硝普钠对 NaCl 胁迫下长春花幼苗光合及生物碱的影响*

胡凡波 隆小华 刘 玲 刘兆普†

（南京农业大学资源环境学院江苏省海洋生物学重点实验室，南京 210095）

摘 要 在温室沙培条件下，研究了不同浓度外源 NO 供体硝普钠（SNP）对 50mmolL^{-1}NaCl 胁迫下长春花幼苗生长、光合特性和生物碱的影响。结果表明：（1）在用 0.05~2.0 mmolL^{-1} SNP 缓解 50mmolL^{-1}NaCl 胁迫中，0.1mmolL^{-1} SNP 缓解效果最好，长春花幼苗的鲜重、干重、净光合速率（Pn）、气孔导度（Gs）、蒸腾速率（Tr）和过氧化物酶（POD）活性分别较 S_1（50mmolL^{-1}NaCl）处理显著增加 18.8%、13.9%、20.7%、19.1%、8.5%和 32.6%，而细胞间隙 CO_2浓度（Ci）较 S_1处理显著降低 10.3%。（2）当 SNP 浓度增加到 0.5mmolL^{-1}时，色氨酸脱羧酶（TDC）活性、吲哚总碱、长春碱、长春质碱、长春新碱和文多灵含量均达到最高，分别较 S_1显著增加 33.4%、26.9%、32.3%、27.4%、68.8%和 50.2%。综上所述：在 50mmolL^{-1}NaCl 胁迫下，0.1mmolL^{-1}SNP 对提高光合作用，促进生长，增加生物量的作用最显著；而 0.5mmolL^{-1} SNP 则对提高 TDC 活性，促进吲哚总碱和 4 种主要生物碱合成积累作用最显著。

关键词 一氧化氮；NaCl 胁迫；长春花；光合作用；生物碱

中图分类号 Q945. 78 **文献标识码** A

长春花（*Catharanthus roseus* (L)G．Gon）原产非洲东部及美洲热带地区，是夹竹桃科（Apocynaceae）长春花属（*Catharanthus roseus*）的一种药用植物，它含有 100 多种生物碱，其中长春碱（Vinblastine）、长春新碱(Vincristine)、长春质碱(Catharanthine)和文多灵(Vindolin)是长春花所含有的 4 种重要的生物碱，经临床验证长春碱和长春新碱具有明显的抗癌作用是国际上研究和应用最多的抗癌植物药源[1]。目前，国内外的大部分研究主要集中于胁迫对长春花生物碱的影响[2-4]，而关于 NO（Nitric oxide）在盐胁迫下对长春花生长及生物碱代谢的影响方面研究较少。已有研究表明 NaCl 胁迫对长春花生物碱生物合成具有促进作用[5]。王景艳等[6]指出长春花在 5%海水处理下长春碱、长春新碱、长春质碱和文多灵含量均显著提高。虽然盐胁迫能够增加长春花体内生物碱含量，但是生物碱总产量提高幅度不大，主要因为外界胁迫同时抑制长春花生长，导致生物量降低。

NO 是广泛分布于生物体的一类气体生物活性分子和毒性分子，也是一种活性氮(reactive nitrogen species，RNS)。已有研究指出外源 NO 能够提高植物抗逆性[7]。Zhao 等[8]证明，NO 含量降低的拟南芥突变体 Atnoal 比野生型更容易受到盐胁迫的伤害，说明了依赖于一氧化氮合酶(nitric oxide synthase，NOS)的 NO 形成与拟南芥的耐盐性相关。

本试验以长春花为材料，研究外源 NO 供体硝普钠（sodium nitroprusside，SNP）对 NaCl 胁迫下长春花幼苗生长、光合特性、色氨酸脱羧酶（TDC）和过氧化物酶（POD）活性以及生物碱的影响，并探讨在盐胁迫下外源 NO 对长春花幼苗生理影响机制。

