

## H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>作为根源信号介导盐胁迫诱导的蚕豆气孔关闭反应

安国勇, 李保珠, 武桂丽, 宋纯鹏\*

棉花生物学国家重点实验室, 河南省植物逆境生物学重点实验室, 河南大学生命科学学院, 河南开封475004

**摘要:** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>作为信号分子可被多种胁迫诱导产生并在细胞内积累, 进而参与调节植物的抗逆反应。文章通过远红外热成像观察等实验发现, 根部NaCl胁迫可诱导蚕豆气孔关闭, 叶片温度上升, 叶片内Na<sup>+</sup>和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量增加, 蒸腾流汁液中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度升高。另外, NaCl可直接诱导离体蚕豆根产生H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 却不能影响表皮条内H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量。NaCl胁迫条件下产生的蒸腾流汁液可直接诱导表皮条气孔关闭, 该过程可被抗氧化剂抗坏血酸(AsA)所逆转。这些结果表明, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>作为盐胁迫的根源信号, 可能通过维管系统运输参与调节蚕豆气孔的关闭反应。

**关键词:** 盐胁迫; 过氧化氢; 气孔关闭; 根源信号

## H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Could Act as Root Source Signal to Mediate Stomatal Closure Induced by Salt Stress of *Vicia faba* L.

AN Guo-Yong, LI Bao-Zhu, WU Gui-Li, SONG Chun-Peng\*

State Key Laboratory of Cotton Biology, Henan Key Laboratory of Plant Stress Biology, School of Life Sciences, Henan University, Kaifeng, Henan 475004, China

**Abstract:** As signaling molecules, hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) generation is induced in plants following exposure to a wide variety of biotic and abiotic stimuli. In this paper, we found that high NaCl concentration in rhizosphere could induce leaf temperature increasing and stomata closing, and increase the concentrations of Na<sup>+</sup> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in *Vicia faba* leaves. The transpiration stream under NaCl stress could induce the stomata closing, and ascorbic acid (AsA) could partly abolish the transpiration stream-induced stomatal closure. Further experiment indicated that NaCl could not directly induce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and stomatal closure in detached leaves, but could directly induce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production in detached roots. Those indicate that H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> may act as root source signal transported by fibrovascular system and mediate stomatal closure of *V. faba*.

**Key words:** salt stress; hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>); stomatal closure; root source signal

NaCl胁迫引起植物体内积累过多的Na<sup>+</sup>, 打破细胞渗透平衡, 造成离子毒害, 影响植物细胞分裂、光合作用等基本生理过程, 最终抑制植物的生长发育(Parida和Das 2005), 是农业生产的主要限制因子之一(Bohnert和Jensen 1996)。因此, 减少盐胁迫条件下植物根部对Na<sup>+</sup>的吸收和积累、阻止Na<sup>+</sup>由植物木质部随蒸腾液流进入地上组织是植物抵御盐胁迫的重要策略(Tester和Davenport 2003; Kerstiens等2002)。

气孔保卫细胞是研究植物应对干旱等多种内外信号刺激快速反应的模式系统, 气孔开度的变化不仅影响着CO<sub>2</sub>的吸收和利用, 同时也影响植物体内水分的散失和蒸腾作用的强弱, 在调节植物叶片温度、代谢产物及长距离信号分子的体内运输等方面扮演重要角色(Jia和Zhang 2008; Brownlee 2001; Lake等2001)。研究表明, NaCl胁迫可诱导气

孔关闭, 降低叶片的蒸腾速率(Brugnoli和Lauteri 1991; Downton等1990), 耐盐植物通过气孔运动调节自身的抗盐反应。因此, 盐胁迫条件下的气孔关闭反应可能是植物降低Na<sup>+</sup>积累、提高抗盐性的重要机制(Robinson等1997)。

许多生物和非生物胁迫均可引起植物体内活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生和积累, ROS可作为胁迫的信号分子调节诸如气孔关闭等多种生理反应(Desikan等2001)。一般认为, 土壤盐胁迫能够诱导植物体内ROS的产生和积累, 并造成氧化胁迫(Jia和Zhang 2008)。Wahid等(2007)的研

