

吴晓丽, 甘丽萍, 钟彦. 外源 NO 供体硝普钠对干旱胁迫下裸大麦幼苗光合特性、游离脯氨酸及抗氧化酶的影响[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(5): 85–88. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.05.027

# 外源 NO 供体硝普钠对干旱胁迫下裸大麦幼苗光合特性、游离脯氨酸及抗氧化酶的影响

吴晓丽<sup>1,2</sup>, 甘丽萍<sup>1</sup>, 钟彦<sup>1</sup>

(1. 重庆三峡学院生命科学与工程学院, 重庆 404100; 2. 四川省农业科学院作物研究所, 四川成都 610066)

**摘要:**以 20% 聚乙二醇(PEG-6000)模拟干旱胁迫, 利用一氧化氮(nitric oxide, NO)供体硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)处理裸大麦幼苗, 探讨外源 NO 对水分胁迫下裸大麦幼苗光合特性、游离脯氨酸和抗氧化酶的影响。结果表明, 50~150  $\mu\text{mol/L}$  NO 供体 SNP 能显著缓解干旱胁迫对裸大麦幼苗造成的伤害, 其中 100  $\mu\text{mol/L}$  SNP 缓解效果最好, 而且与其他 2 个浓度处理相比能提高叶绿素含量、光合速率、胞间  $\text{CO}_2$  浓度、叶片脯氨酸含量, 并诱导气孔关闭, 此外还可降低叶片丙二醛、过氧化氢含量和质膜透性, 增强幼苗叶片超氧化物歧化酶、过氧化氢酶活性。

**关键词:**一氧化氮; 硝普钠; 干旱胁迫; 裸大麦幼苗; 光合特性; 脯氨酸; 抗氧化酶

**中图分类号:** S512.301 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)05-0085-04

裸大麦属禾本科(Gramineae)大麦属(*Hordeum*), 别称青裸, 主要分布于海拔 2 500~3 000 m 的西藏自治区、青海省、甘肃省的部分地区和四川甘孜、阿坝州等地, 是藏族牧民的主食糌粑和主饮裸大麦酒的原粮, 其产量占世界裸大麦产量的 70%<sup>[1-2]</sup>。由于该地区降水量少, 生态条件复杂, 干旱胁迫常常是导致裸大麦产量降低的重要原因之一, 因此提高裸大麦的抗旱性是日前高海拔地区植物逆境研究的重要课题。一般认为, 植物受到干旱胁迫后, 植物体活性氧增加、细胞渗透调节物质变化, 导致膜脂过氧化、个体及群体光合作用受到抑制、水分利用效率受到影响, 最终植物个体或群体生长受抑制, 形态发生变化, 生物量或产量受到影响<sup>[3-5]</sup>。

一氧化氮(nitric oxide, NO)是广泛存在于植物组织中的一种重要的氧化还原信号分子和毒性分子, 也是一种活性氮(reactive nitrogen species, RNS), 能调节植物的生长、发育, 参与植物呼吸作用<sup>[6]</sup>、光形态建成<sup>[7]</sup>、种子萌发<sup>[8]</sup>、衰老<sup>[9]</sup>、细胞程序性死亡<sup>[7]</sup>以及抗病防御反应<sup>[10]</sup>等过程, 并参与植物对各种逆境胁迫的应答过程<sup>[11]</sup>。NO 对植物体的作用具有双重性, 即低浓度 NO 可作为抗氧化剂对  $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$  等活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)具有清除作用, 而且能够诱导抗氧化酶基因的表达, 缓解各种胁迫造成的氧化损伤, 增强植物的抗逆能力; 但较高浓度的 NO 则可引发自由基链式反应, 导致细胞损伤<sup>[12]</sup>。目前, NO 在植物生理过程中的作用机理基本上还处于起始阶段<sup>[13]</sup>。有关 NO 对于高海拔地区植物的影响研究资料甚少, 尤其是关于 NO 对裸大麦幼苗抗旱作用机理方面的研究尚未见报道。本项目以裸大麦幼苗为研究对象, 通过外源 NO 供体硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)对干旱胁迫条件下的裸大麦幼苗的影响, 研究不同浓度 SNP

