

于震宇,范翠丽.外源 NO 调控干旱胁迫下金花葵种子萌发生理特征及抗氧化酶的研究[J].黑龙江农业科学,2021(1):14-17.

# 外源 NO 调控干旱胁迫下金花葵种子萌发生理特征及抗氧化酶的研究

于震宇<sup>1</sup>,范翠丽<sup>2</sup>

(1.阿克苏职业技术学院,新疆 阿克苏 843100;2.河北北方学院,河北 张家口 075000)

**摘要:**为促进金花葵抗旱栽培,采用 15% PEG6000 模拟干旱胁迫,外源施加不同浓度一氧化氮供体硝普钠(SNP),研究其对金花葵种子发芽势、发芽率、发芽指数、活力指数及幼苗叶片抗氧化酶活性的影响。结果表明:SNP 处理可以不同程度地促进干旱胁迫下金花葵种子的萌发,0.3 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 浓度的效果最佳;SNP 处理可以提高金花葵叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等抗氧化相关酶的活性,0.3 和 0.5 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 对于提高抗氧化酶活性效果最佳。

**关键词:**金花葵;种子萌发;干旱胁迫;一氧化氮;硝普钠;抗氧化酶

金花葵(*Hibiscus smanihot* L.),也称为野芙蓉,属于锦葵科葵属,为一年生草本植物,是近濒临绝种的植物之一<sup>[1]</sup>。金花葵含有大量的有效成分,在食品、药品和保健品方面具有重要研究价值<sup>[2]</sup>。随着全球气候变暖,水资源短缺,干旱已经成为常见的逆境因子<sup>[3]</sup>。金花葵虽然抗逆性较强,但在干旱条件下金花葵生长会受到严重影响。研究表明,一氧化氮(nitric oxide, NO)作为广泛存在于植物体内的气体小分子信号物质,在旱害、盐害、冷害以及病原菌侵染等逆境胁迫应答中也起着重要作用<sup>[4]</sup>。硝普钠(SNP)是现已广泛使用的外源 NO 供体,0.5 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 可以释放约 2.0 μmol·L<sup>-1</sup> 的 NO<sup>[4]</sup>。近年来许多研究也表明适当浓度的硝普钠能通过改变植物体内生理生化途径,提高抗氧化酶活性,减轻干旱胁迫对细胞的伤害,增强植物的耐受能力<sup>[3]</sup>,提高植物对不良环境的抗性。因此,本试验以金花葵种子为研究对象,利用不同浓度硝普钠(SNP)处理 15%聚乙二醇(PEG)干旱胁迫下的金花葵种子,探索减轻其干旱胁迫伤害的最适浓度,为金花葵种子萌发和栽培生产提供理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验材料金花葵种子由张家口农业科学院园林花卉研究所提供。使用试剂包括 0.1, 0.3, 0.5

和 0.7 mmol·L<sup>-1</sup>硝普钠(SNP)试剂、15%聚乙二醇(PEG)、0.3%高锰酸钾溶液、75%酒精、蒸馏水等,HPG-400 人工气候箱购买自哈尔滨市东联电子技术开发公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 金花葵种子萌发试验** 本试验 2019 年在河北北方学院南校区分子试验室进行。挑选大小一致、饱满、健康和无病虫害的种子,用 0.3%高锰酸钾消毒 5 min,然后清水冲洗,用吸水纸吸干种子表面水分,整齐排放在底部垫有 2 层滤纸的培养皿上,放入人工气候箱中进行发芽试验。采用 15%PEG 模拟干旱胁迫,人工气候箱内设定温度 25℃,湿度 60%,光照度 60%(光照 12 h,黑暗 12 h),采用 6 个处理(表 1),每个处理设置 3 次重复,每个重复 50 粒种子。每天分别用 6 种溶液喷洒各培养皿,浸透底层滤纸即可,不要有太多积液,以免影响种子萌发,每天定时更换母液,观察金花葵种子的萌发状态,做好记录。

