

外源一氧化氮对 NaCl 胁迫下番茄幼苗 光合特性的影响

吴雪霞^{1,2}, 朱为民², 朱月林^{1*}, 陈建林²

(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: 在 100 mmol/L NaCl 胁迫下, 研究了外源 NO 供体硝普钠 (SNP) 处理对番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 幼苗光合作用光响应曲线、CO₂ 响应曲线等光合特性的影响。结果表明, 在 NaCl 胁迫下, 外源 NO 显著提高了番茄幼苗叶片净光合速率 (Pn)、蒸腾速率 (Tr) 和气孔导度 (Gs), 降低了胞间 CO₂ 浓度 (Ci); 显著提高了光饱和点 (LSP)、光饱和光合速率、表观量子效率 (AQY)、CO₂ 饱和点 (CSP)、羧化效率 (CE)、RuBP 最大再生速率; 显著降低了光补偿点 (LCP)、CO₂ 补偿点 (CCP); 同时提高了叶片叶绿素含量。以上结果表明, 外源 NO 能改善番茄幼苗 NaCl 胁迫下的光合作用, 从而增强植株的耐盐性。

关键词: 一氧化氮; NaCl 胁迫; 番茄; 光合特性

中图分类号: S641.2; Q945.78

文献标识码: A

文章编号: 1008-505X(2007)06-1105-05

Effects of exogenous nitric oxide on photosynthetic characteristics of tomato seedlings under NaCl stress

WU Xue-xia^{1,2}, ZHU Wei-min², ZHU Yue-lin^{1*}, CHEN Jian-lin²

(1 College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing, 210095, China; 2 Horticulture Research

Institute, Shanghai Academy Agricultural Sciences; Key Laboratory of Protected Horticulture Technology, Shanghai 201106, China)

Abstract: The effects of sodium nitroprusside (SNP, an exogenous nitric oxide donor) on photosynthesis - light response curve and CO₂ response curve in seedlings of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) were investigated under 100 mmol/L NaCl stress condition. The results showed that net photosynthetic rate (Pn), transpiration rate (Tr) and stomatal conductance (Gs) were significantly increased, intercellular CO₂ concentration (Ci) were markedly decreased, light saturation point (LSP), photosynthetic rate at light saturation point, apparent quantum yield (AQY), CO₂ saturation point (CSP), carboxylation efficiency (CE) and maximum RuBP regeneration rate were markedly increased, light compensation point (LCP), CO₂ compensation point (CCP) were significantly decreased by the treatment of exogenous nitric oxide under NaCl stress. In addition, the chlorophyll contents were significantly enhanced. The above results indicated that exogenous nitric oxide donor (SNP) could improve photosynthesis of tomato seedlings under NaCl stress and increase salt tolerance of plants.

Key words: nitric oxide; NaCl stress; tomato; photosynthetic characteristics

据报道, 在世界范围内, 近 23 亿公顷灌溉土地的 1/3 受到盐分胁迫, 并且过量的灌溉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。

随着园艺作物设施栽培面积的日益扩大, 温室土壤的次生盐渍化已成为国内外设施栽培中普遍存在的问题^[1]。因此研究盐分胁迫对植物的影响, 不仅在

收稿日期: 2006-08-18 修改稿收到日期: 2007-11-15

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

作者简介: 吴雪霞 (1978-), 女, 山东菏泽人, 博士研究生, 主要从事蔬菜栽培生理和生物技术研究。

Tel: 021-62208660-3120, E-mail: wuxuexiarose@sohu.com. * 通讯作者 Tel: 025-84396472, E-mail: ylzhu@njau.edu.cn

理论上而且在实践中都具十分重要的意义。

一氧化氮 (Nitric oxide, NO) 是一种广泛存在于生物体内的气体活性分子, 也是一种活性氮 (Reactive nitrogen species, RNS)。植物体内通过酶促和非酶促途径产生 NO^[2]。NO 对植物体有保护和毒害两种效应, 一方面, 低浓度 NO 可作为抗氧化剂对 O₂⁻ 等 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^[3]; 另一方面, 高浓度 NO 与 O₂⁻ 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^[4]。目前研究主要集中于 NO 对植物的生长和氧化损伤等方面^[5-7], 而对盐胁迫下植物光合作用对光和 CO₂ 的响应未见相关报道。本研究进行了外施 NO 对 NaCl 胁迫下的番茄幼苗光合作用对光和 CO₂ 的响应以及叶绿素含量的影响, 旨在探讨 NO 缓解番茄盐害、改善光合作用的机制。

