

NO 对低温胁迫下玉米种子萌发及幼苗生理特性的影响

陈银萍, 王晓梅, 杨宗娟, 于 飞, 思显佩

(兰州交通大学环境与市政工程学院, 兰州 730070)

摘要:以4℃模拟低温胁迫状况,研究了外源一氧化氮(NO)供体硝普钠(SNP)对低温胁迫下玉米种子萌发、幼苗生长和生理特性的影响。结果表明,低温胁迫下,玉米种子萌发和幼苗生长受到抑制,叶片丙二醛(MDA)含量和相对电导率显著上升,叶片相对含水量、脯氨酸含量和叶绿素含量显著降低。不同浓度的SNP均能显著提高低温胁迫下玉米种子的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数;促进低温胁迫下玉米幼苗的生长;抑制低温胁迫下玉米幼苗叶片MDA含量的上升,降低叶片质膜相对透性,增加相对含水量、脯氨酸含量和叶绿素含量。表明外源NO可缓解低温胁迫对玉米种子萌发及幼苗生长的抑制作用,缓解低温胁迫引起的膜脂过氧化,保护细胞膜免受或减少损伤,提高植物抗低温胁迫的能力。在SNP不同的使用浓度中,以100 μmol·L⁻¹ SNP对低温胁迫的缓解效果最佳,当SNP浓度过低和过高时均达不到理想的效果。

关键词:一氧化氮(NO);硝普钠(SNP);低温胁迫;玉米;种子萌发;幼苗生理特性

中图分类号:Q945.78 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2012)02-0270-08

Effects of Nitric Oxide on Seed Germination and Physiological Reaction of Maize Seedlings Under Low Temperature Stress

CHEN Yin-ping, WANG Xiao-mei, YANG Zong-juan, YU Fei, SI Xian-pei

(School of Environmental and Municipal Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: The effects of sodium nitroprusside(SNP) as an exogenous nitric oxide donor at the different concentrations on the maize seed germination, growth and physiological reaction of maize seedlings under low temperature stress were studied. The results showed that the low temperature stress inhibited the maize seed germination and growth of seedlings, and increased the malondialdehyde(MDA) content and cell membrane permeability, while decreased the relative water content, the proline content and the chlorophyll content in leaves of maize seedlings. The treatments with SNP at different concentrations could promote the germination rate, germination energy, index of germination and index of vigor of maize seeds, increased growth, relative water content, the proline content and the chlorophyll content, inhibited significantly the MDA content and cell membrane permeability of maize seedlings under low temperature stress. It was shown that exogenous nitric oxide had abating effect on depressed seed germination and growth of maize seedlings, could improve the antioxxygen ability of maize seedlings, debasing lipid peroxidation and protect plasma membrane from being destroyed to enhance the resistance of plants under low temperature stress. The best abating effect occurred with the SNP concentration set at 100 μmol·L⁻¹, while higher or lower SNP content had no such satisfactory effect.

Keywords: nitric oxide(NO); sodium nitroprusside(SNP); low temperature stress; maize; seed germination; seedling physiological reaction

长期以来,一氧化氮(nitric oxide, NO)被当作毒性分子看待,自从 Delledonne 等^[1]和 Dumer 等^[2]发现

NO 可以作为植物抗病反应的信号分子后,NO 植物学的研究特别是 NO 与植物非生物胁迫间关系的研究成为植物界研究的热点之一。已有研究表明^[3-4],作为信号分子的 NO 可以调控作物种子的萌发过程。外源 NO 供体硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)能显著促进渗透胁迫下小麦种子的萌发^[4],低浓度 SNP 预处理水稻,能缓解其在水分胁迫和高温胁迫下叶片叶绿素的降解、维持光系统 II 的活性^[5-6],SNP 与甘露醇同

收稿日期:2011-07-20

基金项目:国家自然科学基金(31060060);兰州交通大学“青蓝”人才工程基金(QL-08-14A);兰州市科技计划资助项目(2008-1-175,2009-2-20)

作者简介:陈银萍(1974—),女,甘肃兰州人,博士,从事环境生物学方面的研究工作。E-mail:yinpch@yahoo.com.cn

时处理小麦幼苗对水分胁迫下叶片的氧化损伤有保护作用^[7],凌腾芳等^[8]发现外源 SNP 可以提高水稻幼苗的耐盐性,张艳艳等^[9]发现 0.1~200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SNP 都可提高盐胁迫下玉米幼苗的干物重积累速率,SNP 预处理能减轻 Cd、Pb 胁迫对羽扇豆根生长的抑制作用^[10],缓解 Cd 胁迫对向日葵叶片的伤害^[11]以及 Cd 胁迫对绿豆幼苗根尖生长^[12]和辣椒种子萌发率的抑制^[13]。玉米是我国重要的农作物,低温是影响它生长和产量的一个重要的非生物胁迫因素,因此采取各种方法来提高玉米的耐冻性是玉米抗逆研究的一个重要方面。本文旨在探查 SNP 浸种处理对低温胁迫下玉米种子萌发过程的调节作用以及 NO 对玉米幼苗生长和生理特性的影响,为探索 NO 的作用机理奠定基础,同时也为农作物种子的萌发生理、生长代谢和生产实践中的化学调控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料和试剂

玉米(*Zea mays L.*)品种为“沈单 16 号”(甘肃省农科院提供)。NO 供体硝普钠(亚硝基铁氰化钠,sodium nitroprusside,SNP,购自 Sigma 公司)现用现配,通常 0.15 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SNP 大约可以产生小于 0.2 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NO^[14]。