对干旱胁迫下裸大麦幼苗叶片光合特性、抗氧化系统、渗透调节等生理代谢的调控, 进一步探讨 NO 提高裸大麦抗旱性的作用机制。旨在了解 NO 在干旱胁迫下的作用机理, 为 NO 在植物抗逆反应中的作用提供理论证据, 为培育新的具有抗逆性的作物品种提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料培养与处理

裸大麦(*Hordeum vulgare* L. var. *nudum*)品种为藏青 25, 种子经 0.1%  $\text{HgCl}_2$  消毒, 用流水冲洗干净后于室温下催芽 12 h, 25  $^{\circ}\text{C}$  培养箱中萌发 24 h, 精选露白种子植入消毒的石英砂中, 置于昼温/夜温( $23 \pm 2$ )  $^{\circ}\text{C}$ /( $18 \pm 2$ )  $^{\circ}\text{C}$ 、照度 2 000 lx 的温室中培养, 每日光照 13 h。用 Hoagland 营养液培养至 3 叶 1 心时, 挑选长势一致的幼苗分组进行不同处理。

以正常营养液植株为对照(CK), 用 20% 聚乙二醇(PEG6000)处理模拟干旱胁迫(DS), 干旱胁迫下, SNP 浓度设定 50、100、150  $\mu\text{mol/L}$  3 个浓度, 分别记为: 20% PEG 6000 + 50  $\mu\text{mol/L}$  SPN (简称 DS + SPN<sub>50</sub>)、20% PEG 6000 + 100  $\mu\text{mol/L}$  SNP (简称 DS + SPN<sub>100</sub>)、20% PEG6000 + 150  $\mu\text{mol/L}$  SNP (简称 DS + SPN<sub>150</sub>), 共 5 个处理。处理 7 d 后测定幼苗各项生理指标和光合参数。为了保证处理浓度的稳定性, 处理期间 2 d 更换 1 次营养液。试验设 3 个重复。

### 1.2 测定方法

超氧化物歧化酶(SOD)活性采用 McCord 等报道的方法<sup>[14]</sup>测定, 过氧化氢酶(CAT)活性采用 Luck 等报道的方法<sup>[15]</sup>测定, 丙二醛(MDA)采用 Heath 等报道的方法<sup>[16]</sup>测定, 过氧化氢( $\text{H}_2\text{O}_2$ )含量采用 Teranishi 等报道的方法<sup>[17]</sup>测定, 质膜透性采用 Blum 等报道的方法<sup>[18]</sup>测定, 脯氨酸含量采用 Bates 等报道的方法<sup>[19]</sup>测定。

用便携式光合速率测定仪(Li-Cor 6400 型, 美国 Li-Cor 公司)测定生长点下第 2 张展开叶的净光合速率 [ $P_n$ ,  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ]、气孔导度 [ $G_s$ ,  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ]、胞间二氧化

收稿日期: 2014-06-04

基金项目: 重庆市自然科学基金(编号: cstc2012jjA1175)。

作者简介: 吴晓丽(1984—), 女, 四川渠县人, 博士, 讲师, 主要从事植物学研究。E-mail: wuxiaolicj@126.com。

碳浓度( $C_i$ ,  $\mu\text{mol/mol}$ )、蒸腾速率[ $E$ ,  $\text{mmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ]。并计算瞬时水分利用效率( $\text{IWUE}$ ,  $\text{mmol/mol}$ ):  $\text{IWUE} = P_n/E^{[20]}$ 。测定条件:光量子通量密度为  $1\,200\,\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,  $\text{CO}_2$  气体采自相对稳定的  $3\sim4\,\text{m}$  的空中,叶室温度为  $25\,^\circ\text{C}$ 。叶绿素相对含量采用叶绿素测定仪测定 SPAD 值 (SPAD - 502; Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japan)。

