

DOI: 10.11766/trxb201803010054

外源一氧化氮与水杨酸对盐胁迫下小麦幼苗生理特性的影响*

张倩¹ 贺明荣² 陈为峰¹ 代兴龙² 王振林² 董元杰^{1†} 诸葛玉平^{1†}

(1 山东农业大学资源与环境学院, 土肥资源高效利用国家工程实验室, 山东泰安 271018)

(2 山东农业大学农学院, 山东泰安 271018)

摘要 在液培条件下, 以小麦(山农22号)为试验材料, 外源一氧化氮(Nitric oxide, NO)供体硝普钠(Sodium nitroprusside, SNP)和水杨酸(Salicylic acid, SA)作为调控物质, 研究外源NO和SA单独及复配施用对 $120\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl胁迫下小麦生长及生理特性的影响。结果表明, $120\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl胁迫严重抑制了小麦幼苗的生长, 添加适宜浓度的SNP($100\text{ }\mu\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)或SA($100\text{ }\mu\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)均能显著缓解盐胁迫对小麦造成的伤害。而与单独添加SNP或SA相比, SA+SNP复合调控更能明显降低盐胁迫诱导的活性氧(Reactive oxygen species, ROS)积累、丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量以及电解质渗出率; 提高小麦叶绿素含量、抗氧化酶活性和脯氨酸含量, 从而提高其抗盐性; 通过提高根系活力来促进对矿质元素的吸收, 从而提高小麦幼苗的干物质积累; 同时抑制了小麦对Na的吸收, 以此减缓盐胁迫的毒害。由此说明NO与SA在缓解小麦幼苗盐胁迫中表现出积极的协同作用。试验各处理中施用 $50\text{ }\mu\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SA+ $50\text{ }\mu\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP的处理缓解小麦盐胁迫的效果最为明显。

关键词 盐胁迫; 一氧化氮; 水杨酸; 协同作用

中图分类号 S512.1; Q945.78 **文献标识码** A

土壤盐渍化是影响植物生长、导致农作物减产的主要因素之一^[1]。盐胁迫会引起植物形态、生理、生物化学等多方面变化^[2]。高浓度NaCl会使植物根部土壤水势降低, 根系吸取水分困难而产生渗透胁迫。同时盐胁迫条件下叶片气孔关闭, 植物体内电子运输与光合器官受损, 导致光合作用及生产率下降。盐胁迫同样会使植物体内产生大量活性氧, 造成脂类、蛋白质和氨基酸的氧化损伤, 引起代谢紊乱, 最终导致作物产量下降^[3]。

一氧化氮(Nitric oxide, NO)和水杨酸(Salicylic acid, SA)是植物体内普遍存在的两种

小分子信号物质, 且均在植物抵抗生物和非生物逆境胁迫反应中起重要作用^[4]。SA与NO的信号应答途径并非孤立的, 二者在很多抗逆反应中均存在交互作用^[5]。研究表明, SA能够诱导拟南芥中NO的合成, 且在一定范围和时间内NO合成量随SA浓度升高而增加^[6]。而在烟草的系统获得抗性信号通路中, NO活性完全依赖于SA功能作用^[7]。Singh等^[8]研究认为, NO与SA能够协同调节植物体内亚硝酸盐胁迫反应信号。在对NO和SA减轻红花的镉毒害作用的研究中发现, 复合施用较单独施用缓解毒害效果更加显著^[9]。此外, 相关研究发

* 国家重点研发计划项目(2017YFD0201705)、国家重点基础研究发展计划项目(2015CB150404)和山东省自主创新及成果转化专项(2014ZZCX07402)共同资助 Supported by the National Key Research and Development Support Program of China (No. 2017YFD0201705), the National Basic Research Program of China (No. 2015CB150404), and the Indigenous Innovation Project of Shandong Province (No. 2014ZZCX07402)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: yuanjiedong@163.com, zhugeyp@sdau.edu.cn

作者简介: 张倩(1994—), 女, 硕士研究生, 主要从事植物营养逆境生理方面的研究。E-mail: 425617610@qq.com

收稿日期: 2018-03-01; 收到修改稿日期: 2018-05-02; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2018-06-15

现外源施加SA与NO均能缓解镍对龙爪稷幼苗^[10]及甘蓝型油菜^[11]的毒害作用,但其复配处理效果更具优势。

小麦作为三大粮食作物之一,具有较高的营养价值。有研究显示SA和NO能够提高小麦中波紫外线胁迫抗性,且二者结合施用时效最佳^[12]。而有关外源NO与SA复合调控对盐胁迫下小麦幼苗生长影响的相关研究尚少见报道。因此本试验以小麦为研究对象,以硝普钠(Sodium nitroprusside, SNP)为NO供体,研究盐胁迫下外源NO和SA单独及复合施用对其幼苗生长、光合色素合成及抗氧化酶系统的影响,以期了解外源NO、SA及其复合施用对盐胁迫下小麦幼苗生长的缓解效应,并揭示其缓解机理,为盐碱土壤上的小麦高产栽培和盐渍化土地的开发利用提供理论依据和技术支撑。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

试验于2017年9月在山东农业大学资源与环境学院植物营养学实验室进行。供试小麦(*Triticum aestivum* L.)品种“山农22号”,该品种为山东省栽培面积较广的一种优质高产的小麦品种但耐盐性较差。选取籽粒饱满、大小均匀、无病虫害的种子,经0.1%的NaClO消毒10 min,然后用蒸馏水反复漂洗干净,置于SPX-2501C型人工智能气候箱中25℃下恒温培养。待种子露白后,播于洗净的湿润蛭石中,萌发后用1/2 Hoagland营养液浇灌。待小麦长出两片叶后挑选长势一致的植株洗净根部蛭石后,移栽至盛有1/2 Hoagland营养液的玻璃器皿中,每盆25株,营养液调pH至6.5~6.8,幼苗生长条件的室内昼/夜温度为25/18℃,光强为100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,光照时间14 $\text{h}\cdot\text{d}^{-1}$ 。

