

一氧化氮和过氧化氢对地被菊扦插生根的影响

廖伟彪^{1,2}, 张美玲^{3,4*}, 吴永华⁵, 肖洪浪²

(¹甘肃农业大学农学院, 甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室, 兰州 730070; ²中国科学院寒区旱区环境与工程研究所, 兰州 730000; ³甘肃农业大学草业学院, 兰州 730000; ⁴甘肃农业大学理学院, 兰州 730000; ⁵兰州市园林科学研究所, 兰州 730070)

摘要: 以地被菊 (*Dendranthema morifolium*) 品种 ‘北国之春’ 为试验材料, 研究了一氧化氮 (NO) 和过氧化氢 (H₂O₂) 对其插穗生根的影响以及生根过程中插穗叶片超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、多酚氧化酶 (PPO) 活性以及酚类物质含量的变化。结果表明, 外源 NO 和 H₂O₂ 可促进地被菊插穗生根以及根的生长, 且表现出明显的浓度效应。促进生根最适硝普钠 (SNP, NO 供体) 和 H₂O₂ 的浓度分别为 50 和 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。同时, SNP 和 H₂O₂ 共同处理的地被菊插穗生根率显著高于 SNP 或 H₂O₂ 单独处理, 说明 NO 和 H₂O₂ 在地被菊插穗生根过程中具有协同诱导效应。另外, 相比对照, SNP、H₂O₂ 和两者共同处理插穗叶片的 SOD 和 PPO 活性显著提高。而 SNP、H₂O₂ 和两者共同处理比对照分别具有更低的 POD 活性和酚类物质含量, 且 SNP + H₂O₂ 处理的 POD 活性和酚类物质含量低于 SNP 或 H₂O₂ 单独处理。综合以上结果可知, 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SNP 和 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H₂O₂ 处理可以提高插穗叶片 SOD 和 PPO 活性, 降低 POD 的活性和酚类物质的含量, 从而促进插穗生根和根的生长。

关键词: 地被菊; 一氧化氮 (NO); 过氧化氢 (H₂O₂); 插穗; 生根

中图分类号: S 682.1⁺1 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2009) 11-1643-08

Effects of Nitric Oxide and Hydrogen Peroxide on Rooting of Ground-cover Chrysanthemum Cuttings

LIAO Wei-biao^{1,2}, ZHANG Mei-ling^{3,4*}, WU Yong-hua⁵, and XIAO Hong-lang²

(¹ College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Gansu Key Laboratory of Crop Genetic & Germplasm Enhancement, Lanzhou 730070, China; ² Cold and Arid Regions Environmental and Engineering Research Institute, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730070, China; ³ College of Prataculture, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; ⁴ College of Science, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; ⁵ Institute of Garden Research of Lanzhou, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Ground-cover chrysanthemum (*Dendranthema morifolium* ‘Beiguozechun’) was used to understand the effects of nitric oxide (NO) and hydrogen peroxide (H₂O₂) on rooting of plant cuttings and the changes of activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and polyphenol oxidase (PPO) and the total polyphenol content of cutting leaves. The results showed that the effects of exogenous H₂O₂ or NO on rooting of ground-cover chrysanthemum cuttings was dose dependent, with a maximal biological response at 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H₂O₂ or 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NO donors SNP. At the same time, the rooting percentage of cuttings treated with both SNP and H₂O₂ was significantly higher than that of cuttings treated with SNP or H₂O₂ alone, which suggested that there might exist synergistic action between H₂O₂ and NO on mediating rooting. Additionally, compared with the control, SNP, H₂O₂ and SNP + H₂O₂ treatments might significantly increase the activities of SOD and PPO of ground-cover chrysanthemum cuttings leaves. However, the activities of POD

收稿日期: 2009 - 04 - 30; 修回日期: 2009 - 09 - 17

基金项目: 国家自然科学基金项目 (40501076); 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (KZCX3-SW-324); 兰州市科技局科技攻关项目 (07-1-04)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: zhangml@gsau.edu.cn)

and the total polyphenol content were significantly higher in control than in other treatments during rooting. Moreover, lower POD activities and polyphenol content were attained in SNP + H₂O₂ treatment than in SNP or H₂O₂ treatment alone. Together, these results indicated that 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SNP and 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H₂O₂ treatments enhanced rooting and root growth synergistically and independently by stimulating the activities of SOD and PPO enzymes, and simultaneously by repressing POD activities and the production of polyphenol.

