

外源NO对铜胁迫下番茄幼苗根系构型及其超微结构的影响

张敏, 姜春辉, 李晓云, 崔秀敏*

山东农业大学资源与环境学院, 土肥资源高效利用国家工程实验室, 山东泰安271018

摘要: 采用营养液水培的方法, 以“改良毛粉802F1”番茄为材料, 硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)为一氧化氮(NO)供体, 研究外源NO对铜胁迫下番茄幼苗根系构型及其超微结构的影响。结果表明, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的铜胁迫下, 外施100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP能够显著增加番茄幼苗植株的生物量、株高和茎粗, 提高根系活力, 改善根系构型中的根长度、根平均直径、根表面积和根体积, 缓解番茄幼苗亚细胞结构(细胞核、线粒体、叶绿体、液泡、核膜)的改变, 维持番茄幼苗组织结构的稳定, 减缓铜胁迫对植株生长的抑制作用, 添加NO清除剂牛血红蛋白后, 能显著消除NO的缓解效果。

关键词: 番茄幼苗; 铜胁迫; 一氧化氮; 根系构型; 超微结构

Effects of Exogenous Nitric Oxide on Tomato Seedlings Root Architecture and Ultrastructure under Copper Stress

ZHANG Min, JIANG Chun-Hui, LI Xiao-Yun, CUI Xiu-Min*

National Engineering Laboratory for Efficient Utilization of Soil and Fertilizer Resources, College of Resources and Environment, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China

Abstract: Through nutrient solution cultivating in greenhouse, the tomato cultivar, ‘Gailiang Maofen 802F1’, was selected as the plant material and sodium nitroprusside (SNP) was used as NO donor to investigate the effects of NO on root architecture and ultrastructure changes in tomato seedlings under copper stress. The results showed, under 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ copper stress, and addition of 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP could significantly increase tomato seedlings biomass, plant height, stem diameter, root activity. Meanwhile exogenous NO could improve the root architecture (including root length, root diameter, root surface area and root volume) under copper stress, and alleviated the cells destroy in subcellular level (including cell nuclear, mitochondria, chloroplast, vacuoles, nuclear membrane), which maintained tomato seedling tissue structure stable, released plant growth inhibition induced by copper stress. NO scavenger Hb could significantly eliminate alleviating effects.

Key words: tomato seedlings; copper stress; nitric oxide; root architecture; ultrastructure

铜是植物正常生命活动所必需的微量矿质元素, 参与植物的生理生化过程, 在植物的新陈代谢过程中起着重要的作用。然而铜又是一种重金属元素, 过量的铜会对植物产生毒害作用, 如破坏生理结构、引发代谢紊乱, 抑制植物生长发育等问题, 最终致使作物减产(Sharma和Dietz 2009)。目前, 铜矿的开采和冶炼厂三废的排放、含铜农业化学物质(杀真菌剂、杀虫剂和化肥)和有机肥(高铜猪粪、鸡粪和厩肥)的施用可使农田土壤, 特别是温室土壤铜含量达到原始土壤的几倍乃至几十倍(卢东等2005; Brun等2001), 温室土壤重金属污染变得日益严峻(黄治平等2007; 曾希柏等2007)。

一氧化氮(nitric oxide, NO)是广泛分布于生物体内的小分子信号物质。近年发现NO在植物中参与了生长发育和对外界胁迫反应等多种生理过程

(Delledonne等1998; Durner等1998; 任小林等2004)。适宜浓度的NO能够促进根系的发生和生长(Beligni和Lamattina 2001b; Lamattina等2001), 提高生物量和植物抗性(Beligni和Lamattina 2001a; 谭伊文等2010)等。本课题组研究发现外源NO可以有效缓解铜胁迫, 提高番茄的耐铜性(张义凯等2010)。根系是首先接触铜胁迫的结构, 根尖是敏感部位。根系应对介质环境的适应性变化是其耐铜性的直接表现。

本文主要以番茄为试验材料, 采用营养液培

收稿 2012-08-01 修定 2012-10-18

资助 国家自然科学基金(31201619)和泰安市科技发展计划(32606)。

* 通讯作者 (E-mail: xiumincui@sdau.edu.cn; Tel: 0538-8241546)。

养, 研究铜胁迫条件下番茄幼苗根系构型及其超微结构对外源NO的响应, 以期探讨NO缓解铜胁迫机制提供理论依据。

材料与方 法

1 供试材料

供试番茄(*Solanum lycopersicum* L.)为‘改良毛粉802F1’。Hoagland营养液组成: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 KNO_3 、 NH_4NO_3 、 KH_2PO_4 、 MgSO_4 、微量元素, 以上试剂均为分析纯, 用蒸馏水配制适宜浓度待备用。NO和 Cu^{2+} 的供体及适宜浓度已由预备试验完成: CuCl_2 提供 Cu^{2+} , 硝普钠($[\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5]\text{NO}$, SNP, 购自Sigma公司)提供NO, 先用蒸馏水配成 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的母液, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 避光保存, 用时按所需浓度稀释。牛血红蛋白(Hb, 购自Sigma公司)为NO的清除剂。

