文章编号:1001—7380(2020)06—0019—04

外源 NO 对盐胁迫下新疆杨生理特性的影响

曹 芳

(山西省桑干河杨树丰产林实验局金沙滩林场,山西 怀仁 038302)

摘要:试验以3年生新疆杨为试验材料,在NaCl浓度为600 mmol/L条件下,研究了不同浓度的NO供体外源硝普钠(40,100,160 μmol/L)处理对盐胁迫下新疆杨MDA含量,SOD,POD,CAT活性的影响。结果表明:600 mmol/L盐胁迫会提高新疆杨叶片内MDA含量,而100 μmol/L的外源硝普钠处理与盐胁迫处理相比显著降低了MDA含量;盐胁迫条件下新疆杨叶片内SOD,POD,CAT活性升高,100 μmol/L的外源硝普钠处理较盐胁迫处理显著提高了3种抗氧化酶活性。综合分析认为,100 μmol/L的外源硝普钠具有缓解新疆杨盐胁迫伤害的作用。

关键词:硝普钠;一氧化氮;盐胁迫;新疆杨;生理特性

中图分类号:Q945.78;Q946.885^{+}.9;S792.119 **文献标志码**:A **doi**:10.3969/j.issn.1001-7380.2020.06.004

Effect of exogenous NO on physiological traits of *Populus alba* var *pyramidalis* Bge. under salt stress

Cao Fang

(Jinshatan Forest Farm, Sangganhe Poplar High Yield Forest Experimental Bureau, Shanxi Province, Huairen 038302, China)

Abstract: In this paper, the three-year-old cutting plants of *Populus alba* var *pyramidalis* Bge. were used as experimental material, and under 600 mmol/L salt stress, MDA content, SOD, POD and CAT activities in leaves were studied with different exogenous NO concentration (40,100,160 μmol/L SNP addition). The results showed that the MDA content was increased under salt stress, but exogenous 100 μmol/L SNP addition could make MDA content decrease significantly. And the activities of SOD, POD and CAT increased by salt stress, were still significantly increased with 100 μmol/L exogenous SNP addition. Comprehensive analysis showed that 100 μmol/L exogenous SNP addition could alleviate salt stress injury of *P. alba* var *pyramidalis* Bge.

Key words: SNP; Nitric oxide; Salt stress; *Populus alba* var *pyramidalis* Bge.; Physiological trait

土壤盐渍化是全世界面临的土壤肥力退化的重大难题,在我国华北、西北、西南沿海地区盐渍化土壤面积达到了3×10^{8} hm^{2},这也导致了当地多种植物体细胞水势降低、叶片光合能力下降,多种代谢受阻,在苗期表现尤其明显[1],探索降低盐胁迫对植物生长发育的危害是目前众多研究者的探索方向。NO是植物体内一种重要的逆境信号物质,在植物生长发育、衰老、抗逆过程中发挥着重要的生理功能[2]。在对NO的生理机制研究中发现,NO可以直接对植物的活性氧代谢酶系统产生作用,进而实现对植物体内活性氧代谢的调控[3]。植物在盐胁迫下H_2O_2和活性氧大量产生,细胞膜结构破坏,影响正常生理机能的发挥[4]。植物体内清除多余的H_2O_2和活性氧主要依靠保护酶系统,适宜浓度的NO可以提高植物体内保护酶系统活性来降低膜脂过氧化作用,以降低盐胁迫对植物的伤害[5-6]。硝普钠(SNP)是人们最为常用的一种外源NO供体,施用0.5 mmol/L的SNP,能释放大约2.0 μmol/L的NO[7]。韩厅等利用硝普钠(SNP)提供外源NO,研究了紫花苜蓿逆境胁迫下膜伤害程度变化,结果

