

网络出版时间:2020-04-28 17:30 DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2020.11.007
网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20200428.0926.007.html

喷施外源 NO 对缓解辣椒幼苗低温伤害的机理研究

刘希元,吴春燕,张广臣,杨璐,梁超

(吉林农业大学园艺学院,吉林 长春 130118)

【摘要】【目的】研究低温胁迫下 NO 缓解辣椒幼苗伤害的可能机理,为外源 NO 在蔬菜生产上的应用提供参考依据。【方法】以‘津福 803’辣椒为试验材料,采用叶面喷施外源 NO 供体硝普钠(SNP)和内源 NO 抑制剂 L-NAME(N-硝基-L-精氨酸甲酯盐酸盐)处理低温胁迫下的辣椒幼苗,首先筛选出最佳 SNP 处理浓度,共设 6 个处理,分别为常温(喷施蒸馏水,25 °C/17 °C)、低温(喷施蒸馏水,15 °C/5 °C)、SNP 处理(设置 SNP 浓度依次为 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 mmol/L, 15 °C/5 °C),然后以筛选出的 SNP 最佳浓度(0.2 mmol/L)为处理,另设 L-NAME 处理(0.2 mmol/L, 15 °C/5 °C),SNP+L-NAME(0.2 mmol/L SNP+0.2 mmol/L L-NAME, 15 °C/5 °C),以及上述常温和低温处理为对照进一步试验,研究不同处理对辣椒幼苗的生长情况、光合参数、活性氧积累、抗氧化酶活性和渗透调节物质含量的影响。【结果】与常温处理相比,低温胁迫下辣椒幼苗的生长受到明显抑制,冷害指数为 62.8。与低温处理相比,喷施 0.2 mmol/L SNP 能显著提高辣椒幼苗的生物量、根系活力、叶绿素含量、净光合速率、抗氧化酶活性,增加可溶性蛋白、可溶性糖和游离脯氨酸等渗透调节物质的含量,显著降低细胞膜透性,抑制 O_2^- 产生和 H_2O_2 积累,冷害指数为 33.1。与低温处理相比,L-NAME 处理则使辣椒幼苗的生物量、光合作用、抗氧化酶活性、渗透调节物质含量显著下降,活性氧积累显著上升,冷害指数达到 79.2;而 SNP+L-NAME 处理则使辣椒幼苗的生物量、光合作用、抗氧化酶活性、渗透调节物质含量和活性氧积累均高于 L-NAME 处理,但低于 SNP 处理,冷害指数为 65.1。【结论】NO 对提高辣椒低温耐受性有着积极作用,可通过增强光合作用、抑制活性氧积累、提高抗氧化酶活性、增加渗透调节物质含量等途径,缓解低温胁迫对辣椒幼苗造成的伤害。

【关键词】 辣椒幼苗;一氧化氮(NO);低温胁迫;光合作用;抗氧化酶;渗透调节

【中图分类号】 S641.301

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2020)11-0063-08

Mechanisms of spraying external nitric oxide to alleviate injury of pepper seedlings caused by low temperature

LIU Xiyuan, WU Chunyan, ZHANG Guangchen, YANG Lu, LIANG Chao

(College of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China)

Abstract: 【Objective】The possible mechanisms of using NO to alleviate pepper seedling injury under low temperature stress were studied to improve NO application. 【Method】Seedlings of *Capsicum annuum* L. ‘Jinfu 803’ were treated under low temperature stress before foliar application of exogenous NO donor sodium nitroprusside (SNP) and endogenous NO inhibitor L-NAME (N-nitro-L-arginine methyl ester hydrochloride). First, a total of 6 treatments were set including normal temperature (H_2O , 25 °C/17 °C), low temperature (H_2O , 15 °C/5 °C), and SNP treatments with concentrations of 0.05, 0.1, 0.2, and 0.3

【收稿日期】 2019-10-10

【基金项目】 松原市宁江区“北方寒地无公害设施蔬菜基地建设及规范化生产技术科技示范项目”

【作者简介】 刘希元(1994—),男,吉林白城人,在读硕士,主要从事蔬菜逆境生理研究。E-mail:271705888@qq.com

【通信作者】 吴春燕(1978—),女(满族),吉林永吉人,副教授,博士,硕士生导师,主要从事蔬菜栽培与育种研究。E-mail:wuchunyan@jlau.edu.cn