2 试验设计

试验在山东农业大学温室内进行。种子经 $55 \text{ }^\circ\text{C}$ 温汤浸种消毒15 min, 然后在湿润的吸水纸上 $26 \text{ }^\circ\text{C}$ 催芽。待种子露白后, 播于洗净的蛭石中, 萌发后用1/4Hoagland营养液浇灌。当幼苗具有3~4片真叶时, 挑选生长一致的植株洗净根部蛭石后, 移栽于5 L塑料盆中, 用厚度为3 cm的泡沫塑料板做成楔形盖子, 覆盖在塑料盆顶部。每盆栽5株, 用1/2Hoagland营养液进行栽培。1周后换成完全营养液, 此后每3 d更换一次营养液。营养液栽培期间用电动气泵24 h连续通气。

植株具有5~6片真叶时, 对番茄幼苗进行胁迫处理。试验设4个处理: (1) CK, Hoagland完全营养液; (2) $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CuCl}_2$; (3) $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CuCl}_2 + 100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{SNP}$; (4) $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CuCl}_2 + 100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{SNP} + 0.1\% \text{Hb}$, 分别用CK、Cu、Cu+SNP和Cu+SNP+H表示, 3次重复, 在温室内随机排列。处理期间每隔2 d更换营养液, 用低浓度KOH或HCl调节至pH (5 ± 0.2)。温室内光照约12 h, 白天最高温度 $32 \text{ }^\circ\text{C}$, 夜间最低温度 $15 \text{ }^\circ\text{C}$ 。处理8 d后, 取相同节位的叶片用于分析测定。

3 根系结构与活力测定方法

根系结构测定参照乔海涛等(2009)的方法; 根系活力测定用TTC法(张志良和翟伟菁2003)。

4 根系和叶片超微结构观察

将不同处理的番茄幼苗的根、叶取下后先用

自来水洗净, 再用超纯水冲洗2遍, 然后用刀片切成 $1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm}$ 的小块(根部取根尖1~2 mm), 放入青霉素小瓶中, 加入3.5%戊二醛、2%多聚甲醛(按Karnovsky方法)进行前固定, 并置于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中保存。pH 7.2的磷酸缓冲液冲洗3次, 每次10 min。用2%的四氧化锇固定6 h, 在通风橱中进行。分别用浓度为50%、70%、80%、90%和100%的乙醇进行梯度脱水, 每次10~15 min, 用100%的乙醇脱水3次, 其他浓度各1次。100%的乙醇中要加入吸水剂无水硫酸铜。1:1的100%乙醇:丙酮1次, 纯丙酮1次, 各10 min。用1:1的纯丙酮:环氧树脂812包埋剂包埋1 h后, 再分2次加入等体积的环氧树脂, 开盖包埋2 d。将样品置于恒温培养箱中, $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 17 h, $45 \text{ }^\circ\text{C}$ 24 h, $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 17 h。用Reichert-Jung ULTR ACUTE型超薄切片机进行切片, 切片厚度为 $5\ 000 \sim 7\ 000 \text{ nm}$, 用带有支持膜的样品载网将切片捞起, 放入培养皿中。用醋酸双氧铀和柠檬酸铅在 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 下分别对样品染色15~20 min, 用双重蒸馏水冲洗干净后放入培养皿中待检。在JEM-1200EX透射电镜下进行观察并照相。

5 数据处理

采用Microsoft Excel软件对数据进行处理及绘图, 采用DPS统计软件对平均数用LSD极差法进行多重比较。

实验结果

1 外源NO对铜胁迫下番茄幼苗生长的影响

1.1 外源NO对铜胁迫下番茄幼苗生物量的影响

图1显示各处理间生物量差异显著。与CK相比, 铜胁迫处理使番茄单株生物量显著下降, 降幅达33.71%; 外施 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{SNP}$ 处理显著缓解铜胁迫引起的生长抑制, 使番茄幼苗生物量提高30.47%, 几乎恢复到对照水平; 添加NO清除剂血红蛋白, SNP的缓解效果被消除, 说明外源NO可促进铜胁迫下番茄幼苗的生长发育。

1.2 外源NO对铜胁迫下番茄幼苗生长势的影响

铜是植物生长发育所必需的微量元素。植物对铜的忍耐能力有限, 铜过量很容易引起毒害。由图2可知, $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cu}$ 胁迫处理显著抑制番茄幼苗生长势, 番茄幼苗的株高和茎粗均显著低于CK, 分别降低了23.05%和9.55%。而施加 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{SNP}$ 能显著缓解由铜胁迫引起的生长势下降, 株高

