

网络出版时间:2014-05-28 11:34

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.06.030

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.06.030.html>

谷胱甘肽存在条件下 NO_2^- 对玉米植株 干旱胁迫的缓解作用

徐一馨,王 飞,张成双,慕自新

(西北农林科技大学 生命科学学院,陕西 杨凌 712100)

【摘 要】 【目的】研究谷胱甘肽(GSH)还原亚硝酸钠(NaNO_2)生成 S-亚硝基谷胱甘肽(GSNO)所释放 NO 对玉米幼苗抗旱性的影响。**【方法】**以玉米品种“郑单 958”为供试材料,采用盆栽试验,分别用 $\text{NO}_2^- + \text{GSH}$ 合成的不同浓度 GSNO(50,250,500,800,1 000 $\mu\text{mol/L}$)熏蒸处理三叶期的玉米幼苗,通过控制浇水进行干旱胁迫,以未经 GSNO 处理的玉米幼苗(0 $\mu\text{mol/L}$ GSNO)为干旱对照,通过测定干旱胁迫期间玉米的生长、生理指标,分析 GSNO 对干旱胁迫条件下玉米植株生长、抗氧化酶活性、膜脂过氧化程度的影响。**【结果】**干旱胁迫 7 d 后,50~1 000 $\mu\text{mol/L}$ GSNO 处理的玉米幼苗较干旱对照生长更好,其中 500 $\mu\text{mol/L}$ GSNO 处理玉米幼苗的株高、茎粗和叶面积分别较干旱对照提高 32.26%,45.83% 和 53.13%。GSNO 处理能够显著增强干旱胁迫玉米幼苗的超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽还原酶(GR)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸氧化酶(APX)的活性,相应减少过氧化氢(H_2O_2)和超氧阴离子(O_2^-)含量,降低膜脂的过氧化伤害。GSNO 处理还能够维持干旱胁迫下玉米幼苗光合色素的相对稳定性,降低离体叶片的失水速率,其变化趋势表现为 500 $\mu\text{mol/L} < 50 \mu\text{mol/L} < 1\,000 \mu\text{mol/L}$ 。**【结论】**GSNO 处理能明显改善玉米的抗旱性,其发挥作用的浓度为 500 $\mu\text{mol/L}$ 。

【关键词】 玉米;谷胱甘肽;S-亚硝基谷胱甘肽;干旱胁迫

【中图分类号】 S513.062

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2014)06-0041-07

Alleviation of drought stress to maize by nitrite with the presence of Glutathione

XU Yi-xin, WANG Fei, ZHANG Cheng-shuang, MU Zi-xin

(College of Life Science, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 This article study the effects of NO released in the formation of S-nitroso-glutathione (GSNO) by Glutathione (GSH) and sodium nitrite (NaNO_2) on resistance of maize seedlings (*Zea mays* L.) to drought stress. **【Method】** Pot planted Zhengdan 958 maize seedlings at three-leaf stage were treated with different concentrations of GSNO (50, 250, 500, 800, and 1 000 $\mu\text{mol/L}$). Drought stress was simulated by controlling water supply. Maize seedlings without GSNO were treated as control group. Growth and physiological indexes of maize seedlings were measured to analyze the influence of GSNO on plant growth, antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation of maize. **【Result】** After 7 days of drought stress, the plants treated by 50—1 000 $\mu\text{mol/L}$ GSNO grew better than the control. Compared to the control, 500 $\mu\text{mol/L}$ GSNO treatment improved height, stem diameter and leaf area of maize seedlings by 32.26%, 45.83% and 53.13%, respectively. GSNO enhanced activities of antioxidant enzymes such as su-

【收稿日期】 2013-05-02

【作者简介】 徐一馨(1988—),女,陕西西安人,硕士,主要从事植物逆境生物学研究。E-mail:917632162@qq.com

【通信作者】 慕自新(1972—),男,宁夏西吉人,副教授,博士,主要从事植物逆境信号转导与分子生物学研究。

E-mail:muxz@nwsuaf.edu.cn

peroxide dismutase(SOD), glutathione reductases(GR), catalase(CAT) and ascorbate peroxidase(APX), while decreased both H_2O_2 and O_2^- levels in maize leaves, and protected membrane lipids from over-oxidation. GSNO also maintained photosynthetic pigments and decreased water-losing of detached leaves with the trend of $500 \mu\text{mol/L} < 50 \mu\text{mol/L} < 1\,000 \mu\text{mol/L}$. 【Conclusion】 GSNO treatment significantly improved the drought resistance of maize, and the optimal concentration was $500 \mu\text{mol/L}$.

Key words: maize; GSH; GSNO; drought stress

随着全球气候的变化,干旱发生的频率和持续的时间均在增加,对粮食安全造成了严重的威胁^[1]。一氧化氮(NO)几乎在哺乳动物细胞中参与了所有的生理活动,如心血管放松、神经递质转导、平滑肌放松以及免疫反应等^[2];在植物中,NO参与了植物生长发育及对外界胁迫反应等多种生理过程,包括促进种子萌发、降低种子休眠、调节植物的成熟和衰老、抑制植物开花等^[3-5]。当受到生物和非生物胁迫时,植物体产生的内源 NO 经过一系列的信号转导,通过调节气孔运动、激活抗氧化酶或者诱导胁迫应答基因的表达等方式来行使抗逆功能^[6-7]。而体外施加 NO,也可以增强植物对环境逆境(干旱、高盐、冷(冻)害、磷亏缺、重金属、UV-B 辐射、除草剂和病原等)的抗性^[8-9]。