mmol/L (15 °C/5 °C) to determine the best SNP concentration. Then, with the obtained optimal concentration (0.2 mmol/L), L-NAME (0.2 mmol/L, 15 °C/5 °C) and SNP+L-NAME (0.2 mmol/L SNP+0.2 mmol/L L-NAME, 15 °C/5 °C) treatments were conducted using above normal temperature and low temperature treatments as control to study the effects of different treatments on seedling growth, photosynthetic parameters, active oxygen accumulation, antioxidant enzyme activity and contents of osmotic adjustment substances. 【Result】 The growth of seedlings was significantly inhibited under low temperature stress, and the cold injury index reached 62.8. Compared with low temperature treatment, spraying 0.2 mmol/L SNP significantly increased biomass, root activity, chlorophyll content, net photosynthetic rate, antioxidantase activity, contents of osmotic adjustment substances such as soluble protein, soluble sugar and free proline, significantly reduced cell membrane permeability, and inhibited O_2^- production and H_2O_2 accumulation with cold damage index of 33.1. Compared with low temperature treatment, L-NAME treatment significantly reduced biomass, photosynthesis, antioxidant enzyme activity and contents of osmotic adjustment substances, and significantly increased reactive oxygen accumulation with cold damage index of 79.2. SNP+L-NAME treatment resulted in higher biomass, photosynthesis, antioxidant enzyme activity, contents of osmotic adjustment substances and active oxygen accumulation than L-NAME treatment with chilling injury index of 65.1. 【Conclusion】 NO had positive effects on improving low temperature tolerance of pepper, and it alleviated the damage caused by low temperature stress on pepper seedlings by enhancing photosynthesis, inhibiting accumulation of active oxygen, and increasing activities of antioxidant enzymes and contents of osmotic adjustment substances.

Key words: *Capicum annuum*; nitric oxide (NO); low temperature stress; antioxidantase; photosynthesis; osmotic adjustment

辣椒属于喜温不耐寒作物,生长发育的适宜温度为 20~30 °C。生长期若温度持续低于 15 °C 时,会出现叶色变淡、生长缓慢的现象;低于 5 °C 时,容易遭受冷害而死亡^[1]。我国北方在早春和秋冬辣椒栽培期间,正值低温阶段。因此低温成为制约辣椒生产的重要因素。研究表明,低温使细胞膜透性增加,膜上蛋白变性或解离,活性氧大量积累,酶促反应效率降低,引起物质代谢失调,时间过长会导致细胞和组织死亡^[2]。植物遭受环境胁迫期间,为了协调各器官、组织和细胞之间的功能,各种信号分子时刻作用于每个细胞,调节细胞的新陈代谢、生理反应和基因表达^[3]。

NO 是一种气态双原子分子,在水中扩散性很强,易溶于脂质,因此 NO 不仅可以作为第二信使在细胞亲水区移动,还可以自由扩散通过细胞膜的脂相,作为胞间信使作用于距其产生部位较远的靶细胞^[4]。1998 年,Delledonne 首次研究证明 NO 能与活性氧共同诱导大豆细胞过敏性死亡反应,随后 NO 成为植物逆境生理和信号转导领域研究的热点^[5]。在深绿木霉 TRS25 诱导的黄瓜抗枯萎病防御反应中,NO 在木霉预处理并接种枯萎病的黄瓜叶片和叶芽中大量积累,提高了黄瓜的抗氧化酶活

性^[6]。Wang 等^[7]研究发现,NO 有助于提高番茄幼苗对 Cu 和 Cd 离子的耐受性,外源 NO 通过调控 GSH-PCs 代谢方向的改变,促进 Cu、Cd 离子转运至液泡区来缓解胁迫抑制。近年来随着研究的深入还发现,NO 参与植物生长发育的多个过程,如光合作用^[8-10]、呼吸作用^[11-12]、气孔运动^[13-14]及根形态的建成^[15-18]等。

硝普钠(SNP)可以与组织内的巯基结合生成亚硝基团,在细胞内代谢产生 NO,因此作为外源 NO 供体^[19]。用 1.0 mmol/L SNP 培养的大豆细胞可以产生 2.0 μ mol/L NO。N-硝基-L-精氨酸甲酯盐酸盐(L-NAME)是 NO 合成酶抑制剂,高浓度 L-NAME 可抑制 3 种 NOS 同工酶的活性,进而减少内源 NO 的生成。本试验利用人工气候箱模拟低温环境,对辣椒叶面喷施 SNP 和 L-NAME,研究 NO 对辣椒生长的影响,旨在探讨 NO 在缓解辣椒低温伤害中的作用及相关机制,以期外源 NO 在蔬菜生产上的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试辣椒品种为‘津福 803’,早熟线辣椒品种,