1.2 实验设计

1.2.1 种子处理

培养时选取籽粒饱满、大小均匀且无病虫伤害的种子洗净种外包衣,再用质量分数为 1% 的 NaClO 消毒 10 min,然后用蒸馏水冲洗数次,将种子放于水中让其吸胀 12 h 后,吸干种子表面水分播于铺有两层滤纸的培养皿内进行常规发芽实验。

1.2.2 实验处理

以 Hoagland 营养液为基础培养液,分别添加 SNP 至最终浓度为 0、25、50、100、200、500、1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,以浇 10 mL Hoagland 营养液为对照(CK),共 8 个处理(CK、0+4 °C、25+4 °C、50+4 °C、100+4 °C、200+4 °C、500+4 °C、1 000+4 °C),每个处理设 6 个重复,每个重复 50 粒玉米种子。在 20 °C 黑暗中培养 24 h 后,实验分为 2 组。

(1)除对照(CK)处理外,各处理的 3 个重复置于温度为 4 °C、完全黑暗的条件下进行低温培养,每日定时加处理液,当培养到第 8 d 的时候,每 24 h 观察玉米的发芽率、发根率,以芽长超过 1 mm 为发芽标准,以根数发出 3 个以上为发根标准,12 d 测其根长

和芽长。

(2)除对照处理外,各处理的剩余 3 个重复置于温度为 27 °C、光照时间 12 h·d⁻¹ 的培养箱内培养,每日定时加处理液,对玉米种子进行催芽处理,7 d 后将培养皿中已发根、发芽的种子选用根芽长势一致的种子移植到口径为 15 cm 且装有珍珠岩的花盆中,并每日都用相对应的处理液再加 Hoagland 营养液进行处理,3 d 后将温度降低到 1 °C 黑暗中培养 24 h,再放置于温度为 4 °C、光照时间 12 h·d⁻¹ 的培养箱内培养,待玉米幼苗三片真叶完全展平时开始测定叶片相对含水量、相对电导率、叶绿素、脯氨酸及丙二醛含量。

1.3 测试方法

烘干法测定叶片相对含水量^[15];电导率法测定细胞质膜相对透性^[15];乙醇-丙酮混合法测定叶绿素含量^[16];碘基水杨酸-酸性茚三酮比色法测定游离脯氨酸含量^[17];硫代巴比妥酸法测定 MDA 含量^[18]。

1.4 数据处理

所有数据均取 3 次重复平均值,采用 SPSS13.0 统计分析软件进行数据分析及差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 SNP 对低温胁迫下玉米种子萌发的影响

2.1.1 对玉米种子发芽率和发芽势的影响

如图 1、图 2 所示,低温胁迫下,玉米种子的发芽率和发芽势与 CK 对照组相比均明显下降,说明低温胁迫对玉米种子的萌发起到了抑制作用。从第 8 d 开始到第 15 d,发芽率较对照分别降低了 97.64%、93.71%、73.29%、54.06%、26.35%、23.24%、20.55% 和 17.18%。显然,4 °C 低温显著推迟了玉米种子的萌发($P<0.05$)。不同浓度的 SNP 处理均能不同程度地提高低温胁迫下玉米种子的发芽率(图 1)、发芽势(图 2)及发芽整齐度,且缩短发芽时间。在 SNP 浓度为 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 NO 对低温胁迫的缓解效果最显著($P<0.05$),尤其是在种子发芽第 9、10 d,发芽率与 4 °C 低温处理的比较分别升高了 133.33%、128.21%,但随着 SNP 浓度的逐渐升高,缓解效果就越不明显。

2.1.2 对玉米种子发芽指数和活力指数的影响

如图 3、图 4 所示,低温胁迫下,玉米种子的发芽指数和活力指数均显著下降($P<0.01$),从发芽第 8 d 到第 15 d,玉米种子的发芽指数较对照组分别降低了 96.03%、94.83%、87.94%、80.13%、70.78%、64.16%、59.14% 和 55.05%(图 3),活力指数较对照组下降了 77.89%(图 4)。不同浓度的 SNP 均能缓解低温胁迫,

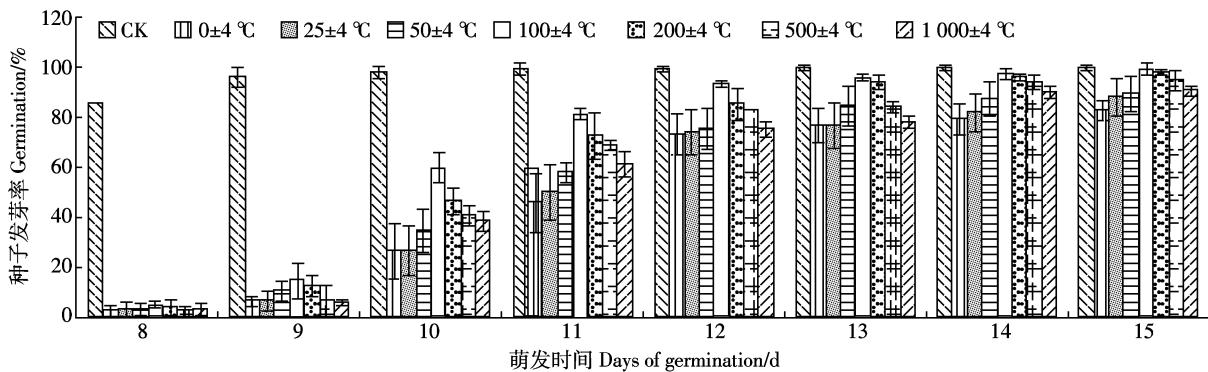


图 1 不同浓度 SNP 对低温胁迫下玉米种子发芽率的影响

Figure 1 Effect of different concentration of SNP on maize seed germination rate under low temperature stress

