

外源一氧化氮对 NaCl 胁迫下番茄幼苗生理影响

吴雪霞^{1,2}, 朱月林¹, 朱为民², 陈建林², 刘正鲁¹

(¹南京农业大学园艺学院, 南京 210095; ²上海市农业科学院园艺研究所/上海市设施园艺技术重点实验室, 上海 201106)

摘要: 【目的】探明 NO 对 NaCl 胁迫下番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 幼苗的生长和叶片氧化损伤具有保护作用。【方法】在 100 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫下, 研究了 0.05~0.8 mmol·L⁻¹ 外源 NO 供体硝普钠 (SNP) 处理对番茄幼苗生长、叶片保护酶活性和氧化损伤的影响。【结果】0.1 mmol·L⁻¹ SNP 处理缓解 NaCl 胁迫伤害的效果最好, 显著提高了番茄幼苗生长, 叶片叶绿素含量, 保护酶 SOD、POD、CAT、APX 活性, 脯氨酸和可溶性糖含量。显著降低了 MDA 和 O₂⁻ 含量。【结论】外源 NO 缓解番茄幼苗 NaCl 胁迫具有剂量效应, 以 0.1 mmol·L⁻¹ SNP 的效果最好, 从而增强植株的耐盐性。

关键词: 一氧化氮; NaCl 胁迫; 保护酶活性; 氧化损伤; 番茄

Physiological Effects of Exogenous Nitric Oxide in Tomato Seedlings Under NaCl Stress

WU Xue-xia^{1,2}, ZHU Yue-lin¹, ZHU Wei-min², CHEN Jian-lin², LIU Zheng-lu¹

(¹College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095; ²Horticultural Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences/Shanghai Key Laboratory of Protected Horticultural Technology, Shanghai 201106)

Abstract: 【Objective】The purpose of this paper is to clarify the protective effects of nitric oxide (NO) on seedling growth and leaf oxidative damage in NaCl stressed tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). 【Method】Under 100 mmol·L⁻¹ NaCl stress condition, the effects of sodium nitroprusside (SNP, an exogenous nitric oxide donor) at the concentrations of 0.05-0.8 mmol·L⁻¹ on the growth, leaf protective enzymatic activities and oxidative damage in tomato seedlings were investigated. 【Result】The best effect on the alleviation of NaCl stress damage was observed in the treatment of 0.1 mmol·L⁻¹ SNP. At this concentration, the seedling growth, chlorophyll content, activities of protective enzymes (including SOD, POD, CAT and APX) in leaves, and contents of proline and soluble sugar in leaves were significantly increased, while malondialdehyde (MDA) content and O₂⁻ producing rate in leaves were significantly decreased. 【Conclusion】The above results indicated that dosage effect of exogenous nitric oxide donor (SNP) existed on the alleviation of NaCl stress in tomato seedlings, and the best alleviating effect on NaCl stress damage was 0.1 mmol·L⁻¹ SNP, which elevated the salt tolerance of plants.

Key words: Nitric oxide; NaCl stress; Activities of protective enzymes; Oxidative damage; Tomato

0 引言

【本研究的重要意义】一氧化氮(nitric oxide, NO)是植物生长和发育的调节分子^[1], 能够对生物和非生物的逆境作出反应, 参与干旱胁迫^[2]、热激^[3]、盐胁迫^[4,5]等多种生理过程。土壤盐渍化是一个全球性的影响农业生产及生态环境的问题。据统计, 全世界的盐

渍土面积有 9.5×10⁸ ha, 中国约有 2.7×10⁷ ha。在中国 0.67×10⁸ ha 耕地中就有 10%为盐渍化土壤。并且过量的施肥及降雨的缺乏加剧了盐渍化程度, 使土壤盐渍化面积逐年增加^[6]。提高植物耐盐性是克服土壤盐渍化的一条重要途径^[7]。因此, 研究盐胁迫下 NO 与植物耐盐性的关系具有重要意义。【前人研究进展】NO 对植物体具有保护和毒害两种效应, 一方面, 低浓度

收稿日期: 2005-08-10; 接受日期: 2006-01-20

基金项目: 教育部高校博士点基金资助项目(20030307020), 江苏省科技厅资助项目(BC2003306, BE2002304), 教育部留学回国人员科研启动基金资助项目([2001] 498)

