



# 外源 NO 对水分胁迫下平邑甜茶 幼苗氧化损伤的缓解效应

曹慧<sup>1</sup>,王东方<sup>1</sup>,王汉海<sup>1</sup>,邹岩梅<sup>2</sup>,束怀瑞<sup>2\*</sup>

(1 潍坊学院 山东高校生物化学与分子生物学重点实验室,山东潍坊 261061;2 国家苹果工程技术研究中心,山东泰安 271018)

**摘要:**以苹果属植物平邑甜茶水培幼苗为试验材料,采用 20% PEG-6000 模拟水分胁迫,进行了外源 NO 对水分胁迫下平邑甜茶幼苗氧化损伤的缓解效应研究。结果表明:100~500  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  外源硝普钠(SNP, NO 供体)处理,能在一定程度上提高渗透胁迫下平邑甜茶叶片内 SOD、POD、CAT、APX 活性和 ASA 含量,不同程度减轻 20% PEG-6000 胁迫对平邑甜茶幼苗活性氧的累积和氧化损伤,其中以 300  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP 处理缓解效应最佳,而相对高浓度的 700  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP 处理则不能起到缓解作用,反而有一定的毒害作用。

**关键词:**平邑甜茶幼苗;水分胁迫;一氧化氮;氧化损伤;缓解效应

中图分类号:Q945.78

文献标志码:A

## Alleviated Effect of Exogenous Nitric Oxide on Oxidative Damage in *Malus hupehensis* (Pamp.) Rehd. Seedlings under Water Stress

CAO Hui<sup>1</sup>, WANG Dongfang<sup>1</sup>, WANG Hanhai<sup>1</sup>, ZOU Yanmei<sup>2</sup>, SHU Huairui<sup>2\*</sup>

(1 Weifang University Key Laboratory of Biochemistry & Molecular Biology in Universities of Shandong, Weifang, Shandong 261061, China; 2 National Research Center for Apple Engineering and Technology, Tai'an, Shandong 271018, China)

**Abstract:** Alleviated effects of exogenous nitric oxide on oxidative damage in *Malus hupehensis* (Pamp.) Rehd. seedlings were studied under water stress. The results showed that 100~500  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP (sodium nitroprusside, NO-donor) can alleviate the different degree oxidative damage under water stress, with the activities of superoxide isomutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) and the content of ascorbic acid (ASA) were increased in seedling's leaves. The study showed that 300  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP have the significantly effects and relatively high concentration (700  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP) can not play a relief role, meantime there are certain toxic effects on *M. hupehensis* seedlings.

**Key words:** *Malus hupehensis* (Pamp.) Rehd. seedling; water stress; nitric oxide (NO); oxidative damage; alleviated effects

一氧化氮(nitric oxide, NO)是生物体内通过酶促和非酶促途径产生的一种生物活性分子<sup>[1-2]</sup>,广泛存在于植物组织中<sup>[3]</sup>。NO 也可作为重要的信号分子,它能使非生物胁迫条件下的植物生长发育免受活性氧(reactive oxygen species, ROS)的伤害,且其效应与植物细胞的生理条件及 NO 处理浓度有

关<sup>[4-5]</sup>。有研究表明,外源 NO 通过增强盐胁迫下小麦<sup>[6]</sup>、黄瓜<sup>[7]</sup>、辣椒<sup>[8]</sup>幼苗,及高温、镉胁迫下姜<sup>[9]</sup>、水稻幼苗<sup>[10]</sup>超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性,提高非酶促抗氧化物质谷胱甘肽(GSH)和抗坏血酸(ASA)等的含量,从而缓解由于胁迫导致的叶片 ROS 的累积。全球每年因干旱导

收稿日期:2014-09-09;修改稿收到日期:2015-01-11

基金项目:国家现代苹果产业技术体系(CAR-28);山东省科学技术发展计划(2011GNC11201);潍坊市科技发展计划(201003037)