表 1 15%PEG 模拟干旱胁迫与不同浓度 SNP 对金花葵种子的处理方法

编号	处理
CK	(蒸馏水)
S	(15% PEG 6000)
A1	(15% PEG 6000+0.1 mmol·L <sup>-1</sup> SNP)
A2	(15% PEG 6000+0.3 mmol·L <sup>-1</sup> SNP)
A3	(15% PEG 6000+0.5 mmol·L <sup>-1</sup> SNP)
A4	(15% PEG 6000+0.7 mmol·L <sup>-1</sup> SNP)

收稿日期:2020-10-30

基金项目:新疆阿克苏职业技术学院基金项目(KG-2018-02)。

第一作者:于震宇(1978—),女,硕士,副教授,从事植物资源开发利用与园艺技术研究。E-mail:1498380181@qq.com。

1.2.2 测定种子生理指标 对萌发的种子进行计数,以胚根长到大于种子长度的一半为发芽标准。第 5 天测定发芽势,第 13 天测定发芽率、发芽指数和活力指数。计算方法如下:

发芽率(%) = 发芽终期全部正常发芽的种子数/供试种子数 × 100

发芽势(%) = 规定天数内发芽的种子粒数/供试种子数 × 100

发芽指数(GI) =  $\sum (G_t/D_t)$  (式中,  $G_t$  为在  $t$  日的发芽率,  $D_t$  为相应的发芽天数)

活力指数(VI) = 发芽指数 × 苗长<sup>[5]</sup>

1.2.3 幼苗叶片抗氧化酶活力测定 提取酶液:将研钵放在提前制好的冰上,天平称取 1 g 金花葵叶片(鲜重)放入研钵中。在研钵中将叶片碾碎,加入 5 mL 缓冲液充分研磨。将液体倒入离心管中,再用缓冲液充分清洗研钵,  $8\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 15 min,其上清液即为粗酶提取液。将提取的粗酶液装入各管中,冷藏保存,用于测定抗氧化酶的活性<sup>[6]</sup>。用 NBT 显色法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性,愈创木酚测定过氧化物酶(POD)活性<sup>[7]</sup>,紫外线吸收法测定过氧化氢酶(CAT)活性<sup>[8]</sup>。

1.2.4 数据分析 本试验采用 SPSS 20.0 统计分析软件进行方差分析与多重比较。采用 Excel 2010 作图。

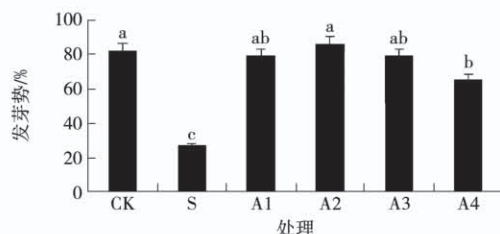
## 2 结果与分析

### 2.1 SNP 对干旱胁迫下金花葵种子发芽率和发芽势的影响

由图 1 和图 2 可知,干旱胁迫条件(处理 S)下金花葵种子的发芽势和发芽率最低,并且显著低于对照,与对照相比发芽势下降了 67.07%,发芽率下降了 73.53%。而加入不同浓度的 SNP 后,与干旱胁迫相比,金花葵种子的发芽势和发芽率都得到了提高,可以看出 SNP 缓解了干旱胁迫对金花葵种子萌发的不利影响。在发芽势和发芽率方面,不同浓度的 SNP 都对干旱胁迫有很好的缓解作用。加入 SNP 后发芽势均显著高于干旱胁迫处理, A1、A2、A3 和 A4 分别比干旱胁迫高出 52%、59%、52%和 38%。在发芽率方面, A1、A2、A3 和 A4 分别比干旱胁迫下高出 30%、40%、26%和 22%。

综上所述, A2 处理下的效果最好,发芽势和发芽率分别比 S 处理提高了 59%和 40%。对于干旱胁迫的缓解从  $0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  SNP 开始上升,  $0.3\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  SNP 时发芽势和发芽率均达到最