1.2 试验设计

试验设6个处理:1) CK: Hoagland营养液处理;2) NaCl: Hoagland营养液+120 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl;3) SA: Hoagland营养液+120 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl+100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SA;4) SNP: Hoagland营养液+120 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl+100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP;5) 1/2(SA+SNP): Hoagland营养液+120 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl+50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SA +50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP;6) SA+SNP: Hoagland营养液+120 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$

NaCl+100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SA+100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP,每个处理重复3次,每盆每次用250 mL配制的混合液进行处理。每隔2 d换一次混合液,处理14 d后进行各项指标的测定。

1.3 测定项目及方法

鲜重和干重的测定:采取各部分植株样,用去离子水将其冲洗干净,再用吸水纸吸干,直接测定各部分鲜重(FW)。将新鲜材料放于105℃烘箱中杀青30 min后,在70℃下烘干至恒重,然后测定植株干重(DW)。

光合色素含量的测定:用96%的乙醇将采取的幼叶研磨成匀浆,并在25 mL容量瓶内定容,摇匀后用分光光度计分别测定在665、649和470 nm下的吸光度值,然后利用相关公式计算出叶绿素和类胡萝卜素的含量。

电解质渗出率的测定:相对电导值(%)=第一次电导值/杀死后电导值 $\times 100\%$;

电解质渗出率(%)=(样品相对电导值-对照相对电导值)/(100%-对照相对电导值) $\times 100\%$ 。

N、P、K、Na、Ca、Mg含量测定:植株样品经烘干、研磨过筛后, $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ 消化,凯氏定氮法测定全氮含量、钼锑抗比色法测定全磷含量,火焰光度计法测定全钾、全钠含量。植株Ca、Mg含量采用 $\text{HNO}_3\text{-HClO}$ 消煮,并用原子吸收分光光度计进行测定^[13]。

O_2^- 的测定:用磷酸缓冲液冰浴研磨,低温离心后采用羟胺氧化反应法测定。

H_2O_2 含量测定:参照Patterson等^[14]的方法,采用三氯乙酸(Trichloroacetic acid, TCA)进行冰浴研磨,低温离心后加入磷酸缓冲液和KI溶液于390 nm下进行比色测定。

抗氧化酶活性的测定^[15]:取样品加入磷酸缓冲液冰浴研磨,低温离心后超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活性测定采用氮蓝四唑(Nitro-blue tetrazolium, NBT)法,过氧化物酶(Peroxidase, POD)活性测定采用愈创木酚法,过氧化氢酶(Catalase, CAT)活性测定采用紫外吸收法。

1.4 数据处理

采用Excel 2003软件处理数据和绘表,采用DPS 7.05软件进行统计分析,采用最小显著极差法

(LSD) 进行差异显著性检验 ($P < 0.05$)。

2 结果

2.1 不同处理对小麦幼苗干鲜重及根系活力的影响

由表1可知NaCl处理显著抑制小麦幼苗的生长。与CK相比, NaCl处理下小麦幼苗的地上部鲜

重和干重分别降低45.65%和6.46%, 地下部鲜重和干重分别降低55.80%和12.44%, 且差异显著。添加外源NO或SA之后都能够缓解盐胁迫, 二者的复合处理也可以提高小麦幼苗的地上部和地下部鲜重及干重。其中1/2(SA+SNP)处理地上部鲜重及干重较NaCl处理分别增加67.34%和6.80%, 地下部鲜重及干重分别增加76.91%和17.61%, 且差异显著, 可见其效果最明显。

表1 外源NO与SA复合调控对盐胁迫下小麦幼苗干鲜重及根系活力的影响

Table 1 Effects of extraneous nitric oxide and salicylic acid on fresh or dry matter weight and root activity of the wheat seedlings under salt stress

处理 Treatment	鲜重Fresh weight/(g·10 plants ⁻¹)		干重Dry weight/(g·10 plants ⁻¹)		根系活力 Root activity ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ FW)
	叶Leaf	根Root	叶Leaf	根Root	
CK	3.33 ± 0.22a	0.21 ± 0.00a	0.99 ± 0.05a	0.11 ± 0.01a	14.75 ± 0.58a
NaCl	1.81 ± 0.22c	0.19 ± 0.00c	0.44 ± 0.08d	0.09 ± 0.00b	7.54 ± 1.05d
SA	2.82 ± 0.15b	0.20 ± 0.01abc	0.67 ± 0.09c	0.10 ± 0.00ab	11.12 ± 0.56c
SNP	3.00 ± 0.20ab	0.20 ± 0.00ab	0.66 ± 0.02c	0.10 ± 0.01ab	11.48 ± 1.01c
1/2(SA+SNP)	3.03 ± 0.19ab	0.21 ± 0.01a	0.78 ± 0.03b	0.11 ± 0.00a	13.13 ± 0.55b
SA+SNP	2.76 ± 0.19b	0.20 ± 0.00bc	0.64 ± 0.02c	0.10 ± 0.01ab	12.21 ± 0.46bc