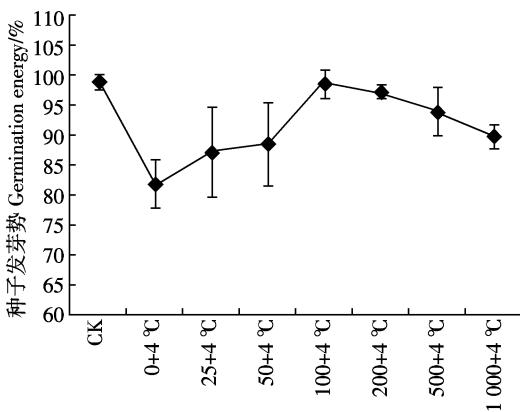


图 2 不同浓度 SNP 对低温胁迫下玉米种子发芽势的影响

Figure 2 Effect of different concentrations of SNP on germination energy of maize seed under low temperature stress

其中浓度为 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 SNP 缓解效果最显著 ($P<0.01$)，从发芽第 8 d 到第 15 d，其处理后的种子发芽指数比 4°C 低温处理的分别提高了 40.00%、97.44%、119.16%、97.39%、66.87%、54.58%、47.54% 和 42.71% (图 3)，活力指数提高了 133.81% (图 4)。另外，从图 3、图 4 可以看出，随着 SNP 浓度的逐渐升

高，缓解效果就越不明显。

2.2 不同浓度 SNP 对低温胁迫下玉米幼苗生长的影响

如图 5 所示，低温胁迫下玉米平均芽长显著下降 ($P<0.01$)，比 CK 处理降低了 50.80%。不同浓度的 SNP 处理可以对低温胁迫下芽的生长有一定的促进作用，当 SNP 浓度为 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时促进效果最显

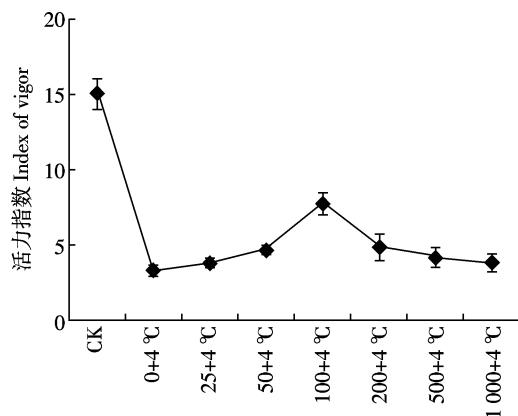


图 4 不同浓度 SNP 对低温胁迫下玉米种子活力指数的影响

Figure 4 Effect of different concentrations of SNP on index of vigor of maize seed under low temperature stress

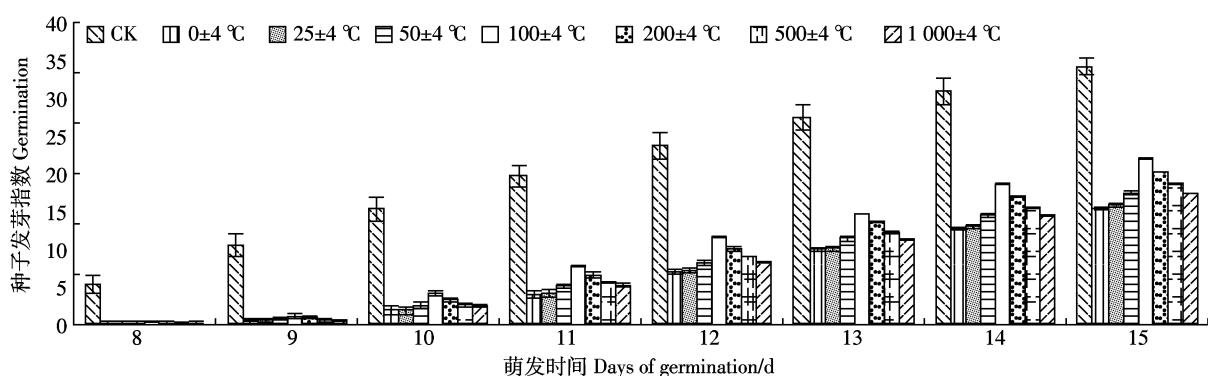


图 3 不同浓度 SNP 对低温胁迫下玉米种子发芽指数的影响

Figure 3 Effect of different concentrations of SNP on index of germination of maize seed under low temperature stress

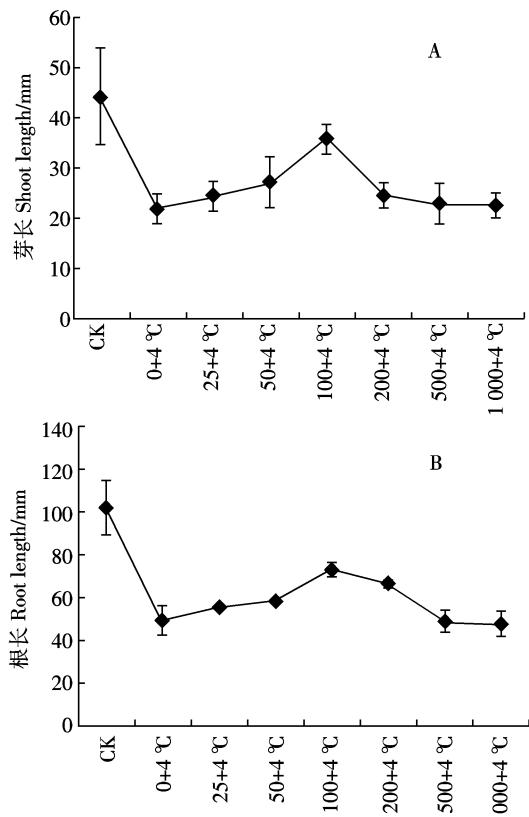


图 5 不同浓度 SNP 对低温胁迫下玉米幼苗生长的影响
Figure 5 Effect of different concentration SNP on growth of maize seedlings under low temperature stress