作者简介:曹慧(1966—),女,博士(后),教授,主要从事果树逆境生理与分子生物学研究。E-mail:hui5232@163.com

\*通信作者:束怀瑞,院士,教授,主要从事果树栽培生理与生产推广研究。E-mail:hrshu@sdau.edu.cn

致作物减产约高达20%,如何提高作物的抗旱性是植物抗逆研究的重要课题,因此,研究水分胁迫下NO与植物抗旱性的关系具有重要意义。平邑甜茶为北方苹果树的一种常用实生砧木,具有无融合生殖的特点。关于NO在植物抗逆过程中的作用,目前研究主要集中在农作物、经济作物等植物上<sup>[11-13]</sup>,而对木本植物的研究鲜有报道,尤其对苹果属植物的研究更为少见。因此,本研究选取苹果属植物平邑甜茶幼苗为试材,通过水培方法添加不同浓度的一氧化氮供体硝普纳(SNP)探讨渗透胁迫下(20%PEG-6000)外源NO对氧化损伤的缓解效应,为进一步了解NO提高植物抗逆性的作用提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料培养与处理

选用苹果砧木平邑甜茶[*Malus hupehensis* (Pamp.) Rehd.]为试验材料,试验于2005年2月~2008年12月在潍坊学院省级重点实验室进行。平邑甜茶种子经4℃层积处理,蛭石培养。待幼苗长出4~5片真叶以后,选取生长良好一致的幼苗转至1/2 Hoagland营养液中培养。培养1周后转为全Hoagland营养液中培养,每周定期更换1次营养液。当幼苗长到15~16片叶时,选择长势相对一致的幼苗进行试验处理。NO供体硝普钠(sodium nitrop russia, SNP)购买自Sigma公司,先用蒸馏水配制为100 mmol·L<sup>-1</sup>的母液,4℃保存,使用时按试验所需浓度进行稀释。

采用20%PEG-6000处理相当于-0.63 MPa,轻度水分胁迫模拟干旱处理<sup>[14-15]</sup>。试验设置6个处理分别为:Hoagland营养液(对照,CK);Hoagland营养液+20%PEG-6000溶液(I);Hoagland营养液+20%PEG-6000溶液+100 μmol·L<sup>-1</sup>SNP(II);Hoagland营养液+20%PEG-6000溶液+300 μmol·L<sup>-1</sup>SNP(III);Hoagland营养液+20%PEG-6000溶液+500 μmol·L<sup>-1</sup>SNP(IV);Hoagland营养液+20%PEG-6000溶液+700 μmol·L<sup>-1</sup>SNP(V)。每处理8株,3次重复,随机排列,为了保证处理浓度的稳定性,处理期间每天更换1次处理液。于胁迫处理0、3、6、9、12 d分别选取中部9~12叶位成熟叶片进行各项生理指标测定,3次重复。

### 1.2 测定指标及方法

超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性的测定参照陈贻竹等<sup>[16]</sup>的方法;过氧化氢酶

(CAT)活性的测定参照Cakmak等<sup>[17]</sup>的方法;抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的测定参照Nakano等<sup>[18]</sup>的方法;抗坏血酸(ASA)含量参照Arakawa等<sup>[19]</sup>方法测定;O<sub>2</sub><sup>-</sup>产生速率参照王爱国等<sup>[20]</sup>的方法测定;H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量参照刘俊等<sup>[21]</sup>的方法测定;丙二醛(MDA)含量参照李合生<sup>[22]</sup>的方法进行测定。

### 1.3 数据处理

试验数据采用SAS统计软件进行统计分析,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处理对水分胁迫下平邑甜茶幼苗SOD、POD和CAT活性的影响

SOD活性受O<sub>2</sub><sup>-</sup>水平的调节,是植物体内清除O<sub>2</sub><sup>-</sup>的关键酶。从图1可知,在整个处理期内,平邑甜茶叶片SOD活性在对照(CK)中保持稳定,在处理I(20%PEG)中呈先升后降趋势,在处理第3天比对照提高了7.9%,之后就始终低于对照,且与对照的差异越来越大。但添加不同浓度SNP后,干旱胁迫处理叶片SOD活性发生了不同程度的变化,其在处理III中始终显著高于对照水平,且有逐渐升高的趋势;其在处理II和处理IV中于处理第9天升至最高值,分别比对照提高了8.5%和16.9%,之后下降,两者也始终高于对照,但与对照之间差异未达显著水平( $P>0.05$ );处理V的SOD活性在处理3 d之后就大幅下降,且与对照之间的差异越来越大,并达极显著水平( $P<0.01$ )。