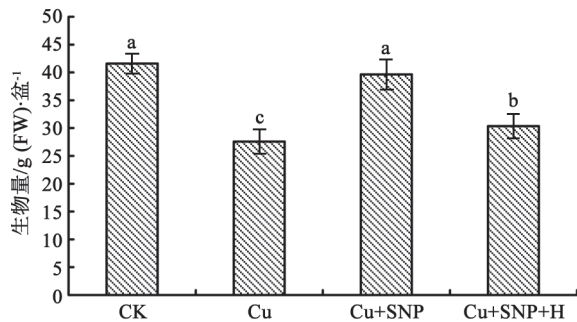


图1 外源NO对铜胁迫下番茄幼苗生物量的影响

Fig.1 Effect of exogenous NO on biomass in tomato seedlings under copper stress

方柱上不同字母表示差异显著($P<0.05$)。下图同此。

和茎粗分别提高了16.53%和14.88%。相对于Cu处理,添加NO清除剂血红蛋白后,SNP的缓解效果被消除,株高和茎粗几乎恢复到铜胁迫处理水平。

2 外源NO对铜胁迫下番茄幼苗根系结构的影响

根系构型指根系的结构及空间造型。根长、根表面积、根体积和根平均直径等是描述根构型的重要参数,它们对根域环境、营养条件等因素非常敏感。由图3可知,不同铜胁迫处理对根系结构参数的影响趋势基本一致。50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu胁迫处理显著抑制番茄幼苗根长、根表面积、根体积和根平均直径,而施入100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP可显著缓解铜胁迫对番茄幼苗根长、根表面积、根体积和

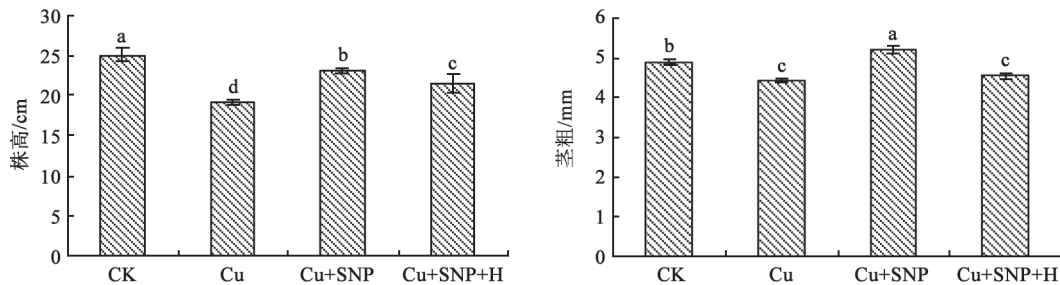


图2 外源NO对铜胁迫下番茄幼苗株高和茎粗的影响

Fig.2 Effect of exogenous NO on plant height and stem diameter in tomato seedlings under copper stress

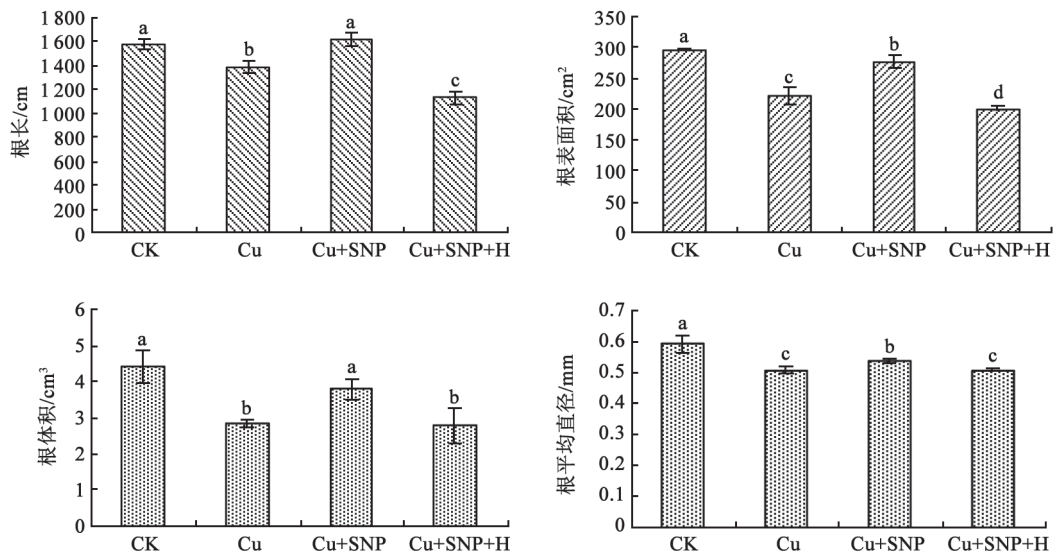


图3 外源NO对铜胁迫下番茄幼苗根系结构的影响

Fig.3 Effect of exogenous NO on root structure in tomato seedlings under copper stress