收稿 2011-11-01 修定 2012-02-01

资助 国家自然科学基金(31071240和31140071)、教育部科学技术研究重点项目和省部共建河南大学科研项目。

\* 通讯作者(E-mail: songcp@henu.edu.cn)。

究也表明,  $H_2O_2$  预处理小麦种子可以提高小麦种子氧化胁迫的抗性, 维持细胞膜系统的完整性, 增强小麦萌发过程的抗盐表型和生理学特性。SOS1 (salt overly sensitive) 是拟南芥  $Na^+/H^+$  反向转运体, 在植物的抗盐反应中起到关键作用, 其 mRNA 的稳定性也受到  $H_2O_2$  的调节 (Chung 等 2008)。然而, 盐胁迫诱导的气孔关闭与 ROS 产生之间的关系及其在植物抗盐反应中的作用尚不十分清楚。

本文研究盐胁迫诱导蚕豆保卫细胞气孔运动过程中相关组织内  $H_2O_2$  的产生、积累和转移的特征, 旨在揭示  $H_2O_2$  在植物抗盐胁迫反应中的作用机制。

## 材料与amp;方法

### 1 植物材料

蚕豆 (*Vicia faba* L.) 种子用 75% 的乙醇表面消毒 5 min 后, 用自来水冲洗, 在 20~25 °C 条件下浸泡催芽 3~4 d, 播种于 1:1 混合的营养土和蛭石中培养; 光/暗周期为 14 h/10 h, 光照强度为 100~150  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 昼夜温度分别为 (23±2) °C 和 (18±2) °C, 相对湿度 70% 左右。实验选用 3~4 周的幼苗作为实验材料。

### 2 方法

#### 2.1 蚕豆叶片表面温度测定

选取苗龄在 3~4 周的蚕豆, 用 0、100、300、500  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl 浇灌蚕豆幼苗, 采用 SC 3000 远红外成像仪 (Inframetrics, North Billerica, MA), 在距叶片垂直距离大约 80 cm 的高度进行观测和照相, 拍摄得到远红外温度图片用 ThermoCAM Explore 99 软件进行分析和处理 (宋玉伟等 2006; Merlot 等 2002)。

#### 2.2 蚕豆叶片气孔开度分析

选取 3~4 周的蚕豆幼苗叶片, 蒸馏水洗净, 撕取下表皮并切成 5 mm 长表皮条, 在缓冲溶液 (KCl 50  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、Tris 10  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 7.1) 中照光诱导气孔开放, 然后将表皮条移到含有 NaCl 或  $H_2O_2$  的缓冲溶液中处理, 并在倒置显微镜 (Nikon-TE300) 下测量气孔的开度变化 (安国勇等 2004)。每次随机选取若干个视野进行观察测定, 用 Excel 软件统计分析实验结果, 用 Origin 软件绘制图表。

#### 2.3 $Na^+$ 含量的测定

选取 3~4 周的蚕豆幼苗, 向土壤中加入相同体

积的 0、100、300、500  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl 溶液, 1 h 后剪取植株的叶片, 蒸馏水冲洗干净后, 105 °C 杀青 10 min, 然后转入 80 °C 烘干至恒重。称取一定量的叶片, 在马弗炉中 550 °C 灰化 12 h, 加入 1% 的  $HNO_3$  2 mL 溶解灰分, 加入适量的蒸馏水过滤后定容至 50 mL。然后用 OPTIMA 2100 DV 型电感耦合等离子发射光谱仪 (ICP, Perkin Elmer) 测定溶液的  $Na^+$  含量。ICP 工作条件: RF 功率 1 300 W; 气流速度: 电浆火炬气体 15  $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ , 辅助气 0.5  $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ; 雾化器 0.8; 观察高度 15 mm; 延迟时间 60 s; 积分时间 5 s; 重复次数 2 次; 进样速度 10  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。实验选用  $Na^+$  特征发射谱线为 589.592 nm。根据标准曲线计算  $Na^+$  的浓度。

#### 2.4 DAB 染色测定 $H_2O_2$ 含量

参照 Thordal-Christensen 等 (1997) 的方法进行 DAB (3,3'-diaminobenzidine) 染色分析叶片和根部  $H_2O_2$  的含量。选取生长 3~4 周的蚕豆幼苗, 根部浇灌 NaCl 处理, 然后撕取叶片的下表皮, 迅速放入 1  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  的 DAB-HCl (pH 3.8) (Sigma), 室温条件下暗培养 2 h, 然后在乙醇中煮沸脱色并照相。根据表皮条的着色程度判断  $H_2O_2$  的含量变化。

在研究 NaCl 对离体根和叶片中  $H_2O_2$  含量影响的实验中, 剪取生长 4~6 周的蚕豆幼苗根和叶片的下表皮, 冲洗干净后, 放入不同浓度 NaCl 溶液中处理, 然后按照上述方法进行 DAB 染色和分析。

