



## 外源一氧化氮对盐胁迫下高粱种子萌发及淀粉转化的影响

尹美强, 王栋, 王金荣, 兰敏, 赵娟, 董淑琦, 宋喜娥, ALAM Sher, 原向阳, 王玉国, 温银元

(山西农业大学农学院 山西太谷 030801)

**摘要:**【目的】探讨外源一氧化氮(NO)对盐胁迫下高粱种子萌发过程的生理生化调节作用,为揭示甜高粱种子的萌发生理及其化学调控提供理论依据。【方法】以晋甜08-1为试材,用NaCl浓度( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )为0、50、100、150、200、300和400的溶液培养高粱种子,通过萌发率确定高粱种子萌发期的耐盐适宜浓度、半致死浓度和极限浓度。用0.05、0.1、0.2、0.4、0.6和0.8  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  硝普钠(SNP, NO供体)在25℃黑暗条件下浸种12 h,以150  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的NaCl模拟盐胁迫,在培养36 h统计发芽势,72 h统计发芽率,在5 d时取样测定脯氨酸、丙二醛含量及淀粉转化相关指标。采用二硝基水杨酸法测定淀粉酶活性和还原性糖,蒽酮法测定可溶性糖和淀粉含量,茚三酮显色法测定脯氨酸含量,硫代巴比妥酸显色法测定丙二醛含量。通过对高粱种子发芽率、发芽势及种子吸水、淀粉酶活性、淀粉及糖含量、脯氨酸等指标进行测定分析,研究外源一氧化氮对盐胁迫下高粱种子萌发及淀粉转化的影响。【结果】NaCl胁迫下高粱种子的萌发受到明显抑制,NaCl浓度大于100  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时高粱种子的萌发率显著降低,150  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl处理时高粱种子的萌发率为63.17%,400  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl完全抑制高粱种子萌发。0.05  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的SNP处理能够缓解盐胁迫对种子萌发的抑制,种子发芽势、发芽率、发芽指数分别比对照高14.44%、12.22%和18.07% ( $P<0.05$ ); SNP处理使高粱种子中脯氨酸和可溶性糖含量分别增加18.97%和41.43%,从而降低渗透势,促进种子吸水,缓解NaCl造成的渗透胁迫,丙二醛含量显著降低,较NaCl单独处理降低了17.79%。SNP处理还能迅速提高盐胁迫下种子淀粉酶活性,在处理后的第1天时就比NaCl处理提高了17.20%,加速淀粉的降解,显著增加可溶性糖和还原性糖含量。在处理的第5天时,SNP+NaCl处理淀粉含量比NaCl处理降低19.17%,可溶性糖和还原性糖的含量分别提高了41.4%和41.0%,差异显著 ( $P<0.05$ ),这为种子萌发提供能量,提高高粱种子萌发期的抗盐性。【结论】外源NO可调节高粱种子萌发期的淀粉酶活性和渗透调节能力,提高其对盐胁迫的抵抗能力,促进种子的萌发。

**关键词:** 高粱; 盐胁迫; 一氧化氮; 种子萌发; 淀粉转化

## Effects of Exogenous Nitric Oxide on Seed Germination and Starch Transformation of Sorghum Seeds Under Salt Stress

YIN MeiQiang, WANG Dong, WANG JinRong, LAN Min, ZHAO Juan, DONG ShuQi, SONG Xi'E,  
ALAM Sher, YUAN XiangYang, WANG YuGuo, WEN YinYuan

(College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, Shanxi)

**Abstract:** 【Objective】To discuss the physiological and biochemical regulation of exogenous Nitric Oxide (NO) on the germination of sorghum seeds under salt stress, which provided a theoretical basis for revealing the germination physiology and chemical regulation of sorghum seeds. 【Method】Sorghum (variety: Jintian 08-1) seeds were cultivated with 0, 50, 100, 150, 200,

收稿日期: 2019-06-10; 接受日期: 2019-08-17

基金项目: 国家“十三五”谷子高粱产业技术体系项目(CARS-06-13.5-A28)、山西农业大学青年拔尖创新人才培养计划(TYIT201406)、山西农谷建设科研专项项目(SXNGJSKYZX201704)

联系方式: 尹美强, E-mail: yinmq999@163.com. 通信作者温银元, wenyinyuan@126.com

300, and 400 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl solution. According to the germination rate under different concentrations of NaCl, the suitable salt tolerance concentration, semi-lethal concentration, and limiting concentration of sorghum seeds at the germination stage were defined. Sorghum seeds pretreated with 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 and 0.8 mmol·L<sup>-1</sup> sodium nitroprusside (SNP, NO donor) for 12 h at 25°C in dark, then were cultured in salt solution of 150 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl. The germination potential and germination rate were counted at cultured 36 h and 72 h, respectively. Proline content, malondialdehyde content and starch transformation related indexes were determined at cultured 5 days. Dinitrosalicylic acid is used in colorimetric determination of reducing sugars and to analyze amylase activity by quantitation of enzymatically released reducing sugar. The content of soluble sugar and starch were determined by anthrone method. Proline content and malondialdehyde (MDA) content were measured by acid-ninhydrin method and thiobarbituric acid method, respectively. The germination rate, germination energy, water absorption capacity of seeds, amylase activity, starch and sugar content, proline and other indexes were determined and analyzed to investigate the effects of exogenous NO on sorghum seed germination and starch transformation under salt stress. 【Result】The germination of sorghum seeds was obviously inhibited by more than 100 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl. When NaCl concentration was 150 mmol·L<sup>-1</sup>, the germination rate of sorghum seeds was 63.17%. 400 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl completely inhibited sorghum seeds germination. Pretreatment with SNP greatly relieves the inhibitory effect of the following salt stress to sorghum seeds germination, especially during the early stage of germination (36 h). 0.05 mmol·L<sup>-1</sup> SNP alleviated the inhibition of salt stress on seed germination, seed germination potential, germination rate and germination index were 14.44%, 12.22% and 18.07% higher than those of the control, respectively ( $P<0.05$ ). SNP increased the content of proline and soluble sugar in sorghum seeds by 18.97% and 41.43% respectively, which reduced osmotic potential, promoted water absorption and alleviated osmotic stress caused by NaCl. At the same time, the content of MDA decreased by 17.79% compared with NaCl treatment alone. Further investigations showed that pretreatment with NO donor dramatically stimulated the activities of amylase under salt stress by 17.20% compared with NaCl on the first day after treatment, and accelerated the degradation of starch, increased the content of reducing sugar. By the 5th day of SNP+NaCl treatment, the starch content decreased by 19.17%, and the content of soluble sugar and reducing sugar increased by 41.4% and 41.0%, respectively, compared to NaCl treatment. These newly produced substances provided energy for seed germination, and improved the salt resistance of sorghum seeds during germination period. 【Conclusion】According to our results, exogenous NO could regulate the amylase activity and osmotic regulation ability of sorghum seeds during germination period, improved their resistance to salt stress, and promoted seed germination.

