

崔庆,吴春燕,宋述尧,等. 外源 NO 缓解黄瓜幼苗低温伤害的效果[J]. 江苏农业科学,2022,50(6):116-119.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.06.019

外源 NO 缓解黄瓜幼苗低温伤害的效果

崔庆,吴春燕,宋述尧,王雪科,王状,姜雨欣,刘希元,张晓明

(吉林农业大学园艺学院,吉林长春 130118)

摘要:为探究低温条件下外源 NO 对缓解黄瓜幼苗伤害的机制,以黄瓜品种吉杂 17 为试材,采用对黄瓜幼苗叶片喷施外源 NO 供体硝普钠(SNP)的方法,设 7 个处理,分别为常温对照(25 ℃/17 ℃)、低温对照(15 ℃/5 ℃)以及 5 个浓度梯度的 SNP 处理(0.1、0.3、0.5、0.7、1.0 mmol/L),测定植株生物量及生理生化特性指标后进行对比筛选。结果表明,单独低温处理下的黄瓜幼苗胁迫明显,冷害指数高达 0.41,与之相比喷施一定浓度 SNP 后可提高黄瓜幼苗的生物量、生理生化特性指标。当 SNP 浓度为 0.5 mmol/L 时效果最显著,此时冷害指数降至最低,为 0.19,缓解低温伤害效果最好;喷施适宜浓度的外源 NO 可提高低温下黄瓜幼苗的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等的活性,增加渗透调节物质含量,有效缓解低温伤害,对提高黄瓜的耐低温程度起到积极作用。

关键词:一氧化氮;黄瓜幼苗;低温胁迫;冷害指数;抗氧化酶活性;渗透调节物质

中图分类号:S642.201 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)06-0116-04

黄瓜(*Cucumis sativus* L.)为葫芦科黄瓜属植物,“十三五”期间,我国黄瓜年均播种面积 122.97 万 hm^2 ,产量达 6 623.08 万 t,生产规模位居世界第一^[1]。黄瓜起源于亚热带,在生长发育时期对温度有较高的要求(白天 20~32 ℃,夜间 15~18 ℃)^[2]。低温逆境下会造成黄瓜叶片气孔关闭,从而导致光合速率下降,活性氧平衡被破坏^[3]。初春及秋冬季节,我国北方黄瓜反季节栽培易受低温影响,引起产量和品质的大幅下降^[4-5],因此提高黄瓜的低温抗性对黄瓜生产意义重大。

一氧化氮(nitric oxide, NO)是存在于动植物体内一种重要的氧化还原信号分子,在逆境中起到重要的信号调节作用^[6],并广泛参与到其他信号通路中^[7]。有研究表明,适宜浓度外源 NO 可有效减轻紫外线(UV-B)胁迫^[8],更能作为植物发育及响应逆境胁迫的活跃小分子信号,当植物遭受非生物胁迫时,可快速合成大量渗透调节物质,减轻非生物胁迫伤害^[9-10],因此 NO 已被广泛应用于提高植物抗逆性中^[11-13]。但研究喷施外源 NO 的文章和报道较少,本试验在前人研究的基础上,将黄瓜幼苗

作为研究对象,探究 NO 对黄瓜幼苗在低温下生理生化指标的影响,筛选出适宜的外源 NO 供体 SNP 的浓度,以期 NO 缓解低温对黄瓜幼苗的伤害提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试黄瓜品种为吉杂 17,适宜吉林省露地栽培,由吉林省蔬菜花卉科学研究院提供;供试基质为商品基质,由吉林农业大学蔬菜基地提供;外源 NO 供体为硝普钠(SNP,纯度为 99.98%),购自北京博奥拓达科技有限公司。

1.2 试验时间及地点

试验时间为 2021 年 3 月 20 日至 4 月 25 日。试验地点为吉林农业大学园艺学院蔬菜实验室。

1.3 试验设计

1.3.1 试验方法 挑选颗粒饱满的黄瓜种子,温汤浸种,露白后播种于 8 cm × 8 cm 营养钵中,待 2 叶 1 心后,挑选长势一致的幼苗,用喷壶对 A₀、A₁ 处理喷施蒸馏水, A₂ 至 A₆ 处理喷施 SNP,使叶片全湿且不形成液滴,移至人工气候箱中,设定昼夜温度为 25 ℃/17 ℃,光周期昼/夜为 12 h/12 h,湿度为 55%。1 d 后再喷 1 次,将一部分喷施过蒸馏水及其他处理的幼苗移至昼夜温度为 15 ℃/5 ℃的人工气候箱中处理,其他条件不变,剩余幼苗仍留在原来的人工气候箱中培养。