#### 2.5 蒸腾流 $H_2O_2$ 含量测定

蒸腾流中  $H_2O_2$  含量测定参照 Gay 等 (1999) 的方法。选取生长 3~4 周蚕豆幼苗, 根部分别浇灌 0、100、300、500  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 NaCl 溶液, 3 h 后剪蚕豆颈部, 施加负压吸取汁液。汁液按照一定的比例与反应溶液混合, 反应溶液的最终浓度为:  $H_2SO_4$  25  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、二甲酚橙 (xylenol orange) 100  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、硫酸亚铁铵 (ferrous ammonium sulfate) 100~250  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 1.8。暗中培养 60 min 后, 用分光光度计 (GBC UV-960, Australia) 扫描反应液的吸收光谱, 确定反应液的最大吸收峰值, 根据标准曲线确定蒸腾流的  $H_2O_2$  含量。

制作标准曲线时, 用蒸馏水配制不同浓度的  $H_2O_2$ , 用 1:1 的比例将  $H_2O_2$  标准溶液和反应液分别混合, 室温条件下暗中反应 60 min, 用紫外分光光度计测定反应液的吸收光谱, 用 Origin 绘图软件绘

制H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度与最大吸收峰值关系的散点图, 通过直线拟合(fit linear)功能找出H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度与最大吸收峰值关系的直线方程, 即为标准曲线。

## 实验结果

### 1 NaCl胁迫诱导蚕豆叶片温度升高和气孔关闭

为了分析土壤盐胁迫与气孔开度的关系, 我们利用远红外热成像仪观察根部NaCl胁迫对蚕豆叶片温度的影响。结果显示, 根部浇灌300 mmol·L<sup>-1</sup>的NaCl可使蚕豆叶片表面的温度升高, 处理3 h时蚕豆叶片的温度由处理前的21.5~22 °C, 升高到最高值23.2 °C (图1-A和B) ( $P<0.05$ )。若分别浇灌100、300和500 mmol·L<sup>-1</sup>的NaCl, 3 h后蚕豆叶片的温度比对照组(浇灌蒸馏水)的叶片温度分别高0.5、0.9和1.6 °C; 气孔开度也随着根部NaCl浓度的增加逐渐减小(图2) ( $P<0.05$ )。这些结果表明, 土壤盐胁迫可诱导蚕豆叶片温度升高和气孔关闭, 而且土壤NaCl胁迫引起蚕豆叶片温度的升高幅度与处理NaCl浓度呈正相关(图2) ( $P<0.05$ )。

### 2 根部NaCl胁迫可引起蚕豆叶片NaCl及保卫细胞H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量增加

根部浇灌NaCl的方法模拟盐胁迫对蚕豆叶片Na<sup>+</sup>及保卫细胞H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量影响的实验结果表明, 100、300、500 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl胁迫可使叶片内Na<sup>+</sup>的浓度由对照的0.26 mg·g<sup>-1</sup> (DW)增加到0.34、0.42、0.52 mg·g<sup>-1</sup> (DW) (图3-G) ( $P<0.05$ ), 表明植物叶片的Na<sup>+</sup>含量随NaCl浓度增加而逐渐升高。DAB染色分析H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量的实验结果表明, 根部NaCl浓度越高, 保卫细胞的DAB着色越深, 也就是说, 保卫细胞的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量随着根部NaCl浓度的升高而增加(图3) ( $P<0.05$ )。可见, 盐胁迫可引起蚕豆叶片内Na<sup>+</sup>和保卫细胞内H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的积累。

### 3 叶片内H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的积累是盐胁迫引起气孔关闭的主要原因

采用NaCl和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>直接处理蚕豆叶片表皮条的方法, 分析叶片内积累的Na<sup>+</sup>及H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对气孔开度的影响, 结果表明, 表皮条气孔的开度随着NaCl浓度的增加而增大(图4-A) ( $P<0.05$ ); 而5 mmol·L<sup>-1</sup>的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>却可直接诱导表皮条气孔关闭, 抗坏血酸(ascorbic acid, AsA)可逆转H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导气孔关闭的这一反应过程(图4-B) ( $P<0.05$ )。因此, 叶片Na<sup>+</sup>浓度