注: 1) CK: Hoagland营养液 Hoagland nutrient solution; NaCl: 120 mmol·L⁻¹ NaCl; SA: 120 mmol·L⁻¹ NaCl+100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SA; SNP: 120 mmol·L⁻¹ NaCl+100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP; 1/2(SA+SNP): 120 mmol·L⁻¹ NaCl+50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SA +50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP; SA+SNP: 120 mmol·L⁻¹ NaCl+100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SA+100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP; 2) 同一列中无相同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同 Different letters in the same column indicate significant differences between treatments at 0.05 level. The same below

根系活力是根生命力强弱的综合评价指标, 反映植物根系的整体发育状况。由表1可知, 与CK相比, NaCl处理可显著降低小麦幼苗的根系活力。SNP和SA单独处理小麦幼苗根系活力分别较NaCl处理提高52.34%、47.56%; SNP和SA复合处理下其根系活力分别较NaCl处理提高74.26%、61.94%, 且差异显著。说明外源NO、SA及其复合处理在盐胁迫下均可促进小麦幼苗根系的生长, 提高其根系活力, 从而促进植株对营养物质的吸收以及地上部的良好生长, 且以1/2(SA+SNP)交互作用效果更明显。

2.2 不同处理对小麦幼苗叶片光合色素含量的影响

由表2可见, 盐胁迫显著降低小麦幼苗叶片光合色素的含量。与CK相比, NaCl处理的叶绿素a (Chlorophyll a, Chl a)、叶绿素b (Chlorophyll b, Chl b)和类胡萝卜素 (Carotenoid, Car)的含量分

别降低16.98%、17.86%、5.03%。随着SNP或SA的添加, Chl a、Chl b和Car的含量均有明显的提高。其中1/2(SA+SNP)处理提高的幅度更大, 且与NaCl处理差异显著, 其Chl a、Chl b和Car的含量较NaCl处理分别提高39.58%、24.46%、33.06%。表明NaCl处理对小麦幼苗产生胁迫, 而外源NO与SA可以缓解这种胁迫, 尤其是1/2(SA+SNP)的复合处理对盐胁迫的缓解效果更明显。

2.3 不同处理对小麦幼苗O₂⁻产生速率和H₂O₂含量的影响

如图1所示, NaCl处理显著提高了小麦幼苗O₂⁻的产生速率和H₂O₂的积累。与CK相比, NaCl处理下小麦幼苗叶片和根系中的O₂⁻的产生速率分别显著提高82.25%、80.61%, 表明盐胁迫诱导了小麦的过氧化压力。但是添加SNP或SA, 尤其是1/2(SA+SNP), 可以显著降低叶片和根系中的O₂⁻

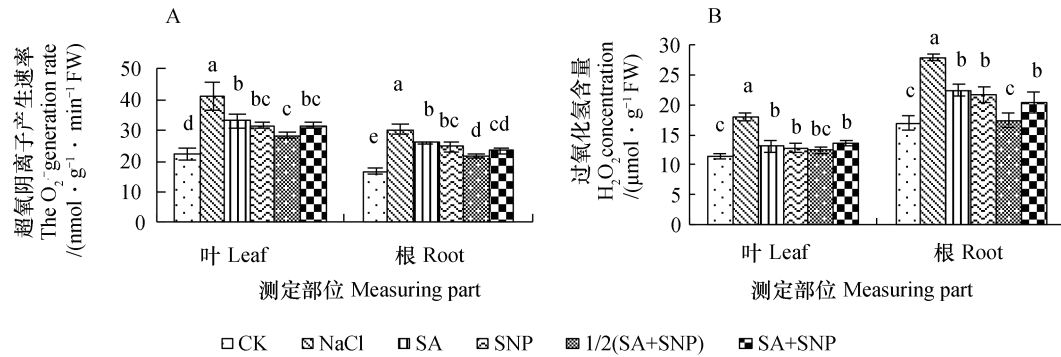


图1 外源NO与SA复合调控对盐胁迫下小麦幼苗超氧阴离子产生速率 (A) 及过氧化氢含量 (B) 的影响

Fig. 1 Effects of extraneous nitric oxide and salicylic acid on O₂⁻ generation rate (A) and H₂O₂ content (B) of the wheat seedlings under salt stress

表2 外源NO与SA复合调控对盐胁迫下小麦幼苗叶片光合色素含量的影响

Table 2 Effects of extraneous nitric oxide and salicylic acid on chlorophyll contents in leaves of the wheat seedlings under salt stress/ (mg·g⁻¹ FW)

处理 Treatment	叶绿素含量 Total Chl content	叶绿素a含量 Chl a content	叶绿素b含量 Chl b content	类胡萝卜素含量 Carotenoid content
CK	1.17 ± 0.12b	0.90 ± 0.10c	0.28 ± 0.03ab	0.22 ± 0.03cd
NaCl	0.97 ± 0.03c	0.75 ± 0.04d	0.23 ± 0.01c	0.21 ± 0.02d
SA	1.32 ± 0.04a	1.01 ± 0.03ab	0.31 ± 0.02a	0.24 ± 0.02bc
SNP	1.19 ± 0.08b	0.92 ± 0.06bc	0.26 ± 0.02b	0.25 ± 0.01b
1/2(SA+SNP)	1.32 ± 0.05a	1.04 ± 0.03a	0.28 ± 0.01ab	0.28 ± 0.00a
SA+SNP	1.28 ± 0.04ab	1.00 ± 0.03ab	0.28 ± 0.01ab	0.25 ± 0.00b

产生速率。与NaCl处理相比，1/2(SA+SNP)处理下叶片和根系中的O₂⁻产生速率分别降低30.52%、29.16%。H₂O₂的累积变化趋势和O₂⁻的产生速率的变化趋势类似，NaCl处理下显著提高，添加SNP和SA均可降低盐胁迫下H₂O₂且差异显著，其中1/2(SA+SNP)处理H₂O₂的累积量降低最为明显。