收稿日期:2021-06-16

基金项目:吉林省现代农业产业技术体系项目。

作者简介:崔庆(1997—),男,江苏苏州人,硕士研究生,主要从事蔬菜生理及设施园艺研究。E-mail:947203140@qq.com。

通信作者:吴春燕,博士,副教授,硕士生导师,主要从事蔬菜栽培及设施研究。E-mail:wuchunyan@jlau.edu.cn。

1.3.2 SNP 浓度设置 设 7 个处理,分别为常温处理 A₁(昼夜温度为 25 ℃/17 ℃),低温处理 A₀(昼夜温度为 15 ℃/5 ℃),SNP 处理 A₂ 至 A₆(0.1、0.3、0.5、0.7、1.0 mmol/L SNP,昼夜温度为 15 ℃/5 ℃),A₁、A₀ 处理喷施蒸馏水,A₂ 至 A₆ 处理喷施外源 NO 供体 SNP,随机区组设计,每个处理重复 3 次,每次重复 30 株苗,喷施处理后每隔 3 d 测 1 次试验数据,共测定 5 次。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 植株形态指标 株高:用直尺测量,取平均值。茎粗:用电子游标卡尺测量,取平均值。幼苗干质量、鲜质量:称量鲜质量后放入烘箱 80 ℃烘干至质量不变后,称量其干质量。

1.4.2 低温冷害程度 用冷害指数衡量黄瓜幼苗受低温伤害的程度,冷害症状分级见表 1。

冷害指数 = Σ (冷害级别 × 各级别株数)/(最高级别 × 供试株数)。

表 1 冷害症状分级	
冷害等级	冷害症状
0	基本无症状
1	真叶无症状,子叶部分枯萎
2	真叶少量焦边,子叶一半以上枯萎
3	真叶焦边、一半以上枯萎,子叶全枯萎
4	真叶、子叶全枯萎,仅留生长点
5	植株死亡

1.4.3 抗氧化酶活性 超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定采用氮蓝四唑(NBT)法;过氧化物酶(POD)活性的测定采用愈创木酚法;过氧化氢酶(CAT)活性的测定采用 Tris-HCl 法。

1.4.4 叶绿素、光合参数 叶绿素含量的测定采用乙醇-丙酮混合法;光合参数使用型号为 3051DE 的光合测定仪进行测定。

1.4.5 渗透调节物质 可溶性蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法;可溶性糖含量的测定采用蒽酮法;游离脯氨酸含量的测定采用茚三酮法;丙二醛(MDA)含量的测定采用硫代巴比妥酸(TBA)显色法。

1.5 数据处理

采用 Excel 2019 整理数据;用 DPS 7.5 数据分析软件进行单因素随机区组方差分析,并对各处理数据进行差异显著性比较。

2 结果与分析

2.1 SNP 对低温下黄瓜幼苗生物量及形态指标的影响

由表 2 可知,单独低温处理较常温处理黄瓜幼苗株高、茎粗下降明显,分别降低 20.31%、14.98%。其中当 SNP 浓度为 0.5 mmol/L 时效果最好,株高、茎粗较低温处理分别提高 4.86%、8.93%;SNP 浓度高于 0.5 mmol/L 后,生物量随 SNP 浓度升高而降低,但 SNP 浓度为 1.0 mmol/L 时,黄瓜幼苗的株高较 A₀ 下降了 3.02%。