Key words: ground-cover chrysanthemum; nitric oxide (NO); hydrogen peroxide (H₂O₂); cuttings; rooting

不定根的形成是植物无性繁殖的重要途径之一。近年来,不定根形成过程中信号转导的研究受到重视,并在生长素信号转导研究中取得了一些重要进展。但对于信号转导的详细过程和分子机制仍然知之甚少,这方面研究的深入将会为植物信号转导和发育调控的研究开拓新的领域,建立新理论 (Walker & Estelle, 1998; Li et al, 2007)。

作为信号分子的一氧化氮 (NO) 参与植物的光形态建成与生长发育 (He et al, 2004; Mishina et al, 2007)、抗病防御反应 (Delledonne et al, 1998; Hong et al, 2008)、细胞程序性死亡 (Beligni et al, 2002)、ABA 诱导气孔关闭 (Garcia-Mata & Lamattina, 2001; Neill et al, 2008) 以及对各种胁迫的响应 (Ederli et al, 2006; Courtois et al, 2008)。NO 在诱导植物不定根和侧根形成以及根的向重力性运动中的重要作用亦已证明 (Pagnussat et al, 2002; Correa-Aragunde et al, 2006; 高华君等, 2008)。

过氧化氢 (H₂O₂) 除具有毒害作用外,对植物还具有多种生理功能,是一种重要的信号分子 (Pitzschke et al, 2006)。H₂O₂ 可能在植物细胞的分化和形态建成的过程中充当着发育信号的角色 (Cui et al, 2002)。H₂O₂ 介导了生长素决定的根的向地性运动 (Joo et al, 2001), 且可能是植物不定根发生的信号分子,参与不定根发生的信号转导 (Li et al, 2007)。

然而,关于 NO 和 H₂O₂ 对植物插穗生根影响的研究很少,尤其关于两者在植物生根中的关系尚未见报道。因此,作者以地被菊 (*Dendranthema morifolium*) 品种 ‘北国之春’ 为试验材料,研究了 NO 和 H₂O₂ 对植物插穗生根的影响以及生根过程中插穗叶片 SOD、POD、PPO 活性以及酚类物质含量的变化,旨在为 NO 和 H₂O₂ 应用于植物扦插提供理论依据。

1 材料与方 法

试验在甘肃农业大学日光温室内进行,供试材料为兰州市园林科学研究所提供的地被菊品种 ‘北国之春’。2008 年 5 月在生长健壮的地被菊母株上采粗细均匀的侧枝,留上部未展开叶和 2~3 片完全展开叶,摘去下部叶片,用刀斜切为长约 8 cm。将切好的插穗插入消毒过的装有细沙的扦插床内,外罩聚乙烯薄膜以保持空气湿度,并覆盖遮阳网。生根过程中插床内温度保持 20~22℃,相对湿度 80%~85%。扦插后每隔 1 d 叶面喷施 Hogland 配方完全营养液和各种处理液,共持续 25 d。

试验各处理用的化学物质包括 NO 供体硝普钠 (SNP; 0、10、50、100、200 和 500 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 过氧化氢 (H₂O₂; 0、50、100、200、500 和 1 000 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 0.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 奈乙酸 (NAA; Correa-Aragunde et al, 2006), 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 羧基-2-苯-4,4,5,5-四甲基咪唑-1-氧-3-氧化物 (c-PTD; Pagnussat et al, 2002), 25 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NG-N-L-精氨酸甲酯 (L-NAME; Neill et al, 2002), 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 过氧化氢酶 (CAT; Li et al, 2007), 1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 二苯基碘 (DPI; Li et al, 2007), 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaNO₂ (Garcia-Mata & Lamattina, 2001) 和 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ K₃Fe(CN)₆ (Graziano et al, 2002)。每个处理用 150 个插穗,3 次重复。

扦插后每隔 5 d 观察生根情况,并在扦插后 25 d 测定生根率、根数/株、单株平均根长。每个重

复抽样 30个插穗进行测定。生根率为生根插穗数占总插穗数的百分数；单株平均根长 = 单株根总长 / 单株生根数。于处理开始后 0、5、10、15、20和 25 d上午 10:00左右取插穗成熟叶片测定超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化物酶 (POD) 活性 (李合生, 2003); 多酚氧化酶 (PPO) 活性 (郝再彬, 2004), 酚类物质含量 (朱广廉等, 1990)。

所有数据使用统计软件 SPSS13.0 进行处理。试验结果用 3 个重复的平均值 ± 标准差表示。采用 Turkey's 检验对各处理间的差异显著性进行分析。用 Excel 软件计算标准差并绘制相关图形。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的 SNP 和 H_2O_2 对地被菊插穗生根的影响

从表 1 和图 1 可见, NO 供体 SNP 和 H_2O_2 均对地被菊插穗的生根产生了一定的影响。高浓度的 SNP (200 和 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 显著抑制了地被菊插穗根的产生和生长, 而低浓度 (10、50 和 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 则对其生根产生了明显的促进作用, 最佳的 SNP 生根浓度为 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。对 H_2O_2 而言, 高于 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度时, 插穗的生根状况与对照接近或者显著差于对照, 而低于 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度时, 插穗的生根状况均显著好于对照, $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为 H_2O_2 促进地被菊插穗生根的最适浓度。所以, $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SNP 和 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2$ 为下面试验所使用的浓度。