著 ($P<0.01$), 较低温胁迫下玉米的芽长增长了 63.83% (图 5-A)。低温胁迫下, 玉米幼苗的平均根长也显著下降 ($P<0.01$), 比 CK 处理降低了 51.51%。不同浓度的 SNP 处理也可以对低温胁迫下根的生长有一定的促进作用, 当 SNP 浓度为 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时促进效果最显著 ($P<0.01$), 较低温胁迫下玉米的根长增长了 48.19% (图 5-B)。但随着 SNP 浓度的逐渐升高, SNP 对根和芽生长的促进效果就越不明显, 特别是当 SNP 浓度为 $1000 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时与没有 SNP 的低温胁迫无显著性差异 ($P>0.05$)。

2.3 不同浓度 SNP 对低温胁迫下玉米幼苗生理特性的影响

2.3.1 对低温胁迫下玉米幼苗脯氨酸含量的影响

由图 6 可知, 玉米受低温胁迫后, 叶片中脯氨酸含量比对照组降低 82.20% ($P<0.01$), 经不同浓度的 SNP 处理后, 叶片中脯氨酸的含量有不同程度的增加, 当 SNP 浓度达到 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 比受低温胁迫而未施用 SNP 的脯氨酸含量增加了 137.14% ($P<0.001$), 说明施加 SNP 后, 提高了叶片脯氨酸含量, 防止了膜脂的过氧化。

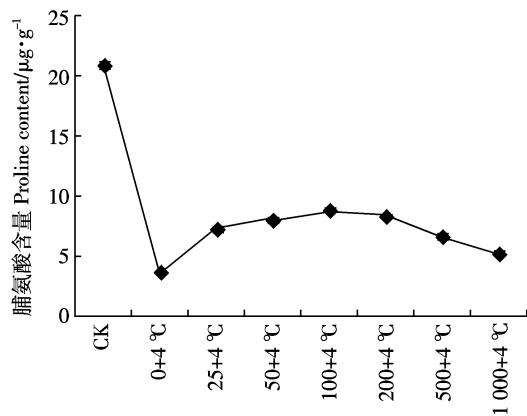


图 6 NO 对低温胁迫下玉米叶片中脯氨酸含量的影响

Figure 6 Effect of NO on the proline content in leaves of maize seedlings under low temperature stress

2.3.2 对玉米幼苗相对含水量的影响

从图 7 可知, 低温胁迫使玉米叶片的相对含水量显著下降 ($P<0.05$), 与对照相比下降了 31.99% 左右, 而在低温胁迫的同时, 施用外源 SNP 后, 玉米叶片相对含水量随着 SNP 浓度的增加而略有增加, 当 SNP 浓度达到 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 叶片相对含水量比受低温胁迫而未施用 SNP 处理的玉米增加了 17.76% ($P<0.05$), 说明加入 SNP 后, 能提高玉米叶片的相对含水量, 降低低温胁迫条件下引起的水分胁迫。

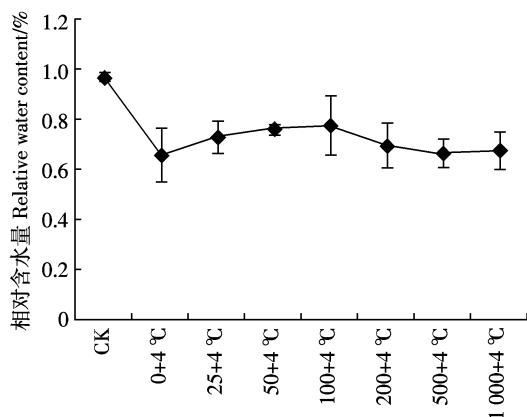


图 7 NO 对低温胁迫下玉米叶片相对含水量的影响

Figure 7 Effect of NO on the relative water content in leaves of maize seedlings under low temperature stress

2.3.3 对玉米叶片叶绿素含量的影响

由图 8 可知, 低温胁迫使玉米叶片叶绿素含量比对照下降 18.59% ($P<0.05$), 而在低温胁迫同时, 施用外源 SNP, 玉米叶片叶绿素含量随着 SNP 浓度加大而略有增加, 当 SNP 浓度达 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 较受低温胁迫而未施用 SNP 处理的玉米叶绿素含量增加了

8.68%, 说明加入 SNP 后, 能降低低温胁迫条件下叶绿素的降解。但当 SNP 的使用浓度继续增加时, 叶绿素含量并不再增加, 而呈略有下降的趋势。这可能由于 SNP 浓度过高后释放出的 NO 浓度过大, 反而作为自由基对植物造成了伤害。

