

水杨酸处理对干旱胁迫下黄瓜幼苗氮素同化及其关键酶活性的影响

郝敬虹, 易 旻, 尚庆茂*, 董春娟, 张志刚

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘 要: 采用黄瓜盆栽试验, 定量浇水模拟不同程度干旱胁迫并结合根际施用水杨酸 (SA), 分析了外源SA对干旱胁迫下幼苗含氮化合物含量及相关酶活性的影响。结果表明, 干旱胁迫下黄瓜幼苗总氮和可溶性蛋白质含量, 以及硝酸还原酶 (NR) 和谷氨酰胺合成酶 (GS) 活性下降, 无机氮和游离氨基酸含量增加, 并且随干旱胁迫强度增加以及时间延长表现更明显。外源施用 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SA显著提高了胁迫植株NR和GS活性, 总氮、可溶性蛋白含量以及胁迫前期游离氨基酸含量, 降低了无机氮的积累, 其中NR和GS活性分别比不施SA的轻度和重度胁迫植株最多提高了 19.63%、12.62%和 21.92%、12.72%。表明外源SA提高了干旱胁迫条件下黄瓜幼苗的氮还原和同化能力, 这可能是其提高植株抗旱能力的一个重要原因。

关键词: 黄瓜; 水杨酸; 干旱胁迫; 含氮化合物

中图分类号: S 642.2

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2012) 01-0081-10

Effect of Exogenous Salicylic Acid on Nitrogen Assimilation of Cucumber Seedling Under Drought Stress

HAO Jing-hong, YI Yang, SHANG Qing-mao*, DONG Chun-juan, and ZHANG Zhi-gang

(*Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China*)

Abstract: A pot experiment was conducted under adequate water and different drought stress combined with or without rhizosphere application of salicylic acid (SA) to investigate the effect of exogenous SA on nitrogenous compounds and the related enzymes in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings under different drought stress treatments. Results showed that total nitrogen and soluble protein content, nitrate reductase (NR) and glutamine synthetase (GS) activities declined under drought stress, while the content of inorganic nitrogen and free amino acid increased, and the changes were more pronounced as the stress strengthening and time prolonging. Exogenous application of $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SA in the condition of drought stress significantly increased the activities of NR and GS, the content of total nitrogen and soluble protein, while decreased the accumulation of inorganic nitrogen. Also, the content of free amino acid in the early period of drought stress was enhanced after SA application. Compared with no SA treatments, NR and GS activities in SA treatments increased significantly under slight (19.63% and 12.62%) and heavy (21.92% and 12.72%) drought stress. The above results suggested that SA enhanced

收稿日期: 2011-09-30; 修回日期: 2011-12-03

基金项目: 科技部国际科技合作项目 (2010DFB30550)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: shangqm@mail.caas.net.cn)

the ability of nitrogen reduction and assimilation under drought stress, which might be a key reason for improving the drought tolerance of plants.

Key words: cucumber; salicylic acid; drought stress; nitrogenous compound

干旱胁迫作为一个主要的环境胁迫因子从多方面限制植物氮素代谢, 包括降低硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)和谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS)活性(Fariduddin et al., 2009), 加速蛋白质降解(Teixeira & Pereira, 2007), 促进游离氨基酸积累等(Huang et al., 2007)。

水杨酸(Salicylic acid, SA)对植物的许多生理过程具有调节作用, 如诱导植物系统获得性抗性, 提高植物抗盐性(Gunes et al., 2007)、抗旱性(Hayat et al., 2008)、抗热性(Cao et al., 2008, 2010)、抗病性(陈年来 等, 2010), 促进植物生长等。关于SA的生理作用, 前人对其在诱导抗病以及调节氧化还原平衡, 诱导植物抗逆性等方面进行了较为深入的研究, 并揭示了有关分子机理(Lee et al., 2009)。但是有关SA在氮代谢调节方面的研究还不够系统深入, 尤其在蔬菜上的应用研究还比较少, 仅有曹岩坡等(2009)报道的SA调节含氮化合物含量, 减少硝酸盐在细胞中的累积, 以及Nazar (2011)报道的NR活性和氮含量的变化在SA提高绿豆幼苗盐忍耐力中的作用, 而对于SA是否调节干旱胁迫下含氮化合物含量和相关酶活性以及氮代谢的变化是否与抗旱性存在一定的联系还未见报道。据此推测SA可能通过影响一些含氮化合物如游离氨基酸等含量的变化以及氮代谢关键酶的活性, 从而调节植物在干旱胁迫下的氮素同化。为此, 研究外源SA对干旱胁迫下黄瓜幼苗含氮化合物及氮同化关键酶活性的影响, 以期探讨SA提高黄瓜防御干旱胁迫的氮代谢调节机制, 为生产实践中降低逆境伤害提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

黄瓜(*Cucumis sativus* L.)品种为‘中农203’, 来自中国农业科学院蔬菜花卉研究所。种子先在清水中浸泡2 h, 然后用5% NaClO消毒10 min, 再用清水冲洗5遍, 于 $(28 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中催芽。待胚根长出后, 挑选萌发一致的种子播于体积 900 cm^3 的塑料营养钵中, 每钵1粒, 采用体积比3:1的蛭石和石英砂作育苗基质。培养的昼夜温度为 $28^\circ\text{C}/18^\circ\text{C}$, 光周期为10 h/14 h, 相对湿度为70%~85%。子叶展开后用1/2浓度的Hoagland营养液(pH 6.5)浇灌。