作者简介: 吴雪霞(1978-), 女, 山东菏泽人, 博士研究生, 研究方向为蔬菜栽培生理。通讯作者朱月林(1963-), 男, 江苏吴江人, 教授, 博士生导师, 研究方向为蔬菜栽培生理和生物技术。Tel: 025-84396472; E-mail: ylzhu@njau.edu.cn

NO 可作为抗氧化剂对 O_2^- 等活性氧分子 (ROS) 具有清除作用, 而且能够诱导抗氧化酶基因的表达, 从而具有保护作用^[8]; 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 ($-OONO$), 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, 具有生物毒性^[9]。Leshem 等^[10]最早发现 NO 对豌豆的生长和发育具有调控作用, Mata 等^[2]发现 NO 能够通过诱导小麦气孔关闭来提高其抗旱性; Uchida 等^[3]报道了 NO 对盐胁迫下水稻叶片的氧化损伤具有保护作用; 张艳艳等^[4]报道了 NO 能够缓解盐胁迫对玉米生长的抑制作用; 阮海华等^[11]发现 NO 对盐胁迫下小麦叶片的氧化损伤具有保护作用。【本研究切入点】从前人研究来看, NO 对盐胁迫下植物生理生化的影响均是以大田作物为材料进行的, 蔬菜作物上尚鲜有报道, 番茄是设施栽培的主要蔬菜之一, 土壤次生盐渍化严重影响了蔬菜生产的可持续发展和蔬菜生产者的经济效益^[7]。【拟解决的关键问题】以番茄为材料, 研究外施不同浓度 NO 对 NaCl 胁迫下番茄幼苗生长、叶片保护酶活性和氧化损伤的影响, 探讨 NO 缓解番茄 NaCl 胁迫的生理生化机理, 以期改善土壤次生盐渍化提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 品种为宝大 903, 由上海市农业科学院提供。

1.2 方法

1.2.1 试材培育 试验在南京农业大学温室内进行。2005 年 3 月 31 日种子浸种催芽, 出芽后分别播于直径 10 cm、高 10 cm 的塑料营养钵中, 蛭石作基质。真叶展开后每 2 d 浇 1/8 浓度日本园试营养液 (EC 值

为 $0.56 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$) 1 次, 每株浇 50 ml, 3 片真叶后每株浇 80 ml。4 月 29 日, 当幼苗具有 4~5 片真叶时, 挑选生长一致的植株洗净根部基质后, 移栽于长 47 cm、宽 34 cm、高 12 cm 的塑料箱中, 每箱盛 12 L 营养液, 用厚度为 3 cm 的泡沫塑料板做成楔形盖子, 覆盖在塑料箱顶部, 在泡沫塑料板上挖 6 个直径为 3 cm 的小孔 (每箱 2 行, 每行 3 孔, 行距 10 cm, 株距 14 cm), 用海绵包裹幼苗下胚轴, 然后植入塑料板的孔中, 每箱栽 6 株, 用 1/8 浓度日本园试营养液进行栽培。1 周后换成 1/4 浓度营养液 (EC 值为 $0.83 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$), 此后每 4 d 更换 1 次营养液。营养液栽培期间用电动气泵 24 h 连续通气。

1.2.2 SNP 溶液配制 NO 供体硝普钠 (sodium nitroprusside, SNP, 购自德国 Merck 公司), 先用蒸馏水配制 $100 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的母液, $4\text{ }^\circ\text{C}$ 保存, 用时按试验所需的浓度进行稀释。

1.2.3 试验处理 5 月 11 日, 当植株具有 6~7 片真叶时, 用含 $100 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 的 1/4 浓度日本园试营养液进行盐胁迫处理, 同时在溶液中加入不同浓度硝普钠, 处理期间每天更换营养液。设 8 种试验处理 (表 1), 每处理 6 株, 3 次重复, 在温室内随机排列, 处理第 4 天取样进行各项指标的测定。

1.2.4 测定项目及方法 叶绿素含量的测定参照 Arnon^[12]的方法; 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的测定按陈贻竹等^[13]的方法, 以每分钟抑制氮蓝四唑 (NBT) 光还原 50% 为一个酶活力单位 (U), 酶的活性以 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{min}^{-1}$ 表示; 过氧化物酶 (POD) 活性的测定采用愈创木酚法^[13], POD 活性以每分钟减少 0.01 个 A 值所需的酶量为一个活性单位 (U), 酶活性以 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{min}^{-1}$ 表示; 过氧化氢酶 (CAT) 活性的测定采用 Cakmak 等^[14]的方法, CAT 活性以每分钟减少 0.01 个 A 值所需的酶量为一个活性单位 (U), 酶