其杂交 F₁ 代种子由吉林农业大学园艺学院蔬菜教研室提供。

硝普钠(SNP,纯度 99.98%),由北京博奥拓达科技有限公司生产。L-NAME(纯度大于 98%),由上海源叶生物科技有限公司生产。

1.2 试验设计

试验于 2019 年 4—8 月在吉林农业大学园艺学院蔬菜生理研究室进行。

(1)SNP 溶液的配制。NO 供体 SNP 用蒸馏水配制成 50 mmol/L SNP 母液,4 ℃ 保存,用时按试验所需浓度进行稀释。

(2)试验方法。选择颗粒饱满、大小均匀的辣椒种子,经 55 ℃ 温汤浸种 15 min,室温下浸种 6 h,于 28 ℃ 条件下恒温培养箱催芽,至种子 80%露白时进行播种。待子叶展平时分苗于 9 cm×9 cm 营养钵中,田间管理同常规。待幼苗长至六叶一心时挑选生长一致的幼苗,用喷雾器分别进行叶面喷施蒸馏水、SNP 或 L-NAME,至所有叶片正反面全湿并且不形成液滴,4 h 后移至昼夜温度为 25 ℃/17 ℃、光照强度为 600 μmol/(m²·s)、光周期为昼 12 h/夜 12 h、相对湿度为 75%的人工气候箱中。间隔 24 h 再喷施 1 次。第 2 天将一部分喷施过蒸馏水的幼苗仍置于上述人工气候箱中进行培养,将另一部分喷施过蒸馏水及其他处理的幼苗放入昼夜温度为 15 ℃/5 ℃(光照强度、光周期和相对湿度不变)的人工气候箱中进行处理。

(3)SNP 处理浓度筛选。共设 6 个处理,即常温处理(喷雾蒸馏水,25 ℃/17 ℃)、低温处理(喷雾蒸馏水,15 ℃/5 ℃)、SNP 处理(分别喷施 0.05,

0.1,0.2,0.3 mmol/L SNP,15 ℃/5 ℃)。采用随机区组设计,每个处理重复 3 次,每次重复 20 株幼苗。处理第 8 天时,每个处理随机挑选 30 株幼苗测定鲜质量和干质量,用以选择适宜的 SNP 浓度。

以上述筛选出的缓解低温胁迫 SNP 最佳浓度(0.2 mmol/L)为处理,另设 L-NAME 处理(0.2 mmol/L,15 ℃/5 ℃),SNP + L-NAME(0.2 mmol/L SNP + 0.2 mmol/L L-NAME,15 ℃/5 ℃),以及上述常温和低温处理为对照进一步试验。采用随机区组设计,3 次重复,每次重复 40 株幼苗,处理 8 d 后测定相关指标。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 植株生物量和相对含水量 每处理随机取 20 株幼苗,用蒸馏水洗净后擦干,用直尺测量株高和根长,用游标卡尺测量茎粗,先测量鲜质量,随后再将样品放入电热鼓风干燥箱 105 ℃ 杀青 30 min,80 ℃ 烘干至恒质量,用分析天平称量其干质量。

幼苗相对含水量的测定。每处理随机取 50 株测量鲜质量记为 W₁,将测量后的样品浸泡在蒸馏水中直至恒质量,取出后擦干立即测量吸胀鲜质量记为 W₂,然后将样品放入 80 ℃ 干燥箱烘干至恒质量,再次称量记为干质量 W₃。相对含水量(RWC)=(W₁-W₃)/(W₂-W₃)×100%。

1.3.2 低温伤害程度 以冷害指数作为评价低温伤害的指标,冷害指数参照 Semeniuk(1996)的方法计算。冷害症状分级标准见表 1。

冷害指数=Σ(冷害级别×各级别株数)/(冷害最高级别×供试株数)×100。

表 1 幼苗冷害症状分级标准

Table 1 Classification criteria of cold injury symptoms in seedlings

冷害等级 Level of chilling injury	冷害症状 Chilling injury symptoms
0	基本无症状 No symptom
1	真叶无症状,子叶部分枯 The leaf had no symptom,and the cotyledons were partially withered
2	真叶少量焦边,子叶一半以上枯 The edge of a few leaves was scorched,and more than half of cotyledons was withered
3	真叶焦边,一半以上枯,子叶全枯 The leaf was scorched,more than half of leaf was withered,and cotyledons all withered
4	真叶和子叶全枯,仅留生长点 The leaf and cotyledons all withered and only growth points were retained
5	植株整株死亡 The whole plant died

1.3.3 渗透调节物质 可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 染色法测定,可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定,游离脯氨酸含量采用茚三酮染色法测定。

1.3.4 抗氧化酶、O₂⁻ 产生速率和 H₂O₂ 含量 超

氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑(NBT)法测定,过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外分光光度法测定,过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定,O₂⁻ 产生速率采用羧氨氧化法测定,H₂O₂ 含量采用硫酸钛比色法测定。

1.3.5 叶绿素、根系活力、相对电导率和丙二醛含量 叶绿素含量采用乙醇-丙酮混合液浸泡法测定,根系活力采用氯化三苯基四氮唑(TTC)比色法测定,相对电导率采用电导仪法测定,丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸(TBA)显色法测定。

1.3.6 光合参数 采用 LI-6400 便携式光合仪测定辣椒幼苗第 4~5 片功能叶净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(T_r)和胞间 CO_2 浓度(C_i)。

1.4 数据处理

采用 Microsoft Excel 2016 进行试验数据整理,将 3 次重复的平均值作为测定值;采用 DPS 7.05 统计软件对试验数据进行单因素随机区组方差分析,并且运用 Duncan's 新复极差法进行显著性差