植物体内通过酶促和非酶促途径产生 NO,其中酶促途径有硝酸还原酶(NR)、一氧化氮合酶(NOS)和其他酶促反应等 3 条途径。非酶促途径包括:反硝化作用和氮固定作用促进 NO_2^- 形成 NO;在酸性条件下,由 NO_2^- 还原形成 NO;抗坏血酸、光或谷胱甘肽(GSH)催化 NO_2^- 形成 NO;类胡萝卜素和光也可以催化 NO_2^- 向 NO 转变^[10]。大量研究表明,在植物的各种逆境胁迫和病理病害中,以硝普钠(SNP)或 N-亚硝基-乙酰青霉胺(SNAP)作为 NO 外源供体时,外源 NO 能够通过调节气孔闭合、激活抗氧化酶,从而降低活性氧(ROS)的含量,提高植物体的抗逆性^[9-11]。然而,目前关于酸性或还原剂存在条件下由 NO_2^- 形成的 NO 对植物抗逆性影响的研究还较少。因此,本试验通过研究酸性环境下 $\text{NO}_2^- + \text{GSH}$ 反应形成 GSNO 所释放的 NO 在提高玉米抗旱性中的作用,初步摸索能够用于生产实践的 GSNO 的最佳浓度配比及作用时间,以期为开发用于大田生产的 NO 抗旱制剂提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试玉米种子为郑丹 958,购自陕西杨凌金诺种业公司。营养基质于 2012-04 购自杨凌正高肥料

有限公司,其营养成分为 $\text{N} + \text{P}_2\text{O}_5 + \text{K}_2\text{O} \geq 1\%$,腐殖酸 $\geq 10\%$,有机质 $\geq 20\%$, $\text{EC} \leq 1.8 \text{ mS/cm}$ 。GSH 购自 Sigma 公司, NaNO_2 购自西陇制药公司。

1.2 幼苗的培养与处理

1.2.1 幼苗培养 选择适量籽粒饱满、大小一致的玉米种子,先用质量分数 10% 次氯酸钠消毒 15 min,自来水冲洗数次,再用蒸馏水浸泡过夜,使其充分吸水。之后,将玉米种子放在垫有 1 层海绵的托盘中,在 28°C 的温箱中黑暗催芽。将营养土分装到规格为 $10 \text{ cm} \times 11 \text{ cm}^2$ 的黑色盆钵中,每盆装土约 0.262 kg ,再将各个盆钵浸水 24 h,使其充分吸水;待玉米种子露白后,挑选生长一致的萌发种子移植到盆钵中。然后将发芽种子置于光照培养间(光照强度 $100 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光暗时数 14 h/10 h,昼夜温差 $28^\circ\text{C}/20^\circ\text{C}$,空气相对湿度 70%)中培养。

1.2.2 GSNO 的制备 将等体积的 10 mmol/L NaNO_2 (在 100 mmol/L HCl 中)与等体积的 10 mmol/L GSH(在 100 mmol/L pH 7.4 的磷酸缓冲液中)反应,即可形成 5 mmol/L GSNO。将 5 mmol/L GSNO 稀释成需要的浓度(50, 100, 250, 500, 800, $1\,000 \mu\text{mol/L}$)。室温条件下,在 100 mmol/L pH 7.4 的磷酸缓冲液中(内含 $50 \mu\text{mol/L}$ DTT),GSNO 可以释放出 NO,其中 $500 \mu\text{mol/L}$ GSNO 30 min 释放出的 NO 浓度约为 $3.25 \mu\text{mol/L}$ ^[12]。

1.2.3 幼苗处理 参照 Bethke 等^[13]的方法,待玉米幼苗长到三叶一心时,挑选长势一致的幼苗,分别将 50, 100, 250, 500, 800, $1\,000 \mu\text{mol/L}$ GSNO 连同植株一同放置到密闭的培养箱中,气体熏蒸 3 h。采用人工控水法对所有幼苗进行干旱胁迫,使土壤相对含水量(RWC)为 55%~45%。先充分供水至 RWC 的上限,之后 2 d 称质量 1 次,待 RWC 降至下限时采取微量给水法保证土壤含水量。试验设置干旱胁迫对照(即只单独进行干旱胁迫,不进行 GSNO 处理),分别于干旱胁迫后的 1, 4 和 7 d,取干旱对照和各处理植株的倒二叶,进行生长和生理指标的测定。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 株高、茎粗和叶面积 干旱胁迫 7 d 后分别用直尺和游标卡尺测量玉米植株的株高和茎粗。叶面积采用 Francis 等^[14] 的方法进行测算,即叶面积=叶长×叶宽×叶面积系数(0.75),每组数据重复测量 8 次取平均值。

1.3.2 叶片失水速率 将干旱胁迫 7 d 幼苗的离体叶片放置在光强度为 200 μmol/(m²·s)的白炽灯下,1 h 后称量叶片 1 次,共测量 6 次,分别记录叶片离体 1~6 h 时质量的变化;最后,将离体叶片置 80 ℃ 烘箱干燥至质量恒定,称取叶片干质量,求失水速率。