表 1 试验处理和编号

Table 1 Experimental treatments and their codes

处理编号 Code of treatment	营养液浓度 Strength of nutrient solution	NaCl 浓度 NaCl concentration ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	SNP 浓度 SNP concentration ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)
S0	1/4	0	0
S1	1/4	100	0
S2	1/4	100	0.05
S3	1/4	100	0.1
S4	1/4	100	0.2
S5	1/4	100	0.4
S6	1/4	100	0.6
S7	1/4	100	0.8

活性以 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{min}^{-1}$ 表示; 抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性的测定按照 Nakano 和 Asada^[15] 的方法; 丙二醛 (MDA) 含量的测定采用硫代巴比妥酸法^[16], 以 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 表示 MDA 含量, O_2^- 产生速率的测定参照王爱国等^[17] 的方法, 以 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{min}^{-1}$ 表示 O_2^- 产生速率; 脯氨酸含量的测定采用磺基水杨酸法^[18]; 可溶性糖含量的测定采用蒽酮比色法^[19]。处理结束后进行生物量的测定, 将植株的地上部和地下部分开, 自来水冲洗 3 次, 蒸馏水洗净吸干, 称鲜重后, 110°C 杀青 5 min 后于 80°C 烘干至恒重。按干重/鲜重计算干物率 (%)。

1.3 统计分析

数据采用 Microsoft Excel 软件进行绘图, 用 SPSS 统计软件对平均数用 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 胁迫下番茄幼苗生长的影响

如表 2 所示, $100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 单独处理时 (S1),

番茄幼苗地上部和地下部干重均显著低于未经 NaCl 胁迫处理的 (S0), 分别下降了 36.04% 和 46.88%。与 S1 相比, $0.05\sim 0.8\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP 处理均使幼苗在盐胁迫下的生物量增加, 不同浓度 SNP 处理对番茄幼苗生物量积累的影响存在差异, 其中以 SNP $0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理 (S3) 效果最好, 地上部和地下部干重均显著高于 NaCl 单独处理的 (S1), 分别提高了 76.06% 和 230.88%; SNP 浓度高于 $0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 后, 生物量积累呈下降趋势。

NaCl 单独处理时 (S1), 番茄幼苗地上部和地下部干物率均显著高于未经 NaCl 胁迫处理的 (S0), 分别增加了 87.75% 和 127.51%。与 S1 相比, SNP 浓度在 $0.05\sim 0.8\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 内, 番茄幼苗地上部和地下部干物率均下降, 不同浓度 SNP 处理对番茄幼苗干物率的影响存在差异, 其中以 SNP $0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理时 (S3) 地上部和地下部干物率最低。

2.2 外源 NO 对 NaCl 胁迫下番茄幼苗叶片叶绿素含量的影响

如表 3 所示, $100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 单独处理时 (S1),

表 2 外源 NO 对 NaCl 胁迫下番茄幼苗生长的影响

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

处理 Treatment	地上部干重 Shoot dry weight (g/plant)	地下部干重 Root dry weight (g/plant)	地上部干物率 Shoot dry matter percent (%)	地下部干物率 Root dry matter percent (%)
S0	5.55±0.10a	1.28±0.10b	5.47±0.12bc	4.29±0.02c
S1	3.55±0.30c	0.68±0.05c	10.27±0.25a	9.76±0.91a
S2	4.65±0.34b	1.25±0.10b	5.27±0.15bc	5.05±0.10bc
S3	6.25±0.19a	2.25±0.17a	3.91±0.22d	3.48±0.39d
S4	4.50±0.35b	1.25±0.13b	4.62±0.42c	4.12±0.20c
S5	4.28±0.56bc	1.05±0.10bc	5.36±0.33bc	5.08±0.35bc
S6	3.90±0.26bc	1.03±0.04bc	5.82±0.43bc	5.43±0.16bc
S7	3.60±0.30c	0.72±0.10c	7.28±0.53b	6.72±0.49b