低温胁迫使玉米叶片类胡萝卜素含量比对照下降 78.06% ($P<0.05$), 低温胁迫下, 施用外源 SNP, 玉米叶片类胡萝卜素含量随着 SNP 浓度加大而显著增加, 当 SNP 浓度达 50、100、200、500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 较受低温胁迫而未施用 SNP 处理的玉米类胡萝卜素含量均显著增加, 特别是当 SNP 浓度达 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时增加了 205.41% ($P<0.001$), 说明加入 SNP 后, 能显著降低低温胁迫下类胡萝卜素的降解。当 SNP 的使用浓度达 1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 类胡萝卜素含量又显著下降 ($P<0.001$)。

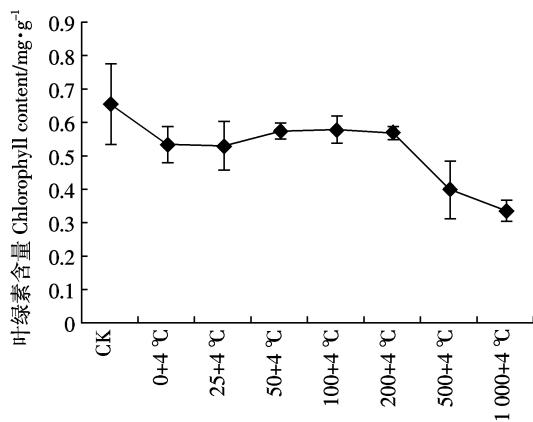


图 8 NO 对低温胁迫下玉米叶片中叶绿素含量的影响

Figure 8 Effect of NO on the chlorophyll content in leaves of maize seedlings under low temperature stress

2.3.4 对玉米叶片中丙二醛(MDA)含量的影响

从图 9 可知, 玉米受低温胁迫后, 叶片 MDA 含量比对照增加 246.49%。说明低温胁迫后造成膜脂过氧化加速, 过氧化产物 MDA 含量显著增加 ($P<0.001$)。而在低温胁迫的同时, 施用 SNP 后, 叶片 MDA 含量随着 SNP 浓度的增加而下降, 当 SNP 浓度达 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, MDA 含量与单独低温胁迫时相比下降了 38.14%, 说明加入 SNP 后, 使膜脂过氧化程度显著降低 ($P<0.01$)。

2.3.5 对玉米叶片相对电导率的影响

从图 10 可知, 低温胁迫使玉米叶片的相对电导率显著增加 ($P<0.01$), 而在低温胁迫的同时, 施用 SNP 后, 玉米叶片相对电导率随着 SNP 浓度的增加而下降, 当 SNP 浓度达到 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 比受低温

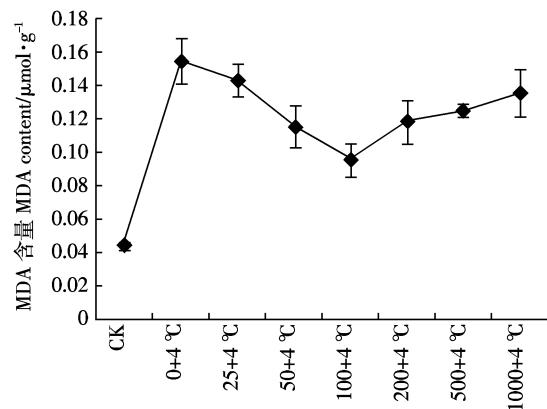


图 9 NO 对低温胁迫下玉米叶片中丙二醛含量的影响

Figure 9 Effect of NO on the MDA content in leaves of maize seedlings under low temperature stress

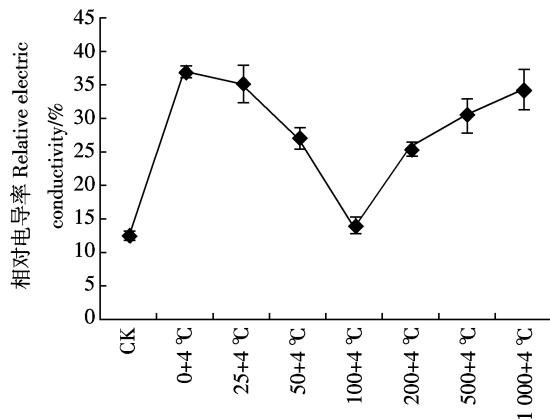


图 10 NO 对低温胁迫下玉米叶片相对电导率的影响

Figure 10 Effect of NO on the relative electric conductivity in leaves of maize seedlings under low temperature stress

胁迫而未施用 SNP 处理下降了 61.95%, 说明加入 SNP 后, 有利于保护细胞膜的完整性, 在一定程度上能显著降低低温胁迫下叶片细胞膜透性 ($P<0.01$), 降低了低温胁迫对玉米叶片的伤害。

3 讨论

种子萌发是作物整个生长周期中生理代谢最旺盛的阶段, 也是容易受到不良环境刺激的最敏感时期, 强度较轻的逆境就会使种子活力受到严重的影响。近年来, 作为一个简单的双原子小分子的 NO, 以其独特的生理生化作用和功能引起人们的普遍关注。目前已经知道, NO 是一种新的植物生长调节信号分子, 可以广泛参与植物各种生理过程的调节, 尤其在植物生长发育及其对逆境的响应等方面起着重要的调节作用。在渗透胁迫下, 用 SNP 处理小麦种子, 可