1.2 试验设计

播种后20 d, 幼苗生长至二叶一心时进行干旱胁迫。在预备试验的基础上, 筛选出SA的最佳浓度为 $0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。处理前分别以3倍基质饱和含水量的含 $0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ SA的1/2 Hoagland和不含SA的1/2 Hoagland浇1次透水, 采用自然干旱和称重法, 2 d后按上述方式补浇不同量的水分使基质保持相对含水量60%为轻度干旱胁迫, 相对含水量50%为重度干旱胁迫, 相对含水量80%为对照。试验共6个处理: ①对照, 即80%含水量; ②轻度胁迫(Slight drought stress, SD); ③重度胁迫(Heavy drought stress, HD); ④SA处理, 80%含水量; ⑤SA处理, 轻度胁迫(SA + Slight drought stress, SA + SD); ⑥SA处理, 重度胁迫(SA + Heavy drought stress, SA + HD)。

试验采用随机区组设计, 3次重复, 每处理小区30株。苗期管理采用常规方法, 保持各处理小区一致。胁迫处理后2、4、6、8和10 d取黄瓜幼苗第2片真叶及根系, 每次取样至少3株, 部分液氮速冻后 -80°C 冰箱中保存, 用于硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶活性的测定, 另一部分样品在

105 ℃烘箱中杀酶 15 min 后 60 ℃烘干至恒重，用于可溶性蛋白质和游离氨基酸含量的测定，同时取地上部及根系干样用于总氮、氨态氮及硝态氮含量的测定。

1.3 测定方法

总氮、氨态氮及硝态氮含量采用凯氏定氮法测定 (Leleu & Vuylstekker, 2004)。取黄瓜叶片和根系干样 0.05 g，采用茚三酮显色法 (李合生, 2000) 测定游离氨基酸含量。取黄瓜叶片和根系干样 0.05 g，采用考马斯亮蓝 G-250 染色法测定蛋白质含量 (上海植物生理学会, 1999)。

硝酸还原酶 (NR)、谷氨酰胺合成酶 (GS) 粗酶液的制备参照 Zhang 和 Shan (1997) 方法，准确称取液氮保存的植物材料 2 g，加入 2 mL 预冷的酶提取缓冲液 [20 mmol · L⁻¹ hepes-NaOH 缓冲液，pH 7.5，含 0.5 mmol · L⁻¹ β-巯基乙醇、5 mmol · L⁻¹ EDTA、2 mmol · L⁻¹ MgCl₂、0.5 mmol · L⁻¹ PMSF、2.5 mmol · L⁻¹ DTT、0.05% (体积比) Triton-100 和 2% (质量体积比) PVP] 冰浴研磨匀浆，匀浆液在 4 ℃ 下于 12 000 r · min⁻¹ 冷冻离心 15 min，收集上清液作为待测酶液，用于测定 GS、NR 酶活性。

NR 酶活性的测定：参照 Kaiser 和 Lewis (1984) 的方法。取酶粗提液 0.1 mL，加入 0.1 mol · L⁻¹ 磷酸缓冲液 (pH 7.5) 0.1 mL，1 mg · mL⁻¹ NADH 0.1 mL，0.1 mol · L⁻¹ KNO₃ 0.2 mL，并用蒸馏水定容至 2 mL，在 28 ℃ 预培养 15 min 后，加入 1 mL 1% (质量体积比) 氨基苯磺酰胺和 1 mL 0.02% (质量体积比) 萘基乙烯二胺水溶液终止反应。反应混合液在 5 000 r · min⁻¹ 离心 5 min，除去悬浮物，在 540 nm 处测定吸光值。空白对照不加 NADH，而加 0.1 mL 水代替。此反应为测定生成的亚硝酸盐的量，酶活力单位定义为在 28 ℃ 下每克鲜质量材料每小时催化生成的亚硝酸盐的量为一个酶活力单位。

GS 酶活性的测定：按照 Claussen 和 Lenz (1999) 的方法，适当改进，用 ATP-Na 和 MgSO₄ 代替二磷酸腺苷 (ADP) 和 MnCl₂。酶提取液 1.2 mL，加入 0.6 mL 咪唑—盐酸缓冲液 (0.25 mol · L⁻¹, pH 7.0)，0.4 mL 谷氨酸钠溶液 (0.3 mol · L⁻¹, pH 7.0)，0.4 mL ATP-Na 溶液 (30 mmol · L⁻¹, pH 7.0)，0.2 mL 羟胺 (0.6 mol · L⁻¹)，0.2 mL MgSO₄ (0.5 mol · L⁻¹)。反应液在 37 ℃ 水浴中保温 15 min，加入 0.8 mL FeCl₃ 试剂，终止反应。混合液于 4 000 r · min⁻¹ 离心 15 min，上清液在 540 nm 处测定吸光度。根据公式计算：GS 活力 (A · g⁻¹ · h⁻¹) = A / (W × t)。A 为 540 nm 处吸光值，W 为样品质量，t 为反应时间。

试验共设 3 次重复，采用单株取样，每次取样至少 3 株，图表数据均为 3 次重复的平均值。

2 结果与分析

2.1 SA 处理对干旱胁迫下黄瓜幼苗不同形态氮含量的影响

干旱胁迫条件下黄瓜幼苗地上部及根系中总氮含量下降，均极显著低于对照 (表 1)，重度胁迫处理的下降幅度高于轻度胁迫处理。氨态氮、硝态氮含量及无机氮占总氮比例均极显著高于对照，重度胁迫下无机氮积累量高于轻度胁迫处理，说明总氮含量的下降与无机氮的积累随胁迫强度的加剧而增大。干旱胁迫下植株的氮素积累减少，无机氮含量增加说明植株的氮素代谢系统紊乱，氮素的吸收和利用受到抑制。