根平均直径的抑制($P<0.05$),添加NO清除剂血红蛋白后,显著消除SNP的缓解效果。

3 外源NO对铜胁迫下番茄幼苗根系活力的影响

重金属胁迫条件下,根系是最先遭受毒害的

部位,根系活力反映了植物根系的生长发育状况,是根系生命力的综合评定指标。由图4可以看出,不同铜胁迫处理,番茄的根系活力受到明显的影响。与CK处理相比,50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu处理的番茄幼苗根系活力降低8.31%,差异达显著水平。而外施100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP处理能显著提高铜胁迫下番茄幼苗的根系活力,与Cu处理相比,提升幅度为11.72%。用NO清除剂血红蛋白处理后,SNP的缓解效果被消除。

4 外源NO对铜胁迫下番茄幼苗根系和叶片超微结构的影响

4.1 外源NO对铜胁迫下番茄幼苗根系超微结构的影响

图5所示是透射电镜下观察到的铜胁迫下番茄幼苗根系超微结构。CK处理下,细胞结构完整,各细胞器正常(筛管,图5-A;线粒体,图5-I),细胞核

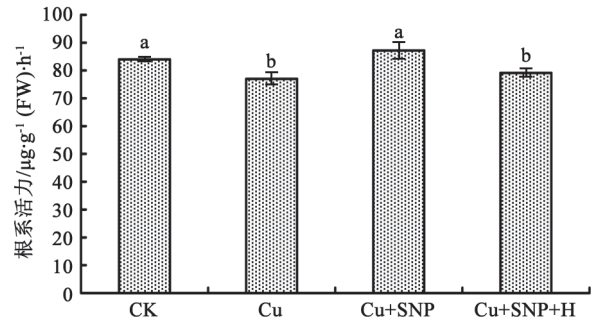


图4 外源NO对铜胁迫下番茄幼苗根系活力的影响
Fig.4 Effect of exogenous NO on root activity in tomato seedlings under copper stress

具有双层膜和清晰的核仁(图5-E)。与CK处理相比,铜胁迫处理的番茄幼苗根系细胞发生明显变化,筛管中出现大量黑色物质(图5-B);细胞核核膜

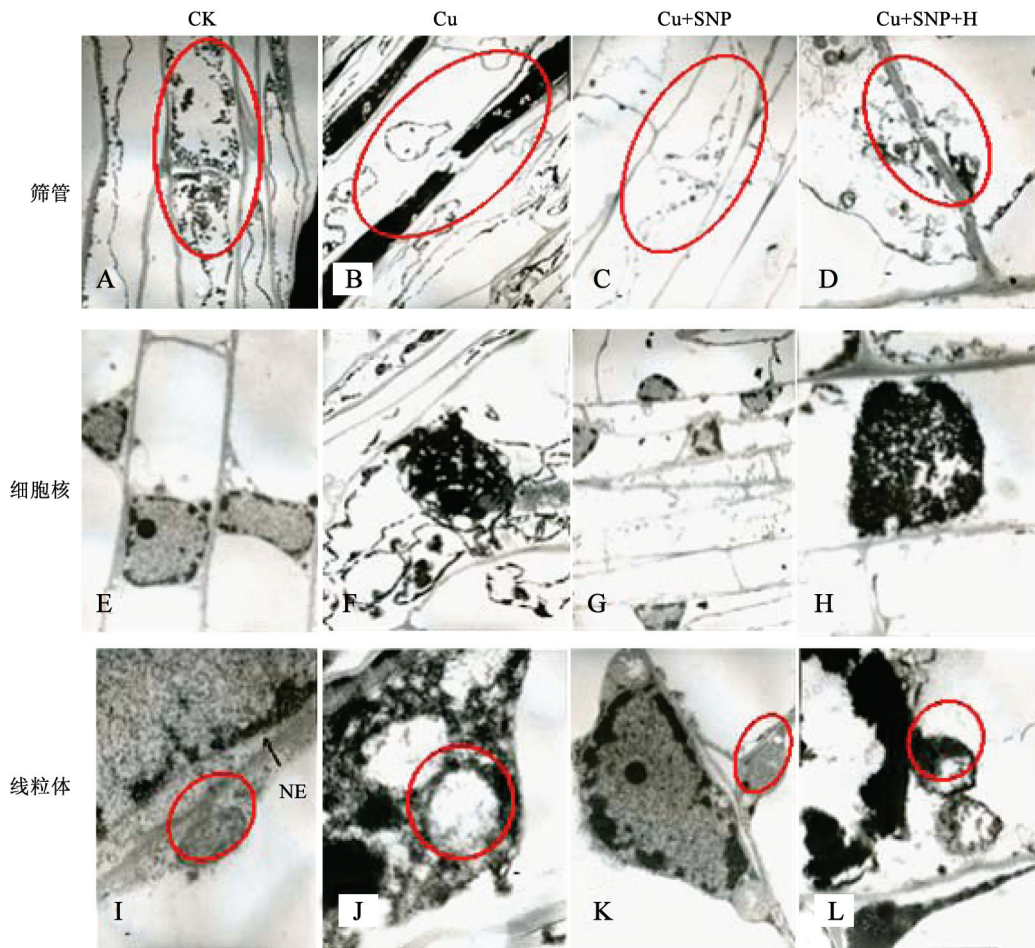


图5 外源NO对铜胁迫下番茄幼苗根系超微结构的影响

Fig.5 Effect of exogenous NO on root ultrastructure in tomato seedlings under copper stress
NE: nuclear membrane, 核膜。A~C: $\times 2000$; D: $\times 10000$; E, G: $\times 2000$; F: $\times 10000$; H: $\times 25000$; I~L: $\times 10000$ 。

