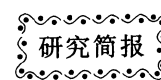


DOI: 10.3724/SP.J.1006.2011.00177



## 外源一氧化氮供体硝普钠对水稻叶片中由硒引起的脂质过氧化的调节作用

肖 强<sup>1</sup> 杨 曙<sup>1</sup> 郑海雷<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> 湖北民族学院 / 生物资源保护与利用湖北省重点实验室, 湖北恩施 445000; <sup>2</sup> 厦门大学生命科学院, 福建厦门 361005

**摘 要:** 一氧化氮(nitric oxide, NO)是植物中一种重要的信号分子, 在诱导种子萌发, 影响植物生长发育, 促进植物细胞衰亡等方面发挥着重要作用。然而对于外源 NO 是否参与了 Se 诱导的脂质过氧化调节过程仍不为人知。我们研究了 0.2  $\mu\text{mol L}^{-1}$  和 20  $\mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  及一氧化氮供体硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)处理对水稻叶片叶绿素、 $\text{H}_2\text{O}_2$  和硫代巴比妥酸反应产物(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS)含量, 愈创木酚过氧化物酶(guaiacol peroxidase, GPX)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)以及抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)活性等生理生化指标的影响。结果表明, 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  SNP 处理促进 GPX、APX 和 CAT 活性, 缓解膜脂过氧化, 降低 TBARS 含量; 显著提高 0.2  $\mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  处理下水稻叶片中叶绿素含量。在 20  $\mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  处理下, 外加 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  SNP 更加显著促进 GPX 和 CAT 活性, 与此同时明显降低 20  $\mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  处理引起的  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量上升, 并降低 TBARS 含量。NO 对植物中由 Se 引起的脂质过氧化具有调节作用。

**关键词:** 水稻; 硒; 硝普钠(SNP); 脂质过氧化

## Effects of Exogenous Nitric Oxide Donor SNP on Lipid Peroxidation Caused by Selenium in Rice Seedlings

XIAO Qiang<sup>1</sup>, YANG Shu<sup>1</sup>, and ZHENG Hai-Lei<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> Key Laboratory of Biological Resources Protection and Utilization of Hubei Province / Hubei Institutes for Nationalities, Enshi 445000, China;

<sup>2</sup> School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China

**Abstract:** Nitric oxide (NO) is a bioactive molecule that has been suggested to act as a signaling molecular in plants. It induces germination, affects plant growth and development, and promotes plant cell death. NO is also involved in plant response to heat, salinity, ultraviolet-B, and heavy metal stresses. It is known that some effects of NO may relate to the regulation of reactive oxygen species (ROS) metabolism by means of affecting activities of catalase (CAT) with hemachrome iron, and/or guaiacol peroxidase (GPX) with none-hemachrome iron. However, whether NO regulates lipid peroxidation in rice seedlings induced by selenium is not yet understood. In this article, we reported some regulative effects of exogenous nitric oxide donor SNP on oxidative stresses induced by selenium in rice seedlings. The contents of chlorophyll,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , TBARS and the activities of GPX, superoxide dismutase (SOD), CAT and ascorbate peroxidase (APX) in rice seedlings treated with a varying concentrations of selenium and 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  SNP were investigated. The results showed that the content of chlorophyll increased by treatment with SNP in 0.2  $\mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  group. SNP alleviated significantly the lipid peroxidation in rice seedlings via promoting GPX, APX and CAT activities in rice leaf. In 20  $\mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  treated rice seedlings, SNP alleviated significantly TBARS content and the increase of  $\text{H}_2\text{O}_2$  content that resulted from high selenium stress via promoting GPX, especially APX and CAT activities. Taken together, our results suggested that NO regulates lipid peroxidation caused by selenium in rice seedlings.

**Keywords:** *Oryza sativa*; Selenium; Sodium nitroprusside; Lipid peroxidation

一氧化氮(nitric oxide, NO)是植物中一种重要的信号分子, 在诱导种子萌发, 影响植物生长发育, 促进植物细

胞衰亡等方面发挥着重要作用<sup>[1]</sup>。进一步研究表明, NO 在植物中的某些功能与它对活性氧(reactive oxygen species,

本研究由国家自然科学基金项目(30670317), 湖北省教育厅中青年人才项目(Q20092901), 国家民委科研项目(09HB02), 湖北民族学院博士启动基金项目 and 湖北民族学院校内青年科研项目(MYQ2006032)资助。

\* 通讯作者(Corresponding author): 郑海雷, E-mail: zhenghl@xmu.edu.cn

第一作者联系方式: E-mail: xiaoqiang761@tom.com, Tel: 15971698508

Received(收稿日期): 2010-05-10; Accepted(接受日期): 2010-09-19.

