

外源 NO 对渗透胁迫下茶树种子萌发的影响

蒋家月, 何俊忠, 江昌俊, 李叶云, 胡国策, 符 姿

(茶树生物学与资源利用国家重点实验室, 安徽农业大学茶与食品科技学院, 合肥 230036)

摘 要: 为探讨 NO 对渗透胁迫下茶树(*Camellia sinensis* (L.) O.Kuntze)种子萌发的影响, 用 20%PEG6000 模拟干旱处理, 分别添加 0、20、50、100、200 和 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硝普钠 (SNP, NO 外源供体)。结果表明, 外源 NO 能显著促进渗透胁迫下茶树种子的萌发, 且呈现一定的浓度效应, 在 NO 供体 SNP 浓度为 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时效果最佳。随着外源 SNP 浓度的增加, 茶树种子的萌发及生长受到了抑制, 种子的发芽率、发芽指数、根长和活力指数均呈降低的趋势。进一步研究表明 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SNP 能促进 SOD、POD、CAT、APX、GR 和 GPX 等抗氧化酶活性的提高, 降低 MDA 含量及相对电导率。推测添加外源 NO 后, 抗氧化酶活性提高, 降低了茶树种子的氧化损伤, 从而缓解了渗透胁迫对茶树种子萌发的抑制作用。

关键词: 一氧化氮; 茶树; 渗透胁迫; 种子萌发; 硝普钠

中图分类号: S571.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2017)02-0185-05

Effects of exogenous nitric oxide on seed germination of *Camellia sinensis* (L.) O.Kuntze under osmotic stress

JIANG Jiayue, HE Junzhong, JIANG Changjun, LI Yeyun, HU Guoce, FU Zi

(State Key Laboratory of Tea Plant Biology and Utilization, School of Tea & Food Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

Abstract: In order to investigate the effects of exogenous nitric oxide (NO) on seed germination of (*Camellia sinensis* (L.) O.Kuntze) under osmotic stress, the seeds of tea plants were treated with 20% PEG6000 and SNP at 0, 20, 50, 100, 200 and 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, separately. The results showed that exogenous nitric oxide could significantly promote the germination of tea seeds under osmotic stress, and the optimal concentration was 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. With increasing SNP concentration, the seed germination and seedling growth were suppressed; meanwhile, the seed germination rate, germination index, root length and vigor index were decreased. A further study suggested that 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP could promote enzyme activities of SOD, POD, CAT, APX, GR and GPX, and it also reduced the MDA concentration and relative electrical conductivity under osmotic stress. The results suggested that NO could alleviate oxidative damages of tea seeds by increasing the activities of antioxidant enzymes; therefore, NO may play an important role in alleviation of osmotic stress in tea seeds.

Key words: nitric oxide; tea(*Camellia sinensis* (L.) O.Kuntze); osmotic stress; germination; sodium nitroprussiate

干旱及半干旱地区约占世界土地总面积的 1/3, 极大地限制了全球农业的发展^[1]。我国人均水资源仅为世界平均水平的 1/4, 水资源短缺是我国农业现阶段面临的巨大问题, 由干旱所引起的减产远超过于其他自然气候因素所造成的损失^[2-3]。茶树(*Camellia sinensis* (L.) O.Kuntze)的种子属于顽拗型种子, 在其

贮藏过程中具有不耐脱水的特性^[4], 且水分也是影响茶树种子萌发的重要因素^[5]。近年来茶园面积不断增加, 种植区域也不断在向北方发展。在种子繁殖中, 茶籽播种至幼苗出土期间, 经常面临着降雨量少及土壤含水量低等干旱情况, 导致种子萌发率低, 幼苗长势弱。

收稿日期: 2016-03-21

基金项目: “十二五”科技支撑计划子课题(2011BAD01B01)资助。

作者简介: 蒋家月, 博士, 副教授。E-mail: jiangjy@ahau.edu.cn

NO 是一种高度扩散性的小分子物质, 具有调节气孔关闭、促进侧根生长、缓解生物胁迫和促进种子萌发等生物学功能^[6-8]。近年来研究表明, NO 对植物在渗透胁迫、重金属胁迫、温度胁迫及光胁迫等非生物胁迫下均有显著的缓解氧化性损伤的作用^[9-14]。