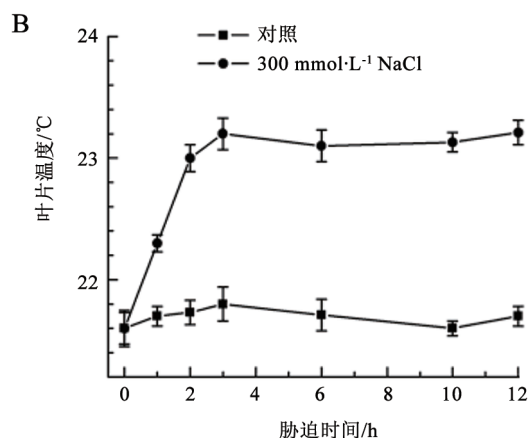
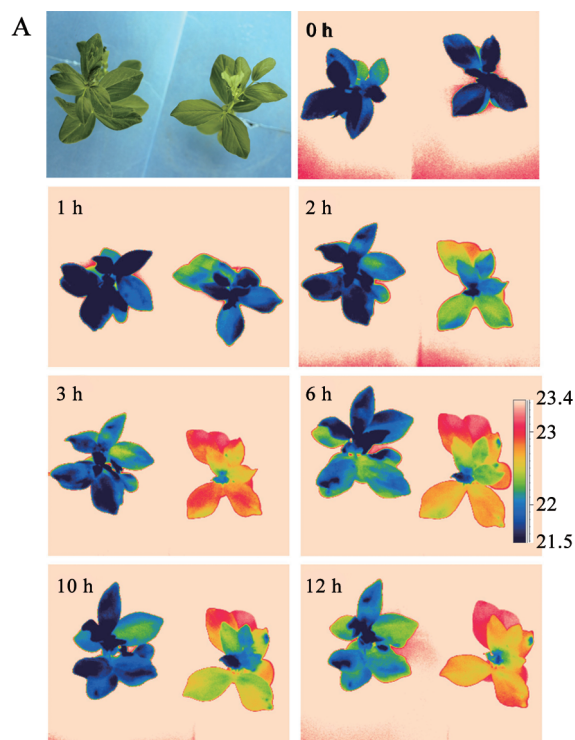


图1 土壤中300 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl对蚕豆叶片表面温度的影响  
Fig.1 The effects of 300 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl in soil on leaf temperature of *V. faba*

A: 300 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl胁迫引起蚕豆叶片温度变化的红外照片; B: 300 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl胁迫引起蚕豆叶片温度变化的统计结果。

升高不是盐胁迫引起气孔关闭的直接原因, 蚕豆叶片温度升高和气孔关闭可能与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的积累有关, 即叶片内积累的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>是盐胁迫诱导蚕豆叶片气孔关闭的一个主要原因。

### 4 NaCl可直接诱导离体蚕豆的根产生H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>而不能诱导叶片表皮条产生H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

为了研究盐胁迫引起蚕豆体内H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>产生的位

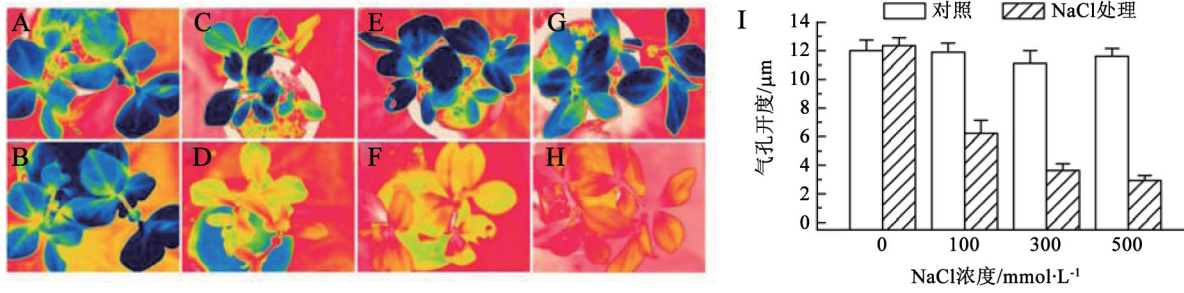


图2 根部NaCl处理对蚕豆叶片温度和气孔开度的影响

Fig.2 The effects of NaCl stress in soil on the temperature and stomatal aperture of *V. faba* leaves

A、C、E、G: NaCl处理前的红外照片; B、D、F、H: 分别浇灌0、100、300、500 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl后3 h的红外照片; I: A~H对应的叶片气孔开度的统计结果。