1.3.3 抗氧化酶活性 将用液氮研磨干旱胁迫 1,4 和 7 d 的幼苗倒二叶约 500 mg,溶解于 50 μmol/L 的磷酸钾缓冲液(包含 1 mmol/L EDTA、质量分数 1%的 PVP)中,在 4 ℃、15 000×g 下离心 20 min,取上清液用 Elavarthi 等^[15] 的方法测定抗氧化酶活性。

1.3.4 H₂O₂ 和 O₂⁻ 含量 H₂O₂ 含量采用 Brennan 等^[16] 的方法进行测定,O₂⁻ 含量根据 Zhang 等^[17] 的方法进行测定。

1.3.5 光合色素含量 采用质量测定法,取不同处

理植株叶片剪匀(0.2 cm×2 cm,避开叶脉),称取 0.1~0.2 g 放入试管中,加入 0.5 mL 纯丙酮和 10 mL 体积分数 80%的丙酮,用封口膜封住试管,将试管放入摇床于黑暗处浸提过夜,直到发白为止。利用 UV-2450 型紫外可见分光光度计分别在波长 663,645 和 470 nm 处测定吸光度值,然后计算叶绿素总量和叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素含量^[18]。

1.3.6 丙二醛(MDA)含量 采用 Zhao 等^[19] 的方法进行测定。

1.4 数据处理

试验数据用“平均值±标准差”表示。用 DPS 软件对数据进行方差分析和新复极差法比较,用 Origin 软件做图。

2 结果与分析

2.1 GSNO 处理对干旱胁迫玉米幼苗生长的影响

由图 1 可知,干旱胁迫 7 d 后,干旱对照的玉米植株严重倒伏并萎蔫,且叶片均出现卷曲;50~1 000 μmol/L GSNO 处理的玉米植株叶片顶部虽略有萎蔫,但仍呈舒张状态,茎干部位仍然直挺,也未见严重枯萎。

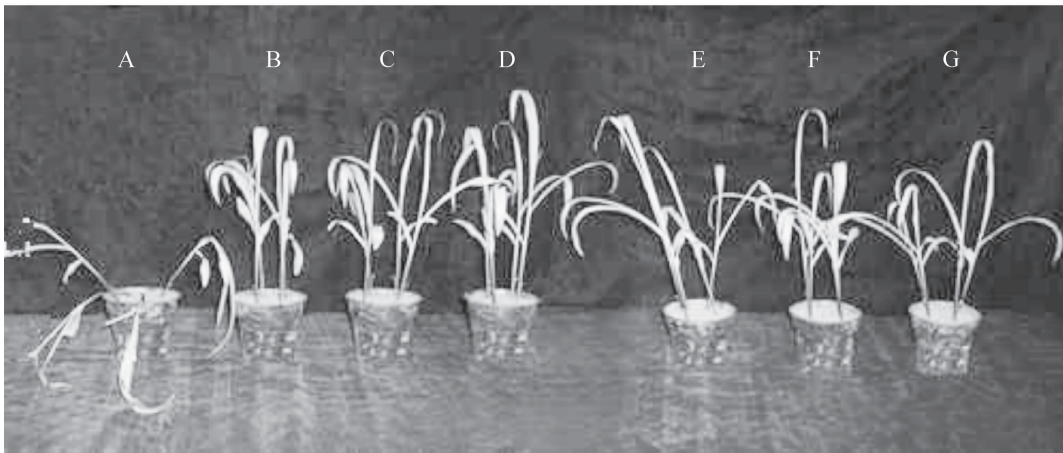


图 1 GSNO 处理对干旱胁迫玉米幼苗生长的影响

A. 干旱对照;B. 50 μmol/L;C. 100 μmol/L;D. 250 μmol/L;E. 500 μmol/L;F. 800 μmol/L;G. 1 000 μmol/L

Fig. 1 Effect of GSNO pretreatment on growth of maize seedlings under drought stress

A. Drought control;B. 50μmol/L;C. 100 μmol/L;D. 250 μmol/L;E. 500 μmol/L;F. 800 μmol/L;G. 1 000 μmol/L

表 1 显示,干旱对照组植株地上部分生长指标均显著低于 GSNO 处理组,说明 GSNO 处理液产生的 NO 能够极大缓解干旱对玉米幼苗地上部生长的影响,进而维持植株的正常生长。与干旱对照组相比,GSNO 浓度为 250 与 500 μmol/L 时,其抗旱能力得到最大发挥,其中在 500 μmol/L GSNO 处理

下,玉米幼苗的株高、茎粗和叶面积分别较干旱对照提高 32.26%,45.83%和 53.13%。鉴于 50,250,800 μmol/L GSNO 处理后玉米形态的变化与 50,500,1 000 μmol/L GSNO 处理基本一致,故本试验后续研究中只分析 50,500 和 1 000 μmol/L GSNO 处理对玉米生理指标变化的影响。

表 1 GSNO 处理对干旱胁迫 7 d 玉米幼苗形态指标的影响

Table 1 Effect of GSNO pretreatment on morphological indexes of maize seedlings under drought stress