SA 处理极显著提高了胁迫植株地上部及根系的总氮含量，极显著降低了植株氨态氮、硝态氮含量和无机氮的积累，其中，轻度胁迫下 SA 处理植株的无机氮含量极显著低于重度胁迫下 SA 处理植株，说明干旱胁迫下 SA 促进了植株氮素的吸收和转化，缓解了水分亏缺对黄瓜幼苗氮素代谢的胁迫作用，在轻度胁迫下 SA 作用效果最好。

表 1 水杨酸对干旱胁迫下黄瓜幼苗总氮、硝态氮及氨态氮含量的影响
Table 1 Effect of SA on total nitrogen, nitrate nitrogen and ammonia nitrogen in cucumber seedlings under drought stress

处理 Treatment	地上部 Shoot				地下部 Root			
	总氮/ (mg · g ⁻¹)	氨态氮/ (mg · g ⁻¹)	硝态氮/ (mg · g ⁻¹)	无机氮/总 氮/%	总氮/ (mg · g ⁻¹)	氨态氮/ (mg · g ⁻¹)	硝态氮/ (mg · g ⁻¹)	无机氮/ 总氮/%
	Total N	Ammonia N	Nitrate N	Inorganic N/Total N	Total N	Ammonia N	Nitrate N	Inorganic N/Total N
对照 (80) Control (80)	33.39 aAB	0.99 eD	1.18 dD	6.50 dD	23.58 aAB	0.70 eD	1.08 eE	7.56 eE
SD (60)	29.62 cC	2.13 bAB	3.06 bB	17.55 bB	19.81 cC	1.11 cB	2.21 bB	16.74 cC
HD (50)	24.03 eE	2.26 aA	3.38 aA	23.47 aA	14.22 eE	1.21 aA	2.47 aA	25.86 aA
SA (80)	34.13 aA	1.08 eD	1.27 dD	6.90 dD	24.32 aA	0.71 eD	1.03 eE	7.16 eE
SA+SD (60)	31.87 bB	1.77 dC	2.65 cC	13.85 cC	22.07 bB	0.99 dC	1.78 dD	12.55 dD
SA+HD (50)	27.26 dD	2.03 cB	2.99 bB	18.44 bB	17.46 dD	1.13 bB	2.05 cC	18.19 bB

注：对照 (80)：含水量 80%；SD (60)：轻度胁迫，含水量 60%；HD (50)：重度胁迫，含水量 50%；SA (80)：水杨酸处理，含水量 80%。同列数字后的不同小写字母表示差异达显著水平 ($P \leq 0.05$)，不同大写字母表示差异达极显著水平 ($P \leq 0.01$)。

Note: Control (80): Water content 80%; SD (60): Slight drought, water content 60%; HD (50): Heavy drought, water content 50%; SA (80): Salicylic acid, water content 80%. Different small letters indicate the significant difference at $P \leq 0.05$ level, different capital letters indicate the extremely significant difference at $P \leq 0.01$ level.

2.2 SA对干旱胁迫下黄瓜幼苗游离氨基酸含量的影响

干旱胁迫下黄瓜幼苗叶片和根系中游离氨基酸含量均显著高于对照（图 1）。胁迫强度越大升

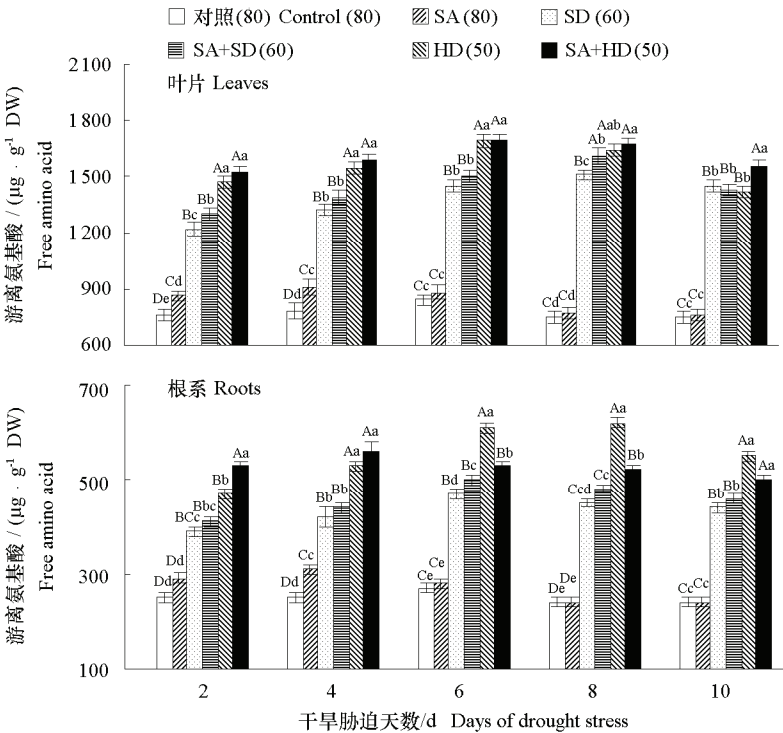


图 1 水杨酸对干旱胁迫下黄瓜叶片及根系游离氨基酸含量的影响

对照 (80)：基质含水量 80%；SA (80)：水杨酸处理，含水量 80%；SD (60)：轻度胁迫，含水量 60%；
HD (50)：重度胁迫，含水量 50%。

Fig. 1 Effect of SA on free amino acids content in leaves and roots of cucumber seedlings under drought stress
Control (80): Water content 80%; SA (80): Salicylic acid, water content 80%; SD (60): Slight drought, water content 60%;
HD (50): Heavy drought, water content 50%.

