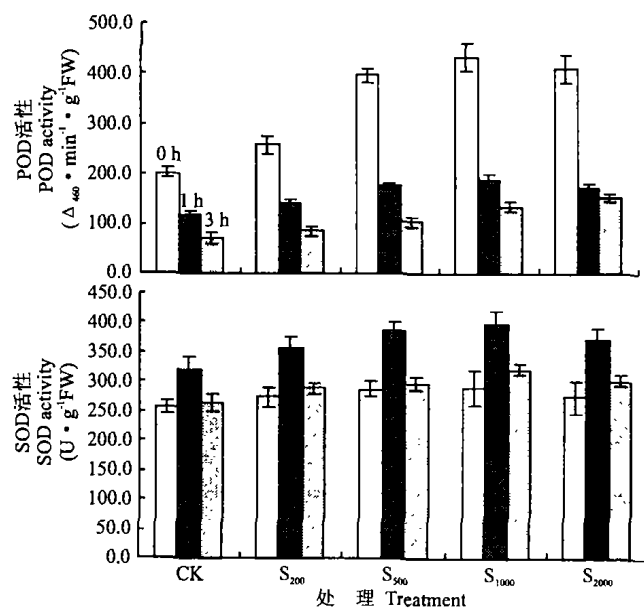


图 6 外源 NO 对杨树叶片 SOD 和 POD 酶活性的影响
Fig. 6 Effects of NO on the SOD and POD activities in populus leaves.

图 6 结果表明, 不同干旱强度下杨树叶片 SOD 的变化不同. PEG 干旱处理 1 h 使杨树叶片 SOD 活性上升, 而随干旱处理时间的延长(3 h)则导致 SOD 活性下降($P < 0.01$). 经 NO 供体 SNP 处理后, 两组干旱处理下的 SOD 活性均明显提高. 其中 200、500、1 000 和 2 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP 使干旱处理 1 h 的杨树 SOD 的活性分别提高 20.60%、33.18%、37.78% 和 31.94%. 另一方面, 200、500、1 000 和 2 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP 也使对照组的杨树叶片 SOD 活性略微提高. 在相同 SNP 浓度处理中, 干旱 1 h

的杨树明显地较 0 h 或 3 h 处理组高,而干旱 3 h 的杨树叶片 SOD 活性则明显降低,极易发生过氧化伤害。

4 讨 论

4.1 干旱胁迫下外源 NO 对树木叶片含水量影响

NO 是一种非常活跃的分子,对氧化胁迫状态下的叶片具有保护作用。它在植物体内主要通过一氧化氮合成酶(NOS)和硝酸还原酶(NR)催化合成^[30,31]。生成的 NO 可参与不同的生化过程^[12,18]。SNP 是一种重要的 NO 供体,0.5 mmol·L⁻¹的 SNP 能产生 2.0 μmol·L⁻¹的 NO^[10]。在干旱条件下,NO 能增强水分胁迫的耐受力。Bray 等^[4]研究报道,当植物受干旱胁迫的作用时,NO 处理使植物对干旱耐受力增高。Carlos 等^[6]用 SNP 对离体叶片进行预处理,结果表明,与对照组相比,NO 处理植物耐受干旱胁迫的能力增高达 15%。本研究表明,外源 NO 处理能明显地缓解杨树干旱胁迫作用(图 1~3)。叶片的水势也明显高于对照组(图 2),与 Carlos 等^[5]研究 NO 供体处理小麦提高叶片含水率的结果一致。这是由于水分胁迫下 NO 可明显地诱导叶片气孔关闭,增加气孔阻力,降低蒸腾速率,从而提高叶片含水率。

4.2 干旱胁迫下外源 NO 对树木叶片光合能力的影响

渗透调节是植物适应水分胁迫的一种重要机制^[27]。可溶性蛋白和可溶性糖是植物重要的渗透调节物质,并有保护酶活的作用^[21]。可溶性蛋白和可溶性糖的升高可作为植物抗氧化能力和耐旱性的综合指标^[15]。本研究结果与众多研究结果一致^[26,33]。干旱处理 3 h 后,不同浓度 SNP 处理下的杨树叶片内含物质均有不同程度的升高,表明外源 NO 具有明显提高杨树叶片渗透调节物质的能力,提高植物抗旱能力。植物在逆境条件下遭受逆境伤害的主要机制之一是膜系统稳定性的破坏^[26,27],自由基的形成与清除的动态平衡被破坏,过剩的自由基对生物大分子起破坏作用,引起膜脂的过氧化,使其不饱和度下降,膜流动性下降,透性增加^[17]。但在本研究中,SNP 对杨树叶片膜脂相对透性影响不明显,而对叶片光合机构具有明显的保护作用。适量的外源 SNP 对杨树叶片 P_n 具有促进作用(图 4),低浓度 SNP 处理杨树叶片的 P_n 与对照组之间差异不显著,且略有下降。200 μmol·L⁻¹和 500 μmol·L⁻¹的 SNP 处理组杨树叶片 P_n 值最高,而当 SNP 浓度超