2.4 不同处理对小麦幼苗丙二醛含量和电解质渗出率的影响

盐胁迫诱导丙二醛 (MDA) 的积累，促进膜脂过氧化对小麦幼苗的伤害 (图2A)。与CK相比，NaCl处理下小麦幼苗叶片和根系中的MDA含量分别提高38.95%、56.29%。添加SNP或SA可以起到缓解效应，其中SNP和SA交互作用的缓解效应更明显。与NaCl处理相比，1/2(SA+SNP)处理小麦幼苗叶片和根系中的MDA含量显著降低，分别降低15.78%、24.23%，表现出更好的缓解效果。

盐胁迫处理下小麦幼苗的电解质渗出率均显

著升高 (图2B)。与CK相比，NaCl处理的电解质渗出率提高70.72%。而添加SNP或SA均可以显著降低电解质渗出率，并且SNP和SA交互作用的缓解效应更明显，与其他3个处理相比也具有显著差异。与NaCl处理相比，1/2(SA+SNP)处理小麦幼苗的电解质渗出率降低32.50%，表现出更好的缓解效果。

2.5 不同处理对小麦幼苗抗氧化酶活性的影响

超氧化物歧化酶 (SOD) 的活性在NaCl处理下显著降低 (图3A)。与CK相比，NaCl处理使小麦幼苗叶片和根系中的SOD活性分别降低18.67%、41.79%。添加SNP或SA可以缓解盐胁迫造成的SOD活性降低，其中SNP和SA交互作用的缓解效应更明显。与NaCl处理相比，1/2(SA+SNP)处理小麦幼苗叶片和根系中的SOD活性显著提高，分别提高14.49%、21.53%，表现出最好的缓解效果。为适应盐胁迫，NaCl处理下小麦幼苗的

过氧化物酶 (POD) 活性显著提高 (图3B)。与CK相比, 其叶片和根系中的POD活性分别提高10.86%、12.11%。随着SNP和SA的添加, 各处理均显著提高小麦幼苗的POD活性, 起到缓解盐害的作用, 其中SNP和SA复合处理的缓解效应更明显。与NaCl处理相比, 1/2(SA+SNP)处理小麦幼苗叶片和根系中的SOD活性分别提高9.12%、7.34%, 具有显著差异, 表现出最好的缓解效果。

过氧化氢酶 (CAT) 活性变化趋势和SOD活性变化趋势基本相似 (图3C)。在NaCl处理条件下显著降低, 其叶片和根系中的CAT活性分别较CK降低44.43%、49.76%。但是添加SNP和SA及二者交互作用后, CAT活性均显著提高。尤其1/2(SA+SNP)处理的缓解效应更明显, 与二者单独施加相比差异显著, 其叶片和根系中的CAT活性分别较NaCl处理提高了42.74%、62.95%。

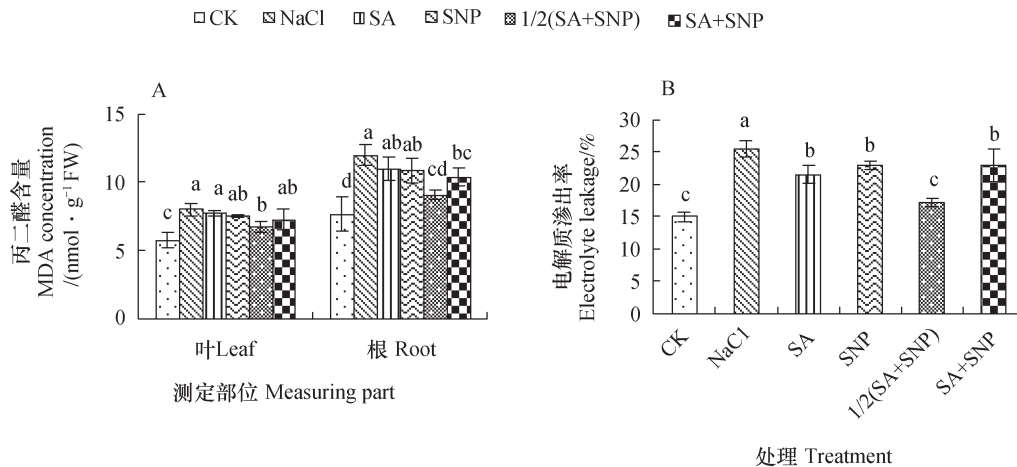


图2 外源NO与SA复合调控对盐胁迫下小麦幼苗丙二醛含量 (A) 及电解质渗出率 (B) 的影响

Fig. 2 Effects of exogenous nitric oxide and salicylic acid on MDA content (A) and electrolyte leakage (B) of the wheat seedlings under salt stress