与气体交换参数测定同期,测定叶绿素荧光参数。测定前,将叶片在不透光的叶夹中暗适应  $20\,\text{min}$ ,然后采用便携式脉冲调制荧光仪 PAM - 2100 (Walz - Effeltlich, Germany) 进行测定,先在弱光下测定最小荧光 ( $F_0$ ),随后在强闪光 [ $6\,000\,\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ]、脉冲时间为  $0.7\,\text{s}$  条件下测定最大荧光 ( $F_m$ ),当荧光参量从  $F_m$  下降至  $F_0$  时,打开作用光 [ $1\,200\,\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ],荧光恒定时测量稳态荧光  $F$ ,加上 1 个强闪光后测定  $F_m'$ ,接着关闭作用光使叶片适应  $3\,\text{s}$  后,打开远红外光,  $5\,\text{s}$  后测定最小荧光  $F_0'$ 。光系统 II (PS II) 的最大光能转化效率( $F_v/F_m$ ):  $(F_v/F_m) = (F_m - F_0)/F_m$ ; PS II 潜

在活性( $F_v/F_0$ ):  $F_v/F_0 = (F_m - F_0)/F_0$ ;量子产量 ( $\Phi_{\text{PS II}}$ ):  $\Phi_{\text{PS II}} = \Delta F/F_m'$ ;表观电子传递速率(ETR):  $\text{ETR} = \Delta F/F_m' \times \text{PPFD}$  (光量子通量密度)  $\times 0.5 \times 0.84$ ;同时测得光化学猝灭系数( $q_p$ ):  $q_p = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_0')$  和非光化学猝灭系数 ( $q_N$ ):  $q_N = (F_m - F_m')/F_m'^{[21]}$ 。

1.3 数据分析

所有数据用 SAS 软件进行单因素方差分析,并对平均数用 Duncan's 新复极差法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 外源 NO 对干旱胁迫下裸大麦幼苗光合特性的影响  
由表 1 可知,干旱胁迫显著降低裸大麦幼苗的 SPAD 值、 $P_n$ 、 $G_s$ 、 $E$ 、 $C_i$ , SNP 处理不同程度地缓解了由于干旱胁迫造成的 SPAD 值、 $P_n$ 、 $C_i$  降低,但  $G_s$ 、 $E$  值表现为下降趋势。此外,与对照相比,干旱胁迫显著增加了  $\text{IWUE}$ ,且 SNP 处理促进了  $\text{IWUE}$  的增加,其中 DS + SNP<sub>100</sub> 处理的效果最好。

表 1 外源 NO 对干旱胁迫下裸大麦幼苗光合参数的影响

处理	SPAD 值	$P_n$	$G_s$	$E$	$C_i$	IWUE
		[ $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ]	[ $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ]	[ $\text{mmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ]	( $\mu\text{mol/mol}$ )	
CK	42.52 ± 3.25a	16.15 ± 1.23a	0.385 ± 0.012a	6.37 ± 0.57a	275 ± 7.23a	2.53 ± 0.13e
DS	10.34 ± 2.83d	9.88 ± 1.45d	0.291 ± 0.023b	3.35 ± 0.37b	210 ± 5.19d	2.94 ± 0.16d
DS + SNP <sub>50</sub>	35.64 ± 1.59c	12.00 ± 1.33c	0.232 ± 0.031c	2.45 ± 0.46c	245 ± 8.58c	4.89 ± 0.11bc
DS + SNP <sub>100</sub>	38.90 ± 2.77b	13.03 ± 1.27b	0.180 ± 0.041d	2.25 ± 0.77c	255 ± 6.32b	5.79 ± 0.19a
DS + SNP <sub>150</sub>	36.84 ± 3.65c	12.77 ± 1.67bc	0.174 ± 0.055d	2.37 ± 0.53c	240 ± 6.00bc	5.38 ± 0.24b