本试验以茶树种子为材料, 用 20%PEG 处理模拟干旱条件, 探讨渗透胁迫下外源 NO 对茶树种子萌发的影响, 对解决我国茶园建设中所面临的干旱问题具有一定的意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试种子为采自安徽农业大学农业园的龙井 43 (*Camellia sinensis* cv. Longjing 43)。选取大小均一、健康饱满的种子去壳后用 1%NaClO 消毒 10 min, 然后用纯水清洗 6 遍, 再以纯水浸泡 24 h。播种在垫有双层滤纸, 直径为 15 cm 的培养皿中, 每个培养皿中放入 30 粒种子, 3 次重复。为探究不同浓度硝普钠(SNP, 为 NO 的外源供体)对渗透胁迫下茶树种子萌发的影响, 分别进行如下处理: 1) CK: 纯水; 2) PEG: 20%PEG6000(渗透压为 -0.5 MPa); 3) PEG+20S: 20%PEG6000 含 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP; 4) PEG+50S: 20%PEG6000 含 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP; 5) PEG+100S: 20%PEG6000 含 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP; 6) PEG+200S: 20%PEG6000 含 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP; 7) PEG+300S: 20%PEG6000 含 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP。将培养皿置于恒温光照培养箱中, 持续处理 6 d 后进行为期 10 d 的恢复生长。

以 NaNO_2 (亚硝酸钠, 为 SNP 分解副产物, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP 约能产生 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaNO_2)、cPTIO (为 NO 的特异清除剂)、 $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ (亚铁氰化钾, 为 SNP 的类似物处理), 以证明添加 SNP 对渗透胁迫下茶树种子的作用是其分解产生 NO 所引起的。处理见表 1。

表 1 试验设计
Table 1 Experiment design

编号 Number	处理 Treatment
CK	纯水 Pure water
T1	20%PEG
T2	20%PEG+100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP
T3	20%PEG+1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaNO_2
T4	20%PEG+100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$
T5	20%PEG+100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP+200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ cPTIO

每个处理重复 3 次, 处理期间每天更换处理液。培养结束后材料立即用液氮冷冻并储存于 -80℃ 冰箱。

1.2 测定项目与方法

发芽率 (Gr) = 已发芽的种子数/种子总数; 发芽指数 (Gi) = $\sum (Gt/Dt)$ 式中, Gt 为第 t 日的发芽种子个数, Dt 为相应的发芽日数。活力指数 (Vi) = 发芽指数 \times 平均根长。

丙二醛 (MDA) 含量测定采用硫代巴比妥酸 (TBA) 比色法^[15]; 脯氨酸 (Pro) 含量测定采用茚三酮显色法^[16]; 相对电导率用 STAETER 3100C 电导率仪进行测定。可溶性糖采用蒽酮浓硫酸比色法。超氧化物歧化酶 (SOD) (EC 1.15.1.1) 采用 NBT 显色法, 于 560 nm 波长测定吸光值^[17]。过氧化物酶 (POD) (EC 1.11.1.7) 测定采用愈创木酚法, 于 470 nm 波长下测定 3 min 内吸光值变化^[17]; 过氧化氢酶 (CAT) (EC 1.11.1.6) 测定采用过氧化氢 (H_2O_2) 紫外比色法^[18], 测定 240 nm 波长下 3.5 min 内吸光值变化; 抗坏血酸过氧化物酶 (APX) (EC 1.6.4.2) 测定参照 Nakano 和 Asuda 的方法, 测定 290 nm 波长下 1 min 内的吸光值变化^[19]; 谷胱甘肽还原酶 (GR) (EC 1.6.4.2) 按照 Foyer 和 Halliwell 的方法, 340 nm 波长下测定 3.5 min 内吸光值变化^[20]; 谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) (EC 1.11.1.9) 按照黄爱纛和吴珍龄的方法, 用 DTNB 显色法于 422 nm 波长测定吸光值^[21]; 可溶性蛋白采用考马斯亮蓝法。

1.3 统计分析

实验数据用 SPSS 软件进行方差分析, 并且采用 Duncan's 新复极差法进行多重比较差异分析。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 SNP 处理对茶树种子萌发的影响

由表 2 可知, PEG 处理下, 种子的发芽率、发芽指数和活力指数及根长最低, 分别为 81.11%、4.35、2.88 和 0.75 cm, 均显著低于纯水对照 CK, 说明种子萌发受到了抑制。随着 SNP 浓度的增加, 种子的发芽率、发芽指数和活力指数及根长均呈现先增后降的趋势, 并且在浓度 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时达到最大值, 分别比 PEG 处理增高 16.8%、86.7%、228.8% 和 45.3%。其中发芽率的增加最为明显, 接近对照组。