以显著促进种子的萌芽、胚根和胚芽的伸长^[19]。低浓度 SNP 对豌豆、黄瓜、玉米和刺槐种子发芽势、发芽率及幼苗的根长、叶绿素含量和生物量有明显的促进作用,随着 SNP 浓度的增加,种子萌发和幼苗生长明显受抑制^[6]。NO 可以使非生物胁迫条件下的植物生长发育免受 ROS 的损害,且效应与植物细胞的生理条件及 NO 处理浓度有关^[20-21]。本研究表明,在低温胁迫下,玉米种子萌发期各项指标都有不同程度降低,说明低温胁迫抑制了玉米种子的发芽和幼苗生长,而在同样的低温胁迫条件下,用不同浓度的 SNP 对玉米种子进行处理,在萌发期却不同程度的提高了玉米种子的发芽势、发芽率、发芽指数、活力指数,促进了低温胁迫下幼苗根和芽的生长,且以 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 SNP 溶液处理的效果最好。说明 SNP 溶液处理能够提高低温胁迫下玉米种子活力和幼苗的生长,从而增强了玉米萌发期的抗冷冻性。

本研究中,低温胁迫造成了植株细胞膜的伤害,导致玉米幼苗叶片的相对含水量显著下降。低温胁迫下 SNP 处理的幼苗有较高的相对含水量,表明外源 SNP 能够提高幼苗的持水能力,保证了植株体内水分的运输,对增强抗冷冻性有显著作用。细胞内 MDA 含量的高低反映细胞氧化损伤的程度。活性氧(ROS)水平提高可诱发脂质过氧化链式反应,导致细胞膜的完整性遭到破坏^[22]。Mata^[23-24]发现 NO 对干旱胁迫下小麦幼苗的氧化损伤有缓解作用,并可能与 NO 同 ROS 或脂质过氧化自由基发生反应从而中断氧化胁迫而减轻细胞膜损伤有关。在本试验中,低温胁迫使玉米幼苗叶片 MDA 含量显著提高,相对电导率显著提高, $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SNP 处理能有效缓解低温胁迫造成的氧化损伤,显著降低叶片 MDA 含量和相对电导率,对维持植物的正常代谢有一定作用。同时, $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SNP 处理可显著提高低温胁迫下玉米幼苗叶片的 Pro 含量。这与王宪叶等^[25]、阮海华^[26]和于秀针^[27]的结果一致。Pro 除可作为渗透调节物质外,还在清除 ROS,提高抗氧化能力、稳定大分子结构、降低细胞酸性和解除氨中毒等方面起重要作用^[27]。另外,叶绿素是植物进行光合作用所必需的重要物质之一,决定着植物的光合效率^[28]。低温胁迫期间,各处理下玉米幼苗叶片中的叶绿素含量均有不同幅度的降低,直接影响了叶片的光合作用,进而影响光合产物的积累,从而造成植物株高和生物量的减少,甚至可能导致植物死亡^[29-30];而 $50, 100, 200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SNP 处理有效地减弱了叶绿素的降解反应,提高了叶片细胞的渗

透调节能力和耐低温能力。

但并不是随 SNP 使用浓度的增加,玉米对低温胁迫的抗性就必定增强,这与刘建新等^[31]发现,低浓度的 SNP 能够缓解盐胁迫对黑麦草幼苗根生长的抑制作用,高浓度 SNP 则抑制盐胁迫下根的生长的原理是一致的。低浓度 NO 可作为抗氧化剂对活性氧分子(ROS)起清除作用,而且能够诱导抗氧化酶基因的表达,从而具有保护作用;但高浓度 NO 与活性氧分子相互作用生成大量的过氧亚硝酸阴离子(OONO^-),过氧亚硝酸阴离子经质子化后形成具有强氧化性的过氧亚硝酸(HOONO),能破坏生物大分子的结构与功能,具有更强的生物毒性。有研究表明,低浓度的 NO 可以有效地缓解渗透胁迫下小麦叶片中 ROS 的伤害,减少膜脂过氧化产物 MDA 的量,而高浓度的 NO 则起了相反的作用^[32-33]。本试验也表明,当 SNP 的浓度低于 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,随 SNP 浓度的增加,玉米幼苗叶片脯氨酸含量增加,相对含水量增加,叶绿素含量增加,MDA 含量降低,相对电导率降低,NO 有效地缓解了低温胁迫下玉米叶片中 ROS 的伤害。但是,当 SNP 的浓度超过 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,随 SNP 浓度的增加,脯氨酸含量降低,相对含水量降低,叶绿素含量降低,MDA 含量增加,相对电导率增加,在一定程度上使玉米幼苗受害更加明显。因此,NO 作为一种植物的信号分子,在植物体内适宜的浓度才能起到最佳的生物学效应,浓度过高或过低都无法使信号物质发挥作用,无法正常地调控 NO 下游的信号转导,起不到提高植物抗逆境能力的作用。

4 结论

$100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SNP 处理能明显缓解低温胁迫造成的氧化损伤,显著促进低温胁迫下玉米种子的萌发和幼苗生长,显著降低幼苗叶片的 MDA 含量和相对电导率,显著提高其 Pro 含量、相对含水量和叶绿素含量,从而增强玉米幼苗抗低温胁迫的能力。SNP 浓度过低或过高时均达不到理想的效果。SNP 作为一种常用的外源 NO 供体,在植物抗低温等逆境栽培中具有潜在的应用价值。

参考文献:

- [1] Delledonne M, Xia Y J, Dixon R A, et al. Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance[J]. *Nature*, 1998, 394: 585-588.
- [2] Dumer J, Klessig D F. Nitric oxide as a signal in plants[J]. *Current Opinion Plant Biology*, 1999, 2: 369-374.
- [3] Bethke P C, Badger M R, Jonew R L. Apoplastic synthesis of nitric oxide

