

# NO 和 ABA 对辣椒幼苗自毒作用缓解的生理生化机制

张国斌, 郁继华\*, 冯致, 马彦霞, 吕剑

(甘肃农业大学农学院, 兰州 730070)

**摘要:** 为探究 NO 和 ABA 对辣椒幼苗自毒作用缓解的生理生化机制, 以蛭石珍珠岩混合基质栽培的辣椒‘陇椒 2 号’幼苗为材料, 用连作 3 年辣椒的土壤和基质浸提液浇灌幼苗, 研究喷施外源 SNP (NO 供体,  $150 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和 ABA ( $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 对自毒作用下辣椒幼苗叶片的抗氧化酶活性、抗氧化剂和渗透调节物质含量、膜脂过氧化损伤的影响。结果表明, 土壤和基质浸提液均导致辣椒幼苗叶片超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性, 以及脱氢抗坏血酸 (DHA) 含量的下降; 还原型抗坏血酸 (AsA)、脯氨酸 (Pro)、可溶性蛋白和丙二醛 (MDA) 含量, 以及相对电导率和 AsA/DHA 上升; 土壤浸提液胁迫程度显著大于基质浸提液。外源 NO 和 ABA 处理显著提高辣椒幼苗叶片的 SOD、POD 和 CAT 活性, 以及 Pro 和可溶性蛋白含量, 降低 MDA 含量和相对电导率, 显著促进 AsA 含量升高和 DHA 含量下降, 维持较高的 AsA/DHA, NO 对自毒作用下辣椒幼苗氧化损伤的缓解效应显著好于 ABA。研究结果表明外源 NO 和 ABA 通过提高自毒作用下辣椒抗氧化酶活性、渗透调节物质含量和 AsA/DHA 比值, 有效地阻止辣椒体内 MDA 积累和电解质渗漏, 缓解自毒作用对辣椒幼苗造成的膜脂过氧化, 增强辣椒的抗逆性。

**关键词:** 辣椒; 一氧化氮; 脱落酸; 自毒作用; 抗氧化酶; 抗氧化剂; 渗透调节物质

**中图分类号:** S 634.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2013) 03-0458-09

## Physiological and Biochemical Mechanisms of Nitric Oxide and Abscisic Acid on Alleviation to Autotoxicity in Pepper Seedlings

ZHANG Guo-bin, YU Ji-hua\*, FENG Zhi, MA Yan-xia, and Lü Jian

(College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** The aim of the experiment was to explore the physiological and biochemical mechanisms of nitric oxide (NO) and abscisic acid (ABA) on alleviation to autotoxicity in pepper seedlings (*Capsicum annuum* L. ‘Longjiao 2’). With soil and substrates extracts of 3 years continuous cropping pepper treated pepper seedlings, then the effects of SNP ( $150 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) and ABA ( $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) on antioxidant enzymes activity, antioxidant substances content, osmotic adjustment substance content, and membrane lipid peroxidation in pepper seedlings leaves were investigated. The results showed that superoxide

**收稿日期:** 2012-11-28; **修回日期:** 2013-02-06

**基金项目:** 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-25-C-07); 教育部高等学校博士学科点专项科研基金项目 (20116202110002); 公益性行业 (农业) 科研专项资金项目 (201203001); 甘肃省自然科学基金项目 (1010RJZA186)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: yujihua@gsau.edu.cn)

dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) activities, and dehydroascorbate (DHA) content declined under all of soil and substrates extracts stress, while ascorbic acid (AsA), proline (Pro), soluble protein, malondialdehyde (MDA) contents, relative conductivity and AsA/DHA ratio increased. Autotoxicity on pepper of soil extracts was serious greatly than that of substrates extracts. NO and ABA significantly increased SOD, POD and CAT activities, Pro and soluble protein contents, while reduced MDA content and relative conductivity significantly. At the same time, AsA/DHA ratio was significantly higher through promoting significantly to increase AsA content and decrease DHA content. Alleviate effect to autotoxicity of NO was significantly better than that of ABA in pepper seedlings. The above results suggested that NO and ABA effectively prevented malondialdehyde accumulation and electrolyte leakage, mitigated lipid peroxidation, through increasing antioxidant enzymes activities, osmotic adjustment substance content and AsA/DHA ratio in pepper seedlings under autotoxicity stress.

**Key words:** pepper; nitric oxide; abscisic acid; autotoxicity; antioxidant enzymes; antioxidant substances; osmotic adjustment substance

辣椒 (*Capsicum annuum* L.) 根系分泌的化感物质, 对下茬植物产生化感作用, 连作情况下对自身也产生毒害, 抑制其生长 (程智慧 等, 2005; Morgan & Overholt, 2005; Siddiqui, 2007)。杨广君等 (2008) 通过水培试验收集辣椒根系分泌物, 发现其对 3 个线辣椒品种 (系) 的 POD、SOD、CAT 均有抑制作用; 侯永侠等 (2009) 采用种植辣椒不同连作年限的土壤进行盆栽试验, 发现连作土壤使辣椒根系活力和叶绿素含量降低, 根系和叶片的 SOD、POD 活性增加, 植株提前衰老, 并且随着连作年限的增加对辣椒的危害程度加大。无土栽培是解决土壤连作障碍和非耕地高效利用的一条有效途径, 近年来, 以农业生物质为主要原料的蔬菜有机基质设施栽培在甘肃省非耕地区域大面积发展, 但是, 由于种植习惯和降低基质成本的需要, 基质栽培中辣椒连作较为普遍, 导致的连作障碍问题也日益突出, 成为有机基质辣椒栽培高效可持续发展亟待解决的问题 (李威 等, 2012)。