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,如含血红素铁和非血红素铁的过氧化氢酶(catalase, CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)<sup>[2]</sup>。NO 还可能通过提高超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性和降低膜脂过氧化作用减缓缺水造成的离体水稻叶片的衰老<sup>[3]</sup>。重金属镉(cadmium, Cd)和铅(plumbum, Pb)对羽扇豆根的毒害作用可以被 10  $\mu\text{mol L}^{-1}$  硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)所缓解<sup>[4]</sup>;进一步研究证实 NO 通过促进镉在根部积累并上调铁吸收相关基因表达增强拟南芥对镉毒抗性<sup>[5]</sup>。我们也探讨了 NO 供体 SNP 在缓解高浓度镉对水稻胁迫中所起的作用,结果表明一定浓度的 SNP (约 0.01  $\text{mmol L}^{-1}$ )可显著缓解镉引起的氧化胁迫<sup>[6]</sup>。

硒(Se)是环境中一个十分重要的生命元素,它与硫元素在化学特性上有很多相似之处,硒在动物和人体内最主要的生物学功能是作为谷胱甘肽过氧化物酶系(GSH-Px)的组成成分,参与体内氧化还原反应,清除自由基,减少对生物膜等造成的机体过氧化损伤。在植物中,Se 可以显著增强小麦、玉米、大豆和油菜体内抗氧化能力,维持植株的正常生长<sup>[7]</sup>。其机制在于 Se 可以显著提高植物中抗氧化酶 SOD 和愈创木酚过氧化物酶(guaiacol peroxidase, GPX)转录水平,进而激活植物抗氧化保护机制<sup>[8-9]</sup>。对 Se 在植物中的生理效应已进行了多方面的研究,有关调节植物 Se 吸收、代谢的因素如土壤环境因子、养分供应状况等已有较多报道。迄今,对于信号分子尤其是外源 NO 是否参与 Se 诱导的脂质过氧化调节过程仍不为人知,我们在此报道外源 SNP 对由亚硒酸钠( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ )诱导的水稻叶片中氧化活性变化的调节作用,并初步探讨相关机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料培养与处理

水稻品种金优 58 (*Oryza sativa* cv. Jinyou 58),种子经 0.1%  $\text{HgCl}_2$  消毒,水洗,25℃浸种,催芽。1 周后用木村 B 溶液<sup>[10]</sup>水培,温度 26℃,光照 400  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,光/暗时间为 12 h/12 h,至二叶一心期在培养液中加入 Se 和 SNP 同时进行处理。 $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  和 SNP 均购自上海生工生物工程有限公司(BBI 原装)。试验设 3 种 Se 处理,分别为 0、0.2 和 20.0  $\mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ; 每种 Se 处理再设 2 种 SNP 浓度,分别为 0 和 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ,共 6 种处理。每个处理为 3 个重复,每天更换处理液 1 次,在处理 3 d 后测定表明各处理组间叶绿素含量差异显著,因由此取相应时段全展开叶片进行相关生理生化指标测定。

### 1.2 测定项目与方法

1.2.1 叶绿素含量 取鲜叶 0.1 g,加入 10 mL 80%丙酮提取,按 Arnon 法<sup>[11]</sup>测定。

1.2.2  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量 取鲜叶 0.5 g,加入 5 mL 预冷丙酮,冰浴研磨提取  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,参照 Mukherjee 和 Choudhary<sup>[12]</sup>的方

法测定。

1.2.3 硫代巴比妥酸反应产物(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS)含量 取鲜叶 0.6 g,加入 3 mL 10%三氯乙酸(TCA)研至匀浆,离心,取上清液,参照 Dhindsa 等<sup>[13]</sup>的方法测定。

1.2.4 酶液的制备 取 0.4 g 左右新鲜水稻叶片于冰浴研钵中,加少许石英砂和 10 mL 预冷的酶提取液(用 50  $\text{mmol L}^{-1}$ 、pH 7.8 的磷酸缓冲液配制,内含 1%的聚乙烯吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone, PVP),5  $\text{mmol L}^{-1}$  的乙二胺四乙酸(ethylenediamine tetraacetic acid, EDTA),测定 APX 时,提取液含 5  $\text{mmol L}^{-1}$  ASA,迅速匀浆,4℃,20 000×g 离心 20 min,取上清液备用。