表 1 不同浓度的 SNP 和 H_2O_2 对地被菊插穗生根的影响

Table 1 Effect of H_2O_2 and SNP on rooting of ground-cover chrysanthemum cutting

SNP/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	生根率 / % Rooting percentage	根数 / 株 Root number per cutting	单株平均根长 / cm Root length per cutting	H_2O_2 / ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	生根率 / % Rooting percentage	根数 / 株 Root number per cutting	单株平均根长 / cm Root length per cutting
0	84.7 ± 1.3c	55.1 ± 1.6bc	0.52 ± 0.07b	0	84.7 ± 1.3c	55.1 ± 1.6c	0.52 ± 0.07bc
10	88.2 ± 0.9b	53.3 ± 4.1bc	0.67 ± 0.07b	50	89.4 ± 1.1b	60.7 ± 2.3b	0.55 ± 0.14b
50	93.6 ± 1.3a	65.6 ± 2.7a	1.02 ± 0.05a	100	92.8 ± 0.3a	58.5 ± 0.8b	1.14 ± 0.12a
100	90.3 ± 0.9b	57.5 ± 1.7b	1.05 ± 0.17a	200	94.2 ± 2.4a	66.4 ± 0.9a	1.26 ± 0.18a
200	81.8 ± 1.5d	50.7 ± 0.7cd	0.51 ± 0.10b	500	83.3 ± 1.2c	50.3 ± 1.5d	0.41 ± 0.05bc
500	74.5 ± 2.1e	47.0 ± 1.8e	0.25 ± 0.07c	1 000	74.7 ± 2.5d	46.0 ± 0.3e	0.30 ± 0.12c

注: 在 SNP 或 H_2O_2 不同浓度处理同一指标具有不同字母者差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Values not sharing the same letters in a column within SNP or H_2O_2 treatment were significantly different by Duncan's multiple comparison test ($P < 0.05$).

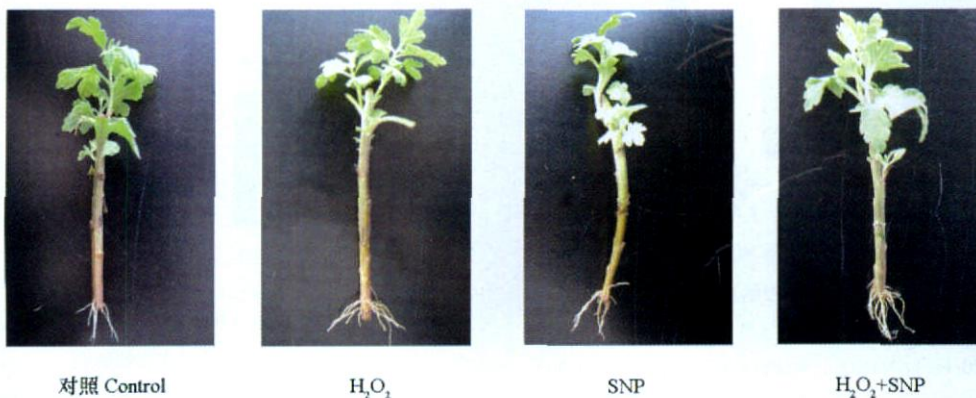


图 1 对照、 H_2O_2 、SNP 和 H_2O_2 + SNP 处理的插穗生根状况

Fig. 1 Rooting of cuttings treated with water, H_2O_2 , SNP and H_2O_2 + SNP

2.2 NaNO_2 、 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 及 NO 和 H_2O_2 清除剂对地被菊插穗生根的影响

SNP分解产物除 NO 外, 还会生成 NO_2^- 。 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 是 SNP的类似物, 但是不释放 NO 。所以, NaNO_2 和 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 作为 SNP的对照进行了比较研究。如图 2所示, NaNO_2 和 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 处理的插穗生根率、根数和单株平均根长均与对照无显著差异, 说明上述两者对地被菊插穗生根无促进作用。 NO 专一性淬灭剂 cPTD则显著抑制了 SNP对地被菊插穗生根的促进作用。同样, H_2O_2 清除剂 CAT处理的插穗生根状况显著差于 H_2O_2 单独处理 (图 2)。上述结果表明, NO 和 H_2O_2 对地被菊插穗生根具有专一性。图 1和图 2同时表明, NO 和 H_2O_2 共同处理的地被菊插穗生根率显著高于 NO 或 H_2O_2 单独处理。可见, NO 和 H_2O_2 对地被菊插穗生根具有协同诱导效应。

2.3 NO 和 H_2O_2 清除剂和合成抑制剂对 NAA 促进地被菊插穗生根的影响

图 3显示, 与 NO 和 H_2O_2 一样, NAA处理显著促进了地被菊插穗的生根。cPTD和 CAT分别与 NAA处理时, 插穗的生根率、根数和单株平均根长均显著小于 NAA单独处理, 而与对照处理基本相