**Key words:** sorghum; salt stress; nitric oxide; seed germination; starch conversion

## 0 引言

【研究意义】土壤盐碱化是一个世界公认的环境问题,是限制农业生产的主要非生物胁迫因子之一。目前,全球盐渍土壤面积约有 9.55 亿 hm<sup>2</sup>,约占陆地面积的 10%;中国盐碱地面积约为 0.346 亿 hm<sup>2</sup>,且有增加的趋势<sup>[1]</sup>。甜高粱具备高光效、高生物产量和高抗逆性的特点,可在干旱、盐碱和瘠薄的边际土地上种植,被认为是最具开发潜力的粮饲作物和能源植物。但高粱在萌发期和苗期对盐胁迫十分敏感,耐盐性差,导致盐碱地种植高粱出苗差、成苗率低、保苗难,造成缺苗断垄而影响产量。如何提高高粱萌发期和苗期的耐盐性是盐碱地种植高粱首先应解决的关键问题<sup>[2]</sup>。【前人研究进展】盐胁迫抑制高粱种子萌发,出苗率下降,胚根胚芽生长缓慢,且存在品种差异。66 份高粱种质资源中苏丹草类的高粱品种耐盐性较强,而保持系类的高粱材料对盐分较为敏感<sup>[3]</sup>。孙璐等<sup>[4]</sup>以根长、叶重和发芽率等为评价指标,筛选出辽

杂 15 等 5 个萌发期高度抗盐的品种。 $\gamma$ -氨基丁酸、赤霉素、激动素和水杨酸等外源生长调节物质可增加高粱种子保护酶超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和过氧化物酶 (peroxidase, POD) 活性、增加渗透调节物质可溶性糖和可溶性蛋白含量、调节体内离子平衡,显著增加种子的吸水率、发芽率,有效缓解高粱萌发期盐害<sup>[5]</sup>。100 ppmol·L<sup>-1</sup> 赤霉素引发增加高粱种子萌发对盐胁迫 (20 dS·m<sup>-1</sup>) 和水分胁迫 (-0.6 MPa) 的抗性,促进种子萌发和胚根胚芽的伸长<sup>[6]</sup>。NO 参与植物生长发育的许多重要生理过程,并能够提高植物对生物和非生物胁迫的耐受反应,增强萌发期植物抗逆性,促进胁迫条件下种子萌发<sup>[7-10]</sup>。0.1 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 显著提高脯氨酸 (Pro) 含量以及抗氧化酶活性,降低丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量,缓解渗透胁迫引起的氧化损伤,促进渗透胁迫下黄瓜种子的萌发和幼苗生长,从而增强黄瓜幼苗的抗渗透胁迫能力<sup>[11]</sup>。NO 诱导萌发期小麦种子淀粉酶同工酶 I 活性的上升,加速了胚乳的液化和淀粉的降

解，促进小麦种子萌发与胚芽和胚根的伸长<sup>[12]</sup>。王旺田等<sup>[13]</sup>研究表明外源 NO 可促进盐胁迫下甜高粱种子萌发和幼苗生长。【本研究切入点】种子萌发过程中生理生化的变化对萌发有很大的影响，禾谷类种子的淀粉转化最为重要。NO 提高盐胁迫条件下高粱种子发芽势和发芽率，但未见其对高粱萌发过程中生理生化影响的报道，特别是淀粉的转化。【拟解决的关键问题】本研究以不同浓度 SNP 处理高粱种子，分析盐胁迫条件下的发芽势、发芽指数、活力指数等萌发相关指标，确定促进高粱抗盐萌发的最佳 NO 浓度，研究外源 NO 对盐胁迫下高粱种子萌发过程中淀粉、可溶性糖、脯氨酸等物质的变化，探讨 NO 提高高粱萌发期抗盐性的生理机制，为揭示甜高粱种子的萌发生理及其化学调控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试的高粱品种为晋甜 08-1，由山西省农业科学院高粱研究所提供。

1.2 试验方法

取籽粒饱满大小均匀且无病虫害的种子，经 0.1% HgCl<sub>2</sub> 消毒 10 min，置于直径为 9 cm 铺有滤纸的培养皿中培养。每皿加 10 mL 不同浓度的 NaCl 溶液（0、50、100、150、200、300 和 400mmol·L<sup>-1</sup>）进行耐盐性鉴定。

硝普钠（sodium nitroprusside，SNP）浓度筛选：消毒后的种子用蒸馏水（CK）、0.05、0.1、0.2、0.4、0.6 和 0.8 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 在 25℃ 黑暗条件下浸种 12 h，蒸馏水浸种的种子一部分加蒸馏水作为对照（CK），另一部分用 150 mmol·L<sup>-1</sup>NaCl 进行处理（NaCl）；SNP 浸种的种子用含 150 mmol·L<sup>-1</sup>NaCl 进行处理（SNP+NaCl），如表 1。各处理放在 25℃ 恒温箱中培养，每 12 h 记录一次发芽数（以胚根突破种皮 0.5 cm 为发芽标准），连续 3 次记录发芽数无变化视为发芽结束。发芽结束后把胚根和胚芽分开，测量长度并称重。发芽势以处理 36 h 发芽百分比表示，处理 72 h 统计发芽率，计算种子发芽指数、活力指数。

生理指标测定试验：消毒后的种子用蒸馏水（CK）、0.05 mmol·L<sup>-1</sup>SNP 在 25℃ 黑暗条件下浸种 12 h 后，置于直径为 9 cm 铺有滤纸的培养皿中进行不同处理，包括对照（CK，蒸馏水浸种后加蒸馏水培养）、NaCl（蒸馏水浸种后加 150 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl 溶液培养）、SNP（0.05 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 浸种后加蒸馏水培养）、SNP+NaCl（0.05 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 浸种后加 150mmol·L<sup>-1</sup>

NaCl 溶液培养）。培养后连续 5 d 取样用于分析淀粉的转化（淀粉酶、淀粉、可溶性糖、还原性糖），第 5 天取样测定脯氨酸、可溶性糖、丙二醛等生理指标。

表 1 试验处理

Table 1 Experimental treatments

处理 Treatment	NaCl 浓度 NaCl concentration (mmol·L <sup>-1</sup> )	SNP 浓度 SNP concentration (mmol·L <sup>-1</sup> )
CK	0	0
S <sub>0</sub>	150	0
S <sub>1</sub>	150	0.05
S <sub>2</sub>	150	0.1
S <sub>3</sub>	150	0.2
S <sub>4</sub>	150	0.4
S <sub>5</sub>	150	0.6
S <sub>6</sub>	150	0.8