NO 和 ABA 广泛参与植物生长发育及逆境适应等生理过程的信号传导 (江力 等, 2006; Qiao & Fan, 2008; 刘建新 等, 2009), 参与包括水分胁迫 (毛桂莲 等, 2005; 樊怀福 等, 2007)、盐胁迫 (曹慧 等, 2009)、低温胁迫 (任旭琴 等, 2009; 杨美森 等, 2012) 等多种生理过程, 缓解逆境胁迫对植物的伤害。冷害胁迫下, 外源 NO 处理显著提高了棉花叶片的 SOD、POD、CAT、APX 和 GR 的活性, 以及 Pro 和可溶性蛋白质含量, 减少了  $H_2O_2$  和膜脂过氧化产物 MDA 的积累, 维持了光合机构的稳定, 保持了较高的 PS II 光化学活性, 缓解幼苗生长的抑制作用 (杨美森 等, 2012)。据报道,  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NO 供体硝普钠能显著缓解 NaCl 胁迫对黄瓜植株造成的伤害, 增强幼苗叶片 SOD、POD、CAT、APX 活性, 提高叶片叶绿素和 Pro 含量, 降低叶片 MDA 和  $H_2O_2$  的含量、 $O_2^-$  的产生速率、质膜透性 (樊怀福 等, 2007);  $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ABA 显著缓解辣椒叶片的低温伤害, 使电解质渗透率和 MDA 含量显著下降, 提高 POD 和 SOD 活性, Pro 含量也显著增加 (任旭琴 等, 2009); ABA 处理能够提高 UV-C 胁迫下小麦抗氧化酶 (CAT、SOD、POD) 活性和  $\text{CO}_2$  同化作用, 降低 MDA 含量, 增强对 UV-C 胁迫的抗性 (李雪梅 等, 2006)。

目前有关辣椒根系分泌物化感作用的研究已有报道, 但有机基质栽培下连作辣椒的自毒作用, 以及 NO 和 ABA 缓解自毒作用胁迫, 提高辣椒抗逆性方面的研究则未见报道。本研究中以当地栽辣椒品种 ‘陇椒 2 号’ 为试验材料, 采用连作 3 年辣椒的土壤和基质浸提液处理辣椒幼苗, 同时喷施外源 NO 和 ABA, 从幼苗叶片抗氧化酶活性、抗氧化剂含量、渗透调节物质含量, 以及膜脂过氧化损伤入手, 探究其对根系分泌物自毒作用的响应以及 NO 和 ABA 对辣椒自毒作用的缓解机理,

旨在为制定缓解非耕地设施辣椒连作障碍的有效措施提供理论依据和技术支撑。

## 1 材料与方方法

### 1.1 试验材料

试验材料为辣椒中熟品种‘陇椒2号’，生长势强，果实羊角形，是西北地区保护地及露地主栽品种。NO 供体为硝普钠[Na<sub>2</sub>Fe(CN)<sub>5</sub>，代号 SNP]与 ABA 均购自 Sigma 公司。

### 1.2 试验处理

于 2011 年 6 月下旬在甘肃省临泽县选取连续 3 年种植辣椒的日光温室土壤和基质（体积比为 2:3:2:3 的腐熟玉米秸秆、牛粪、菇渣和炉渣的混合基质），样品风干、粉碎后过 2 mm 孔径的筛，称取 40 g 加入 1 L 蒸馏水，瓶口密封扎紧放入振荡器中浸提 48 h（振荡速度为 100 r·min<sup>-1</sup>，温度为 25 °C），再经过滤，即得到浓度为 40 g·L<sup>-1</sup> 的供试浸提液。贮存于 4 °C 冰箱中备用。

于 2012 年 3—8 月在甘肃农业大学农学院实验室进行试验。辣椒种子经消毒后在 (26 ± 1) °C 的恒温箱内催芽，将发芽一致的种子播于营养钵（高 18 cm，直径 15 cm）中，每钵 4 粒，培养基质为体积比 3:1 的蛭石和珍珠岩的混合基质，置于人工气候室内育苗。试验设 7 个处理（表 1），每个处理选取长势基本一致的辣椒幼苗 12 株，3 次重复；对照只浇灌营养液，不进行浸提液和外源物质处理。

表 1 试验处理

Table 1 Treatments of the experiment

处理 Treatment	土壤浸提液/ Soil extracts	基质浸提液/ Substrates extracts	SNP/ ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	ABA/ ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )
对照 Control	0	0	0	0
土壤浸提液 Soil extracts	40	0	0	0
基质浸提液 Substrates extracts	0	40	0	0
土壤浸提液 + NO Soil extracts + NO	40	0	150	0
基质浸提液 + NO Substrates extracts + NO	0	40	150	0
土壤浸提液 + ABA Soil extracts + ABA	40	0	0	100
基质浸提液 + ABA Substrates extracts + ABA	0	40	0	100