高幅度越大。在重度胁迫整个时期, SA 处理提高了叶片游离氨基酸含量, 胁迫 10 d 时明显高于不施 SA 的胁迫植株, 差异极显著, SA 处理后根系游离氨基酸含量在胁迫前 4 d 高于不施 SA 的胁迫植株, 之后有所下降, 且胁迫后 4~8 d 极显著低于不施 SA 的胁迫植株。在轻度胁迫下, SA 处理提高了胁迫植株中游离氨基酸的积累, 其中, 叶片中在胁迫 2 d 和 8 d 达到差异显著水平, 根系中游离氨基酸含量在 6 d 时达到最高, 比不施 SA 的胁迫植株提高了 83.98%, 差异显著。

2.3 SA对干旱胁迫下黄瓜幼苗可溶性蛋白质含量的影响

干旱胁迫下, 黄瓜幼苗叶片中可溶性蛋白质含量呈先升高后降低趋势, 随胁迫程度的加重变化更加明显。SA 处理极显著提高了胁迫植株的可溶性蛋白质含量, 在整个处理时期, 分别比不施 SA 的轻度胁迫植株和重度胁迫植株平均提高了 5.13% 和 4.02%。正常水分条件下, SA 处理后黄瓜叶片的可溶性蛋白质含量有所提高, 在处理 4 d 时达到最大值, 比对照提高了约 3.67% (图 2)。

轻度干旱胁迫 2~8 d, 黄瓜根系中可溶性蛋白质含量明显升高, 之后急剧下降 (图 2)。重度胁迫 2~4 d, 根系可溶性蛋白质含量高于对照, 随着胁迫时间延长不断下降, 到胁迫后 10 d 时, 可溶性蛋白质含量下降至对照的 90.14%。SA 提高了胁迫植株的可溶性蛋白质含量, 在轻度胁迫 2 d 和 10 d 时, 差异达到极显著水平。在重度胁迫整个时期, SA 处理显著提高根系可溶性蛋白质含量。正常水分条件下, SA 处理极显著提高了黄瓜根系的可溶性蛋白质含量, 比胁迫条件下表现更明显, 表明胁迫条件下 SA 处理后增加的蛋白质可能部分用于抵御干旱胁迫而损耗。

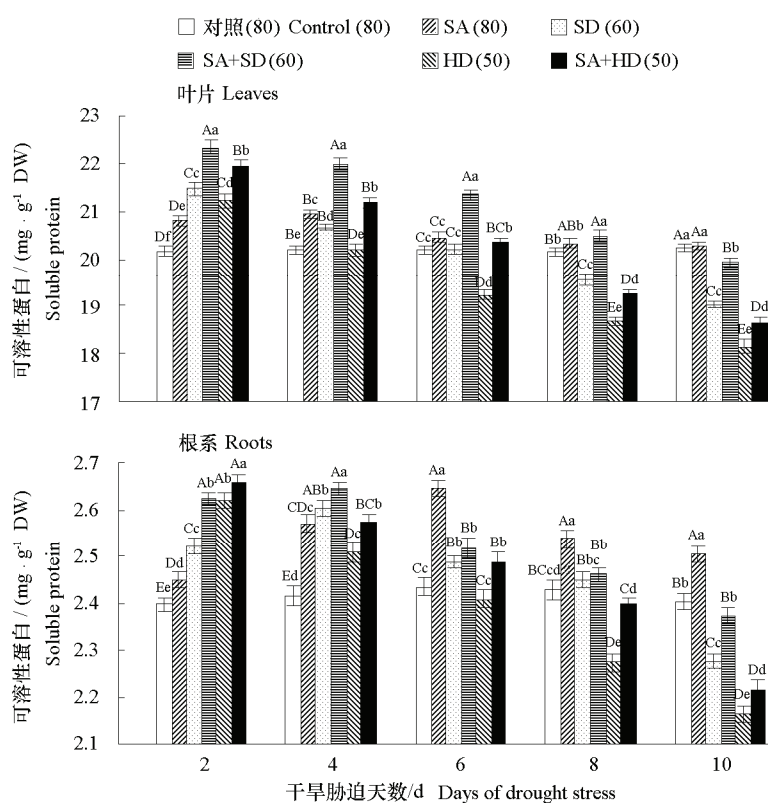


图 2 水杨酸对干旱胁迫下黄瓜叶片及根系可溶性蛋白质含量的影响

对照 (80): 基质含水量 80%; SA (80): 水杨酸处理, 含水量 80%; SD (60): 轻度胁迫, 含水量 60%;
HD (50): 重度胁迫, 含水量 50%。

Fig. 2 Effect of SA on soluble protein content in leaves and roots of cucumber seedlings under drought stress

Control (80): Water content 80%; SA (80): Salicylic acid, water content 80%; SD (60): Slight drought, water content 60%;
HD (50): Heavy drought, water content 50%.

2.4 SA对干旱胁迫下黄瓜幼苗硝酸还原酶（NR）、谷氨酰胺合成酶（GS）活性的影响

在干旱胁迫下，黄瓜叶片中 NR 活性明显降低，其下降幅度随胁迫程度加重而不断增大，在胁迫处理后期，下降趋势减缓（图 3）。SA 处理提高了同时期胁迫植株叶片中 NR 活性，其中，轻度胁迫 2~8 d 与不施 SA 的胁迫植株差异达到显著或极显著水平，重度胁迫仅在 4 d 时差异达到显著水平，表明外源 SA 提高叶片 NR 活性的作用效果以轻度胁迫条件下表现更加明显。正常水分条件下，SA 处理提高了黄瓜叶片 NR 活性，在处理 4 d 时达到最大值，比对照提高了 14.72%。