同列数值不同字母表示差异达 5% 显著水平。表 3 同

Different letters within the same column indicate significant difference at 5% level. The same as Table 3

表 3 外源 NO 对 NaCl 胁迫下番茄幼苗叶片叶绿素含量的影响

Table 3 Effects of exogenous nitric oxide on the chlorophyll content in leaves of tomato seedlings under NaCl stress

处理 Treatment	叶绿素 a 含量 Chlorophyll a content ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)	叶绿素 b 含量 Chlorophyll b content ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)	叶绿素 (a+b) 含量 Chlorophyll (a+b) content ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)
S0	1.245±0.006a	2.393±0.011a	3.638±0.017a
S1	0.799±0.001e	1.950±0.002e	2.750±0.003e
S2	1.189±0.025b	2.272±0.048b	3.461±0.073b
S3	1.249±0.002a	2.388±0.004a	3.637±0.006a
S4	1.245±0.001a	2.381±0.002a	3.626±0.003a
S5	1.135±0.001c	2.170±0.001c	3.305±0.002c
S6	1.121±0.001c	2.143±0.002c	3.264±0.003c
S7	1.020±0.001d	2.001±0.001d	3.021±0.002d

番茄幼苗叶片叶绿素总量(a+b)、叶绿素a和叶绿素b含量均显著低于未经NaCl胁迫处理的(S0)。与S1相比,不同浓度SNP处理均能提高NaCl胁迫下番茄幼苗叶片的叶绿素含量,其中SNP 0.1 mmol·L⁻¹处理(S3)叶片叶绿素含量最高,叶绿素总量(a+b)、叶绿素a和叶绿素b均显著高于NaCl单独处理的(S1),分别增加了32.25%、56.32%和22.46%。

2.3 外源NO对NaCl胁迫下番茄幼苗叶片保护酶活性的影响

由图1可知,SNP处理对番茄幼苗叶片SOD、POD、CAT和APX的活性具有显著影响,随着SNP浓度的增加,4种酶活性均呈先升高后下降的趋势,表明SNP对番茄幼苗叶片上述4种酶活性的影响具有剂量效应,低浓度促进酶活性,高浓度抑制酶活性。

从图1-A可知,100 mmol·L⁻¹ NaCl单独处理时(S1),番茄幼苗叶片SOD活性显著高于未经NaCl胁迫处理的(S0)。与S1相比,0.05~0.4 mmol·L⁻¹ SNP处理(S2~S5)均能显著提高SOD活性,其中以SNP 0.1 mmol·L⁻¹处理(S3)活性最高,比S1增加了94.43%。0.6 mmol·L⁻¹ SNP处理(S6)与S1差异不显著;0.8 mmol·L⁻¹ SNP处理(S7)显著低于S1。

如图1-B所示,NaCl单独处理时(S1),番茄幼

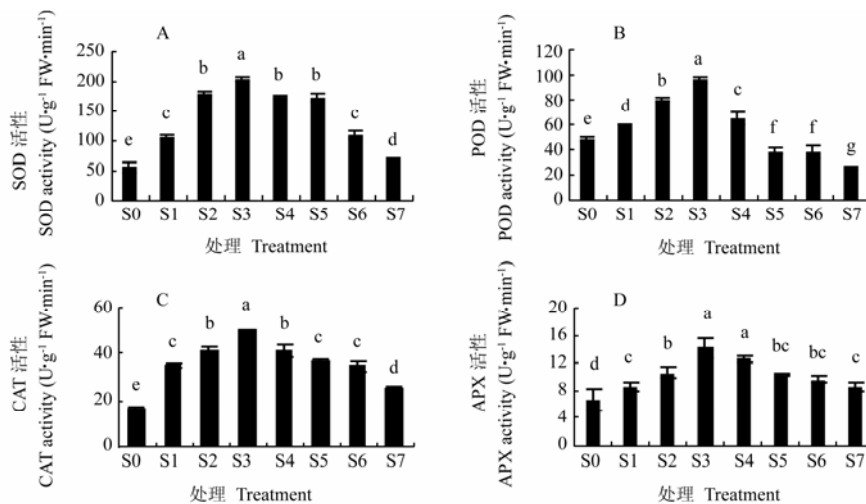
苗叶片POD活性显著高于未经NaCl胁迫处理的(S0)。与S1相比,0.05~0.2 mmol·L⁻¹ SNP(S2~S4)显著提高POD活性,其中以S3活性最高。当SNP浓度达到0.4 mmol·L⁻¹ (S5)以上,POD活性显著低于S1。