注:同列数据后标有不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。表 2 同。

2.2 外源 NO 对干旱胁迫下裸大麦幼苗叶绿素荧光的影响  
如表 2 所示,与对照相比,干旱胁迫显著降低裸大麦幼苗的  $F_v/F_m$ 、 $\Phi_{\text{PS II}}$ 、ETR、 $q_p$ ,但显著增加  $q_N$ 。SNP 处理则明显缓

解干旱对叶绿素荧光参数的降低,且抑制  $q_N$  的快速增长。对于  $\Phi_{\text{PS II}}$ 、ETR、 $q_p$  所有 SNP 处理表现为:DS + SNP<sub>100</sub> > DS + SNP<sub>150</sub> > DS + SNP<sub>50</sub>。

表 2 外源 NO 对干旱胁迫下裸大麦幼苗叶绿素荧光参数的影响

处理	$F_v/F_m$	$\Phi_{\text{PS II}}$	ETR	$q_p$	$q_N$
CK	0.823 ± 0.020a	0.685 ± 0.020a	345 ± 6.0a	0.895 ± 0.022a	0.367 ± 0.015d
DS	0.428 ± 0.040d	0.500 ± 0.040d	252 ± 5.5d	0.617 ± 0.013d	1.150 ± 0.021a
DS + SNP <sub>50</sub>	0.679 ± 0.079bc	0.570 ± 0.029c	287 ± 4.7c	0.700 ± 0.025c	0.671 ± 0.015b
DS + SNP <sub>100</sub>	0.700 ± 0.054b	0.600 ± 0.034b	302 ± 5.9b	0.789 ± 0.011b	0.586 ± 0.032c
DS + SNP <sub>150</sub>	0.600 ± 0.037c	0.590 ± 0.030bc	297 ± 6.3bc	0.750 ± 0.025bc	0.620 ± 0.028bc

2.3 外源 NO 对干旱胁迫下裸大麦幼苗叶片过氧化氢含量、丙二醛含量、膜质相对透性的影响

由图 1 可见,与正常生长的裸大麦幼苗相比较,干旱胁迫后,叶片过氧化氢含量显著增加,SNP 处理则明显缓解了过氧化氢的积累,尤其是 SNP<sub>100</sub> 处理抑制效果最为明显。干旱胁迫也明显增加丙二醛含量,说明细胞已经受到伤害,而 SNP 处理显著缓解了干旱胁迫下叶片丙二醛的积累。在干旱胁迫条件下,裸大麦幼苗的质膜透性增加,电解质大量外渗,外源 NO 的添加显著降低了裸大麦幼苗叶片的质膜透性,使细胞膜的离子渗漏减少,保护了细胞结构的完整性。

