

外源 NO 对酸枣幼苗抗盐性的影响

麻云霞, 李钢铁, 梁田雨, 李 星, 闫晶秋子, 胡 杨, 马 慧

(内蒙古农业大学沙漠治理学院, 呼和浩特 010018)

摘要: 探讨外施 NO 减轻 NaCl 逆境对酸枣植株伤害的生理生态效应, 旨在为深入认识 NO 增强植株的抗逆性及其在酸枣绿色栽培生产上的应用提供科学依据。采用营养液培养方法, 设置对照(T1)、0.1 mmol/L SNP(T2)、100 mmol/L NaCl(T3)、0.1 mmol/L SNP+100 mmol/L NaCl(T4) 4 个处理组, 研究外施 NO 对 NaCl 盐害下酸枣(*Zizyphus jujuba* Mill)多胺、谷胱甘肽抗氧化酶系统及叶绿素荧光特性的作用。结果表明: 100 mmol/L NaCl 盐害处理抑制了酸枣植株的长势, 施加 NO 明显缓解了 NaCl 逆境对酸枣植株生长的毒害, 外源 NO 使腐胺(Put)、多胺(PAs)、精胺(Spm)、亚精胺(Spd)含量呈持续上升趋势, 提高了叶片还原型谷胱甘肽(GSH)含量、谷胱甘肽还原酶(GR)活性及 GSH/GSSG 比值, 而氧化型谷胱甘肽(GSSG)总量略有下降, 谷胱甘肽-S-转移酶(GST)的活性、抗坏血酸(ASA)的总量以及抗坏血酸过氧化物酶(APX)的活性均上升。同时, NO 处理亦显著增强了酸枣植株的 PSⅡ 最大光化学效率(F_v/F_m)、PSⅡ 潜在活性(F_v/F_o)、表观光合电子传递速率(ETR)、实际光化学效率($\Phi PSⅡ$)和光化学荧光猝灭系数(qP), 而非光化学荧光猝灭系数(qN)出现下降。施用外源 NO 通过提高 NaCl 逆境下幼苗游离态多胺含量, 同时增强抗氧化酶活性和非酶抗氧化物质含量, 减少光抑制现象, 保证摄入光能的合理利用, 进而减轻 NaCl 逆境对酸枣幼苗生长的毒害, 提高植株的耐盐性。

关键词: NO; 盐胁迫; 酸枣; 叶绿素荧光特性; 多胺; 谷胱甘肽

中图分类号: S665.1

文献标识码: A

文章编号: 1009-2242(2018)06-0371-08

DOI: 10.13870/j.cnki.stbcbx.2018.06.054

Effects of Exogenous NO on Salinity Tolerance of *Zizyphus jujuba* Seedlings

MA Yunxia, LI Gangtie, LIANG Tianyu, LI Xing, YAN Jingqiuzi, HU Yang, MA Hui

(College of Desert Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018)

Abstract: This study investigated the physiological and ecological effects of exogenous NO ease *Zizyphus jujube* seedlings under salinity stress, intended to further understand the NO improved plant resistance and provide theoretical basis for the NO application in green cultivation of *Z. jujube*. Through nutritional hydroponic cultivation, the effect of exogenous NO on the polyamine, glutathione antioxidant enzymatic system and chlorophyll fluorescence features of *Z. jujube* seedlings was analyzed under four treatments: control (T1), 0.1 mmol/L SNP (T2), 100 mmol/L NaCl (T3), 0.1 mmol/L SNP+100 mmol/L NaCl (T4). Results showed that the 100 mmol/L NaCl treatment inhibit the growth of *Z. jujube* seedling, but addition of NO significantly relieved the effect of NaCl stress. Exogenous NO significantly increased the amount of putrescine (Put), polyamines (PAs), spermine (Spm), and spermidine (Spd) under the stressed condition. In addition, NO also increased leaf reduced glutathione (GSH) content, glutathione reductase (GR) activity and GSH/GSSG ratio, but slightly decreased the oxidized glutathione (GSSG) content. Meanwhile, the glutathione-S-transferase activity, the ascorbic acid (ASA) content, and the ascorbic acid peroxidase (APX) activity was increased. At the same time, NO treatment significantly improved the leaf PSⅡ maximum photochemical efficiency (F_v/F_m), PSⅡ potential active competency (F_v/F_o), apparent photosynthetic electron transport rate (ETR), actual photochemical efficiency ($\Phi PSⅡ$), and photochemical fluorescence quenching coefficient (qP), but decreased the photochemical fluorescence quenching coefficient

收稿日期: 2018-06-10

资助项目: 林业公益性行业科研专项(201504412); 国家自然科学基金项目(31260202)

第一作者: 麻云霞(1991—), 女, 内蒙古乌盟人, 在读博士研究生, 主要从事荒漠化防治研究。E-mail: 1572666975@qq.com

通信作者: 李钢铁(1963—), 男, 内蒙古土默特左旗人, 教授, 博士, 主要从事荒漠化防治研究。E-mail: 13848817183@163.com

(qN). Through increment of polyamine content, activity of antioxidant enzymes and the content of non-enzymatic antioxidants, and reduction of photo inhibition and insurance of rational use of light energy, the application of exogenous NO relieves the NaCl stress on inhibition of growth and improves the salt resistance of *Z. jujube* seedlings.

Keywords: NO; salt stress; *Zizyphus jujube*; chlorophyll fluorescence characteristics; polyamine; glutathione

土壤盐碱化已经成为学术界备受关注的焦点问题。据调查,国内外的土壤盐碱化面积为 $9.5 \times 10^8 \text{ hm}^2$,我国的盐碱土壤面积约占总盐碱土壤的 1/16, $0.67 \times 10^8 \text{ hm}^2$ 的农用地受到污染的面积约占 10%。由于工业污水的大量排放及其他人为因素的多方面作用使土壤污染现象更加严重。有研究^[1]表明,盐胁迫使植物细胞的膜结构和稳定性遭到破坏,造成高渗透胁迫,产生大量活性氧(reactive oxygen species, ROS),发生膜质过氧化现象;同时破坏水势平衡,使蛋白酶失活,光合速率降低,植物长势变差,大大降低植物的成果率和产量,甚至死亡。何晓玲等^[2]在试验中发现,盐害使番茄结实率降低,离子吸收速率下降,同时植株长势变差,氧化破坏严重;Hatami 等^[3]认为,高盐毒害下葡萄叶根部对矿质营养元素的吸收速率降低,细胞膜透性提高,地上部分叶片数下降。与此同时,高盐状况下,植株幼苗光合反应中心受损且影响光合速率的高低及相关同化物的提供和运输。所以,增强植株的抗盐力是防止盐渍化土壤进一步扩散的基本方法,更是研究植株抗性生理及效果的关键部分。一氧化氮(nitric oxide, NO)为含有毒性的分布在植株细胞内的关键活性功能分子,也是一种活性氮(RNS),由酶促和非酶促 2 种方式合成:其中酶促途径主要通过一氧化氮合酶(nitricoxide synthase, NOS, EC1.14.13.39)或硝酸还原酶(nitrate reductase, NR, EC1.6.6.1/2)催化合成;而非酶促途径包括酸性环境下的硝酸盐还原和光参与的类胡萝卜素转化等。NO 在植株的生理代谢反应中发挥着至关重要的作用,如根、茎、叶等的繁育、光合结构的反应、植物呼吸和植物抗性生理方面等。Tian 等^[4]在试验中证明,外施 NO 能够大大增强大田农作物的保水力,减少蒸腾散失,调节气孔开闭,进一步保证植物在干旱环境下的耐受力。而 NO 自身存在氧化还原作用,能够缓解由赤霉素(GA)引起的糊粉层细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)以及 CAT 和 SOD 编码基因 mRNA 转录水平的降低。Xiong 等^[5]也验证了适量浓度的 SNP 对 NaCl 毒害下的水稻幼苗的发育存在正面效应,并且会对 ROS 及清除酶的总量产生影响。Sun 等^[6]证明,外施 NO 能增加番茄细胞膜壁的稳定性,缓解膜质过氧化现象,促进其生长。总之,NO 影响