1.3 种子发芽指标的测定

发芽率（Gr）=n/N×100%（n：发芽数；N：种子总数）

发芽势（Ge）=n/N×100%（n：第 36 h 发芽数；N：种子总数）

发芽指数（Gi）=ΣGt/Dt（Gt：在时间 t 的发芽数；Dt：相应的发芽天数）

活力指数（Vi）=S·ΣGt/Dt（S：幼苗生长势（胚根和胚芽的平均鲜重））

耐盐适宜浓度（mmol·L<sup>-1</sup>）范围：发芽率达到 CK 发芽率 75%以上时相对应的盐溶液浓度范围；

耐盐半致死浓度（mmol·L<sup>-1</sup>）：发芽率达到 CK 发芽率 50%时相对应的盐溶液浓度；

耐盐极限浓度（mmol·L<sup>-1</sup>）：发芽率达到 CK 发芽率 10%时相对应的盐溶液浓度。

1.4 种子含水量和吸水速率的测定

种子含水量和吸水速率测定按贺慧等<sup>[14]</sup>的方法，在培养 6、12 和 24 h 后，用蒸馏水快速冲洗干净，擦干后称鲜重（A<sub>i</sub>）。将种子迅速放入 105℃ 烘箱中烘烤 10 min，杀青，然后 70℃ 烘干至恒重，即干重（A<sub>0</sub>）。含水量按（A<sub>i</sub>-A<sub>0</sub>）/A<sub>i</sub>×100% 计算。每 50 粒种子为 1 个重复，10 个重复。吸水速率按下列公式计算：

吸水系数：R<sub>i</sub>=（A<sub>i</sub>-A<sub>0</sub>）/A<sub>0</sub>；吸水速率：V<sub>i,i+1</sub>=（R<sub>i+1</sub>-R<sub>i</sub>）/t

式中，A<sub>0</sub> 为种子干重；A<sub>i</sub> 为种子鲜重；R<sub>i</sub> 为吸水系数，其单位为每克种子吸水毫克数；R<sub>i</sub> 和 R<sub>i+1</sub> 分别为两相

邻测时的吸水系数;  $t$  为间隔时间 (min);  $V_{i,i+1}$  为两相邻测时内的吸水速率, 其单位为每克种子 (干重) 每分钟吸水的毫克数。

### 1.5 淀粉酶活性及相关碳水化合物含量测定

采用二硝基水杨酸测定还原糖方法测定淀粉酶活性<sup>[15]</sup>, 酶活力定义为 40℃、pH 5.6 条件下, 每分钟催化底物释放 1 mg 葡萄糖的量为 1 个酶活力单位 (U)。还原性糖、可溶性糖和淀粉含量分别按照 3,5-二硝基水杨酸法<sup>[15]</sup>与蒽酮法<sup>[16]</sup>测定。

### 1.6 脯氨酸和丙二醛含量的测定

采用茚三酮显色法测定脯氨酸含量, 采用硫代巴比妥酸 (thiobarbituric acid, TAB) 显色法测定丙二醛含量<sup>[16]</sup>。

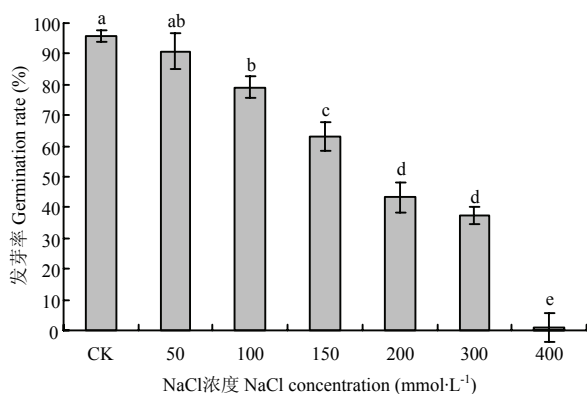
### 1.7 统计方法

采用 Microsoft Excel 软件进行绘图, 用 DPS8.01 统计软件处理分析数据, 用 Duncan's 新复极差法进行多重比较。

## 2 结果

### 2.1 NaCl 胁迫对高粱种子萌发的影响

高粱种子的发芽率随着盐浓度的提高而下降 (图 1), 50 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl 对高粱种子的萌发抑制不显著, NaCl 浓度大于 100 mmol·L<sup>-1</sup> 时, 高粱种子的萌发率显著降低, 150 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl 处理时, 高粱种子的萌发率为 63.17%, NaCl 浓度为 300 mmol·L<sup>-1</sup> 时, 萌发率为 37.5%, 400 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl 则完全抑制高粱种子萌



不同字母表示浓度间差异性达 5% 显著水平。下同  
Different letters indicate significant difference at 5% level. The same as below

图 1 NaCl 胁迫对高粱种子发芽率的影响

Fig. 1 Effects of salt stress on the germination rate of sorghum seeds

发。利用种子相对萌发率 (NaCl 处理的发芽率/CK 的发芽率) 和 NaCl 浓度之间的关系得出回归方程为  $Y=406.81-377.67X$  ( $R^2=0.9637$ ,  $Y$  为 NaCl 浓度,  $X$  为相对萌发率), 由方程可得, 高粱萌发期耐盐适宜浓度范围为  $\leq 123.56$  mmol·L<sup>-1</sup>, 耐盐半致死浓度为 218.00 mmol·L<sup>-1</sup>, 耐盐极限浓度为 369.04 mmol·L<sup>-1</sup>。根据盐胁迫下种子萌发期的耐盐适宜范围、耐盐半致死浓度和耐盐极限浓度, 确定盐胁迫 (NaCl) 处理浓度为 150 mmol·L<sup>-1</sup>。

### 2.2 不同浓度外源 NO 对 NaCl 胁迫下高粱种子萌发的影响

NaCl 胁迫下高粱种子萌发明显受到抑制, 种子发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数明显低于对照 (表 2)。0.05—0.2 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 浸种处理可明显促进 NaCl 胁迫下高粱种子萌发, 其中 SNP 浓度为 0.05 mmol·L<sup>-1</sup> 时促进效果最好, 种子发芽势比 NaCl 单独处理高 14.44% ( $P<0.05$ ), 发芽率高 12.22% ( $P>0.05$ ), 发芽指数高 18.07% ( $P<0.05$ ); 随着 SNP 浓度的增加, 种子发芽势、发芽率和发芽指数均有不同程度的降低, 当 SNP 浓度达到 0.4 mmol·L<sup>-1</sup> 时, 发芽各指标均低于 NaCl 单独处理。说明高浓度 SNP ( $>0.4$  mmol·L<sup>-1</sup>) 对 NaCl 胁迫下高粱种子萌发有抑制作用, 低浓度 (0.05 mmol·L<sup>-1</sup>) SNP 浸种处理能显著缓解 NaCl 胁迫对高粱种子萌发的抑制作用, 显著提高早期的种子发芽 (发芽势), 但对后期的发芽率无显著影响。因此选用 0.05 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 作为种子萌发试验的处理浓度。

