

外源 NO 对铅胁迫下雌雄美洲黑杨 生理特征的影响*

朱珍珍^{1,2,3}, 张明锦^{1,2,3}, 张健^{1,2,3}, 陈良华^{1,2,3**}

(1. 四川农业大学生态林业研究所, 四川 成都 611130; 2. 长江上游生态安全协同创新中心, 四川 成都 611130;

3. 长江上游林业生态工程四川省重点实验室, 四川 成都 611130)

摘要:【目的】了解雌雄异株植物对 NO 的生理响应的差异, 以有助于解释不同性别植物对逆境胁迫的响应过程。【方法】以雌雄美洲黑杨 (*Populus deltoides*) 为研究对象, 采用盆栽控制试验, 设置 20.5 mg/kg (DW) 和 100 mg/kg (DW) 两个铅处理水平, 分析外源 NO 信号分子对铅胁迫下雌雄美洲黑杨的生理效应。【结果】(1) 铅胁迫下, 雌雄美洲黑杨叶片铅 (Pb) 含量、过氧化氢 (H₂O₂) 及丙二醛 (MDA) 含量均明显增加, 雌株增幅更大, 添加 SNP 后以上参数均不同程度地降低, 雄株降幅更大; (2) 铅胁迫下, 雌雄美洲黑杨的谷胱甘肽还原酶 (GR) 和过氧化物酶 (POD) 活性、脯氨酸 (Pro) 含量均不同程度增加, 雄株含量增加更显著; 添加 SNP 可提高雌雄美洲黑杨的 Pro 和可溶性蛋白含量 (SP), 雄株的增幅更显著; (3) SNP 能提高铅胁迫雄株的超氧化物歧化酶 (SOD) 和 GR 活性, 降低雌株 SOD、GR、POD 的活性; (4) 铅胁迫一定程度地抑制了雌雄美洲黑杨的净光合速率 (P_n)、气孔导度 (G_s) 和蒸腾速率 (T_r), 添加 SNP 不同程度地恢复了雄株的 P_n 和 G_s 。【结论】与雄株相比, 铅胁迫对雌株负面影响更大, NO 信号有利于增强美洲黑杨雄株的抗氧化酶和渗透调节能力, 恢复其气体交换速率, 但对雌株的保护效应不明显。

关键词: 一氧化氮; 美洲黑杨; 铅胁迫; 抗氧化酶; 渗透调节

中图分类号: S 718.43; S 792.119

文献标识码: A

文章编号: 1004-390X (2019) 03-0494-09

The Effects of an Exogenous Nitric Oxide on the Physiological Characteristics in Females and Males of *Populus deltoides* Exposed to Pb Stress

ZHU Zhenzhen^{1,2,3}, ZHANG Mingjin^{1,2,3}, ZHANG Jian^{1,2,3}, CHEN Lianghua^{1,2,3}

(1. Institute of Forest & Ecology, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 2. Collaborative

Innovation Center of Ecological Security in the Upper Reaches of Yangtze River, Chengdu 611130, China;

3. Forestry Ecological Engineering in the Upper Reaches of Yangtze River Key Laboratory of

Sichuan Province, Chengdu 611130, China)

Abstract: [Purpose] More knowledge about sex-specific responses in physiology to NO is helpful to understand different responsive processes of dioecious plants to stressful environment. [Method] The physiological effects of exogenous NO signalling molecule on males and females of *Populus deltoides* were analyzed by using pot culture experiment, in which two levels of Pb was set, i.e.,

收稿日期: 2018-04-20

修回日期: 2018-10-30

网络出版时间: 2019-03-16

*基金项目: 国家自然科学基金项目 (31300513); 长江上游生态安全协同创新中心开放基金项目。

作者简介: 朱珍珍 (1992—), 女, 甘肃永靖人, 在读硕士研究生, 主要从事林木生理生态学研究。

E-mail: 940660881@qq.com

**通信作者 Corresponding author: 陈良华 (1982—), 男, 四川泸州人, 博士, 副研究员, 主要从事林木生理生态学研究。E-mail: sicauchenlh@126.com

网络出版地址: [http://dx.doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).201804036](http://dx.doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).201804036)



20.5 mg/kg (DW) and 100 mg/kg (DW). [Result] (1) Under Pb stress, the contents of lead (Pb), hydrogen peroxide (H_2O_2) and malondialdehyde (MDA) in the leaves of males and females of *P. deltoides* increased significantly, and the females had a greater increase. However, the above parameters of both sexes decreased to different degrees when we added SNP, and the males decreased more greatly. (2) The activities of both glutathione reductase (GR) and peroxidase (POD), and proline (Pro) content in leaves of both sexes increased in varied degrees under Pb stress, and the addition of SNP could increase the Pro and soluble protein content in leaves of two sexes, the males showed a greater increase. (3) SNP could increase the activities of superoxide dismutase (SOD) and GR in males under Pb stress, but significantly reduced the activities of SOD and POD in females. (4) Pb pollution inhibited the net photosynthetic rate (P_n), stomatal conductance (G_s) and transpiration rate (T_r) of both sexes of *P. deltoides* to some extent, and P_n and G_s of males were restored to a certain extent when SNP was added. [Conclusion] There were greater negative effects exerted by Pb pollution on females when compared to males, while the NO was beneficial to males by promoting the activities of antioxidant enzymes and content of proline, and then restored the gas exchange rate of males, whereas there was no obvious protective effect on females exerted by NO.