植株的长势,且作用着植株在逆境环境下的耐受阈值,但其具体效果还需根据作用植物、NO 浓度及施用方法、时间等多种因素综合决定。

酸枣(*Zizyphus jujuba* Mill var. *Spinosa* (Bunge) Hu ex H. F Chou)属鼠李科(Rhamnaceae)枣属(*Zizyphus* Mil.)植物,在我国主要分布于西北各省区和内蒙古,少量分布到华北北部和东北西部,并在江苏、浙江、江西等地有引种栽培。酸枣能在贫瘠的土壤里生长,其抗性强、根系发达,容易繁殖,具抗寒、抗旱和病虫害少等特性,同时生态效益显著,可作为地势复杂地区的造林树种和水土保持先锋树种,其果实可生食,也可加工,还可作为食材入药,治疗神经虚弱、多梦、体质多汗等症状,是集营养、药用、经济、生态、社会价值于一身的优良种质资源^[7]。坐果率是育种及生态研究的主要目标,酸枣在繁育过程内幼苗期对胁迫环境更为敏感,且更易受到伤害,最终降低果实的品质与营养价值。因此,采用外源物质缓解盐害,并藉以提高酸枣的抗盐能力成为一种行之有效的途径。目前对酸枣的研究主要集中在酸枣的分布、形态、生物学特性、引种选育、化学成分、药理作用以及产品开发等方面,通过外施 NO 等分子来减轻盐碱对其生理影响的研究试验却少有报道。为此,本研究以 100 mmol/L NaCl 作为盐胁迫条件,通过分析盐(NaCl)胁迫下外源 NO 处理后酸枣叶片生长、游离态多胺、谷胱甘肽抗氧化酶系统和叶绿素荧光参数等生理指标的变化,初步认识外施 NO 对 NaCl 胁迫下植株的响应机理,为解决酸枣在栽培生产中遇到的盐害问题、耐盐酸枣品种的选育和酸枣的大面积推广及规范种植提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料处理

试验于 2017 年 9—12 月在内蒙古农业大学科教示范区温室内开展。供试材料为酸枣,种子由巴彦淖尔市林业科学研究所提供。选择大小均匀、外表光滑的酸枣种子,用 0.1% HgCl_2 消毒 10 min,漂洗干净,25℃催芽后选露白一致的种子播入装有珍珠岩的穴盘中,置于温度为 28℃的培养箱中育苗,待第 4 片叶全展后选发育良好的幼苗移至 1/4 Hoagland 营养液中培育生长。水培期间昼温 26~28℃,夜温 20~

22 ℃,空调控温,镉灯控制光强 400 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,每天通气 30 min,光周期 14 h(光照)/10 h(黑暗)。12 天后再移至 1/2 Hoagland 培养液内生长,在植物具有 7~8 片真叶后,按照预备试验筛选的 NaCl 胁迫浓度和 NO 供体硝普钠[[$\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5$]·NO, SNP,选于德国 Merck 公司]处理浓度设置处理为: T1,对照; T2, 0.1 mmol/L SNP; T3, 100 mmol/L NaCl; T4, 0.1 mmol/L SNP + 100 mmol/L NaCl。一次测定 4 株,3 次重复,随机放置于温室里。于处理的 0,2,4,6,8 天进行叶片游离态多胺、谷胱甘肽抗氧化酶系统及叶绿素荧光参数等生理指标的测定,处理 8 天后进行植株形态指标的测定,培养期间为保证各营养液浓度的相对稳定,每天更换 1 次营养液。

1.2 测定指标与方法

株高采用尺子测量茎基部与生长中心的间隔长度(cm);茎粗采用游标卡尺测量植物基部主干的宽度(cm);干重(DW)、鲜重(FW)测量:将植物地上部和地下部截取分开,清理干净表面淤泥杂物,用蒸馏水冲洗 3~4 次,吸水纸吸干表面多余残留水分后称取鲜样质量;然后 105 ℃杀青 15 min,75 ℃烘至恒重,测定其干样质量(g);在无阴天或其他恶劣天气出现时,选定幼苗倒数第 3~4 片完全展开叶,使用 PAM-2100 便携式调制荧光仪(Walz, Effeltrich, Germany),采用具有微型光量子/温度探头的叶夹 2030-B 将叶片固定后测定叶绿素荧光参数:最大荧光(F_m)、初始荧光(F_0)、稳态荧光(F_s)及 F_m' ,计算出最大光化学效率(F_v/F_m)、PSII 潜在活性(F_v/F_0),光化学猝灭系数(qP)、非光化学猝灭系数(qN)和表观光合电子传递速率(ETR)均由仪器自动给出,实际光化学效率($\Phi\text{PS II}$) = $(F_m' \cdot F_s)/F_m'$;选取刘俊等^[8]的方法测定其多胺含量,采用日本的 Shimadzu LC-10AT 型高效液相色谱仪测量,层析柱为反向 C18 柱(150 mm×4.6 mm),64% 甲醇为流动相,流速 0.5 mL/min,柱温 25 ℃,Shimadzu SPD-10A 检

测器,波长 254 nm,进样 10 μL 进行测定,100 mmol/L NaCl 和 0.1 mmol/L SNP 处理开始前(胁迫时间为 0 天)取样 1 次,之后每 2 天取自上向下的第 4 片完全展开叶进行多胺含量的测定,重复 3 次;谷胱甘肽(GSH、GSSG)含量按照 Aravind 等^[9]的方法测定;谷胱甘肽还原酶(GR)活性按照 Ma 等^[10]的方法测定;抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性按照 Kong 等^[11]的方法测定;谷胱甘肽-S-转移酶(GST)的活性采用黄志明等^[12]的方法测定;抗坏血酸(ASA)含量按照 Murshed 等^[13]的方法测定。

1.3 数据处理

采用 Excel 2003 软件进行数据处理及绘图,采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,所有数据采用平均值±标准误表示,采用 Duncan 新复极差法对各处理进行多重比较($\alpha=0.05$)。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫下酸枣幼苗生长对外源 NO 的响应