### 2.3 外源 NO 对 NaCl 胁迫下高粱种子吸胀的影响

用 4 种不同溶液浸种 24 h 后, 150 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl 处理显著降低了高粱种子的含水量, 比对照降低了 20.21% ( $P<0.05$ ) (图 2-A)。NaCl 胁迫添加外源 NO 后, 0.05 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 处理能够显著提高高粱种子的含水量, 比 NaCl 处理提高 7.47% ( $P<0.05$ )。与对照相比, 无胁迫下添加外源 NO 后, 高粱种子的含水量也有所提高, 比对照提高了 2.15% ( $P>0.05$ )。此外, NaCl 处理能够明显抑制高粱种子的吸水, 在浸种前 6 h 内, 吸水速率比对照降低了 22.30% ( $P<0.05$ ), 添加外源 NO 后, 种子的吸水速率提高了 16.83% ( $P<0.05$ )。种子的萌发是由其本身的内部遗传特性及外界的环境因素决定的, 而影响成熟种子萌发最主要的外部因素是水分亏缺。研究表明, 外源 NO 供体 SNP 可以促进盐胁迫下种子的吸胀, 提高种子的含水量, 为种子的萌发提供先决条件。

表 2 外源 NO 对 NaCl 胁迫高粱种子萌发的影响

Table 2 Effects of exogenous nitric oxide on sorghum seeds germination under NaCl stress

处理	发芽势	发芽率	发芽指数	活力指数
Treatment	Germination energy (%)	Germination rate (%)	Germination index	Vigor index
CK	88.89±5.09a	90.00±5.77a	15.32±1.16a	0.83±0.08a
NaCl	65.56±1.92c	72.22±3.85bcd	9.35±0.18c	0.18±0.02cd
0.05 mmol·L <sup>-1</sup> SNP+NaCl	80.00±5.77b	84.44±9.62ab	11.04±1.01b	0.31±0.03b
0.1 mmol·L <sup>-1</sup> SNP+NaCl	70.00±3.33c	78.89±8.39abc	9.64±0.42c	0.19±0.02c
0.2 mmol·L <sup>-1</sup> SNP+NaCl	68.89±8.39c	78.89±9.62abc	8.61±0.58cd	0.16±0.01cd
0.4 mmol·L <sup>-1</sup> SNP+NaCl	63.33±3.33cd	67.78±8.39cd	7.66±1.11de	0.12±0.03de
0.6 mmol·L <sup>-1</sup> SNP+NaCl	55.56±3.85de	64.44±6.94d	7.16±0.38e	0.09±0.01e
0.8 mmol·L <sup>-1</sup> SNP+NaCl	53.33±3.33e	63.33±3.33d	6.61±0.76e	0.07±0.01e

同列数值不同字母表示差异性达 5 % 显著水平。下同  
Different letters within the same column indicate significant difference at 5 % level. The same as below

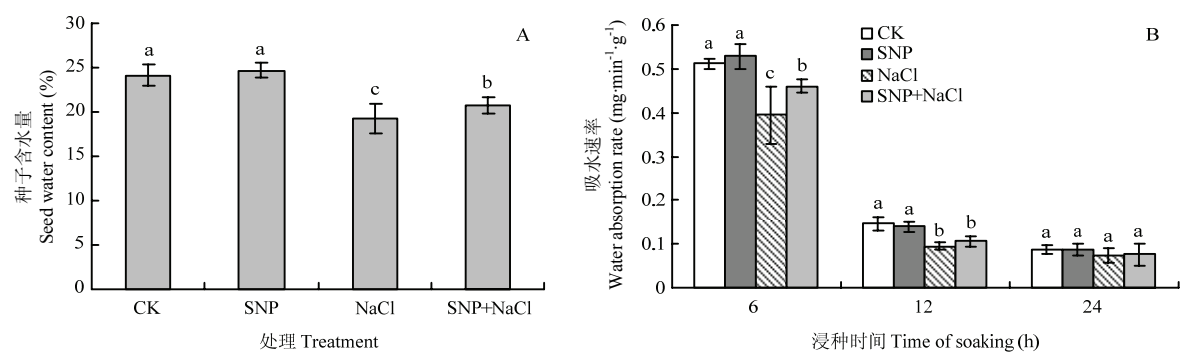


图 2 外源 NO 对高粱种子含水量 (A, 处理 24 h) 和吸水速率 (B) 的影响

Fig. 2 Effects of exogenous nitric oxide on the water content (A) and water absorption rate (B) of sorghum seeds after soaking for 24 h

2. 4 外源 NO 对 NaCl 胁迫下高粱种子脯氨酸和可溶性糖含量的影响

无胁迫条件下,添加外源 NO 对高粱种子中脯氨酸积累的影响不显著;150 mmol·L<sup>-1</sup>NaCl 胁迫处理明显促进了高粱种子中脯氨酸的积累,比对照提高 141.91%,二者差异显著 ( $P<0.05$ ) (图 3)。NaCl 胁迫下 0.05 mmol·L<sup>-1</sup>SNP 处理能提高高粱种子中脯氨酸含量,比 NaCl 胁迫提高了 18.97%,差异显著 ( $P<0.05$ )。

与对照相比,无胁迫条件下外源 NO 处理后高粱种子中可溶性糖的含量提高 13.27%,差异显著 ( $P<0.05$ ) (图 4)。NaCl 胁迫下,高粱种子中可溶性糖的含量显著降低,比对照降低了 134.58%。添加外源 NO 后,0.05 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 处理明显提高 NaCl 胁迫下高粱种子中可溶性糖的含量,比 NaCl 胁迫提高了 41.43%。由此可见,外源 NO 供体 SNP 能够提高盐胁迫下高粱种子中脯氨酸、可溶性糖等渗透调节物质的