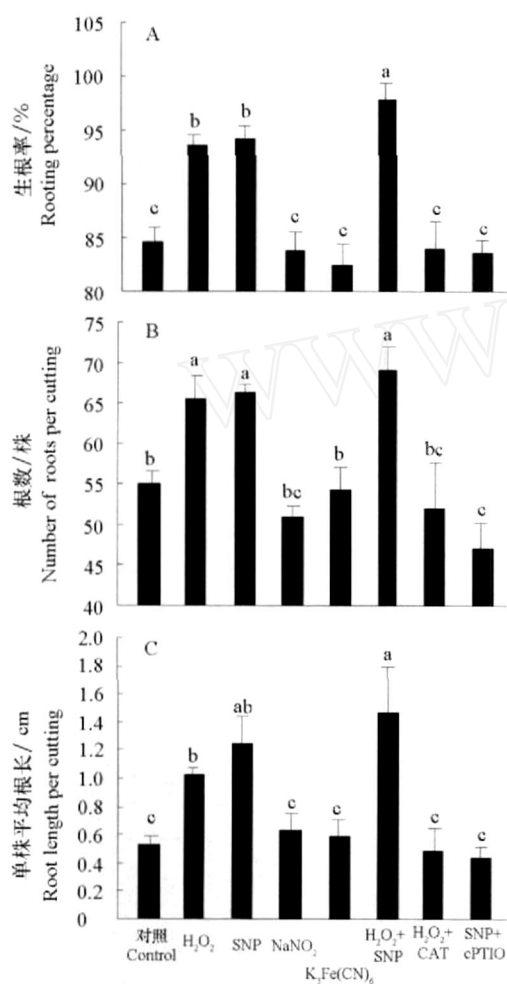


图2 NaNO_2 、 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 及 NO 和 H_2O_2 清除剂对地被菊插穗生根的影响

不同小写字母代表不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

Fig. 2 Effects of NaNO_2 , $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ and H_2O_2 or NO scavenger on rooting of ground-cover chrysanthemum cutting

Different small letters show significant difference at 0.05 level among different treatments. The same below.

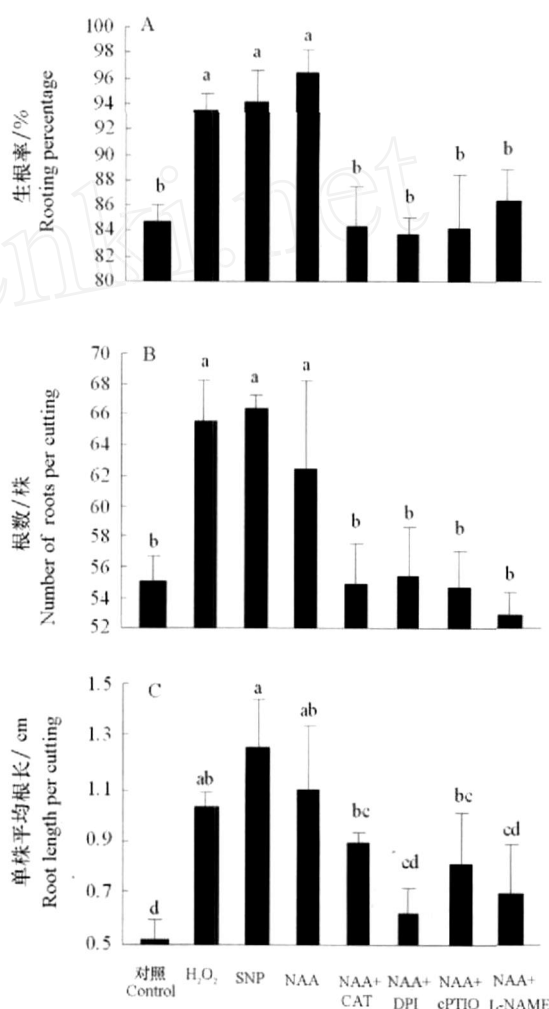


图3 CAT、DPI、cPTIO和L-NAME对NAA促进地被菊插穗生根的影响

Fig. 3 Effects of CAT, DPI, cPTIO or L-NAME on NAA-induced rooting of ground-cover chrysanthemum cutting

近。可见,清除 NO 和 H_2O_2 会抑制 NAA 对地被菊插穗生根的促进作用。NO 合酶 (NOS) 活性抑制剂 L-NAME 和 H_2O_2 产生酶 NADPH 氧化酶抑制剂 DPI 也同样分别抑制了 NAA 对地被菊插穗生根的促进作用。

这一结果初步表明, NO 和 H_2O_2 在 NAA 促进地被菊插穗生根中可能起着重要的不可或缺的作用。

2.4 NO 和 H_2O_2 对地被菊插穗叶片 SOD、POD 和 PPO 酶活性的影响

图 4, A 表明,所有处理的插穗叶片的 SOD 活性呈先上升后下降的趋势。其中, SNP 处理在 10 d 时活性达到最大值后下降,而其它 3 个处理则在 15 d 才达到最大值。相比对照, SNP、 H_2O_2 和两者共同处理插穗叶片的 SOD 活性显著提高,尤其在第 15 天 (图 4, A)。