黄瓜根系中 NR 活性在干旱胁迫下呈下降趋势，重度胁迫的下降幅度高于轻度胁迫（图 3）。SA 处理仅在胁迫 4 d 显著提高根系中 NR 活性，轻度胁迫下 SA 处理后 NR 活性比不施 SA 的胁迫植株提高了 10.62%，重度胁迫下 SA 处理比不施 SA 的胁迫植株提高了 13.04%。正常水分条件下，SA 处理提高了黄瓜根系中 NR 活性，在处理 4 d 达到最大值，比对照提高了 14.72%。

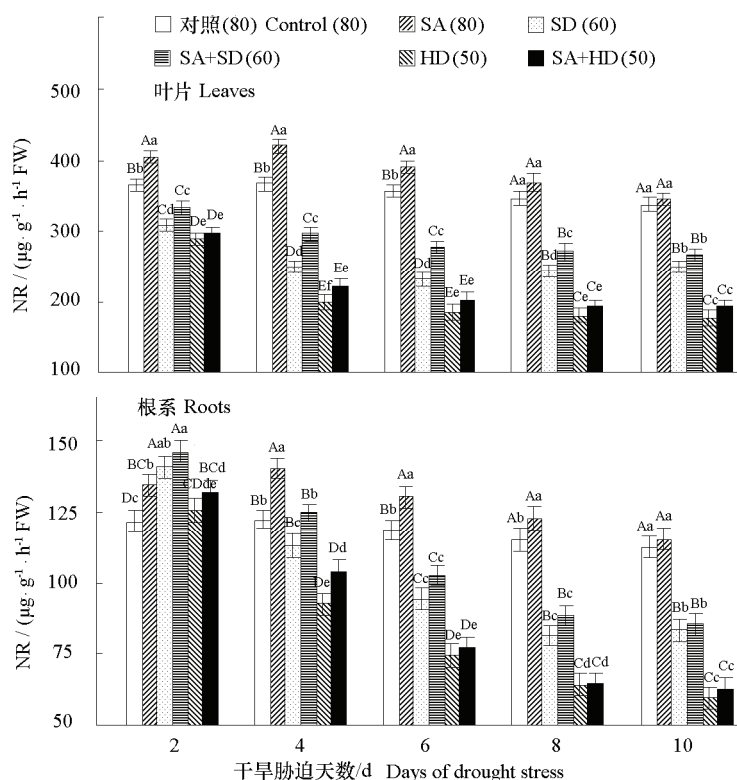


图 3 水杨酸对干旱胁迫下黄瓜叶片及根系硝酸还原酶活性的影响

对照 (80) : 基质含水量 80%; SA (80) : 水杨酸处理, 含水量 80%; SD (60) : 轻度胁迫, 含水量 60%;
HD (50) : 重度胁迫, 含水量 50%。

Fig. 3 Effect of SA on NR activity in leaves and roots of cucumber seedlings under drought stress

Control (80) : Water content 80%; SA (80) : Salicylic acid, water content 80%; SD (60) : Slight drought, water content 60%;
HD (50) : Heavy drought, water content 50%.

在干旱胁迫下，黄瓜叶片 GS 活性明显降低，重度胁迫下的下降幅度高于轻度胁迫，随着胁迫时间延长，其下降幅度减缓（图 4）。在轻度胁迫下，SA 处理提高了整个时期的 GS 活性，且胁迫 2~4 d 与不施 SA 的胁迫植株达到差异显著水平，在 4 d 时提高幅度最大，比对照提高了 15.13%。SA 处理对重度胁迫下幼苗叶片的 GS 活性无明显影响。表明外源 SA 提高叶片 GS 活性的作用效果

以轻度胁迫条件下表现更加明显。正常水分条件下, SA 处理 2 ~ 4 d 显著提高了黄瓜叶片的 GS 活性。

干旱胁迫下, 黄瓜根系中 GS 活性随着胁迫时间延长呈下降趋势, 但在胁迫 2 d 时其活性均高于对照, 之后急剧下降, 在胁迫处理 6 ~ 10 d 均显著低于对照, 重度胁迫处理下降幅度高于轻度胁迫处理。SA 处理后 GS 活性均高于同时期不施 SA 的胁迫植株, 其中, GS 活性的变化在轻度胁迫 4 ~ 8 d 与对照相比达到极显著水平。正常水分条件下, SA 处理提高了黄瓜根系的 GS 活性, 在处理 4 d 其提高幅度达到最大值, 比对照提高了 10.39%。