含量,降低种子渗透势,提高萌发期种子吸水能力,促进种子萌发。

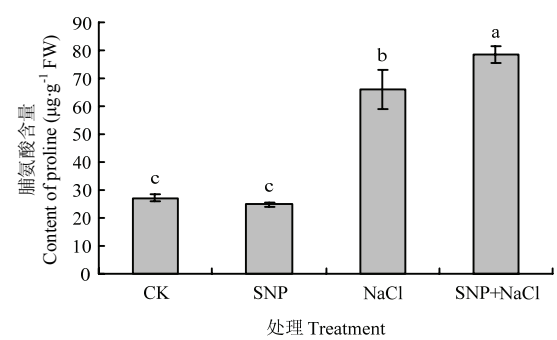


图 3 外源 NO 对 NaCl 胁迫下高粱种子脯氨酸含量的影响

Fig. 3 Effects of exogenous nitric oxide on the proline content of sorghum seeds under salt stress

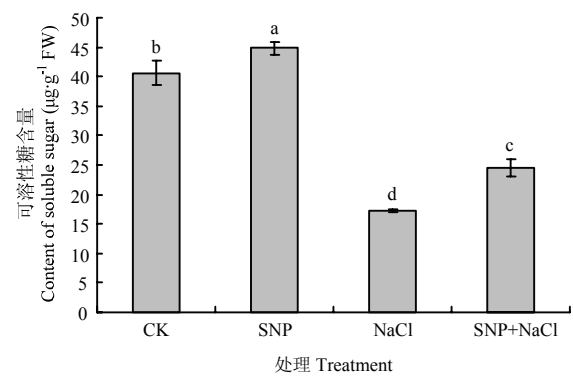


图 4 外源 NO 对 NaCl 胁迫下高粱种子可溶性糖含量的影响  
Fig. 4 Effects of exogenous nitric oxide on the soluble sugar content of sorghum seeds under salt stress

2. 5 外源 NO 对 NaCl 胁迫下高粱种子萌发过程中淀粉的降解与淀粉酶活性的影响

高粱种子萌发过程中, 淀粉酶活性增加(图 5-D), 促进淀粉降解(图 5-A), 转化为小分子的糖, 使可

溶性糖和还原性糖含量增加(图 5-B 和图 5-C)。150 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl 处理降低了高粱种子中淀粉酶的活性, 且在萌发 1—5 d 中均显著低于 CK ( $P<0.05$ ), 抑制淀粉的降解和可溶性糖、还原性糖的积累。0.05 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 能够缓解 NaCl 胁迫对高粱种子淀粉酶活性的抑制作用, 不同程度地提高萌发过程中淀粉酶的活性, 在处理第 1 天就比 NaCl 处理提高了 17.20%, 差异达显著水平 ( $P<0.05$ ), 随着时间的延长, 差异逐渐缩小, 但仍显著高于 NaCl 处理; 淀粉酶活性提高的同时, 加速了淀粉降解, 促进可溶性糖和还原性糖含量增加, 在处理的第 5 天时, SNP+NaCl 处理淀粉含量比 NaCl 处理降低 19.17%, 可溶性糖和还原性糖的含量分别提高了 41.4%和 41.0%, 差异显著 ( $P<0.05$ )。由此可见, 外源 NO 能够提高盐胁迫下高粱种子淀粉酶活性, 促进淀粉的降解, 提高可溶性糖、还原性糖的含量。

2. 6 外源 NO 对 NaCl 胁迫下高粱种子丙二醛 (MDA) 含量的影响

NaCl 胁迫下高粱种子 MDA 含量显著增加, 比对

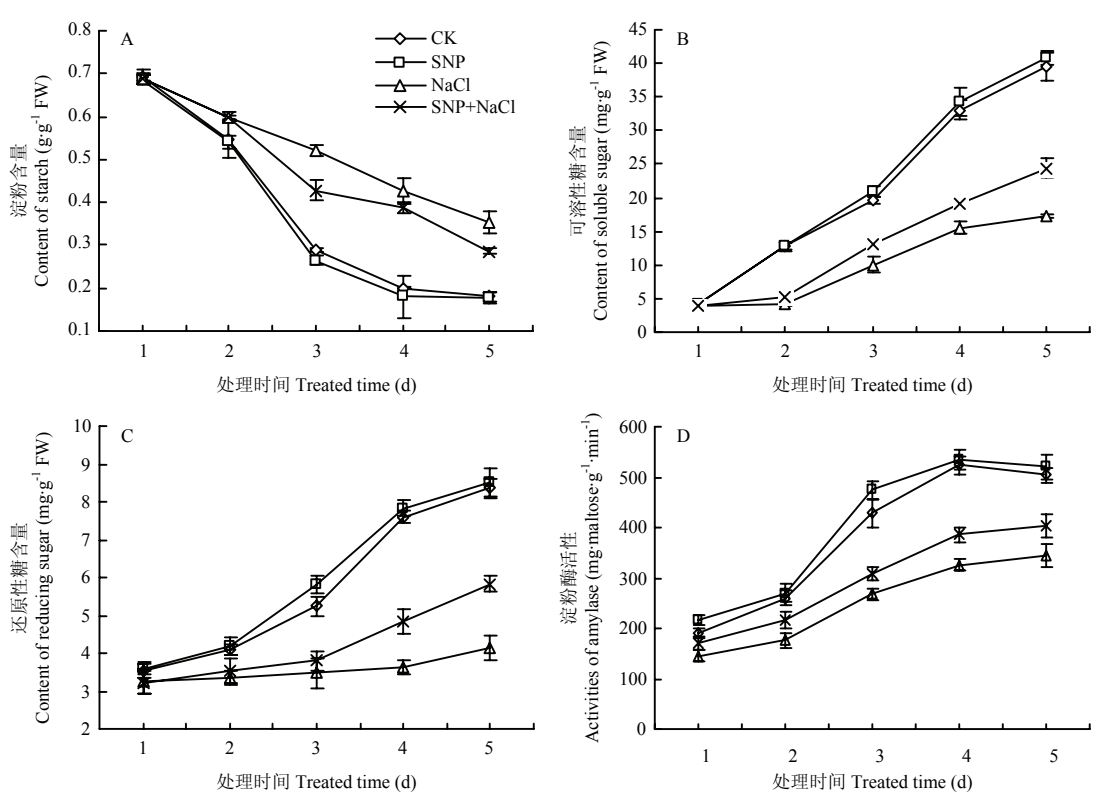


图 5 外源 NO 对 NaCl 胁迫下种子萌发过程中淀粉 (A)、可溶性糖 (B)、还原性糖 (C) 及淀粉酶活性 (D) 的影响  
Fig. 5 Effects of exogenous nitric oxide on the contents of starch(A), soluble sugar(B), reducing sugar(C) and the activities of amylase(D)in germinating sorghum seeds under salt stress