1 材料与方法

1.1 盆栽试验

试验于 2010 年 4 月至 10 月在南京农业大学玻璃温室内进行。供试长春花种子由南京农业大学

---

*国家科技支撑项目（2008BAD95B05）和公益性行业（农业）科研专项经费项目（200903001-05）资助

†通讯作者，刘兆普，教授，博士生导师，从事近海资源与生态研究。E-mail：sea@njau.edu.cn

作者简介：胡凡波（1985-），男，汉族，硕士研究生，主要从事植物生物碱代谢调控研究。E-email：hu0806@126.com

收稿日期：2010-11-22；收到修改稿日期：2011-03-15

海南海涂技术研究所提供。种子用 0.1%的 $HgCl_2$ 消毒 1min 并充分冲洗，然后用蒸馏水浸泡 24h 后播种于盛有蛭石的穴盘中，每天浇水保持蛭石湿润，自然光照，待种子萌发后，选取 2 对叶完全展开的幼苗移栽到装有石英砂且下部有孔的塑料盆钵中，每盆定苗 4 株，用 1/2 浓度的 Hoagland 营养液浇灌，正常养护至 4 对叶完全展开后，选取长势一致的幼苗开始处理。以 1/2Hoagland 营养液作为溶剂配制各处理液，设置处理分别为：CK，1/2Hoagland 营养液（正常对照）；S_1，50mmolL^{-1} NaCl；S_2，50mmolL^{-1} NaCl+0.05mmolL^{-1} SNP；S_3，50mmolL^{-1} NaCl+0.1mmolL^{-1} SNP；S_4，50mmolL^{-1} NaCl+0.5mmolL^{-1} SNP；S_5，50mmolL^{-1} NaCl+1.0mmolL^{-1} SNP；S_6，50mmolL^{-1} NaCl+2.0mmolL^{-1} SNP。各处理液定量 50ml 浇灌幼苗，各处理重复 4 次。每天更换一次处理液，处理 8d 后对各种生理生化指标进行测定。

1.2 取样与分析测定

1.2.1 植株鲜重和干重的测定 将长春花幼苗从塑料盆中全部取出，先用自来水冲洗表面灰尘和根部砂粒，再用去离子水冲洗，用吸水纸吸干植株表面水分，称取单株鲜重，110℃杀青 10min，60℃烘干至恒量后称干重。

1.2.2 色氨酸脱羧酶（TDC）活性测定 （1）样品制备：选取相同功能部位新鲜长春花幼苗叶片 1.0g，洗净，放入预冷的研钵中，加入 0.5g 石英砂，倒入液氮快速破碎细胞，加入 5ml 预冷的提取液（0.1mmolL^{-1} Tris-HCl，1mmolL^{-1} DTT，pH 7.6）和 0.05g PVP，混匀，4℃，15000 rmin^{-1} 离心 15 min，取上清，定容至 8 ml，即为 TDC 酶提取液样品。每一处理设置重复 3 次，取平均值。

（2）酶活测定 1ml 反应液（0.1mmolL^{-1} Tris-HCl，1.0mmolL^{-1} 色氨酸，1.0mmolL^{-1} 磷酸吡哆醛，3mmolL^{-1} DTT，pH7.6）中加入 1ml TDC 酶提取液样品，35℃保温 30min，反应结束后迅速置冰上并加入 2ml 甲醇终止反应，样品与对照（对照是经沸水灭活 3min 的 TDC 酶）均在 277nm 波长下测定吸光值[9]。

1.2.3 长春花幼苗叶片过氧化物酶（POD）活性测定 选取相同功能部位新鲜长春花幼苗叶片 1.0g 洗净，切碎，放入研钵中。加入 10ml 磷酸缓冲液研磨成匀浆，将匀浆全部转入离心管中，于 3000rmin^{-1} 离心 10min，上清液转入 25ml 容量瓶中，沉淀用 5ml 磷酸缓冲液再提取两次，上清液并入容量瓶中，定容至刻度，低温下保存备用。POD 活性测定参照文献[10]。每一处理设置重复 3 次，取平均值。

1.2.4 光合参数 在处理的第 8 天（晴天）9:30~11:30，用光合仪（Li-6400, Li-CorInc., USA），通过叶室夹住叶片进行活体测定叶片的净光合速率（Pn）等光合参数。测定时叶室温度为 28℃，光量子流密度为 1000μmol$m^{-2}s^{-1}$，CO_2 浓度为 400μlL^{-1}。每一处理随机选取 3 株，各株均选取 2 片相同功能部位叶片测定，取平均值。

1.2.5 吲哚生物总碱测定 选取相同功能部位新鲜长春花幼苗叶片 1.0g，加入 0.5g NaCl 与 10ml 95%乙醇，用研钵研磨至匀浆后离心（4000 rmin^{-1}）10min。取上层清液于带塞比色管中，蒸至近干，加入 pH4.6 的柠檬酸缓冲液 5ml，pH4.6 的 0.04%溴钾酚绿溶液 2ml，氯仿 10ml，震荡 3min，然后静置 l0min，分层后，用吸管吸取 5ml 下层氯仿液移入另一带塞管中，加入 10ml 含有 1%NaCl 和 0.2%NaOH 的溶液，震荡 3min，静置放置 l0min，分层后取上层水相在分光光度计上于波长 620nm 处测定吸光值[11]。每一处理设置重复 3 次，取平均值。