1 材料与方法

1.1 试验方法

试验在上海市农业科学院园艺所 GSW7430 连栋塑料温室内进行。供试番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 品种为沪番 2560, 由上海市农业科学院提供。

种子发芽后播于营养钵中, 蛭石作基质。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 40 L 塑料箱中, 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。每箱栽 8 株, 用 1/4 浓度日本园试营养液进行栽培。1 周后换成 1/2 浓度营养液, 此后每 4 d 更换一次营养液。营养液栽培期间用电动气泵 24 h 连续通气。当植株具有 6~7 片真叶时, 对番茄幼苗进行 4 种处理: 1) CK, 1/2 日本园试营养液; 2) CK + 0.1 mmol/L SNP; 3) CK + 100 mmol/L NaCl; 4) CK + 0.1 mmol/L SNP + 100 mmol/L NaCl。每处理 8 株, 3 次重复, 在温室内随机排列。处理期间每天更换营养液。

试验用 SNP 溶液配置: NO 供体硝普钠 (Sodium nitroprusside, SNP, 购自上海国药集团公司), 用蒸馏水配制 100 mmol/L 的母液, 4 °C 保存, 用时按设计要求进行稀释。

1.2 测定项目与方法

处理第 7 d 于晴天条件下, 选取植株展开心叶下第 3~4 叶, 利用 LI-6400 光合仪 (美国 LI-COR

公司生产) 分别通过控光、控 CO₂ 进行光响应曲线和 CO₂ 响应曲线的测定。每种处理重复 3 次, 取平均值。

光合作用光响应曲线测定: 在 CO₂ 浓度 (400 ± 10) μmol/mol, 温度 (25 ± 1) °C, 相对湿度 40%~50%, 叶室光合有效辐射 (PAR) 设置梯度为 1500、1200、1000、800、600、400、300、200、150、100、80、50 μmol/(m²·s) 条件下, 测定净光合速率 (P_n), 蒸腾速率 (Tr), 气孔导度 (Gs) 和胞间 CO₂ 浓度 (Ci) 等参数。响应进程分别用 $y = a + b \ln x$ 和 $y = ax^2 + bx + c$ 方程 (x 为光合有效辐射, y 为净光合速率) 拟合, 求出光补偿点 (LCP) 与光饱和点 (LSP)。PAR 在 0~200 μmol/(m²·s) 范围内通过线性回归求 P_n-PAR 曲线初始斜率, 即为表观量子效率 (AQY)。

光合作用 CO₂ 响应曲线测定: 叶室内 PAR 分别控制在光饱和点附近, 温度 (25 ± 1) °C, 相对湿度 40%~50%, CO₂ 浓度设置梯度为 1600、1500、1200、1000、800、600、400、300、200、180、150、100、80、50 μmol/mol。P_n 对 CO₂ 的响应进程用 $y = ax^2 + bx + c$ 方程 (x 为 CO₂ 浓度, y 为净光合速率) 拟合, 求出 CO₂ 饱和点 (CSP)。CO₂ 补偿点 (CCP) 的测定参照蔡时青等^[8] 的方法。胞间 CO₂ 浓度在 0~200 μmol/mol 范围内通过线性回归求 P_n-Ci 曲线初始斜率, 即为羧化效率 (CE)。CO₂ 浓度饱和时的 P_n 即为 RuBP 最大再生速率^[9]。

叶绿素含量的测定参照 Arnon 的方法^[10], 3 次重复。

试验数据用 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 胁迫下番茄幼苗叶片光合作用光响应参数的影响

由图 1 P_n-PAR 曲线可知, 在一定的光合有效辐射 (PAR) 范围内, 番茄幼苗 4 个不同处理的净光合速率 (P_n) 均随光强的增加而急剧升高, 达到光合速率 (P_n) 最大值后, 随着光照强度的增加, P_n 呈下降趋势。同一 PAR 条件下, 4 个不同处理 P_n 的变化趋势均为 CK + SNP > CK > CK + SNP + NaCl > CK + NaCl。