2.2 不同浓度 SNP 处理对茶树种子生理指标影响

2.2.1 丙二醛含量 MDA 是膜脂过氧化产物, 是反映植物遭受胁迫的重要指标。表 3 中, 在 PEG 胁迫下茶苗 MDA 含量比 CK 增长了 86.7%, 差异显

著。加入 20~300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP, MDA 分别降低了 20.53%、36.31%、55.9%、45.78%和 25.98%。其中 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP 处理茶苗的 MDA 下降最为显著。

2.2.2 脯氨酸含量 脯氨酸是植物中重要的渗透调

节物质, 干旱胁迫下添加 SNP 能显著降低脯氨酸含量, 当 SNP 浓度为 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 脯氨酸含量为 31.83 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 比对照组 (PEG 处理) 降低 31.80%, 差异显著 (表 3)。

表 2 不同浓度 SNP 对渗透胁迫下茶树种子萌发的影响

Table 2 Effects of different concentrations of SNP on the germination of tea seeds under osmotic stress

处理 Treatment	发芽率/% Germination rate	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index	根长/cm Root length
CK	94.94±2.28 ^a	12.22±0.28 ^a	20.65±3.24 ^a	2.06±0.21 ^a
PEG	81.11±9.62 ^b	4.35±1.04 ^d	2.88±0.52 ^d	0.75±0.01 ^d
PEG+20S	86.38±5.12 ^{ab}	4.98±0.82 ^{cd}	3.83±0.50 ^{cd}	0.79±0.05 ^{cd}
PEG+50S	88.89±5.09 ^{ab}	6.55±0.32 ^{bc}	6.43±0.92 ^{bc}	0.97±0.04 ^{bc}
PEG+100S	94.77±2.35 ^a	8.12±0.09 ^b	9.47±0.54 ^b	1.09±0.10 ^b
PEG+200S	89.84±3.10 ^{ab}	6.12±1.27 ^c	4.81±1.02 ^{cd}	0.75±0.02 ^{cd}
PEG+300S	85.00±2.36 ^b	5.46±0.41 ^{cd}	4.80±0.21 ^{cd}	0.77±0.06 ^{cd}

注: 不同字母表示差异显著, $P<0.05$ 。下同。

Note: Different letters mean significant difference ($P<0.05$). The same below.

表 3 渗透胁迫下不同 SNP 浓度对茶树种子丙二醛、脯氨酸及相对电导率的影响

Table 3 Effects of different concentration with SNP on the MDA, proline and relative conductive of tea seeds under osmotic stress

处理 Treatment	MDA 含量 / $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ MDA content	脯氨酸含量 / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Proline content	相对电导率/% Relative conductivity
CK	13.06±0.54 ^{cd}	24.86±3.16 ^c	22.11±2.90 ^b
PEG	24.40±3.55 ^a	46.67±3.74 ^a	30.63±2.99 ^a
PEG+20S	19.39±4.39 ^b	50.05±1.54 ^a	25.52±2.54 ^{ab}
PEG+50S	15.54±0.87 ^{bc}	39.86±8.59 ^{ab}	24.91±0.87 ^{ab}
PEG+100S	10.76±0.59 ^d	31.83±3.75 ^{bc}	21.68±2.72 ^b
PEG+200S	13.23±1.41 ^{cd}	37.85±5.66 ^{abc}	25.67±1.13 ^{ab}
PEG+300S	18.06±1.48 ^b	39.08±8.88 ^{ab}	29.96±5.46 ^a

2.2.3 相对电导率 相对电导率是衡量细胞膜透性的重要指标之一。由表 3 可知, 在 PEG 胁迫下添加不同浓度 SNP, 相对电导率随着 SNP 浓度增高呈现先降低后升高的趋势, 且当浓度为 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 降幅最大, 比 PEG 组降低 27.67%。

2.3 不同处理下茶树种子发芽率、丙二醛及相对电导率的变化

2.3.1 不同处理下发芽率的变化 由表 4 可见, PEG 处理下, 茶树种子发芽率为 81.67%, 比 CK 降低了 13.5%, 添加 SNP 后发芽率显著增至与 CK 同一水平, 比 PEG 处理增高 14.28%, 而 NaNO_2 、 $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 以及 cPTIO 处理则比添加 SNP 分别降低 7.3%、5.4%和 6.1%。