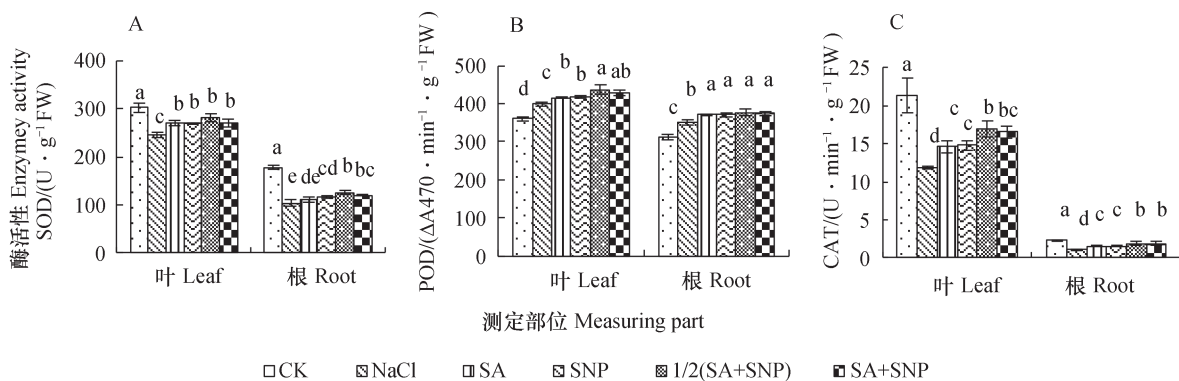


图3 外源NO与SA复合调控对盐胁迫下小麦幼苗SOD (A)、POD (B) 及CAT (C) 酶活性的影响

Fig. 3 Effects of exogenous nitric oxide and salicylic acid on SOD (A), POD (B) and CAT (C) activity of the wheat seedlings under salt stress

2.6 不同处理对小麦幼苗脯氨酸含量的影响

脯氨酸在植物体内的含量在一定程度上反映植物的抗逆性。由图4可知, 在盐胁迫条件下, 脯氨酸含量增加, 从而小麦幼苗更好地适应盐胁迫逆境。随着SNP和SA的添加, 进一步提高了小麦幼

苗的脯氨酸含量, 起到缓解盐害的作用, 其中SNP和SA交互作用的缓解效应更为明显。与NaCl处理相比, 1/2(SA+SNP)处理小麦幼苗叶片和根系中的脯氨酸含量分别增加了6.62%、35.55%, 差异显著, 表现出更好的缓解效应。

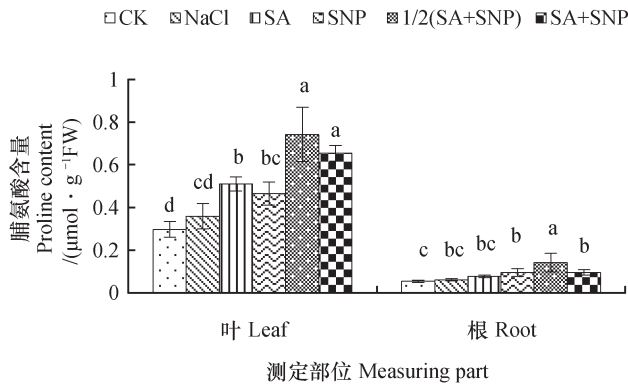


图4 外源NO与SA复合调控对盐胁迫下小麦幼苗脯氨酸含量的影响

Fig. 4 Effects of extraneous nitric oxide and salicylic acid on proline content of the wheat seedlings under salt stress

2.7 不同处理对小麦幼苗体内Na及其他矿质元素含量的影响

由表3可知，在NaCl处理下，小麦有幼苗叶片

和根系中的Na含量显著增加，分别较CK增加2.67倍和3.57倍。添加外源SNP与SA之后，Na含量有所下降，尤其是1/2(SA+SNP)处理Na含量显著下降。可见1/2(SA+SNP)处理抑制了小麦对Na的吸收。

N、P、K、Ca、Mg的含量在NaCl处理条件下降低，说明过量的Na抑制这些矿质元素的吸收。然而添加外源SNP或SA或SNP+SA可以缓解N、P、K、Ca和Mg含量的降低，并促进小麦幼苗对这些矿质元素的吸收。其中，1/2(SA+SNP)处理结果差异显著。与NaCl相比，1/2(SA+SNP)处理条件下，N在叶和根中的含量分别增加15.49%、27.30%；P在叶和根中的含量分别增加23.04%、21.40%；K在叶和根中的含量分别降低3.08%、97.78%；Ca在叶和根中的含量分别降低45.07%、110.12%；Mg在叶和根中的含量分别降低15.85%、18.87%，且均具有显著差异。

表3 外源NO与SA复合调控对盐胁迫下小麦幼苗矿质元素含量的影响

Table 3 Effects of extraneous nitric oxide and salicylic acid on mineral elements content of the wheat seedlings under salt stress / (mg·kg⁻¹)

处理 Treatment	N		P		K	
	叶 Leaf	根 Root	叶 Leaf	根 Root	叶 Leaf	根 Root
CK	60.75 ± 5.59a	45.24 ± 4.6a	9.17 ± 0.2a	11.46 ± 0.78a	19.19 ± 0.67a	21.16 ± 3.5a
NaCl	43.34 ± 0.66c	30.33 ± 0.23c	6.14 ± 0.59d	8.64 ± 0.54c	15.87 ± 0.31c	8.72 ± 0.81b
SA	49.13 ± 0.15b	37.86 ± 2.4b	7.49 ± 1.06bc	10.17 ± 0.58ab	17.8 ± 0.17b	11.83 ± 1.71b
SNP	46.68 ± 1.67bc	34.62 ± 3.07bc	6.37 ± 0.34d	9.77 ± 0.68bc	16.88 ± 0.95bc	9.35 ± 0.96b
1/2(SA+SNP)	50.05 ± 1.87b	38.61 ± 1.03b	7.56 ± 0.1b	10.48 ± 0.94ab	17.95 ± 0.95b	17.25 ± 1.72a
SA+SNP	46.72 ± 1.47bc	36.08 ± 2.46b	6.41 ± 0.78cd	9.96 ± 0.83b	17.11 ± 0.17b	9.96 ± 3.27b
处理 Treatment	Na		Ca		Mg	
	叶 Leaf	根 Root	叶 Leaf	根 Root	叶 Leaf	根 Root
CK	4.55 ± 0.28c	5.81 ± 1.1c	6.41 ± 0.28a	2.34 ± 0.08a	0.94 ± 0.03a	1.26 ± 0.08a
NaCl	12.15 ± 0.25a	20.73 ± 1.08a	4.21 ± 0.61c	1.01 ± 0.07d	0.76 ± 0.02d	0.98 ± 0.02c
SA	11.54 ± 0.41ab	20.4 ± 1.28ab	5.61 ± 0.7ab	1.06 ± 0.09d	0.85 ± 0.04bc	1.15 ± 0.1ab
SNP	11.65 ± 0.3a	19.34 ± 0.33ab	4.99 ± 0.4bc	1.39 ± 0.23c	0.82 ± 0.02c	1.11 ± 0.09abc
1/2(SA+SNP)	10.87 ± 0.76b	18.83 ± 0.5b	6.1 ± 0.32a	2.12 ± 0.2ab	0.88 ± 0.05b	1.17 ± 0.06ab
SA+SNP	11.98 ± 0.29a	19.27 ± 0.69ab	4.81 ± 0.3bc	1.96 ± 0.11b	0.84 ± 0.01bc	1.06 ± 0.12bc