由图1还可知,CAT活性变化趋势与POD相一致。经20%PEG胁迫和不同浓度NO处理,在处理0~3 d POD、CAT活性变化幅度较为平缓,与对照之间差异未达到显著水平。但处理3 d后处理II和IV POD、CAT活性分别在处理后第6天和第9天均升至最高值,分别比对照提高了11.6%、15.4%和3.8%、20.1%,之后呈下降趋势;处理III和处理V在整个处理期内分别一直呈上升和下降趋势,到第12天与对照之间的差异均达显著水平。

以上结果说明不同浓度NO处理可不同程度提高SOD、POD和CAT酶活性,起到酶促防御保护作用,防止水分胁迫对平邑甜茶所造成的伤害,其防御作用为:处理III>处理IV>处理II>处理V。

### 2.2 外源NO处理对水分胁迫下平邑甜茶幼苗APX活性和ASA含量的影响

ASA可还原O<sub>2</sub><sup>-</sup>、清除·OH、淬灭<sup>1</sup>O<sub>2</sub>及歧化H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。APX是以抗坏血酸ASA为电子供体的一

种过氧化物酶。从图2可知,处理I ASA含量和APX活性分别在处理第6天升至最高。经不同浓度NO处理,处理II、处理IV ASA含量和APX活性分别在处理后第6天和9天升至最高值,分别比对照提高了10.3%、19.9%和16.1%、13.2%,之后呈下降趋势;处理III在整个处理期内ASA含量和APX活性与对照相比一直呈上升趋势,于处理第9天与对照之间的差异达显著水平;而处理V APX活性随着ASA含量剧烈变化而变化。以上结果说明平邑甜茶幼苗在水分胁迫前期APX活性和ASA含量的提高,可能是对胁迫的一种自身调节能力,但随着胁迫时间的延长APX活性和ASA含量大幅

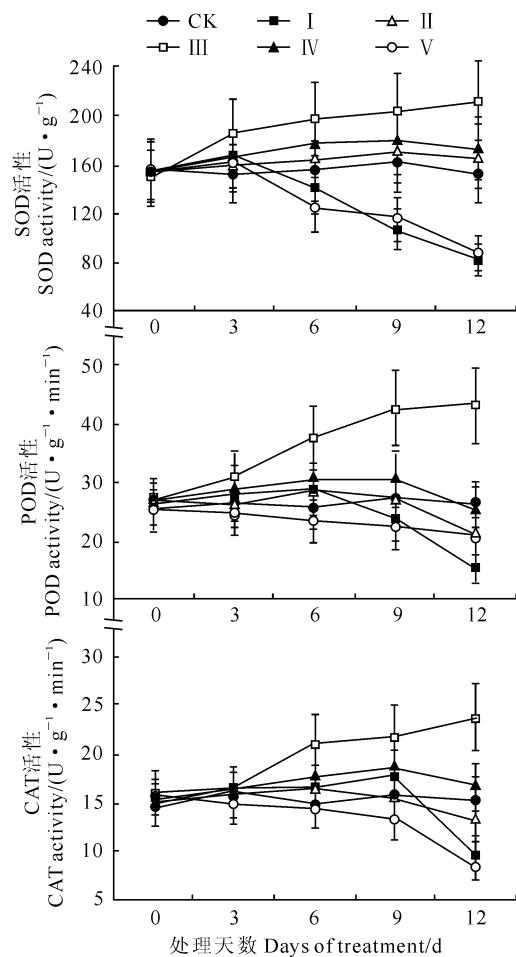


图1 外源NO处理对水分胁迫下平邑甜茶幼苗SOD、POD和CAT活性的影响

Fig. 1 Effects of NO concentrations on SOD, POD and CAT activities in *M. hupehensis* (Pamp.)