2.3.2 不同处理下 MDA 含量的变化 由表 4 可知,

在 PEG 处理下 MDA 含量显著升高, 幼苗的膜脂过氧化程度显著高于对照组, 而添加 SNP 组比 PEG 降低了 27.87%, 与对照组在同一水平上。添加 NaNO_2 、 $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 以及清除剂 cPTIO 组则与 PEG 胁迫处理没有显著差异。

表 4 不同处理下茶树种子发芽率、MDA 及相对电导率
Table 4 Effects on tea seeds germination, MDA and relative conductive with different treatments

处理 Treatment	发芽率/% Germination rate	MDA 含量 / $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ MDA content	相对电导率/% Relative conductive
CK	94.41±1.86 ^a	14.15±1.44 ^b	16.47±0.85 ^b
T1	81.67±2.36 ^d	19.13±1.26 ^a	24.50±0.62 ^a
T2	93.33±5.77 ^{ab}	13.80±1.71 ^b	18.37±1.85 ^b
T3	86.51±0.27 ^{cd}	17.31±1.82 ^a	25.98±0.27 ^a
T4	88.33±2.36 ^{abc}	17.67±0.99 ^a	26.39±1.86 ^a
T5	87.66±1.73 ^{bcd}	19.85±1.94 ^a	24.22±2.36 ^a

2.3.3 不同处理下相对电导率的变化 在渗透胁迫下相对电导率比对照组高 48.8%, 在添加 SNP 后相对电导率为 18.37%, 与对照组在同一水平, 表明组织受损伤程度小于胁迫组; 添加清除剂 cPTIO, 相对电导率与 PEG 处理在同一水平, 比 SNP 处理低 31.85% (表 4)。

2.4 不同处理对渗透胁迫下抗氧化酶活性的影响

SOD、POD、CAT、APX、GR 和 GPX 均为生物体内重要的抗氧化酶, 可以有效地清除生物体内产生的自由基, 降低机体的氧化损伤。由图 1A 可知在 PEG 胁迫下, SOD 活性显著降低, 而添加 SNP

比 PEG 处理高 43.08%。 NaNO_2 、 $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 及 cPTIO 处理下, SOD 活性分别比 SNP 处理降低 17.67%、31.12%、25.95%, 且与 PEG 处理没有显著差异。