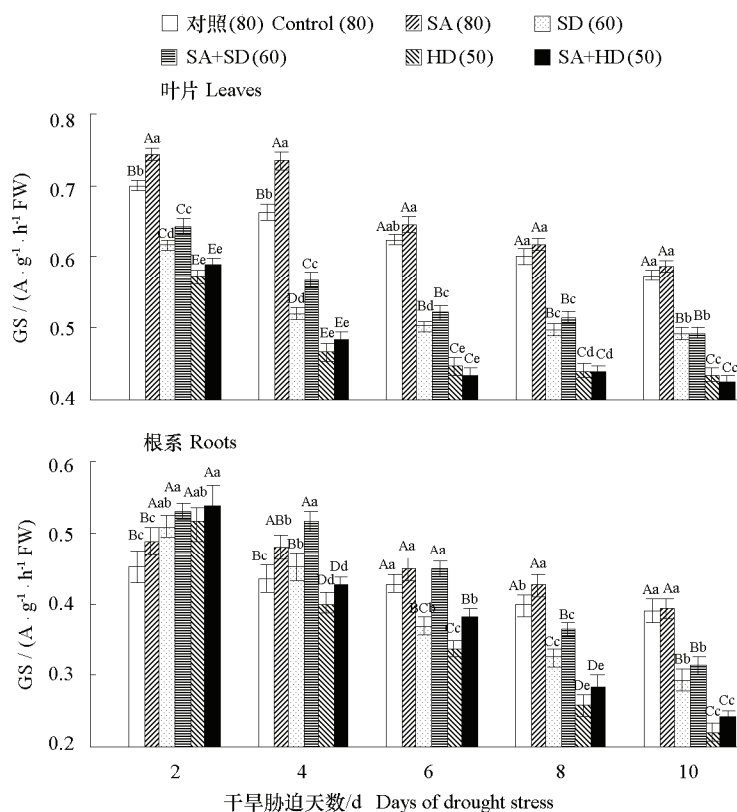


图 4 水杨酸对干旱胁迫下黄瓜叶片及根系谷氨酰胺合成酶活性的影响

对照 (80): 基质含水量 80%; SA (80): 水杨酸处理, 含水量 80%; SD (60): 轻度胁迫, 含水量 60%;

HD (50): 重度胁迫, 含水量 50%。

Fig. 4 Effect of SA on GS activity in leaves and roots of cucumber seedlings under drought stress

Control (80): Water content 80%; SA (80): Salicylic acid, water content 80%; SD (60): Slight drought, water content 60%;

HD (50): Heavy drought, water content 50%.

3 讨论

干旱胁迫严重影响植物对无机氮的吸收和利用, 造成植物体细胞内氮素代谢的紊乱, 引起无机氮在植物体内积累 (Wunna et al., 2009)。小麦在干旱胁迫下, 叶片的NR活性很快下降, 原因主要是酶的失活, 而不是酶合成量的减少 (Sýkorová et al., 2009)。GS活性下降导致NH₄⁺同化受阻, NH₄⁺的积累引起光合膜结构损伤, 光合速率下降, 进一步加剧了GS活性的下降 (Claussen & Lenz, 1999)。在本研究中, 干旱胁迫严重影响了黄瓜对氮素的利用, 表现在黄瓜植株总氮含量降低, 氨态氮和硝态氮积累。干旱胁迫下黄瓜幼苗叶片和根系内NR和GS活性呈下降趋势。这可能是由于根部NO₃⁻的

供应受阻而导致酶功能的丧失或酶合成减弱所致。

植物吸收的氮源经一系列的还原与同化过程后形成游离氨基酸、可溶性蛋白等有机含氮化合物,供植物吸收与利用。游离氨基酸的累积可以有效地提高植株的渗透调节能力和保水性能,是植物适应干旱胁迫的一种重要机制(Verbruggen & Hermans, 2008)。植物体内可溶性蛋白含量是反映植物体总代谢水平的一个重要指标。高含量的可溶性蛋白可帮助植物细胞维持较低的渗透势,抵抗干旱胁迫导致的细胞损伤(Triboi et al., 2003)。本研究结果表明,干旱胁迫促进了黄瓜幼苗游离氨基酸积累,而可溶性蛋白含量随胁迫时间延长呈先升高后下降趋势。可溶性蛋白的变化趋势可能是由于在干旱胁迫前期,根系 NR 和 GS 活性提高,促进了氮素的同化,使得谷氨酸等氨基酸的合成增加。而随着胁迫时间延长,持续胁迫导致蛋白合成酶类活性降低,蛋白水解酶的活性增加,导致蛋白降解,使游离氨基酸含量继续升高。

氮素代谢状况与植物抗旱性强弱存在一定的联系,高水平的氮素代谢可以提高植物的抗旱性。干旱胁迫时,高水平的氮素营养促进氮素代谢,表现在具有较高的 NR 活性和较低的蛋白酶、肽酶及核糖核酸酶活性,使蛋白质和 RNA 保持较高的水平,增加了总氮和叶绿素含量(孙群 等, 1998; Arora et al., 2005),从而增强植物耐受干旱胁迫的能力。干旱胁迫下,施用钾肥能显著提高 NR 活性及脯氨酸、甜菜碱和可溶性蛋白质含量,改善氮代谢,是钾增强作物抗旱性的主要机理之一(张立新和李生秀, 2007)。进一步证明,在同等程度的干旱胁迫条件下,蛋白质含量高的植株因其吸水和抗脱水能力较强,则组织相对含水量也较高,可见,蛋白质的作用是改善植物体内的水分状况,减轻其受旱程度,从而使植物表现出较强的抗旱性。也有研究表明干旱胁迫条件下氮素代谢的升高可能降低了细胞膜受伤害的程度,进而降低细胞失水,提高植物抗旱性(Saneoka et al., 2004)。然而,当玉米体内氮代谢水平受干旱胁迫和低氮胁迫严重影响时,会限制氮素的转化和利用,并破坏其他生理代谢功能,最终导致抗旱性下降(Osborne et al., 2002)。