收稿日期:2020-09-20;**修回日期**:2020-10-08

作者简介:曹 芳(1981-),女,山西怀仁人,工程师,大学本科毕业。主要从事林木栽培研究工作。

表明外源 NO 显著降低了逆境胁迫程度[7];麻云霞等[6]研究认为,外源 NO 显著提高了盐胁迫下酸枣植株保护酶活性,提高了植株体内活性氧代谢能力,降低了盐胁迫对植株的伤害。也有部分研究者认为,外源 NO 可以降低盐胁迫下植物体内 MDA 含量[8],提高渗透调节物质含量以及叶绿素含量[9],缓解了盐胁迫的危害。外源 NO 对缓解农作物盐胁迫危害的相关研究较多,目前也有部分关于外源 NO 对缓解木本植物盐胁迫危害的相关报道,但是仍然缺乏外源 NO 对新疆杨植株体内靶向调控活性氧系统作用的相关研究。新疆杨是重要的园林绿化兼用材林树种,但是土壤盐渍化是影响其幼苗生长发育和培育优质壮苗的限制因子。研究外源 NO 对盐胁迫下新疆杨生理特性的影响,初步分析其作用机制,对指导新疆杨育苗实践中降低盐胁迫危害具有重要的实践意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2019 年 3 月至 2019 年 9 月在桑干河杨树丰产林实验局金沙滩林场试验苗圃内进行。试验所选用新疆杨(*Populus alba* var *pyramidalis* Bge.)苗木为 3 年生扦插苗,2017 年 3 月在苗圃内扦插繁殖,2018 年 3 月 5 日将试验处理的苗木移栽至塑料盆内,塑料盆长×宽×高分别为 0.30 m×0.30 m×0.50 m,盆装土直接取自新疆杨苗圃的表层厚 0—20 cm 的土壤。2018 年全年正常生长和养护,防止干旱和水涝胁迫以及病虫危害。盆栽土壤基本肥力:碱解氮为 16.34 mg/kg,P_2O_5为 12.68 mg/kg,K_2O为 82.47 mg/kg,pH 7.63。

1.2 试验设计

本试验共设 5 个处理,其中 B1 为对照(无盐胁迫),盐浓度为 0 mmol/L;B2 为盐胁迫处理,NaCl 浓度为 600 mmol/L;B3 为盐浓度 600 mmol/L +SNP 浓度 40 μmol/L 处理;B4 为盐浓度 600 mmol/L + SNP 100 μmol/L;B5 为盐浓度 600 mmol/L + SNP 160 μmol/L。本试验中,每个处理重复 10 盆,总计 150 盆,随机区组试验设计,重复 3 次。

1.3 试验处理方式

在 2019 年的 6 月 10 日对盆栽新疆杨进行控水处理,6 月 14 日进行盐处理,B2,B3,B4,B5 处理的每个栽植盆中每盆浇入 500 mL 浓度为 600 mmol/L 的 NaCl 溶液,6 月 18 日进行第 2 次盐处理,每盆浇入同量同浓度的 NaCl 溶液。6 月 14 日至 6 月 19 日每天 20:00 按照试验设计浓度喷施 SNP,连续喷施 5 d,每株喷施 SNP 量以至植株叶面滴水为止。

1.4 试验测定项目

分别于 SNP 处理结束后的第 10,20,30,40 天摘取各处理的植株叶片,每株按照树冠的上中下各摘取叶 2 片,每处理选取 3 盆共计摘取叶 18 片,冲洗干净后放入液氮中冷冻暂存,并进行相关生理指标的测定。其中 SOD 活性采用 NBT 还原法测定[10],POD 活性采用愈创木酚法测定[10],CAT 活性采用紫外吸收法测定[11],MDA 含量测定采用硫代巴比妥酸法[11]。各生理指标均测定 5 次,取平均值作为最终结果。

1.5 数据处理

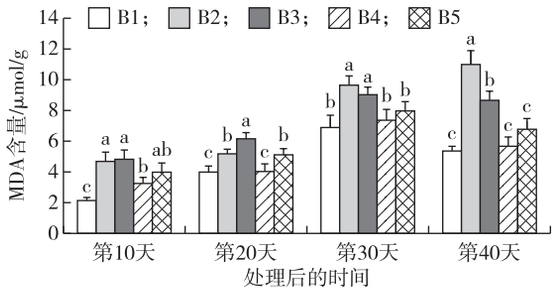
图表制作采用 Excel2010 版软件,差异显著性检验采用 DPS7.05 版软件。