长势变差、生物量下降是 NaCl 胁迫下对植株幼苗伤害的最直接表型变化。从表 1 可以看出,外施 NO 能显著减轻 NaCl 盐害对酸枣幼苗生长的抑制,与对照(T1)比较,T3 组的酸枣植株株高、茎粗、地上部和地下部的鲜重和干重均出现明显降低,分别下降 22.08%,27.56%,37.33%,57.19%,27.97%和 29.41%;与 T3 处理相比,T4 组的植株株高、茎粗、地上部和地下部的鲜重和干重分别提高了 9.61%,11.96%,16.89%,37.60%,14.16%和 10.41%,差异显著。在 T2 处理下,添加 NO 对酸枣幼苗的株高、茎粗与地上部和地下部的鲜重和干重并无明显反应,表明非 NaCl 毒害下,外施 NO 并不能对酸枣的生长产生积极效应。T3 组酸枣幼苗的根冠比远大于 T1,表明盐害状况下植株的生物量开始重新分配,趋向于植株地下部,T2 组处理后对根冠比没有明显影响,同时与 T3 相比,T4 处理下酸枣幼苗根冠比也显著增加。

表 1 NaCl 胁迫下酸枣幼苗生长对外源 NO 的响应

处理	株高/ cm	茎粗/ cm	单株地上 鲜重/g	单株地上 干重/g	单株地下 鲜重/g	单株地下 干重/g	根冠比
T1	58.60±1.87a	1.27±0.09a	63.20±0.09a	5.84±0.05a	20.20±0.95a	2.04±0.01a	0.35c
T2	56.70±1.34a	1.20±0.16a	60.04±0.13a	5.69±0.11a	19.85±0.95a	1.97±0.03a	0.35c
T3	45.66±1.83c	0.92±0.04c	39.61±0.27c	2.50±0.07c	14.55±0.38c	1.44±0.01c	0.41b
T4	50.05±1.30b	1.03±0.07b	46.30±1.88b	3.44±0.15b	16.61±0.29b	1.59±0.05b	0.46a

注:同列不同小写字母表示各处理间差异显著($P<0.05$)。

2.2 外源 NO 对 NaCl 胁迫下酸枣幼苗叶绿素荧光特性的影响

F_v 和最大荧光 F_m 的比率(F_v/F_m)为光系统 II 光化学的最大效率,即 PSII 原初光能转化效率, F_v/F_m 能直接表示植株受到的光抑制大小。从图 1 可以看出,T1、T2 试验组下 F_v/F_m 呈先升高后降低的变化,

均于第 6 天出现最大值,T3、T4 试验组下的 F_v/F_m 在时间梯度上出现持续下降的变化,均低于同期 T1 且差异显著,与 T3 相比,T4 在处理期间显著提高了 F_v/F_m ; T3、T4 试验组下的 F_v/F_0 随时间梯度的推移出现不同幅度的下降,于第 2 天分别显著下降了 51.41%和 39.59%,且在试验期间明显低于同期 T1,和 T3 比较,

T4 于试验期间 F_v/F_0 的比值显著上升。

光化学猝灭系数 (qP) 表示 PS II 天然色素摄入的光能分配给光化学电子传递的总值,若 PS II 反应中心长期为“开放”状态,则光化学猝灭就会维持一个相对高的值,因此 qP 的相对值从某种意义上能够表明细胞内 PS II 反应中心的开闭状态, qP 的值高低与 PS II 的电子运输份额呈正相关关系。T3 在不同时间梯度下 qP 均明显小于 T1,呈先下降后升高再下降趋势,第 0~2 天, qP 急剧降低,然后骤然升高,在第 4 天出现最大值,然后再慢速降低,T4 试验组的 qP 在 2,4,6,8 天与 T3 相比分别提高了 22.86%,30.00%,15.56%和 11.76%。表明 NaCl 盐害对光化学电子的转换产生不同程度的作用; qN 是表征非光化学猝灭程度的指标之一,它代表 PS II 天线色素摄入的光能无法提供给光合电子转换,并以热的形式消散丢失的一定份额的能量,T3 的 qN 呈先升高后下降再升高的波动变化,且不同时间试验梯度下均明

显大于同期 T1,于第 0~2 天内, qN 急速升高,2~4 天内急剧降低,然后再逐渐升高,T4 和 T3 试验组下 qN 的变化趋势相同。因此,在 NaCl 盐害导致光抑制的状态下,酸枣植株摄入光能的 qP 降低,而 qN 不断上升,这表示酸枣细胞中存在大量的吸收光能以非光化学的方式进行消散。

ETR 代表表观光合量子传递效率,从图 1 可以看出,T3 试验组下的 ETR 在整个过程内呈持续下降的变化趋势,在此期间均显著小于 T1;和 T3 比较,T4 试验组下的 ETR 在第 2 天无显著差异; $\Phi PS II$ 表征通过光系统 II (PS II) 的线性电子转换的量子效率,一般表示电子在 PSI 和 PS II 中的转换状况,是荧光参数的重要组成部分,T3 试验组下的 $\Phi PS II$ 为“钟形”变化趋势,在此期间均显著小于 T1,T3 处理下 0~2 天内 $\Phi PS II$ 出现下降,2~4 天急剧升高,随后开始降低,T4 处理下 $\Phi PS II$ 在第 2,4,6,8 天与 T3 相比显著提高了 75.00%,36.84%,46.67%和 53.85%。