待辣椒幼苗子叶展平后，用 40 g·L<sup>-1</sup> 浸提液处理幼苗，每钵 100 mL，每隔 3 ~ 4 d 浇灌 1 次，共浇灌 12 次，期间每隔 10 d 浇灌 1 次 1/2 Hoagland 营养液，每钵 80 mL，共浇灌 5 次；在浇灌第 1 次浸提液时同时进行 SNP 和 ABA 叶片喷洒，SNP 和 ABA 浓度均为预备试验中筛选出来的适宜浓度，25 d 后喷洒第 2 次。育苗期间人工气候室内昼/夜温度为 26 °C/18 °C，湿度为 60%，光周期为 12 h，光照强度为 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。处理 50 d 后取幼苗完全展开的第 2 ~ 5 片真叶进行各项生理指标的测定，重复 3 次。

### 1.3 测定指标及方法

抗氧化酶 SOD、CAT、POD 活性的测定：称取 0.5 g 叶片放入研钵中，加 5 mL pH 7.8 的磷酸缓冲液，冰浴研磨，匀浆倒入离心管中，冷冻离心 20 min (10 000 r·min<sup>-1</sup>)，取上清液冷藏备用。SOD、CAT 活性按照 Pinheiro 等 (2004) 的方法，POD 活性测定采用愈创木酚法 (张志良 等, 2009)。

抗氧化剂 AsA、DHA 含量的测定：将叶片在液氮中研磨，称取粉末 0.5 g，加入 5% 的偏磷酸溶液 2.5 mL，冰冻研磨匀浆，在 20 000 × g 离心 15 min，取上清液冷藏备用。抗坏血酸含量测定参照

Cakmak 和 Marschner (1992) 的方法, 略加修改。测定总抗坏血酸时反应体系为: 100  $\mu\text{L}$  提取液、500  $\mu\text{L}$  的 150  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  磷酸钾缓冲液(内含 5  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDTA, pH 7.4)、100  $\mu\text{L}$  10  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  DTT, 静置 10 min 后加入 100  $\mu\text{L}$  0.5  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NEM、400  $\mu\text{L}$  10% TCA、400  $\mu\text{L}$  44%磷酸、400  $\mu\text{L}$  700  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  双吡啶(溶于 70%乙醇)、200  $\mu\text{L}$  3%  $\text{FeCl}_3$ , 反应混合液于 37  $^{\circ}\text{C}$  摇动并温浴 60 min, 之后测定 525 nm 处的吸光值。测定还原型抗坏血酸(AsA)时, 用 200  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{O}$  代替 100  $\mu\text{L}$  10  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  DTT 和 100  $\mu\text{L}$  0.5  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NEM, 用 AsA 制作标准曲线。脱氢抗坏血酸(DHA)含量为总抗坏血酸含量与 AsA 含量差值。

MDA、脯氨酸、可溶性蛋白含量和相对电导率的测定: 采用硫代巴比妥酸比色法测定 MDA 含量, 酸性茚三酮显色法测定脯氨酸含量, 考马斯亮蓝 G-250 染色法测定可溶性蛋白质含量(张志良等, 2009); 相对电导率的测定参照李合生(2000)的方法。

#### 1.4 数据统计及分析

数据采用 Microsoft Excel 2003 进行统计, 通过 SPSS 17.0 进行方差分析检验其差异显著性, 并采用 Microsoft Excel 2003 作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 NO 和 ABA 处理对辣椒幼苗叶片抗氧化酶活性的影响

由表 2 可知, 土壤和基质浸提液处理均导致辣椒幼苗叶片 SOD、POD 和 CAT 活性显著下降, 土壤浸提液胁迫程度明显重于基质浸提液, 较之对照, SOD 活性分别降低 50.2%和 44.2%, POD 活性分别降低 57.0%和 53.2%, CAT 活性分别降低 68.6%和 59.0%。NO 和 ABA 处理显著提高 2 种浸提液处理下幼苗叶片的 SOD、POD 和 CAT 活性, 其中, NO 对 SOD、CAT 活性的促进作用显著高于 ABA, NO 处理分别提高 SOD、CAT 活性 31.5% ~ 32.1%和 40.6% ~ 47.4%, ABA 处理分别提高 SOD、CAT 活性 17.3% ~ 18.7%和 14.4% ~ 15.7%; ABA 对 POD 活性的促进作用则显著高于 NO, ABA 处理提高 8.1% ~ 8.8%, NO 处理提高 5.3% ~ 7.6%。

表 2 NO 和 ABA 对自毒作用下辣椒幼苗叶片 SOD、POD 和 CAT 活性的影响

Table 2 Effects of NO and ABA on SOD, POD, CAT activity in leaves of pepper seedlings under autotoxicity stress

处理 Treatment	SOD / ( $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ )	POD/ ( $\text{U} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ )	CAT/ ( $\text{U} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ )
对照 Control	150.00 $\pm$ 7.14 a	48.89 $\pm$ 0.69 a	80.44 $\pm$ 2.52 a
土壤浸提液 Soil extracts	74.76 $\pm$ 3.60 f	21.01 $\pm$ 0.67 f	25.26 $\pm$ 1.55 f
基质浸提液 Substrates extracts	83.67 $\pm$ 2.15 e	23.01 $\pm$ 0.88 e	32.95 $\pm$ 1.88 e
土壤浸提液 + NO Soil extracts + NO	122.91 $\pm$ 1.63 c	27.77 $\pm$ 1.26 d	66.59 $\pm$ 2.25 b
基质浸提液 + NO Substrates extracts + NO	130.81 $\pm$ 4.25 b	29.78 $\pm$ 0.51 c	72.17 $\pm$ 2.10 b
土壤浸提液 + ABA Soil extracts + ABA	102.84 $\pm$ 2.56 d	31.11 $\pm$ 0.51 c	42.36 $\pm$ 1.92 d
基质浸提液 + ABA Substrates extracts + ABA	109.57 $\pm$ 4.08 d	36.23 $\pm$ 0.83 b	54.67 $\pm$ 2.95 c

注: 数据为 3 次重复的平均值与标准误, 不同的字母表示在 0.05 水平上差异显著。下同。

Note: The column means the average of the parameters in each line, and the error bars show the standard error of three replicates. Bars superscripted with different letters are significantly different at  $P < 0.05$  as determined by LSD method. The same below.