Keywords: nitric oxide; *Populus deltoides*; lead stress; antioxidant enzymes; osmoregulation

铅是联合国粮食及农业组织 (FAO) 和世界卫生组织 (WHO) 公布的对人体产生毒性最强的 3 种金属元素之一^[1], 极易在土壤中蓄积, 通过食物链富集后威胁人类健康。大量研究表明: 植物在受到铅污染的土壤中成长时, 土壤中高浓度的 Pb^{2+} 能够通过改变植物幼苗的生理过程影响植株的生长发育, 株高和根长等形态生长会受到一定程度的抑制^[2-3], 各种生理代谢过程会受到负面影响, 细胞膜脂质过氧化程度加剧^[4-6], 叶绿素的生物合成^[6-7]和矿质营养的吸收受阻^[8-9], 植物细胞内稳态严重失衡。目前, 农作物及超富集植物在铅污染条件下的生理响应研究较多, 但是以木本植物, 尤其是雌雄异株木本植物为对象的研究相对较少。因此, 认识雌雄木本植物对于铅污染的生理响应差异, 有利于筛选耐受铅污染的性别, 能够为铅污染区域的造林实践提供一定的参考。

硝普钠 (SNP) 是一种常见的一氧化氮 (NO) 外源供体, NO 是植物体内一种多功能的信号分子, 也是广泛存在于植物体内的生物活性分子^[10]。许多研究表明: NO 在植物呼吸作用、气孔运动、植物抗逆反应等生理过程中发挥着重要作用。例如: LAZALT 等^[11]发现一定浓度范围内 NO 可诱导植物叶片气孔的关闭, 从而降低逆境胁迫下植物叶片蒸腾速率, 提高植物水分利用率, 以

此增强植物的逆境耐受性; POLIANDRI 等^[12]报道, NO 可直接作为抗氧化剂清除细胞活性氧, 并且可以作为一种信号分子通过级联反应提高抗氧化酶活性, 间接清除活性氧, 从而减轻活性氧对细胞的伤害。已有研究表明: 施加适宜浓度的 SNP 能模拟 NO 信号分子, 缓解 Pb^{2+} 胁迫对黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 造成的氧化损伤^[9], 缓解 Cd^{2+} 胁迫对玉米 (*Zea mays*) 幼苗生长的抑制作用^[13], 增强三叶鬼针草 (*Bidens pilosa*) 对重金属 Pb 污染土壤的耐受性^[14], 但目前关于 SNP 对木本植物生理效应的研究较为缺乏。

美洲黑杨 (*Populus deltoides*) 属于杨柳科杨属, 是典型的雌雄异株植物, 自 20 世纪 50 年代引入中国, 具有生长迅速、轮伐期短、经济价值高等优点。研究表明: 杨树对重金属环境有着良好的耐受和抗逆性, 在镉重污染区栽种杨树, 经 3~5 年后土壤镉含量下降 0.6~1.0 mg/kg^[15], 这使杨树成为植物修复重金属污染土壤的良好材料。课题组前期研究表明: 雌雄杨树对重金属的积累能力和敏感性存在差异^[16], 目前关于性别间生理差异的研究较为深入, 但性别间对信号分子的传递和响应的研究较为缺乏。因此, 本研究以雌雄美洲黑杨幼苗为研究对象, 考察铅胁迫下雌雄美洲黑杨幼苗在抗氧化酶活性、渗透调节物质积

累、膜质过氧化程度及光合速率等方面的差异,初步认识外源 NO 在重金属胁迫条件下对雌雄美洲黑杨的生理效应,丰富木本植物在逆境条件下对外源信号分子响应机制及其性别差异的理论研究资料。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验材料为美洲黑杨 I-69/55 和美洲黑杨 I-63/51 的杂交种 F_1 代,母树树龄约 30 年,根据开花结实特性辨别雌雄,一年生雌、雄株枝条采自江苏省镇江市京口区。2015 年 4 月,选取健壮、无病害、粗细一致的一年生雌雄美洲黑杨枝条,剪成长度相当的小节,扦插在苗床上。待扦插苗萌发生长至 6 月初,选取长势一致的雌雄美洲黑杨幼苗(高度约 50 cm)移栽入塑料花盆(口径 30 cm,深 25 cm),每盆 1 株,每盆装 12 kg 水稻土与粗砂的混合培养基质($V/V=3:1$),培养基质中的铅含量为 20.5 mg/kg (DW)。

1.2 试验设计

采用三因素(性别、铅污染、添加 SNP)二水平的完全随机设计,共组成 8 个处理组合,即每个性别包含:(1)对照,不进行任何处理;(2)仅添加 SNP 处理;(3)仅进行铅污染处理;(4)添加 SNP 和铅污染的交互处理。每个处理 9 次重复,即雌雄幼苗每个处理各选 9 株,共栽种 72 株。根据谭婷等^[17]对成都平原 12 个县市土壤铅污染情况的调查结果,发现成都平原各地区土壤铅含量均值在 24.48~94.58 mg/kg 之间,因此本试验中,铅污染设置 2 个水平:对照(CK)铅水平为 20.5 mg/kg (DW);铅污染水平设置为 100 mg/kg (DW),按照 GB 15618—1995《土壤环境质量标准》中 I 类土壤环境质量标准,该污染水平属 I 类土壤中度污染,具体配制如下:将 $Pb(NO_3)_2$ 与去离子水配成 5 mmol/L 的浓度施入土壤并充分混匀,平衡 1 个月用于盆栽试验。LIU 等^[18]研究表明:10 $\mu\text{mol/L}$ 的 SNP 是对植物有促进作用的最小浓度,因此,从 2015 年 7 月 1 日起,每周定期向土壤表面浇灌 250 mL 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 SNP,对照处理浇灌 250 mL 蒸馏水,处理于 2015 年 10 月 1 日结束。试验在仅遮蔽雨水的大棚中进行,且试验期间对所有供试植株进行统一

浇水、除草、防虫和防病等管理,控制浇水量以避免多余水分流出塑料盆。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 叶片生理生化指标及铅含量的测定