Rehd. seedlings under water stress

CK. Hoagland; I. Hoagland+20% PEG-6000; II. Hoagland+20% PEG-6000+100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP; III. Hoagland+20% PEG-6000+300  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP; IV. Hoagland+20% PEG-6000+500  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP; V. Hoagland+20% PEG-6000+700  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP

降低,减弱了清除自由基的能力。经不同浓度NO处理可不同程度使平邑甜茶幼苗中APX活性和ASA含量保持较高水平,以增强抗胁迫能力。

### 2.3 外源NO对水分胁迫下平邑甜茶幼苗活性氧和膜脂过氧化的影响

从图3可知,处理I  $\text{O}_2^-$ 产生速率和 $\text{H}_2\text{O}_2$ 含量随着胁迫时间的延长而升高。处理III使 $\text{O}_2^-$ 产生速率和 $\text{H}_2\text{O}_2$ 含量变化幅度平缓,在整个处理期内与对照之间的差异不显著;处理II和处理IV均使 $\text{O}_2^-$ 产生速率和 $\text{H}_2\text{O}_2$ 含量在一定程度上缓解了上升幅度,分别于处理后第6天和第9天与对照之间的差异达显著水平,分别比对照升高了70.2%、43.6%和42.2%、29.9%。处理V在整个处理期内均呈大幅上升趋势,处理第6天与对照之间的差异就达极显著水平。膜脂过氧化可以用MDA含量来表示。图3还表明,处理I使MDA含量在整个处理期内大幅度升高。处理II、处理III和处理IV均使MDA含量较对照变化平稳,但活性变化幅度为处理II>处理IV>处理III。处理II与处理IV虽然在处理前期能减缓MDA含量的上升,但均于处理后第6天和第9天呈大幅度上升趋势,分别比对照提高了32.6%和52.1%,且与对照之间的差异达显著水平,

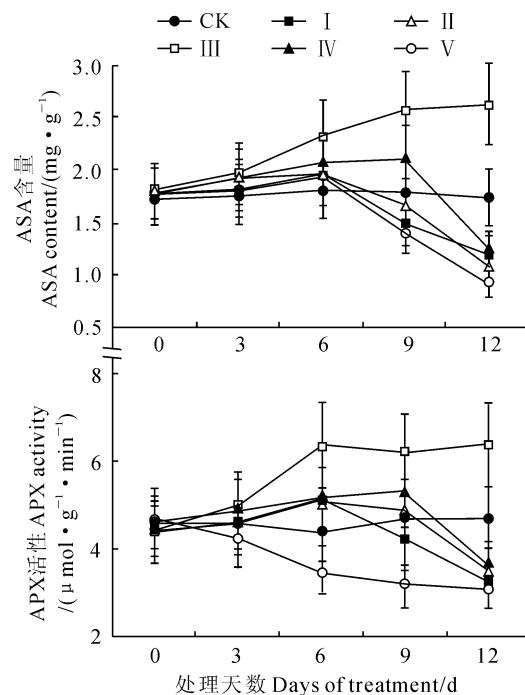


图2 外源NO处理对水分胁迫下平邑甜茶幼苗ASA含量和APX活性的影响

Fig. 2 Effects of NO concentrations on ASA content and APX activity in *M. hupehensis* (Pamp.) Rehd. seedlings under water stress