1.2.5 蛋白质含量 采用 Bradford 法<sup>[14]</sup>测定,以牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)作为蛋白质标准。

1.2.6 SOD 活性 参照 Beauchamp 和 Fridovich<sup>[15]</sup>所建立的方法测定, SOD 活性分析前过 Sephadex G-25 柱以避免 SNP 对活性测定的干扰,以抑制氮蓝四唑(NBT)在光照下被还原 50%的酶量为一个酶活性单位(U)。

1.2.7 GPX 活性 参照 Ruan 等<sup>[16]</sup>的方法测定,以 460 nm 吸光值每分钟上升 0.1 为一个酶活性单位(U)。

1.2.8 CAT 活性 参照 Chance 和 Maehly<sup>[17]</sup>的方法测定,以 240 nm 吸光值每分钟减小 0.1 为一个酶活性单位(U)。

1.2.9 APX 活性 参照 Parida 等<sup>[18]</sup>的方法测定,以 280 nm 吸光值每分钟减小 0.1 为一个酶活性单位(U)。

### 1.3 数据分析

用 SPSS 软件进行数据方差分析,以 Origin 软件绘制图表。

## 2 结果与分析

### 2.1 叶绿素和类胡萝卜素含量的改变

叶绿素含量下降是植物遭受高浓度 Se 胁迫的重要特征之一<sup>[19]</sup>。本研究也显示了同样特征(表 1),对水稻叶片中叶绿素含量,0.2  $\mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  处理无显著影响,而 20  $\mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  处理显著降低。在无 Se 情况下,1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  SNP 对水稻叶片中叶绿素含量没有影响( $P>0.05$ )。1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  SNP 显著提高 0.2  $\mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  处理下叶片中叶绿素含量;但在 20  $\mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  处理的水稻叶片中,1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  SNP 则进一步加剧叶片中叶绿素的丧失。对类胡萝卜素含量影响具有和上述叶绿素相同规律。

### 2.2 $\text{H}_2\text{O}_2$ 和 TBARS 含量的改变

图 1 显示,与对照相比,0.2  $\mu\text{mol L}^{-1}$  和 20  $\mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  处理的幼苗  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量显著升高( $P<0.05$ ),但 2 种  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  浓度处理间差异不显著。外加 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  SNP 对 0.2  $\mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  处理的幼苗  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量亦无显著影响;而 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  SNP 和 20  $\mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  同时处理的幼苗  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量明显降低,达到对照组水平。1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  SNP 和 2 种  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  浓度分别处理下, TBARS 含量均明显下降

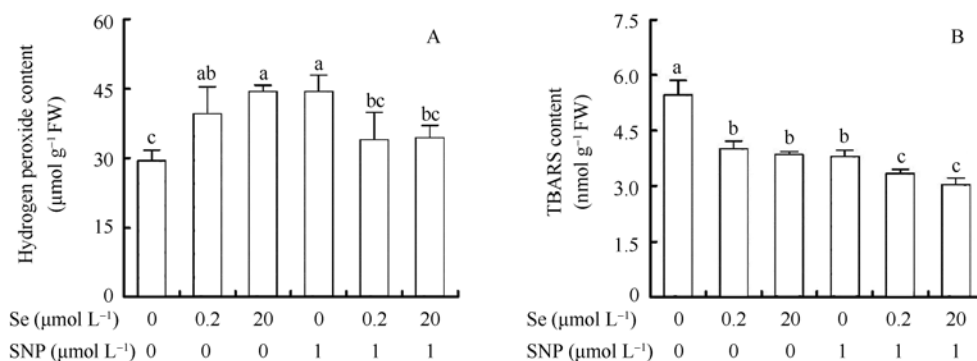
表 1 SNP 对 Se 处理下水稻幼苗中叶绿素和类胡萝卜素含量的影响

Table 1 Effect of SNP on the contents of chlorophyll and carotenoid in rice seedlings under selenium treatments