铅在杨树幼苗体内容易向地上部分运输和积累,叶片作为光合作用的主要器官,对铅的胁迫最为敏感^[19],故本研究选择测定叶的生理生化指标。2015 年 9 月,每个处理随机选择 3 株幼苗,采集距植株顶端完全展开的第 3 片叶片,每个叶片做 3 次重复,测定以下生理生化指标。利用 H_2O_2 和 $TiCl_4$ 反应生成过氧化物—钛复合物的原理测定叶片中 H_2O_2 的含量^[20],MDA 含量采用硫代巴比妥酸法测定^[21],游离脯氨酸含量采用酸性茚三酮法测定^[22],可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝法测定^[23],超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑(NBT)法测定^[24],过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定^[25],谷胱甘肽还原酶(GR)活性采用 NADPH 氧化法测定^[26]。

试验处理结束时,将整株幼苗叶片收获,烘干后研磨成粉过 100 目筛,干燥保存备用。准确称取 0.3 g 植物样品,加入 8 mL HNO_3-HClO_4 ($V/V=5:1$)混合酸后,使用微波消解仪(CEM, Matthews, NC)充分消化,再使用火焰原子吸收仪(AA7000, Shimadzu, Japan)测定消化液中的 Pb 含量^[20]。

1.3.2 气体交换参数测定

处理结束时,采用 LI-6400 便携式光合作用测定系统(LI-COR, Lincoln, USA)测定气体交换参数,测定对象为距植株顶端完全展开的第 3 片叶片。测定时间选择晴朗天气的 8:00—11:30 进行。为了保证测量在近似于理想的光合作用状态下进行,测定时将叶面温度控制为 25 $^{\circ}\text{C}$,光照强度控制为 1 200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,相对湿度控制为 60% 左右, CO_2 浓度控制为 350 $\mu\text{mol}/\text{mol}$ 。测定指标包括净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、胞间 CO_2 浓度(C_i)和蒸腾速率(T_r)。

1.4 数据分析

应用 SPSS 20.0 进行数据分析和处理。采用单因素方差分析(one-way ANOVA)计算平均值和标准误;不同处理间的差异显著性采用 Tukey 多重比较检验($\alpha=0.05$);采用多因素方差分析性别人、SNP、铅污染交互效应的显著性。

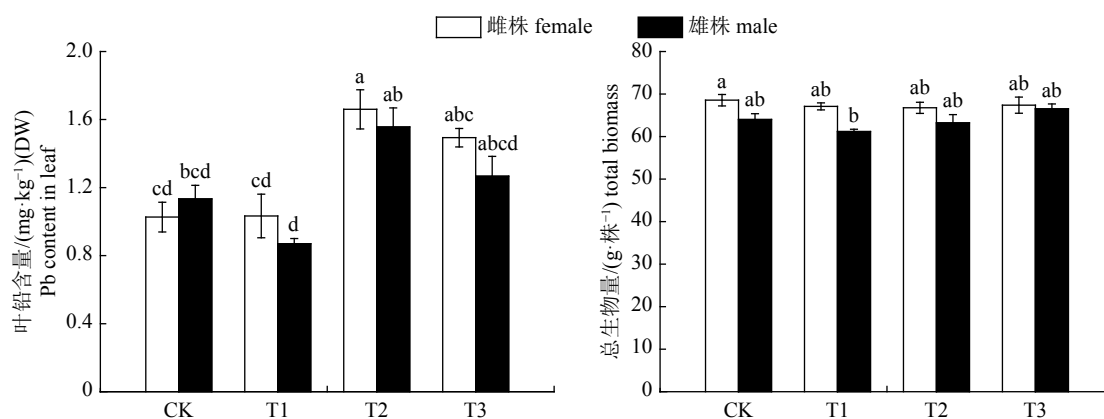
2 结果与分析

2.1 外源 NO 对 Pb 胁迫雌雄美洲黑杨叶片 Pb 含量和总生物量的影响

由图 1 可知: 无外源铅污染条件下, 外源 NO 使美洲黑杨雄株叶片 Pb 含量减少 23.01%, 但未达到显著水平 ($P>0.05$), 而其雌株叶片 Pb 含量无明显变化。Pb 污染条件下, 外源 NO 使美洲黑杨雌雄株叶片 Pb 含量均不同程度降低, 但均未达到显著水平 ($P>0.05$)。与对照相比, 单独 Pb 胁迫使美洲黑杨雄、雌株叶片 Pb 含量分别提高 38.05% 和 61.17%, 雌株上升幅度达到显著水平 ($P<0.05$); 外源 NO 和 Pb 交互处理使美洲黑杨雄、雌株叶片 Pb 含量分别提高 12.39% 和 44.66%, 但

均未达到显著水平 ($P>0.05$)。雌雄株 Pb 含量在各处理条件下略有差异, 但均未达到显著水平。可见, 美洲黑杨雌雄株叶片 Pb 含量在 Pb 胁迫下均明显提高, 雌株增幅更明显; 雌雄株叶片 Pb 含量在外源 NO 处理下均不同程度下降, 雄株降幅更明显; 雌雄株叶片 Pb 含量对铅胁迫和外源 NO 的敏感性不同, 但两者间始终未达到显著水平。

各处理间美洲黑杨雌雄幼苗的总生物量差异并不显著 ($P>0.05$), 雄株略低于雌株。与对照相比, 添加 SNP 后雌雄植株的总生物量均略微下降, Pb 胁迫未引起总生物量明显变化; 在交互条件下, 与 Pb 胁迫组相比, 添加 SNP 并未对雌雄株的总生物量积累有明显促进作用。



注: 根据 Tukey 检验, 不同小写字母表示处理间在 0.05 水平存在显著性差异; CK. 对照; T1. 仅添加 SNP 处理; T2. 仅进行 Pb 污染处理; T3. 添加 SNP 和 Pb 污染的交互处理; 下同。

Note: Different normal letters above the bars denote statistically significant differences between treatments at 0.05 level according to Tukey's test; CK. the control; T1. SNP+non-Pb polluted; T2. non-SNP+Pb polluted; T3. SNP+Pb polluted; the same as below.