2 结果与分析

2.1 外源 NO 对盐胁迫下新疆杨 MDA 含量的影响

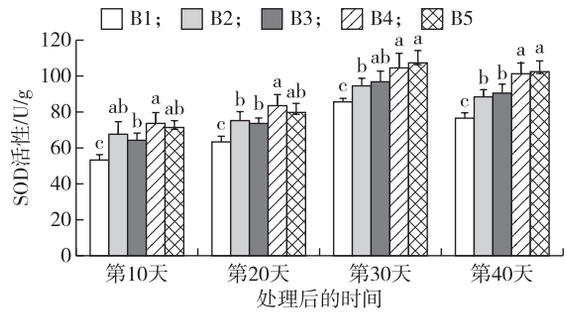
由图 1 可知,盐胁迫条件下,新疆杨叶片内 MDA 含量表现出升高的变化,其中 B2 与 B1 处理相比在整个试验期间均存在显著差异,表明 600 mmol/L 的盐胁迫会使新疆杨叶片内 MDA 含量发生显著变化,而 MDA 是新疆杨叶片细胞膜发生过氧化产物之一,其含量的升高说明盐胁迫对新疆杨细胞膜产生了一定的伤害。

外源 NO 处理后的第 10—20 天,B3 高于 B2 处理,说明低浓度的外源 NO 处理并未起到缓解新疆杨盐胁迫的作用;100 μmol/L 的外源 NO 处理显著低于 B2,表明该处理对缓解 10—20 d 内盐胁迫危害具有显著作用;B5 在第 10 天与 B2 之间无显著差异,表明该浓度的外源 NO 在处理后第 10 天不会显著缓解新疆杨盐胁迫。第 30—40 天,B4,B5 处理均显著低于 B2 处理,B1 与 B4,B5 之间无显著差异,表明 B4,B5 处理可以有效缓解新疆杨在盐胁迫下的细胞膜受害程度,并且 MDA 含量降低到了与非盐胁迫处理同一水平,这也表明外源 NO 对缓解新疆杨盐胁迫对细胞膜的伤害是有效的。第 40 天,B3 显著低于 B2 处理,B3 显著高于 B1 处理,说明 40 μmol/L 的外源 NO 处理在第 40 天同样具有缓解盐胁迫新疆杨对细胞膜伤害的作用,但是效果低于 B4 处理。