SNP 浓度 SNP concentration	Se 浓度 Se concentration	总叶绿素含量 Total chlorophyll content (mg g <sup>-1</sup> FW)	类胡萝卜素含量 Carotenoid content (mg g <sup>-1</sup> FW)
0 μmol L <sup>-1</sup>	0 μmol L <sup>-1</sup>	2.69±0.08 b	0.47±0.01 b
	0.2 μmol L <sup>-1</sup>	2.63±0.14 b	0.46±0.02 b
	20.0 μmol L <sup>-1</sup>	2.12±0.06 c	0.38±0.01 c
1 μmol L <sup>-1</sup>	0 μmol L <sup>-1</sup>	2.57±0.02 b	0.45±0.01 b
	0.2 μmol L <sup>-1</sup>	3.02±0.09 a	0.53±0.02 a
	20.0 μmol L <sup>-1</sup>	1.86±0.05 d	0.32±0.02 d

同一栏内数据后不同字母者在 0.05 水平上差异显著。

Values followed by a different letter are significantly different at the 0.05 probability level.

图 1 SNP 和 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 对水稻叶片 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 TBARS 含量的影响Fig. 1 Effect of SNP on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and the contents of TBARS in rice seedlings under selenium treatments

图中不同字母表示在 0.05 水平差异具有显著性。

Bars with different letters are significantly different at  $P < 0.05$ .

( $P < 0.05$ ), 但 2 种 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 浓度处理间差异不显著。而用 1 μmol L<sup>-1</sup> SNP 和 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 同时处理幼苗的 TBARS 含量较用 SNP 或者 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 单独处理时进一步下降。

### 2.3 抗氧化酶活性的改变

作为植物抗氧化系统的一个重要组分, 抗氧化酶在消除 ROS 方面具有重要作用。APX、CAT、GPX 及 SOD 的活性在各种胁迫下经常发生改变。与对照相比, 1 μmol L<sup>-1</sup> SNP 和 2 种浓度 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 分别处理的叶片中 SOD 的活性均显著上升, 但 2 种 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 浓度处理间差异不显著。而 SNP 和 2 种 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 同时处理的叶片中 SOD 的活性与单独处理并无显著区别(图 2-A)。

与 SOD 活性相比, 不同处理条件下, GPX 活性表现出不同的特征。2 种 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 浓度处理的幼苗 GPX 的活性与对照相比显著下降( $P < 0.05$ ), 但 2 种 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 浓度处理间差异不显著。外加 1 μmol L<sup>-1</sup> SNP 显著促进了 0.2 μmol L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 处理幼苗的 GPX 活性; 与此同时, 1 μmol L<sup>-1</sup> SNP 和 20 μmol L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 同时处理幼苗 GPX 活性上升较 1 μmol L<sup>-1</sup> SNP 和 0.2 μmol L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 联合处理幼苗更加显著; Se 诱导的 GPX 活性下降因 SNP 的加入而反转(图 2-B)。

CAT 活性变化如图 2-C 所示, 与水稻幼苗叶片中 GPX 活性变化类似, 2 种浓度 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 处理的幼苗 CAT 活性与对照相比显著下降( $P < 0.05$ ), 但 2 种 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 浓度处

理间差异不显著; 单独 SNP 处理并不影响 CAT 活性。外加 1 μmol L<sup>-1</sup> SNP 显著促进了 0.2 μmol L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 处理幼苗的 CAT 活性; 与此同时, 1 μmol L<sup>-1</sup> SNP 和 20 μmol L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 同时处理幼苗 CAT 活性上升较 1 μmol L<sup>-1</sup> SNP 和 0.2 μmol L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 联合处理幼苗更加显著。

如图 2-D 所示, 与对照相比, 幼苗经 2 种浓度 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 分别处理后, 其 APX 活性显著下降( $P < 0.05$ ), 但 2 种 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 浓度处理间差异不显著; 单独 SNP 处理降低了 APX 活性( $P < 0.05$ ); 在 SNP 和 2 种浓度 Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 联合处理下, APX 活性恢复到对照组水平。但 1 μmol L<sup>-1</sup> SNP 和 20 μmol L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 同时处理幼苗 APX 活性上升程度与 1 μmol L<sup>-1</sup> SNP 和 0.2 μmol L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 联合处理幼苗差异不显著。