过 1 000 μmol·L⁻¹时,叶片 P_n 明显下降。表明 NO 具有双重性^[2],对植物光合作用起到一定的调节作用。这一结果可以通过杨树叶绿素 a 荧光反应进一步得到证明。本试验中,随着干旱胁迫的时间延长, F_m/F_o 、 F_v/F_o 和 F_v/F_m 比值上升(图 5),说明树木光合系统 II 原初光能转换效率及 PSII 潜在活力下降,树木将过多的光能以荧光的形式或热能方式耗散,以保护光合机构免于强光破坏^[16]。关于树木受水分胁迫叶片可变荧光的提高,主要是由于水分胁迫使 CO₂ 供应及同化受阻,叶片吸收的光能超过用于产生 ATP 和 NADPH 之所需,导致可变荧光或叶温的提高。由图 5 可以看出,NO 供体 SNP 未使 F_o 受到影响,却显著提高了 F_m 值,并使可变荧光与初始荧光 F_o 的比值有所增加。SNP 对树木的影响效应随 SNP 浓度的增加而增加。经过 SNP 处理的叶片随干旱时间加长, F_m/F_o 、 F_v/F_o 和 F_v/F_m 比值呈下降趋势,表明在水分胁迫下,NO 提高 PSII 系统电子传递的效率,相对降低了 PSII 的还原状态,对叶片光合器官免受过量的光能的伤害起重要作用。对于不同强度水分胁迫, F_m/F_o 、 F_v/F_o 和 F_v/F_m 值则随 SNP 浓度的增大差异降低,其原因有待于进一步研究。

4.3 干旱胁迫下外源 NO 对杨树叶片防护酶活性的影响

干旱胁迫下,防护酶活性的变化因植物品种、胁迫方式、胁迫强度和时间的不同^[26]。整个保护酶系统的防御能力的变化取决于几种酶间的协调综合的结果^[7]。本研究结果表明,几种防护酶的活性变化在 SNP 处理的干旱胁迫的进程中有所不同(图 6)。较短时间(1 h)水分胁迫下,杨树 SOD 活性升高,而较长时间(3 h)时,SOD 活性显著下降但高于对照组。SOD 是一种诱导酶,受底物的诱导,说明水分胁迫促进杨树叶片 O₂⁻ 的生成,诱导 SOD 活性增加。而 NO 供体 SNP 处理后,SOD 活性明显升高,从而说明树木水分胁迫具有明显的缓解作用。这与阮海华等^[24]的研究结果相一致。在 SNP 处理下,POD 活性不论水分胁迫时间长短(1 h、3 h)均比对照组高。同时,由 SOD 歧化 O₂⁻ 产生的 H₂O₂ 也增多,而清除 H₂O₂ 的主要酶 POD 活性在较短时间(1 h)水分胁迫已下降,NO 对 POD 活性有明显的提高作用(图 6)。说明杨树整个清除自由基防御系统的防御能力在水分胁迫初期已降低,而通过外源 NO 供体 SNP 可能缓解水分胁迫氧化伤害作用^[24]。这主要是由于 NO 参与血红素铁结合形成铁离子-亚硝酸

基复合物来降低 O_2^- 和 H_2O_2 的积累和生成^[8].