低温处理与常温处理相比,黄瓜幼苗的地上、地下鲜质量和地上、地下干质量均降低,分别降低 26.57%、11.18%、24.66%、18.18%。其中 0.5 mmol/L SNP 效果最好,地上、地下鲜质量及地上、地下干质量均高于低温处理,分别提高了 22.90%、11.19%、10.91%、11.11%。SNP 浓度高于 0.5 mmol/L 后,生物量随着 SNP 浓度升高而下降。当 SNP 浓度为 1.0 mmol/L 时,黄瓜幼苗的地上鲜质量较 A₀ 有明显下降,降低了 12.06%。由此可见,低温胁迫下幼苗体内缺少 NO,会导致幼苗的发育受到抑制,适宜浓度的 SNP 可在一定程度上缓解抑制。

表 2 SNP 对黄瓜幼苗形态指标及生物量的影响

处理	株高 (cm)	茎粗 (cm)	地上鲜质量 (g)	地下鲜质量 (g)	地上干质量 (g)	地下干质量 (g)
A ₁	14.97a	4.74a	7.79a	1.61a	0.73a	0.110a
A ₂	11.83b	4.10d	5.21c	1.43ab	0.53b	0.083b
A ₃	12.37b	4.37bc	5.84bc	1.49ab	0.56b	0.090ab
A ₄	12.51b	4.39b	7.03ab	1.59ab	0.61ab	0.100a
A ₅	11.97b	4.28c	5.98bc	1.39ab	0.61ab	0.090ab
A ₆	11.57b	3.94e	5.03c	1.37b	0.49b	0.081b
A ₀	11.93b	4.03de	5.72bc	1.43ab	0.55b	0.090ab

注:同列数据后标不同小写字母表示不同处理差异显著(P<0.05)。下表同。

2.2 SNP 对黄瓜幼苗冷害指数的影响

由表 3 可知,黄瓜幼苗在低温胁迫下对各个浓度的 SNP 响应程度不同,受冷害程度不同。冷害指数随 SNP 浓度的升高呈先降后升的趋势,A₂ 至 A₅ 处理中幼苗的冷害指数较单独低温处理分别下降了 14.63%、29.27%、53.66%、26.83%。冷害指数在 SNP 浓度为 0.5 mmol/L 时达到最低值(0.19),此时黄瓜幼苗的耐低温性提升最明显。但浓度升高至 1.0 mmol/L 时,冷害指数升为 0.43,与 A₀ 相比增加了 4.88%,增加了黄瓜幼苗所受的低温胁迫伤害程度,由此可见,NO 对缓解低温下黄瓜幼苗所受到伤害有一定的积极作用。

表 3 SNP 对冷害指数的影响

处理	冷害指数
A ₁	0
A ₂	0.35
A ₃	0.29
A ₄	0.19
A ₅	0.30
A ₆	0.43
A ₀	0.41

2.3 SNP 对黄瓜幼苗叶绿素含量和光合作用指标的影响

由表 4 可知,低温处理 A₀ 黄瓜幼苗的叶绿素含量、净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)较常温处理下降显著,而经 SNP 处理过的黄瓜幼苗(A₆ 处理除外)与低温对照 A₀ 相比叶绿素含量、 P_n 、 G_s 、细胞间隙 CO₂ 浓度(C_i)均上升,其中当 SNP 浓度为 0.5 mmol/L 时最为显著,分别上升 45.77%、116.67%、228.57%、69.09%,但当 SNP 浓度达到 1.0 mmol/L 时,叶绿素含量、 P_n 、 G_s 、 C_i 出现了不同程度的下降, P_n 下降最为显著,与单独低温处理相比下降了 16.67%,随 SNP 浓度的升高,叶绿素含量及光合参数先升后降。由此可见,外源 NO 可促进低温胁迫下黄瓜幼苗进行光合作用,提高净光合速率,提高叶绿素含量。

2.4 不同浓度 SNP 对黄瓜幼苗抗氧化酶活性的影响

由表 5 可知,A₀ 较 A₁ 处理酶活性均显著降低。A₂ 至 A₅ 处理的黄瓜幼苗抗氧化酶活性较 A₀ 处理升高明显,浓度为 0.5 mmol/L 时 SOD、CAT、POD 活性较 A₀ 上升最显著,分别为 21.47%、22.06%、