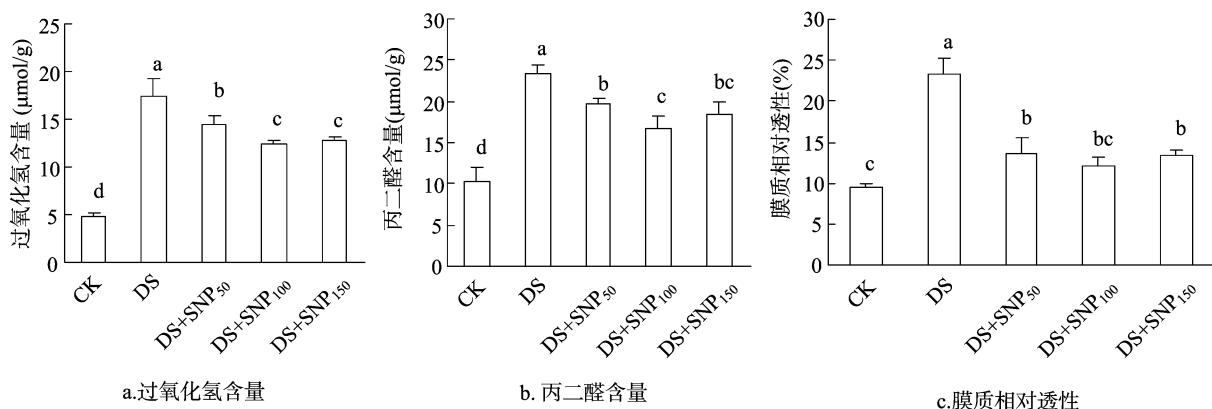
2.4 外源 NO 对干旱胁迫下裸大麦幼苗叶片脯氨酸含量的影响  
脯氨酸是植物体内一种重要的渗透调节物质和抗氧化物质。干旱胁迫显著增加了脯氨酸含量,SNP 处理后,脯氨酸增加加剧,不同 SNP 处理浓度对脯氨酸含量变化影响无明显差异(图 2)。

2.5 外源 NO 对干旱胁迫下裸大麦抗氧化系统的影响

从图 3 可以看出,裸大麦幼苗在遭受干旱胁迫后,SOD 及 CAT 活性显著低于对照;外源 NO 处理增加 SOD 活性,其增加量显著高于对照,而 CAT 活性在施用 NO 条件下也显著增加,但活性仍低于对照。综合比较对干旱胁迫下裸大麦抗氧化系统的影响效果,处理 DS + SNP<sub>100</sub> 表现效果最好,其次是 DS + SNP<sub>150</sub>。

3 结论与讨论

干旱胁迫下气孔的控制是提高水分利用的主要因素之一。短期的水分胁迫通常引起气孔关闭和气孔导度的下降,从而导致光合速率和蒸腾速率的下降。本研究中裸大麦  $P_n$  和  $G_s$  伴随着  $C_i$  的下降而下降(表 1),这表明干旱胁迫致使光合速率下降的主要原因是气孔关闭<sup>[22]</sup>。而 SNP 处理有效提高  $P_n$ ,这可能与叶绿素含量的增加有关(表 1)。本研究发现 SNP 处理进一步降低了气孔导度和蒸腾速率,表明外源 NO 施用可诱导气孔关闭以保护植物细胞免受氧化损伤<sup>[23]</sup>。



不同处理间标有不同小写字母表示显著差异 ( $P < 0.05$ )。图2、图3同

图1 外源 NO 对干旱胁迫下裸大麦幼苗过氧化氢含量、丙二醛含量、膜质相对透性的影响

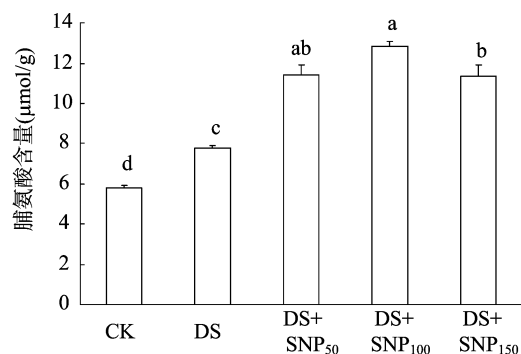
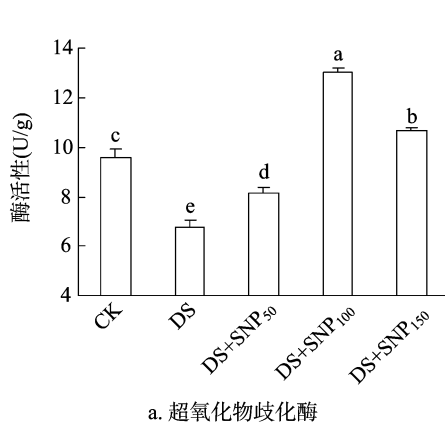
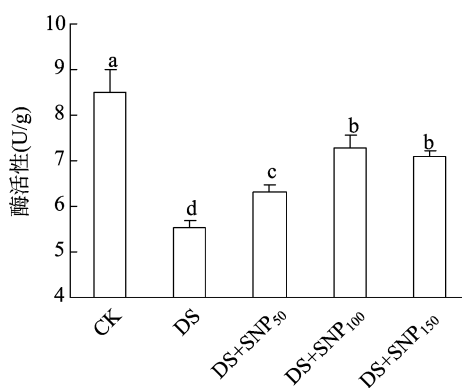