异分析($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 SNP 最佳处理浓度的筛选

由表 2 可知,处理 8 d 后,低温处理辣椒幼苗鲜质量和干质量较常温处理分别下降 27.50% 和 35.53%。与低温处理相比,低温下不同浓度 SNP (0.05,0.1,0.2,0.3 mmol/L)处理均能显著提高辣椒幼苗的鲜质量和干质量。其中 0.2 mmol/L SNP 处理下辣椒幼苗的鲜质量和干质量显著高于 0.05、0.1 和 0.3 mmol/L SNP 处理,且干质量达到 0.74 g/株,与常温处理下黄瓜幼苗干质量差异不显著,故选择 0.2 mmol/L SNP 进行后续试验。

表 2 不同浓度 SNP 对低温胁迫下辣椒幼苗干质量和鲜质量的影响

Table 2 Effects of SNP with different concentrations on dry weight and fresh weight of pepper seedlings under low temperature stress

温度处理 Temperature treatment	SNP 浓度/(mmol · L ⁻¹) Concentration of SNP	鲜质量/(g · 株 ⁻¹) Fresh weight	干质量/(g · 株 ⁻¹) Dry weight
常温 Normal temperature	0	5.05 a	0.76 a
	0	3.66 e	0.49 d
	0.05	3.89 d	0.54 c
低温 Low temperature	0.1	4.53 c	0.61 b
	0.2	4.82 b	0.74 a
	0.3	4.60 c	0.66 b

注:同列数据后标不同小写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$)。下表同。
Note: Different lowercase letters show significant difference ($P<0.05$). The same below.

2.2 SNP 对低温胁迫下辣椒幼苗生长及根系活力的影响

由表 3 可知,处理 8 d 后,常温处理下冷害指数为 0,低温处理为 62.8,且低温处理下辣椒幼苗各项形态指标和根系活力均显著低于常温处理。与低温处理相比,0.2 mmol/L SNP 处理下辣椒幼苗的株高、茎粗、根长、鲜质量、干质量、相对含水量和根系活力显著增高,分别增加 9.61%,22.09%,8.21%,16.58%,11.43%,6.85% 和 21.59%,冷害指数达到 33.1,明显缓解了低温胁迫对辣椒幼苗生长造成的抑制作用。而与低温处理相比,L-NAME 处理下

辣椒幼苗的株高、茎粗、根长、鲜质量、干质量、相对含水量和根系活力分别下降 6.83%,8.67%,8.21%,14.25%,14.29%,23.10% 和 11.04%,冷害指数为 79.2。SNP+L-NAME 处理辣椒幼苗的株高、茎粗和根系活力均高于低温处理,根长、鲜质量、干质量和相对含水量均低于低温处理,且其全部形态指标及根系活力均高于 L-NAME 处理,但却低于 SNP 处理,冷害指数为 65.1。可见低温胁迫下幼苗体内缺少 NO,会导致幼苗地上部生长发育受到抑制,根系活力减弱。

表 3 SNP 对低温胁迫下辣椒幼苗生长及根系活力影响

Table 3 Effects of SNP on growth and root activity of pepper seedlings under low temperature stress

处理 Treatment	株高/cm Plant height	茎粗/mm Stem diameter	根长/cm Root length	鲜质量/(g · 株 ⁻¹) Fresh weight	干质量/(g · 株 ⁻¹) Dry weight	相对含水量/% Relative water content	根系活力/ ($\mu g \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$) Root activity	冷害指数
常温 Normal temperature	19.54 a	4.28 a	12.72 a	5.02 a	0.85 a	88.37 a	104.41 a	0
低温 Low temperature	17.58 b	3.35 b	11.33 b	3.86 c	0.70 c	79.66 b	62.76 cd	62.8
SNP	19.27 a	4.09 a	12.26 a	4.50 b	0.78 b	85.12 a	84.35 b	33.1
L-NAME	16.38 c	3.06 d	10.40 c	3.31 d	0.60 d	61.26 c	55.83 d	79.2
SNP+L-NAME	17.88 b	3.49 c	10.88 bc	3.74 d	0.62 d	72.42 bc	73.60 c	65.1

2.3 SNP 对低温胁迫下辣椒幼苗叶绿素含量和光合作用的影响

由表 4 可知,处理 8 d 后,与常温处理相比,低温胁迫下辣椒幼苗的叶绿素含量、净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、胞间 CO_2 浓度(C_i)和蒸腾速率(T_r)均显著下降。与低温处理相比,喷施 SNP 使辣椒幼苗的叶绿素含量、 P_n 、 G_s 、 C_i 、 T_r 分别上升 9.27%,37.83%,27.27%,53.14% 和 40.48%,其

中叶绿素含量、 G_s 、 T_r 与常温相比无显著差异。与低温处理相比,喷施 L-NAME 使辣椒幼苗的叶绿素含量、 P_n 、 G_s 、 C_i 和 T_r 分别降低 12.92%,34.47%,24.24%,30.21% 和 39.01%,SNP+L-NAME 处理使辣椒幼苗的叶绿素含量、 P_n 、 G_s 、 C_i 和 T_r 均高于 L-NAME 处理,但仍然低于低温处理和 SNP 处理。由此可见,NO 有助于低温胁迫下辣椒幼苗叶绿素的合成,从而提高净光合速率,增强光合作用。