SNP 和对照处理的插穗叶片的 POD 活性在 0 ~ 15 d 上升之后迅速下降, H_2O_2 处理在第 10 天达到高峰后保持较稳定的水平,而 SNP + H_2O_2 处理在第 5 天达到高峰后迅速下降;在第 15 天, SNP、 H_2O_2 和 SNP + H_2O_2 处理分别比对照降低 7.8%、18.8% 和 16.5% (图 4, B)。

PPO 活性的变化与 SOD 活性变化基本一致,对照在第 10 天达到最大,而其它处理在第 15 天达到最大; SNP、 H_2O_2 和 SNP + H_2O_2 处理的 PPO 活性要高于对照,且 SNP + H_2O_2 为所有处理中最高的 (图 4, C)。

因此, SNP 和 H_2O_2 处理能提高地被菊插穗叶片 SOD 和 PPO 的活性,降低 POD 活性,且 SNP 和 H_2O_2 共同处理的效果显著大于单独处理。

2.5 NO 和 H_2O_2 对地被菊插穗叶片酚类物质含量的影响

从图 5 可以看出,除对照外,所有处理的插穗叶片酚类物质含量在 0 ~ 10 d 均呈现下降趋势,这可能是因为插穗从母株剪下后的一种自我调节反应。在 10 ~ 20 d,插穗叶片的酚类物质含量上升,20 d 后又呈现下降趋势。

对照插穗的叶片酚类物质含量在整个生根过程中也呈现先下降后上升的趋势,但变化幅度比较平缓 (图 5); SNP、 H_2O_2 或它们组合处理相比对照有更低的酚类物质含量,且 SNP + H_2O_2 处理低于 SNP 或 H_2O_2 单独处理;在第 10 天, SNP、 H_2O_2 和 SNP + H_2O_2 处理与对照相比分别减少了 38.9%、28.7% 和 45.1%。

这一结果表明, SNP 和 H_2O_2 能有效降低插穗叶片酚类物质含量,从而有利于插穗生根。同样地, SNP 和 H_2O_2 共同处理降低酚类物质含量比它们单独处理的效果更显著。

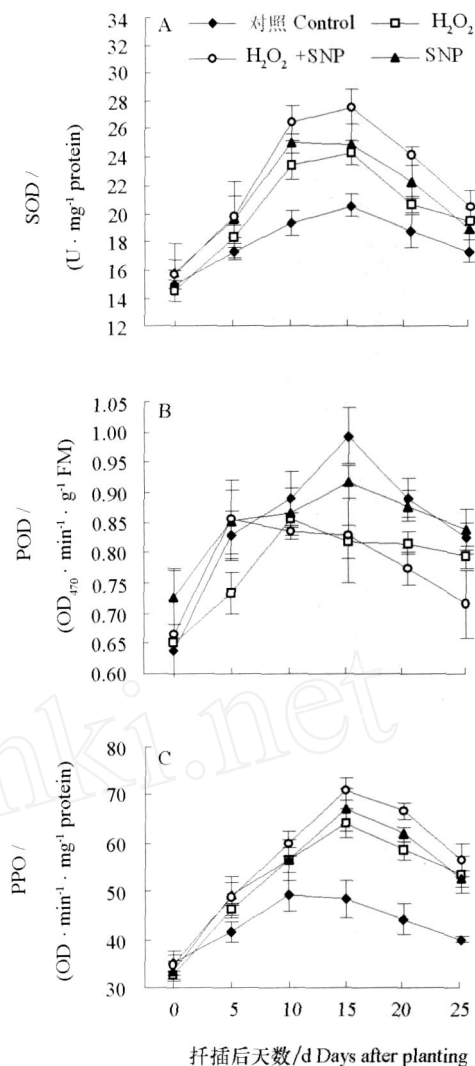


图 4 NO 和 H_2O_2 对地被菊插穗叶片 SOD、POD 和 PPO 酶活性的影响

Fig 4 Effects of H_2O_2 or NO on the SOD, POD and PPO activities of ground-cover chrysanthemum cutting leaves

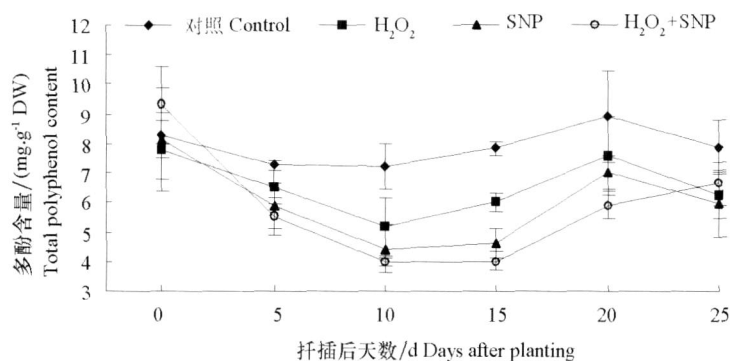


图 5 NO 和 H₂O₂ 对地被菊插穗叶片酚类物质含量的影响

Fig 5 Effects of H₂O₂ or NO on the total polyphenol content of ground-cover chrysanthemum cutting leaves