图 1 添加 SNP 对 Pb 胁迫下雌雄美洲黑杨叶片 Pb 含量的影响

Fig. 1 The effects of SNP on Pb content in the leaves of females and males of *P. deltoides* exposed to Pb pollution

2.2 外源 NO 对 Pb 胁迫雌雄美洲黑杨叶片渗透调节物、H₂O₂ 和 MDA 的影响

2.2.1 渗透调节物含量

由图 2 可知: 与对照组相比, Pb 胁迫使雄株脯氨酸含量显著增加 137.81% ($P<0.05$), 雌株无显著变化; 交互处理与 Pb 胁迫相比, 雄株脯氨酸含量增加了 79.9%, 雌株仅增加了 23.4%。与对照组相比, Pb 胁迫使雌株可溶性蛋白含量下降, 但未达显著水平 ($P>0.05$); 与 Pb 胁迫组相比, 交互条件下雌雄美洲黑杨的可溶性蛋白含量均不同程度增加。

2.2.2 H₂O₂ 和 MDA 含量

由图 2 还可知: 与对照组相比, Pb 胁迫使雄、雌株的 H₂O₂ 含量分别增加了 29.96% 和 45.93%;

与 Pb 胁迫组相比, 交互处理雌雄株的 H₂O₂ 含量均有所下降, 但未达显著水平 ($P>0.05$)。与对照组相比, Pb 胁迫使雄、雌美洲黑杨 MDA 含量分别增加 18.38% 和 3.68%; 与 Pb 胁迫组相比, 交互条件下雌雄美洲黑杨 MDA 含量均不同程度地下降。

以上结果说明: 与对照相比, Pb 胁迫下雄性美洲黑杨叶片渗透调节物质积累量明显增加, 其中脯氨酸增加尤为明显, 已达到显著水平 ($P<0.05$), 而雌株渗透调节物质含量增幅较小; 在交互处理下, 雄株渗透调节物质积累更加积极, 其含量明显高于雌株, 同时, 雄株活性氧物质含量在逆境下均略低于雌株。

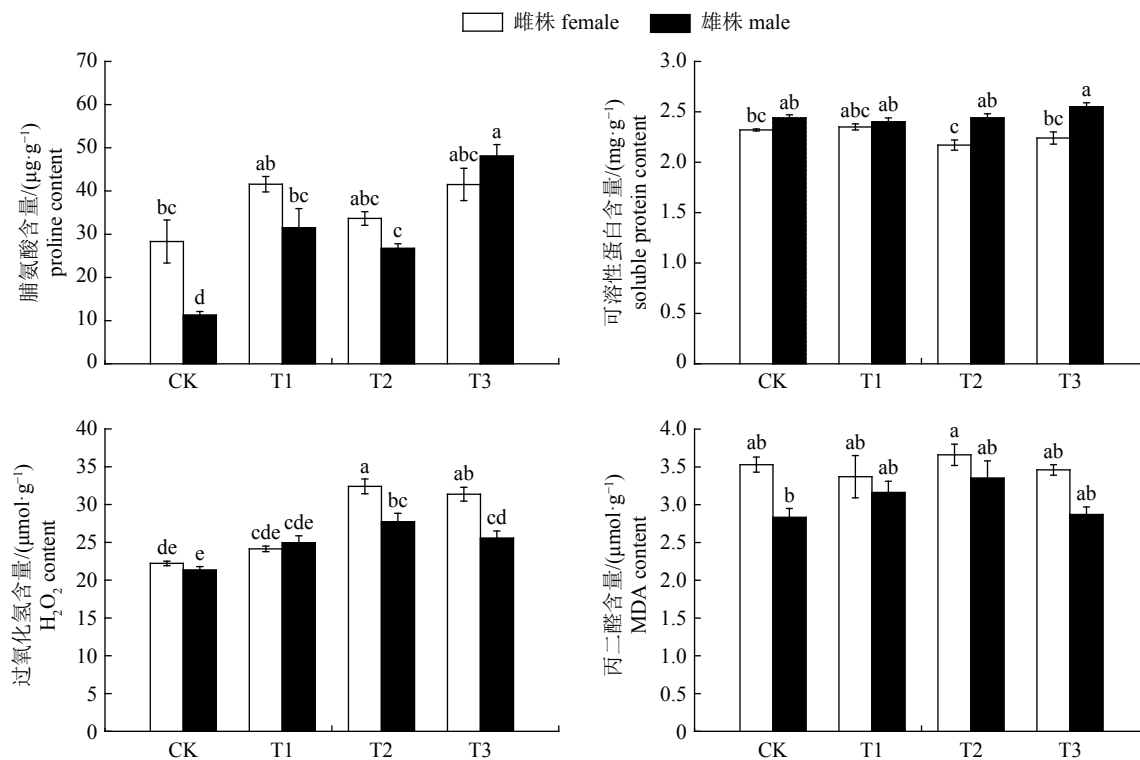


图 2 添加 SNP 对 Pb 胁迫下雌雄美洲黑杨渗透调节物、H₂O₂ 和 MDA 含量 (鲜重) 的影响

Fig. 2 The effects of SNP on the contents of osmotic solutes, H₂O₂ and MDA (fresh weight, FW) in females and males of *P. deltoides* exposed to Pb pollution

2.3 外源 NO 对 Pb 胁迫雌雄美洲黑杨叶片抗氧化酶活性的影响

由图 3 可知: 与对照组相比, 仅添加 SNP 的处理使雄株 SOD 和 POD 活性均显著增加, 增幅分别为 48.6% 和 33.3%, 而雌株仅 POD 活性显著增加, 其余酶活无显著变化; Pb 处理使雄株 SOD、GR 和 POD 活性显著增加, 增幅分别为 51.9%、171.8% 和 123.3%, 而雌株 SOD 活性无明显变化, GR、POD 活性分别增加 218.2% 和 120.0%; 与 Pb 胁迫组相比, 交互条件下雄株 SOD、GR 活性分别增加了 27.7% 和 18.1%, POD 活性显著下降 40.3%, 雌株 SOD、GR 和 POD 活性分别下降 29.4%、17.9% 和 27.3%。可见, 美洲黑杨雌雄幼苗抗氧化酶系统对重金属胁迫环境较为敏感, 雄株对逆境的响应也较为积极, 而外源 NO 对雄性美洲黑杨抗氧化酶系统具有明显的促进作用。