### 3 讨论

SNP 普遍作为 NO 的外源供体, Delledonne 等<sup>[20]</sup>发现 0.5 mmol L<sup>-1</sup> SNP 大约释放 2.0 μmol L<sup>-1</sup> NO。我们的预备实验以 0、0.2、0.5、1、2、5、10 和 50 μmol L<sup>-1</sup> SNP 处理水稻根系, 结果表明浓度达到 1 μmol L<sup>-1</sup> 时, 根系长度显著高于对照组, 而浓度超过 5 μmol L<sup>-1</sup> 时, 根系生长与对照不存在差异, 据此确定了本试验 SNP 浓度; 同时研究了 0、0.2、2、10 和 20 μmol L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 对叶绿素含量的影响, 结果显示在 2 μmol L<sup>-1</sup> 以下, 差异不显著, 而 10

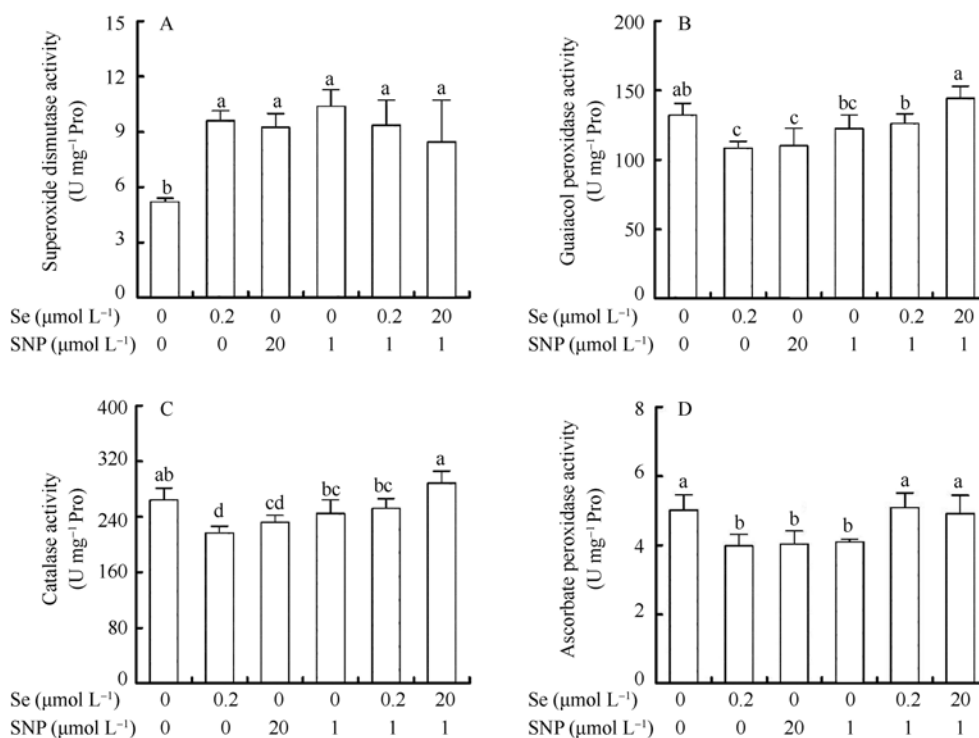


图 2 SNP 和  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  对水稻叶片 SOD(A)、GPX(B)、CAT(C)和 APX(D)活性的影响

Fig. 2 Effects of SNP on the activities of SOD(A), GPX(B), CAT(C), and APX(D) in rice seedlings under selenium treatments

图中不同字母表示在 0.05 水平差异具有显著性。

Bars with different letters are significantly different at  $P < 0.05$ .

$\mu\text{mol L}^{-1}$  和  $20 \mu\text{mol L}^{-1}$  均显著降低叶绿素含量, 据此确定了本试验硒浓度。

从本研究可以看出对叶绿素含量, SNP 和 Se 之间存在协同效应。SNP 协同低浓度 Se 可以提高叶绿素含量, 而 SNP 与高浓度 Se 共同处理则进一步加剧叶绿素丧失。其可能原因在于, 叶绿体是植物碳、氮代谢以及 ROS 产生的主要场所, NO 可以通过降低叶绿体电子传递速率抑制类囊体跨膜电势以及光合 ATP 合成<sup>[21-22]</sup>。已有研究表明, 低浓度 Se 可引起叶绿体电子传递速率上升; 而高浓度硒导致叶绿体电子传递速率下降<sup>[23]</sup>。在本研究中, NO 通过降低低浓度 Se 引起的叶绿体电子传递速率上升而发挥抗氧化功能, 保护了叶绿体; 另一方面, NO 也加剧高浓度硒引起的叶绿体电子传递速率下降, 进一步抑制了类囊体跨膜电势以及光合 ATP 合成, 进而影响叶绿素合成。