图2 外源 NO 对干旱胁迫下裸大麦幼苗脯氨酸含量的影响



a. 超氧化物歧化酶



b. 过氧化氢酶

图3 外源 NO 对干旱胁迫下裸大麦幼苗超氧化物歧化酶、过氧化物酶活性的影响

子传递来匹配碳代谢对 ATP 和 NADPH 需求的减少。同时,干旱胁迫显著增加 NPQ,说明裸大麦通过提高热耗散来降低吸收光能的转换效率<sup>[13]</sup>。通过外施不同浓度的 SNP 均使干旱胁迫下裸大麦幼苗  $F_v/F_m$ 、 $q_p$ 、ETR、 $\Phi_{PSII}$  下降的幅度明显减小,  $q_N$  上升。由此表明,合适浓度的外源 NO 能够缓解干旱胁迫对裸大麦光合机构的伤害和光化学活性的抑制,增加光合电子传递,提高光化学速率,降低叶片的非光化学猝灭和天线热耗散,提高叶绿素荧光产额(表1、表2),且不同程度地提高叶绿素的含量和光合速率<sup>[28]</sup>。

丙二醛含量的增加及电子泄露是氧化性损伤的重要表现<sup>[29]</sup>。干旱胁迫下,裸大麦叶片内的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量、丙二醛含量及质膜透性显著增加,说明产生了大量活性氧。而外源 NO

此外,干旱胁迫下气孔关闭导致瞬时水分利用效率的增大,而 NO 应用进一步加剧 IWUE 增大,这主要是因为植物通过蒸腾作用和 CO<sub>2</sub> 的吸收调节水分损失<sup>[24-25]</sup>。

试验结果表明,干旱胁迫导致裸大麦幼苗叶片叶绿素荧光参数  $F_v/F_m$ 、 $\Phi_{PSII}$ 、ETR、 $q_p$  降低,但  $q_N$  明显升高(表2)。 $F_v/F_m$  通常用于了解 PS II 系统效率的稳定性,  $\Phi_{PSII}$  反映的是在光照下 PS II 反应中心有部分关闭时的实际光化学效率<sup>[26]</sup>。 $F_v/F_m$  和  $\Phi_{PSII}$  显著降低,说明叶绿素的 PS II 反应中心受到损伤,光合活性下降<sup>[27]</sup>。ETR 表示电子传递速率,  $q_p$  反映天线色素捕获的光能用于光化学电子传递的份额, ETR、 $q_p$  降低,表明叶片 PS II 的原初光化学反应可通过下调光合电

施用显著降少了这些指标的增加,表明外源 NO 处理可以提高干旱胁迫条件下植物叶片的保水性、减低离子渗漏、诱导气孔关闭,从而提高耐旱性<sup>[30]</sup>。Clark 等认为,NO 在植物中的某些功能与它对 ROS 代谢水平的调节密切相关,其主要调节方式是作用于 ROS 代谢酶,如 NO 可作用于烟草中含血红素铁和非血红素铁的过氧化氢酶和抗坏血酸过氧化物酶,从而可能参与对活性氧的调节<sup>[31]</sup>。SOD 和 CAT 组成植物清除活性氧自由基的保护酶系统,其中 SOD 可将 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 歧化为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,而 CAT 则能清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。Beligni 等认为,作为一种抗氧化剂,NO 可以抵消许多由 ROS 介导的细胞毒害作用<sup>[7]</sup>。本研究中,干旱胁迫显著降低了 SOD 和 CAT 活性,而外源 NO 的施用缓解了抗氧化酶的降低,说明 SOD 和 CAT 活性得到了提