3 讨论

本试验结果表明, 外源 NO 和 H₂O₂ 可促进地被菊插穗的生根以及根的生长, 且呈现明显的剂量效应, 最适的 SNP 和 H₂O₂ 浓度分别为 50 和 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (表 1)。同时, SNP 副产物 (NO_2^-) 和类似物 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 对地被菊插穗生根无显著促进作用, 而 NO 和 H₂O₂ 的清除剂显著抑制了 SNP 和 H₂O₂ 对地被菊插穗生根的促进作用 (图 2)。而且, NO 和 H₂O₂ 的清除剂和合成抑制剂均能有效抑制 NAA 对插穗生根的促进作用 (图 3)。自 Gouv a 等 (1997) 首次发现 NO 像植物生长素一样能诱导细胞伸长从而促进玉米 (*Zea mays* L. 'Maia Normal') 生根以来, NO 对黄瓜 (Pagnussat et al, 2002)、番茄 (Correa-Aragunde et al, 2006) 和莴苣 (Lombardo et al, 2006) 等园艺植物生根的促进作用亦见诸于报道。其中, 在 Pagnussat 等 (2002) 的报道中, 促进黄瓜生根最适的 SNP 浓度为 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 与本研究的最适浓度有一定差异。这可能是由于植物种类不同或试验设置浓度梯度不同或其它未知因素造成的。Li 等 (2007) 报道了 H₂O₂ 在黄瓜生根过程中的促进作用, 这点与本文结果相一致。可见, 本研究的结果进一步表明 NO 和 H₂O₂ 和其它植物激素相似, 在调节植物插穗生根过程中的作用具有浓度效应, 适宜的浓度能显著促进插穗生根, 浓度过高则会对植物体产生伤害。

NO 和 H₂O₂ 共同处理的地被菊插穗生根率显著高于 NO 或 H₂O₂ 单独处理 (图 1 和图 2)。可见, NO 和 H₂O₂ 在地被菊插穗生根过程中具有协同诱导效应。NO 和 H₂O₂ 都是可跨膜的物质, 在许多情况下 NO 和 H₂O₂ 信号之间相互联系 (Neill et al, 2008)。比如 NO 可与 O_2^- 作用形成破坏性极强的超氧亚硝酸根离子 (ONOO^-)。以往的研究发现 NO 和 H₂O₂ 在很多植物生理过程中具有相似的效应并具有协同性或依赖性。如二者在促进大豆悬浮细胞死亡中有协同效应 (Delledonne et al, 1998); 二者都参与光暗和脱落酸 (ABA) 对植物气孔关闭的调节过程 (She et al 2004; Bright et al 2006); NO 和 H₂O₂ 在壳寡糖诱导油菜抗旱性增强中也存在信号互作现象 (Li et al, 2009); 据 Xu 等 (2008) 报道, NO 和 H₂O₂ 对金丝桃素合成积累的协同效应依赖于两种信号分子之间的互作反应; Kolbert 等 (2008) 最近的研究表明, NO 调节 H₂O₂ 的产生, 并在下游诱导相关防御基因的表达。然而迄今为止, 关于 NO 和 H₂O₂ 在诱导植物插穗生根中的相互作用尚未见报道。本研究初步揭示了 NO 和 H₂O₂ 在促进插穗生根过程中可能通过互作反应提高各自的信号水平。然而, 关于不定根形成过程中 NO 和 H₂O₂ 信号转导网络仍然知之甚少。因此, 此方面研究的深入将有助于对 NO 和 H₂O₂ 促进插穗生根互作效应机理的认识。

据报道,植物体内的 NO 形成至少存在 3 条途径,即一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS)、硝酸还原酶或亚硝酸还原酶 (nitrate/nitrite, NR / NiR) 和非酶途径形成 NO (Neill et al, 2008)。本试验中, NOS 活性抑制剂 L-NAME 能有效地抑制 NAA 地被菊插穗生根的促进作用 (图 3), 可见,在地被菊插穗生根过程中应存在 NOS 途径形成 NO。Cuezo 等 (1996) 以及 Ninnemann 和 Maier (1996) 首次发现存在于动物体内的 NOS 也存在高等植物体内。自从 Crawford 等 (2006) 指出植物体内发现的 ANOS1 并不同于哺乳动物 NOS 后, 到目前为止并没有在植物内找出确切的 NOS。但是, 植物中 NOS-like 蛋白的存在毋庸置疑, 只是有待于人们进一步的研究。因此, 进一步研究地被菊插穗生根过程中 NO 合成的 NOS 途径是一项充满挑战和机遇的工作。