表 4 SNP 对低温胁迫下辣椒幼苗叶绿素含量和光合作用的影响

Table 4 Effects of spraying SNP on chlorophyll content and photosynthesis of pepper seedlings under low temperature stress					
处理 Treatment	叶绿素含量/ (mg · g ⁻¹) Chlorophyll content	P_n / ($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	G_s / ($\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	C_i / ($\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$)	T_r / ($\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
常温 Normal temperature	3.92 a	13.99 a	0.39 a	400.36 a	8.16 a
低温 Low temperature	3.56 b	6.76 c	0.33 b	210.15 c	5.46 b
SNP	3.89 a	9.25 b	0.42 a	321.83 b	7.67 a
L-NAME	3.10 c	4.43 d	0.25 c	146.66 e	3.33 d
SNP+L-NAME	3.33 bc	4.94 d	0.30 bc	181.56 d	4.92 b

2.4 SNP 对低温胁迫下辣椒幼苗抗氧化酶活性的影响

由表 5 可知,与常温处理相比,低温胁迫下辣椒幼苗的抗氧化酶活性均显著降低。与低温处理相比,SNP 处理辣椒幼苗的抗氧化酶活性显著升高,其中 SOD、CAT 和 POD 活性分别较低温处理增加 11.21%,7.04% 和 16.46%,但与常温处理差异均不显著,说明 NO 有助于低温下幼苗体内抗氧化酶

活性的提高。与低温处理相比,L-NAME 处理使辣椒幼苗的 SOD、CAT 和 POD 活性分别降低 13.66%,6.66% 和 33.48%,SNP+L-NAME 处理使辣椒幼苗的 SOD 明显升高,CAT 和 POD 活性明显降低,但该处理辣椒幼苗的 3 种抗氧化酶活性均高于 L-NAME 处理,却均低于 SNP 处理。由此可见,低温胁迫下辣椒幼苗体内缺少 NO 时,其抗氧化酶活性会随之降低。

表 5 SNP 对低温胁迫下辣椒幼苗抗氧化酶活性的影响

Table 5 Effect of spraying SNP on antioxidant enzyme activity of pepper seedlings under low temperature stress			
处理 Treatment	SOD 活性/(U · g ⁻¹) SOD activity	CAT 活性/(U · g ⁻¹) CAT activity	POD 活性/(U · g ⁻¹) POD activity
常温 Normal temperature	171.46 a	116.10 a	235.22 a
低温 Low temperature	158.66 b	107.95 b	195.75 b
SNP	176.45 a	115.55 a	227.97 a
L-NAME	136.99 c	100.76 c	130.22 d
SNP+L-NAME	161.35 b	106.67 b	169.84 c

2.5 SNP 对低温胁迫下辣椒幼苗相对电导率、MDA 含量及活性氧积累的影响

由表 6 可以看出,低温胁迫下辣椒幼苗的相对电导率、MDA 含量、 O_2^- 产生速率和 H_2O_2 含量较常温处理显著增加。与低温处理相比,SNP 处理使辣椒幼苗的相对电导率、MDA 含量、 O_2^- 产生速率、 H_2O_2 含量分别下降 6.65%,18.17%,41.11% 和 37.89%,说明适宜浓度的 NO 可以减少细胞膜脂发生过氧化反应,抑制活性氧的积累。而与低温处理相比,L-NAME 处理使辣椒幼苗的相对电导率、MDA 含量、 O_2^- 产生速率、 H_2O_2 含量分别上升 11.38%,12.37%,16.24% 和 43.67%;SNP+L-

NAME 处理辣椒幼苗的相对电导率、MDA 含量和 H_2O_2 含量均高于低温处理, O_2^- 产生速率低于低温处理,且 4 项指标均高于 SNP 处理,而低于 L-NAME 处理,可见当低温胁迫下幼苗体内缺失 NO 时,会导致细胞膜透性增大,活性氧产生和代谢系统失调,活性氧在体内过量积累,对幼苗造成损害。

2.6 SNP 对低温胁迫下辣椒幼苗渗透调节物质的影响

由表 7 可以看出,低温胁迫下辣椒幼苗的渗透调节物质含量均高于常温处理。与低温处理相比,SNP 处理使辣椒幼苗的可溶性糖、可溶性蛋白和游离脯氨酸含量分别上升 9.34%,11.28% 和 8.12%。

而与低温处理相比,喷施 L-NAME 处理使辣椒幼苗可溶性糖、可溶性蛋白和游离脯氨酸含量分别下降 14.91%,11.65%和 15.35%;SNP+L-NAME 处理辣椒幼苗的可溶性糖、可溶性蛋白和游离脯氨酸含