POD、CAT、APX、GR 和 GPX 活性变化与 SOD 相似(图 1B-F)。

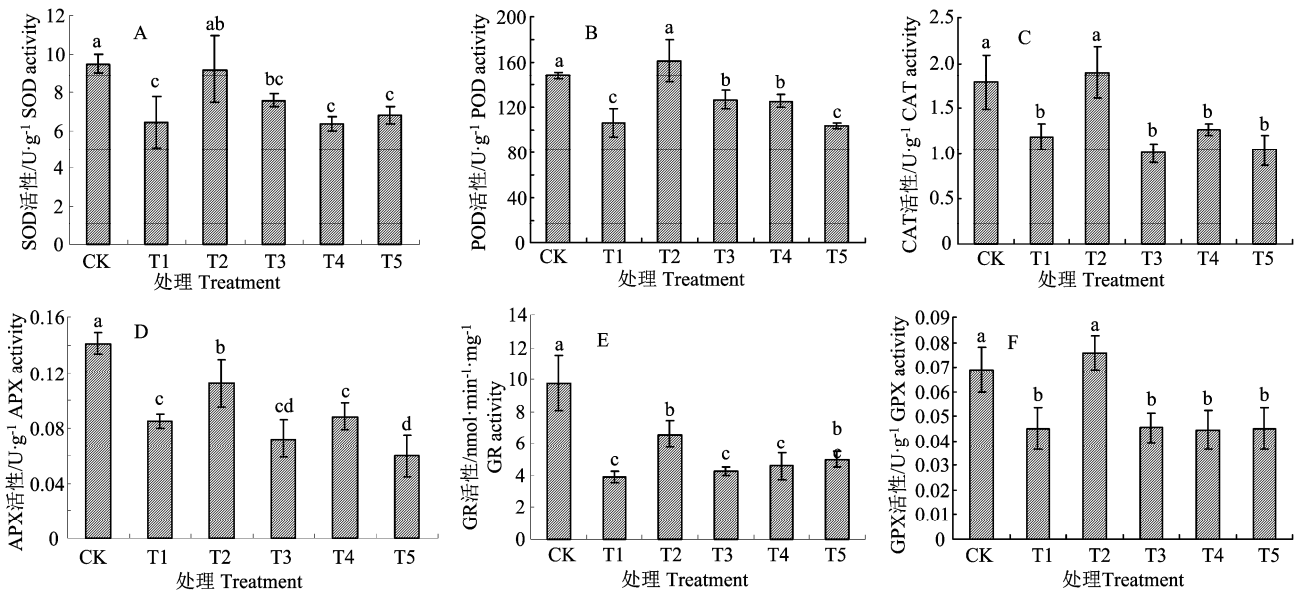


图 1 不同处理下茶树种子 SOD、POD、CAT、APX、GR 和 GPX 活性的变化

Figure 1 Effects on the activities of SOD,POD,CAT,APX,GR and GPX with different treatments

3 讨论与结论

NO 是一种高度扩散性信号分子,对调节植物气孔关闭、侧根生长和缓解非生物胁迫以及细胞程序性凋亡具有显著的作用^[22]。NO 缓解胁迫的作用具有剂量效应,He 等研究发现低浓度的 NO 可促进 Cd 胁迫下水稻种子萌发,而高浓度的 NO 反而会起抑制作用^[23]。本研究中,渗透胁迫处理显著降低了茶树种子发芽率,在添加不同浓度 SNP (NO 的外源供体)后,种子的发芽率随着 SNP 浓度的增加表现出先增高后降低的趋势,其中在 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,种子的发芽率、发芽指数、活力指数及根长增加最为显著,表明此浓度下,缓解渗透胁迫对种子萌发抑制的效果最为显著。

渗透胁迫对植物造成氧化性损伤,正常情况下,植物体内自由基的产生与清除处于平衡状态,遭到氧化胁迫后,自由基的产生速率会显著增加,自由基开始大量积累。过多积累的活性氧严重损害植物细胞的膜系统^[24],细胞膜受到破坏使得膜透性增大,从而引起电解质外渗并导致相对电导率升高^[25]。本试验中,在 PEG6000 处理下茶树种子的电导率、MDA 显著增加,说明渗透胁迫下过量的 ROS 积累损伤了种子的生物膜系统,种子的生长受到严重的胁迫,而在添加 SNP 后,电导率和 MDA 含量下降

了,说明外源 NO 能够缓解茶树种子因渗透胁迫而带来的氧化损伤。

植物体内的抗氧化防御系统由抗氧化酶和抗氧化物质共同组成,抗氧化酶包括过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)和谷胱甘肽原酶(GR)等^[22],它们通过清除氧化胁迫下产生的自由基或者降低自由基的产生速率,协同抵抗活性氧对植物细胞的损伤。本实验中,20%PEG 处理组抗氧化酶均有不同程度的降低,而添加了 SNP 后,抗氧化酶的活性均显著增加,可能是由于外源 NO 提高了抗氧化酶基因的表达水平,从而使酶活性得到提高,最终提高了茶树种子的抗干旱胁迫能力。

本试验通过添加 NaNO_2 (SNP 分解的副产物)、 $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ (SNP 类似物)及 cPTIO (NO 特异清除剂)处理与 20%PEG 胁迫处理比较,发现没有显著的差异,说明此试验中是由于 SNP 分解产生的一氧化氮诱导了抗氧化酶活的提高,缓解了渗透胁迫对茶树种子萌发的抑制。

参考文献:

- [1] 陈善福,舒庆尧.植物耐干旱胁迫的生物学机理及其基因工程研究进展[J].植物学通报,1999,16(5):555-560.