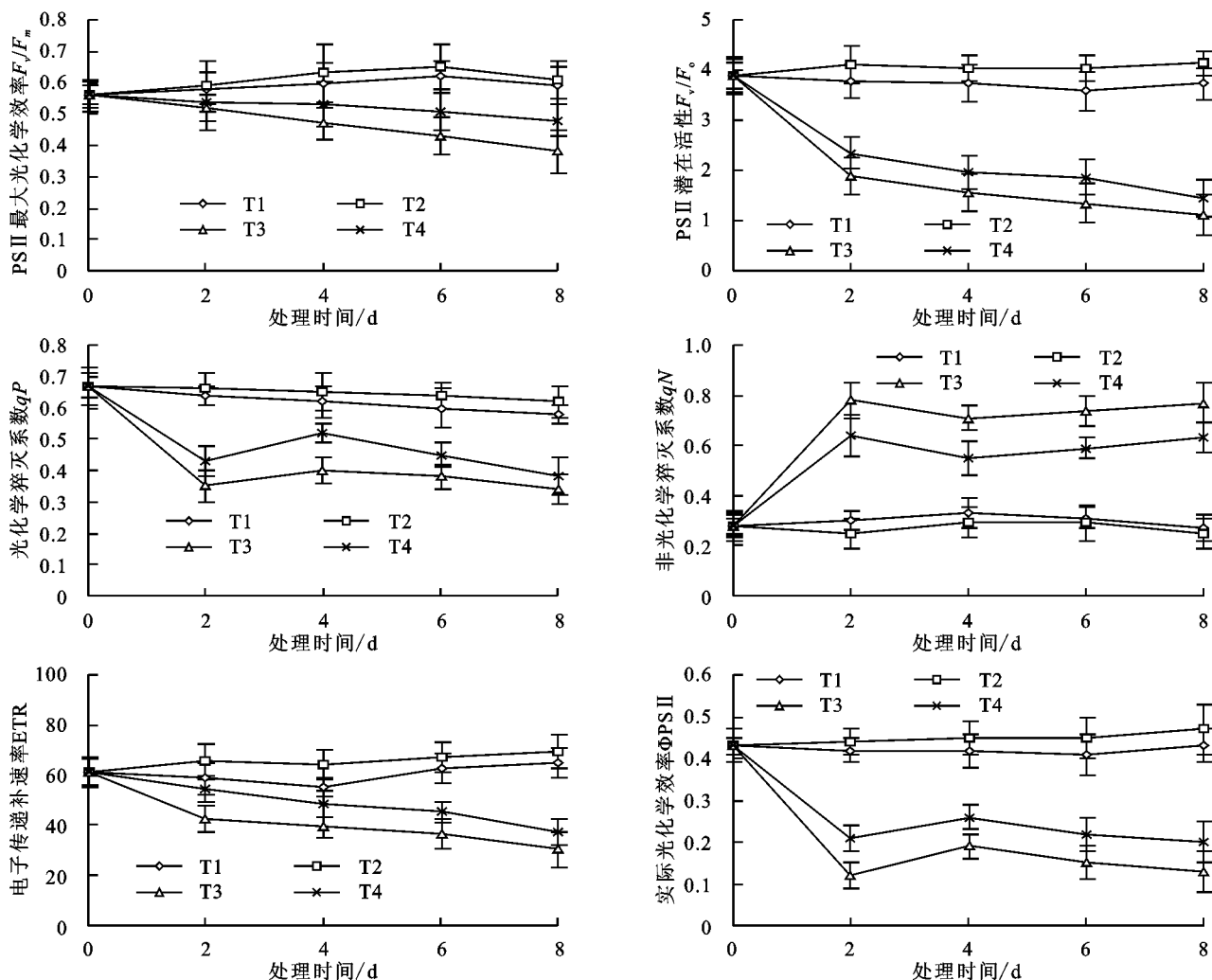


图 1 外源 NO 对 NaCl 胁迫下酸枣幼苗叶绿素荧光特性的影响

2.3 外源 NO 对 NaCl 胁迫下多胺、谷胱甘肽抗氧化酶系统的影响

2.3.1 外源 NO 对 NaCl 胁迫下酸枣幼苗叶片中游

离态多胺含量的影响 腐胺 (Put) 是植株体内重要的有机离子,能够直接影响 pH。从图 2 可以看出,在 T1 试验组,不同时间梯度酸枣幼苗叶片内 Put 含量

并无较大波动,T3 试验组内,Put 含量呈持续降低的趋势,并在不同时间梯度下均明显小于 T1,T4 处理下,Put 含量在第 4,6,8 天比 T3 增加,但差异不明显;T2 处理下,在第 2,4,6,8 天比 T1 显著提高 26.83%,19.38%,22.54%和 40.25%;多胺总量(PAs)在 T1 处理期间基本不变,在 T3 和 T4 处理期间呈下降趋势,T3 处理期间第 2,4,6,8 天比 T1 显著降低 13.12%,18.57%,35.33%和 41.61%,T4 处理下在第 2,4,6,8 天比 T3 分别显著提高 16.56%,15.13%,25.18%和 26.85%;与 T1 相比,T2 处理时对 PAs 含量无明显影响;T1 试验组幼苗叶片内精胺(Spm)总量并无较大变化,T3 试验组内,Spm 总量在时间的

过渡下出现先升高后下降的变化趋势,在 NaCl 胁迫第 6 天达到峰值,第 2,4,6,8 天与 T3 相比,T1 显著提高 68.83%,133.20%,94.67%和 101.82%,T4 处理与 T3 相比,在第 2,4,6,8 天 Spm 含量分别提高 16.76%,19.09%,20.30%和 15.58%,与 T1 相比,T2 处理也提高了 Spm 含量;T1 试验组内亚精胺(Spd)含量于第 2 天最低,在第 6 天时出现最高值,T3 试验组内,Spd 总量随试验天数的不同出现不同程度的下降,与 T1 相比,在处理期间第 2,4,6,8 天均显著降低 20.58%,44.67%,61.01%和 76.95%,T4 试验组下,Spd 总量于不同时间梯度下均大于 T3,和 T1 比较,T2 试验组 Spd 总量升高,但无显著影响。