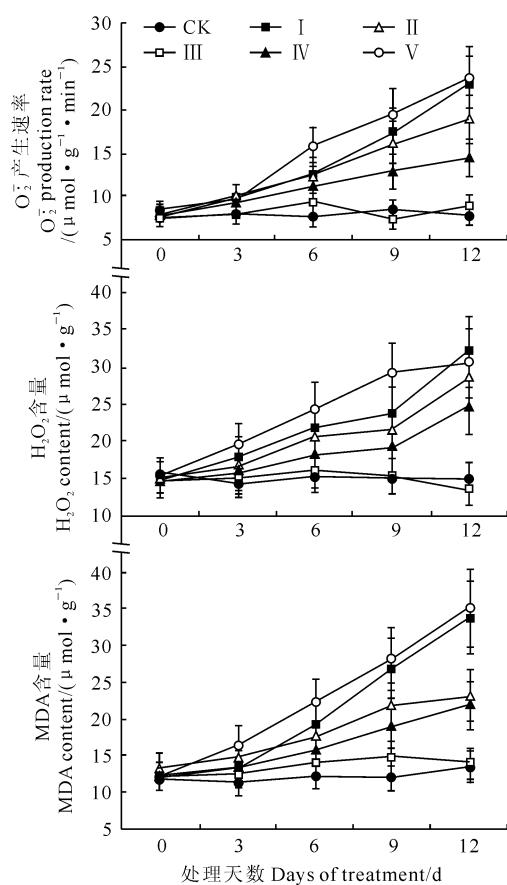


图3 外源NO处理对水分胁迫下平邑甜茶幼苗 $O_2^-$ 产生速率、 $H_2O_2$ 和MDA含量的影响

Fig. 3 Effects of NO concentrations on production rate of  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  and MDA contents in *M. hupehensis* (Pamp.) Rehd. seedlings under water stress

(Pamp.) Rehd. seedlings under water stress

而处理Ⅲ在整个处理期内与对照之间的差异未达显著水平。处理Ⅴ在整个处理期内MDA含量变化幅度与处理Ⅰ相一致。表明水分胁迫下平邑甜茶幼苗叶片随着胁迫时间的延长膜脂过氧化作用逐渐加强,膜透性增加。但经过不同浓度NO处理可不同程度防止膜系统受到破坏。

### 3 讨 论

正常生长条件下,细胞内活性氧的产生量很小( $240 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} O_2^-$ )<sup>[23]</sup>,当植物受到胁迫时,体内会产生大量的活性氧,而植物体内也存在活性氧自由基清除系统。SOD是清除生物体内 $O_2^-$ 的唯一酶类,SOD催化 $O_2^-$ 发生歧化反应生成的 $H_2O_2$ 则由POD、CAT、APX和ASA等来清除,APX与 $H_2O_2$ 的亲合力较强,经过抗坏血酸循环分解来完成<sup>[9]</sup>。本研究表明,在20%PEG胁迫下,平邑甜茶幼苗叶片SOD、POD、CAT、APX活性和ASA含量在胁迫前期均有不同程度的提高,这些酶活性和

ASA含量的提高可能是20%PEG胁迫前期一种自身适应,是平邑甜茶对逆境胁迫的应激反应,它们协同作用抵抗了胁迫前期诱导的氧化损伤。

随着胁迫时间的延长,至胁迫6d后平邑甜茶幼苗 $H_2O_2$ 、 $O_2^-$ 和MDA含量明显增加,均于胁迫后第9天与对照之间的差异达到显著水平。NO是近年来备受关注的信号分子,它在植物信号传导和抗逆过程中发挥重要作用,且具有浓度效应,低浓度的NO可作为抗氧化剂对 $O_2^-$ 等ROS具有清除作用,并能诱导抗氧化酶基因的表达而具有保护作用<sup>[24]</sup>。不同浓度的外源SNP处理(处理Ⅱ~处理Ⅴ)对20%PEG胁迫下平邑甜茶叶片氧化损伤有不同的效应,300  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP(处理Ⅲ)处理显著提高了SOD、POD、CAT、APX活性和ASA含量,明显降低了 $O_2^-$ 产生速率、 $H_2O_2$ 和MDA的含量,与对照之间的差异达到显著水平,从而避免膜脂过氧化,表明300  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP能够显著缓解20%PEG胁迫下膜脂过氧化损伤。外加100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (处理Ⅱ)、500  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (处理Ⅳ)的SNP处理虽然可以在一定程度上缓解干旱胁迫的伤害,但缓解程度与对照之间的差异不显著,且其缓解效果为处理Ⅲ>处理Ⅳ>处理Ⅱ,并随着处理时间的延长缓解作用越来越明显。外源NO能够缓解氧化胁迫的原因可能是由于NO作为信号分子对含铁的相关酶类有很高的亲和性,可诱导APX和POD等的活性上调或基因表达,也可能直接与 $O_2^-$ 反应或通过一系列复杂的信号转导通路提高SOD编码基因的表达而降低 $O_2^-$ 水平<sup>[4]</sup>。