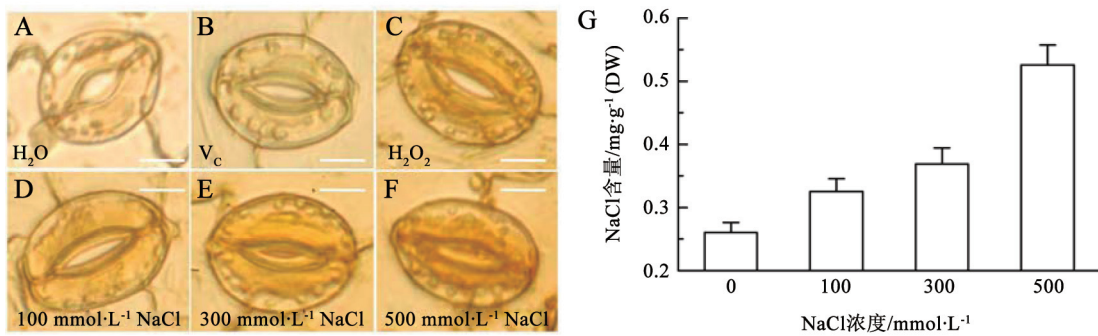


图3 根部NaCl处理对蚕豆叶片NaCl和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量的影响

Fig.3 The effects of NaCl stress in the soil on concentrations of NaCl and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in *V. faba* leaves

A~F: DAB染色分析土壤中不同浓度NaCl对蚕豆叶片保卫细胞H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>积累的影响; G: 根部不同浓度NaCl胁迫引起叶片NaCl含量的变化。标尺=10 μm。

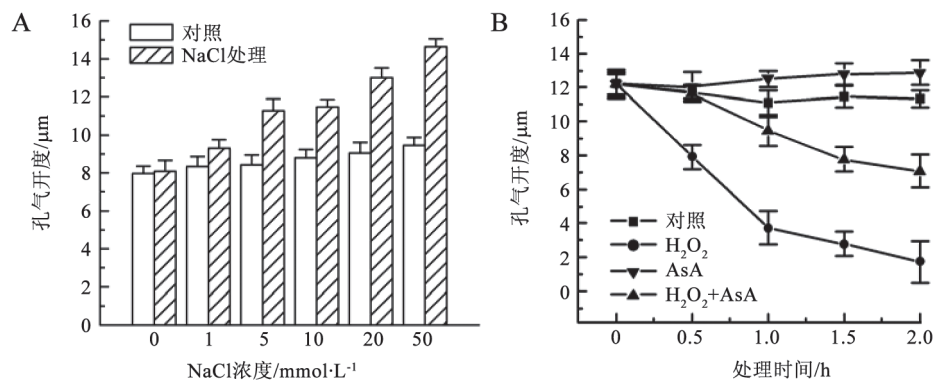


图4 NaCl和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对蚕豆叶片表皮条气孔开度的影响

Fig.4 The effects of NaCl and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on the stomatal aperture in epidermal strips of *V. faba* leaves

A: NaCl处理1 h时蚕豆叶片表皮条的气孔开度; B: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和AsA对蚕豆叶片表皮条气孔开度的影响。

点, 我们采用DAB染色方法分析NaCl直接处理蚕豆叶片表皮条和离体根对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>产生的影响, 结果表明, NaCl (10、20、50、75和100 mmol·L<sup>-1</sup>)直接处理表皮条的DAB着色程度没有明显区别(图5),

而离体根部的DAB着色程度与NaCl浓度(200、300和500 mmol·L<sup>-1</sup>)和NaCl处理时间有关(图6)。表明NaCl不能直接诱导蚕豆保卫细胞产生H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 但可以以浓度和时间依赖的方式直接诱导蚕豆根

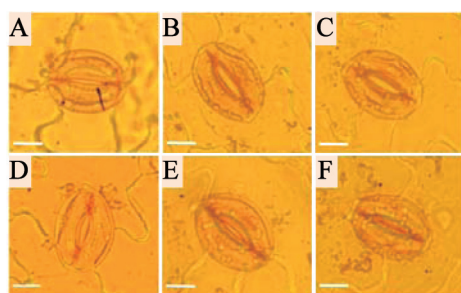


图5 DAB染色分析不同浓度NaCl处理3 h时蚕豆叶片表皮条保卫细胞的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度变化

Fig.5 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production in guard cells added NaCl to epidermal strips of *V. faba* leaves for 3 h was visualized by staining with DAB

A: 0 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl; B: 10 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl; C: 20 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl; D: 50 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl; E: 75 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl; F: 100 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl。标尺=10 μm。