参考文献

- Beligni MV, Lamattina L. 2000. Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three light-inducible responses in plants. *Planta*, 210: 215~221
- Beligni MV, Lamattina L. 2001. Nitric oxide in plants: The history is just beginning! *Plant Cell Environ*, 24: 267~278
- Bolwell GP. 1999. Role of active oxygen species and NO in plant defense responses. *Cur Opin Plant Biol*, 2: 287~294
- Bray EA. 1997. Plant responses to water deficit. *Trends Plant Sci*, 2: 48~54
- Carlos GM, Lorenzo L. 2002. Nitric oxide and abscisic acid cross talk in guard cells. *Plant Physiol*, 128: 790~792
- Carlos GM, Lorenzo L. 2001. Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress. *Plant Physiol*, 126: 1196~1204
- Chen S-Y(陈少裕). 1991. Injury of membrane lipid peroxidation to plant cell. *Plant Physiol Comm* (植物生理学通讯), 27(2): 84~90(in Chinese)
- Clark D, Durner J, Navarre DA, et al. 2000. Nitric oxide inhibition of tobacco catalase and ascorbate peroxidase. *Molec Plant-Micro Interac*, 13(12): 1380~1384
- Corpas FJ, Barroso JB, del Rio LA. 2001. Peroxisomes as a source of reactive oxygen species and nitric oxide signal molecules in plant cells. *Trends Plant Sci*, 6: 145~150
- Delledonne M, Xia YJ, Dixon RA, et al. 1998. Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. *Nature*, 394: 585~588
- Durner J, Wendehenne D, Klessig DF. 1998. Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP and cyclic ADP ribose. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95: 10328~10333
- Foissner I, Wendehenne D, Langebartels C, et al. 2000. In vivo imaging of an elicitor-induced nitric oxide burst in tobacco. *Plant J*, 23(6): 817~824
- Giannopolitis CN, Ries SK. 1997. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol*, 59: 309
- Hammerschmidt R, Nuckles EM, Kuc J. 1982. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotric lagenarium*. *Physiol Plant Pathol*, 20: 73~82
- Han R-L(韩蕊莲), Li L-X(李丽霞), Liang Z-S(梁宗锁), et al. 2002. Seabuckthorn membrane-lipid peroxidation system under drought stress. *J Northwest For Coll*(西北林学院学报), 17(4): 1~5(in Chinese)
- He W-M(何维明), Ma F-Y(马风云). 2000. Effects of water gradient on fluorescence characteristics and gas exchange in *Sabina vulgaris* seedlings. *Acta Phytoecol Sin* (植物生态学报), 24(5): 630~634(in Chinese)
- Igram J, Bartels D. 1996. The molecular basis of dehydration tolerance in plant. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 47: 377~403
- Ji XB, Hollocher TC. 1988. Mechanism for nitrosation of 2, 3-diaminonaphthalene by *Escherichia coli*: Enzymatic production of NO followed by O_2 -dependent chemical nitrosation. *Appl Environ Microbiol*, 54(7): 1791~1794
- Kelm M, Dahmann R, Wink D. 1997. The nitric oxide/superoxide, insights into the biological chemistry of the NO/ O_2^- interaction. *J Biol Chem*, 272(15): 9922~9932
- Knowles RG, Moncada S. 1994. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J*, 298: 249~258
- Liang Z(梁 焯). 1994. Protective effect of betaine on respiratory enzymes. *Acta Bot Sin* (植物学报), 36(12): 947~951(in Chinese)
- Pedroso MC, Durzan D. 2000. Effect of different gravity environments on DNA fragmentation and cell death in Kalanchoe Leaves. *Ann Bot*, 86: 983~994
- Ren H-X(任红旭), Chen X(陈 雄), Sun G-J(孙国钧), et al. 2000. Response of wheat seedlings with different drought resistance to water deficiency and NaCl stresses. *Chin Appl Ecol* (应用生态学报), 11(5): 718~722(in Chinese)
- Ruan H-H(阮海华), Shen W-B(沈文彪), Ye M-B(叶茂炳), et al. 2001. Effect of nitric oxide on oxidation damage of wheat leaves under salt stress. *Chin Sci Bull* (科学通报), 46(23): 1993~1997(in Chinese)
- Shen W-B(沈文彪). 2003. Nitrate reductase is also a nitric oxide-synthesis enzyme in plants. *Plant Physiol Comm* (植物生理学通讯), 39(4): 168~170(in Chinese)
- Sun G-R(孙国荣), Peng Y-Z(彭永臻), Yan X-F(阎秀峰), et al. 2003. Effect of drought stress on activity of cell defense enzymes and lipid peroxidation in leaves of *Betula platyphylla* seedlings. *Sci Silvae Sin* (林业科学), 39(1): 165~167(in Chinese)
- Tang Z-C(汤章城). 1983. Acclimate and response of water stress in plant II. Acclimate and response of drought stress in plant. *Plant Physiol Comm* (植物生理学通讯), (4): 1~7(in Chinese)
- Wang M(王 焱), Li Q-R(李秋荣), Fu S-L(付士磊), et al. 2005. Effects of exogenous nitric oxide on photosynthetic characteristics of poplar leaves under water stress. *Chin Appl Ecol* (应用生态学报), 16(2): 218~222(in Chinese)
- Wang M(王 焱), Li Q-R(李秋荣), Fu S-L(付士磊), et al. 2004. Nitric oxide, a signaling component of ABA-induced stomatal closure. *Chin Appl Ecol* (应用生态学报), 15(10): 1776~1780(in Chinese)
- Wendehenne D, Pugin A, Klessig DF, et al. 2001. Nitric oxide: Comparative synthesis and signaling in animal and plant cells. *Trends Plant Sci*, 6(4): 177~183
- Wildt J, Kley D, Rockel A, et al. 1997. Emission of NO from several higher plant species. *J Geophys Res*, 102: 5919~5927
- Wojtaszek P. 2000. Nitric oxide in plants - To NO or not to NO. *Phytochemistry*, 54: 1~4
- Yan X-F(阎秀峰), Li J(李 晶), Zhu Y-G(祖元刚). 1999. Effect of drought stress activity of cell defense enzymes and lipid peroxidation in Korean pine. *Acta Ecol Sin* (生态学报), 19(6): 850~854(in Chinese)

作者简介 王焱,男,1964年生,副研究员.主要从事树木生理生态学研究,发表论文50余篇. E-mail: wangmiao@iae.ac.cn