SA 作为一种新型植物生长调节剂,可以调节植物体内氮素代谢水平。在干旱胁迫下,外源 SA 能够使植物的渗透调节物质如可溶性糖、可溶性蛋白等含量增加,提高植物水分利用效率(刘杰 等, 2008)。本研究结果表明,干旱胁迫下 SA 促进了黄瓜幼苗氮素的吸收,并通过提高 NR 和 GS 的活性,增强了氮素的还原与同化,提高了总氮、可溶性蛋白和游离氨基酸的积累,有效缓解了干旱胁迫对植株氮素同化的抑制。分析外源 SA 对干旱胁迫下黄瓜幼苗氮素同化调节的生理原因,可能是外源 SA 显著提高了 N 还原动力泵,从而拉动了 N 素的还原。这与韭菜上的研究相似(曹岩坡, 2007)。N 还原动力泵升高的原因可能是由于 SA 的直接作用,也可能是因为 SA 影响植物激素代谢而产生的间接作用,还可能是发生在 NR mRNA 转录水平上。有研究表明,SA 可诱导植物细胞分裂素(CTK)和生长素(IAA)的形成(刘新 等, 2000),而 CTK 与 NR 的 mRNA 转录水平有关(陆嘉陵 等, 1989)。也可能与 SA 对碳代谢的调节有关,因为在植物体内氮代谢与碳代谢之间既存在能量和还原力的竞争,又存在相互依赖、相互促进的关系。一方面 C 代谢为 N 代谢提供能量和底物;另一方面, N 代谢同 C 代谢竞争能量和底物的同时,又对 C 代谢起一定促进作用,如生成的 NH_3^+ 对 CO_2 同化有正向效应(王宪泽 等, 2002)。另外,在能量代谢上, C、N 两大物质还原所需的大部分能量都来自光合链中所产生的高能电子,还原型的铁氧还蛋白把电子供给 NO_2^- , 使其还原为 NH_4^+ , 参与氨基酸或蛋白质的合成(董彩霞 等, 2002)。本课题组前期研究结果表明外源 SA 提高了黄瓜叶片净光合速率(王晓黎 等, 2011),这就为硝酸盐的同化提供了还原力、ATP 和 C - 骨架,间接的促进了氮素的吸收与同化,使较多的光合产物流向氮代谢,促进 NR 和 GS 活性提高,增加可溶性蛋白质和游离氨基酸含量,提高渗透调节作用,进而提高氮素同化能力,这可能是外源 SA 提高抗旱性的重要原因之一。

References

- Arora A, Singh V P, Mohan J. 2005. Effect of nitrogen and water stress on photosynthesis and nitrogen content in wheat. *Biologia Plantarum*, 44 (1): 153 - 155.
- Cao S F, Hu Z C, Zheng Y H. 2010. Synergistic effect of heat treatment and salicylic acid on alleviating internal browning in cold-stored peach fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 58: 93 - 97.
- Cao Yan-po. 2007. Studies on decreasing effect of nitrate accumulation by exogenous SA and gluin chinese chives[M. D. Dissertation]. Baoding: Agricultural University of Hebei. (in Chinese)
- 曹岩坡. 2007. 外源水杨酸和谷氨酸降低韭菜硝酸盐累积的效应研究[硕士论文]. 保定: 河北农业大学.
- Cao Y, Fan X R, Sun S B. 2008. Effect of nitrate on activities and transcript levels of nitrate reductase and glutamine synthetase in rice. *Pedosphere*, 18 (5): 664 - 673.
- Cao Yan-po, Gao Zhi-kui, He Jun-ping, Wang Mei, Gao Rong-fu. 2009. Effects of exogenous salicylic acid on nitrate accumulation and reduction and assimilation in the leaves of Chinese chive. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (3): 415 - 420. (in Chinese)
- 曹岩坡, 高志奎, 何俊萍, 王 梅, 高荣孚. 2009. 外源水杨酸对韭菜硝酸盐累积及还原同化的影响. *园艺学报*, 36 (3): 415 - 420.
- Chen Nian-lai, Hu Min, Dai Chun-yan, Yang Shi-mei. 2010. The Effects of inducing treatments on phenolic metabolism of melon leaves. *Acta Horticulturae Sinica*, 37 (11): 1759 - 1766. (in Chinese)
- 陈年来, 胡 敏, 代春艳, 杨世梅. 2010. 诱抗处理对甜瓜叶片酚类物质代谢的影响. *园艺学报*, 37 (11): 1759 - 1766.
- Claussen W, Lenz F. 1999. Effect of ammonium or nitrate nutrition on net photosynthesis, growth, and activity of the enzymes nitrate reductase and glutamine synthetase in blueberry, raspberry and strawberry. *Plant and Soil*, 208: 95 - 102.
- Dong Cai-xia, Zhao Shi-jie, Tian Ji-chun, Meng Qing-wei, Zou Qi. 2002. Effects of different concentration of NO_3^- on the chlorophyll fluorescence parameters in seedling leaves of high protein wheat cultivars. *Acta Agronomica Sinica*, 28 (1): 59 - 64. (in Chinese)
- 董彩霞, 赵世杰, 田纪春, 孟庆伟, 邹 琦. 2002. 不同浓度的硝酸盐对高蛋白小麦幼苗叶片叶绿素荧光参数的影响. *作物学报*, 28 (1): 59 - 64.
- Fariduddin Q, Khanam S, Hasan S A. 2009. Effect of 28-homobrassinolide on the drought stress-induced changes in photosynthesis and antioxidant system of *Brassica juncea* L. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31 (5): 889 - 897.
- Gunes A, Inal A, Alpaslan M. 2007. Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity. *J Plant Physiol*, 164: 728 - 736.
- Hayat S, Hasan S A, Fariduddin Q. 2008. Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. *J Plant Int*, 3: 297 - 304.
- Huang Y, Xiao B, Xiong L. 2007. Characterization of a stress responsive proteinase inhibitor gene with positive effect in improving drought resistance in rice. *Planta*, 226: 73 - 85.
- Kaiser J J, Lewis O A M. 1984. Nitrate reductase and glutamine synthetase activity in leaves and roots of nitrate-fed *Helianthus annuus* L. *Plant and Soil*, 70: 127 - 130.
- Lee B, Kim S, Choi S B. 2009. Pathogen-inducible CaUGT1 is involved in resistance response against TMV infection by controlling salicylic acid accumulation. *FEBS Lett*, 583 (23): 15 - 20.
- Leleu O, Vuylsteker C. 2004. Unusual regulatory nitrate reductase activity in cotyledons of *Brassica napus* seedlings: Enhancement of nitrate reductase activity by ammonium supply. *Journal of Experimental Botany*, 55 (398): 815 - 823.
- Li He-sheng. 2000. Plant physiological and biochemical principles and experimental techniques. Beijing: Higher Education Press: 192. (in Chinese)
- 李合生. 2000. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社: 192.
- Liu Jie, Yang Xu-ru, Fang Jing. 2008. The effect of salicylic acid on plant resistance to drought. *Agriculture Science of Heilongjiang*, (4): 135 - 137. (in Chinese)
- 刘 杰, 杨絮茹, 方 婧. 2008. 水杨酸对植物抗旱性的影响. *黑龙江农业科学*, (4): 135 - 137.
- Liu Xin, Li Yun, Zhang Shu-qiu. 2000. The effect of salicylic acid on plant growth, endogenesis cytokinin and indoacetic acid in *Vicia faba* seedling. *Plant Physiology Communications*, 36 (6): 512 - 514. (in Chinese)
- 刘 新, 李 云, 张蜀秋. 2000. 水杨酸对蚕豆幼苗生长及内源细胞分裂素和生长素的影响. *植物生理学通讯*, 36 (6): 512 - 514.