部产生和积累H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。因此, NaCl胁迫引起植物体内积累的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可能主要来源于根部。

### 5 根部NaCl胁迫促进蚕豆蒸腾流中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度升高

进一步的实验表明, 100 mmol·L<sup>-1</sup>的NaCl胁迫可使蒸腾流中的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量由对照植株的1.7 mmol·L<sup>-1</sup>增加到5.8 mmol·L<sup>-1</sup>; 进一步增加土壤中NaCl的浓度时, 蒸腾流中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量虽逐渐降低, 但量值仍然高于对照植株(图7-A) ( $P < 0.05$ )。表皮条分析法观察气孔开度的实验表明, 根部100 mmol·L<sup>-1</sup>的NaCl胁迫3 h时收集到的蒸腾流汁液(按照1:10的比例稀释)可诱导蚕豆表皮条气孔关闭, 蒸腾流的这种作用可被10 mmol·L<sup>-1</sup>抗氧化剂AsA所逆转(图7-B) ( $P < 0.05$ )。因此, 蚕豆根部产生的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可随蒸腾流向植株地上部分运输, 这也是根部NaCl胁迫引起

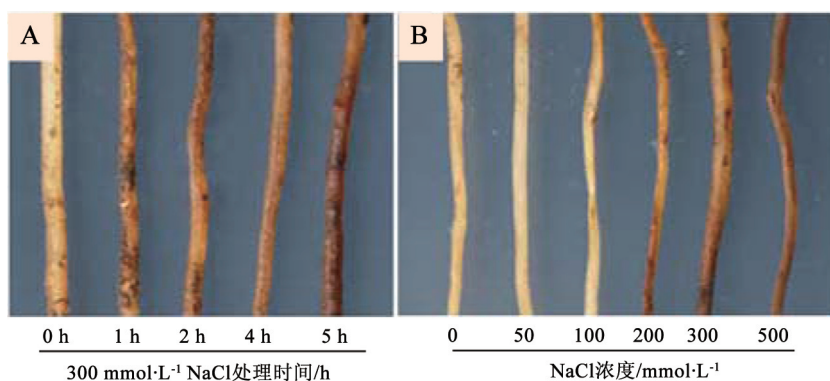


图6 DAB染色分析NaCl胁迫对离体蚕豆根中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量的影响

Fig.6 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production in detached roots of *V. faba* treated with NaCl was visualized by staining with DAB

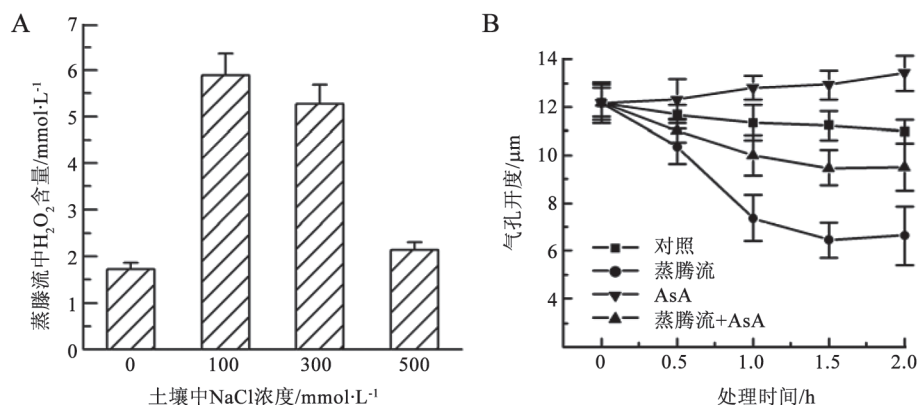


图7 土壤NaCl处理下蚕豆茎部蒸腾流中的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量以及蒸腾流对表皮条气孔开度的影响

Fig.7 The concentration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in transpiration stream under NaCl stress in soil and the effect of transpiration stream on the stomatal aperture in epidermal strips of *V. faba*

A: NaCl胁迫3 h时蒸腾流中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的含量; B: 100 mmol·L<sup>-1</sup>的NaCl处理3 h的蒸腾流对表皮条气孔开度的影响。

蚕豆气孔关闭反应的主要原因。另外, 500 mmol·L<sup>-1</sup>的NaCl可引起植株出现萎焉迹象, 此时蒸腾流汁液H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度降低可能是过高NaCl对植株造成的伤害所致。