GSNO 浓度/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) GSNO concentration	株高/cm Plant height	茎粗/cm Stem diameter	叶面积/ cm^2 Leaf area
0(CK)	$30.75 \pm 3.10 \text{ d}$	$0.60 \pm 0.10 \text{ d}$	$13.10 \pm 0.41 \text{ f}$
50	$35.94 \pm 3.90 \text{ c}$	$0.70 \pm 0.08 \text{ cd}$	$14.79 \pm 0.65 \text{ e}$
100	$35.98 \pm 4.90 \text{ c}$	$0.73 \pm 0.10 \text{ c}$	$16.03 \pm 0.69 \text{ d}$
250	$40.59 \pm 4.90 \text{ ab}$	$0.90 \pm 0.08 \text{ ab}$	$17.62 \pm 0.65 \text{ c}$
500	$40.67 \pm 4.40 \text{ ab}$	$0.88 \pm 0.09 \text{ b}$	$20.06 \pm 0.26 \text{ b}$
800	$38.90 \pm 2.70 \text{ bc}$	$0.75 \pm 0.14 \text{ c}$	$15.83 \pm 10.19 \text{ d}$
1 000	$37.94 \pm 3.80 \text{ bc}$	$0.73 \pm 0.09 \text{ c}$	$15.83 \pm 0.57 \text{ d}$

注:同列数据后标不同小写字母表示各处理间差异显著。
Note:Different lowercase letters after the data in the same column show significant difference between each treatment.

2.2 GSNO 处理对干旱胁迫玉米幼苗叶片失水速率的影响

干旱胁迫 7 d 后,分别测定各处理玉米离体叶片的失水速率,结果如图 2 所示。由图 2 可知,干旱对照玉米离体叶片失水速率的下降趋势最为明显,到测定后期其叶片失水速率几乎降为 0,表明叶片在离体 6 h 后其质量已经接近干质量;各 GSNO 处理组离体叶片失水速率的下降趋势相对较为平缓,其变化趋势表现为 $500 \mu\text{mol/L} < 50 \mu\text{mol/L} < 1\,000 \mu\text{mol/L}$,说明 GSNO 处理可以显著降低离体叶片的水分散失,并表现出一定的浓度依赖性。

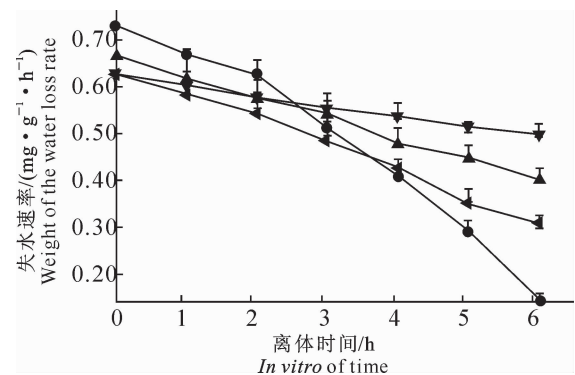


图 2 GSNO 处理对干旱胁迫下玉米离体叶片失水速率的影响
—●—, 干旱对照; —▲—, 50 $\mu\text{mol/L}$;
—▼—, 500 $\mu\text{mol/L}$; —◄—, 1 000 $\mu\text{mol/L}$
Fig. 2 Effect of GSNO pretreatment on water losing rate of detached maize leaves under drought stress
—●—, Drought control; —▲—, 50 $\mu\text{mol/L}$;
—▼—, 500 $\mu\text{mol/L}$; —◄—, 1 000 $\mu\text{mol/L}$

2.3 GSNO 处理对干旱胁迫玉米幼苗叶片活性氧代谢的影响

由图 3 可知,随着胁迫时间的延长,各处理玉米幼苗的 SOD 和 GR 活性均呈下降趋势,其中 GR 活性在干旱胁迫期间均显著高于干旱对照,500 和 1 000 $\mu\text{mol/L}$ GSNO 处理的 SOD 活性与干旱对照

也存在显著差异。各处理的 CAT 活性均在干旱胁迫第 4 天达到最大值,之后有所下降,其中干旱对照的下降幅度明显大于其他处理。与胁迫 1 d 相比,各 GSNO 处理幼苗的 APX 活性在胁迫第 4 天时变化不大,到后期总体呈上升趋势,且 GSNO 处理幼苗的 APX 活性均显著高于干旱对照。各处理组相比,均以 500 $\mu\text{mol/L}$ GSNO 处理对酶活的促进作用最明显。由此推论,与干旱对照相比,NaNO₂ + GSH 产生的 GSNO 处理能使干旱胁迫幼苗中的抗氧化酶活性得以激活,从而增强了玉米的抗氧化能力。

2.4 GSNO 处理对干旱胁迫玉米幼苗叶片 H₂O₂ 和 O₂⁻ 的影响

图 4 显示,与干旱对照相比,GSNO 处理玉米幼苗的 H₂O₂ 和 O₂⁻ 含量均显著降低,且随干旱胁迫时间的延长,对照幼苗的 H₂O₂ 和 O₂⁻ 含量持续增高,而 GSNO 处理幼苗的 H₂O₂ 和 O₂⁻ 含量虽亦有增加,但增幅较小。各处理组中,50 和 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 处理的 H₂O₂、O₂⁻ 含量均高于 500 $\mu\text{mol/L}$ 处理组,表明 500 $\mu\text{mol/L}$ GSNO 处理清除 ROS 的能力最强,同时说明 GSNO 引起的干旱胁迫条件下玉米幼苗的抗氧化防御具有一定的浓度依赖性。比较抗氧化酶活性的动态变化及 ROS 积累的动态变化,说明 GSNO 来源的 NO 能够缓解干旱胁迫对植株造成的 ROS 伤害,在一定程度上有利于维持植株的正常生长。