整个扦插过程中各处理插穗都有不同程度的衰老, 而超氧化物歧化酶 (SOD) 可减少活性氧的毒害, 是植物体内的防御系统酶。从试验结果看, NO 和 H_2O_2 处理插穗的叶片 SOD 活性要显著高于对照 (图 4, A)。说明 NO 和 H_2O_2 处理插穗的 SOD 活性增高, 提高了插穗的防御能力, 膜脂过氧化程度降低, 从而延缓衰老, 促进外源根的形成, 可以达到提高插穗生根率的目的。另外, NO 和 H_2O_2 共同处理插穗的叶片 SOD 活性高于二者单独处理 (图 4, A), 这与 NO 和 H_2O_2 共同插穗的生根率显著高于 NO 或 H_2O_2 单独处理结果相一致的。说明在 NO 和 H_2O_2 促进生根作用过程中, 提高 SOD 的活性是重要的生化机制之一。据报道, 吲哚乙酸 (IAA) 有促进植物不定根形成的生理功能, 而过氧化物酶 (POD) 具有分解 IAA 的功能 (Gebhardt, 1982)。经过 NO 和 H_2O_2 处理后地被菊插穗的叶片 POD 活性显著低于对照 (图 4, B), 说明二者处理后插穗的 POD 活性低, 其降解 IAA 的能力较低, 而输送到插穗基部的 IAA 较多, 对诱导根原基的形成和愈伤组织发生有利。多酚氧化酶 (PPO) 与植物根的形成有非常密切的关系, 其作用在于催化插穗体内的酚类物质与 IAA 缩合成一种促进生根的物质 “IAA 酚酸复合物”。本试验中 NO 和 H_2O_2 处理插穗的叶片 PPO 活性比对照的高 (图 4, C), 因而可能催化形成的酚酸复合物也较多, 从而可以较大幅度的提高插穗生根率。

本研究结果表明, 适宜浓度的 NO 和 H_2O_2 处理可提高地被菊插穗 SOD 和 PPO 活性, 降低 POD 的活性, 使得植物体内的新陈代谢旺盛, 同时加强自我保护能力, 清除酚类物质在植物体内的毒害, 从而促进插穗生根和根的生长。

References

- Beligni M V, Fath A, Bethke P C, Lamattina L, Jones R L. 2002. Nitric oxide acts as an antioxidant and delays programmed cell death in *Barley aleurone* layers. *Plant Physiol*, 129: 1642 - 1650.
- Bright J, Desikan R, Hancock J T, Weir I S, Neill S J. 2006. ABA-induced NO generation and stomatal closure in *Arabidopsis* are dependent on H_2O_2 synthesis. *The Plant J*, 45: 113 - 122.
- Correa-Aragunde N M, Graziano M L, Chevalier C, Lamattina L. 2006. Nitric oxide modulates the expression of cell cycle regulatory genes during lateral root formation in tomato. *J Exp Bot*, 57: 581 - 588.
- Courtois C, Besson A, Dahan J, Bourque S, Dobrowolska G, Pugin A, Wendehenne D. 2008. Nitric oxide signalling in plants: Interplays with Ca^{2+} and protein kinases. *J Exp Bot*, 59 (2): 155 - 163.
- Crawford N M, Gallim, Tischner R, Heimer Y M, Okamoto M, Mack A. 2006. Response to Zamojtel et al: Plant nitric oxide synthase: Back to square one. *Trends Plant Sci*, 11: 526 - 527.
- Cuezo M, Hernández-Perera O, Martín R, Bentura M L, Rodrigo J, Lamas S, Golvano M P. 1996. Presence of nitric oxide synthase activity in roots and nodules of *Lupinus albus*. *FEBS Lett*, 398: 159 - 164.
- Cui K R, Xing G S, Liu X M, Li J L, Wang L H, Wang Y F. 2002. Effect of hydrogen peroxide on synthesis of proteins during somatic embryogenesis in *Lycium barbarum*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 68: 187 - 193.
- Delledonne M, Xia Y J, Dixon R A, Lamb C. 1998. Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. *Nature*, 394: 585 - 588.
- Ederli L, Morettini R, Borgogni A, Wastemack C, Miersch O, Reale L, Ferranti F, Tosti N, Pasqualini S. 2006. Interaction between nitric oxide and ethylene in the induction of alternative oxidase in ozone-treated tobacco plants. *Plant Physiol*, 142 (2): 595 - 608.