高浓度的外源NO处理( $700 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP)下,平邑甜茶幼苗SOD、POD、CAT、APX活性和ASA含量在胁迫9d后大幅降低,膜脂过氧化加剧,表明700  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP以上处理加速了渗透胁迫对平邑甜茶幼苗诱导的氧化损伤。这可能由于一方面过高浓度的SNP本身就是一种胁迫,另一方面高浓度NO与 $O_2^-$ 相互作用生成大量的 $ONOO^-$ ,而 $ONOO^-$ 经质子化形成具有强氧化性的 $HOONO$ ,破坏生物大分子的结构和功能<sup>[25]</sup>。

综上所述,适宜浓度的外源NO能够通过提高平邑甜茶体内SOD、POD、CAT、APX活性和ASA含量,有效缓解20%PEG渗透胁迫对其造成的过氧化伤害,并以300  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP处理缓解效果最佳,而低于100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP和高于700  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  SNP均不利于氧化胁迫的缓解,甚至会造成毒害,这与作者前期的相关研究结果一致<sup>[26-27]</sup>。

## 参考文献:

- [1] HELGA N, JOSEF M. Indications for the occurrence of nitric oxide synthases in fungi and plants and the involvement in photoconidiation of *Neurospora crassa*[J]. *Photochemistry and Photobiology*, 1996, **64**(2): 393—398.
- [2] BETHKE P C, BADGER M R, JONESA R L. Apoplastic synthesis of nitric oxide by plant tissues[J]. *The Plant Cell*, 2004, **16**(2): 332—341.
- [3] 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.
- [4] BELIGNI M V, LAMATTINA L. Is nitric oxide toxic or protective[J]. *Trends in Plant Science*, 1999, **4**(8): 299—300.
- [5] BELIGNI M V, LAMATTINA L. Nitric oxide protects against cellular damage produced by methylviologen herbicides in potato plants[J]. *Nitric Oxide*, 1999, **3**(3): 199—208.
- [6] RUAN H H(阮海华), SHEN W B(沈文懿), LIU K L(刘开力), et al. Effects of exogenous NO donor on glutathione-dependent antioxidative system in wheat seedling leaf under salt stress[J]. *Acta Agronomica Sinica*(作物学报), 2005, **31**(9): 1 144—1 149(in Chinese).
- [7] FAN H F(樊怀福), GUO SH R(郭世荣), et al. Effects of nitric oxide on the growth and glutathione dependent anti oxidative system in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings under NaCl stress[J]. *Acta Ecologica Sinica*(生态学报), 2008, **28**(6): 2 511—2 517(in Chinese).
- [8] YU J H(郁继华), YONG SH Y(雍山玉), ZHANG J B(张洁宝), et al. Protective effects of exogenous nitric oxide on oxidative damage in pepper seedlings under NaCl stress[J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.*(西北植物学报), 2007, **27**(9): 1 801—1 806(in Chinese).
- [9] LI X(李秀), GONG B(巩彪), XU K(徐坤). Effects of exogenous nitric oxide on reactive oxygen metabolism in Giger leavers under heat stress[J]. *Acta Horticulturae Sinica*(园艺学报), 2014, **41**(2): 277—284(in Chinese).
- [10] 赵秀峰. 一氧化氮对水稻幼苗镉毒害的缓解效应及生理机制[D]. 南京: 南京农业大学, 2012.
- [11] WANG J(王建), YU SH X(于世欣), WANG Y J(王逸筠), et al. Effect of exogenous NO on phytochelatins and arginine metabolism in tomato under copper stress[J]. *Soil and Water Conservation*(水土保持学报), 2014, **28**(4): 317—323(in Chinese).
- [12] YU X J(鱼小军), XU CH L(徐长林), JING Y Y(景媛媛), et al. Effects of exogenous NO germination and seedling growth of *Medicago rufinica* seeds under NaCl stress[J]. *Grassland and Turf*(草原与草坪), 2014, **34**(2): 68—72(in Chinese).