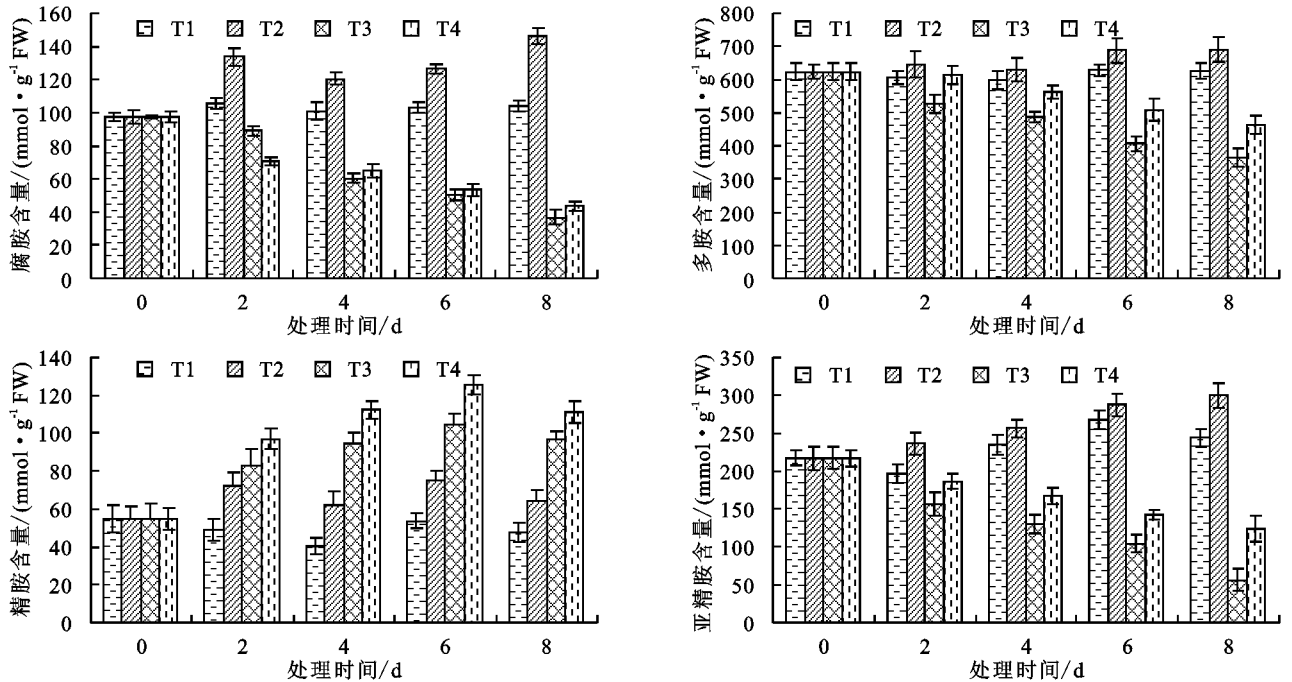


图 2 外源 NO 对 NaCl 胁迫下酸枣幼苗叶片中游离态多胺含量的影响

2.3.2 外源 NO 对 NaCl 胁迫下酸枣幼苗叶片 GSH 和 GSSG 含量及 GSH/GSSG、GR 活性的影响 GSH 在植株细胞内能减轻膜质过氧化,直接影响 ASA 含量和 APX 活性。由图 3 可知,T3 处理下,酸枣幼苗叶片 GSH 含量较 T1 降低,在处理的第 4,6,8 天与 T1 相比显著降低了 40.82%,31.46%和 56.80%,正常生长条件下,T2 单独试验组提高了酸枣植株叶片 GSH 的总量,但 T4 试验组则显著减小了 NaCl 毒害诱导的酸枣植株叶片 GSH 总量的降低幅度,在第 4,6,8 天分别比 T3 提高 22.76%,27.87%和 110.11%;T3 处理下酸枣幼苗叶片的 GSSG 含量升高,第 2,4,6,8 天分别比 T1 提高 16.32%,8.33%,36.92%和 5.40%,而 T4 试验组下 GSSG 含量出现降低,均低于 T1,并于此期间的第 6 天和 T3 形成显著差异,降低了 19.10%,T2 处理下的 GSSG 含量在第 2,4,6,8 天相比 T1 分别降低 11.11%,14.81%,10.77%和 23.17%;T3 处理下 GSH/

GSSG 出现下降,在处理的第 4,6,8 天与 T1 差异显著,分别下降 46.05%,50.00%和 58.46%,T4 处理下,GSH/GSSG 与 T3 相比有所提高,在第 2,4,6,8 天分别比 T3 提高 5.08%,26.83%,37.04%和 118.51%,T2 处理下第 2,4,6,8 天相比 T1 分别显著提高 39.13%,27.63%,88.24%和 83.08%;GR 为植株体内把 GSSG 转换成 GSH 的中心介导物质,同时也是去除 H_2O_2 等调节酶的诱导物质中的一种成分,T3 处理下第 2 天 GR 活性相比 T1 提高了 25.93%,在第 4,6 天开始出现下降,比 T1 降低了 5.88%和 2.70%,在第 8 天和 T1 持平,T4 处理下 GR 活性在第 2 天比 T3 显著降低了 11.76%,之后开始出现提升,第 4,6,8 天分别比 T1 提高 18.75%,22.22%和 12.12%。在整个处理期间,T1 和 T4 处理下的 GR 活性均高于 T1。GSH/GSSG 受 GR 活性的控制,外施 NO 可能通过提高 NaCl 盐害下酸枣植株 GR 的活性从而调节 GSH、GSSG 的水平和 GSH/GSSG

的比值,以此来增强 NaCl 逆境下酸枣植株细胞的抗

氧化能力,保护还原态巯基。

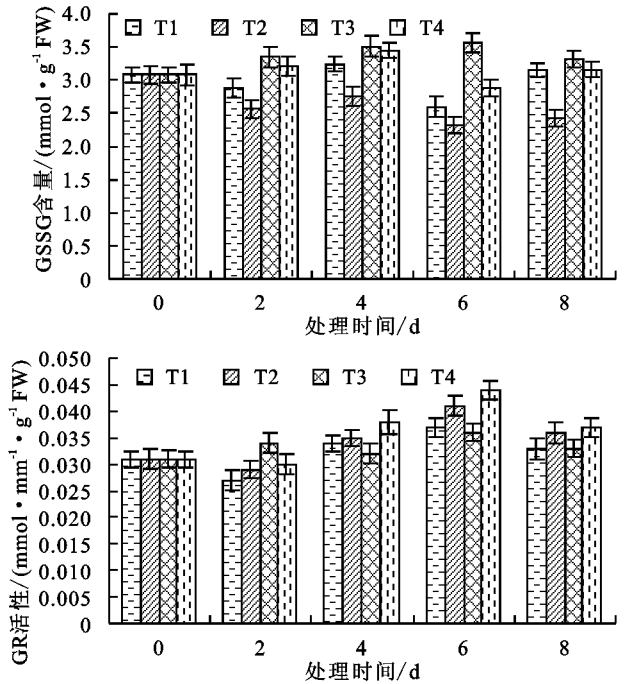
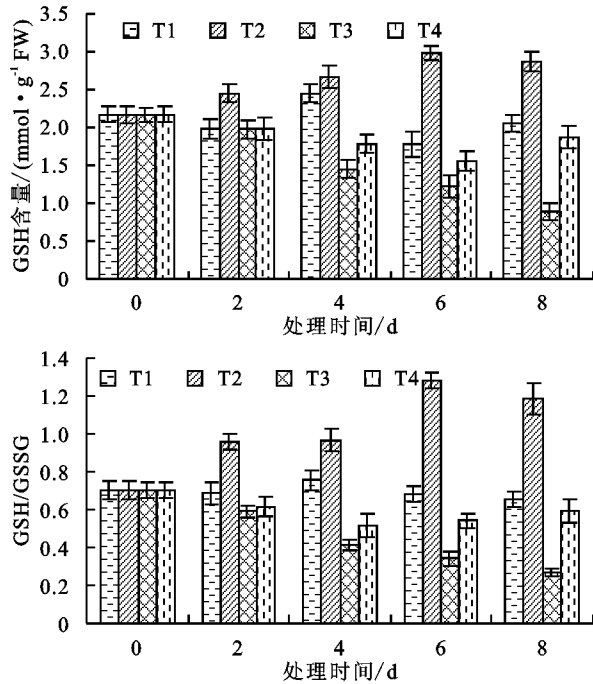


图 3 外源 NO 对 NaCl 胁迫下酸枣幼苗叶片 GSH 和 GSSG 含量及 GSH/GSSG、GR 活性的影响

2.3.3 外源 NO 对 NaCl 胁迫下酸枣幼苗叶片 APX、GST 活性和 ASA 含量的影响 APX 是植物细胞内以 ASA 为底物的 H_2O_2 清除酶。T3 试验组中酸枣植株叶片 APX 活性上升,且于不同时间梯度下均远大于 T1,在第 2,4,6,8 天时分别提高 14.84%, 37.28%, 34.95% 和 27.10%, T4 处理则可以进一步提高其活性,在处理的第 2,4,6,8 天比 T3 分别提高 8.04%, 12.65%, 11.91% 和 13.18%, T2 试验组 APX 活性高于 T1,但并未无显著差异,表明施加 NO 供体通过调节 NaCl 盐害下酸枣植株叶片的 APX 活性,减轻植物细胞的膜质过氧化,提高植物在胁迫环境的抵抗力(图 4)。