### 2.2 NO 和 ABA 处理对辣椒幼苗叶片抗氧化剂含量的影响

土壤和基质浸提液处理均导致辣椒幼苗叶片还原型抗坏血酸(AsA)含量显著升高(表 3), 较之对照分别升高 228.9%和 168.4%。NO 和 ABA 显著提高 2 种浸提液处理下辣椒幼苗叶片的 AsA 含

量, NO 的促进作用显著高于 ABA, NO 处理分别提高 360.5%和 421.1%, ABA 处理分别提高 271.1%和 315.8%。

土壤和基质浸提液处理均导致辣椒幼苗叶片脱氢抗坏血酸 (DHA) 含量显著下降 (表 3), 较之对照分别降低 20.8%和 23.5%。NO 和 ABA 显著降低 2 种浸提液处理下辣椒幼苗叶片的 DHA 含量, NO 的促进作用显著高于 ABA, NO 处理分别降低 42.2%和 46.8%, ABA 处理分别降低 29.8%和 26.7%。

AsA 含量升高和 DHA 含量下降导致 AsA/DHA 显著上升(表 3), 较之对照分别升高 8.59 和 5.01 倍; NO 对 AsA/DHA 比值升高程度显著高于 ABA, NO 处理分别升高 6.14 和 9.72 倍, ABA 处理分别升高 6.96 和 7.75 倍。

**表 3 NO 和 ABA 对自毒作用下辣椒幼苗叶片 AsA、DHA 含量和 AsA/DHA 的影响**  
Table 3 Effects of NO and ABA on AsA, DHA content and AsA/DHA in leaves of pepper seedlings under autotoxicity stress

处理 Treatment	AsA/ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ )	DHA/ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ )	AsA / DHA
对照 Control	0.38 ± 0.07 f	1.88 ± 0.14 a	0.20 e
土壤浸提液 Soil extracts	1.25 ± 0.12 e	1.49 ± 0.10 b	0.84 d
基质浸提液 Substrates extracts	1.02 ± 0.12 e	1.44 ± 0.12 b	0.71 d
土壤浸提液 + NO Soil extracts + NO	1.75 ± 0.26 b	1.09 ± 0.11 d	1.61 b
基质浸提液 + NO Substrates extracts + NO	1.98 ± 0.11 a	1.00 ± 0.17 e	1.98 a
土壤浸提液 + ABA Soil extracts + ABA	1.42 ± 0.12 d	1.32 ± 0.16 c	1.08 c
基质浸提液 + ABA Substrates extracts + ABA	1.58 ± 0.11 bc	1.38 ± 0.10 c	1.15 c

### 2.3 NO 和 ABA 处理对辣椒幼苗叶片渗透调节物质含量的影响

由表 4 可知, 土壤和基质浸提液处理均导致辣椒幼苗叶片脯氨酸含量显著升高, 土壤浸提液处理上升幅度显著大于基质浸提液, 较之对照, 脯氨酸含量分别升高 203.2%和 162.0%。NO 和 ABA 显著提高 2 种浸提液处理下辣椒幼苗叶片的脯氨酸含量, NO 的促进作用显著高于 ABA, NO 处理分别提高 431.8%和 599.1%, ABA 处理分别提高 236.9%和 281.3%。

**表 4 NO 和 ABA 对自毒作用下辣椒幼苗叶片脯氨酸、可溶性蛋白和 MDA 含量以及相对电导率的影响**  
Table 4 Effects of NO and ABA on proline, soluble proten, MDA content and relative conductivity in leaves of pepper seedlings under autotoxicity stress

处理 Treatment	脯氨酸/( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ ) Proline	可溶性蛋白/( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ ) Soluble protein	MDA/ ( $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ )	相对电导率/% Relative conductivity
对照 Control	6.66 ± 0.73 f	5.37 ± 0.29 f	1.71 ± 0.02 g	21.77 ± 0.13 g
土壤浸提液 Soil extracts	20.20 ± 0.74 d	8.88 ± 0.31 d	8.23 ± 0.03 a	49.19 ± 1.10 a
基质浸提液 Substrates extracts	17.46 ± 1.37 e	8.38 ± 0.27 e	6.27 ± 0.10 b	47.26 ± 0.99 b
土壤浸提液 + NO Soil extracts + NO	35.43 ± 1.02 b	12.43 ± 0.30 a	2.97 ± 0.03 e	26.41 ± 1.32 e
基质浸提液 + NO Substrates extracts + NO	46.58 ± 2.24 a	12.47 ± 0.31 a	2.25 ± 0.10 f	24.78 ± 1.54 f
土壤浸提液 + ABA Soil extracts + ABA	22.44 ± 0.83 d	10.79 ± 0.33 b	3.72 ± 0.07 c	31.55 ± 1.75 c
基质浸提液 + ABA Substrates extracts + ABA	25.40 ± 1.88 c	10.29 ± 0.32 c	3.55 ± 0.07 cd	30.46 ± 1.19 cd