注:不同小写字母表示不同浓度外源 NO 处理后的同一天结果之间在 $P<0.05$ 水平上差异性显著。

图 1　外源 NO 对盐胁迫下新疆杨 MDA 含量的影响



注:不同小写字母表示不同浓度外源 NO 处理后的同一天结果之间在 $P<0.05$ 水平上差异性显著

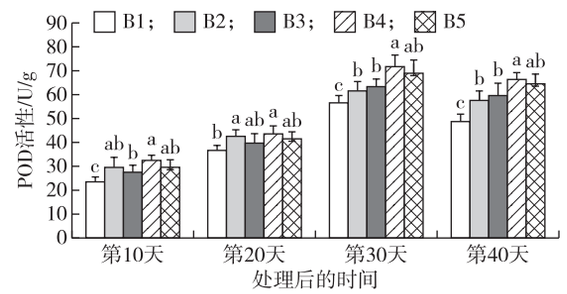
图 2　外源 NO 对盐胁迫下新疆杨 SOD 活性的影响

2.2　外源 NO 对盐胁迫下新疆杨 SOD 活性的影响

SOD 在植物体内催化活性氧转化为过氧化氢,从而降低活性氧对植物体的危害。由于 NO 调控对象为活性氧清除系统,因此外源 NO 会对新疆杨 SOD 活性产生显著影响,进而影响活性氧的转化速率。本试验结果(如图 2)表明,盐胁迫与对照相比 SOD 活性显著升高,表明盐胁迫提高了新疆杨 SOD 活性,这是新疆杨对盐胁迫的正常生理响应机制。外源 NO 处理与盐胁迫处理相比改变了新疆杨叶片内 SOD 活性。处理后的第 10—20 天,B3 分别低于 B2 处理 3.34,1.59 U/g,无显著差异,而 B5 处理分别高于 B2 处理 3.78,4.50 U/g,无显著差异,表明这 2 个处理在第 10—20 天不会对新疆杨叶片内 SOD 活性产生显著影响。第 20 天至第 40 天,B4 处理 SOD 活性分别比 B2 提高了 11.03%,10.58%,14.53%,差异显著,表明 100 μmol/L 的外源 NO 显著提高了新疆杨叶片内的 SOD 活性,从而显著提高了清除活性氧自由基的能力,对降低新疆杨盐胁迫危害具有显著作用。第 30—40 天,B5 分别高于 B4 处理 2.81,1.14 U/g,无显著差异,表明外源 NO 提高至 160 μmol/L 并未显著提高新疆杨 SOD 活性。

2.3　外源 NO 对盐胁迫下新疆杨 POD 活性的影响

POD 可以将植物体内多余的 H_2O_2 转化为水和氧气,可以有效缓解植物在盐胁迫下产生的 H_2O_2 对植物体产生的伤害。外源 NO 作为植物体逆境的信号物质,通过调节 POD 活性可以显著降低许多由 ROS 介导的细胞毒害作用[12-13]。本试验结果(如图 3)中,盐胁迫下新疆杨 POD 活性表现出升高的变化,外源 NO 处理在处理后 30 d 与盐胁迫处理相比同样表现出升高的变化,但是不同浓度的 NO 处理对 POD 活性的影响存在差异。整个试验期间,B4 处理 POD 活性分别比 B2 处理提高了 2.90,1.01,10.12,8.75 U/g,第 30—40 天,2 个处理之间差异,表明该处理对提高 POD 活性进而降低新疆杨细胞膜伤害程度效果达到了显著水平。B3,B5 与 B2 处理相比并无显著差异,表明这 2 个处理不会对新疆杨 POD 活性产生显著影响。

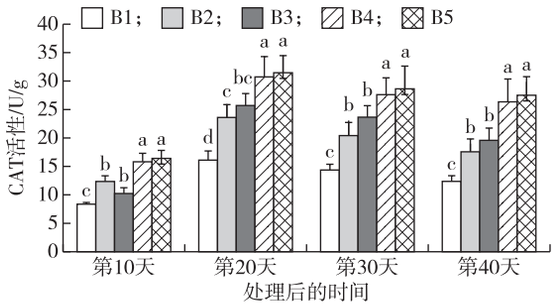


注:不同小写字母表示不同浓度外源 NO 处理后的同一天结果之间在 $P<0.05$ 水平上差异性显著。

图 3　外源 NO 对盐胁迫下新疆杨 POD 活性的影响

2.4　外源 NO 对盐胁迫下新疆杨 CAT 活性的影响

CAT 是植物体内保护酶系统的重要组成部分,在盐胁迫条件下其可以将植物体内产生的活性氧和 H_2O_2 分解为 H_2O 和 O_2,对防止其危害膜系统起到重要的保护作用。NO 作为作用于 ROS 系统的信号物质,其对植物体内 CAT 活性会产生显著的影响。本试验结果中(如图 4),盐胁迫提高新疆杨叶片内的 CAT 活性,但是在第 30—40 天并未达到显著水平。100 μmol/L 的外源 NO 在整个试验期间与盐胁迫处理相比显著提高了新疆杨 CAT 活性,表明该处理可以显著提高新疆杨清除 H_2O_2 的能力,对降低新疆杨盐胁迫危害具有重要作用。40 μmol/L 的外源 NO 处理与盐胁迫处理相比 CAT 活性处于同一水平,说明该浓度的外源 NO 处理不会对新疆杨 CAT 活性产生显著影响。