1.2.6 植株叶片长春碱、长春质碱、长春新碱和文多灵含量的测定 参照文献[5]稍作修改。精确称取适量长春碱、长春质碱、长春新碱、文多灵标准样品（标准样纯度均为色谱纯），配制为系列浓度标液。取长春花幼苗整株所有叶片，杀青，烘干，研磨成粉末，经 60 目筛筛出粉末，取筛出的干样粉末 1.0g，在室温下分别用 20ml、15ml 和 10ml 甲醇各超声提取 30min 一次，过滤，合并 3 次提取液，减压蒸发，将残渣于甲醇中溶解，经 0.45μm 的微孔滤膜过滤，滤液定容至 5ml 容量瓶中，将所有样品保存于 4℃冰箱中备用。用 Agilent1100 高效液相色谱测定。每一处理设置重复 3 次，取平均值。

色谱条件参照文献[12]有所修改。色谱柱：Agilent Eclipse XDB-C18（4.6×250mm, 5μm）；流动相为水：二乙胺=990：10，用磷酸调节 pH=7.2 (溶液 A)；甲醇：乙腈=4：1（溶液 B），380 ml A 和 620 ml B 混合作为流动相；流速为 2mlmin^{-1}，进样量：10μl；柱温：23℃；检测波长：220nm。

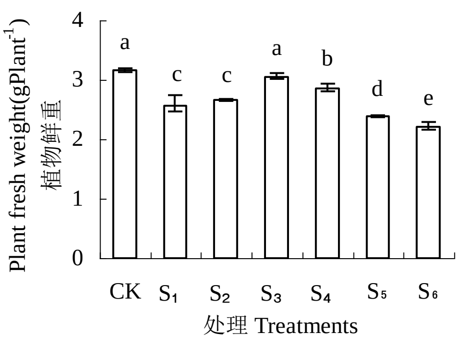
1.3 数据分析

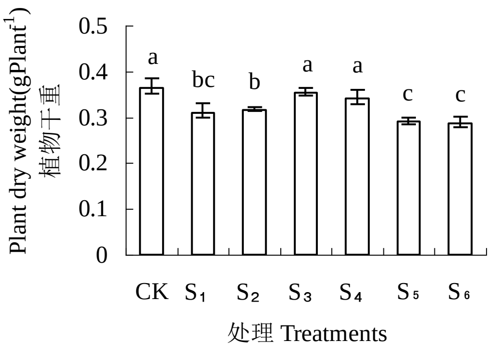
数据采用 Excel 软件进行绘图，SPSS 软件进行方差分析，用 DuncanT 检验进行显著性分析(p<0.05)。

2 结 果

2.1 NaCl 胁迫下 SNP 对长春花幼苗生物量的影响

由图 1 可以看出，与对照组相比 S_1 处理导致长春花幼苗鲜重干重均显著降低，分别较对照组降低 18.7%和 14.7%; S_2 处理与 S_1 处理差异不显著; S_3 处理时鲜重、干重分别较 S_1 处理显著增加 18.8%和 13.9%；而随着 SNP 浓度继续升高，S_5 和 S_6 处理时鲜重较 S_1 处理显著下降，干重无显著差异。表明在 50mmolL^{-1}NaCl 胁迫下 0.1mmolL^{-1}SNP 缓解效果最好，显著减轻盐胁迫，促进生长，增加生物量，0.05mmolL^{-1}SNP 缓解盐胁迫效果不显著，而 1.0mmolL^{-1} 和 2.0mmolL^{-1}SNP 进一步加剧盐胁迫。





注：不同字母表示显著差异（p＜0.05）。下同 Note: Different lower-case letters represent significant difference at 5% according to Duncan's multiple range test. The same follows

图 1 NaCl 胁迫下 SNP 对长春花幼苗生物量的影响

Fig. 1 Effects of SNP on biomass of *C.roseus* seedlings under NaCl stress

2.2 NaCl 胁迫下 SNP 对长春花幼苗光合特性的影响

如表 1 所示，S_1 处理下净光合速率（Pn）、气孔导度（Gs）和蒸腾速率（Tr）均显著低于对照组，细胞间隙 CO_2 浓度（Ci）显著高于对照组；Pn、Gs、Tr 和 Ci 在 S_2 处理与 S_1 处理之间无显著差异；S_3 处理时 Pn、Gs 和 Tr 分别较 S_1 处理提高 20.7%、19.1%和 8.5%，Ci 则比 S_1 处理降低 10.3%；S_4 处理下 Pn、Gs 和 Tr 均较 S_3 处理显著降低，但是仍显著高于 S_1 处理，Ci 的变化趋势相反；S_5 处理和 S_6 处理下 Pn、Gs 和 Tr 均显著低于 S_1 处理，Ci 显著高于 S_1 处理。

表 1 NaCl 胁迫下 SNP 对长春花幼苗净光合速率、细胞间隙 CO_2 浓度、气孔导度和蒸腾速率的影响

Table 1 Effects of SNP on net photosynthetic rate, intercellular CO_2 concentration, stomatal conductance and transpiration rate of *C.roseus* seedlings under NaCl stress