图 1 还看出, 4 个不同处理的 P_n、Tr、Gs 和 Ci 随 PAR 的变化情况。与 CK (CK 与 CK + SNP 的 Ci 曲线基本重合) 相比, NaCl 单独处理 (CK + NaCl) 的 P_n、Tr、Gs 均降低, 同时 Ci 升高; SNP 处理 (CK + SNP +

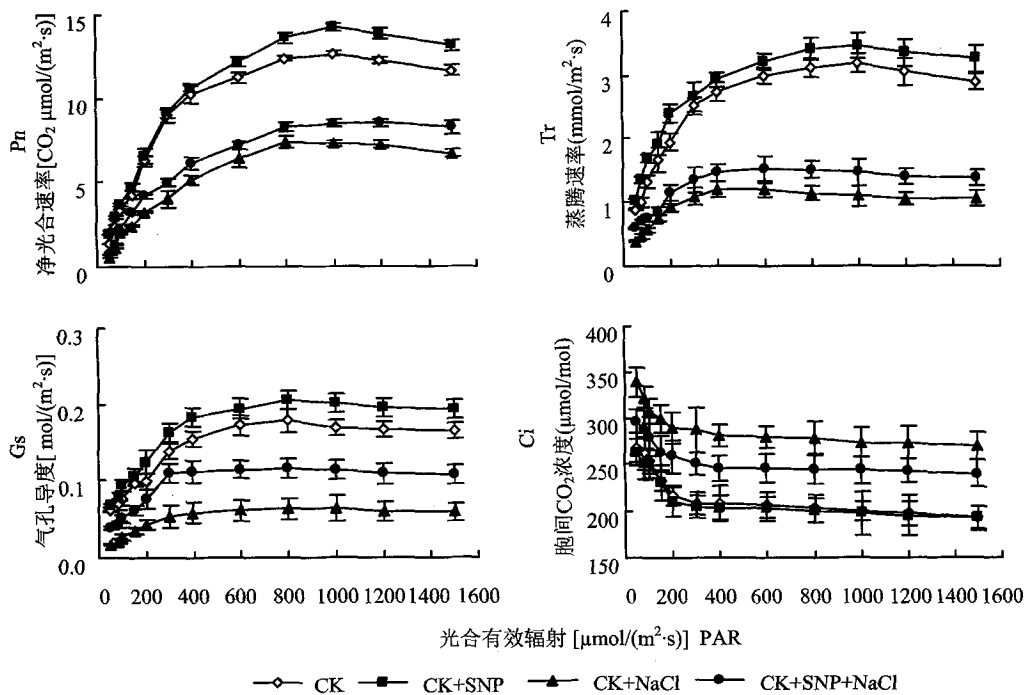


图 1 外源 NO 对 NaCl 胁迫下番茄幼苗叶片 Pn、Tr、Gs 和 Ci 的影响

Fig.1 Effect of exogenous nitric oxide on responses of Pn, Tr, Gs and Ci in leaves of tomato seedlings under NaCl stress

NaCl)显著提高盐胁迫下番茄幼苗叶片的 Pn、Tr、Gs, 使 Ci 降低。

试验结果(表 1)看出,与 CK 相比,100 mmol/L NaCl 单独处理(CK + NaCl)时,光饱和点(LSP)降低,光补偿点(LCP)升高;SNP 处理(CK + SNP + NaCl)显著提高盐胁迫下番茄幼苗叶片的 LSP,使 LCP 降低。LCP 越低,LSP 越高,说明能较充分利用光能。

表观量子效率(AQY)可以正确反映光合机构光合机能的变化,是光合作用中光能转化最大效率的一种度量^[10]。NaCl 单独处理(CK + NaCl)的 AQY 显

著低于 CK,降低了 45.37%;与 CK + NaCl 相比,SNP 处理(CK + NaCl + SNP)显著提高番茄幼苗的表观量子效率。

4 个不同处理番茄幼苗叶片的光饱和和光合速率变化趋势为 CK + SNP > CK > CK + SNP + NaCl > CK + NaCl(表 1)。与 CK 相比,NaCl 单独处理时(CK + NaCl)的光饱和和光合速率呈下降趋势,降低了 54.71%;SNP 处理(CK + SNP + NaCl)显著提高盐胁迫下番茄幼苗叶片的光饱和和光合速率。