注:不同小写字母表示不同浓度外源 NO 处理后的同一天结果之间在 $P<0.05$ 水平上差异性显著。

图4 外源 NO 对盐胁迫下新疆杨 CAT 活性的影响

3 讨论

NO 是植物逆境胁迫中重要的调控小分子物质,其通过作用于细胞壁和细胞膜的磷脂双分子层,以提高流动性和稳定系,从而缓解植物的逆境胁迫[14]。植物在盐胁迫条件下会使植株体内积累 ROS,导致细胞膜脂过氧化作用,从而引起 MDA 积累[15-16]。本试验结果表明,盐胁迫显著提高了新疆杨叶片内 MDA 含量,这与吴雪霞等[17]、付娆等[18]的研究结果相似,表明盐胁迫可能使新疆杨活性氧处于较高水平,从而使细胞膜受到了一定程度的损伤。外源喷施 NO 与盐胁迫处理相比降低了 MDA 含量,这样说明 NO 对缓解盐胁迫下新疆杨细胞膜受 ROS 危害具有较为明显的作用。植物体在逆境条件下产生的 ROS 会与 DNA、脂类发生化学反应,从而导致酶活性降低,严重影响植株的正常生长[19]。植物保护酶系统(SOD,POD,CAT)是清除 ROS 的重要活性物质,其活性的高低直接影响到植株清除 ROS 的能力[16,20]。本试验研究结果中,新疆杨在盐胁迫下 SOD、POD 活性均显著升高,这与郑庆柱等[21]的研究结果相同,说明盐胁迫条件下新疆杨会提高 2 种保护酶的活性来清除过多的活性氧,以防止膜系统受到破坏,影响其正常生长。从不同 NO 浓度对新疆杨 SOD、POD 活性的影响来看,100 μmol/L 的 SNP 处理对提高新疆杨 SOD、POD 活性高于 40 μmol/L 和 160 μmol/L 处理,说明该浓度的 NO 对缓解新疆杨盐胁迫效应优于其他 2 个浓度处理。CAT 在逆境条件下将植物体内产生的 H_2O_2 转化为 H_2O 和 O_2,可以有效降低活性氧的危害,因此 CAT 活性的升高有利于提高植物的抗逆能力[21-22]。适宜浓度的 NO 可以显著提高植物体内 CAT 活性,植物体可以快速清除 ROS,但 NO 浓度过高,会与超氧阴离子反应,产生较高浓度的过氧亚硝酸阴离子($ONOO^-$)[16],导致 CAT 活性降低,使植株表现出伤害效应。本项研究中,160 μmol/L 处理与 100 μmol/L 处理相比并未显著提高新疆杨 CAT 活性,这可能与 160 μmol/L 的 NO 处理对新疆杨保护效应降低有关。

4 结论

(1)盐胁迫会显著提高新疆杨植株体内 MDA 含量,外源 NO 会降低盐胁迫下新疆杨叶片内 MDA 含量,其中 100 μmol/L 处理降低效果最显著。

(2)盐胁迫显著提高了新疆杨叶片内的 SOD,POD,CAT 活性,外源 NO 处理提高了盐胁迫条件下 3 种保护酶活性,其中 100 μmol/L 处理提高效果显著优于其他 2 个 NO 处理。

(3)综合比较 3 个浓度的外源 NO 处理来看,100 μmol/L 对缓解新疆杨幼苗盐害效果较好。

参考文献:

[1] 陈 花,王建武,王建军,等.外源 NO 对盐胁迫下沙打旺种子萌发和幼苗生长的影响[J].草业科学,2017,34(7):1459-1468.

[2] DURNER J,KLESSIG D F.Nitric oxide as a signal in plants[J].Current Opinion in Plant Biology,1999,2(5):369-374.