2.5 GSNO 处理对干旱胁迫玉米幼苗光合色素含量的影响

由图 5 可见,随着干旱胁迫时间的延长,各处理玉米叶片中的叶绿素总量、叶绿素 a 和叶绿素 b 含量总体上呈降低趋势。但与干旱对照相比,干旱胁迫期间 500 $\mu\text{mol/L}$ GSNO 处理玉米幼苗的叶绿素总量和叶绿素 a 含量均显著增高,干旱胁迫 1,4,7 d

时其叶绿素总量分别较干旱对照增加 10.12%, 27.64% 和 8.50%, 叶绿素 a 含量分别增加 21.12%, 28.18% 和 7.29%。随着胁迫时间的延长,各处理的类胡萝卜素含量无明显变化规律,但

GSNO 处理的类胡萝卜素含量总体高于干旱对照。上述结果表明,在干旱胁迫条件下,尤其是在干旱胁迫初期阶段,经 500 μmol/L GSNO 处理后,玉米幼苗叶片的叶绿素和类胡萝卜素含量均有所提高。

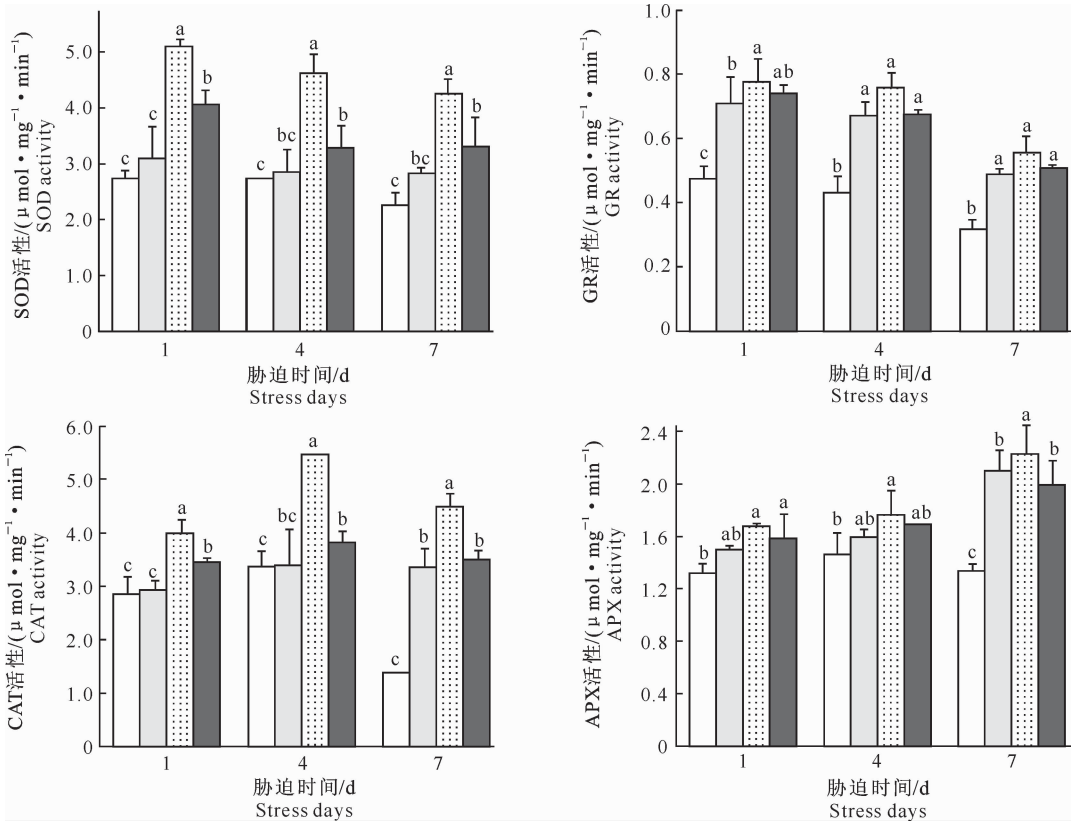


图 3 GSNO 处理对干旱胁迫玉米幼苗抗氧化酶活性的影响

□.干旱对照; □.50 μmol/L; ▨.500 μmol/L; ■.1 000 μmol/L;

图中不同小写字母表示处理间差异显著,下同

Fig. 3 Effect of GSNO pretreatment on antioxidant enzymes activity of maize seedlings under drought stress

□.Drought ctrlol; □.50 μmol/L; ▨.500 μmol/L; ■.1 000 μmol/L;

Different lowercase letters show significant difference between treatments,the same below

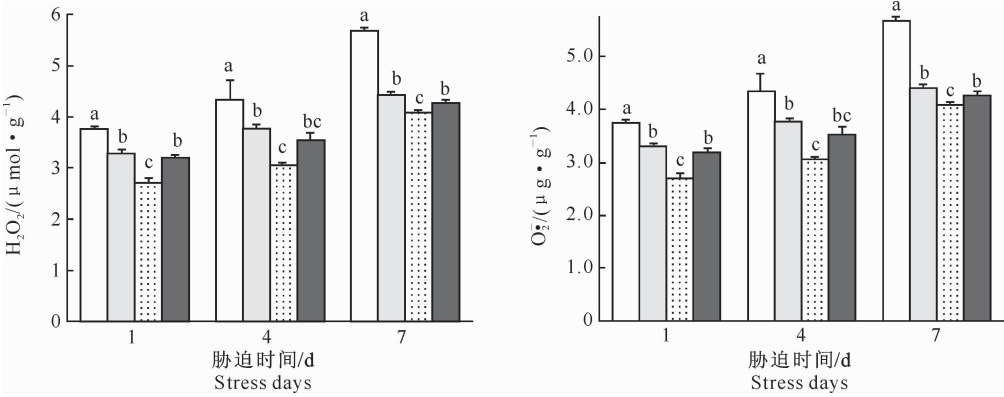


图 4 GSNO 处理对干旱胁迫玉米幼苗 H₂O₂ 和 O₂⁻ 含量的影响

□.干旱对照; □.50 μmol/L; ▨.500 μmol/L; ■.1 000 μmol/L

Fig. 4 Effect of GSNO pretreatments on H₂O₂ and O₂⁻ production of maize seedlings under drought stress