大值,之后芽势和发芽率又开始随 SNP 浓度增加逐渐下降。



注:不同小写字母代表 0.05 水平差异显著,下同。

图 1 不同处理下金花葵种子的发芽势

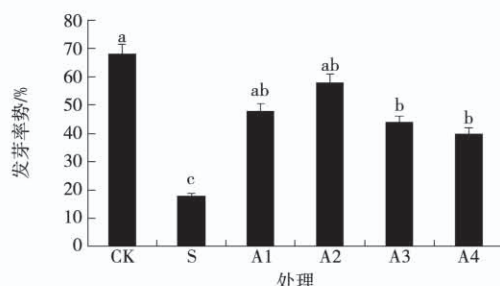


图 2 不同处理下金花葵种子的发芽率

### 2.2 SNP 对干旱胁迫下金花葵种子的发芽指数和活力指数的影响

金花葵种子各处理下的发芽指数、活力指数与发芽势、发芽率结果相似。由图 3 和图 4 可知,干旱胁迫下金花葵种子的发芽指数和活力指数较对照显著下降。在不同浓度 SNP 处理后金花葵种子的发芽指数和活力指数较干旱胁迫处理又有明显的提升。在发芽指数上, A1、A2、A3 和 A4 比干旱胁迫下分别高出 55.95%、63.84%、64.02%和 52.24%,并且 A2、A3 与 CK 差异不显著。在活力指数上, A1、A2、A3 和 A4 比干旱胁迫下分别高出 70.97%、78.73%、76.99%和 63%。由以上数据可以看出 A2、A3 处理组效果最好。

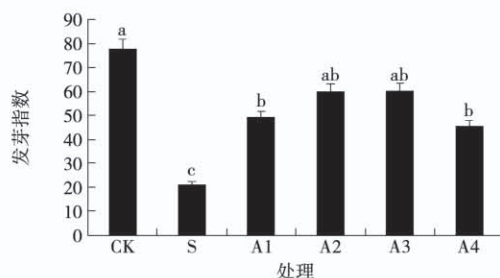


图 3 不同处理下金花葵种子的发芽指数

综上所述,金花葵种子在各  $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  SNP 处理下的发芽指数提高最多,活力指数在  $0.3\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  SNP 处理下提高最多,随着浓度升

高发芽指数和活力指数均开始减小,对于干旱胁迫的缓解效果减弱。

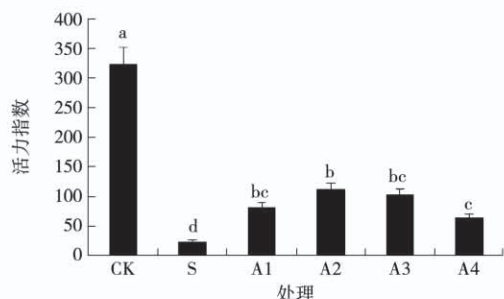


图4 不同处理下金花葵种子的活力指数

### 2.3 SNP对干旱胁迫下金花葵叶片POD活性的影响

由图5可知,干旱胁迫后,金花葵幼苗叶片的POD活性下降,比对照CK下降了62.35%。不同浓度的SNP处理后,其活性均较干旱胁迫下提高,其中A1、A2和A3之间无显著差异,POD活性分别比干旱胁迫下提高了32.22%、35.54%和37.44%。但是A4相较于干旱胁迫只提高了14.08%,二者差异不显著,与A1、A2和A3差异显著。说明 $0.7\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  SNP对于金花葵幼苗叶片POD活性效果影响较小。综合比较,对干旱胁迫下金花葵抗氧化系统POD的影响效果 $A3>A2>A1>A4$ 。

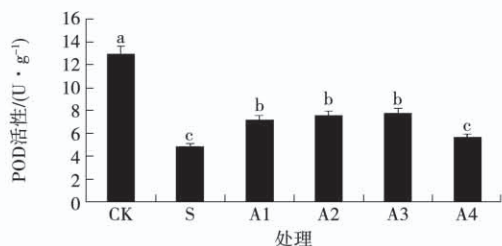


图5 不同处理下金花葵叶片的POD活性

### 2.4 SNP对干旱胁迫下金花葵叶片CAT活性的影响

由图6可以看出,干旱胁迫后,金花葵幼苗叶片CAT活性下降,比对照CK下降了60.84%。在干旱胁迫后加入不同浓度的SNP,其活性均比干旱胁迫提高,其中A1、A2和A3之间无显著差异,CAT活性分别比干旱胁迫下提高了39.01%、44.71%和44.1%。虽然A4相较于干旱胁迫下CAT显著提高了20.45%,但是显著低于A1、A2和A3。说明 $0.7\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  SNP的浓度对于缓解干旱有一定效果,但没有其他浓度效果好。综合比较对干旱胁迫下金花葵抗氧化系统CAT的影响效果 $A2>A3>A1>A4$ 。