量均高于 L-NAME 和低温处理,却低于 SNP 处理。由此可见,NO 对低温胁迫下辣椒幼苗体内渗透调节物质的含量有着积极作用。

表 6 SNP 对低温胁迫下辣椒幼苗相对电导率、MDA 含量及活性氧积累的影响

Table 6 Effects of SNP on relative electrical conductivity,MDA content and accumulation of pepper seedlings under low temperature stress

处理 Treatment	相对电导率/% Relative conductivity	MDA 含量/ (nmol · g ⁻¹) MDA content	O ₂ ⁻ 产生速率/ (nmol · g ⁻¹ · min ⁻¹) O ₂ ⁻ production	H ₂ O ₂ 含量/ (μmol · mL ⁻¹) H ₂ O ₂ content
常温 Normal temperature	79.59 d	11.08 d	64.14 d	22.08 c
低温 Low temperature	86.47 c	16.73 b	127.24 b	40.85 b
SNP	80.72 d	13.69 c	74.93 d	25.37 c
L-NAME	96.31 a	18.86 a	147.90 a	58.69 a
SNP+L-NAME	91.09 b	17.44 b	105.32 c	41.90 b

表 7 SNP 对低温胁迫下辣椒幼苗渗透调节物质的影响

Table 7 Effects of SNP spraying on osmoregulatory substances in pepper seedlings under low temperature stress

处理 Treatment	可溶性糖含量/% Soluble protein content	可溶性蛋白含量/% Soluble sugar content	脯氨酸含量/(μg · g ⁻¹) Proline content
常温 Normal temperature	3.07 bc	2.58 c	169.23 c
低温 Low temperature	3.22 b	2.66 b	178.48 b
SNP	3.54 a	2.96 a	192.98 a
L-NAME	2.74 d	2.35 d	151.09 d
SNP+L-NAME	3.27 b	2.71 b	180.68 b

3 结论与讨论

低温胁迫破坏了光合器官的结构,使叶绿素含量显著下降,净光合速率降低,光合作用中光反应和暗反应酶失活等,严重制约植物生产^[20]。本研究发
现,喷施外源 NO 能促进低温胁迫下辣椒幼苗叶绿素含量的增加,有利于光合作用的进行,外部形态依然保持叶片较舒展,无萎蔫状态,促进其生物量的增加。PSⅡ是光化学系统中对低温最敏感的组分,因此提高 PSⅡ的原初光化学反应及保护光合器官有助于提高植物的低温耐受性^[21]。吴佩等^[22]研究表明,外源 NO 能够有效保护黄瓜幼苗 OEC(放氧复合体),提高电子传递效率,从而使 PSⅡ原初光化学反应增强。用内源 NO 抑制剂喷施叶片,辣椒幼苗的净光合速率显著下降,叶绿素含量降低,外部形态出现萎蔫、褶皱。从以上结果可以推断,NO 在辣椒幼苗抵御低温胁迫中具有积极作用。

活性氧(ROS)是植物体内一种重要的信号分子,适宜浓度的 ROS 是植物生长所必需的,持续低温下由于电子传递受阻,植物体内的 ROS 大量积累,造成细胞氧化损伤和生物膜损伤^[23]。本试验中,低温使辣椒幼苗体内的 O₂⁻ 产生速率和 H₂O₂ 含量显著增加,细胞膜受损,产生大量膜脂过氧化产物丙二醛,膜内电解质外渗,浸出液的电导率增加。

喷施外源 NO 可通过降低 O₂⁻ 产生速率、H₂O₂ 的积累、丙二醛含量和相对电导率来缓解低温对辣椒幼苗的损伤,这与张政委等^[24]的 NO 增强低温下黄瓜抗氧化能力的研究结果一致。持续低温导致抗氧化酶系统遭到破坏,喷施外源 NO 促进 SOD、CAT、POD 活性的升高,有效降低 ROS 积累导致的蛋白质变性或分解。另外加入内源 NO 抑制剂 L-NAME,使辣椒幼苗体内 NO 合成酶受到抑制,在无外源 NO 补充下,O₂⁻ 产生速率、H₂O₂ 含量、丙二醛含量和相对电导率较低温处理均有不同程度上升,抗氧化酶活性显著下降。这也从另一方面表明 NO 通过抑制活性氧的积累,增加抗氧化酶活性来缓解低温对辣椒幼苗的伤害。

植物根系在低温下生长缓慢,活细胞原生质黏度增大,流动性较慢,限制了水分的主动吸收,植物通过积累渗透调节物质来保持体内的水分,阻止细胞失水^[25]。王芳等^[26]研究表明,低温使玉米叶片相对含水量减少,施加外源 NO 后玉米叶片可溶性蛋白和脯氨酸含量显著增加。本试验也表明,低温下喷施外源 NO 可促进辣椒幼苗可溶性糖、可溶性蛋白和脯氨酸含量增加,这在一定程度上提高了细胞液浓度并维持较高的渗透压,防止幼苗因吸水困难而干枯。而喷施 L-NAME 则降低了辣椒幼苗渗透调节物质的含量,这与刘兴旺^[27]在 NO 提高黄瓜低