□.Drought ctrlol; □.50 μmol/L; ▨.500 μmol/L; ■.1 000 μmol/L

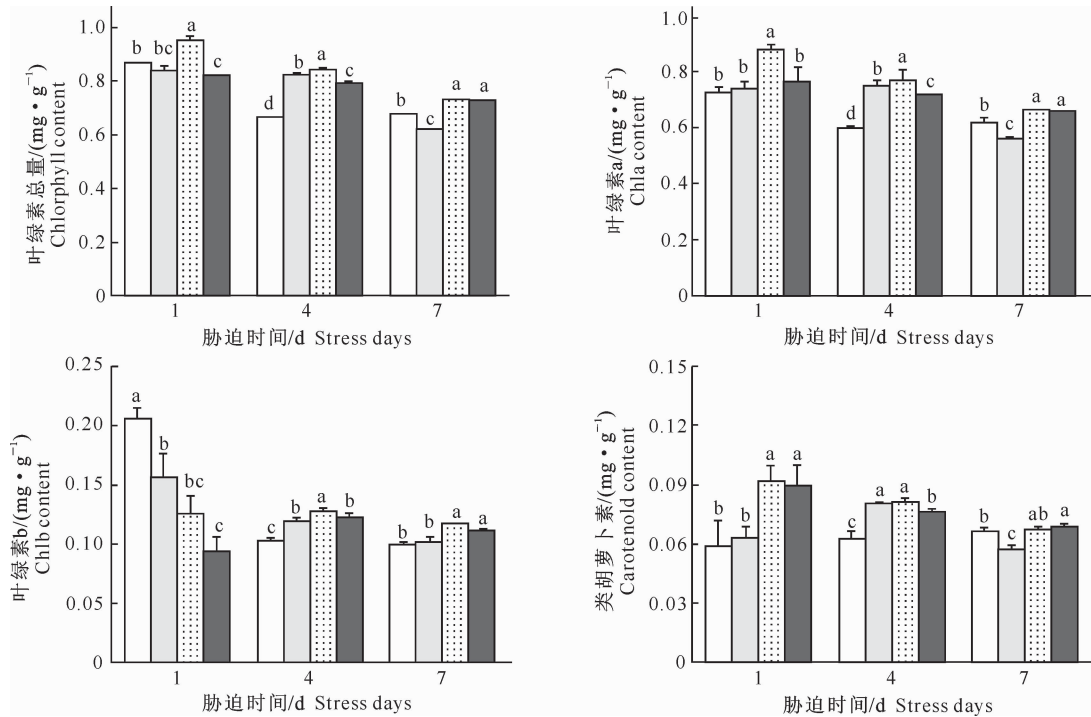


图 5 GSNO 处理对干旱胁迫玉米叶片光合色素含量的影响

□,干旱对照;▒,50 μmol/L;▤,500 μmol/L;■,1 000 μmol/L

Fig. 5 Effect of GSNO pretreatments on photosynthetic pigments content of maize seedlings under drought stress

□,Drought control;▒,50 μmol/L;▤,500 μmol/L;■,1 000 μmol/L

2.6 GSNO 处理对干旱胁迫玉米幼苗膜脂过氧化

的影响

图 6 显示,在干旱胁迫初期(1~4 d),MDA 含量在所有处理中基本保持不变,且各 GSNO 处理玉米幼苗的 MDA 含量均稍低于干旱对照。干旱胁迫 7 d 后,各处理的 MDA 含量虽有所增加,但仍明显低于干旱对照,表明 GSNO 处理降低了干旱胁迫下玉米幼苗的膜脂过氧化水平,增强了植株的抗逆性。

3 结论与讨论

NO 能否发挥作用及其发挥何种作用取决于其在植物体中的分布和浓度,低浓度 NO 可以降低 ROS 的水平,缓解亚硝基化胁迫,相反高浓度的 NO 可以引起氧化胁迫与亚硝基化损害^[1,7]。由于 NO 具有两面性,因此维持合适的 NO 浓度至关重要。干旱胁迫可以打破细胞的氧化还原平衡,最终导致 ROS 的积累与氧化胁迫^[20],诱导植物体内 NO 的产生。Arasimowicz-Jelonek 等^[21]报道,当黄瓜(*Cucurbitaceae*)遭受微量水分亏缺时(5~10 h),其根部伸长区就会有微量的 NO 产生;而当遭受严重水分亏缺时(17 h)根部会有大量 NO 产生;Guo 等^[10]报道,在干旱环境下豌豆(*Pisum sativum*)、小麦(*Triticum aestivum*)以及烟草(*Nicotiana tabacum*)中都会有 NO 的产生。