已有报道, 低浓度硒可以显著提高植物中抗氧化酶 SOD 转录水平, 进而激活植物抗氧化保护机制<sup>[8-9]</sup>, 本研究结果与此相似。Laxalt 等<sup>[24]</sup>认为 NO 介导的叶绿素保护来源于对抗 ROS 毒性, 保护膜膜的完整性。在本研究中,  $0.2 \mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  处理显著提高水稻叶片中 SOD 活性,  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  SNP 处理也可以提高 SOD 活性, 二者都可以有效清除 ROS, 保护叶绿体。Beligni 和 Lamattina<sup>[25]</sup>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。在本研究中, 总体来看,  $0.2 \mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  处理下, 外加  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  SNP 对于水稻幼苗叶片中 GPX、

CAT 和 APX 酶活性有显著提高效应, 与此同时, TBARS 含量显著降低; 表明膜脂过氧化显著减轻。 $20 \mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  处理下, 外加  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  SNP 进一步提高了 GPX、CAT 和 APX 酶活性, 与此同时,  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量以及 TBARS 含量均显著下降, 表明 NO 对于高浓度硒引起的  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量上升效应发挥了抑制作用, 同时也减轻了膜脂过氧化损伤。另一方面, 在  $20 \mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  处理下, SNP 对 GPX 和 CAT 酶活性的促进作用要显著高于其在  $0.2 \mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  处理下酶活性水平, 我们认为这种更高的抗氧化酶活性是植物应对氧化性损伤的一种标志, 提示 NO 与高浓度硒诱导的 ROS 形成 ONOO<sup>-</sup> 分子结构<sup>[26]</sup> 对水稻叶绿体造成的氧化性损伤进一步加剧, 这也部分揭示了 SNP 对  $20 \mu\text{mol L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  处理下叶绿素含量下降具有的促进效应。

已有研究证实叶绿体是高等植物叶片中 NO 合成的主要场所<sup>[26]</sup>。我们的初步研究表明, 外源 NO 供体 SNP 对于水稻叶片中由硒引起的脂质过氧化具有显著影响, SNP 促进了低浓度硒的抗氧化活性, 对叶绿体发挥了保护作用; 但 SNP 也加剧了高浓度硒对叶绿体的过氧化损伤, 加剧了叶绿素的丧失。下一步, 采用 NO 合成途径抑制剂、植物内源 NO 清除剂等手段研究 NO 对植物 Se 吸收、转运和代谢途径的影响有助于阐明 NO 对植物中 Se 引起的生理生化效应的调节途径; 而进一步研究 NO 对植物硒吸收、转运、代谢相关酶基因表达的调控作用以及

NO 对植物硒调控基因表达的影响机制将为彻底阐明信号分子 NO 在植物 Se 代谢中的地位提供最有力证据。在完成上述工作基础上, 采用 NO 合成途径抑制剂或清除剂从调节水稻内源 NO 水平以及采用外源 NO 等途径着手, 对于有效改善高硒地区水稻对硒耐受性以及促进富硒稻谷开发具有重要实践意义。