土壤和基质浸提液处理均导致辣椒幼苗叶片可溶性蛋白含量显著升高(表 4),土壤浸提液处理上升幅度显著大于基质浸提液,较之对照,可溶性蛋白含量分别升高 65.6%和 56.2%。NO 和 ABA 显著升高 2 种浸提液处理下辣椒幼苗叶片的可溶性蛋白含量,NO 的促进作用显著高于 ABA,NO 处理分别升高 131.7%和 132.4%,ABA 处理分别升高 101.0%和 91.7%。

#### 2.4 NO 和 ABA 处理对辣椒幼苗叶片膜脂过氧化和质膜透性的影响

由表 4 可知,土壤和基质浸提液处理均导致辣椒幼苗叶片 MDA 含量显著升高,土壤浸提液处理上升幅度显著大于基质浸提液,较之对照,MDA 含量分别升高 381.7%和 267.1%。NO 和 ABA 显著降低 2 种浸提液处理下辣椒幼苗叶片的 MDA 含量,NO 处理下降显著大于 ABA 处理,NO 处理分别降低 307.8%和 235.6%,ABA 处理分别降低 264.0%和 159.4%。

土壤和基质浸提液处理均导致辣椒幼苗叶片相对电导率升高(表 4),土壤浸提液处理上升幅度显著大于基质浸提液,较之对照,相对电导率分别升高 125.9%和 117.1%。NO 和 ABA 显著降低 2 种浸提液处理下辣椒幼苗叶片的相对电导率,NO 处理下降显著多于 ABA 处理,NO 处理分别降低 104.6%和 103.3%,ABA 处理分别降低 81.0%和 77.2%。

### 3 讨论

本试验结果表明,连作 3 年辣椒的土壤和基质浸提液处理辣椒幼苗,导致辣椒幼苗叶片 SOD、POD、CAT 活性下降,AsA 含量升高,DHA 含量下降,AsA / DHA 升高,同时,脯氨酸和可溶性蛋白含量降低,导致 MDA 积累和电解质渗漏,说明土壤和基质浸提液处理导致辣椒叶片抗氧化酶活性和渗透调节物质含量降低,引起膜脂氧化损伤,对辣椒自毒作用明显。这与杨广君等(2008)通过水培收集辣椒根系分泌物处理辣椒研究结果一致,而与侯永侠等(2009)通过连作土壤处理辣椒研究结果不一致,其处理导致辣椒叶片的 SOD、POD 活性增加,可能原因是品种、处理时间和浓度不同所致。本试验中发现土壤浸提液对辣椒的自毒作用强于基质浸提液,可能是基质较土壤容重小、孔隙度大,较为疏松,不利于化感物质滞留、吸收(Oleszek & Jurzysta, 1987; Yu & Matsui, 1996; 孙曰波 等, 2011);同时,土壤和基质微生物有差异,导致辣椒根系对化感物质的产生、降解作用不同,基质降低了化感物质的产生,而增强了化感物质的降解(Fischer et al., 1994),但是否如此,还有待于进一步的研究。

NO 是植物体中广泛存在的一种正常代谢物或副产物,也是一种重要的信使分子,其生理效应往往与其对 ROS 代谢的调控有关,并涉及有关的信号转导(Delledonne et al., 1998; Garcia-Mata & Lamattina, 2001; 阮海华 等, 2011)。外源 NO 可提高 NaCl 胁迫下燕麦叶片 SOD、POD、CAT 和 APX 活性,降低 MDA 含量和质膜透性,从而减轻 NaCl 胁迫对燕麦幼苗的伤害(芦翔 等, 2011)。SNP 处理降低低温胁迫后枇杷幼果 MDA 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量,不同程度上提高 CAT, POD, SOD, APX 活性和 Pro 含量,增加了 AsA/DHA 和 GSH/GSSG 比值;外源 NO 通过促进枇杷幼果保护酶活性的上升,降低膜质过氧化程度,增加渗透调节物质,提高幼果的抗寒性(吴锦程 等, 2010)。外源 NO 可通过诱导叶片 POD 和 CAT 活性的升高来延缓活性氧的积累,从而减轻水分胁迫对翅果油树的伤害,增强树木的耐旱能力(马引利 等, 2011)。本试验中,NO 显著提高 2 种浸提液处理辣椒幼苗叶片 SOD、POD、CAT 活性,以及 AsA、脯氨酸和可溶性蛋白含量,提高了清除自由基防御系统的防御能力,降低 MDA 含量和细胞质膜透性,说明 NO 对自毒作用胁迫具有明显的缓解作用。外源 NO 提高自毒作用下辣椒保护酶活性,其主要原因可能是 NO 对含铁的相关酶类有很高的亲和性,例如,NO 可以通过调节 CAT、APX 和细胞色素 c 氧化酶等含血红素铁的酶类的活性以及抑制含非