- by plant tissues[J]. *Plant Cell*, 2004, 16:332–341.
- [4] 张华, 沈文飚, 徐朗莱. 一氧化氮对渗透胁迫下小麦种子萌发及其活性氧代谢的影响[J]. 植物学报, 2003, 45(8):901–905.
ZHANG Hua, SHEN Wen-biao, XU Lang-lai. Effects of nitric oxide on the germination of wheat seeds and its reactive oxygen species metabolisms under osmotic stress[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2003, 45(8):901–905.
- [5] Laxalt A M, Beligni M V, Lamattina L. Nitric oxide reserves the level of chlorophyll in potato leaves infected by Phytophthora infestans[J]. *Eur J Plant Pathol*, 1991, 73:643–651.
- [6] Beligni M V, Lamattina L. Nitric oxide counteracts cytotoxic processes mediated by reactive oxygen species in plant tissues[J]. *Plants*, 1999, 208:337–344.
- [7] 王罗霞, 赵志光, 王锁民. 一氧化氮对水分胁迫下小麦叶片活性氧代谢及膜脂过氧化的影响[J]. 草业学报, 2006, 22(10):104–108.
WANG Luo-xia, ZHAO Zhi-guang, WANG Suo-min. Effect of nitric oxide on metabolism of reactive oxygen species and membrane lipid peroxidation in *Triticum aestivum* leaves under water stress[J]. *Acta Prata-culturae Sinica*, 2006, 22(10):104–108.
- [8] 凌腾芳, 宜伟, 樊颖瑞. 外源葡萄糖、果糖和 NO 供体(SNP)对盐分胁迫下水稻种子萌发的影响[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2005, 31(20):205–212.
LING Teng-fang, YI Wei, FAN Ying-rui. The effect of exogenous glucose, fructose and NO donor sodium nitroprusside (SNP) on rice seed germination under salt stress[J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2005, 31(20):205–212.
- [9] 张艳艳, 刘俊, 刘友良. 一氧化氮缓解盐分胁迫对玉米生长的抑制作用[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2004, 30(4):455–459.
ZHANG Yan-yan, LIU Jun, LIU You-liang. Nitric oxide alleviates growth inhibition of maize seedlings under NaCl stress[J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2004, 30(4):455–459.
- [10] Kopyra M, Gwozdz E A. Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus Luteus*[J]. *Plant Physiol Biochem*, 2003, 41:1011–1017.
- [11] Laspina N V, Groppa M D, Tomaro M L, et al. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd: Induced oxidative stress[J]. *Plant Science*, 2005, 169(2):323–330.
- [12] 王松华, 周正义, 陈庆榆, 等. 外源一氧化氮对镉胁迫下绿豆幼苗根尖抗氧化酶的影响[J]. 激光生物学报, 2007, 16(1):62–67.
WANG Song-hua, ZHOU Zheng-yi, CHEN Qing-yu, et al. Effects of exogenous nitric oxide on antioxidant enzymes responses of root tips in the mung bean seedlings under cadmium stress[J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2007, 16(1):62–67.
- [13] 陈世军, 张明生, 韦美玉. SNP 处理的辣椒幼苗对 Cd²⁺ 胁迫的生理响应[J]. 植物生理学通讯, 2009, 45(3):229–232.
CHEN Shi-jun, ZHANG Ming-sheng, WEI Mei-yu. Physiological response of *Capsicum frutescens* L. var. longum bailey seedling with SNP to Cd²⁺ stress[J]. *Plant Physiology Communications*, 2009, 45(3):229–232.
- [14] 孙群, 胡景江. 植物生理学研究技术[M]. 陕西: 西北农林科技大学出版社, 2006.
- SUN Qun, HU Jing-jiang. *Plant physiology research and technology* [M]. Shanxi: Northwest A & F University Press, 2006.
- [15] 张志良. 植物生理学试验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003: 123–124.
ZHANG Zhi-liang. *Guidebook of phyto-physiology experiments* [M]. Beijing: Higher Education Press, 2003: 123–124.
- [16] 张宪政. 作物生理研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1992: 208–212.
ZHANG Xian-zheng. *Crop physiology research method* [M]. Beijing: Agriculture Press, 1992: 208–212.
- [17] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000: 921.
GAO Jun-feng. *Plant physiology experimental techniques* [M]. Xian: World Books Publishing Company, 2000: 921.
- [18] 吴雪霞, 陈建林, 查丁石. 低温胁迫对茄子幼苗叶片叶绿素荧光特性和能量耗散的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2009, 15(1):164–169.
WU Xue-xia, CHEN Jian-lin, ZHA Ding-shi. Effects of low temperature stress on chlorophyll fluorescence characteristics and excitation energy dissipation in eggplant seedling leaves[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2009, 15(1):164–169.
- [19] 周永斌, 殷有, 苏宝玲, 等. 外源一氧化氮供体对几种植物种子的萌发和幼苗生长的影响[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(3):316–318.
ZHOU Yong-bin, YIN You, SU Bao-ling, et al. Effects of exogenous nitric oxide donor on seed germination and seedling growth of several plant species[J]. *Plant Physiology Communications*, 2005, 41(3):316–318.
- [20] 吴锦程, 陈建琴, 梁杰, 等. 外源一氧化氮对低温胁迫下枇杷叶片 ASA-GSH 循环的影响[J]. 应用生态学报, 2009, 20(6):1395–1400.
WU Jin-cheng, CHEN Jian-qin, LIANG Jie, et al. Effects of exogenous NO on ascorbate-glutathione cycle in loquat leaves under low temperature stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, 20(6):1395–1400.
- [21] 吴雪霞, 朱月林, 朱为民, 等. 外源一氧化氮对 NaCl 胁迫下番茄幼苗生理影响[J]. 中国农业科学, 2006, 29(3):575–581.
WU Xue-xia, ZHU Yue-lin, ZHU Wei-min, et al. Physiological effects of exogenous nitric oxide in tomato seedlings under NaCl stress[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 29(3):575–581.
- [22] 孙海丽, 李婷, 张华, 等. 外源 NO 对缺铁豌豆幼苗生长以及光合作用的影响[J]. 西北植物学报, 2011, 31(4):739–745.
SUN Hai-li, LI Ting, ZHANG Hua, et al. Effects of exogenous nitric oxide on growth and photosynthetic characteristics of pea seedling under iron deficiency stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalis Sini-ca*, 2011, 31(4):739–745.
- [23] Mata C G, Lam attina L. Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress[J]. *Plant Physiology*, 2001, 126:1196–1204.
- [24] 朱广廉, 钟海文, 张爱琴. 植物生理实验[M]. 北京: 北京大学出版社, 1990, 56–57.
ZHU Guang-lian, ZHONG Hai-wen, ZHANG Ai-qin. *Plant physiology experiment* [M]. Beijing: Peking University Press, 1990: 56–57.