## References

- [1] Neill S J, Desikan R, Hancock J T. Nitric oxide signaling in plants. *New Phytol*, 2003, 159: 11–35
- [2] Clark D, Durner J, Navarre D A, Klessig D F. Nitric oxide inhibition of tobacco catalase and ascorbate peroxidase. *Mol Plant-Microbe Interact*, 2000, 13: 1380–1384
- [3] Cheng F Y, Hsu S Y, Kao C H. Nitric oxide counteracts the senescence of detached rice leaves induced by dehydration and polyethylene glycol but not by sorbitol. *Plant Growth Regul*, 2002, 38: 265–272
- [4] Kopyra M, Gwózdź E A. Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus*. *Plant Physiol Biochem*, 2003, 41: 1011–1017
- [5] Besson-Bard A, Gravot A, Richaud P, Auroy P, Duc C, Gaymard F, Taconnat L, Renou J P, Pugin A, Wendehenne D. Nitric oxide contributes to cadmium toxicity in Arabidopsis by promoting cadmium accumulation in roots and by up-regulating genes related to iron uptake. *Plant Physiol*, 2009, 149: 1302–1315
- [6] Xiao Q, Ru Q M, Wu F H, Huang X, Pei Z M, Zheng H L. Nitric oxide alleviates oxidative stress caused by lanthanum in rice leaves. *J Rare Earths*, 2007, 25: 631–636
- [7] Xue Q-L(薛秦麟), Hou S-F(侯少范), Tan J-A(谭见安), Liu G-L(刘更另). Antioxidant effect of Se in higher plants. *Chin Sci Bull (科学通报)*, 1993, 38(3): 274–277 (in Chinese)
- [8] Sors T G, Ellis D R, Salt D E. Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. *Photosynth Res*, 2005, 86: 373–389
- [9] Rios J J, Blasco B, Cervilla L M, Rosales M A, Sanchez-Rodriguez E, Romero L, Ruiz J M. Production and detoxification of  $H_2O_2$  in lettuce plants exposed to selenium. *Ann Appl Biol*, 2009, 154: 107–116
- [10] Liu K-L(刘开力), Han H-R(韩航如), Xu Y-J(徐颖洁), Ling T-F(凌腾芳), Liu Z-B(刘志兵), Sun Y-G(孙永刚), Hua R(花榕), Shen W-B(沈文飏). Exogenous nitric oxide alleviates salt stress-induced membrane lipid peroxidation in rice seedling roots. *Chin J Rice Sci (中国水稻科学)*, 2005, 19(4): 333–337 (in Chinese with English abstract)
- [11] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol*, 1949, 24: 1–15
- [12] Mukherjee S P, Choudhuri M A. Implications of water stress induced changes in the levels of endogenous ascorbic acid and hydrogen peroxide in vigna seedlings. *Physiol Plant*, 1983, 58: 166–170
- [13] Dhindsa R S, Plumb-Dhindsa P, Thorpe T A. Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *J Exp Bot*, 1981, 32: 93–101
- [14] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochem*, 1976, 72: 248–254
- [15] Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase, improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal Biochem*, 1971, 44: 276–287
- [16] Ruan H H, Shen W B, Ye M B, Xu L L. Protective effects of nitric oxide on salt stress-induced oxidative damages to wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. *Chin Sci Bull*, 2002, 47: 677–681
- [17] Chance B, Maehly A. Assay of catalases and peroxidase methods. *Method Enzymol*, 1955, 2: 764–775
- [18] Parida A K, Das A B, Mohanty P. Defense potentials to NaCl in a mangrove, *Bruguiera parviflora*: differential changes of isoforms of some antioxidative enzymes. *J Plant Physiol*, 2004, 161: 531–542
- [19] Lin K-F(林匡飞), Xu X-Q(徐小清), Jin X(金霞), Shao Z-H(邵志慧), Xiang Y-L(项雅玲). Eco-toxicological effects of selenium and its critical value on *Oryza sativa*. *Chin J Appl Ecol (应用生态学报)*, 2005, 16(4): 678–682 (in Chinese with English abstract)
- [20] Delledonne M, Xia Y J, Dixon R A, Lamb C. Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. *Nature*, 1998, 394: 585–588
- [21] Lum H K, Lee C H, Butt Y K C, Lo S C L. Sodium nitroprusside affects the level of photosynthetic enzymes and glucose metabolism in *Phaseolus aureus* (mung bean). *Nitric Oxide*, 2005, 12: 220–230
- [22] Takahashi S, Yamasaki H. Reversible inhibition of photophosphorylation in chloroplasts by nitric oxide. *FEBS Lett*, 2002, 512: 145–148
- [23] Wu Y-Y(吴永尧), Lu X-Y(卢向阳), Peng Z-K(彭振坤), Luo Z-M(罗泽民). Effect of Se on physiological and biochemical characters of paddy rice. *Sci Agric Sin (中国农业科学)*, 2000, 33(1): 100–103 (in Chinese with English abstract)
- [24] Laxalt A M, Beligni M V, Lamattina L. Nitric oxide preserves the level of chlorophyll in potato leaves infected by *Phytophthora infestans*. *Eur J Plant Pathol*, 1997, 103: 643–651
- [25] Beligni M V, Lamattina L. Nitric oxide counteracts cytotoxic processes mediated by reactive oxygen species in plant tissues. *Planta*, 1999, 208: 337–344
- [26] Jasid S, Simontacchi M, Bartoli C G, Puntarulo S. Chloroplasts as a nitric oxide cellular source-effect of reactive nitrogen species on chloroplastic lipids and proteins. *Plant Physiol*, 2006, 142: 1246–1255