2.4 外源 NO 供体 SNP 对 Pb 胁迫下雌雄美洲黑杨叶气体交换参数的影响

由图 4 可知: 与对照组相比, 各处理条件下雄株 P_n 、 G_s 、 C_i 和 T_r 均高于雌株, 但未达显著水平 ($P>0.05$); 单独添加 SNP 或单独 Pb 处理均

使雌株 C_i 升高, 使雌雄美洲黑杨 P_n 、 G_s 和 T_r 下降, 但未达显著水平 ($P>0.05$), 雌株下降幅度更大; 与 Pb 胁迫组相比, 交互条件下雄株美洲黑杨 P_n 、 G_s 有不同程度的恢复, 而雌株的恢复不明显。

3 讨论

Pb 是植物非必需元素, 微量即会对植物产生毒害, 是毒性最强、最常见的重金属污染物之一^[27-28]。当植物暴露于 Pb 胁迫下时, 极低浓度的 Pb 胁迫就已使植物显现出中毒症状, 如酶活性的降低、矿质营养的减少、水分的失衡、激素水平的下降、细胞膜透性的改变等, 高浓度 Pb 胁迫还可能直接导致植物细胞的死亡^[29-30]。在本研究中, Pb 胁迫导致雌雄美洲黑杨叶片 Pb 和 H₂O₂ 含量明显增加, 但总生物量无明显变化, 课题组前期研究也发现中低浓度的重金属污染会使其生理特征产生明显的变化, 但不会显著影响杨树的形态生长^[16, 26-27], 这表明美洲黑杨雌雄幼苗对重金属 Pb 有着较强的耐受性, 在植物修复重金属污染土壤应用方面具有较为理想的前景。此外,

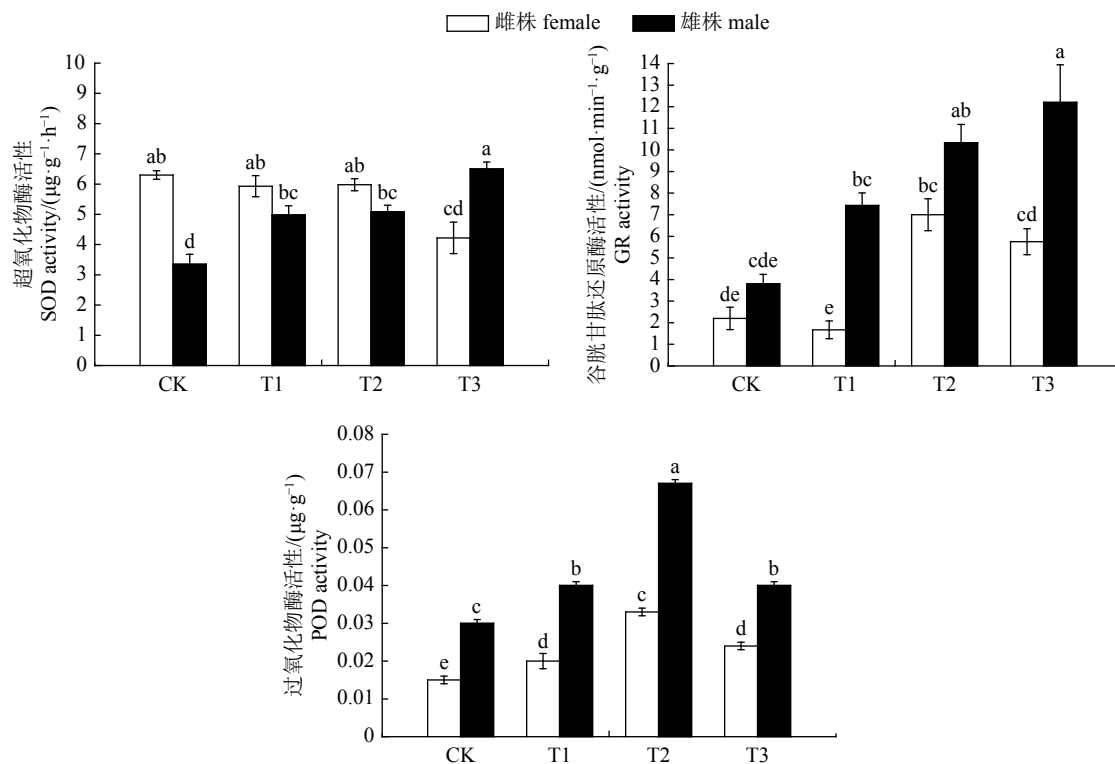


图3 外源 NO 供体 SNP 对 Pb 胁迫下雌雄美洲黑杨抗氧化酶的影响

Fig. 3 Effects of exogenous NO on the activities of antioxidative enzymes in leaves of females and males of *P. deltoides* exposed to Pb pollution