降解,核仁完全融解(图5-F);线粒体内膜逐渐解体,外膜部分出现损伤,整个线粒体变形(图5-J)。外源NO处理使番茄幼苗根细胞中的筛管结构基本恢复正常(图5-C);细胞核中心部分清晰分明,但核膜部分降解,观察不到核仁(图5-G);线粒体变得稍微正常(图5-K)。用NO清除剂血红蛋白的处理,筛管结构几乎消失(图5-D);细胞核解体,核膜消失(图5-H);线粒体严重变形,几乎解体(图5-L)。

4.2 外源NO对铜胁迫下番茄幼苗叶片超微结构的影响

透射电镜下,观察到的铜胁迫下番茄幼苗叶片超微结构如图6所示。CK处理(图6-A、E、I、M)显示,细胞叶绿体结构完整,呈椭圆形,类囊体排列整齐,片层清晰可辨,基粒发达,膜清晰完整;线粒体呈比较规则的球形或椭圆形,双层被膜结构完整;嵴清晰可见;细胞核核膜完整,可见核仁;液泡膜完整,液泡充盈呈膨胀状态,与周围的细胞质紧密相贴。与CK处理相比,铜胁迫处理的番茄幼苗叶片中细胞发生明显变化,叶绿体形态变化较大,大多膨胀成圆形,基粒片层受到破坏,类囊体垛叠解体,膜不完整,淀粉粒消失(图6-B);线粒体内膜逐渐解体,外膜部分出现损伤,整个线粒体变形(图6-F);细胞核核膜降解,核仁完全融解(图6-J);液泡呈瘪状,并观察到黑色络合物质(图6-N)。外源NO处理使番茄幼苗根细胞中的叶绿体有轻微变形,基粒片层有些混乱,表明类囊体膜有一定程度的降解(图6-C),但与Cu处理(图6-B)相比,外源NO明显有缓解铜胁迫的作用;线粒体有所恢复,但程度不太明显(图6-G);细胞核核膜部分降解,能观察到核仁(图6-K)。液泡中的黑色物质减少(图6-O)。用NO清除剂血红蛋白处理后,叶绿体则有明显的变形,基粒片层有些混乱,表明类囊体膜有一定程度的降解(图6-D);线粒体严重变形,几乎解体(图6-H);细胞核解体,核膜消失(图6-L);液泡中观察到黑色络合物质(图6-P)。

讨 论

绿色植物叶肉细胞中的叶绿体是进行光合作用制造有机物的场所,植物体内过量的铜会减少叶绿体的数目并破坏叶绿体结构(Maksymiec等1994)。NO可增加豌豆叶片叶绿素含量,阻止叶绿

素流失(Leshem等1997)。本试验中,50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu胁迫处理的番茄幼苗与对照相比单株生物量显著下降,其原因可能是过量的铜抑制了叶绿素的合成,致使地上部营养器官中有机物的合成减少,也影响有机物向地下部的运输,降低了生物产量。

株高是与产量密切相关的重要农艺性状,幼苗株高在很大程度上决定植株的株高。番茄幼苗的茎粗主要由维管束的数目、大小及基本组织细胞或叶肉细胞的数目与大小决定(李扬汉1983)。本研究表明,50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu胁迫处理后番茄幼苗的株高和茎粗均显著低于对照。而外施100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP显著缓解铜胁迫,用NO清除剂血红蛋白处理后,SNP的缓解效果消除,这可能是由于NO作为植物体内的信号分子,刺激了生长素和赤霉素的合成调控,提高番茄幼苗的株高、根长和茎粗,降低铜胁迫对植物生长的抑制(Neumann和Martinoia 2002)。

根系结构对植物的生长非常重要,根系形态变化对生长介质环境中营养元素吸收有较大影响(廖红和严小龙2000)。植物根系通过调节根长度和根直径的大小表现出对环境的适应,铜胁迫条件下,根总长度、总面积和总体积等与植株 Cu^{2+} 的吸收量相关显著,根直径有减小趋势(王向荣等2005)。根系构型的形态学指标(根长、根直径、根表面积等)在多种豆科作物上表现出与作物磷效率具有较好的相关性。从生理角度看,环境胁迫导致根系构型变化可能与内源激素调节有关(Bates和Lynch 2001)。NO作为植物体内的信号分子,能够刺激内源激素的产生,通过生长素、细胞分裂素、乙烯等内源激素对根构型变化起作用(Neumann和Martinoia 2002)。外源SNP在植物体内释放NO,通过NO信号系统迅速传递到地上部,促进幼叶或茎尖等生长活跃部位IAA的合成,IAA再运送到根部引发一系列生理生化反应,诱导地上部同化物向根系分配,促进整个根系生长而改变根系结构(范伟国和杨洪强2006)。低浓度NO可作为抗氧化剂清除超氧阴离子等活性氧,调节超氧化物的形成,抑制脂质过氧化作用来保护植物免受环境胁迫的伤害(Beligni等2002)。根系活力影响植物根系的主动吸收能力,表面积影响根系的被动吸收能力。本试验中,50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu胁迫情况下