照提高了 19.85%; NaCl+SNP 处理时, 高粱种子中 MDA 的含量显著降低, 较 NaCl 单独处理降低了 17.79%; 无胁迫条件下添加外源 NO 高粱种子 MDA 的含量无显著影响(图 6)。表明外源 NO 能够缓解 NaCl 胁迫对高粱种子萌发造成的膜脂过氧化。

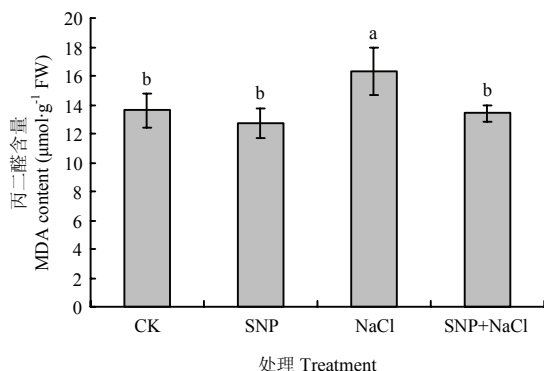


图 6 外源 NO 对 NaCl 胁迫下高粱种子丙二醛含量的影响

Fig. 6 Effects of exogenous nitric oxide on the MDA content of sorghum seeds under salt stress

### 3 讨论

#### 3.1 NO 促进 NaCl 胁迫下高粱种子的萌发

种子萌发是植物生长过程中的起始阶段, 是植物生长的重要阶段, 是保证出苗的前提。盐胁迫对种子萌发影响的大量研究表明, 低浓度盐分对种子萌发有促进作用, 随盐分浓度的升高, 种子发芽率、发芽指数和活力指数减小, 盐浓度过高就会抑制种子萌发<sup>[4-5]</sup>。NO 作为一种植物生长调节信号分子, 广泛参与植物各种生理过程的调节, 可促进植物种子的萌发。高粱、大豆等种子在萌发早期存在有内源 NO 进发的现象<sup>[17-19]</sup>, 外源 NO 浸种处理可促进玉米、黄瓜、豌豆种子萌发, 提高盐胁迫下的发芽率和发芽指数<sup>[20]</sup>。本研究中, 0.05—0.2 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 浸种处理可明显促进 NaCl 胁迫下高粱种子萌发, 表现为种子发芽势、发芽率、发芽指数均显著增加, 表明 NO 参与萌发期高粱种子对盐胁迫的应答, 提高其抗盐性, 促进种子萌发。

#### 3.2 NO 促进 NaCl 胁迫下高粱种子渗透物质积累

水分亏缺是限制种子萌发的最主要的外部因素, 尤其是禾谷类种子的吸水膨胀是其萌发的前提。在盐胁迫下, 由于植物细胞外的水势低于胞内, 细胞不仅

不能吸收水分, 而且内部水分会向外倒流, 细胞发生水分亏缺现象, 从而造成生理干旱。

盐胁迫对种子萌发的影响主要是渗透胁迫、离子毒害和氧化损伤。离子毒害包括对功能大分子(酶)结构破坏, 细胞器和膜系统的损伤, 呼吸、物质转化等代谢的紊乱<sup>[21]</sup>。高浓度盐胁迫造成棉籽发芽率低的原因主要是外界溶液渗透压过高导致种子吸水不足<sup>[22]</sup>。萌发期种子内脯氨酸含量及其合成相关基因 *P5CSA* 表达量的增加, 有利于盐胁迫下油菜种子的萌发<sup>[23]</sup>。本研究中, 0.05 mmol·L<sup>-1</sup> SNP 浸种处理显著增加渗透调节物质脯氨酸和可溶性糖含量, 维持 NaCl 胁迫下高粱萌发种子中渗透平衡, 保持功能大分子结构的稳定性, 增强其抗氧化胁迫能力, 抑制膜脂过氧化发生<sup>[24-25]</sup>, MDA 含量降低, 保持膜系统的完整性, 从而增加其对水分的吸收和保持能力, 吸水速率和种胚含水量增加, 为盐胁迫下高粱种子萌发的启动和胚根胚芽的伸长提供充足的水分供应。张华等<sup>[26]</sup>也报道了外源 NO 能明显促进水分进入渗透胁迫下的种子, 保持种子具有较高的发芽潜力, 从而促进其萌发。NO 能使需光种子(莴笋)在黑暗条件下萌发<sup>[27]</sup>, 提高盐胁迫下水稻种子的发芽率和发芽指数<sup>[28]</sup>, 增加水稻<sup>[29]</sup>、小麦<sup>[30]</sup>幼苗叶绿素含量和光系统 II 的量子产额, 降低丙二醛的积累, 离子渗漏减少, 促进脯氨酸的积累, 从而减轻了盐胁迫对幼苗的氧化伤害。这些研究结果进一步说明 NO 可增加盐胁迫下的渗透调节能力, 抑制膜脂过氧化作用, 促进其对水分的吸收, 促进盐胁迫下种子的萌发。

#### 3.3 NO 增加 NaCl 胁迫下高粱种子淀粉酶活性

种子萌发时物质的转化包括分解、运输和重建等, 是一个需要大量能量的过程。在胚未形成幼苗, 不能进行光合作用之前, 萌发过程中所需要的物质和能量完全来自贮存物质的氧化分解。高粱是淀粉型种子, 其贮存物质的降解需要淀粉酶参与。外源 cGMP 促进淀粉水解, 提高可溶性糖、可溶性蛋白及脯氨酸含量, 缓解盐胁迫对黑麦草种子的伤害而加速萌发<sup>[31]</sup>。SNAP (NO 供体) 可调节鹰嘴豆萌发过程中碳水化合物代谢相关酶(6-磷酸果糖激酶、丙糖激酶、蔗糖合酶、α-淀粉酶等) 基因表达, 其中 α-淀粉酶在 SNAP 处理后 30 min 时表达量增加 750 倍, 蔗糖、半乳糖等还原性糖含量增加, 加速种子萌发<sup>[32]</sup>。本研究中, 外源 NO 可诱导种子淀粉酶活性的上升, 且能缓解盐胁迫对高粱种子淀粉酶活性的抑制, 在处理第 1 天时 NaCl+SNP 的淀粉酶活性比 NaCl 处理提高了 17.20%,

同时伴随有淀粉的降解、可溶性糖和还原性糖含量的上升,既可作为渗透调节剂,维持盐胁迫下细胞的渗透平衡,保持细胞质中多种酶的活性,也可用于合成其它大分子物质的碳骨架和能量的来源<sup>[33]</sup>。研究结果与张华等<sup>[26]</sup>的结果一致,NO 可诱导萌发期种子淀粉酶活性的上升,加速胚乳的液化和淀粉的降解,从而有利于贮藏物质的动员及胚芽胚根的伸长<sup>[12,34]</sup>,为盐胁迫下高粱种子的萌发提供物质和能量供应<sup>[24]</sup>,促进种子萌发。