GST 是细胞内依赖于 GSH 的重要解毒酶。T3 处理下第 2,4,6 天均比 T1 提高 17.31%, 3.75% 和 3.13%, 在第 8 天开始出现下降,比 T1 降低了 13.45%, T4 试验中 NaCl 毒害下酸枣植株叶片的 GST 活性出现显著上升,在处理的第 2,4,6,8 天比 T3 分别提高 45.96%, 49.29%, 41.52% 和 69.47%, 并且 T2 单一试验组中酸枣幼苗叶片的 GST 活性相比正常生长条件也出现了不同幅度的上升。

ASA 含量于 T3 处理下出现先升高后降低的变化,于试验过程第 2 天时高于 T1,比 T1 提高 13.45%, 随后其含量开始下降,胁迫第 4,6,8 天比 T1 降低 4.80%, 5.71% 和 6.86%, T4 处理下的第 2,4,6,8 天 ASA 含量分别比 T3 提高 3.99%, 6.53%, 7.77% 和 9.07%, 说明 NaCl 盐害逆境中施加 NO 能够促进酸枣幼苗叶片中 ASA 的堆积, T2 条件下 ASA 总量第

4,6,8 天比 T1 分别提高 24.11%, 10.48% 和 35.46%。

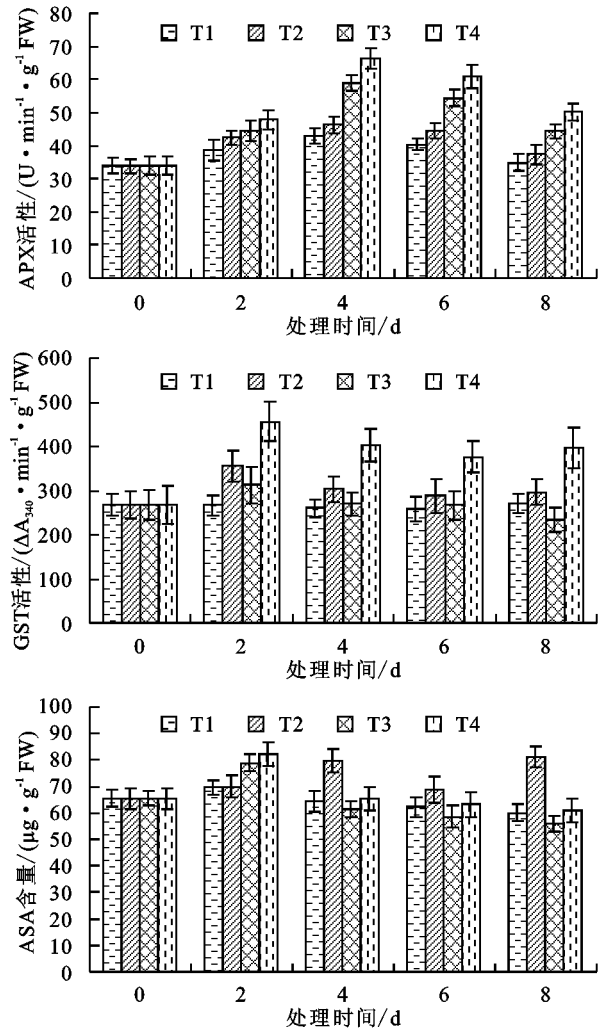


图 4 外源 NO 对 NaCl 胁迫下酸枣幼苗叶片 APX、

GST 活性和 ASA 含量变化的影响

3 讨论

植株耐盐性与植物本身及周围环境因子紧密相关,是一个多方面的生理抗性过程。NaCl 盐害能对植物长势及外观形态造成最直接的影响,所以其生长生理指标可指示植株的耐盐标准 and 其在胁迫环境下生存能力的强弱。刘会芳等^[14]在研究中得出,NaCl 盐害下番茄植株的干、鲜重和相对生长量都明显降低,其幼苗长势变差。本试验结果表明,酸枣植株生物量(地上部鲜、干质量和地下部鲜、干质量)出现大幅度的下降,但根冠比明显升高,表明 NaCl 盐害重新调整了生物量在植株各部位的分配含量,对地上部产生的负面作用大于地下部,这也是对逆境的适应对策,其原因可能是 NaCl 盐害处理下,其参与反应碳同化物含量降低,渗透调节能耗和保证发育能耗升高的结果,而添加外源 NO 显著增加了 NaCl 盐害下酸枣幼苗植株生物量(地上部鲜、干质量和地下部鲜、干质量)和根冠比,减轻梯度为 100 mmol/L 的 NaCl 盐害对酸枣植株各生长生理指标的毒害抑制效应,其与 Gao 等^[15]对黄瓜和刘开力等^[16]对水稻的研究结果一致,但对酸枣植株长势产生积极效应其原因可能是 NO 对细胞壁发挥作用改变其结构组分,或改变膜脂双层的稳定性,从而促进细胞扩展和细胞生长所致。

在试验中叶绿素荧光参数的趋势表明,指标值随时间的不同产生差异,能直接导致光合机构的非正常运转,并且能够作用于光合电子运输的效率,叶绿素荧光能直观表明植物幼苗于逆境环境下光合反应的存在状态,能作为评估光合反应和逆境对其结构功效作用的指标之一。 F_v/F_m 、 F_v/F_0 为暗环境下 PS II 的潜在活性、最大光化学效率,NaCl 处理使 F_v/F_0 和 F_v/F_m 降低,表明非化学能量耗散加强,叶片光能利用率降低,表明 NaCl 盐害对光反应中心产生了负面影响,细胞中出现光抑制现象,酸枣幼苗把所摄入的光能转换成化学能,效率降低,NO 施加后 NaCl 盐害下 F_v/F_m 、 F_v/F_0 显著上升,缓解了 NaCl 胁迫对 PS II 反应中心的伤害。这与吴雪霞等^[17]对番茄的研究一致。同时 NaCl 盐害使 qN 上升, qP 降低,说明 NaCl 逆境下,酸枣被迫使用非辐射性热消散等方式放出 PS II 摄入的多余能量,导致用于光合作用的光能减少,光合作用能力降低,而 NaCl 盐害下线粒体呼吸反应中电子运输转换的最后受体 O_2 短缺,光合电子运输转换中 PS I 的最后电子受体减少,导致 PS II 作用降低,表现为 ETR 和 $\Phi PS II$ 降低。证明 NaCl 盐害不但可以使酸枣植株 PS II 的量子产率降低,电子传递被迫中断,也说明原初电子受体还原效应下降,PS II 的供体和受体可能都受到影响,而 NO 施加