表 1 外源 NO 对 NaCl 胁迫下番茄幼苗叶片 LCP、LSP 和 AQY 的影响

Table 1 Effect of exogenous nitric oxide on LCP, LSP and AQY in leaves of tomato seedlings under NaCl stress

处理 Treatment	LCP [μmol/(m ² ·s)]	LSP [μmol/(m ² ·s)]	光饱和和光合速率 Photosynthetic rate at LSP [CO ₂ μmol/(m ² ·s)]	表观量子效率 AQY
CK	36.00 ± 8.21 c	1210.00 ± 200.56 a	15.81 ± 0.23 a	0.0313 ± 0.0009 a
CK + SNP	36.03 ± 7.23 c	1270.00 ± 183.24 a	17.53 ± 0.86 a	0.0296 ± 0.0010 a
CK + NaCl	46.46 ± 1.20 a	985.71 ± 25.96 c	7.16 ± 0.17 c	0.0171 ± 0.0002 c
CK + SNP + NaCl	40.99 ± 4.00 b	1078.56 ± 54.68 b	8.84 ± 0.22 b	0.0233 ± 0.0006 b

注: 同列数值不同字母表示差异达 5% 显著水平,下同。

Note: Different letters within the same column indicate significant difference at 5% level and the same symbol is used for other tables.

2.2 外源 NO 对 NaCl 胁迫下番茄幼苗叶片 CO₂ 响应参数的影响

表 2 看出,与 CK 相比,100 mmol/L NaCl 单独处理时(CK + NaCl),CO₂ 饱和点(CSP)降低,CO₂ 补偿点(CCP)升高;SNP 处理(CK + SNP + NaCl)显著提高盐胁迫下番茄幼苗叶片的 CSP,使 CCP 降低。CCP 越低,CSP 越高,越有利于光合作用。

羧化效率(CE)能够反映活化的 RuBP 羧化酶的量或活性^[11]。NaCl 单独处理(CK + NaCl)番茄幼苗叶片的 CE 比 CK 降低了 37.10%;而 SNP 处理(CK

+ NaCl + SNP)比 CK + NaCl 处理明显提高。

4 个不同处理番茄幼苗叶片的 RuBP 最大再生速率变化趋势为 CK + SNP > CK > CK + SNP + NaCl > CK + NaCl(表 2)。与 CK 相比,NaCl 单独处理时(CK + NaCl)的 RuBP 最大再生速率呈下降趋势,降低了 64.46%;SNP 处理(CK + SNP + NaCl)显著提高盐胁迫下番茄幼苗的 RuBP 最大再生速率。

SNP 单独处理时(CK + SNP),CSP、CE 与 CK 相比均没有显著差异;而 RuBP 最大再生速率与 CK 相比显著提高,CCP 显著降低。

表 2 外源 NO 对 NaCl 胁迫下番茄幼苗叶片 CCP、CSP、CE 和 RuBP 最大再生速率的影响
Table 2 Effect of exogenous nitric oxide on CCP, CSP, CE and maximum RuBP regeneration rate in leaves of tomato seedlings under NaCl stress

处理 Treatment	CO ₂ 补偿点 CCP (μmol/mol)	CO ₂ 饱和点 CSP (μmol/mol)	羧化效率 CE [mol/(m ² ·s)]	RuBP 最大再生速率 Max RuBP regeneration rate [CO ₂ μmol/(m ² ·s)]
CK	51.91 ± 4.86 c	2005.0 ± 210.0 a	0.0407 ± 0.0038 a	38.07 ± 2.92 b
CK + SNP	37.63 ± 3.34 d	2265.0 ± 213.2 a	0.0408 ± 0.0029 a	49.61 ± 3.81 a
CK + NaCl	78.50 ± 6.27 a	1393.8 ± 123.6 c	0.0256 ± 0.0023 c	13.53 ± 1.26 d
CK + SNP + NaCl	64.19 ± 6.35 b	1675.0 ± 158.9 b	0.0391 ± 0.0041 b	26.28 ± 2.03 c