- [2] 马行, 刘刊, 权俊娇, 等. 土壤干旱条件下保水剂对多年生黑麦草光合特性的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2013, 22(4): 83-88.
- [3] 马富举, 李丹丹, 蔡剑, 等. 干旱胁迫对小麦幼苗根系生长和叶片光合作用的影响[J]. 应用生态学报, 2012, 23(3): 724-730.
- [4] 袁支红, 江昌俊, 戴银, 等. 茶树种子脱水过程差异基因的研究[J]. 生物学通报, 2008, 43(8): 50-53.
- [5] 许允文. 土壤水分对茶籽萌发和幼龄茶树生育的影响[J]. 茶叶科学, 1985, 5(2): 1-8.
- [6] LEÓN J, CASTILLO M C, COEGO A, et al. Diverse functional interactions between nitric oxide and abscisic acid in plant development and responses to stress[J]. J Exp Bot, 2014, 65(4): 907-921.
- [7] HU L, LI Y, BI Y, et al. Effects of nitric oxide on growth of *Fusarium sulphureum* and its virulence to potato tubers[J]. Eur Food Res Technol, 2014, 238(6): 1007-1014.
- [8] ZHANG H, SHENG 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): 901-905.
- [9] DU S T, LIU Y, ZHANG P, et al. Atmospheric application of trace amounts of nitric oxide enhances tolerance to salt stress and improves nutritional quality in spinach (*Spinacia oleracea* L.)[J]. Food Chem, 2015, 173: 905-911.
- [10] NEILL S J, DESIKAN R, HANCOCK J T. Nitric oxide signalling in plants[J]. New Phytol, 2003, 159(1): 11-35.
- [11] QIAO W, LI C, FAN L M. Cross-talk between nitric oxide and hydrogen peroxide in plant responses to abiotic stresses[J]. Environ Exp Bot, 2014, 100: 84-93.
- [12] YILDIZTUGAY E, OZFIDAN-KONAKCI C, KUCUKODUK M. Exogenous nitric oxide (as sodium nitroprusside) ameliorates polyethylene glycol-induced osmotic stress in hydroponically grown maize roots[J]. J Plant Growth Regul, 2014, 33(3): 683-696.
- [13] TOSSI V, LAMATTINA L, JENKINS G I, et al. Ultraviolet-B-induced stomatal closure in Arabidopsis is regulated by the UV RESISTANCE LOCUS8 photoreceptor in a nitric oxide-dependent mechanism[J]. Plant Physiol, 2014, 164(4): 2220-2230.
- [14] LI L, WANG Y, SHEN W. Roles of hydrogen sulfide and nitric oxide in the alleviation of cadmium-induced oxidative damage in alfalfa seedling roots[J]. Biometals, 2012, 25(3): 617-631.
- [15] 赵世杰, 许长成, 邹琦, 等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进[J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(3): 207-210.
- [16] 张殿忠, 汪沛洪, 赵会贤. 测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法[J]. 植物生理学通讯, 1990(4): 62-65.
- [17] 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, 2002.
- [18] 杨兰芳, 庞静, 彭小兰, 等. 紫外分光光度法测定植物过氧化氢酶活性[J]. 现代农业科技, 2009(20): 364-366.
- [19] NAKANO Y, ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. Plant Cell Physiol, 1981, 22(5): 867-880.
- [20] FOYER C H, HALLIWELL B. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism[J]. Planta, 1976, 133(1): 21-25.
- [21] 黄爱纓, 吴珍龄. 水稻谷胱甘肽过氧化物酶的测定法[J]. 西南农业大学学报, 1999, 21(4): 324-327.
- [22] HU Y, YOU J, LIANG X. Nitrate reductase-mediated nitric oxide production is involved in copper tolerance in shoots of hullless barley[J]. Plant Cell Rep, 2015, 34(3): 367-379.
- [23] HE J, REN Y, CHEN X, et al. Protective roles of nitric oxide on seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) under cadmium stress[J]. Ecotox Environ Saf, 2014, 108: 114-119.
- [24] 曲涛, 南志标. 作物和牧草对干旱胁迫的响应及机理研究进展[J]. 草业学报, 2008, 17(2): 126-135.
- [25] 陆鑫眉, 吴福妹, 张琼, 等. NaCl 胁迫对大黄龙船花生生长及生理生化的影响[J]. 热带亚热带植物学报, 2015, 23(3): 262-267.
- [26] 张玉梅, 林琪, 姜雯, 等. 渗透胁迫条件下不同抗旱性小麦品种萌发期生理生化指标的变化[J]. 麦类作物学报, 2006, 26(6): 125-130.
- [27] MOSTOFA M G, SERAJ Z I, FUJITA M. Exogenous sodium nitroprusside and glutathione alleviate copper toxicity by reducing copper uptake and oxidative damage in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings[J]. Protoplasma, 2014, 251(6): 1373-1386.