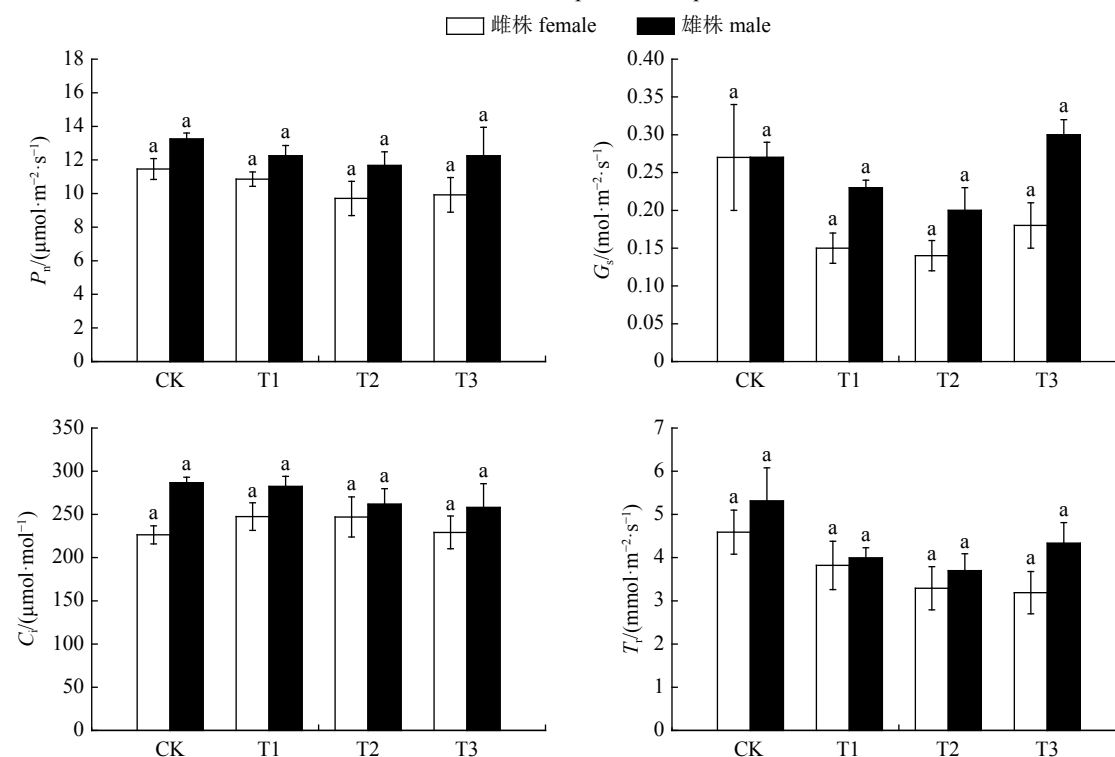


图4 外源 NO 供体 SNP 对 Pb 胁迫下雌雄美洲黑杨净光合速率 (P_n)、气孔导度 (G_s)、胞间 CO_2 浓度 (C_i) 和蒸腾速率 (T_r) 的影响

Fig. 4 Effects of exogenous NO on the net photosynthetic rate (P_n), stomatal conductance (G_s), intercellular CO_2 concentration (C_i) and transpiration rate (T_r) in females and males of *P. deltoides* exposed to Pb pollution

适宜浓度的 NO 在植物遭受重金属胁迫时可起到重要的保护作用,但其介导的代谢活动和调节离子平衡的具体机制仍不清楚^[31-32]。本研究发现:与 Pb 胁迫相比,添加外源 NO 供体 SNP 能一定程度地降低美洲黑杨雌雄幼苗叶片中 Pb 含量,雄株含量下降幅度更大,同时 NO 也增加了美洲黑杨雌雄幼苗叶片渗透调节物质含量,明显提高了雄株抗氧化酶活性,表明 NO 可能通过减少有毒重金属离子在美洲黑杨敏感器官中(叶片)的积累和转移,以减轻有毒 Pb²⁺对植物的毒害,从而起到一定程度的保护作用,这种保护作用对雄性美洲黑杨更明显。

在正常情况下,细胞代谢过程中产生的活性氧分子处于动态平衡状态,重金属胁迫常常会导致植物活性氧(ROS)的过量积累和膜脂过氧化(常用 MDA 来衡量),从而对植物的生长发育造成严重的毒害作用^[33]。为降低 ROS 过量积累造成的伤害,植物在体内形成了一系列高效的抗氧化系统,主要包括 SOD、POD、GR 等抗氧化酶类,以及抗坏血酸、谷胱甘肽等小分子物质^[34-36]。本研究发现:SNP 显著降低了 Pb 胁迫下雌雄美洲黑杨叶片 H₂O₂ 的积累,并一定程度地降低了膜脂过氧化产物 MDA 的含量,尤其是雄株。但是,受 Pb 胁迫的雌雄美洲黑杨的抗氧化酶体系对外源 NO 信号的响应存在一定差异,雄株 SOD、GR 等活性增加,雌株则反之,但雌株活性氧积累及膜脂过氧化程度仍有所缓减,一方面表明 NO 可以激活抗氧化酶系统来缓解氧化损伤^[35, 37-38];另一方面也说明 NO 可能作为抗氧化剂直接与 ROS 反应清除植物体内活性氧^[14, 39]。

脯氨酸(Pro)和可溶性蛋白(SP)均为植物体内重要的渗透调节物质,可以增强植物的抗逆性^[40]。Pro 可以与由渗透胁迫所产生的过量氧自由基发生反应,生成对植物没有危害的物质,能有效地维持细胞的正常结构、调节渗透压^[41];SP 具有较强的亲水性,可以提高细胞保水力,防止细胞脱水^[42]。本研究中,Pb 胁迫下雌株 SP 含量明显下降,雄株 Pro 含量显著增加;添加 SNP 后,雄株 SP 和 Pro 大量积累,雌株无明显变化,表明 Pb 胁迫下雄株具有更强的渗透调节能力和重金属抗逆性,而添加外源 NO 能够进一步提高雄株叶片渗透调节物质的积累,有利于维持雄株在逆境胁迫下的水分平衡,但雌株渗透调节系统对