高,降低了导致膜脂过氧化的  $O_2^{\cdot-}$  和  $H_2O_2$  等 ROS 的大量生成,也使得细胞的渗透调节能力和耐旱能力的提高成为可能。这与李慧等的研究结果<sup>[32]</sup>一致。

脯氨酸不仅可作为渗透调节物质,还可以清除 ROS、提高抗氧化能力、稳定生物大分子的结构、降低细胞酸性以及解除氨毒等<sup>[33]</sup>。关于脯氨酸在植物逆境应答中作为伤害标志或者是作为对抗逆境的抗性指标一直存在争论。本研究表明干旱显著增加了脯氨酸含量,而 SNP 处理进一步促进了脯氨酸含量的增加,从而可以缓解盐胁迫引起的渗透胁迫<sup>[33]</sup>。

综上所述,干旱胁迫显著降低裸大麦幼苗的光合特性,增强叶片丙二醛含量、过氧化氢含量和质膜透性,降低植物抗氧化能力。外源 NO 的施用可减轻干旱条件下光合特性的减少、丙二醛和过氧化氢的积累及保持较高的抗氧化酶活性。

#### 参考文献:

- [1] Wang J H, Chen K L, Li H W, et al. Tibetan hulless barley dehydrin, dhn4, cloning and transforming into tobacco [J]. Journal of Agriculture and Environment for International Development, 2009, 103(3): 173–184.
- [2] 段辉国, 赵俊茗, 张轩波, 等. 亚精胺预处理对 NaCl 胁迫下青稞幼苗生理特性的影响 [J]. 西北植物学报, 2009, 29(6): 1220–1225.
- [3] Zhu J K. Salt and drought stress signal transduction in plants [J]. Plant Biology, 2002, 53: 247–273.
- [4] Xiong L M, Schumaker K S, Zhu J K. Cell signaling during cold, drought, and salt stress [J]. The Plant Cell, 2002, 14(Suppl): S165–S183.
- [5] Haake V, Cook D, Riechmann J L, et al. Transcription factor CBF4 is a regulator of drought adaptation in Arabidopsis [J]. Plant Physiology, 2002, 130(2): 639–648.
- [6] Borisjuk L, Rolletschek H. Nitric oxide is a versatile sensor of low oxygen stress in plants [J]. Plant Signaling & Behavior, 2008, 3(6): 391–393.
- [7] Beligni M V, Lamattina L. Nitric oxide stimulates seed germination and deterioration, and inhibits hypocotyls elongation, three lights in decibels responses in plants [J]. Planta, 2000, 210(2): 215–221.
- [8] Šírová J, Sedláčková M, Piterková J, et al. The role of nitric oxide in the germination of plant seeds and pollen [J]. Plant Science, 2011, 181(5): 560–572.
- [9] Mishina T E, Lamb C, Zeier J. Expression of a nitric oxide degrading enzyme induces a senescence programme in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell and Environment, 2007, 30(1): 39–52.
- [10] Chandok M R, Ytterberg A J, Van Wijk K J, et al. The pathogen-inducible nitric oxide synthase (iNOS) in plants is a variant of the P protein of the glycine decarboxylase complex [J]. Cell, 2003, 113(4): 469–482.
- [11] Cevahir G, Aytamka E, Erol C. The role of nitric oxide in plants [J]. Biotechnology and Biotechnological Equipment, 2007, 21: 13–17.
- [12] Wendehenne D, Pugin A, Klessig D F, et al. Nitric oxide: comparative synthesis and signaling in animal and plant cells [J]. Trends in Plant Science, 2001, 6(4): 177–183.
- [13] 曹 慧, 王孝威, 邹岩梅, 等. 外源 NO 对干旱胁迫下平邑甜茶幼苗叶绿素荧光参数和光合速率的影响 [J]. 园艺学报, 2011, 38(4): 613–620.
- [14] McCord J M, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein) [J]. The Journal of Biological Chemistry, 1969, 244(22): 6049–6055.
- [15] Bergmeyer H U. Methods of enzymatic analysis [M]. New York: Academic Press, 1974: 885–888.