- Gao Hua-jun, Yang Hong-qiang, Zhang Wei. 2008. Effects of nitric oxide on lateral root formation induced by BA in *Malus hupehensis* Rehd seedlings. *Acta Horticulturae Sinica*, 35 (2): 157 - 162. (in Chinese)
- 高华君, 杨洪强, 张伟. 2008. 一氧化氮在吲哚丁酸诱导平邑甜茶幼苗侧根形成中的作用. *园艺学报*, 35 (2): 157 - 162.
- Garcia-Mata C, Lamattina L. 2001. Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress. *Plant Physiol*, 126 (3): 1196 - 1204.
- Gebhardt K. 1982. Activation of indole-3-acetic acid oxidase from horseradish and *Pinus* by phenols and H_2O_2 . *Plant Growth Regul*, 1 (2): 73 - 84.
- Gouv a C M, Souza C P, Magalhaes C A, Martin I S. 1997. NO-releasing substances that induce growth elongation in maize root segments. *Plant Growth Regul*, 21: 183 - 187.
- Graziano M, Beligni M V, Lamattina L. 2002. Nitric oxide improves internal iron availability in plants. *Plant Physiol*, 130: 1852 - 1859.
- Hao Zai-bin. 2004. *Plant physiological experiment*. Harbin: Harbin Industry University Press: 116 - 117. (in Chinese)
- 郝再彬. 2004. *植物生理实验*. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社: 116 - 117.
- He Y, Tang R H, Hao Y, Stevens R D, Cook C W, Ahn S M, Jing L F, Yang Z G, Chen L, Guo F Q, Fiorani F, Jackson R B, Crawford N M, Pei Z M. 2004. Nitric oxide represses the *Arabidopsis* floral transition. *Science*, 305 (5692): 1968 - 1971.
- Hong J K, Yun B W, Kang J G, Raja M U, Kwon E, Sorhagen K, Chu C C, Wang Y Q, Loake G J. 2008. Nitric oxide function and signaling in plant disease resistance. *J Exp Bot*, 59 (2): 147 - 154.
- Joo J H, Bae Y S, Lee J S. 2001. Role of auxin-induced reactive oxygen species in root gravitropism. *Plant Physiol*, 126 (3): 1055 - 1060.
- Kolbert Z, Bartha B, Erdei L. 2008. Exogenous auxin-induced NO synthesis is nitrate reductase-associated in *Arabidopsis thaliana* root primordia. *J Plant Physiol*, 165: 967 - 975.
- Li He-sheng. 2003. *The theory and technology of physiology and biochemistry*. Beijing: High Education Press: 184 - 185. (in Chinese)
- 李合生. 2003. *植物生理生化实验原理和技术*. 北京: 高等教育出版社: 184 - 185.
- Li S H W, Xue L G, Xue S H J, Feng H Y, An L Z. 2007. Hydrogen peroxide involvement in formation and development of adventitious roots in cucumber. *Plant Growth Regul*, 52: 173 - 180.
- Li Y, Yin H, Wang Q, Zhao X M, Du Y G, Li F. 2009. Oligochitosan induced *Brassica napus* L. production of NO and H_2O_2 and their physiological function. *Carbohydrate Polymers*, 4: 612 - 617.
- Lombardo M C, Graziano M L, Polacco J C, Lamattina L. 2006. Nitric oxide functions as a positive regulator of root hair development. *Plant Signaling Behavior*, 1: 28 - 33.
- Mishina T E, Lamb C, Zeier J. 2007. Expression of a nitric oxide degrading enzyme induces a senescence programme in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ*, 30 (1): 39 - 52.
- Neill S J, Desikan R, Clarke A, Hancock J T. 2002. Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signaling in stomatal guard cells. *Plant Physiol*, 128: 13 - 16.
- Neill S, Barros R, Bright J, Desikan R, Hancock J, Harrison J, Morris P, Ribeiro D, Wilson I. 2008. Nitric oxide, stomatal closure, and abiotic stress. *J Exp Bot*, 59 (2): 165 - 176.
- Ninnemann H, Maier J. 1996. Indications for the occurrence of nitric oxide synthases in fungi and plants, and the involvement in photocondensation of *Neurospora crassa*. *Photochem Photobiol*, 64: 393 - 398.
- Pagnussat G C, Simontacchi M, Puntanulo S, Lamattina L. 2002. Nitric oxide is required for root organogenesis. *Plant Physiol*, 129: 954 - 956.
- Pitzschke A, Forzani C, Hirt H. 2006. Reactive oxygen species signaling in plants. *Antioxidants and Redox Signaling*, 8: 1757 - 1764.
- She X P, Song X G, He J. 2004. The role and relationship of nitric oxide and hydrogen peroxide in light/dark-regulated stomatal movement in *Vicia faba*. *Acta Bot Sin*, 46: 1292 - 1300.
- Walker L, Estelle M. 1998. Molecular mechanisms of auxin action. *Curr Opin Plant Biol*, 1: 434 - 439.
- Xu M J, Dong J F, Zhang X B. 2008. Signal interaction between nitric oxide and hydrogen peroxide in heat shock-induced hypericin production of *Hypericum perforatum* suspension cells. *Sci China Ser C Life Sc*, 8: 676 - 686.
- Zhu Guang-lian, Zhong Hui-wen, Zhang Ai-qin. 1990. *Plant physiology experiment*. Beijing: Beijing University Press. (in Chinese)
- 朱广廉, 钟海文, 张爱琴. 1990. *植物生理学实验*. 北京: 北京大学出版社.