外源 NO 同样也会增强植物的抗干旱胁迫能力,施加 SNP 后产生的 NO 会通过减少水分胁迫、离子渗透以及降低蒸腾速率、诱导气孔关闭来增强植物对干旱胁迫的耐受性。Shi 等^[8]通过遗传学方法修饰 NOS 或 NR 的活性进而抑制内源 NO 产生,同时施加 SNP,证明外源 NO 同样能够增强植株抗氧化酶的活性,进而提高植物抵抗干旱胁迫的能力;

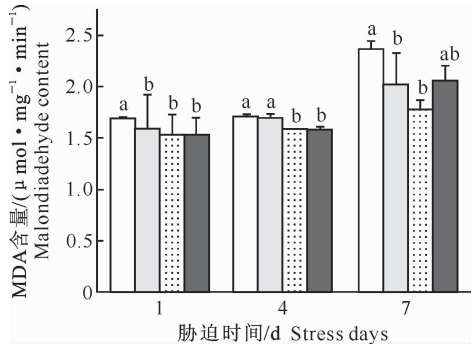


图 6 GSNO 处理对干旱胁迫玉米幼苗 MDA 含量的影响

□,干旱对照;▒,50 μmol/L;
▤,500 μmol/L;■,1 000 μmol/L

Fig. 6 Effect of GSNO pretreatment on MDA content of maize seedlings under drought stress

□,Drought control;▒,50 μmol/L;
▤,500 μmol/L;■,1 000 μmol/L

Tan 等^[22]也证明,外施 SNP 能够缓解受 PEG 胁迫的小麦幼苗的氧化损伤、加速抗性蛋白质的合成、增强光合作用速率、提高 SOD 和 CAT 的活性,并保持较高的相对含水量以及降低叶片中的水分损失。本研究用 GSNO 处理玉米幼苗后,在时间梯度上,植株体内的 SOD 和 GR 活性被率先激活,CAT 和 APX 活性在胁迫晚期得以体现。随着干旱胁迫时间的延长,干旱对照玉米幼苗叶片的 H_2O_2 和 O_2^- 含量激增,GSNO 处理组幼苗叶片的 H_2O_2 和 O_2^- 含量则显著低于干旱对照,且其 MDA 含量也表现出相同的变化趋势,这说明外施 GSNO 能明显增强干旱胁迫玉米幼苗叶片的抗氧化酶活性,减少 ROS 的积累,且最佳处理浓度为 $500 \mu\text{mol/L}$ 。

在干旱胁迫条件下,植物通过调节细胞分裂和细胞扩张主动重塑自身的生长发育过程,而 NO 正是通过调控气孔的开度,将生长发育和非生物逆境应答联系起来^[23]。Tan 等^[22]施加 SNP 为外源 NO,发现外源 NO 能够诱导气孔关闭,有利于维持较高的叶片含水量。研究表明,干旱胁迫 6 h 时,各 GSNO 处理的离体玉米叶片的失水速率均明显低于干旱对照,其失水速率表现为 $500 \mu\text{mol/L}$ GSNO < $50 \mu\text{mol/L}$ GSNO < $1\,000 \mu\text{mol/L}$ GSNO < 干旱对照,这可能是由于 NO 诱导了气孔开度的减小所致^[23]。光合色素不仅在植物吸收光能过程中发挥了重要作用,而且还能够增强植物的抗氧化能力,叶绿素 a 和叶绿素 b 对干旱比较敏感,而类胡萝卜素具有抵御干旱的能力。Graziano 等^[24]发现,NO 能够通过增加玉米叶片叶绿体膜上 Fe 离子的浓度来促进叶绿素含量的升高。本试验发现,GSNO 处理可以提高干旱胁迫玉米幼苗的叶绿素和类胡萝卜素含量。

综上所述, $500 \mu\text{mol/L}$ GSNO 处理对玉米幼苗抗旱性的提高效果最为明显,该浓度也在已经鉴定的其他物种的最适 GSNO 处理浓度范围之内^[15-21]。外施 GSNO 可以通过对植物生长的调控,维持植物体内的水分平衡,激活其抗氧化防御系统,增强 ROS 的清除能力及光合能力,进而增强玉米幼苗的抗旱性。