外源 NO 信号无明显响应。

光合作用是植物能量和物质的最终来源,重金属胁迫能够抑制植物的光合作用,进而阻碍植物的正常生长发育。本研究中,重金属 Pb 胁迫对雌雄美洲黑杨的光合作用只有轻微的抑制作用,表明雌雄美洲黑杨对重金属 Pb 胁迫有着良好的抗逆性,对重金属污染土壤具有一定的修复潜力。另一方面,添加 SNP 在一定程度上缓解了 Pb²⁺对雄性美洲黑杨光合作用的抑制,但对受 Pb 胁迫的雌株缓减现象不明显,说明雌株对 NO 信号的响应更为积极,其抗性更佳。此外,添加 SNP 降低了雌雄植株的气孔导度,并增加了 H₂O₂ 含量,可能是因为 10 μmol/L 的 SNP 诱发了植物体内超氧自由基(O₂⁻)和过氧化氢(H₂O₂)的产生^[43],进而引起气孔的关闭。SNP 处理引起气孔导度和蒸腾速率的降低有利于减少有毒重金属离子向地上部分(尤其是叶片)的运输和积累,这可能是 NO 间接影响植物的光合作用、缓减重金属离子毒害效应的生理机制。

4 结论

(1) Pb 污染虽然引起了雌雄美洲黑杨叶片中 Pb 含量的增加,但从叶片受损程度(如 MDA)、抗氧化酶活性、渗透调节物质积累及光合作用指标等方面来看,雌雄美洲黑杨并没有受到显著影响,雌雄美洲黑杨对重金属 Pb 胁迫有着良好的抗逆性和适应性,在重金属修复方面具有一定的潜力,雄株对重金属的耐性及抗性更为良好。

(2) 添加 10 μmol/L 的 SNP 能够在一定程度上减少重金属 Pb 在雌雄美洲黑杨叶片中的积累,减少 Pb 胁迫引起的氧化损伤,一定程度地恢复雌雄美洲黑杨的光合作用,对受 Pb 胁迫的雌株保护作用更明显。

(3) 总体来讲,与雌株相比,雄株对外源 NO 的生理响应更为积极,性别间信号的转导和分子层面的响应差异需要深入研究。

[参考文献]

- [1] 宋波,田美玲,陈同斌,等.基于文献数据的广西典型土壤铅含量特征及其风险研究[J].土壤学报,2017,54(1): 92. DOI: 10.11766/trxb201604200011.
- [2] 朱诗苗,宋杭霖,张丽,等.铅胁迫对烟草生长及生理生化指标的影响[J].植物生理学报,2018,54(3): 465. DOI: 10.13592/j.cnki.pj.2017.0358.

- [3] 刘丹,陈鑫,李然红,等.铅胁迫对狗枣猕猴桃幼苗生长发育的影响[J].农业灾害研究,2018,8(1):33. DOI: 10.19383/j.cnki.nyzyhj.2018.01.012.
- [4] 刘爱荣,张远兵,张雪平,等.铅污染对高羊茅生长、无机离子分布和铅积累量的影响[J].核农学报,2009,23(1):128.
- [5] 韩航,陈顺钰,薛凌云,等.铅胁迫对金丝草生长及生理生化影响[J].草业学报,2018,27(4):131. DOI: 10.11686/cyxb2017357.
- [6] 陈银萍,柯昀琪,杨志娟,等.铅胁迫下三叶鬼针草内源一氧化氮的生成及其对氧化损伤的缓解效应[J].植物科学学报,2018,36(2):264. DOI: 10.11913/PSJ.2095-0837.2018.20264.
- [7] 安霞,金关荣,骆霞虹,等.铅胁迫对不同红麻品种生长及生物量的影响[J].浙江农业科学,2018,59(3):390. DOI: 10.16178/j.issn.0528-9017.20180309.
- [8] 张志坚,高健,蔡春菊,等.铅胁迫下菲白竹的矿质营养吸收和分配[J].林业科学,2011,47(1):153. DOI: 10.11707/j.1001-7488.20110123.
- [9] 肖小君,黄作喜,陈文年,等.外源NO对铅胁迫下水果黄瓜种子萌发和幼苗生理特性的影响[J].华北农学报,2015,30(3):123. DOI: 10.7668/hbnxb.2015.03.022.
- [10] ESRINGU A, AKSAKAL O, TABAYA D, et al. Effects of sodium nitroprusside (SNP) pretreatment on UV-B stress tolerance in lettuce (*Lactuca sativa* L.) seedlings[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(1): 589. DOI: 10.1007/s11356-015-5301-1.
- [11] LAZALT A M, BELIGNI M V, LAMATTINA L. Nitric oxide preserves the level of chlorophyll in potato leaves infected by *Phytophthora* in festans[J]. European Journal of Plant Pathology, 1997, 103: 643. DOI: 10.1023/A:1008604410875.
- [12] POLIANDRI A H, VELARDEZ M O, CABILLA J P, et al. Nitric oxide protects anterior pituitary cells from cadmium-induced apoptosis[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2004, 37(9): 1463. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.07.017.
- [13] 王芳,常盼盼,陈永平,等.外源NO对镉胁迫下玉米幼苗生长和生理特性的影响[J].草业学报,2013,22(2):178.
- [14] 杨志娟,陈银萍,苏向楠,等.外源NO对铅胁迫下三叶鬼针草幼苗活性氧代谢的影响[J].广西植物,2015,35(5):648. DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201411026.
- [15] 蔺晓晖,段爱国,何彩云,等.镉胁迫对107杨幼苗光合作作用和干物质分配的影响[J].林业科学研究,2012,5(5):651. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1498.2012.05.018.
- [16] 陈良华,赖娟,胡相伟,等.接种丛枝菌根真菌对受镉胁迫美洲黑杨雌、雄株光合生理的影响[J].植物生态学报,2017,41(4):480. DOI: 10.17521/cjpe.2016.0210.
- [17] 谭婷,王昌全,李冰,等.成都平原土壤铅污染及其评价[J].长江流域资源与环境,2005(1):71. DOI: 10.3969/j.issn.1004-8227.2005.01.014.
- [18] LIU S L, YANG R J, PAN Y Z, et al. Nitric oxide contributes to minerals absorption, proton pumps and hormone equilibrium under cadmium excess in *Trifolium repens* L. plants[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2015, 119: 35. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2015.04.053.
- [19] 谭灵杰,胡相伟,王小军,等.丛枝菌根真菌预处理对铅胁迫下美洲黑杨雌雄株生理生化特征的影响[J].西北植物学报,2017,37(8):1559. DOI: 10.7606/j.issn.1000-4025.2017.08.1559.
- [20] CHEN L H, HU X W, YANG W Q, et al. The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on sex-specific responses to Pb pollution in *Populus cathayana*[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2015, 113: 460. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2014.12.033.
- [21] HODGES D, FORNEY C, PRANGE R J. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds[J]. Planta, 1999, 207(4): 604. DOI: 10.1017/S0031182002002585..
- [22] 喻梅,周守标,吴晓艳,等.野生鸭儿芹种子休眠特性及破除方法[J].生态学报,2012,32(4):1347. DOI: 10.5846/stxb201012221827.
- [23] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000.
- [24] BRENNAN T, FRENKEL C. Involvement of hydrogen peroxide in the regulation of senescence in pear[J]. Plant Physiology, 1977, 59: 411. DOI: 10.1104/pp.59.3.411.
- [25] MAEHLI A C, CHANCE B. Catalases and peroxidases, part II[J]. Methods of Biochemical Analysis, 1954, 1(3): 357.
- [26] SCHAEDEL M. Chloroplast glutathione reductase[J]. Plant Physiology, 1977, 59(5): 1011. DOI: 10.1104/pp.59.5.1011.
- [27] 胡相伟,张明锦,徐睿,等.铅污染对青杨雌雄幼苗铅富集和营养特征的影响[J].西北植物学报,2015,35(4):809. DOI: 10.7606/j.issn.1000-4025.2015.04.0809..
- [28] POURRUT B, SHAHID M, DUMAT C, et al. Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants[M] // WHIT-ACRE D M. Reviews of environmental contamination and toxicology, volume 213. New York: Springer, 2011.
- [29] ERNST W. Effects of heavy metals in plants at the cellular and organismic levels[M] // SCHÜÜRMAN G, MARKERT B. Ecotoxicology: ecological fundamentals, chemical exposure and biological effects. Heidelberg: Wiley, 1998.
- [30] SEREGIN I V, IVANIOV V B. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2001, 48(4): 523. DOI: 10.1023/A:1016719901147.
- [31] 巴青松,张根生,马畅,等.NO对镉胁迫下小麦根系生长发育的生理影响[J].植物科学学报,2017,35(3):398. DOI: 10.11913/PSJ.2095-0837.2017.30398.
- [32] LIU S L, YANG R J, PAN Y Z, et al. Beneficial behavior of nitric oxide in copper-treated medicinal plants[J]. Journal of Hazardous Materials, 2016, 314: 140. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2016.04.042.
- [33] VERMA S, DUBEY R S. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants[J]. Plant Science, 2003, 164(4): 645. DOI: 10.1016/S0168-9452(03)00022-0.