## 4 结 论

盐胁迫通过抑制种子对水分的吸收、诱发膜脂过氧化、抑制贮藏物质降解及渗透胁迫等抑制高粱种子萌发。外源 NO 可促进高粱种子萌发中脯氨酸、可溶性糖的积累,提高了种子的吸水能力;NO 可增强盐胁迫下水解酶(包括淀粉酶)活性,促进淀粉的降解,提高种子中可溶性糖和还原性糖的浓度,为种子萌发过程中胚根胚芽的生长提供物质和能量,促进盐胁迫下高粱种子的萌发。

## References

- [1] 王春裕. 论盐渍土之种稻生态改良. 土壤通报, 2002, 33(2): 94-95.  
WANG C Y. The discussion on ecological amelioration of salt-effected soil under growing rice condition. *Chinese Journal of Soil Science*, 2002, 33(2): 94-95. (in Chinese)
- [2] 马金虎, 王宏富, 王玉国, 李新基, 韦献果. 种子引发对高粱幼苗耐盐性的生理效应. 中国农业科学, 2009, 42(10): 3713-3719.  
MA J H, WANG H F, WANG Y G, LI X J, WEI X G. Physiological effects of seed priming on salt resistance of sorghum seedlings. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(10): 3713-3719. (in Chinese)
- [3] 高建明, 夏卜贤, 袁庆华, 罗峰, 韩芸, 桂枝, 裴忠有, 孙守钧. 高粱种质材料幼苗期耐盐碱性评价. 应用生态学报, 2012, 23(5): 1303-1310.  
GAO J M, XIA B X, YUAN Q H, LUO F, HAN Y, GUI Z, PEI Z Y, SUN S J. Salt-alkaline tolerance of sorghum germplasm at seedling stage. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(5): 1303-1310. (in Chinese)
- [4] 孙璐, 周宇飞, 汪澈, 肖木辑, 陶冶, 许文娟, 黄瑞冬. 高粱品种萌发期耐盐性筛选与鉴定. 中国农业科学, 2012, 45(9): 1714-1722.  
SUN L, ZHOU Y F, WANG C, XIAO M J, TAO Y, XU W J, HUANG R D. Screening and identification of sorghum cultivars for salinity tolerance during germination. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(9): 1714-1722. (in Chinese)
- [5] 朱广龙, 宋成钰, 于林林, 陈许兵, 智文芳, 刘家玮, 焦秀荣, 周桂生. 外源生长调节物质对甜高粱种子萌发过程中盐分胁迫的缓解效应及其生理机制. 作物学报, 2018, 44(11): 1713-1724.  
ZHU G L, SONG C Y, YU L L, CHEN X B, ZHI W F, LIU J W, JIAO X R, ZHOU G S. Alleviation effects of exogenous growth regulators on seed germination of sweet sorghum under salt stress and its physiological basis. *Acta Agronomica Sinica*, 2018, 44(11): 1713-1724. (in Chinese)
- [6] PINHEIRO C L, ARAÚJO H T N, de BRITO S F, MAIA M da S, VIANA J da S, FILHO S M. Seed priming and tolerance to salt and water stress in divergent grain sorghum genotypes. *American Journal of Plant Sciences*, 2018, 9(4): 606-616.
- [7] 邵瑞鑫, 李蕾蕾, 郑会芳, 信龙飞, 苏小雨, 冉午玲, 杨青华. 外源一氧化氮对干旱胁迫下玉米幼苗光合作用的影响. 中国农业科学, 2016, 49(2): 251-259.  
SHAO R X, LI L L, ZHENG H F, XIN L F, SU X Y, RAN W L, YANG Q H. Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis of maize seedlings under drought stress. *Scientia Agricultura Sinica*, 2016, 49(2): 251-259. (in Chinese)
- [8] 杨美森, 王雅芳, 干秀霞, 罗宏海, 张亚黎, 张旺锋. 外源一氧化氮对冷害胁迫下棉花幼苗生长、抗氧化系统和光合特性的影响. 中国农业科学, 2012, 45(15): 3058-3067.  
YANG M S, WANG Y F, GAN X X, LUO H H, ZHANG Y L, ZHANG W F. Effects of exogenous nitric oxide on growth, antioxidant system and photosynthetic characteristics in seedling of cotton cultivar under chilling injury stress. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(15): 3058-3067. (in Chinese)
- [9] 孟威, 文景芝, 吴茂森, 何晨阳. 两种黄单胞病菌诱导水稻一氧化氮产生和防卫基因表达的比较研究. 中国农业科学, 2007, 40(6): 1159-1165.  
MENG W, WEN J Z, WU M S, HE C Y. Comparative analysis of nitric oxide generation and induction of defense gene expression by *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria* and *X. Oryzae* pv. *Oryzae* of rice suspension-cultured cells. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(6): 1159-1165. (in Chinese)
- [10] ZHAO X F, CHEN L, MUHAMMAD I A R, WANG Q S, WANG S H, HOU P F, LI G H, DING Y F. Effect of nitric oxide on alleviating cadmium toxicity in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Integrative Agriculture*, 2013, 12(9): 1540-1550.
- [11] 汤绍虎, 周启贵, 孙敏, 毛薇. 外源 NO 对渗透胁迫下黄瓜种子萌发、幼苗生长和生理特性的影响. 中国农业科学, 2007, 40(2): 419-425.