血红素铁的顺乌头酸酶等靶酶的活性来参与植物体内一系列抗性生理反应 (Wang et al., 2004), SOD、POD、CAT 活性的提高, 降低了导致膜脂过氧化的 $O_2^-$ 和 $H_2O_2$ 等 ROS 的大量生成 (Beligni & Lamattina, 1999; Beligni et al., 2002)。同时, NO 促进脯氨酸和可溶性蛋白含量的升高, 细胞的渗透调节能力提高, 降低了细胞膜的相对透性, 缓和了膜相变化, 缓解了膜透性的增大, 防止离子渗漏, 说明外源 NO 对细胞膜具有良好的修复和保护作用, 可以减轻细胞膜系统的伤害 (Zhu, 2002)。

ABA 作为信号分子在寒害、盐害、干旱等胁迫—感知—反应过程中起重要作用 (Popoval et al., 1996; Lee et al., 1997; Wu et al., 1997)。低温胁迫过程中, ABA 处理能有效减缓辣椒幼苗叶片中 SOD 活性的降低和 MDA 的积累, 使辣椒幼苗叶片中脯氨酸含量大幅增加 (汤日圣 等, 2008); 罗立津等 (2011) 在 ABA 诱导甜椒抗寒性的研究也得到相同的结果。ABA 处理能够提高 UV-C 胁迫下小麦抗氧化酶 (CAT、SOD、POD) 活性和 $CO_2$ 同化作用, 降低 MDA 含量, 增强对 UV-C 胁迫的抗性 (李雪梅 等, 2006)。抗坏血酸的总量及其氧化还原状态的比值在植物响应环境胁迫中均起着重要作用 (Horemans et al., 2000; Potters et al., 2002), 盐胁迫使盐敏感品种的 AsA 含量降低, DHA 的含量明显升高, AsA/DHA 的比值降低, 相关代谢酶 APX 和 MDHAR 的活性也降低; 然而耐盐品种则刚好与之相反, 表明番茄的抗盐性至少部分来自于 AsA 含量、AsA/DHA 比值和某些相关酶活性的提高。本试验中, ABA 能够促进自毒作用下辣椒幼苗叶片 SOD、POD、CAT 活性, 以及脯氨酸、AsA 和可溶性糖含量大幅增加, 降低 MDA 积累和细胞膜透性增加, 并维持较高水平的 AsA/DHA 水平, 从而提高辣椒幼苗的抗逆性。

## References

- Beligni M V, Fath A, Bethake P C. 2002. Nitric oxide acts as an antioxidant and delays programmed cell death in barley aleurone layers. *Plant Physiol*, 129: 1642 - 1650.
- Beligni M V, Lamattina L. 1999. Is nitric oxide toxic or protective? *Trends Plant Sci*, 4 (8): 299 - 300.
- Cakmak I, Marschner H. 1992. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiology*, 98 (4): 1222 - 1227.
- Cao Hui, Wang Xiao-wei, Zou Yan-mei, Shu Huai-rui. 2009. Effects of exogenous nitric oxide on the several enzymes of nitrogen metabolism in *malus hupehensis (Pamp)* rehd seedlings under water stress. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (6): 781 - 786. (in Chinese)
- 曹 慧, 王孝威, 邹岩梅, 束怀瑞. 2009. 外源 NO 对水分胁迫下平邑甜茶幼苗中几种氮代谢酶的影响. *园艺学报*, 36 (6): 781 - 786.
- Cheng Zhi-hui, Geng Guang-dong, Zhang Su-qin, Meng Huan-wen. 2005. Allelopathy to lettuce and related chemicals of hotpepper. *Acta Horticulturae Sinica*, 32 (1): 100. (in Chinese)
- 程智慧, 耿广东, 张素勤, 孟焕文. 2005. 辣椒对莴苣的化感作用及其成分分析. *园艺学报*, 32 (1): 100.
- Delledonne M, Xia Y J, Dixon R A. 1998. Nitric oxide function as a signal in plant disease resistance. *Nature*, 394 (6693): 585 - 588.
- Fan Huai-fu, Guo Shi-rong, Jiao Yan-sheng, Zhang Run-hua, Li Juan. 2007. The effects of exogenous nitric oxide on growth, active oxygen metabolism and photosynthetic characteristics in cucumber seedlings under NaCl stress. *Acta Ecologica Sinica*, 27 (2): 546 - 553. (in Chinese)
- 樊怀福, 郭世荣, 焦彦生, 张润花, 李 娟. 2007. 外源一氧化氮对 NaCl 胁迫下黄瓜幼苗生长、活性氧代谢和光合特性的影响. *生态学报*, 27 (2): 546 - 553.
- Fischer N H, Williamson G B, Weidenhamer J D. 1994. In search of allelopathy in the Florida scrub: The role of terpenoids. *J Chem Ecol*, 20: 1355 - 1380.
- Garcia-Mata C, Lamattina L. 2001. Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant response against drought stress. *Plant Physiol*, 126: 1196 - 1204.
- Horemans N H, Foyer C, Potters G. 2000. Ascorbate function and associated transport systems in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 38