处理 Treatment	净光合速率 Net photosynthetic rate Pn (CO_2μmolm^{-2}s^{-1})	细胞间隙 CO_2 浓度 Intercellular CO_2 concentration Ci (mgg^{-1})	气孔导度 Stomatal conductance Gs (H_2Ommolm^{-2}s^{-1})	蒸腾速率 Transpiration rate Tr (mmolm^{-2}s^{-1})
CK	26.20±0.75a	273.00±10.15d	1.19±0.05a	8.15±0.07a
S_1	21.33±0.45c	316.67±8.96bc	0.94±0.03d	7.40±0.17c

S_2	22.40±0.32c	311.66±12.90c	1.01±0.04cd	7.54±0.30bc
S_3	25.70±0.66a	284.00±12.49d	1.12±0.06ab	8.03±0.14ab
S_4	23.77±0.40b	307.02±12.34c	1.05±0.06bc	7.55±0.19bc
S_5	19.97±0.76d	336.66±16.04ab	0.82±0.06e	6.40±0.56d
S_6	16.47±0.91e	341.00±13.53a	0.67±0.09f	5.68±0.14e

注：同一列中不同字母表示在<0.05 水平上差异显著 Note: Data followed by different letters in the same column mean significant difference at <0.05

2.3 NaCl 胁迫下 SNP 对长春花幼苗色氨酸脱羧酶（TDC）和过氧化物酶（POD）活性影响

TDC 是长春花生物碱合成过程中一个重要的限速酶，其产物色胺是合成生物碱的必需原料。由图 2A 可知，S_1 处理显著提高 TDC 活性，加入不同浓度 SNP 后，进一步不同程度的提高 TDC 活性。S_2 处理与 S_1 处理无显著差异；S_3 处理较 S_1 处理显著提高 13.1%；S_4 处理较 S_1 处理显著提高 33.4%；S_5 处理和 S_6 处理下 TDC 活性较 S_4 处理显著降低。POD 不但在植物抵抗逆境环境机制中起到重要作用，同时也是长春花合成生物碱过程中重要的酶，POD 参与了由阿玛碱到蛇根碱的催化过程以及长春质碱和文多灵生成长春碱的催化过程。由图 2B 所示，S_1 显著提高 POD 活性，SNP 加入后 POD 活性进一步提高，S_2 处理下 POD 活性与 S_1 处理差异不显著；S_3 处理、S_4 处理和 S_5 处理下 POD 活性分别较 S_1 处理显著提高 32.6%、30.0%和 27.7%；S_6 处理与 S_1 处理无显著差异。说明适当浓度的外源 NO 供体 SNP 能够提高长春花体内的 TDC 和 POD 酶活性。

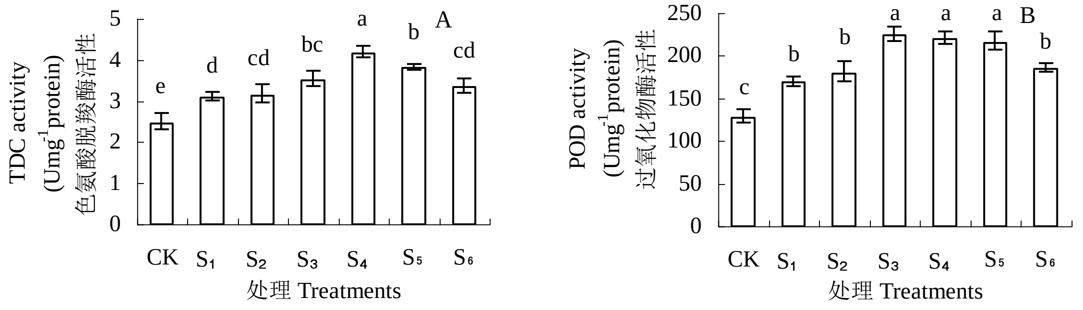


图 2 NaCl 胁迫下 SNP 对长春花幼苗 TDC 和 POD 活性影响

Fig. 2 Effects of SNP on TDC and POD activities of *C.roseus* seedlings under NaCl stress

2.4 NaCl 胁迫下 SNP 对长春花幼苗吲哚总碱含量的影响

如图 3 所示，S_1 处理较对照组显著提高了吲哚总碱含量，比对照组提高 19.7%，在 50mmolL^{-1}NaCl 中加入不同浓度 SNP 处理后，吲哚总碱含量都得到不同程度的提高。S_1 处理与 S_2 处理无显著差异，S_3 处理较 S_1 处理显著增加 12.8%；S_4 处理与 S_5 处理无显著差异，但它们分别较 S_1 处理显著增加 26.9%和 24.9%。S_6 处理较 S_1 处理吲哚总碱显著提高 20.0%。由此可知在 50mmolL^{-1}NaCl 胁迫下加入不同浓度 SNP 处理中，0.5mmolL^{-1}SNP 对提高长春花幼苗吲哚总碱的含量效果最好。