从图1-C可知,NaCl单独处理时(S1),番茄幼苗叶片CAT活性显著高于未经NaCl胁迫处理的(S0)。0.05~0.2 mmol·L⁻¹ SNP处理(S2~S4)的活性均显著高于NaCl单独处理的(S1),其中以S3活性最高。

如图1-D所示,NaCl单独处理时(S1),番茄幼苗叶片APX活性显著高于未经NaCl胁迫处理的(S0)。与S1相比,0.05~0.2 mmol·L⁻¹ SNP(S2~S4)显著提高APX活性,其中以S3活性最高。其余浓度SNP处理的APX活性与S1差异不显著。

2.4 外源NO对NaCl胁迫下番茄幼苗叶片MDA和O₂⁻含量的影响

如图2-A所示,100 mmol·L⁻¹ NaCl单独处理时(S1),番茄幼苗叶片MDA含量显著高于未经NaCl胁迫处理的(S0),增加了104.45%。与S1相比,不同浓度的SNP处理均可降低NaCl胁迫下MDA的含量,其中以S2和S3含量最低,分别比NaCl单独处



图中不同小写字母表示差异达5%显著水平。图2、图3同
Different small letters within figures indicate significant difference at 5% level. The same as Fig.2, Fig.3

图1 外源NO对NaCl胁迫下番茄幼苗叶片SOD(A), POD(B), CAT(C)和APX(D)活性的影响

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

理的 (S1) 降低了 47.83% 和 49.84%。SNP 浓度高于 $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (S3) 后, MDA 的含量随着 SNP 浓度的提高而增大。

O_2^- 释放速率的测定结果表明 (图 2-B), $100 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 单独处理时 (S1) 比未经 NaCl 胁迫处理的 (S0) 显著促进 O_2^- 的释放。与 S1 相比, 不同浓度的 SNP 处理均可显著降低 NaCl 胁迫下 O_2^- 释放速率, 6 种 SNP 浓度中, 以 S2 和 S3 的 O_2^- 产生速率最低, 比 NaCl 单独处理的 (S1) 分别降低了 37.24% 和 38.20%。SNP 浓度高于 $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (S3) 后, O_2^- 释放速率随着 SNP 浓度的增加而变大。

2.5 外源 NO 对 NaCl 胁迫下番茄幼苗叶片脯氨酸和可溶性糖含量的影响

由图 3-A 可知, $100 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 单独处理时

(S1), 脯氨酸含量显著高于未经 NaCl 胁迫处理的 (S0)。与 S1 相比, $0.05\sim 0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP 处理 (S2 和 S3) 均能显著提高 NaCl 胁迫下脯氨酸含量, 其中 SNP $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理 (S3) 脯氨酸含量最高, 比 NaCl 单独处理时 (S1) 提高了 53.12%。而当 SNP 浓度继续升高时, 脯氨酸含量显著下降; SNP $0.8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理 (S7) 的脯氨酸含量最低。

如图 3-B 所示, $100 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 单独处理时 (S1), 可溶性糖含量显著高于未经 NaCl 胁迫处理的 (S0)。与 S1 相比, 不同浓度的 SNP 处理对可溶性糖含量的影响存在差异, 其中以 SNP $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的处理 (S3 和 S4) 效果最好, 比 NaCl 单独处理时 (S1) 分别增加了 34.46% 和 30.67%。

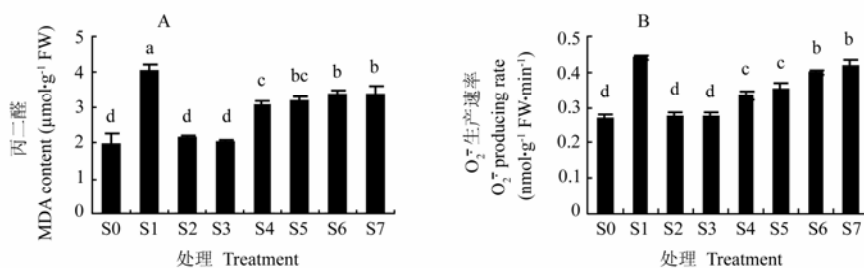


图 2 外源 NO 对 NaCl 胁迫下番茄幼苗叶片 MDA (A) 和 O_2^- (B) 含量的影响

Fig. 2 Effects of exogenous nitric oxide on the MDA (A) and O_2^- (B) contents in leaves of tomato seedlings under NaCl stress