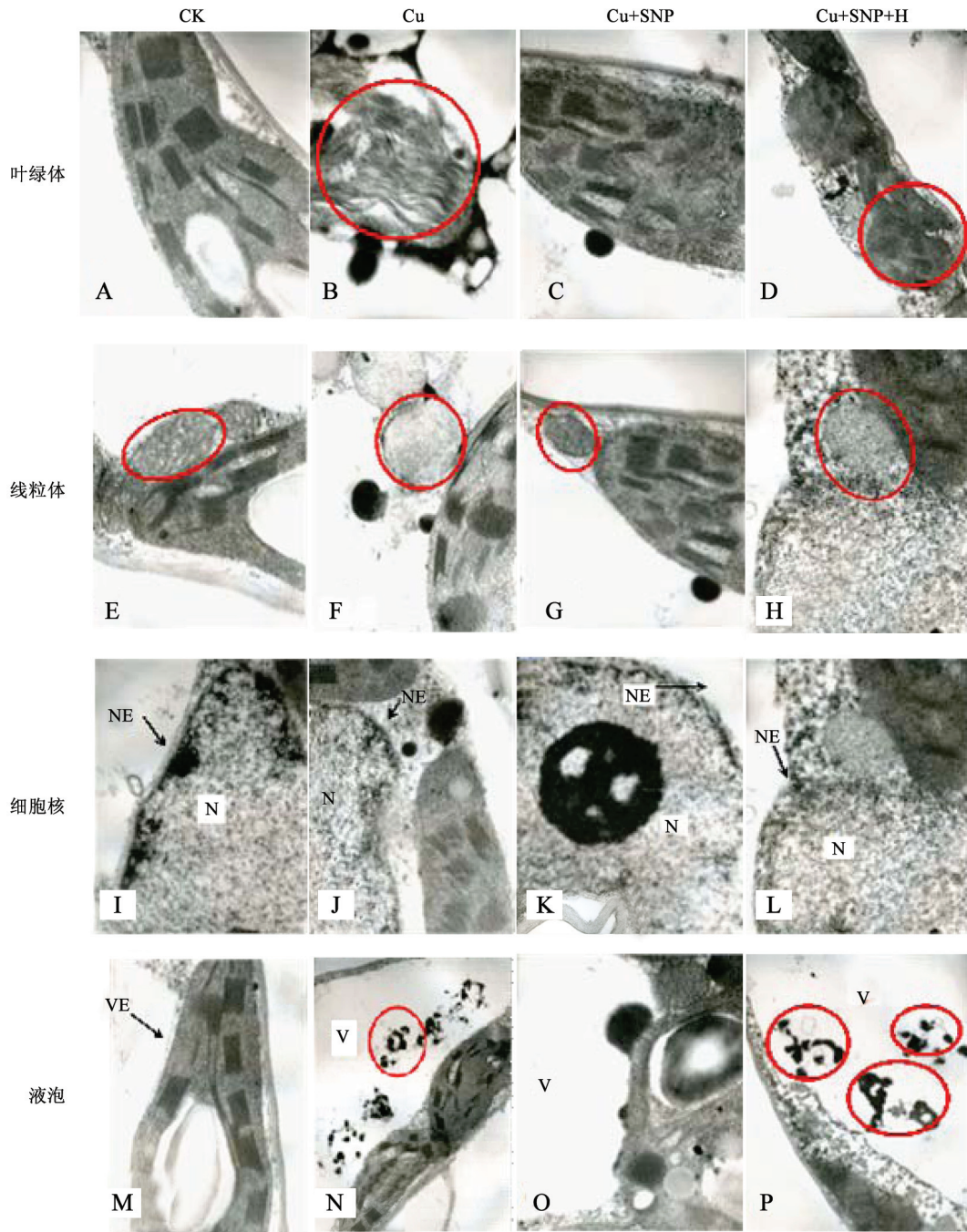


图6 外源NO对铜胁迫下番茄幼苗叶片超微结构的影响

Fig.6 Effect of exogenous NO on leaf ultrastructure in tomato seedlings under copper stress

NE: nuclear membrane, 核膜; V: vacuole, 液泡; N: cell nuclear, 细胞核; VE: vacuole membrane, 液泡膜。A~C: $\times 25\ 000$; D: $\times 10\ 000$; E~H: $\times 10\ 000$; I~L: $\times 25\ 000$; M~P: $\times 10\ 000$ 。

番茄幼苗根系活力显著降低, 而外源NO能够显著缓解铜胁迫对番茄幼苗根系活力的降低, 由于外源SNP在植物体内释放NO, 通过NO刺激内源激素的产生并改变根系结构, 增加根系吸收面积, 从而