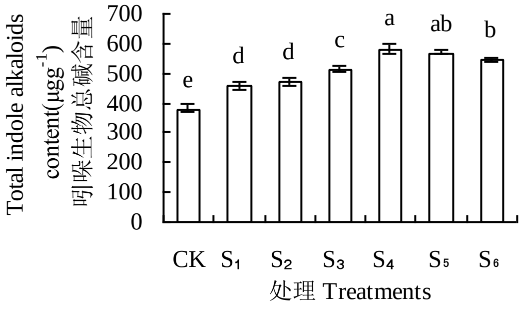


图 3 NaCl 胁迫下 SNP 对长春花幼苗吲哚总碱含量的影响

Fig. 3 Effects of SNP on total indole alkaloids contents of *C.roseus* seedlings under NaCl stress

2.5 NaCl 胁迫下 SNP 对长春花幼苗长春碱、长春质碱、长春新碱和文多灵含量的影响

如表 2 所示，在 S_1 处理下长春碱、长春质碱、长春新碱和文多灵含量分别较照组显著提高 55.0%、31.3%、109.8%和 40.3%；S_2 处理下长春碱、长春质碱、长春新碱和文多灵含量与 S_1 处理无显著性差异；S_3 处理时长春碱、长春新碱和文多灵较 S_1 处理显著增加 25.8%、23.4%和 30.6%，而长春质碱含量较 S_1 处理无显著提高；S_4 处理时长春碱、长春质碱、长春新碱和文多灵含量均达到最高，分别较 S_1 处理均显著提高 32.3%、27.4%、68.8%和 50.2%；S_5 处理时长春碱含量较 S_4 处理无显著降低，长春质碱、长春新碱和文多灵含量均较 S_4 处理均显著降低，但是 S_5 处理时长春碱、长春质碱、长春新碱和文多灵含量仍然显著高于 S_1 处理；S_6 处理时，4 种碱含量均较 S_4 处理显著降低。

表 2 NaCl 胁迫下 SNP 对长春花幼苗长春碱、长春质碱、长春新碱和文多灵含量的影响

Table 2 Effects of SNP on Vinblastine、Catharanthine、Vincristine and Vindolin contents of *C.roseus* seedlings under NaCl stress

处理 Treatment	长春碱 Vinblastine (mgg-1DW)	长春质碱 Catharanthine (mgg-1DW)	长春新碱 Vincristine (mgg-1DW)	文多灵 Vindolin (mgg-1DW)
CK	0.20±0.02d	2.81±0.09e	0.61±0.11e	3.05±0.13e
S_1	0.31±0.006c	3.69±0.07d	1.28±0.13d	4.28±0.19d
S_2	0.35±0.003c	3.71±0.11d	1.39±0.10d	4.41±0.11d
S_3	0.39±0.01b	3.84±0.11d	1.58±0.10c	5.59±0.16c
S_4	0.41±0.007a	4.70±0.08a	2.16±0.13a	6.43±0.29a
S_5	0.34±0.009a	4.29±0.09b	1.87±0.07b	5.99±0.13b
S_6	0.33±0.004b	3.97±0.12c	1.72±0.05bc	5.72±0.16bc

注：同一列中不同字母表示在<0.05 水平上差异显著 Note: Data followed by different letters in the same column mean significant difference at <0.05

3 讨论和结论

盐胁迫抑制植株生长是一个复杂的生理过程，是各种因素综合作用的结果[13]。但是植物生长在根本上取决于其光合作用强度的大小[14]。本试验发现 0.1mmolL-1SNP 处理可显著促进 50mmolL-1NaCl 胁迫下长春花幼苗生长和生物量积累。这与樊怀福等[15]结论相似。SNP 是一种重要的 NO 供体，Delledonne 等[16]证明 0.5 mmolL-1 的 SNP 约能产生 2.0μmolL-1 的 NO。由于 NO 分子小，具有脂溶性，

能够在细胞间自由穿梭，可以通过质外体直接作用于细胞壁组分，使细胞壁松弛，以及 NO 作用于膜的磷脂双分子层，增强膜的流动性，从而促进细胞扩展，促进生长[17]。膜的流动性加强利于植株对营养元素的吸收和对有害离子的排斥，能够增强植株抗逆性。同时 NO 提高了 POD 活性，加强清除植株在盐胁迫下产生的过量的活性氧，因而降低活性氧对植株细胞的伤害。但是过多的外源 NO 会与 O_2^- 相互作用生成过氧亚硝酸阴离子（$ONOO^-$），经质子化形成具有强氧化性的过氧亚硝酸(HOONO)，可以破坏生物大分子结构和功能[18]。植物体内的酶和其它蛋白质都是生物大分子，它们都可以受到 HOONO 破坏，直接导致细胞活性降低，功能减弱，光合速率和蒸腾作用减小，植株对营养元素吸收，利用能力减弱，生长受到抑制。