- [16] Heath R L, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation [J]. Archives of biochemistry and biophysics, 1968, 125(1): 189–198.
- [17] Teranishi Y, Tanaka A, Osumi M, et al. Catalase activity of hydrocarbon utilising candida yeast [J]. Agriculture Biology Chemistry, 1974, 38: 1213–1216.
- [18] Blum A, Ebercon A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat [J]. Crop Science, 1981, 21(1): 43–47.
- [19] Bates L S, Waldem R P, Teare I D. Rapid determination of free proline for water stress studies [J]. Plant and Soil, 1973, 39(1): 205–207.
- [20] Yin C Y, Berninger F, Li C Y. Photosynthetic responses of *Populus przewalski* subjected to drought stress [J]. Photosynthetica, 2006, 44(1): 62–68.
- [21] Maxwell K, Johnson G N. Chlorophyll fluorescence—a practical guide [J]. Journal of Experimental Botany, 2000, 51(345): 659–668.
- [22] Flexas J, Ribas-Carbó M, Bota J, et al. Decreased Rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast  $CO_2$  concentration [J]. New Phytologist, 2006, 172(1): 73–82.
- [23] Neill S, Bright J, Hancock J, et al. Nitric oxide, stomatal closure and abiotic stress [J]. Journal of Experiment Botany, 2008, 59(2): 165–176.
- [24] Baker N R, Harbinson J, Kramer D M. Determining the limitations and regulation of photosynthetic energy transduction in leaves [J]. Plant Cell and Environment, 2007, 30(9): 1107–1125.
- [25] Sharkey T D, Bernacchi C J, Farquhar G D, et al. Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves [J]. Plant Cell Environment, 2007, 30: 1035–1040.
- [26] Bilger W, Björman O. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis* [J]. Photosynth Research, 1990, 25: 173–186.
- [27] Yang W, Sun Y, Chen S, et al. The effect of exogenously applied nitric oxide on photosynthesis and antioxidant activity in heat stressed chrysanthemum [J]. Biologia Plantarum, 2011, 55(4): 737–740.
- [28] 相 昆, 李宪利, 张美勇, 等. 外源一氧化氮对核桃幼苗抗旱性的影响 [J]. 林业科学, 2007, 43(10): 122–126.
- [29] Farooq M, Basra S M A, Wahid A, et al. Exogenously applied nitric oxide enhances the drought tolerance in fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Journal Agronomy & Crop Science, 2009, 195(4): 254–261.
- [30] García-Mata C, García-Mata C, Lamattina L. Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress [J]. Plant Physiology, 2001, 126(3): 1196–1204.
- [31] Clark D, Durner J, Navarre D A, et al. Nitric oxide inhibition of tobacco catalase and ascorbate peroxidase [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2000, 13(12): 1380–1384.
- [32] 李 慧, 赵文才, 赵会杰, 等. 外源一氧化氮供体硝普钠对干旱胁迫下小麦幼苗叶中 ATP 酶活性和膜脂过氧化的影响 [J]. 植物生理学通讯, 2009, 45(5): 455–458.
- [33] 侯彩霞, 汤章城. 细胞相容性物质的生理功能及其作用机制 [J]. 植物生理学通讯, 1999, 35(1): 1–7.