3 讨论

3.1 外源NO与SA复合调控对盐胁迫下小麦幼苗干鲜重、根系活力及光合色素含量的影响

Tariq等^[16]研究表明盐胁迫会抑制植物的光合作用、养分平衡、抗氧化酶活性、可溶性物质积累

等多种生理过程，进而抑制植株生长。而NO和SA作为生长调节物质可以参与逆境胁迫的多重生理调控。本试验结果显示NaCl处理降低小麦幼苗的干重及鲜重，而添加外源物质可以缓解这种影响，并且SNP与SA复合处理条件下小麦的鲜重和干重较单独施用效果更好，尤其是1/2(SA+SNP)效果更好

优。通过测定小麦的根系活力、叶片的叶绿素含量,可以看出SA+SNP显著提高了盐胁迫下小麦的根系活力和叶绿素含量。SA+SNP可以通过提高根系活力来促进小麦对矿质元素的吸收,也可以通过促进叶绿素的合成来提高小麦的光合作用,进而对盐害有很大的缓解作用。有研究表明,外源添加NO和SA能够有效修复亚砷酸盐对水稻根系生长及叶绿素合成的抑制作用^[8],这与本研究结果一致。此外,SNP和SA对盐害的缓解作用还可能是因为对膜功能和抗氧化剂的保护作用。

3.2 外源NO与SA复合调控对盐胁迫下小麦幼苗丙二醛含量和电解质渗出率的影响

在本研究中,NaCl处理增加了小麦幼苗的膜脂过氧化作用,而外源NO和SA,尤其是1/2(SA+SNP),显著降低了MDA积累。Gunes等^[17]研究表明SA可以通过抑制OH[·]的合成来降低MDA的含量;此外NO可以通过降低O₂^{·-}和H₂O₂的积累来降低膜脂过氧化作用^[18]。盐胁迫对植物的另一直接毒性作用表现为过量的Na造成了细胞膜电解质渗出率增加。盐胁迫下MDA含量和电解质渗出率的增加会导致小麦的生理生化功能衰退,最终阻碍植株生长。试验表明外源添加SNP和SA可以降低小麦幼苗的电解质渗漏率和MDA含量,其中以1/2(SA+SNP)效果更优。Bastam等^[19]研究表明SA可通过促进对离子的吸收和提高抗氧化能力来维护膜功能,从而保护植物免受氧化损伤。外源添加SA和SNP降低电解质渗漏率可能是由于减缓了生物膜的过氧化作用,从而减轻了盐胁迫下小麦质膜受损程度。

3.3 外源NO与SA复合调控对盐胁迫下小麦幼苗抗氧化酶活性的影响

盐胁迫不仅会导致ROS比如O₂^{·-}和H₂O₂在植物体内大量累积,也会降低抗氧化酶的活性。H₂O₂含量的增加主要是由于CAT的活性受到抑制。Idrees等^[20]研究表明盐胁迫诱导的ROS积累会抑制植物光合作用的进行,进而抑制植物的生长发育。NO和SA可以缓解盐诱导的SOD、POD、CAT活性的降低。有研究报道SA可能通过诱导蛋白质的生物合成来刺激抗氧化酶系统的功能^[21]。同时,有研究表明NO在小麦盐胁迫作用下具有抗氧化剂的作用,能够提高抗氧化酶活性,缓解高盐环境造成的小麦氧化损伤^[22]。在

本研究中盐胁迫显著增加小麦幼苗体内O₂^{·-}产生速率和H₂O₂含量,然而添加外源物质可以降低这些物质的含量,其中1/2(SA+SNP)复合处理可以显著缓解盐胁迫造成的氧化伤害。众所周知,抗氧化酶系统中SOD、POD和CAT是ROS重要的清除剂。当植物体内ROS含量超过阈值水平时,可以通过提高这些酶的活性来清除。本研究表明SA+SNP复合作用更能明显提高SOD、POD和CAT的活性,尤其是1/2(SA+SNP)效果更优。因此,可以推断SA+SNP复合处理通过提高盐胁迫下抗氧化酶的活性来间接清除ROS的积累,这可能是缓解盐胁迫对小麦幼苗造成的氧化损伤效应的原因之一。