- Lu Jia-ling, Jian Zhi-ying, Tang Yu-wei. 1989. The accelerative effects of cytokinin on nitrates reductase induction. *Journal of Integrative Plant Biology*, 31 (2): 123 - 127. (in Chinese)
- 陆嘉陵, 简志英, 汤玉玮. 1989. 细胞分裂素促进小麦硝酸还原酶的诱导. *植物学报*, 31 (2): 123 - 127.
- Nazar R, Iqbal N, Syeed S. 2011. Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under salt stress by enhancing nitrogen and sulfur assimilation and antioxidant metabolism differentially in two mungbean cultivars. *Journal of Plant Physiology*, 168: 807 - 815.
- Osborne S L, Schepers J S, Francis D D, Schlemmer M R. 2002. Use of spectral radiance to estimate in-season biomass and grain yield in nitrogen and water stressed corn. *Crop Science*, 42 (1): 165 - 171.
- Saneoka H, Moghaieb R E A, Premachandra G S, Fujita K. 2004. Nitrogen nutrition and water stress effects on cell membrane stability and leaf water relations in *Agrostis palustris* Huds. *Environmental and Experimental Botany*, 52 (2): 131 - 138.
- The Shanghai Plant Physiology. 1999. Experimental guide of modern plant physiology. Beijing: Science Press: 133. (in Chinese)
- 上海植物生理学会. 1999. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社: 133.
- Sun Qun, Li Xue-jun, Da Wa. 1998. Effect of nitrogen on seedling growth and some physiological changes of corn under water stress//Zou Qi, Li De-quan. Studies on cultural physiology of plant. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press: 159 - 161. (in Chinese)
- 孙 群, 李学俊, 达 娃. 1998. 氮素对水分胁迫下玉米苗期生长和某些生理特性的影响//邹 琦, 李德全. 作物栽培生理研究. 北京: 中国农业科技出版社: 159 - 161.
- Sýkorová B, Kurešová G, Daskalova S. 2009. Senescence-induced ectopic expression of the *A. tumefaciens ipt* gene in wheat delays leaf senescence, increases cytokinin content, nitrate influx, and nitrate reductase activity, but does not affect grain yield. *Journal of Experimental Botany*, 59 (2): 377 - 387.
- Teixeira J, Pereira S. 2007. High salinity and drought act on an organ-dependent manner on potato glutamine synthetase expression and accumulation. *Environmental and Experimental Botany*, 60 (1): 121 - 126.
- Triboi E, Martre P, Triboi-Blondel A. 2003. Environmentally-induced changes in protein composition in developing grains of wheat are related to changes in total protein content. *Journal of Experimental Botany*, 54 (388): 1731 - 1742.
- Verbruggen N, Hermans C. 2008. Proline accumulation in plants: A review. *Amino Acid*, 35 (4): 753 - 759.
- Wang Xiao-li, Hao Jing-hong, Dong Chun-juan. 2011. Effect of exogenous salicylic acid on PS II activity and absorbed light allocation in leaves of cucumber seedling. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 31 (8): 1644 - 1650. (in Chinese)
- 王晓黎, 郝敬虹, 董春娟. 2011. 外源水杨酸对黄瓜幼苗叶片 PS II 活性和光能分配的影响. *西北植物学报*, 31 (8): 1644 - 1650.
- Wang Xian-ze, Zhang Shu-qin, Tian Ji-chun, Zhao Shi-jie. 2002. The effect of sodium bisulfite on the yield and protein content of wheat grain. *Scientia Agricultura Sinica*, 35 (3): 277 - 281. (in Chinese)
- 王宪泽, 张树芹, 田纪春, 赵世杰. 2002. 喷洒亚硫酸氢钠对小麦籽粒产量和蛋白质含量的影响. *中国农业科学*, 35 (3): 277 - 281.
- Wunna H, Jogloy S, Toomsan B. 2009. Response to early drought for traits related to nitrogen fixation and their correlation to yield and drought tolerance traits in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Asian Journal of Plant Sciences*, 8 (2): 138 - 145.
- Zhang Li-xin, Li Sheng-xiu. 2007. Effects of application of N and K fertilizers on nitrogen metabolism of two genotype varieties of maize under water stressed condition. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 13 (4): 554 - 560. (in Chinese)
- 张立新, 李生秀. 2007. 水分胁迫下氮、钾对不同基因型夏玉米氮代谢的影响. *植物营养与肥料学报*, 13 (4): 554 - 560.
- Zhang Z B, Shan L. 1997. Research development in estimation models of crop water use efficiency and transpiration and evaporation. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 15 (1): 73 - 78.