光合作用在植物生长发育中具有重要意义，是农作物获得产量并抵抗逆境的重要生理机能之一，盐胁迫会对植物的光合能力造成严重阻碍[19-20]，已有研究表明，外源 NO 能维持番茄在盐胁迫下较高的光合速率[21]。对光合作用的影响通常认为有 2 种主要因素：气孔因素和非气孔因素；外界胁迫下植物叶片 Pn、Gs 和 Tr 均出现不同程度降低，如果此时叶片 Ci 也显著下降，说明外界胁迫可引起叶片气孔关闭，减少植株 CO_2 吸收供应，进而影响植株的光合速率；反之，若叶片 Ci 显著升高，则表明外界胁迫引起核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶(RuBPCase)等酶活性下降，导致植物叶片气孔关闭[22]。本试验中，50mmolL^{-1}NaCl 胁迫下 Pn、Gs、Tr 均显著下降，而 Ci 升高，NaCl 胁迫引起 RuBPCase 等酶活性下降，CO_2 转化率降低，致使 Pn 降低，此时叶片气孔不是主要因素；而在 0.1mmolL^{-1}SNP 缓解下 Pn、Gs 和 Tr 均维持较高，而 Ci 较低，可知此时 RuBPCase 活性保持在较高水平，气孔是影响光合作用的主要因素。NO 对盐胁迫下光合细胞具有保护效应，维持较高的光合作用，增强植株耐盐性。NO 对光合细胞的保护作用可能与其能够促进细胞膜流动性，增强细胞活性，通过提高 POD 活性降低活性氧对细胞组织的破坏作用有关。

POD 是重要的 H_2O_2 清除酶，外源 NO 可以诱导植物细胞内多种抗氧化酶的活性，从而提高植物的适应能力[23]。本试验中 0.1~1.0mmolL^{-1}SNP 处理进一步提高了 50mmolL^{-1}NaCl 胁迫下 POD 活性，增大对 H_2O_2 的清除能力，维持活性氧代谢平衡，保护生物膜，减轻活性氧对长春花细胞的伤害，在一定程度上提高抗逆性。TDC 催化色氨酸生成的产物色胺是生物碱共同前体异胡豆苷合成的原料之一，且 TDC 是长春花生物碱合成途径中第一个限速酶，因而 TDC 对整个生物碱代谢途径具有重要意义[24]。本研究中发现 0.5mmolL^{-1}SNP 可以显著提高 50mmolL^{-1}NaCl 胁迫下 TDC 活性，进一步提高色氨酸转化为色胺的速率。色胺含量的增加有利于长春碱、长春质碱、长春新碱和文多灵以及它们的共同前体异胡豆苷的合成，进而对长春花生物碱合成起到促进作用。

次生代谢产物合成积累是许多植物在各种生物或者非生物逆境胁迫下常见的一种生理生化反应。徐茂军等[25]发现，在长春花细胞悬浮培养中加入 10mmolL^{-1} 和 20mmolL^{-1}SNP 都显著增加细胞中生物碱含量。本试验研究发现 0.5mmolL^{-1}SNP 浓度下长春碱、长春质碱、长春新碱、文多灵和吲哚总碱含量最高，长春新碱的提高率最大。生物碱含量的变化与酶的活性和底物的浓度密切相关，TDC 和 POD 的活性在 0.5mmolL^{-1}SNP 时最高，而它们都是生物碱合成中重要的酶，长春新碱由长春碱衍生而来，而长春碱是 POD 催化的产物，可知 POD 活性提高促进了长春碱的生成，而长春碱增加率并没有长春新碱大，推测更多的长春碱转变为长春新碱，试验结果也证明了这一点。由于 NO 能够增强膜的流动性，所以认为这将促进将植物细胞中的生物碱等次生代谢产物转运到液泡中，减少次生代谢产物对细胞本身的伤害。盐胁迫时植株首先面对的是土壤渗透是胁迫[26]。NO 提高了长春花细胞内长春碱、长春质碱、长春新碱、文多灵和吲哚总碱含量，这有助于降低渗透势，维持较高的渗透压，减少盐分的过多的进入细胞和水分脱失，维持细胞正常形态和生理功能，增加抗逆性。

综上所述，50mmolL^{-1}NaCl 虽然在一定程度上提高生物碱的合成积累，但是植株生物量却显著降低。在 50mmolL^{-1}NaCl 胁迫基础上施加 0.1mmolL^{-1}SNP，能够较好的缓解盐胁迫伤害，维持较高的光合作用，促进生长，增加生物量；施加 0.5mmolL^{-1}SNP 后，长春花生物碱含量最高，进一步提高 50mmolL^{-1}NaCl 胁迫下生物量和生物碱含量，对提高生物碱产量具有实际生产意义。