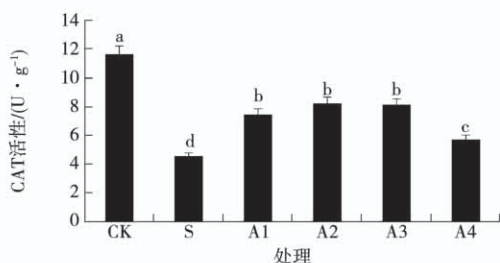


图6 不同处理下金花葵叶片的CAT活性

### 2.5 SNP对干旱胁迫下金花葵叶片SOD活性的影响

由图7可见,干旱胁迫后金花葵幼苗叶片中SOD活性升高,说明适度的干旱胁迫可以提高金花葵叶片SOD活性。经SNP处理后SOD活性进一步得到了提升。A1、A2、A3和A4的SOD活性分别比干旱胁迫下提高了29.35%、33.49%、31.05%和20.56%。A4与其他3组浓度相比SOD活性提高较少,与干旱胁迫下的差异不显著,说明 $0.7\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  SNP对提高SOD活性作用较小。综合比较对干旱胁迫下金花葵抗氧化系统SOD的影响效果 $A2>A3>A1>A4$ 。

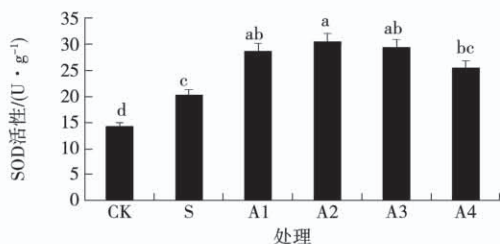


图7 不同处理下金花葵叶片的SOD活性

## 3 讨论

种子萌发对植物生长十分重要,此时植物生理代谢最旺盛,也容易受到不良环境刺激,轻度的逆境因子都可能影响到种子活力<sup>[8]</sup>。众所周知干旱对于植物生长发育有着极大的危害,而NO可以调节植物的生长发育,减少干旱对植物的氧化伤害,提高植物体内抗氧化酶的活性。朱再标等<sup>[5]</sup>研究证明, $0.3\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  SNP处理能明显缓解15%PEG6000干旱胁迫造成的氧化伤害,促进白花蛇舌草种子的萌发和幼苗生长。本试验设置的不同SNP浓度在发芽势、发芽率、发芽指数与活力指数上, $0.1\sim0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  SNP浓度之间没有明显的差别,都有利于缓解干旱胁迫。综合对比来看, $0.3\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  SNP效果最好,这与前人研究结果类似。在 $0.7\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  SNP浓度处理下的各项生理指标都有所下降,可能高浓度的外源NO不能缓解干旱胁迫对植物的伤害,会对

植物造成伤害,产生毒害。

当植物遭受干旱胁迫时,其体内会响应多种机制以适应其胁迫压力,如抗氧化酶系统。许多研究已表明,NO 可以通过调节植物体内的活性氧(ROS)代谢来减轻胁迫伤害,例如外源 NO 供体 SNP 可以通过提高小麦叶片的抗氧化能力来缓解盐胁迫条件下的氧化损伤<sup>[9]</sup>,本试验经干旱胁迫处理后,金花葵幼苗叶片 SOD 活性与对照 CK 相比有所上升,但是 CAT 和 POD 活性降低,这与李蕾蕾关于玉米的研究结果类似<sup>[10]</sup>。在加入不同浓度 SNP 后,3 种酶活性均比在干旱胁迫时升高,在 0.1~0.5 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 浓度范围内 3 种酶升高较多,且差异不显著,0.7 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 浓度范围内升高较少,并且与干旱胁迫无显著差异,这可能与 NO 具有二元双重效应有关。由此可见,外源 NO 可以防止干旱对植物的伤害,提高抗氧化酶活性,清除有毒的过氧化物,但是过多的外源 NO 也可能会对植物造成伤害。