温耐受性试验中的结果一致。此外,喷施外源 NO 还可以通过提高根系活力来缓解低温胁迫,这是因为根系活力水平直接影响地上部的抗逆能力。

综上所述,低温胁迫导致辣椒生物量下降,冷害指数上升及各项生理反应受到抑制。通过喷施外源 NO 供体 SNP,促进辣椒幼苗光合作用进而增加生物量,提高抗氧化酶活性和渗透调节物质的含量,抑制活性氧的积累,从而缓解低温胁迫对辣椒幼苗的伤害。而 NO 在植物体内起作用是一个非常复杂的过程,尤其是缓解低温胁迫的分子机制还有待进一步深入探讨。

[参考文献]

- [1] 王勤礼,许耀照,闫芳,等. 低温弱光盐胁迫对辣椒幼苗生长和生理特性的影响 [J]. 中国农学通报,2015,31(22):111-114.
Wang Q L, Xu Y Z, Yan F, et al. Effects of low temperature and weak light salt stress on growth and physiological characteristics of pepper seedlings [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 31(22): 111-114.
- [2] 张晓红,冯梁杰,杨特武,等. 冬季低温胁迫对油菜抗寒生理特性的影响 [J]. 植物生理学报,2015,51(5):737-746.
Zhang X H, Feng L J, Yang T W, et al. Effect of low temperature stress on physiological characteristics of cold resistance of rape in winter [J]. Plant Physiology Journal, 2015, 51(5): 737-746.
- [3] Pieterse C M, Van der Does D, Zamioudis C, et al. Hormonal modulation of plant immunity [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2012, 28: 489-521.
- [4] Fancy N N, Bahlmann A K, Loake G J. Nitric oxide function in plant abiotic stress [J]. Plant Cell Environ, 2017, 40(4): 462-472.
- [5] 董海丽,井金学. 活性氧和一氧化氮在植物抗病反应中的作用 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2003,31(1):161-166.
Dong H L, Jing J X. The role of reactive oxygen species and nitric oxide in plant disease resistance [J]. Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition), 2003, 31(1): 161-166.
- [6] Nawrocka J, Gromek A, Malolepsza U. Nitric oxide as a beneficial signaling molecule in trichoderma atroviride TRS25-induced systemic defense responses of cucumber plants against *Rhizoctonia solani* [J]. Front Plant Sci, 2019, 10: 421.
- [7] Wang Y J, Hu M M, Cui X M, et al. Exogenous NO mediated the detoxification pathway of tomato seedlings under different stress of Cu and Cd [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2018, 29(12): 4199-4207.
- [8] 邵瑞鑫,李蕾蕾,郑会芳,等. 外源一氧化氮对干旱胁迫下玉米幼苗光合作用的影响 [J]. 中国农业科学,2016,49(2):251-259.
Shao R X, Li L L, Zheng H F, et al. Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis of maize seedlings under drought stress [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2016, 49(2): 251-259.
- [9] 赵奕翔. 外源 NO 对盐胁迫下玉米光合作用及抗氧化保护系统的影响 [D]. 哈尔滨:东北农业大学,2017.
Zhao Y X. Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis and antioxidant protection system of *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce under salt stress [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2017.
- [10] 石晓昀,王延秀,姜霄,等. 一氧化氮对水分胁迫下苹果砧木新疆野苹果光合与生理特性的影响 [J]. 干旱地区农业研究, 2017, 35(4): 249-254.
Shi X Y, Wang Y X, Jiang X, et al. Effects of nitric oxide on photosynthesis and physiological characteristics of apple rootstocks under water stress [J]. Agricultural Research the Arid Areas, 2017, 35(4): 249-254.
- [11] 张少颖,饶景萍,任小林. 一氧化氮对瓶插月季呼吸作用及相关酶活性的影响 [J]. 园艺学报,2007,34(1):183-188.
Zhang S Y, Rao J P, Ren X L. Effects of nitric oxide on respiration and related enzyme activities in bottles [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2007, 34(1): 183-188.
- [12] 张凯. 一氧化氮对采后桃果实己糖代谢及线粒体己糖激酶调控机理 [D]. 山东泰安:山东农业大学,2018.
Zhang K. Regulatory mechanisms by nitric oxide on hexose metabolism and hexokinase in mitochondria of postharvest peach fruit [D]. Tai'an, Shandong: Shandong Agricultural University, 2018.
- [13] 刘福霞,程娜娜,韩榕. NO 对 He-Ne 激光和增强 UV-B 辐射小麦幼苗气孔运动的作用机理研究 [J]. 植物科学学报, 2013, 31(3): 269-277.
Liu F X, Cheng N N, Han R. Mechanism of NO on the stomatal movement of wheat seedlings by He-Ne laser and enhanced UV-B radiation [J]. Plant Science Journal, 2013, 31(3): 269-277.
- [14] 马引利,余小平,闫阅. 植物鞘氨醇-1-磷酸对暗诱导蚕豆气孔关闭及保卫细胞胞质 pH 和 NO 的影响 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2014,42(5):196-204.
Ma Y L, She X P, Yan Y. Effect of phytosphingosine-1-phosphate on darkness-induced stomatal closure and levels of pH and NO in vicia faba guard cells [J]. Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition), 2014, 42(5): 196-204.
- [15] 李春兰,牛丽涓,胡琳莉,等. 干旱条件下钙离子对一氧化氮诱导黄瓜不定根发生的影响 [J]. 应用生态学报,2017,28(11):3619-3626.
Li C L, Niu L J, Hu L L, et al. Effects of calcium ions on the occurrence of adventitious roots induced by nitric oxide in cucumber under drought conditions [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2017, 28(11): 3619-3626.
- [16] 徐晓婷,金鑫,廖伟彪. 一氧化氮参与乙烯诱导黄瓜不定根的形成 [J]. 园艺学报,2017,44(1):53-61.
Xu X T, Jin X, Liao W B. Nitric oxide is involved in ethylene-induced adventitious root development in cucumber explants