参考文献

[1] 祖元刚，王非，马书荣，等. 长春花生活史型研究. 北京：科学出版社, 2006. Zu Y G, Wang F, Ma S R, et al. The research of plantlife cycleform of *Catharanthus roseus*(In Chinese). Beijing: Science Press, 2006

[2] Misra N, Gupta A K. Effect of salinity and different nitrogen sources on the activity of antioxidant enzymes and indole alkaloid content in Catharanthus roseus seedlings. Journal of Plant Physiology, 2006, 163(1): 11-18

[3] Jaleel C A, Gopi R, Manivannan P, et al. Responses of antioxidant defense system of *Catharanthus roseus*(L.)G.Don. to paclobutrazol treatment under salinity. Acta Physiologiae Plantarum, 2007, 29(3): 205-209

[4] Jaleel C A, Manivannan P, Kishorekumar A, et al. Calcium chloride effects on salinity-induced oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus*. Comptes Rendus Biologies, 2007, 330(9): 674-683

[5] 王景艳，刘兆普，刘玲，等. 盐胁迫对长春花幼苗生长和生物碱含量的影响. 应用生态学报，2008，19(10): 2143-2148. Wang J Y, Liu Z H P, Liu L, et al. Effects of NaCl on the growth and alkaloid content of *Catharanthus roseus* seedlings(In Chinese). Chinese Journal of Applied Ecology, 2008, 19(10): 2143-2148

[6] Wang J Y, Liu Z P. Alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus* increases with addition of seawater salts to the nutrient solution. Pedosphere, 2010, 20(6): 718-724

[7] 董海丽，井金学. 活性氧和一氧化氮在植物抗病反应中的作用. 西北农林科技大学学报：自然科学版，2003, 31(1): 161-166. Dong H L, Jing J X. Role of ROS and NO in plant disease resistance responses(In Chinese). Journal of northwest sci-tech university of agriculture and forestry (natural science edition), 2003, 31(1): 161-166

[8] Zhao M G, Tian Q Y, Zhang W H. Nitric oxide synthase-dependent nitric oxide production is a ssociated with salt tolerance in Arabidopsis. Plant Physiol, 2007, 144(1): 206-217

[9] 唐忠海，饶力群，李兰岚. 长春花愈伤组织的诱导及限速酶活性的研究. 天然产物研究与开发，2006，18(4): 596-598. Tang Z H, Rao L Q, Li L L. Callus initiation and the activity of key enzyme in *Catharanthus roseus*(L.)G.Don(In Chinese). Nat Prod Res Dev, 2006, 18(4): 596-598

[10] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术. 第 2 版. 北京：高等教育出版社，2008: 167-168. Wang X K. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment(In Chinese). 2nd ed. Beijing: Higer Education Press, 2008: 167-168

[11] Zhang Y, Wang L, Liu Y, et al. Nitric oxide enhances salt tolerance in maize seedlings through increasing activities of proton-pump and Na^+/H^+ antiport in the tonoplast. Planta, 2006, 224(3): 545-555

[12] 罗猛，付玉杰，祖元刚，等. 反相高效液相色谱法快速测定长春花中 4 种生物碱. 分析化学, 2005, 33(1): 87-89. Luo M, Fu Y J, Zu Y G, et al. Rapid determination of 4 vinca alkaloids by reversed phase high performance liquid chromatography(In Chinese). Chin J AnalyticalChem, 2005, 33(1): 87-89

[13] Hussain N, Ali A, Sarwar G, et al. Mechanism of salt tolerance in rice. Pedosphere, 2003, 13(3): 233-238

[14] 白文波，李品芳，李保国. NaCl 和 $NaHCO_3$ 胁迫下马蔺生长与光合特性的反应. 土壤学报，2008，45(2): 328-335. Bai W B, Li P F, Li B G. Response of *Iris lactea* var. chinensis to NaCl and $NaHCO_3$ stress in growth and photosynthesis(In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2008, 45(2): 328-335

[15] 樊怀福，郭世荣，焦彦生，等. 外源一氧化氮对 NaCl 胁迫下黄瓜幼苗生长、活性氧代谢和光合特性的影响. 生态学报, 2007, 27(2): 546-553. Fan H F, Guo S R, Jiao Y S, et al. The effects of exogenous nitric oxide on growth, active oxygen metabolism and photosynthetic characteristics in cucumber seedlings under NaCl stress(In Chinese). Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(2): 546-553

[16] Delledonne M, Xia Y, Dixon R A, et al. Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. Nature, 1998, 394: 585-588

[17] Leshem Y Y, Hamaraty E. Plant aging: the emission of NO and ethylene and effect of NO-releasing compounds on growth of pea (*Pisum sativum*) foliage. Plant Physio, 1996, 148: 258-263