提高铜胁迫下番茄幼苗根系的活力, 并通过对活性氧的抑制作用增强抗氧化性, 减轻铜对细胞结构的损伤, 缓解铜胁迫对番茄幼苗根系的伤害。

重金属胁迫条件下, 植物细胞、组织和器官

水平上的结构及超微结构会发生改变。铜离子胁迫引起细胞结构的破坏是植物受到重金属毒害的共同特征,铜胁迫可对植物产生多方面的影响,如膜脂过氧化作用增强,质膜透性增加,酶活性和可溶性蛋白含量下降等(Cheeseman 1988)。铜过量使细胞膜的强度下降,铜渗入细胞内,影响细胞器的结构功能,还会造成其他超微结构的破坏,尤其是根部细胞(Strange和Macbaur 1991)。倪才英等(2003)对铜胁迫下紫云英的根、茎、叶细胞超微结构研究发现,铜胁迫下,各细胞器均有不同程度损伤。本试验中,正常生长的番茄幼苗细胞超微结构均基本保持稳定;铜胁迫下,番茄幼苗细胞受到不同程度的伤害。 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu胁迫下,叶细胞中叶绿体有轻微变形,基粒片层受到破坏,类囊体膜降解。其原因可能是铜离子使活性氧清除系统的动态平衡被打破,造成叶绿体中 H_2O_2 的积累, H_2O_2 是强氧化剂,可通过Haber-Weiss反应产生攻击力更强的羟自由基,启动膜脂过氧化,破坏膜脂和膜蛋白,造成叶绿体损伤(蒋明义等1994)。而外施 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP后铜胁迫抑制作用可部分被缓解,用NO清除剂血红蛋白处理后缓解效果解除。外源NO能够提高铜胁迫下番茄幼苗抗氧化酶的活性,从而降低 H_2O_2 的含量,减少膜脂过氧化,在一定程度上缓解这种叶绿体结构的改变(Zhang等2009)。液泡中观察到黑色络合物质,一方面可能是铜胁迫处理后液泡内各种蛋白质、糖、有机酸碱与 Cu^{2+} 的沉淀物(王松华等2003);另一原因是由于铜胁迫处理后大部分细胞中的核物质高度凝集、出现质壁分离现象、细胞器结构严重受损;在细胞不同区域中沉积大小不等电子稠密颗粒,液泡是这种电子密度颗粒主要的积累场所(倪才英等2004)。外施 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP后黑色物质减少,用NO清除剂血红蛋白处理后,黑色物质又增加,这说明外源NO可通过调控细胞膜及液泡膜的机制对细胞膜和细胞器具有良好的保护和修复作用,减轻过多的铜对生物膜的伤害(崔秀敏等2011)。

铜胁迫下,根、叶中的线粒体整体变形、内膜解体、外膜出现损伤,表明过多的铜离子抑制了线粒体的正常生理功能,并破坏线粒体内的氧化磷酸化循环和电子传递系统,影响三羧酸循环和生物氧化的进行,最终导致细胞能量代谢减弱

(Grill等1986)。而SNP在植株体内释放出的NO可以直接与脂质过氧化产物反应,中断脂质自由基链式反应,阻止膜脂的氧化损伤,进而缓解铜胁迫对植株的线粒体膜结构造成的伤害。在铜胁迫下细胞核解体,核膜消失、核仁膨胀,并与染色质凝聚在一起,外施 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP后上述现象可显著改善与修复,用NO清除剂血红蛋白处理后,缓解效果消失。其原因可能是由于铜离子渗入细胞后与细胞核内的核酸等大分子物质结合,使DNA凝聚,导致染色体断裂和畸变(倪才英等2003)。而外源NO可通过调节细胞膜组分的变化,阻止铜离子的渗入,保护细胞器免受过多铜离子的毒害。