表 4 SNP 对光合作用指标及叶绿素含量的影响

处理	叶绿素含量 (mg/g)	P_n [$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]	G_s [$\text{mmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]	C_i ($\mu\text{L}/\text{L}$)
A ₁	19.17a	5.50a	25.00a	275.67a
A ₂	13.31d	4.43ab	10.67b	181.33a
A ₃	14.89c	4.50ab	15.00ab	187.00a
A ₄	17.74b	5.20a	23.00b	267.67a
A ₅	13.58d	2.60bc	17.00ab	239.00a
A ₆	11.75e	2.00c	8.67b	179.30a
A ₀	12.17e	2.40bc	7.00b	158.30a

20.55%;SNP 浓度为 1.0 mmol/L 时,与低温处理(A₀)相比抗氧化酶活性却有所降低,SOD、CAT、POD 活性分别下降了 2.68%、1.89%、6.83%,由此可见,NO 浓度达到 1.0 mmol/L 时,会对抗氧化酶活性起到一定抑制作用,适宜的 NO 浓度可对提高黄瓜幼苗体内的抗氧化酶活性起到积极作用。

表 5 SNP 对抗氧化酶活性的影响

处理	SOD 活性 (U/g)	CAT 活性 (U/g)	POD 活性 (U/g)
A ₁	177.85a	125.47b	253.80a
A ₂	138.85d	118.39d	202.61e
A ₃	157.61c	120.58c	221.48d
A ₄	167.13b	129.47a	236.78b
A ₅	156.99c	118.91d	230.89c
A ₆	133.90e	104.07e	183.01g
A ₀	137.59de	106.07f	196.42f

2.5 不同浓度 SNP 对黄瓜幼苗渗透调节物质及 MDA 含量的影响

由表 6 可知,SNP 处理过的黄瓜幼苗在低温下渗透调节物质及 MDA 含量较常温显著增加。A₂ 至 A₆ 处理中黄瓜幼苗 MDA 含量较 A₀ 处理分别下降了 9.14%、19.66%、32.18%、19.31%、6.15%,由此可以看出,适宜浓度的 NO 可缓解植物器官在逆境中受到的伤害。与低温处理 A₀ 相比,经 SNP 处理的黄瓜幼苗的可溶性糖、可溶性蛋白、游离脯氨酸含量普遍显著升高,其中 0.5 mmol/L SNP 处理(A₄)最显著,分别升高 37.15%、47.23%、39.41%。由此可见,适宜浓度的 NO 可以提高黄瓜幼苗在低温下的渗透调节物质含量。

3 讨论与结论

低温在自然中是影响植物发育和分布的重要因素^[14],植物的细胞膜、抗氧化酶、渗透调节物质等

表 6 SNP 对渗透调节物质及 MDA 含量的影响

处理	可溶性糖含量 (mg/g)	可溶性蛋白含量 (mg/g)	脯氨酸含量 (μg/g)	MDA 含量 (nmol/g)
A ₁	18.22d	24.69g	27.88e	10.97d
A ₂	23.92bc	35.37d	50.35c	15.81b
A ₃	28.96a	40.44b	54.65b	13.98c
A ₄	30.75a	45.98a	63.14a	11.80d
A ₅	25.43b	38.64c	56.83b	14.04c
A ₆	19.28d	28.50f	47.55cd	16.33b
A ₀	22.42c	31.23e	45.29d	17.40a

在低温胁迫下会产生一系列的改变来抵御伤害。研究这些生理指标可为研究植物的耐低温机制研究提供依据。本试验中,黄瓜在低温下叶绿素含量、 P_n 均有所下降,喷施适宜浓度的外源 NO 能促进黄瓜幼苗进行光合作用,提高叶绿素含量从而促进生物量的增加,试验结果与张红梅等研究黄瓜对低温弱光的生理响应结果^[15] 相似。并且黄瓜幼苗在低温下细胞膜受损,产生大量脂质过氧化产物丙二醛,并且在喷施 NO 初始阶段其含量上升迅速,随着 NO 浓度的升高其含量出现一定下降,可见适当低温可锻炼黄瓜幼苗维持丙二醛浓度稳定,而喷施适量的一氧化氮可降低丙二醛含量,缓解低温对黄瓜幼苗的伤害,同时黄瓜幼苗长时间处于低温中抗氧化能力降低,喷施适宜浓度的外源 NO 可提高超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、过氧化物酶的活性,提高抗氧化能力。