## 讨 论

盐胁迫可引起植物体内积累过多的Na<sup>+</sup>, 从而影响植物的正常生理生化过程。一般认为, 土壤Na<sup>+</sup>由根部进入输导组织, 随蒸腾流进入叶片组织。已有的实验表明, 气孔开度的变化可以调控植物蒸腾作用和Na<sup>+</sup>向叶片的运输过程(Dubey 2005), 气孔开度的变化也是植物应对多种逆境胁迫的快速反应调节机制(Blatt 2000)。我们利用非侵入的远红外成像技术, 以实时监控的方式, 直接证明了盐胁迫以浓度依赖的方式诱导蚕豆气孔关闭和叶片温度上升(图1和2), 这可能是盐胁迫条件下蚕豆减少NaCl在植物体内积累的策略之一。

盐胁迫最直接的结果是造成植物体内Na<sup>+</sup>浓度升高, 影响植物体内的离子平衡和多种生理过程。盐胁迫条件下, 植物叶片Na<sup>+</sup>浓度的升高与气孔的关闭反应有一定的相关性(图2), 但表皮条分析实验表明, NaCl不仅不能直接诱导气孔关闭, 反而促进气孔的开放(图4-A)。表明盐胁迫诱导蚕豆气孔的关闭反应与蚕豆叶片内积累的高浓度Na<sup>+</sup>没有直接关系。

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>作为植物体内广泛存在的信号分子可诱导植物气孔关闭和调节植物的抗逆反应(Desikan等2004), 同时盐胁迫也可使植物体内H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量增加(Agarwal和Pandey 2004; Mittova等2002, 2004; Sairam等2002)。实验表明, 土壤盐胁迫可引起H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>在蚕豆的叶片和根部积累(图3)并伴随着气孔的关闭反应(图4-B), 因此, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>很可能作为盐胁迫的信号分子参与调节气孔的关闭反应。进一步的实验表明, NaCl不能直接引起表皮条的保卫细胞内H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的积累(图5)。因此, 叶片内高浓度Na<sup>+</sup>不是诱导气孔关闭和保卫细胞内H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>增加的直接诱因。高浓度的NaCl可直接诱导离体的蚕豆根部产生和积累H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 且H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量与NaCl的浓度呈正相关性(图6)。表明盐胁迫造成蚕豆叶片积累的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可能来源根部。

蒸腾作用是植物体地上和地下两部之间进行

物质运输和重新分配的主要途径。实验表明, 根部NaCl浓度的增加可使蚕豆蒸腾流汁液中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量升高(图7-A), 用此蒸腾汁液处理蚕豆叶片的表皮条可直接诱导气孔关闭, 还原剂AsA逆转蒸腾流汁液诱导气孔关闭的反应(图7-B)。因此, 盐胁迫条件下, 根部产生的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可能通过蒸腾流运输到叶片并调节气孔开度。也就是说, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>作为根源信号介导盐胁迫诱导的气孔关闭反应。

盐胁迫条件下, 植物根部可以合成ABA, ABA作为重要的气孔运动调节因子参与盐胁迫下的气孔关闭反应(He和Cramer 1996; Lachno和Baker 1986)。马焕成等(1998)的研究显示, 外施ABA能引起胡杨(*Populus euphratica*)气孔阻力上升, 抑制气孔开度, 从而减少叶面蒸腾失水, 维持叶片中的正常含水量。ABA可减少由质流所造成的被动吸收的盐分积累和降低木质部汁液中的盐分浓度, 使盐分积累速率减缓。因此, ABA可以作为中间信号分子介导盐胁迫的地下和地上气孔之间的通讯, 协调植物的抗盐反应。我们的实验表明, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可能和ABA类似, 可作为土壤盐胁迫的长距离信号分子, 传递根部盐胁迫信号和调节气孔的运动, 提高植物的抗盐性。但H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和ABA在抗盐反应中的相互关系和地位还需进一步研究来证明。