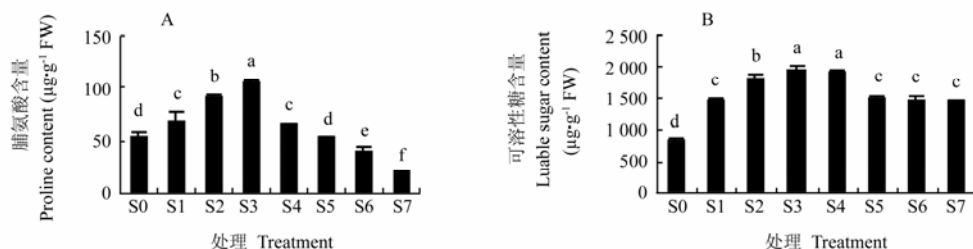


图 3 外源 NO 对 NaCl 胁迫下番茄幼苗叶片脯氨酸 (A) 和可溶性糖 (B) 含量的影响

Fig. 3 Effects of exogenous nitric oxide on proline (A) and soluble sugar (B) contents in leaves of tomato seedlings under NaCl stress

3 讨论

NO 具有信号分子的作用, 可以减少非生物胁迫下植物体内 ROS 的积累, 缓解各种胁迫造成的氧化损伤, 从而增强植物的适应能力^[1]。Zhao 等^[5]发现 NO 可诱导盐胁迫下芦苇质膜 H^+ -ATPase 的活性, 提高芦

苇的耐盐性。阮海华等^[11]也证实低浓度 NO 可缓解盐胁迫下小麦幼苗叶片的膜脂过氧化, 提高小麦耐盐性。SNP 是一种重要的 NO 供体, Delledonne 等^[20]的研究结果表明, 用 $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SNP 处理悬浮培养的大豆细胞 2 h 约能产生 $2.0 \text{ μmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NO。本试验研究了 SNP 对 NaCl 胁迫下番茄幼苗生理生化的影响。结

果表明, SNP 处理对 NaCl 胁迫下番茄幼苗具有明显的保护作用, 包括促进植株生长、延缓叶绿素降解、降低 NaCl 胁迫导致的番茄幼苗叶片 MDA 和 O_2^- 含量的上升和促进 4 种保护酶活性等 (表 2 和表 3, 图 1 和图 2)。

NaCl 胁迫下番茄幼苗生物量的积累受到明显抑制, 外源 NO 供体 SNP 可以缓解浓度为 $100 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaCl 胁迫对番茄幼苗生长的抑制作用 (表 2), 其中 SNP $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (S3) 的缓解效果最好, 这与张艳艳等^[4]的结果相一致。

叶绿体是植物进行光合作用的部位, 也是细胞中对盐敏感的细胞器^[21]。叶绿素酶引起叶绿素的降解, NaCl 能增强叶绿素酶的活性, 加速叶绿素分解。盐胁迫下, 植物细胞叶绿体和线粒体电子传递中泄漏的电子增加, 活性氧大量产生。蒋明义等^[22]证实了渗透胁迫下叶绿素的降解主要与活性氧引起的氧化损伤有关, 水分胁迫下活性氧的大量产生还会加剧 MDA 的积累^[23], 而质膜相对透性的增加则与脂质过氧化作用呈显著正相关^[21]。本试验结果表明, 较低浓度 SNP 显著提高了 NaCl 胁迫下叶绿素含量 (表 3), 从而缓解了 NaCl 胁迫引起的氧化损伤, 在一定程度上保护了叶绿体和细胞膜结构的完整。

Uchida 等^[3]也证实了 NO 对 NaCl 胁迫下水稻幼苗的生长具有促进作用, 并提高 SOD、POD、CAT 和 APX 的活性, 这与本文的结果相一致。 $\cdot\text{OH}$ 是导致植物叶绿素降解和脂质过氧化的主要因素, 而 O_2^- 可以通过 Haber-Weiss 和 Fenton 反应导致 $\cdot\text{OH}$ 的产生。NO 对植物细胞铁离子水平的调节也会影响 Fenton 反应^[24], 推测 NO 可能通过延缓 NaCl 胁迫下番茄幼苗叶片 O_2^- 的积累来间接降低 $\cdot\text{OH}$ 的生成, 从而缓解 NaCl 胁迫对番茄叶片造成的氧化损伤。