[18] 刘冲，刘玲，刘兆普，等．色氨酸对海水处理下长春花生物碱含量的影响．天然产物研究与开发，2009，21(6): 998-1002. Liu C, Liu L, Liu Z P, et al. Effects of tryptophan on alkoloids contents of *Catharanthus roseus* seedlings under seawater stress(In Chinese). Nat Prod Res Dev, 2009, 21(6): 998-1002

[19] 袁会敏，周健民，段增强，等．盐胁迫下大气 CO_2 浓度升高对黄瓜幼苗生长、光合特性及矿质养分吸收的影响．土壤, 2008, 40(5): 797-801. Yuan H M, Zhou J M, Duan Z Q, et al. Effects of elevated CO_2 concentration on growth, photosynthetic characteristics and mineral elements of cucumber seedlings under salt stress(In Chinese). Soils, 2008, 40(5): 797-801

[20] 姚静，施卫明．盐胁迫对番茄形态和幼苗生长的影响．土壤, 2008, 40(2): 279-282. Yao J, Shi W M. Effect of salt stress on structure and growth of tomato seding roots(In Chinese). Soils, 2008, 40(2): 279-282

[21] 吴雪霞，朱月林，朱为民，等．外源一氧化氮对 NaCl 胁迫下番茄幼苗生长和光合作用的影响．西北植物学报，2006, 26(6): 1206-1211. Wu X X, Zhu Y L, Zhu W M, et al. Effects of exogenous nitric oxide on seedling growth of tomato under NaCl stress(In Chinese). Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2006, 26(6): 1206-1211

[22] 吴雪霞，陈建林，查丁石．低温胁迫对茄子幼苗叶片光合特性的影响．华北农学报, 2008, 23(5): 185-189. Wu X X, Chen J L, Zha D S. Effects of low temperature stresson photosynthetic characteristics in leaves of eggplant seedlings(In Chinese). Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2008, 23(5): 185-189

[23] 朱晓军，梁永超，杨劲松，等．钙对盐胁迫下水稻幼苗抗氧化酶活性和膜脂过氧化作用的影响．土壤学报，2005, 42(3): 453-458. Zhu X J, Liang Y C, Yang J S, et al. Effect of exogenous calcium on antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation of rice seedlings under salt stress(In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2005, 42(3): 453-458

[24] Moreno P R H, van Der Heijiden R, Verpoorte R, et al. Cell and tissures of Catharanthus Roseus: A literanture survey II updating from 1988 to 1993. Plant Cell, Tiss and Org Cult, 1995, 42: 1-25

[25] Xu M J, Dong J F, Zhu M Y. Effect of nitric oxide on catharanthine production and growth of Catharanthus Roseus suspension cells. Biotechnol Bioeng, 2005, 89(3): 367-371

[26] 柏新富，朱建军，蒋小满，等．盐胁迫下三角叶滨藜根系超滤特性的分析．土壤学报, 2009, 46(6): 1121-1126. Bai X F, Zhu J J, Jiang X M, et al. Ultrafiltration characteristics of roots of arrowleaf saltbush under salt stress(In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2009, 46(6): 1121-1126

Effects of SNP on photosynthesis and Alkaloid content of *Catharanthus roseus* seedlings under NaCl stress

Hu Fanbo　Long Xiaohua　Liu Ling　Liu Zhaopu†

(*Jiangsu Provincial Key Laboratory of Marine Biology, College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing* 210095, *China*)

Abstract　A sand culture experiment was conducted in greenhouse to study effects of exogenous nitric oxide donor(SNP) on growth, photosynthetic characteristics and alkaloids contents of *Catharanthus roseus* seedlings under 50mmolL^{-1} NaCl stress. Results show: (1) 0.1mmolL^{-1} SNP was the highest in effect of alleviating the stress caused by 50mmolL^{-1} NaCl, and significantly increased fresh weight, dry weight, Pn, Gs, Tr and POD activity by 18.8%, 13.9%, 20.7%, 19.1%, 8.5% and 32.6% respectively, but decreased Ci by 10.3% as against Treatment S_1 (50mmolL^{-1} NaCl). (2) In Treatment S_4, where the concentration of SNP increased to 0.5mmolL^{-1}, the TDC activity, total indole alkaloids, Vinblastine, Catharanthine, Vincristine and Vindolin contents of the *Catharanthus roseus* were the highest, compared with Treatment S_1, they increased 33.4%, 26.9%, 32.3%, 27.4%, 68.8% and 50.2% respectively. To sum up, 0.1mmolL^{-1}SNP is the best at increasing photosynthesis, promoting growth and raising biomass, however 0.5mmolL^{-1} SNP is the best at improving synthesis of total indole alkaloids and four main kinds of alkaloids.

Key words　Nitric oxide; NaCl stress; *Catharanthus roseus*; Photosynthsis; Alkaloid