低温下植物生长缓慢,细胞逐渐积累渗透调节物质来维持水分,防止细胞失水^[16],增加幅度与植物本身耐低温性有关^[17]。上述试验结果表明,外源 NO 可对低温胁迫下黄瓜幼苗渗透调节物质含量的增加起促进作用,进而防止幼苗缺水死亡。

综上所述,低温胁迫可抑制黄瓜幼苗生理反应,从而引起生物量下降,并且使其冷害指数上升。外源 NO 可减少冷害,提高黄瓜幼苗在低温胁迫下的植株生物量、过氧化物酶活性及渗透调节物质含量,提高黄瓜幼苗对低温的耐受程度。本试验中以 0.5 mmol/L SNP 的处理效果最好。

参考文献:

[1] 张铉哲,赵 博. SOL 生物农药防治黄瓜白粉病药剂浓度的筛选[J]. 东北农业科学,2016,41(5):67-71.
[2] 李丹丹,邹士成,刘思源,等. 低温弱光对黄瓜幼苗生长发育的影响[J]. 北方园艺,2015(18):41-44.
[3] 陈青君,王永健,张海英,等. 黄瓜低温弱光耐受性研究进展[J]. 中国蔬菜,2005(5):31-34.

[4] 李彩霞,董邵云,薄凯亮,等. 黄瓜响应低温胁迫的生理及分子机制研究进展[J]. 中国蔬菜,2019(5):17-24.
[5] 张爱慧,朱士农,刘广勤,等. 模拟干旱胁迫对黄瓜幼苗生长及生理特性影响的研究[J]. 江苏农业科学,2009,37(6):200-202.
[6] Siddiqui M H, Alamri S A, Al - Khaishany M Y, et al. Exogenous application of nitric oxide and spermidine reduces the negative effects of salt stress on tomato [J]. Horticulture, Environment, and Biotechnology,2017,58(6):537-547.
[7] 石珍珍,达梦婷,庞海龙,等. 胞外三磷酸腺苷通过一氧化氮调节镉诱导的氧化压力和细胞死亡[J]. 植物科学学报,2020,38(2):269-277.
[8] 刘福霞,帖海龙,高丽丽,等. 外源 NO 对 UV - B 胁迫下小麦幼苗生长、活性氧组分和光合特性的影响[J]. 中国农学通报,2013,29(9):43-50.
[9] 孙德智,杨恒山,张庆国,等. 外源一氧化氮供体硝普钠对番茄幼苗盐胁迫伤害的缓解作用[J]. 浙江农业学报,2019,31(8):1286-1294.
[10] Rigui A P, Carvalho V, Wendt dos Santos A L, et al. Fructan and antioxidant metabolisms in plants of *Lolium perenne* under drought are modulated by exogenous nitric oxide[J]. Plant Physiology and Biochemistry,2019,145:205-215.
[11] 魏小红,王利民,龙瑞军,等. 外源一氧化氮、水杨酸和过氧化氢对烟草叶片游离氨基酸和可溶性蛋白含量的影响[J]. 植物生理与分子生物学报,2006,32(2):257-260.
[12] 吴雪霞. 外源一氧化氮对盐胁迫下番茄幼苗生理特性影响的研究[D]. 南京:南京农业大学,2007.
[13] 索琳格,吴 佩,张文博,等. GSH 参与低温胁迫下外源 NO 对黄瓜叶绿体活性氧清除系统的影响[J]. 石河子大学学报(自然科学版),2018,36(5):624-630.
[14] 程琳琳,安 锋,谢贵水,等. 植物抗寒调节物质研究进展[J]. 热带农业科学,2020,40(5):65-75.
[15] 张红梅,金海军,卜立君,等. 黄瓜高代自交系对低温弱光的生理响应及其抗性评价[J]. 分子植物育种,2021,19(10):3415-3423.
[16] Blum A. Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production [J]. Plant, Cell & Environment,2017,40(1):4-10.
[17] 张海燕,樊军锋,高建社,等. 5 个欧美杨无性系抗寒性测定与评价[J]. 西南林业大学学报(自然科学),2020,40(2):36-43.