细胞中 MDA 含量的高低反映了细胞氧化损伤的程度。活性氧 (ROS) 水平的提高可以诱发脂质过氧化链式反应, 从而导致细胞膜的完整性遭受破坏。Mata 和 Lamattina^[2]报道了 NO 对干旱和盐胁迫引起的小麦幼苗的氧化胁迫具有缓解效应, 并可能与 NO 同 ROS 或脂质过氧化自由基发生反应而中断氧化胁迫减轻细胞膜损伤有关。本研究表明, NaCl 胁迫下番茄幼苗叶片 MDA 含量与 O_2^- 水平有较好的相关性 ($r=0.9700$, $P<0.05$) (图 2); SNP $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的处理 (S3) 可不同程度地提高 NaCl 胁迫下番茄幼苗叶片 SOD、POD、CAT 和 APX 活性, 显著降低 MDA

和 O_2^- 的水平, 从而有效地缓解 NaCl 胁迫对番茄幼苗叶片的氧化损伤作用 (图 1 和图 2)。

研究表明, NaCl 胁迫下, 植物合成一些小分子有机物质以增强其渗透调节能力, 改善水分状况。本试验结果表明, SNP 促进了 NaCl 胁迫下番茄幼苗叶片脯氨酸和可溶性糖的积累 (图 3)。脯氨酸的积累一方面可以增加细胞的渗透调节能力, 另一方面又可以避免细胞造成氨中毒, 因此, SNP 对番茄幼苗 NaCl 胁迫引起的氧化损伤所具有的缓解作用也可能与脯氨酸和可溶性糖的积累有关。

外源 NO 处理可明显提高 NaCl 胁迫下番茄幼苗植株生长、叶片叶绿素含量、叶片保护酶活性和降低 MDA、活性氧 O_2^- 含量, 并且促进脯氨酸和可溶性糖的积累, 增强植株的耐盐能力, 但 NO 与 NaCl 胁迫下植株体内活性氧代谢的直接关系和调节机理有待进一步深入研究。

由于 NO 是植物体内正常代谢的副产物, 如果能从调节体内 NOS 和 NR 等 NO 合成酶的活性入手, 适当提高内源 NO 的水平, 对于有效缓解 NaCl 胁迫引起的氧化损伤将更具有实践意义。

4 结 论

外源 NO 缓解番茄幼苗 NaCl 胁迫具有剂量效应, 以 $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP 的效果最好, 显著提高了番茄幼苗生长, 叶片叶绿素含量, 保护酶 SOD、POD、CAT、APX 活性, 脯氨酸和可溶性糖含量, 显著降低了 MDA 和 O_2^- 含量, 从而增强植株的耐盐性。