#### 4 结论

本试验结果表明,干旱胁迫能显著抑制金花葵种子的萌发,在一定浓度范围内 SNP 可不同程度地缓解干旱胁迫对金花葵种子萌发的不利影响,提高金花葵种子抗旱能力。

与干旱胁迫对比,在发芽势上,0.1 和 0.5 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 处理的发芽势数值相等,0.3 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 处理的发芽势最高。在发芽率和活力指数上,0.3 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 处理的发芽率和活力指数提高最多。发芽指数上 0.3 和 0.5 mmol·L<sup>-1</sup> 几乎没有差别,表现都很好。总体

上以 0.3 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 浓度的效果最佳。

在抗氧化酶活性方面,经干旱胁迫后,金花葵幼苗叶片 SOD 活性升高,CAT 和 POD 活性降低。在不同浓度 SNP 处理下,SOD、POD 和 CAT 活性都比干旱胁迫下有所提高,其中 0.1、0.3 和 0.5 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 处理的酶活性提高较多,且这 3 个浓度处理间差异不显著。在 0.7 mmol·L<sup>-1</sup> 浓度酶活性提高较少。综上,0.3 和 0.5 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 处理对于提高干旱胁迫下金花葵幼苗叶片抗氧化酶活性效果最佳。

#### 参考文献:

- [1] 杨秀松.金花葵粗黄酮提取物的免疫调节作用研究[J].中国药师,2013,16(9):1307-1311.
- [2] 吴名全.珍稀植物——金花葵[J].现代园艺,2008(10):16-17.
- [3] 贾慧,其力木格,李特日根,等.外源 SNP 对于旱胁迫下不同马铃薯品种叶片抗氧化酶活性的影响[J].西北植物学报,2016,36(3):551-557.
- [4] Delledonne M, Xia Y, Dixon R A, et al. Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance[J]. Nature, 1998,394:585-588.
- [5] 朱再标,宁梓君,郭巧生,等.外源一氧化氮对于旱胁迫下白花蛇舌草种子萌发的影响[J].中草药,2014,45(6):840-843.
- [6] 吴星,王晓娟,彭燕.一氧化氮参与调节 PEG 渗透胁迫下白三叶抗氧化酶活性及其基因表达[J].草业学报,2017,26(4):178-187.
- [7] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000.
- [8] 赵世杰,刘华山,董新纯.植物生理学实验指导[M].北京:中国农业科技出版社,1998.
- [9] 吴寒.干旱对植物体的危害及一氧化氮在干旱胁迫中的作用和研究进展[J].农民致富之友,2018(11):240.
- [10] 李蕾蕾.外源 NO 对于旱条件下玉米幼苗光合特性及抗氧化酶系统的影响[D].郑州:河南农业大学,2016.

## Studies on Physiological Characteristics and Antioxidant Enzymes of Heterologous NO in Controlling Seed Germination of *Hibiseu smanihot* L. Under Drought Stress

YU Zhen-yu<sup>1</sup>, FAN Cui-li<sup>2</sup>

(1. Aksu Vocational and Technical College, Aksu 843100, China; 2. Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China)

**Abstract:** In order to promote drought-resistant cultivation of *Hibiseu smanihot* L., 15% PEG6000 was used to simulate drought stress, exogenous applied the donor of SNP of the different concentrations of nitric oxid, to study its effect on seed germination potential, germination rate, germination index and activity index, as well as antioxidant enzyme activity of mallow seedling leaves. The results showed that, SNP treatment could promote the seed germination under drought stress to different degrees, 0.3 mmol·L<sup>-1</sup> SNP had the best effect; SNP treatment could improved the activity of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) in leaves of *Hibiseu smanihot* L., 0.3 and 0.5 mmol·L<sup>-1</sup> SNP had the best effect on improving the activity of antioxidant enzymes.

**Keywords:** *Hibiseu smanihot* L.; seed germination; drought stress; nitric oxide; nitrate pune; antioxidant enzymes