[3] CLARK D, DURNER J, NAVARRE D A,et al. Nitric oxide inhibition of tobacco catalase and ascorbate peroxidase[J].Molecular Plant-Microbe Interactions, 2000,13(12):1380-1384.

[4] HERNANDEZ J A,FERRER M A,JIMENEZ A,et al.Antioxidant systems and O_2^-/H_2O_2 production in the apoplast of pea leaves: Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins[J].Plant Physiology, 2001,127:817-831.

[5] CHENG F Y,HSU S Y,KAO C H. Nitric oxide counteracts the senescence of detached rice leaves induced by dehydration and polyethylene glycol but not by sorbitol[J].Plant Growth Regulation, 2002,38:265-272.

[6] 麻云霞,李钢铁,梁田雨,等.外源 NO 对酸枣幼苗抗盐性的影响[J].水土保持学报,2018,32(6):371-378,383.

[7] 韩 厅,辛夏青,魏小红.外源 NO 对 PEG 胁迫下苜蓿幼苗抗氧化酶及同工酶的影响[J].分子植物育种,2019,17(10):3399-3405.

[8] 马 光.外源一氧化氮对盐胁迫下白菜种子萌发和幼苗抗盐性的影响[J].北方园艺,2010(20):59-61.

[9] 彭兰华,丁梁斌,胡长效,等.一氧化氮对玉米幼苗抗盐性的影响[J].江西农业学报,2006,18(5):6-8.

[10] 白宝璋.植物生理生化测试技术[M].北京:中国科技出版社,1995:46-54.

[11] 乔富廉.植物生理学实验分析测定技术[M].北京:中国农业科学技术出版社,2002:56-108.

(下转第 27 页)

苗率,建议种子浅播。除此之外,前人的研究发现,赤霉素处理也能显著提高种子的萌发率[3,17],但赤霉素和冷层积或野外埋藏的交互作用是否会进一步提高榉树种子的萌发率,还需进一步探讨。

综上所述,本文通过对榉树种子休眠与萌发特性的研究,发现新成熟的榉树种子具有生理休眠,冷层积和浅层(1 cm)的野外埋藏能打破种子休眠。种子在夜/昼温度 5/15,10/20 ℃下具有较高的萌发率。在实际生产过程中,可以对采收的榉树种子在冬季进行沙藏,来年春季进行播种。

参考文献:

[1] BASKIN C C, BASKIN J M. Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination (2nd ed.) [M]. San Diego: Elsevier/Academic Press, 2014.

[2] 姚林君,张克亮,熊作明,等.种子形态生理休眠研究进展[J].生态学杂志,2019,38(1):247-255.

[3] 沈建军,黄旭波,柏明娥,等.榉树种子形态特征与萌发特性研究[J].浙江林业科技,2011,31(6):56-59.

[4] 汪灵丹,张日清.榉树的研究进展[J].广西林业科学, 2005,(4):188-191,211.

[5] 舒三洪,梅小华,谢禄山.榉树播种育苗技术[J].湖南林业科技,2013,40(6):47-49.

[6] CHO M S, MENG L, SONG J H, et al. The effects of biochars on the growth of *Zelkova serrata* seedlings in a containerized seedling production system[J]. Forest Science and Technology, 2017, 13(1):25-30.

[7] WANG J, FU Z, REN Q, et al. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, photosynthesis, and nutrient uptake of *Zelkova serrata* (Thunb.) Makino seedlings under salt stress[J]. Forests, 2019,10(2):186.

[8] 张日清,刘海龙,汪灵丹,等.榉树组培芽继代增殖的影响因素[J].经济林研究,2013,31(3):54-58.

[9] 窦全琴,张　敏,黄利斌,等.榉树优树子代苗期及幼林期生长变异初步研究[J].江苏林业科技,2014,41(3):1-4.

[10] 蒋华伟,姜红卫,李静会,等.榉属的研究进展[J].江苏林业科技,2012,39(5):51-54.