- [25] 王宪叶, 沈文彪, 徐朗莱. 外源一氧化氮对渗透胁迫下小麦幼苗叶片膜脂过氧化的缓解作用[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2004, 30(19): 195–200.
WANG Xian-ye, SHEN Wen-biao, XU Lang-lai. Exogenous nitric oxide alleviates osmotic stress-induced membrane lipid peroxidation in wheat seedling leaves[J]. *Acta Photophysiological Sinica*, 2004, 30(19): 195–200.
- [26] 阮海华, 沈文彪, 叶茂炳, 等. 一氧化氮对盐胁迫下小麦叶片氧化损伤的保护效应[J]. 科学通报, 2001, 46: 1993–1997.
RUAN Hai-hua, SHEN Wen-biao, YE Mao-bing, et al. Protective regulation of nitric oxide on the oxidative damage of wheat leaves under salt stress[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2001, 46: 1993–1997.
- [27] 于秀针, 刘慧英, 张彩虹. 外源 NO 对低温胁迫下番茄幼苗生理特性及叶绿素荧光参数的影响[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2010, 28(2): 172–176.
YU Xiu-zhen, LIU Hui-ying, ZHANG Cai-hong. Effects of exogenous nitric oxide on physiological characteristics and chlorophyll II-fluorescence parameters in tomato seedlings under low temperature stress[J]. *Journal of Shihezi University(Natural Science)*, 2010, 28(2): 172–176.
- [28] 周建, 杨立峰, 郝峰鸣, 等. 低温胁迫对广玉兰幼苗光合及叶绿素荧光特性的影响[J]. 西北植物学报, 2009, 29(1): 136–142.
ZHOU Jian, YANG Li-feng, HAO Feng-ming, et al. Photosynthesis and chlorophyll-fluorescence of magnolia grandiflora seedlings under low temperature stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalis Sinica*, 2009, 29(1): 136–142.
- [29] 段培, 王芳, 王宝山. NO 供体 SNP 浸种显著缓解盐分胁迫对小麦幼苗的氧化损伤[J]. 菏泽学院学报, 2006, 10(5): 93–98.
DUAN Pei, WANG Fang, WANG Bao-shan. Seed presoaking with NO donor sodium nitroprusside significantly alleviates the oxidative damage in wheat seedlings under salt stress[J]. *J Heze University*, 2006, 10(5): 93–98.
- [30] 聂小琴, 丁德馨, 李广悦, 等. 铀矿浸出液胁迫对绿豆种子萌发和幼苗生长及其抗氧化酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(4): 789–795.
NIE Xiao-qin, DING De-xin, LI Guang-yue, et al. Effects of the stress from uranium pregnant solution on seed germination and seedling's growth and antioxidant enzymes activities of mung bean[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(4): 789–795.
- [31] 刘建新, 胡浩斌, 王鑫. 外源 NO 对盐胁迫下黑麦草幼苗根生长抑制和氧化损伤的缓解效应[J]. 植物研究, 2008, 28(1): 7–13.
LIU Jian-xin, HU Hao-bin, WANG Xin. Alleviative effects of exogenous nitric oxide on root growth inhibition and its oxidative damage in rye grass seedlings under NaCl stress[J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2008, 28(1): 7–13.
- [32] 王俊红, 魏小红, 龙瑞军, 等. 外源一氧化氮对渗透胁迫下小麦幼苗叶片膜脂过氧化的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2008, 43(1): 77–81.
WANG Jun-hong, WEI Xiao-hong, LONG Rui-jun, et al. Effects of exogenous nitric oxide on membrane lipid peroxidation in wheat leaves under osmotic stress[J]. *Journal of Gansu Agricultural University*, 2008, 43(1): 77–81.
- [33] 龚宁, 李荣华, 孟昭福, 等. Cd 对小白菜萌发生理影响的 FTIR-ATR 研究[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(1): 9–14.
GONG Ning, LI Rong-hua, MENG Zhao-fu, et al. Physiological response of *Brassica chinensis* L. seeds in germination to cadmium toxicity by FTIR-ATR spectroscopy[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(1): 9–14.