后 ETR 和 $\Phi PS II$ 明显上升,减小了 NaCl 盐害对酸枣植株的负面效应。

多胺(polyamines, PAs)一般分布在植株细胞内,为植物生理代谢内发生的一种含有小分子量脂肪族含氮碱的号分子,且是植物发育中集聚封闭的有机多聚阳离子。经研究^[18]得出,多胺参与细胞内物质合成、机理转换过程及生殖繁育等步骤,在改善植株外观形态、推迟衰老和增强植株适应性存在十分重要的意义,且多胺参与植株的逆境胁迫信号的感知与适应反应,被认为是第 2 信使。腐胺(putricine, Put)、亚精胺(spermidine, Spd)和精胺(spermine, Spm)能直接指示植株在胁迫逆境中的耐受力,是植株内含量最多且分布较广泛的号分子。本试验中,NaCl 盐害下,酸枣植株 PAs 在整个时间梯度下呈不断降低趋势,其原因是 Put 和 Spd 总量降低导致的, Spm 含量持续上升,可能与 Put 向 Spm 的转化有关。外施 NO 能够促使 NaCl 盐害下酸枣植株叶片中 Put、Spd、Spm 含量和 PAs 总量提高,促使 Put 向 Spd 和 Spm 转化,这与吴雪霞等^[17]外施 NO 对 NaCl 毒害后番茄植株的研究相似,而与张艳艳等^[19]的研究稍有差异,这可能是由于不同研究者使用的研究手段、供试植物品种、胁迫强度和胁迫时间的不同而得到不尽相同的结论。

本试验结果表明,100 mmol/L NaCl 浓度诱导酸枣幼苗植株 GSH 水平、GSH/GSSG 和 GR 出现降低,提高了 GSSG 的总量,酸枣植株 GSH 含量比 T1 显著降低,可能是由于 NaCl 胁迫下,GSH 参与清除活性氧后本身被氧化,从而含量下降,这与研究^[20]发现在抗氧化能力相对较弱的植物中,GSH 作为主要的抗氧化剂,NaCl 胁迫会导致 GSH 下降的结果相似;而外源 NO 可提高 NaCl 胁迫下酸枣植株 GSH 含量,说明外源 NO 能够通过增强 GSH 含量增强植株的抗氧化性,与阮海华等^[21]在小麦上的研究结果一致;GR 活性的上升可能是因为 NO 在调整胁迫对策时茉莉酸出现堆积,而 GR 受茉莉酸激活,Zhou 等^[22]得出,外施 SNP 能够增强 NaCl 盐害下后番茄植株的 GR 活性则更好的验证了以上结论,0.1 mmol/L SNP 浓度使 GSSG 的含量出现降低,其原因约为 NO 施加后的酸枣植株叶片对 NaCl 盐害下 ROS 大量堆积的生理对策,能够提高酸枣植株细胞对逆境环境下的抗性,减少膜质过氧化现象。

在 GR 之外,0.1 mmol/L 的 SNP 施加后使 NaCl 盐害下酸枣植株叶片的 GST 活性显著上升。有研究^[23]表明,GST 可以刺激 GSH 的含量和相关酶代谢及其他代谢产生的有害物质,并能与此产生化学反应,所以,细胞内 GST 的解毒功能可以直接决定植株耐盐力的大小。李晓云等^[24]在试验中充分证明了 NO 能直接参与到植

株细胞内有关 GST 发生和表达的链条代谢中。而事实上, GST 在细胞中的表达能够直接作为植株幼苗对逆境环境的耐受性指标之一。

GST 和生长素存在极其紧密的关系, GST 活性不仅被生长素所控制且能为水杨酸(SA)诱导产生。有研究^[25]证明, NO 能够促进细胞中 SA 的产生, 且 NO 与 SA 在植株内的功能方向上存在较大的一致性。同时外源 NO 能够有效提高 ASA 含量, 这可能与 NO 改变植物体内生长素之间的互作有关。据此推测, NO 刺激 NaCl 盐害下酸枣植株叶片 GST 活性还大致与逆境环境下 SA 和 ASA 代谢的酶活性存在关系, 更有力验证了 NO 分子作用植株体内 GSH—ASA 的代谢循环, 其根本原因可能为 NO 的施加导致其细胞内的氧化还原程度发生变化的关系。GSH 为 ASA 合成的关键酶双脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)的基本成分之一, 施加 NO 分子后增强了 NaCl 逆境下酸枣叶片 GSH 的总量, 可能一部分作用于提高 ASA 总量, 另一部分作用于提高 GSH 总量, ASA 为合成 H_2O_2 清除酶 APX 的必需成分, ASA 总量的提高有益于酸枣植株 APX 活性的上调, 且存在 NO 作为外施号分子致使 APX 基因更好表达的可能性。

4 结论

NaCl 盐害处理抑制了酸枣植株的生长, 添加 NO 后明显减轻了 NaCl 胁迫对酸枣生长的毒害, 外施 NO 提高了酸枣幼苗 Put、PAs、Spm、Spd 含量, GR、APX 和 GST 等抗氧化酶活性和非酶抗氧化物质 ASA 和 GSH 含量及 GSH/GSSG 比值, 同时提高了 F_v/F_m 、 F_v/F_0 、ETR、 $\Phi PS II$ 和 qP , 降低了 GSSG 总量和 qN , 增强了酸枣幼苗叶片的抗氧化能力, 提高了游离态多胺含量, 缓解 NaCl 胁迫对酸枣幼苗叶片的光合结构的伤害, 从而降低了 NaCl 盐害对酸枣植株造成的伤害。

参考文献:

- [1] 张雪, 贺康宁, 史常青, 等. 盐胁迫对银水牛果幼苗生长和生理特性的影响[J]. 水土保持学报, 2016, 30(1): 212-217.
- [2] 何晓玲, 王松, 王沛, 等. 外源硒对 NaCl 胁迫下番茄幼苗叶片氧化损伤的保护效应[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2015, 33(3): 281-286.
- [3] Hatami E, Esnaashari M, Javadi T. Effect of salinity on some gas exchange characteristics of grape (*Vitis vinifera*) cultivars[J]. International Journal of Agriculture and Biology, 2010, 12(3): 308-310.
- [4] Tian X, Lei Y. Nitric oxide treatment alleviates drought stress in wheat seedlings[J]. Biology Plant, 2013, 50(4): 775-778.
- [5] Xiong J, Fu G F, Yang Y J, et al. Drought-induced proline accumulation is uninvolved with increased nitric oxide, which alleviates drought stress by decreasing transpiration in rice[J]. Journal of Plant Research, 2012, 125(1): 155-164.
- [6] Sun D Z, Yang H S, Peng J, et al. Effects of exogenous salicylic acid and nitric oxide on growth, photosynthesis, and ion distribution in tomato seedlings under NaCl stress[J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(13): 3519-3528.
- [7] 杨怡帆, 吕新民, 鲁晓燕, 等. $CaCl_2$ 缓解酸枣幼苗 NaCl 胁迫的主成分分析[J]. 果树学报, 2016, 33(8): 959-968.
- [8] 刘俊, 吉晓佳, 刘友良. 检测植物组织中多胺含量的高效液相色谱法[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(6): 596-598.
- [9] Aravind P, Prasad M N V. Modulation of cadmium-induced oxidative stress in *Ceratophyllum demersum* by zinc involves ascorbate-glutathione cycle and glutathione metabolism[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2005, 43(2): 107-116.
- [10] Ma F W, Cheng L L. The sun exposed peel of apple fruit has higher xanthophyll cycle dependent thermal dissipation and antioxidants of the ascorbate glutathione pathway than the shade peel[J]. Plant Science, 2003, 165(4): 819-827.
- [11] 孔祥生, 易现峰. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2008: 264-265.
- [12] 黄志明, 吴锦程, 陈伟健, 等. SA 对低温胁迫后枇杷幼果 ASA-GSH 循环酶系统的影响[J]. 林业科学, 2011, 47(9): 37-42.
- [13] Murshed R, Lopez L 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 Molbiology Plants, 2014, 19(3): 363-378.
- [14] 刘会芳, 何晓玲, 马展, 等. 外源 GSH 对 NaCl 胁迫下番茄幼苗生长及 ASA-GSH 循环的影响[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2014, 32(3): 265-271.
- [15] Gao Z X, Lin Y, Wang X F, et al. Sodium nitroprusside(SNP) alleviates the oxidative stress induced by $NaHCO_3$ and protects chloroplast from damage in cucumber[J]. African Journal of Biotechnology, 2012, 11(27): 6974-6982.
- [16] 刘开力, 凌腾芳, 刘志兵, 等. 外源 NO 供体 SNP 浸种对盐胁迫下水稻幼苗生长的影响[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(4): 419-422.
- [17] 吴雪霞, 朱为民, 陈建林, 等. 外源 NO 对 NaCl 胁迫下番茄幼苗生长及相关物质含量的影响[J]. 农业工程学报, 2008, 24(9): 216-220.