参考文献

- [1] Mir R R, Zaman-Allah M, Sreenivasulu N, et al. Integrated genomics, physiology and breeding approaches for improving drought tolerance in crops [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2012, 125: 625-645.
- [2] Schmidt H H W, Walter U. NO at work [J]. Cell, 1994, 78: 919-925.
- [3] Delledonne M, Xia Y, Dixon R A, et al. Nitric oxide functions as a secondary signal in plant disease resistance [J]. Nature, 1998, 394: 585-588.
- [4] Guo F Q, Okamoto M, Crawford N M. Identification of a plant nitric oxide synthase gene involved in hormonal signaling [J]. Science, 2003, 302: 100-103.
- [5] He Y K, Tang R H, Yi H, et al. Nitric oxide represses the *Arabidopsis* floral transition [J]. Science, 2004, 305: 1968-1971.
- [6] Besson-Bard A, Pugin A, Wendehenne D. New insights into nitric oxide signaling in plants [J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 9: 21-39.
- [7] Siddiqui M H, Al-Wahaibi M H, Basalah M O. Role of nitric oxide in tolerance of plants to abiotic stress [J]. Protoplasma, 2011, 248: 447-455.
- [8] Shi H T, Li R J, Cai W, et al. Increasing nitric oxide content in *Arabidopsis thaliana* by expressing rat neuronal nitric oxide synthase resulted in enhanced stress tolerance [J]. Plant Cell Physiol, 2012, 53: 344-57.
- [9] Wang B L, Tang X Y, Cheng L Y, et al. Nitric oxide is involved in phosphorus deficiency-induced cluster-root development and citrate exudation in white lupin [J]. New Phytologist, 2010, 187: 1112-1123.
- [10] Guo F Q, Crawford N M. *Arabidopsis* nitric oxide synthase is targeted to mitochondria and protects against oxidative damage and dark-induced senescence [J]. The Plant Cell, 2005, 17: 3436-3450.
- [11] Zhao M G, Tian Q Y, Zhang W H. Nitric oxide synthase-dependent nitric oxide production is associated with salt tolerance in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2007, 144: 206-217.
- [12] Sebastia J, Marcela S, Carlos G B, et al. Chloroplasts as a nitric oxide cellular source: Effect of reactive nitrogen species on chloroplastic lipids and proteins [J]. Plant Physiol, 2006, 142: 1246-1255.
- [13] Bethke P C, Libourel I G, Jones R L. Nitric oxide reduces seed dormancy in *Arabidopsis* [J]. Journal of Experimental Botany, 2006, 57(3): 517-526.
- [14] Francis C A, Rutger J N, Plamer A F E. A rapid method for plant leaf area estimation in maize (*Zea Mays* L.) [J]. Crop Science, 1969, 9: 537-539.
- [15] Elavarthi S, Martin B. Spectrophotometric assays for antioxidant enzymes in plants [J]. Methods in Molecular Biology, 2010, 639: 273-280.
- [16] Brennan T, Frenkel C. Involvement of hydrogen peroxide in the regulation of senescence in pear [J]. Plant Physiology, 1977, 59: 411-416.

- on yield increase and early-senescence resistance in maize [J]. Sci Agric Sin, 1997, 30(6): 66-71. (in Chinese)
- [23] Brar Z S, Singh M. Effect of plant regulators on biomass and productivity of cotton *Gossypium hirsutum* [J]. Indian J Ecol, 1983, 10: 254-259.
- [24] Sahu M P, Solanki N S, Dashora L N. Effects of thiourea, thiamine and ascorbic on growth and yield of maize (*Zea mays* L.) [J]. J Agron Crop Sci, 1993, 171(1): 65-69.
- [25] Buchala A J, Schmid A. Vitamin D and its analogues as a new class of plant growth substances affecting rihzogenesis [J]. Nature, 1979, 10(280): 230-231.
- [26] Fujioka S, Yamaguchi I, Murofushi N, et al. Isolation and identification of nicotinic acid as a flower-inducing factor in Lemna [J]. Plant Cell Physiol, 1986, 27(1): 103-108.
- [27] Hakimi A M A A, Hamada A M. Counteraction of salinity stress on wheat plants by grain soaking in ascorbic acid, thiamin or sodium salicylate [J]. Biologia Plantrum, 2001, 44(2): 253-261.
- [28] Varshney A R K, Varshney C K. Effects of SO₂ on ascorbic acid in crop plant [J]. Environ Pollut Series A: Ecol Biol, 1984, 35(4): 285-290.
- [29] Hu J, Liu Y F, Wu C F, et al. Long-term efficacy and safety of *all-trans* retinoic acid/arsenic trioxide-based therapy in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia [J]. Pnas, 2009, 106(9): 3342-3347.
- [30] Lonn E, Yusuf S, Arnold M J, et al. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease [J]. New Eng J Med, 2006, 354(15): 1567-1577.
- [31] Wien T N, Pike E, WislØff T, et al. Cancer risk with folic acid supplements; A systematic review and meta-analysis [J]. BM J Open, 2012, 2(1): e000653.

(上接第 47 页)

- [17] Zhang A, Jiang M, Zhang J, et al. Nitric oxide induced by hydrogen peroxide mediates abscisic acid-induced activation of the mitogen-activated protein kinase cascade involved in antioxidant defense in maize leaves [J]. New Phytologist, 2007, 175: 36-50.
- [18] 高俊凤. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- Gao J F. The experimental guidance of plant physiology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006. (in Chinese)
- [19] Zhao S J, Xu C C, Zou Q, et al. Improvements of method for measurement of malondialdehyde in plant tissues [J]. Plant Physiology Communication, 1994, 30: 207-209. (in Chinese)
- [20] Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, et al. Plant drought stress: Effects, mechanisms and management [J]. Agronomy for Sustainable Development, 2009, 29: 185-212.
- [21] Arasimowicz-Jelonek M, Floryszak-Wieczorek J, Kubis J. Interaction between polyamine and nitric oxide signaling in adaptive responses to drought in cucumber [J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2009, 28: 177-186.
- [22] Tan J, Zhao H, Hong J, et al. Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis, antioxidant capacity and proline accumulation in wheat seedlings subjected to osmotic stress [J]. World J Agricul Sci, 2008, 4: 307-313.
- [23] Hancock J T, Neill S J, Wilson I D. Nitric oxide and ABA in the control of plant function [J]. Plant Science, 2011, 181: 555-559.
- [24] Graziano M, Lamattina L. Nitric oxide and iron in plants: An emerging and converging story [J]. Trends Plant Sci, 2005, 10: 4-8.