- (7 - 8): 531 - 540.
- Hou Yong-xia, Zhou Bao-li, Wu Xiao-ling. 2009. The effect of the different soil of continuous crops time to pepper growth. *Journal of Northern Horticulture*, (8): 9 - 11. (in Chinese)
- 侯永侠, 周宝利, 吴晓玲. 2009. 不同连作土壤对辣椒生长发育的影响研究. *北方园艺*, (8): 9 - 11.
- Jiang Li, Wang Dong-sheng, Wang Neng-ru, Zhang Rong-xian. 2006. Effects of 6-benzyladenine and abscisic acid on the photosynthetic function and hydrogen peroxide content in tobacco leaves of different development phase. *Acta Tabacaria Sinica*, 12 (5): 38 - 42. (in Chinese)
- 江力, 王东胜, 王能如, 张荣铤. 2006. 6-苄基腺嘌呤和脱落酸对不同发育阶段烟草叶片光合功能及过氧化氢水平的调控. *中国烟草学报*, 12 (5): 38 - 42.
- Lee T M, Lur H S, Chu C. 1997. Role of abscisic acid in chilling tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. II. Modulation of free polyamine levels. *Plant Sci*, (16): 1 - 10.
- Li He-sheng. 2000. Experimental principle and technique for plant physiology and biochemistry. Beijing: Higher Education Press: 260 - 263. (in Chinese)
- 李合生. 2000. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社: 260 - 263.
- Liu Jian-xin, Hu Hao-bin, Wang Xin. 2009. Effects of an exogenous nitric oxide donor on active oxygen metabolism, photosynthesis and the xanthophyll cycle in ryegrass (*Lolium perenne* L.) seedlings under cadmium stress. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 29 (3): 626 - 633. (in Chinese)
- 刘建新, 胡浩斌, 王鑫. 2009. 外源一氧化氮供体对镉胁迫下黑麦草幼苗活性氧代谢、光合作用和叶黄素循环的影响. *环境科学学报*, 29 (3): 626 - 633.
- Li Wei, Cheng Zhi-hui, Meng Huan-wen, Zhou Jing, Liang Jing, Liu Xue-jiao. 2012. Effect of rotating different vegetables on micro-biomass and enzyme in tomato continuous cropped substrate and afterculture tomato under plastic tunnel cultivation. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (1): 73 - 80. (in Chinese)
- 李威, 程智慧, 孟焕文, 周静, 梁静, 刘雪娇. 2012. 轮作不同蔬菜对大棚番茄连作基质中微生物与酶及后茬番茄的影响. *园艺学报*, 39 (1): 73 - 80.
- Li Xue-mei, Zhang Li-hong, He Xing-yuan, Wang Lan-lan, Chen Qiang. 2006. Effects of abscisic acid on photosynthetic characteristics and antioxidant enzyme activities of wheat seedlings exposed to UV-C. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 17 (5): 822 - 826. (in Chinese)
- 李雪梅, 张利红, 何兴元, 王兰兰, 陈强. 2006. 脱落酸对 UV-C 胁迫下小麦幼苗光合特性及抗氧化酶活性的影响. *应用生态学报*, 17 (5): 822 - 826.
- Luo Li-jin, Xu Fu-le, Weng Hua-qin, Hong Shu-zhu, Duan Liu-sheng, Li Zhao-hu. 2011. Inducing effects and its biological mechanisms of ABA on the chilling resistance of sweet pepper seedlings. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 31 (1): 94 - 100. (in Chinese)
- 罗立津, 徐福乐, 翁华钦, 洪淑珠, 段留生, 李召虎. 2011. 脱落酸对甜椒幼苗抗寒性的诱导效应及其机理研究. *西北植物学报*, 31 (1): 94 - 100.
- Lu Xiang, Shi Wei-dong, Wang Yi-lun, Wang Qiang, Tan Jin-fang, Han Yan-lai. 2011. Effects of exogenous nitric oxide on activity of antioxidative enzyme and growth of oat seedlings under salt stress. *Pratacultural Science*, 28 (12): 2150 - 2156. (in Chinese)
- 芦翔, 石卫东, 王宜伦, 汪强, 谭金芳, 韩燕来. 2011. 外源 NO 对 NaCl 胁迫下燕麦幼苗抗氧化酶活性和生长的影响. *草业科学*, 28 (12): 2150 - 2156.
- Ma Yin-li, Yan Gui-qin, Li Jin, Zhang Yuan-hua. 2011. Effects of exogenous nitric oxide on the physiological and biochemical characteristics in *elaegnus mollis* seedlings under water stress. *Journal of Northwest Forestry University*, 26 (3): 30 - 35. (in Chinese)
- 马引利, 闫桂琴, 李瑾, 张媛华. 2011. 干旱胁迫条件下外源 NO 对翅果油树幼苗生理生化特征的影响. *西北林学院学报*, 26 (3): 30 - 35.
- Mao Gui-lian, Xu Xing, Xie Ya-jun. 2005. Effects of exogenous ABA on growth and chlorophyll fluorescence characteristics in wolfberry seedlings under NaCl stress. *Jiangsu Agricultural Science*, (6): 111 - 114. (in Chinese)
- 毛桂莲, 许兴, 谢亚军. 2005. 外源 ABA 对 NaCl 胁迫下枸杞幼苗生长和叶绿素荧光特性的影响. *江苏农业科学*, (6): 111 - 114.
- Morgan E C, Overholt W A. 2005. Potential allelopathic effect of Brazilian pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae) aqueous extract on germination and growth of selected Florida native plants. *J Torrey Bot Soc*, 132: 11 - 15.