- [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2017, 44(1): 53-61.
- [17] 金 鑫, 廖伟彪, 李雪萍, 等. 一氧化氮和乙烯在黄瓜不定根发生过程中的作用及其关系 [J]. *核农学报*, 2017, 31(9): 1836-1846.
- Jin X, Liao W B, Li X P, et al. Roles and relationships of nitric oxide and ethylene on adventitious root development of cucumber [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2017, 31(9): 1836-1846.
- [18] 曹 冰, 余小平. 一氧化氮对绿豆侧根发生的影响 [J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2009, 37(12): 119-122.
- Cao B, She X P. Effect of nitric oxide on the lateral root's generation of mung bean [J]. *Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition)*, 2009, 37(12): 119-122.
- [19] 赵 蕊, 赵 轶, 楼宜嘉. 生理溶液中硝普钠释放一氧化氮巯基通路的动力学研究 [J]. *中国药理学杂志*, 2003(2): 25-27.
- Zhao R, Zhao Y, Lou Y J. Kinetic study on the release of nitric oxide sulfhydryl pathway by sodium nitroprusside in physiological solution [J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2003(2): 25-27.
- [20] Yamori W, Hikosaka K, Way D A. Temperature response of photosynthesis in C3, C4, and CAM plants; temperature acclimation and temperature adaptation [J]. *Photosynth Res*, 2014, 119(1/2): 101-117.
- [21] Wang L Z, Wang L M, Xiang H T, et al. Relationship of photosynthetic efficiency and seed-settings rate in two contrasting rice cultivars under chilling stress [J]. *Photosynthetica*, 2016, 54(4): 581-588.
- [22] 吴 佩, 崔金霞, 杨志峰, 等. 外源一氧化氮对低温下黄瓜幼苗光系统Ⅱ原初光化学反应及光合机构活性的影响 [J]. *植物生理学报*, 2019, 55(6): 745-755.
- Wu P, Cui J X, Yang Z F, et al. Effects of exogenous nitric oxide on primary photochemical reaction and photosynthetic activity of photosystem Ⅱ in cucumber seedlings under low temperature [J]. *Plant Physiology Journal*, 2019, 55(6): 745-755.
- [23] 高 扬, 高小丽, 张东旗, 等. 连作荞麦叶片衰老与活性氧代谢研究 [J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2016, 44(2): 28-34.
- Gao Y, Gao X L, Zhang D Q, et al. Study on leaf senescence and active oxygen metabolism of continuous cropping buckwheat [J]. *Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition)*, 2016, 44(2): 28-34.
- [24] 张政委, 索琳格, 吴 佩, 等. Ca^{2+} 参与外源 NO 增强低温胁迫下黄瓜幼苗叶片抗氧化能力 [J]. *核农学报*, 2018, 32(3): 600-608.
- Zhang Z W, Suo L G, Wu P, et al. Ca^{2+} participates in exogenous NO enhances antioxidant capacity of cucumber seedling leaves under low temperature stress [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2018, 32(3): 600-608.
- [25] Blum A. Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production [J]. *Plant Cell Environ*, 2017, 40(1): 4-10.
- [26] 王 芳, 李永生, 彭云玲, 等. 外源一氧化氮对玉米幼苗抗低温胁迫的影响 [J]. *干旱地区农业研究*, 2017, 35(4): 270-275.
- Wang F, Li Y S, Peng Y L, et al. Effects of exogenous nitric oxide on low temperature stress of maize seedlings [J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2017, 35(4): 270-275.
- [27] 刘兴旺. 一氧化氮提高黄瓜低温耐受性的分子机制 [D]. 北京: 中国农业大学, 2013.
- Liu X W. Molecular mechanism of nitric oxide enhancing low temperature tolerance in cucumber [D]. Beijing: China Agricultural University, 2013.