## 参考文献

- 安国勇, 江静, 周云, 董发才, 吕东, 宋纯鹏(2004). 超氧阴离子通过提高[Ca<sup>2+</sup>]<sub>cyt</sub>调节保卫细胞K<sup>+</sup>通道和气孔运动. 生物物理学报, 20: 143~149
- 马焕成, 陈绍良, 王沙生(1998). 脱落酸与胡杨抗盐性的关系. 西南林学院学报, 18: 8~14
- 宋玉伟, 康燕丽, 刘浩, 赵晓亮, 王棚涛, 安国勇, 周云, 苗琛, 宋纯鹏(2006). 多种胁迫下拟南芥气孔“开”和“闭”突变体鉴定及遗传初步分析. 科学通报, 51: 2139~2145
- Agarwal S, Pandey V (2004). Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. Biol Plantarum, 48: 555~560
- Blatt MR (2000). Cellular signaling and volume control in stomatal movements in plants. Annu Rev Cell Dev Biol, 16: 221~241
- Bohnert H, Jensen R (1996). Metabolic engineering for increased salt tolerance—the next step. Funct Plant Biol, 23: 661~667
- Brownlee C (2001). The long and the short of stomatal density signals. Trends Plant Sci, 6: 441~442
- Bruognoli E, Lauteri M (1991). Effects of salinity on stomatal conductance, photosynthetic capacity, and carbon isotope discrimination of salt-tolerant (*Gossypium hirsutum* L.) and salt-sensitive (*Phaseolus vulgaris* L.) C<sub>3</sub> non-halophytes. Plant Physiol, 95: 628~635
- Chung JS, Zhu JK, Bressan RA, Hasegawa PM, Shi H (2008). Reac-

- tive oxygen species mediate Na<sup>+</sup>-induced *SOS1* mRNA stability in *Arabidopsis*. *Plant J*, 53: 554~565
- Desikan R, A-H-Mackerness S, Hancock JT, Neill SJ (2001). Regulation of the *Arabidopsis* transcriptome by oxidative stress. *Plant Physiol*, 127: 159~172
- Desikan R, Cheung MK, Bright J, Henson D, Hancock JT, Neill SJ (2004). ABA, hydrogen peroxide and nitric oxide signalling in stomatal guard cells. *J Exp Bot*, 55: 205~212
- Downton WJS, Loveys BR, Grant WJR (1990). Salinity effects on the stomatal behaviour of grapevine. *New Phytol*, 116: 499~503
- Dubey RS (2005). Photosynthesis in plants under stressful conditions. In: Pessaraki M (ed). *Handbook of Photosynthesis*. 2nd ed. New York: CRC Press, 717~737
- Gay C, Collins J, Gebicki JM (1999). Hydroperoxide assay with the ferric-xylenol orange complex. *Anal Biochem*, 273: 149~155
- He T, Cramer GR (1996). Abscisic acid concentrations are correlated with leaf area reductions in two salt-stressed rapid-cycling *Brassica* species. *Plant Soil*, 179: 25~33
- Jia W, Zhang J (2008). Stomatal movements and long-distance signaling in plants. *Plant Signal Behav*, 3: 772~777
- Kerstiens G, Tych W, Robinson MF, Mansfield TA (2002). Sodium-related partial stomatal closure and salt tolerance of *Aster tripolium*. *New Phytol*, 153: 509~515
- Lachno DR, Baker DA (1986). Stress induction of abscisic acid in maize roots. *Physiol Plantarum*, 68: 215~221
- Lake JA, Quick WP, Beerling DJ, Woodward FI (2001). Plant development: signals from mature to new leaves. *Nature*, 411: 154
- Merlot S, Mustilli AC, Genty B, North H, Lefebvre V, Sotta B, Vavasseur A, Giraudat J (2002). Use of infrared thermal imaging to isolate *Arabidopsis* mutants defective in stomatal regulation. *Plant J*, 30: 601~609
- Mittova V, Guy M, Tal M, Volokita M (2002). Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: increased activities of antioxidant enzymes in root plastids. *Free Radic Res*, 36: 195~202
- Mittova V, Guy M, Tal M, Volokita M (2004). Salinity up-regulates the antioxidative system in root mitochondria and peroxisomes of the wild salt-tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*. *J Exp Bot*, 55: 1105~1113
- Parida AK, Das AB (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol Environ Saf*, 60: 324~349
- Robinson MF, Very AA, Sanders D, Mansfield TA (1997). How can stomata contribute to salt tolerance? *Ann Bot*, 80: 387~393
- Sairam RK, Rao KV, Srivastava GC (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Sci*, 163: 1037~1046
- Tester M, Davenport R (2003). Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. *Ann Bot*, 91: 503~527
- Thordal-Christensen H, Zhang Z, Wei Y, Collinge DB (1997). Sub-cellular localization of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in plants. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley-powdery mildew interaction. *Plant J*, 11: 1187~1194
- Wahid A, Perveen M, Gelani S, Basra SM (2007). Pretreatment of seed with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins. *J Plant Physiol*, 164: 283~294