- Oleszek W, Jurzysta M. 1987. The allelopathic of alfalfa root medicagenic acid glycosides and their fate in soil environment. *Plant Soil*, 98: 67 - 80.
- Pinheiro H A, DaMatta F M, Chaves A R M, Fontes E P B, Loureiro M E. 2004. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of coffee *canephora* subjected to long-term drought. *Plant Science*, 167: 1307 - 1314.
- Popova L P, Tsonev T D, Lazova G N. 1996. Drought and ABA induced changes in photosynthesis of barley plants. *Physiol Plant*, 89: 97 - 103.
- Potters G, De Gara L, Asard H. 2002. Ascorbate and glutathione: Guardians of the cell cycle, partners in crime? *Plant Physiology and Biochemistry*, 40 (6 - 8): 537 - 548.
- Qiao W H, Fan L M. 2008. Nitric oxide signaling in plant responses to abiotic stresses. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50 (10): 1238 - 1246.
- Ren Xu-qin, Liu Mei-qin, Chen Ge-liang, Wang Rong. 2009. Effect of exogenous ABA on chilling resistance in pepper. *Journal of Changjiang Vegetables*, (8): 30 - 32. (in Chinese)
- 任旭琴, 刘美琴, 陈葛亮, 王蓉. 2009. 外源 ABA 对辣椒抗冷性生理指标的影响. *长江蔬菜*, (8): 30 - 32.
- Ruan Hai-hua, Sheng Wen-biao, Ye Mao-bing. 2011. Protective effects of exogenous nitric oxide on oxidative damage in leaves of wheat under salt stress. *Chinese Science Bulletin*, 46 (23): 1993 - 1997. (in Chinese)
- 阮海华, 沈文彪, 叶茂炳. 2011. 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*, 46 (23): 1993 - 1997.
- Siddiqui Z S. 2007. Allelopathic effects of black pepper leachings on *Vigna mungo* (L.) Hepper. *Acta Physiol Plant*, 29: 303 - 308.
- Sun Yue-bo, Zhao Lan-yong, Zhang Ling. 2011. Effect of soil compaction on growth and root nitrogen metabolism of *rosa rugosa* seedlings. *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (9): 1775 - 1780. (in Chinese)
- 孙曰波, 赵兰勇, 张玲. 2011. 土壤紧实度对玫瑰幼苗生长及根系氮代谢的影响. *园艺学报*, 38 (9): 1775 - 1780.
- Tang Ri-sheng, Huang Yi-hong, Tang Xian-hong. 2008. Effect of microorganism-sourced ABA on chilling resistance of pepper seedling. *Jiangsu Journal of Agr Sci*, 24 (4): 467 - 470. (in Chinese)
- 汤日圣, 黄益洪, 唐现洪. 2008. 微生物源脱落酸 (ABA) 对辣椒苗耐冷性的影响. *江苏农业学报*, 24 (4): 467 - 470.
- Wang X Y, Shen W B, Xu L L. 2004. Exogenous nitric oxide alleviates osmotic stress induced membrane lipid peroxidation in wheat seedling leaves. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 30 (2): 195 - 200.
- Wu Jin-cheng, Chen Wei-jian, Cai Li-qin, Xie Cui-ping, Huang Shi-jie, Lin Liang-jin, Ye Mei-lan. 2010. Effects of exogenous nitric oxide on anti-oxidation capacities in young loquat fruits under low temperature stress. *Scientia Silvae Sinicae*, 46 (9): 73 - 78. (in Chinese)
- 吴锦程, 陈伟建, 蔡丽琴, 谢翠萍, 黄世杰, 林良津, 叶美兰. 2010. 外源 NO 对低温胁迫下枇杷幼果抗氧化能力的影响. *林业科学*, 46 (9): 73 - 78.
- Wu Y, Kuzma J, Marechal E. 1997. Abscisic acid signaling through cyclic ADP-ribose in plants. *Science*, 278: 2126 - 2130.
- Yang Guang-jun, Zhao Zun-lian, Gong Zhen-hui, Zhao Hai-yan, Liang Li-peng. 2008. Allelopathy functions of the root exudates of line pepper to pepper and other crops. *Journal of Northwest A & F University: Nat Sci Ed*, 36 (10): 146 - 157. (in Chinese)
- 杨广君, 赵尊练, 巩振辉, 赵海燕, 梁丽鹏. 2008. 线辣椒根系分泌物对辣椒等受体作物的化感效应. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 36 (10): 146 - 157.
- Yang Mei-sen, Wang Ya-fang, Gan Xiu-xia, Luo Hong-hai, Zhang Ya-li, Zhang Wang-feng. 2012. Effects of exogenous nitric oxide on growth, antioxidant system and photosynthetic characteristics in seedling of cotton cultivar under chilling injury stress. *Scientia Agricultura Sinica*, 45 (15): 3058 - 3067. (in Chinese)
- 杨美森, 王雅芳, 干秀霞, 罗宏海, 张亚黎, 张旺锋. 2012. 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*, 45 (15): 3058 - 3067.
- Yu J. Q, Matsui Y. 1996. Effect of root exudates of cucumber and allelopathicals on the ion uptake by cucumber seedling. *J Chem Ecol*, 6: 817 - 834.
- Zhang Zhi-liang, Qu Wei-jing, Li Xiao-fang. 2009. *Laboratory guide of plant physiology*. 4rd ed. Beijing: Higher Education Press. (in Chinese)
- 张志良, 瞿伟菁, 李小方. 2009. *植物生理学实验指导*. 第4版. 北京: 高等教育出版社.
- Zhu J K. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Physiol Mol Biol*, 53: 247 - 273.