3.4 外源NO与SA复合调控对盐胁迫下小麦幼苗脯氨酸含量的影响

本研究测定了盐胁迫对渗透调节物质含量的影响。在NaCl处理下,外源添加SNP和SA,可以提高小麦幼苗叶片和根系中脯氨酸的含量,以1/2(SA+SNP)处理效果更好。这可能是由于NO与SA通过促进脯氨酸生物合成的基因表达来影响脯氨酸浓度。有研究表明脯氨酸可以通过和生物大分子(比如DNA、蛋白质)相互作用清除羟自由基,从而稳定生物大分子的结构。Tan等^[18]表明NO与SA可以通过诱导脱落酸合成来调节脯氨酸的含量,从而缓解渗透胁迫。因此可以推断,盐胁迫下NO与SA对渗透物质的调节作用可能是其保护小麦幼苗免遭盐害的原因之一。

3.5 外源NO与SA复合调控对盐胁迫下小麦幼苗体内Na及其他矿质元素含量的影响

有研究表明植物对盐胁迫的主要反应是减少K的含量,Na替代K的吸收从而导致营养失衡^[23]。在本研究中,NaCl处理增加了小麦幼苗叶片和根系中Na的含量,降低了其它矿质元素(N、P、K、Ca、Mg)的含量。这可能是由于离子间存在竞争排斥作用,高浓度的Na⁺和Cl⁻竞争排斥了其他离子的吸收,从而导致小麦矿质养分含量降低。而研究结果表明SNP和SA的复合施用可以促进N、P、K、Ca、Mg元素的吸收,从而提高这些矿质元素在地上部的积累。同样,SA+SNP可以通过提高对其他元素的吸收来降低对Na的吸收。可见SA+SNP可以改善盐胁迫诱导的矿质营养失衡,从而促进小麦幼苗的生长。

4 结 论

与单独添加SNP或SA相比, SA+SNP复合处理更能显著提高盐胁迫下小麦幼苗叶绿素含量、抗氧化酶活性、脯氨酸和可溶性蛋白含量; 降低 $O_2^{\cdot -}$ 产生速率、 H_2O_2 和MDA含量以及电解质渗漏率; 提高小麦根系活力, 促进其对N、P、K、Ca等矿质营养元素的吸收, 同时抑制了Na的吸收, 减少小麦体内的Na含量, 从而缓解了盐胁迫对小麦生长的抑制作用。本研究条件下, 各处理中以1/2(SA+SNP)处理的缓解小麦盐胁迫的效果最优。

参 考 文 献

- [1] AbdElgawad H, Zinta G, Hegab M M, et al. High salinity induces different oxidative stress and antioxidant responses in maize seedlings organs. *Frontiers in Plant Science*, 2016
- [2] Jan A U, Hadi F, Midrarullah, et al. Potassium and zinc increase tolerance to salt stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 2017, 116: 39—149
- [3] Abreu I A, Farinha A P, Negrão S, et al. Coping with abiotic stress: Proteome changes for crop improvement. *Journal of Proteomics*, 2013, 93: 145—168
- [4] 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. *生态学报*, 2014, 34 (13): 3519—3528
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 (In Chinese). *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34 (13): 3519—3528
- [5] Gémes K, Poór P, Horváth E, et al. Cross-talk between salicylic acid and NaCl-generated reactive oxygen species and nitric oxide in tomato during acclimation to high salinity. *Physiologia Plantarum*, 2011, 142 (2): 179—192
- [6] Zottini M, Costa A, Michele R D, et al. Salicylic acid activates nitric oxide synthesis in Arabidopsis. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58 (6): 1397—1405
- [7] Song F M, Goodman R M. Activity of nitric oxide is dependent on, but is partially required for function of, salicylic acid in the signaling pathway in tobacco systemic acquired resistance. *Molecular Plant-microbe Interactions*, 2001, 14 (12): 1458—1462
- [8] Singh A P, Dixit G, Kumar A, et al. A protective role for nitric oxide and salicylic acid for arsenite phytotoxicity in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 2017, 115: 163—173
- [9] Namdjoyan S, Keranian H, Soorki A A, et al. Interactive effects of Salicylic acid and nitric oxide in alleviating zinc toxicity of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Ecotoxicology*, 2017, 26: 752—761
- [10] Kotapati K V, Palaka B K, Ampasala D R. Alleviation of nickel toxicity in finger millet (*Eleusine coracana* L.) germinating seedlings by exogenous application of salicylic acid and nitric oxide. *The Crop Journal*, 2017, 5: 240—250
- [11] Kazemi N, Khavari-Nejad R A, Fahimi H, et al. Effects of exogenous salicylic acid and nitric oxide on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in leaves of *Brassica napus* L. under nickel stress. *Scientia Horticulturae*, 2010, 126: 402—407
- [12] Yan F, Liu Y, Sheng H, et al. Salicylic acid and nitric oxide increase photosynthesis and antioxidant defense in wheat under UV-B stress. *Biologia Plantarum*, 2016, 60 (4): 686—694
- [13] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2000
Lu R K. Analytical methods for soil and agro-chemistry (In Chinese). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000
- [14] Patterson B D, MacRae E A, Ferguson I B. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium (IV). *Analytical Biochemistry*, 1984, 139 (2): 487—492
- [15] 朱正杰, 陈敬安, 李航, 等. 贵州草海沉积物碳酸盐碳同位素异常正值的发现及其环境指示意义. *湖泊科学*, 2011, 23 (5): 681—685
Zhu Z J, Chen J A, Li H, et al. Discovery of abnormal positive values of carbon isotope of carbonate sediments from Lake Caohai, Guizhou Province and their implications (In Chinese). *Journal of Lake Sciences*, 2011, 23 (5): 681—685
- [16] Tariq A, Masroor M, Khan A, et al. Role of salicylic acid in promoting salt stress tolerance and enhanced artemisinin production in *Artemisia annua* L. *Plant Growth Regulation*, 2011, 30: 425—435
- [17] Gunes A, Inal A, Alpaslan M, et al. Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164 (6): 728—736
- [18] 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. *Journal of Agricultural Science*, 2008, 4 (3): 307—313
- [19] Bastam N, Baninasab B, Ghobadi C. Improving salt tolerance by exogenous application of salicylic acid in seedlings of pistachio. *Plant Growth Regulation*, 2013, 69: 275—284
- [20] Idrees M, Naeem M, Nasir K M, et al. Alleviation of salt stress in lemongrass by salicylic acid. *Protoplasma*, 2012, 249: 709—720
- [21] Kovacik J, Gruz J, Hedbavny J, et al. Cadmium and nickel uptake are differentially modulated by salicylic acid in *Matricaria chamomilla* plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 57: 9848—9855
- [22] 王弯弯, 诸葛玉平, 王慧桥, 等. 外源NO对盐胁迫下小麦幼苗生长及生理特性的影响. *土壤学报*, 2017, 54 (2): 250—258
- Wang W W, Zhuge Y P, Wang H Q, et al. Effects of exogenous nitric oxide on growth and physiological characteristics of wheat seedlings under salt stress (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2017, 54 (2): 250—258
- [23] Tuna A L, Cengiz K, Muhammad A, et al. The effects of calcium sulphate on growth, membrane stability and nutrient uptake of tomato plants grown under salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 2007, 59: 173—178