2.3 外源 NO 对 NaCl 胁迫下番茄幼苗叶片叶绿素含量的影响

100 mmol/L NaCl 单独处理(CK + NaCl)时,番茄幼苗叶片叶绿素(a + b)含量、叶绿素 a 含量和叶绿素 b 含量均显著低于 CK,分别比 CK 处理下降了 41.97%、47.53% 和 25.20%。与 CK + NaCl 相比,SNP 处理(CK + NaCl + SNP)均显著提高了叶绿素(a + b)含量、叶绿素 a 含量和叶绿素 b 含量;而 SNP 单独处理时(CK + SNP),叶绿素(a + b)含量、叶绿素 a 含量和叶绿素 b 含量与 CK 无明显差异(表 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(mg/g, FW)

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

处理 Treatment	叶绿素 (a + b)含量 Chl. a + b	叶绿素 a 含量 Chl. a	叶绿素 b 含量 Chl. b
CK	3.29 ± 0.30 a	2.47 ± 0.17 a	0.82 ± 0.12 a
CK + SNP	3.29 ± 0.30 a	2.47 ± 0.18 a	0.81 ± 0.12 a
CK + NaCl	1.91 ± 0.04 c	1.30 ± 0.03 c	0.61 ± 0.02 c
CK + SNP + NaCl	2.60 ± 0.03 b	1.86 ± 0.07 b	0.74 ± 0.04 b

3 讨论

光合作用是植物体内重要的代谢过程,它的强弱对于植物生长、产量及其抗逆性都具有十分重要的影响,因而可用光合作用作为判断植物生长和抗逆性大小的指标。在盐逆境胁迫下,引起植物叶片光合速率降低的植物自身因素,主要有由于气孔的部分关闭导致的气孔限制和叶肉细胞光合活性的下降导致的非气孔限制两类。Ci 降低和 Gs 下降,气孔因素是主要的;Ci 升高和 Gs 下降则非气孔因素是主要的^[12]。本研究中,NaCl 胁迫后 7 d,番茄幼苗叶片 Gs 下降,Ci 升高(图 1),说明此时非气孔限制成为主要因素。SNP 处理减轻了盐胁迫下番茄幼苗叶片 Pn、Tr 和 Gs 的下降幅度,表明外源 NO 处理抑制了番茄叶肉细胞光合活性下降,维持了番茄较高的光合速率。师守国等^[13]报道,SNP 处理后杏叶片的 Tr 均低于对照而 Ci 均不同程度有所升高,这和本试验结论不一致。

本研究表明,NaCl 胁迫下,番茄幼苗叶片 LCP、CCP 均显著升高,LSP、光饱和光合速率(Pn)、AQY、RuBP 最大再生速率及 CE 均显著降低(表 1、表 2)。LSP 及光饱和时 Pn 下降说明卡尔文循环的运转效

率的降低,可能是盐胁迫导致了 Rubisco 的降解或者是与卡尔文循环有关的其它酶活性的下降造成^[14]; CSP 及 CO₂ 饱和时 P_n 下降说明光合机构中光系统光能吸收和转换的能力下降,可能是捕光色素复合体、D1 蛋白及偶联因子 1(CF1)等光合单位构成组分降解造成^[14]; AQY 降低,表明光合作用发生了光抑制^[15]; CE 的降低可能是盐胁迫导致 RuBPCase 活性降低,从而使羧化效率降低,因为 CE 与 RuBPCase 活性呈正相关^[16]。SNP 处理提高了盐胁迫下 LSP、光饱和光合速率、AQY、CSP、RuBP 最大再生速率及 CE,降低了 LCP 和 CCP(表 1、表 2),表明 SNP 处理提高了番茄幼苗光合能力,为盐胁迫下番茄幼苗的光合机构提供了保护作用。