References

- [1] 张绪成, 上官周平, 高世铭. NO 对植物生长发育的调控机制. 西北植物学报, 2005, 25: 812-818.
Zhang X C, Shanguan Z P, Gao S M. Regulation mechanism of nitric oxide to plant growth and development. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2005, 25: 812-818. (in Chinese)
- [2] Mata C G, Lamattina L. Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress. *Plant Physiology*, 2001, 126: 1196-1204.
- [3] Uchida A, Jagendorf A T, Hibino T, Takabe T. Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. *Plant Science*, 2002, 163: 515-523.
- [4] 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: 455-459.
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: 455-459. (in Chinese)
- [5] Zhao L Q, Zhang F, Guo J K, Yang Y L, Li B B, Zhang L X. Nitric oxide functions as a signal in salt resistance in the calluses from two ecotypes of reed. *Plant Physiology*, 2004, 134: 849-857.
- [6] 魏国强, 朱祝军, 方学智, 李娟, 程俊. 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: 1754-1759.
- Wei G Q, Zhu Z J, Fang X Z, Li J, Cheng J. The effects of NaCl stress on plant growth, chlorophyll fluorescence characteristics and active oxygen metabolism in seedlings of two cucumber cultivars. *Scientia Agricultura Sinica*, 2004, 37: 1754-1759. (in Chinese)
- [7] 郭文忠, 刘声锋, 李丁仁, 赵顺山. 设施蔬菜土壤次生盐渍化发生机理的研究现状与展望. *土壤*, 2004, 36 (1): 25-29.
- Guo W Z, Liu S F, Li D R, Zhao S S. Mechanism of soil salinization in protected cultivation. *Soils*, 2004, 36 (1): 25-29. (in Chinese)
- [8] Frank S, Kämpfer H, Podda M, Kaufmann R, Pfeilschifter J. Identification of copper/zinc superoxide dismutase as a nitric oxide-regulated gene in human (HaCaT) keratinocytes: implications for keratinocyte proliferation. *Biochemical Journal*, 2000, 346: 719-728.
- [9] Yamasaki H, Sakihama Y, Takahashi S. An alternative pathway for nitric oxide production in plant: new feather of an old enzyme. *Trends in Plant Science*, 1999, 4: 128-129.
- [10] Leshem Y Y, Haramaty E. Plant aging: the emission of NO and ethylene and effect of NO-releasing compounds on growth of pea (*Pisum sativum*) foliage. *Journal of Plant Physiology*, 1996, 148: 258-263.
- [11] 阮海华, 沈文飏, 叶茂炳, 徐朗莱. 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: 1993-1997.
- Ruan H H, Shen W B, Ye M B, Xu L L. Protection of nitric oxide on salt-induced membrane oxidation in wheat leaves. *Bulletin of Science*, 2001, 46: 1993-1997. (in Chinese)
- [12] Amon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 1949, 24: 1-15.
- [13] 陈贻竹, B 帕特森. 低温对植物叶片中超氧化物歧化酶、过氧化物酶和过氧化氢水平的影响. *植物生理学报*, 1988, 14: 323-328.
- Chen Y Z, Patterson B D. The effect of chilling temperature on the level of superoxide dismutase, catalase and hydrogen peroxide in some plant leaves. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 1988, 14: 323-328. (in Chinese)
- [14] Cakmak I, Marschner H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiology*, 1992, 98: 1222-1227.
- [15] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 1981, 22: 867-880.
- [16] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000: 260-261.
- Li H S. *The Experimental Principles and Technique of Plant Physiology and Biochemistry*. Beijing: Higher Education Press, 2000: 260-261. (in Chinese)
- [17] 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.
- Wang A G, Luo G H. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants. *Plant Physiology Communications*, 1990, 26 (6): 55-57. (in Chinese)
- [18] 张殿忠, 汪沛洪, 赵会贤. 测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法. *植物生理学通讯*, 1990, 26 (4): 62-65.
- Zhang D Z, Wang P H, Zhao H X. Determination of the content of free proline in wheat leaves. *Plant Physiology Communications*, 1990, 26 (4): 62-65. (in Chinese)
- [19] 李明, 王根轩. 干旱胁迫对甘草幼苗保护酶活性及脂质过氧化作用的影响. *生态学报*, 2002, 22: 503-507.
- Li M, Wang G X. Effect of drought stress on activities of cell defense enzymes and lipid peroxidation in *Glycyrrhiza uralensis* seedlings. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22: 503-507. (in Chinese)
- [20] Delledonne M, Xia Y J, Dixon R A, Lamb C. Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. *Nature*, 1998, 394: 585-588.
- [21] Schmidt H H H W, Walter U. NO at work. *Cell*, 1994, 78: 919-925.
- [22] 蒋明义, 杨文英, 徐江, 陈巧云. 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: 289-295.
- Jiang M Y, Yang W Y, Xu J, Chen Q Y. Active oxygen damage effect of chlorophyll degradation in rice seedlings under osmotic stress. *Acta Botanica Sinica*, 1994, 36: 289-295. (in Chinese)
- [23] 蒋明义. 水分胁迫下植物体内·OH 的产生与细胞的氧化损伤. *植物学报*, 1999, 41: 229-234.
- Jiang M Y. Generation of hydroxyl radicals and its relation to cellular oxidative damage in plants subjected to water stress. *Acta Botanica Sinica*, 1999, 41: 229-234. (in Chinese)
- [24] Ambikapathy J, Marshall J S, Hocart C H, Hardham A R. The role of proline in osmoregulation in *Phytophthora nicotianae*. *Fungal Genetics and Biology*, 2002, 35: 287-299.

(责任编辑 曲来娥)