- [34] ZAFARI S, SHARIFI M, MUR L A J, et al. Favoursing NO over H₂O₂ production will increase Pb tolerance in *Prosopis farcta* via altered primary metabolism[J]. *Eco-toxicology and Environmental Safety*, 2017, 142: 293. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2017.04.036](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.04.036).
- [35] SUN B T, JING Y, CHEN K M, et al. Protective effect of nitric oxide on iron deficiency-induced oxidative stress in maize (*Zea mays*)[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164(5): 536. DOI: [10.1016/j.jplph.2006.02.011](https://doi.org/10.1016/j.jplph.2006.02.011).
- [36] MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance[J]. *Trends in Plant Science*, 2002, 7(9): 405. DOI: [10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9).
- [37] BELIGNI M V, LAMATTINA L. Nitric oxide interferes with plant photo-oxidative stress by detoxifying reactive oxygen species[J]. *Plant Cell and Environment*, 2002, 25(6): 737. DOI: [10.1046/j.1365-3040.2002.00857.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00857.x).
- [38] ZHANG H, SHEN W B, XU L L. Effects of nitric oxide on the germination of wheat seeds and its reactive oxygen species metabolisms under osmotic stress[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2003, 45(8): 901. DOI: [10.3321/j.issn:1672-9072.2003.08.003](https://doi.org/10.3321/j.issn:1672-9072.2003.08.003).
- [39] BOVRIS A D, GALATRO A, PUNTARULO S. Effect of nitric oxide and plant antioxidants on microsomal content of lipid radicals[J]. *Biological Research*, 2000, 33(2): 159. DOI: [10.4067/S0716-97602000000200016](https://doi.org/10.4067/S0716-97602000000200016).
- [40] RAHDARI P, TAVAKOLI S, HOSSEINI S M. Studying of salinity stress effect on germination, proline, sugar, protein, lipid and chlorophyll content in purslane (*Portulaca oleracea* L.) leaves[J]. *Journal of Stress Physiology Biochemistry*, 2012, 8(1): 182.
- [41] 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[J]. *生态学报*, 2007, 27(2): 546. DOI: [10.3321/j.issn:1000-0933.2007.02.016](https://doi.org/10.3321/j.issn:1000-0933.2007.02.016).
- [42] 简令成. 植物抗寒机理研究的新进展[J]. *植物学通报*, 1992(3): 17.
- [43] BELIGNI M V, LAMATTINA L. Nitric oxide counteracts cytotoxic processes mediated by reactive oxygen species in plant tissues[J]. *Planta*, 1999, 208(3): 337. DOI: [10.1007/s004250050567](https://doi.org/10.1007/s004250050567).

责任编辑: 何馨成