Effects of Extraneous Nitric Oxide and Salicylic Acid on Physiological Properties of Wheat Seedlings under Salt Stress

ZHANG Qian¹ HE Mingrong² CHEN Weifeng¹ DAI Xinglong² WANG Zhenlin² DONG Yuanjie^{1†}
ZHUGE Yuping^{1†}

(1 College of Resources and Environment, Shandong Agricultural University, National Engineering Laboratory for Efficient Utilization of Soil and Fertilizer Resources, Tai'an, Shandong 271018, China)

(2 College of Agronomy, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China)

Abstract 【Objective】Wheat is one of the most important crops cultivated in coastal saline soils. The seed germination period and seedling stage are two important growth stages in the life circle of wheat and the plants during the two stages are pretty sensitive to salt stress. This study was designed to explore effects of extraneous nitric oxide (NO) and/or salicylic acid (SA) applied alone or in combination, on growth and physiological properties of wheat under the stress of 120 mmol·L⁻¹ NaCl in an attempt to evaluate the effects of extraneous NO and SA mitigating salt stress on growth of wheat seedlings, and to provide a theoretical basis for elucidating the mechanism of extraneous NO and SA enhancing salt tolerance of wheat. 【Method】A hydroponic experiment was carried out, cultivating wheat (*Triticum aestivum* L.) and using extraneous sodium nitroprusside (SNP, a nitric oxide [NO] donor) and SA as regulatory substance to explore effects of extraneous NO and/or SA on growth and physiological properties of wheat under salt stress (120 mmol·L⁻¹ NaCl). This experiment was designed to have six treatments; i.e. CK (Hoagland nutrient solution), NaCl (120 mmol·L⁻¹ NaCl), SA (120 mmol·L⁻¹ NaCl+100 μmol·L⁻¹ SA), SNP (120 mmol·L⁻¹ NaCl+100 μmol·L⁻¹ SNP), 1/2 (SA+SNP) (120 mmol·L⁻¹ NaCl+50 μmol·L⁻¹ SA+50 μmol·L⁻¹ SNP, and SA+SNP (120 mmol·L⁻¹ NaCl+100 μmol·L⁻¹ SA+100 μmol·L⁻¹ SNP). Growth indices, root activity, photosynthetic pigment content, superoxide anion (O₂⁻) production rate, H₂O₂ content, MDA content, electrolyte leakage and antioxidase activities of the wheat seedlings in all the treatments were analyzed for comparison to explore effects of NO and/or SA. 【Result】Results show that Treatment NaCl was significantly higher in O₂⁻ production rate and H₂O₂ content, but significantly lower in wheat growth and photosynthetic pigment synthesis. Treatment SNP or SA significantly mitigated the damage of wheat

caused by salt stress, but the effect of Treatment SA+SNP was more significant. Compared with Treatment NaCl, Treatment 1/2(SA+SNP) was 74.26% higher in root activity and 39.58%, 24.46% and 33.06% higher in content of Chl a, Chl b and Car respectively, but 30.52% and 29.16% lower in $O_2^{\cdot-}$ production rate in leaves and roots and 15.78% and 24.23% lower in content of MDA in leaves and roots, respectively. Besides, Treatment 1/2(SA+SNP) also significantly increased the content of antioxidase as well as the absorption of mineral elements, such as N, P, K and Ca. 【 Conclusion 】 Compared with Treatment SNP or SA, Treatment SA+SNP is more effective in reducing ROS accumulation induced by salt stress, MDA content and electrolyte leakage, improving chlorophyll content, proline content and soluble protein content, antioxidase activity; enhancing root activity in absorbing mineral elements, as well as in inhibiting Na uptake and reducing Na content in the plants, thus relieving salt stress of the wheat seedlings. Among the treatments in the experiment, Treatment 1/2(SA+SNP) is the most effective in mitigating salt stress on wheat.

Key words Salt stress; Nitric oxide; Salicylic acid; Synergistic effect

(责任编辑: 卢 萍)