- TANG S H, ZHOU Q G, SUN M, MAO W. Effects of exogenous nitric oxide on seed germination, seedling growth and physiological characteristics of cucumber under osmotic pressure. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(2): 419-425. (in Chinese)
- [12] ZHANG H, SHEN W B, XU L L. Effect of nitric oxide on the germination of wheat seeds and its reactive oxygen species metabolism under osmotic stress. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2003, 45(8): 901-905.
- [13] 王旺田, 谢光辉, 刘文瑜, 王宝强, 郑凯翔, 魏晋梅. 外源 NO 对盐胁迫下甜高粱种子萌发和幼苗生长的影响. *核农学报*, 2019, 33(2): 363-371.
- WANG W T, XIE G H, LIU W Y, WANG B Q, ZHENG K X, WEI J M. Effect of exogenous nitric oxide on seed germination and seedling growth of sorghum under salt stress. *Journal of Nuricultural Sciences*, 2019, 33(2): 363-371. (in Chinese)
- [14] 贺慧, 燕玲, 郑彬. 5 种荒漠植物种子萌发特性及其吸水特性的研究. *干旱区资源与环境*, 2008, 22(1): 184-188.
- HE H, YAN L, ZHENG B. Study on morphological structure and germination character of five desert plants. *Journal of Arid Land Resources and Environment*, 2008, 22(1): 184-188. (in Chinese)
- [15] 王晶英, 敖红, 张杰, 曲桂琴. 植物生理生化实验技术与原理. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2003: 35-38.
- WANG J Y, AO H, ZHANG J, QU G Q. *Experimental Techniques and Principles of Plant Physiology and Biochemistry*. Harbin: Northeast Forestry University Press, 2003: 35-38. (in Chinese)
- [16] 李合生. 植物生理生化实验技术. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- LI H S. *Experimental Techniques of Plant Physiology and Biochemistry*. Beijing: Higher Education Press, 2000. (in Chinese)
- [17] CARO A, PUNTARULO S. Nitric oxide generation by soybean embryonic axes: Possible effect on mitochondrial function. *Free Radical Research*, 1999, 31(sup1): 205-212.
- [18] SIMONTACCHI M, JASID S, PUNTARULO S. Nitric oxide generation during early germination of sorghum seeds. *Plant Science*, 2004, 167(4): 839-847.
- [19] DEMECSOVÁ L, BOČOVÁ B, ZELINOVÁ V, TAMÁS L. Enhanced nitric oxide generation mitigates cadmium toxicity via superoxide scavenging leading to the formation of peroxynitrite in barley root tip. *Journal of Plant Physiology*, 2019, 238(16): 20-28.
- [20] 周永斌, 殷有, 苏宝玲, 陈志坚, 刘立伟. 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. *植物生理学通讯*, 2005, 41(3): 316-318.
- ZHOU Y B, YIN Y, SU B L, CHEN Z J, LIU L W. Effects of exogenous nitric oxide donor on seed germination and seedling growth of several plant species. *Plant Physiology Journal*, 2005, 41(3): 316-318. (in Chinese)
- [21] IBRAHIM E A. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. *Journal of Plant Physiology*, 2016, 192(3): 38-46.
- [22] 谢德意, 王惠萍, 王付欣, 冯复全. 盐胁迫对棉花种子萌发及幼苗生长的影响. *种子*, 2000, 27(3): 12-13.
- XIE D Y, WANG H P, WANG F X, FENG F Q. Effects of cotton seeds germination and seeds growth under salt stress. *Seed*, 2000, 27(3): 12-13. (in Chinese)
- [23] KUBALA S, WOJTYLA L, QUINET M, LECHOWSKA K, LUTTS S, GARNCZARSKA M. Enhanced expression of the proline synthesis gene in relation to seed osmopriming improvement of *Brassica napus* germination under salinity stress. *Journal of Plant Physiology*, 2015, 183(1): 1-12.
- [24] 张福锁. 环境胁迫与植物营养. 北京: 北京大学出版社, 1993: 25-48.
- ZHANG F S. *Environmental Stress and Plant Nutrition*. Beijing: Peking University Press, 1993: 25-48. (in Chinese)
- [25] SAMI F, YUSUF M, FAIZAN M, FARAZ A, HAYAT S. Role of sugars under abiotic stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2016, 109(12): 54-61.
- [26] 张华, 孙永刚, 张帆, 聂理, 沈文飏, 徐朗莱. 外源一氧化氮供体对渗透胁迫下小麦种子萌发和水解酶活性的影响. *植物生理与分子生物学学报*, 2005, 31(3): 241-246.
- ZHANG H, SUN Y G, ZHANG F, NIE L, SHEN W B, XU L L. Effects of exogenous nitric oxide donor on germination and activities of hydrolytic enzymes in wheat seed under osmotic stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2005, 31(3): 241-246. (in Chinese)
- [27] BELIGNI M V, LAMATTINA L. Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation and inhibits hypocotyls elongation, three light inducible responses in plants. *Planta*, 2000, 210(2): 215-221.
- [28] 凌腾芳, 宣伟, 樊颖瑞, 孙永刚, 徐晟, 黄本开, 黄思睿, 沈文飏. 外源葡萄糖、果糖和 NO 供体(SNP)对盐胁迫下水稻种子萌发的影响. *植物生理与分子生物学报*, 2005(2): 205-212.
- LING T F, XUAN W, FAN Y R, SUN Y G, XU S, HUANG B K, HANG S R, SHEN W B. The effect of exogenous glucose, fructose and no donor sodium nitroprusside (snp) on rice seed germination under salt stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*,

- 2005(2): 205-212. (in Chinese)
- [29] UCHIDA A, JAGENDORF AT, HIBINO T, TAKABE T, TAKABE T. Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. *Plant Science*, 2002, 163(3): 515-523.
- [30] 阮海华, 沈文飏, 叶茂炳, 徐朗莱. 一氧化氮对盐胁迫下小麦叶片氧化损伤的保护效应. *科学通报*, 2001(23): 1993-1997.
- RUAN H H, SHEN W B, YE M B, XU L L. Protective effect of no on oxidative damage of wheat leaves under salt stress. *Chinese Science Bulletin*, 2001(23): 1993-1997. (in Chinese)
- [31] 宿梅飞, 魏小红, 辛夏青, 岳凯, 赵颖, 韩厅, 马文静, 骆巧娟. 外源 cGMP 调控盐胁迫下黑麦草种子萌发机制. *生态学报*, 2018, 38(17): 6171-6179.
- SU M F, WEI X H, XIN X Q, YUE K, ZHAO Y, HAN T, MA W J, LUO Q J. Exogenous cGMP regulates seed germination of ryegrass under salt stress. *Acta Ecologica Sinica*, 2018, 38(17): 6171-6179. (in Chinese)
- [32] JASID S, SIMONTACCHI M, PUNTARULO S. Exposure to nitric oxide protects against oxidative damage but increases the labile iron pool in sorghum embryonic axes. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(14): 3953-3962.
- [33] 陈少良, 李金克, 毕望富, 王沙生. 盐胁迫条件下杨树盐分与甜菜碱及糖类物质变化. *植物学通报*, 2001(5): 587-596.
- CHEN S L, LI J K, BI W F, WANG S S. Genotypic variation in accumulation of salt ions, betaine and sugars in poplar under conditions of salt stress. *Chinese Bulletin of Botany*, 2001(5): 587-596. (in Chinese)
- [34] HU K D, HU L Y, LI Y H, ZHANG F Q, ZHANG H. Protective roles of nitric oxide on germination and antioxidant metabolism in wheat seeds under copper stress. *Plant Growth Regulation*, 2007, 53(3): 173-183.

(责任编辑 李莉)