[11] HUANG Z, LIU S, BRADFORD K J, et al. The contribution of germination functional traits to population dynamics of a desert plant community[J]. Ecology, 2016, 97(1):250-261.

[12] 郭聪聪,沈永宝,史锋厚.白皮松种子休眠研究进展[J].南京林业大学学报(自然科学版),2019,43(2):175-183.

[13] ZHANG Y, ZHANG K L, JI Y S, et al. Physical dormancy and soil seed bank dynamics in seeds of *Melilotus albus* (Fabaceae)[J]. Flora, 2020, 266:151600.

[14] ZHANG K L, ZHANG Y, WALCK J L, et al. Non-deep simple morphophysilogical dormancy in seeds of *Angelica keiskei* (Apiaceae)[J]. Scientia Horticulturae, 2019, 255:202-208.

[15] YE X, LI L, BASKIN C C, et al. Sand burial helps regulate timing of seed germination of a dominant herb in an inland dune ecosystem with a semiarid temperate climate[J]. Science of the Total Environment, 2019, 680:44-50.

[16] VANDELOOK F, BOLLE N, VAN ASSCHE J A. Multiple environmental signals required for embryo growth and germination of seeds of *Selinum carvifolia* (L.) L. and *Angelica sylvestris* L. (Apiaceae)[J]. Seed Science Research, 2007, 17:283-291.

[17] 田英翠,曹受金,曹基武.六种榉树种子形态特征及萌发特性的研究[J].北方园艺,2014 (11):71-74.

[18] 王彦荣,杨　磊,胡小文.埋藏条件下 3 种干旱荒漠植物的种子休眠释放和土壤种子库[J].植物生态学报,2012,36(8):774-780.

(上接第 22 页)

[12] BELIGNI M V, LAMATTINA L. Nitric oxide counteracts cytotoxic processes mediated by reactive oxygen species in plant tissues[J]. Planta, 1999, 208:337-344.

[13] 肖　强,陈　娟,吴飞华,等.外源 NO 供体硝普钠(SNP)对盐胁迫下水稻幼苗中叶绿素和游离脯氨酸含量以及抗氧化酶的影响[J].作物学报,2008, 34(10):1849-1853.

[14] LESHEM Y Y, HARAMATY E. The characterization and contrasting effects of the nitric oxide free radical in vegetative stress and senescence of *Pisum sativum* Linn.Foliage[J].Journal of Plant Physiology, 1996, 148(3-4):258-263.

[15] 张吉立,刘振平.氯化钠胁迫对园艺作物种子萌发及幼苗生长发育的影响[J].黑龙江农业科学,2007(1):50-53.

[16] 李翠芳,刘连涛,孙红春,等.外源 NO 对棉花幼苗氧化损伤和保护酶活性的影响[J].华北农学报,2013,28(4):158-162.

[17] 吴雪霞,朱月林,朱为民,等.外源一氧化氮对 NaCl 胁迫下番茄幼苗生理影响[J].中国农业科学,2006,39(3):575-581.

[18] 付　娆,张海洋,梁晓艳,等.蒲公英对 NaCl 单盐和海水复合盐胁迫的生理响应[J].山东农业科学,2020(2):33-37.

[19] 马海燕,任小林,周会玲.一氧化氮处理砀生酥梨的保鲜效果[J].河南农业科学,2007(5):98-101.

[20] 刘文瑜,杨宏伟,魏小红,等.外源 NO 调控盐胁迫下蒺藜苜蓿种子萌发生理特性及抗氧化酶的研究[J].草业学报,2015,24(2): 85-95.

[21] 郑庆柱,谭海运,高　雪,等.干旱、盐胁迫及盐旱复合胁迫对青稞幼苗生理生化特性的影响[J]. 江苏农业科学,2020,48(1):97-103.

[22] 刘银萍.洛阳红花期花瓣抗氧化酶 SOD、POD 和 CAT 活性的研究[J].河南林业科技,2020,40(3):13-15,41.