参考文献

- 崔秀敏, 吴小宾, 李晓云, 李絮花(2011). 铜、镉毒害对番茄生长和膜功能蛋白酶活性的影响及外源NO的缓解效应. 植物营养与肥料学报, 17 (2): 349~357
- 范伟国, 杨洪强(2006). 果树根构型及其与营养和激素的关系. 果树学报, 23 (4): 587~592
- 黄治平, 徐斌, 张克强, 杨秀春(2007). 连续四年施用规模化猪场猪粪温室土壤重金属积累研究. 农业工程学报, 23 (11): 239~243
- 蒋明义, 杨文英, 徐江, 陈巧云(1994). 渗透胁迫下水稻幼苗中叶绿素降解的活性氧损伤作用. 植物学报, 36 (4): 289~295
- 李扬汉(1983). 植物学. 上海: 上海科学技术出版社, 112~163
- 廖红, 严小龙(2000). 低磷胁迫下菜豆根构型性状的QTL定位. 农业生物技术学报, 8 (1): 67~70
- 卢东, 宗良纲, 肖兴基, 杨永岗, 周泽江, 席运官(2005). 华东典型地区有机与常规农业土壤重金属含量的比较研究. 农业环境科学学报, 24 (1): 143~147
- 倪才英, 陈英旭, 骆永明(2003). 红壤模拟铜污染下紫云英根表形态及其组织和细胞结构变化. 环境科学, 24 (3): 116~121
- 倪才英, 李华, 骆永明, 陈英旭(2004). 铜、镉及其交互作用对泡泡草细胞超微结构的影响. 环境科学学报, 24 (2): 333~348
- 乔海涛, 杨洪强, 申为宝, 姜倩倩, 由淑贞, 张龙, 冉昆, 张鑫荣(2009). 缺氮和缺铁对平邑甜茶幼苗根系构型的影响. 园艺学报, 36 (3): 321~326
- 任小林, 张少颖, 于建娜(2004). 一氧化氮与植物成熟衰老的关系. 西北植物学报, 24 (1): 167~171
- 谭伊文, 许岳飞, 周禾(2010). 盐胁迫下一氧化氮对高羊茅种子萌发和幼苗生长的影响. 草地学报, 18 (3): 394~398
- 王松华, 杨志敏, 徐朗莱(2003). 植物铜素毒害及其抗性机制研究进展. 生态环境, 12 (3): 336~341
- 王向荣, 王政权, 韩有志, 谷加存, 郭大立, 梅莉(2005). 水曲柳和落叶松不同根序之间细根直径的变异研究. 植物生态学报, 29 (6): 871~877
- 曾希柏, 李莲芳, 白玲玉, 梅旭荣, 杨佳波, 胡留杰(2007). 山东寿光农业利用方式对土壤砷累积的影响. 应用生态学报, 18 (2): 310~316
- 张义凯, 韩小娇, 金洪, 陈秀灵, 崔秀敏, 吴小宾, 徐艳如(2010). 外源NO对铜胁迫下番茄光合、生物发光特性及矿质元素吸收的

- 影响. 植物营养与肥料学报, 16 (1): 172~178
- 张志良, 翟伟菁(2003). 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 39~41
- Bates TR, Lynch JP (2001). Root hairs confer a competitive advantage under low phosphorus availability. *Plant Soil*, 236: 243~250
- Beligni MV, Fath A, Bethke PC, Lamattina L, Jones RL (2002). Nitric oxide acts as an antioxidant and delays programmed cell death in barley aleurone layers. *Plant Physiol*, 129: 1642~1650
- Beligni MV, Lamattina L (2001a). Nitric oxide in plants: the history is just beginning. *Plant Cell Environ*, 24 (3): 267~278
- Beligni MV, Lamattina L (2001b). Nitric oxide: a non-traditional regulator of plant growth. *Trends Plant Sci*, 6 (11): 508~509
- Brun LA, Maillat J, Hinsinger P, Pépin M (2001). Evaluation of copper availability to plants in copper-contaminated vineyard soils. *Environ Pollut*, 111: 293~302
- Cheeseman JM (1988). Mechanism of salinity tolerance in plants. *Plant Physiol*, 87: 547~550
- Delledonne M, Xia Y, Dixon RA, Lamb C (1998). Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. *Nature*, 394: 585~588
- Durner J, Wendehenne D, Klessig DF (1998). Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP, and cyclic ADP-ribose. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95 (17): 10328~10333
- Grill E, Gekeler W, Winnacker E-L, Zenk HH (1986). Homo-phytochelatins are heavy metal-binding peptides of homo-glutathione containing Fabales. *FEBS Lett*, 205: 47~50
- Lamattina L, Beligni MV, Garcia-Mata C, Laxalt AM (2001). Method of enhancing the metabolic function and the growing conditions of plants and seeds. US Patent. US 6242384 B1
- Leshem YY, Haramaty E, Iluz D, Malik Z, Sofer Y, Roitman L, Leshem Y (1997). Effect of stress nitric oxide (NO): interaction between chlorophyll fluorescence, galactolipid fluidity and lipoxygenase activity. *Plant Physiol Biochem*, 35: 573~579
- Maksymiec W, Russa R, Urbanik-Sypniewska T, Baszyński T (1994). Effect of excess Cu on the photosynthetic apparatus of runner bean leaves treated at two different growth stages. *Physiol Plant*, 91: 715~721
- Neumann G, Martinoia E (2002). Cluster roots—an underground adaptation for survival in extreme environments. *Trends Plant Sci*, 7: 162~167
- Sharma SS, Dietz KJ (2009). The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance. *Trends Plant Sci*, 14 (1): 43~50
- Strange J, Macbaur MR (1991). Evidence for a role for the cell membrane in copper tolerance of *Mimulus guttatus* Fischer ex DC. *New Phytol*, 119: 383~388
- Zhang YK, Han XJ, Chen XL, Jin H, Cui XM (2009). Exogenous nitric oxide on antioxidative system and ATPase activities from tomato seedlings under copper stress. *Sci Hortic*, 123 (2): 217~223