- [2] 谢飞,梁成华,孟庆欢,等.添加天然沸石和石灰对土壤镉形态转化的影响[J].环境工程学报,2014,8(8):3505-3510.
- [3] 陈远其,张煜,陈国梁,等.石灰对土壤重金属污染修复研究进展[J],生态环境学报,2016,25(8):1419-1424.
- [4] 崔红标,范玉超,周静,等.改良剂对土壤铜镉有效性和微生物群落结构的影响[J].中国环境科学,2016,36(1):197-205.
- [5] Hong C O, Gutierrez J, Yun S W, et al. Heavy metal contamination of arable soil and corn plant in the vicinity of a zinc smelting factory and stabilization by liming[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2009, 56(2):190-200.
- [6] Uchimiya M, Lima I M, Klasson K T, et al. Immobilization of heavy metallons (Cu II, Cd II, Ni II, and Pb II) by broiler litter-derived biochars in water and soil[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2010, 58(9):5538-5544.
- [7] 杜彩艳,木霖,王红华,等.不同钝化剂及其组合对玉米 (*Zeamays*) 生长和吸收 Pb、Cd、As、Zn 影响研究[J]. 农业环境科学学报. 2016, 35(8):1515-1522.
- [8] 李力,刘娅,陆宇超,等.生物炭的环境效应及其应用的研究进展[J].环境化学,2011,30(8):411-421.
- [9] Laird D, Fleming P, Wang B, et al. Biochar impact on nutrient leaching from a midwestern agricultural soil [J]. Geoderma, 2010, 158(3/4):436-442.
- [10] 张丽,侯萌瑶,安毅,等.生物炭对水稻根际微域土壤 Cd 生物有效性及水稻 Cd 含量的影响[J].农业环境科学学报,2017,36(4):665-671.
- [11] 鲍士旦.土壤农化分析[M].北京:中国农业出版社,2000.
- [12] 吴岩,杜立宇,梁成华,等.生物炭与沸石混施对不同污染土壤镉形态转化的影响[J].水土保持学报,2018,32(1):286-290.
- [13] Zwieten V L, Kimber S, Morris S, et al. Effects of biochar from slow pyrolysis of papermill waste on agronomic performance and soil fertility[J]. Plant and Soil, 2010, 327(1/2):235-246.
- [14] 王期凯,郭文娟,孙国红,等.生物炭与肥料复配对土壤重金属镉污染钝化修复效应[J].农业环境科学学报,2015,32(6):583-589.
- [15] 李明瑶,张妍,杜立宇,等.生物炭与沸石混施对土壤镉形态转化的影响[J].水土保持学报,2014,28(3):248-252.
- [16] Lim A P, Ahmad Z A. A review on economically adsorbents on heavy metals removal in water and waste water[J]. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 2014, 13(2):163-181.
- [17] Sayed Y K, Pouray B, Elham A. *Cerastoderma lamarki* shell as a natural, low cost and new adsorbent to removal of dye pollutant from aqueous solutions: Equilibrium and kinetic studies[J]. Ecological Engineering, 2016, 88:82-89.
- [18] Chowdhury S, Papita S. Sea shell powder as a new adsorbent to remove Basic Green 4 (Malachite Green) from aqueous solutions: Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies[J]. Chemical Engineering Journal, 2010, 164(1):168-177.
- [19] Shi W Y, Shao H B, Li H, et al. Progress in the remediation of hazardous heavy metal polluted soils by natural zeolite [J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 170(1):1-6.
- [20] 刘清,王子健,汤鸿霄.重金属形态与生物毒性及生物有效性关系的研究进展[J].环境科学,1996,17(1):89-92.
- [21] Mao M Z. Speciation of metals in sediments along the Le an river [R]. CEREP Final Report. France: Imprimerie Jouve Mayenne, 1996:55-57.
- [22] 高译丹,梁成华,裴中健,等.施用生物炭和石灰对土壤镉形态转化的影响[J].水土保持学报,2014,28(2):258-261.

(上接第 378 页)

- [18] Shu S, Yuan L Y, Guo S R, et al. Effects of xogenous spermine on chlorophyll fluorescence, antioxidant system and ultrastructure of chloroplasts in *Cucumis sativus* L. under salt stress[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2013, 63(7):209-216.
- [19] 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[J].植物生理与分子生物学学报,2004,30(4):455-459.
- [20] 周艳,刘慧英,王松,等.外源 GSH 对盐胁迫下番茄幼苗生长及抗逆生理指标的影响[J].西北植物学报,2016,36(3):515-520.
- [21] 阮海华,沈文彪,刘开力,等.外源一氧化氮供体对盐胁迫下小麦幼苗叶片谷胱甘肽抗氧化酶系统的影响[J].作物学报,2005,31(9):1144-1149.
- [22] Zhou Y, Wen Z L, Zhang J W, et al. Exogenous glutathione alleviates salt-induced oxidative stress in tomato seedlings by regulating glutathione metabolism, redox status, and the antioxidant system[J]. Science Hort, 2017, 220(4):90-101.
- [23] 李金亭,张元昊,郭晓双,等.吡啶丁酸对怀牛膝幼苗生长及谷胱甘肽抗氧化酶系统的影响[J].河南师范大学学报(自然科学版),2014,42(3):105-108.
- [24] 李晓云,王秀峰,吕乐福,等.外源 NO 对铜胁迫下番茄幼苗根系抗坏血酸-谷胱甘肽循环的影响[J].应用生态学报,2013,24(4):1023-1030.
- [25] 孙德智,杨恒山,彭靖,等.外源 SA 和 NO 对 NaCl 胁迫下番茄幼苗生长、光合及离子分布的影响[J].生态学报,2014,34(13):3519-3528.