- [13] LIU SH L(刘柿良), PAN Y ZH(潘远智), YANG R J(杨容矛), et al. Effects of exogenous NO on mineral nutrition absorption, lipid peroxidation and ATPase of plasma membrane in *Catharanthus roseus* tissues under cadmium stress[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*(植物营养与肥料学报), 2014, **20**(2): 445—458(in Chinese).
- [14] CHEN X H(陈新红), WANG ZH Q(王志琴), YANG J CH(杨建昌). Effect of different nitrogen levels and water stress on qualities of rice seedling[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*(干旱地区农业研究), 2007, **25**(1): 78—93(in Chinese).
- [15] CAO H(曹慧), LI CH X(李春霞), WANG X W(王孝威), et al. Research of programmed cell death under water stress in *Malus robusta* Rehd. and *Malus hupehensis* (Pamp.) Rehd[J]. *Acta Horticulturae Sinica*(园艺学报), 2009, **36**(4): 469—474(in Chinese).
- [16] CHEN Y ZH(陈贻竹), PATTERSON B D(帕特森). The effect of chilling temperature on the level of superoxide dismutase, catalase and hydrogen peroxide in some plant leaves[J]. *Acta Phytophysiologica Sinica*(植物生理学报), 1988, **14**(4): 323—328(in Chinese).
- [17] CAKMAK I, MARSCHNER H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves[J]. *Plant Physiology*, 1992, **98**(4): 1 222—1 227.
- [18] NAKANO Y, ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplast[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1981, **22**: 867—880.
- [19] ARAKAWA N, TSUTSUMI I, SANCEDA N G, et al. A rapid and sensitive method for the determination of ascorbic acid using 4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline[J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1981, **45**(5): 1 289—1 290.
- [20] WANG A G(王爱国), LUO G H(罗广华). Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants[J]. *Plant Physiology Communications*(植物生理学通讯), 1990, (6): 55—57(in Chinese).
- [21] LIU J(刘俊), LÜ B(吕波), XU L L(徐朗莱). An improved method for the determination of hydrogen peroxide in leaves[J]. *Progress in Biochemistry and Biological Physics Research*(生物化学与生物物理进展), 2000, **27**(5): 548—550(in Chinese).
- [22] 李合生. 植物生理生化实验原理与技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [23] MITTLER R, VANDERAUWERA S, et al. Reactive oxygen gene net work of plants[J]. *Trends in Plant Science*, 2004, **9**(10): 388—395.
- [24] FRANK S, KAMPFER H, PODDA M, et al. Identification of copper/zinc superoxide dismutase as a nitric oxide-regulated gene in human (HaCaT) keratinocytes: implications for keratinocyte proliferation[J]. *Biochemical Journal*, 2000, **346**(3): 719—728.
- [25] YAMASAKI H, SAKIHAMA Y, TAKAHASHI S. An alternative pathway for nitric oxide production in plant: new feather of an old enzyme[J]. *Trends in Plant Science*, 1999, **4**(4): 128—129.
- [26] CAO H(曹慧), WANG X W(王孝威), et al. Effects of exogenous nitric oxide on the several enzymes of nitrogen metabolism in *Malus hupehensis* (Pamp.) Rehd. seedlings under water stress[J]. *Acta Horticulturae Sinica*(园艺学报), 2009, **36**(6): 781—786(in Chinese).
- [27] CAO H(曹慧), WANG X W(王孝威), et al. Effects of exogenous nitric oxide on chlorophyll fluorescence parameters and photosynthesis rate in *Malus hupehensis* seedlings under water stress[J]. *Acta Horticulturae Sinica*(园艺学报), 2011, **38**(4): 613—620(in Chinese).