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^[17]。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。Downton 等^[18]发现,菠菜叶绿素含量降低是引起光合速率降低的主要原因。本研究表明,盐胁迫下叶绿素含量下降,施加外源 NO 有助于维持番茄叶片较高的叶绿素含量(表 3),从而对维持盐胁迫下番茄幼苗较高的光合速率有一定的促进作用。NO 提高叶绿素的含量的具体原因有可能是因为激活了叶绿素生物合成过程中的某些酶类,有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 魏国强,朱祝军,方学智,等. 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[J]. 中国农业科学, 2004, 37 (1): 1754-1759.
Wei G Q, Zhu Z J, Fang X Z *et al.* The effects of NaCl stress on plant growth, chlorophyll fluorescence characteristics and active oxygen metabolism in seedlings of two cucumber cultivars[J]. Sci. Agric. Sin., 2004, 37 (1): 1754-1759.
- [2] Chandok M R, Ytterberg A J, Van Wijk K J. The pathogen-inducible nitric oxide synthase (iNOS) in plants is variant of the protein of the glycine decarboxylase complex[J]. Cell, 2003, 113 (4): 1380-1384.
- [3] Frank S, Karapfer H, Podda M. Identification of copper/zinc superoxide dismutase as a nitric oxide-regulated gene in human (HaCaT) keratinocytes: Implications for keratinocyte proliferation[J]. Biochem. J. 2000, 346: 719-728.
- [4] Beligni M V, Lamattina L. Nitric oxide protects against cellular damage produced by methylviologen herbicides in potato plants[J]. Nitric Oxide, 1999, 3 (3): 199-208.
- [5] Yamasaki H, Shanihi S Y, Takahashi S. An alternative pathway for nitric oxide production in plant: New feather of an old enzyme[J]. Trends Plant Sci., 1999 (4): 128-129.
- [6] Akio U, Andre T J, Takashi H *et al.* Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice[J]. Plant Sci., 2002, 163: 515-523.
- [7] Mata C G, Lamattina L. Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress[J]. Plant Physiol, 2001, 126 (3): 1196-1204.
- [8] 蔡时青,许大全. 大豆叶片 CO₂ 补偿点和光呼吸的关系[J]. 植物生理学报, 2000, 26 (6): 545-550.
Cai S Q, Xu D Q. Relationship between the CO₂ compensation point and photorespiration in soybean leaves[J]. Acta Phytophys. Sin., 2000, 26 (6): 545-550.
- [9] 睦晓蕾,张宝玺,张振贤,等. 不同品种辣椒幼苗光合特性及弱光耐受性的差异[J]. 园艺学报, 2005, 32 (2): 222-227.
Sui X L, Zhang B X, Zhang Z X *et al.* Differences of photosynthetic characteristic and low light-tolerance in seedlings of four pepper cultivars[J]. Acta Hort. Sin., 2005, 32 (2): 222-227.
- [10] Arnon D I. Copper enzyme in isolated chloroplast: Phenol oxidase in Beta vulgaris[J]. Plant Physiol, 1949, 24: 1-15.
- [11] 许大全. 光合作用效率[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002.
Xu D Q. Photosynthetic efficiency[M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 2002.
- [12] Farquhar G D, Sharkey T D. Stomatal conductance and photosynthesis[J]. Annu. Rev. Plant Physiol., 1982, 33: 317-345.
- [13] 师守国,李善菊,童斌,任小林. 一氧化氮对杏叶片光合作用的影响[J]. 水土保持研究, 2005, 12 (3): 86-88.
Shi S G, Li S J, Tong B, Ren X L. Effect of nitric oxide on the photosynthesis in Apricot Tree[J]. Res. Soil Water Conserv., 2005, 12 (3): 86-88.
- [14] 高辉远. 大豆生长发育过程中光合作用及光合效率的调节[D]. 山东农业大学博士研究生论文, 1999. 24-30.
Gao H Y. Characteristics of photosynthesis and regulation of photosynthetic efficiency in soybean leaves during ontogeny[D]. PhD of Shandong Agric. Univ., 1999. 24-30.
- [15] Long S P, Humphries S, Falkowski P G. Photoinhibition of photosynthesis in nature[J]. Annu. Rev. Plant Physiol., 1994, 45: 633-662.
- [16] Coillatz G D. Influence of certain environment factors on photorespiration in *Sinmondsia chinensis*[J]. Planta, 1997, 134 (2): 127-132.
- [17] Cheeseman J M. Mechanism of salinity tolerance in plants[J]. Plant Physiol, 1988, 87: 547-550.
- [18] Downton W J S, Grant W J, Robinson S P. Stomatal closure fully accounts for the inhibition of photosynthesis by abscisic acid[J]. Plant Physiol, 1985, 77: 85-88.