

外源一氧化氮对低温下黄瓜幼苗光系统II原初光化学反应及光合机构活性的影响

吴佩, 崔金霞*, 杨志峰, 张文博

石河子大学农学院园艺系, 新疆生产建设兵团特色果蔬栽培生理与种质资源利用重点实验室, 新疆石河子832000

摘要: 采用室内人工模拟低温逆境的方法, 研究硝普钠(SNP, NO供体)预处理对低温(昼10°C/夜6°C)胁迫下冷敏感品种‘津研四号’和较耐冷品种‘津优一号’黄瓜(*Cucumis sativus*)幼苗叶片快速叶绿素荧光动力学曲线及叶绿素荧光参数的影响, 探讨了NO对低温胁迫下黄瓜叶片光系统II (PSII)原初光化学反应的保护效应, 为低温下NO保护黄瓜PSII原初光化学反应的作用机理提供理论依据。结果表明: 与‘津研四号’相比, 低温对‘津优一号’放氧复合体(OEC)的损伤程度、次级电子受体 Q_A 的还原速率及电子传递效率的抑制作用更小; NO显著提高了低温胁迫下两品种黄瓜幼苗的最大光化学效率(F_v/F_m)、实际光化学效率(Y_{II})、光合电子传递速率(ETR)、光化学淬灭系数(q_p), 显著降低了PSII Q_A 的氧化还原状态($1-q_p$), 提高了反应中心捕获的电子传递到 Q_A 以后的效率(Ψ_o)、反应中心吸收的光能用于电子传递的量子产额(Ψ_{Eo})、光系统I (PSI)末端电子受体的还原能力(Ψ_{Ro})、反应中心密度(RC/CS_o)、PSII叶绿素分子作为反应中心起作用的概率(γ_{RC})、光合性能指数(PI_{ABS}), 降低了单位反应中心的光能吸收(ABS/RC)、单位反应中心的热能量耗散(DI_o/RC)、反应中心最大关闭速率(M_o)、单位反应中心的能量传递(ET_o/RC)、K相占J相的相对可变荧光(W_k)及低温24 h后‘津优一号’的J相可变荧光(V_j)、I相可变荧光(V_i)。说明低温胁迫下, 外源NO能够有效保护黄瓜幼苗OEC, 提高 Q_A 向次级电子受体 Q_B 的电子传递速率及质体醌(PQ)接受电子的能力, 使 Q_A 快速进入氧化状态, 促进电子传递顺利进行, 且NO对‘津优一号’的作用更为显著。

关键词: 黄瓜幼苗; 一氧化氮; 低温; 快速叶绿素荧光诱导动力学曲线

黄瓜(*Cucumis sativus*)是当前设施栽培的主要蔬菜种类之一, 属于喜光的冷敏感植物。黄瓜在我国北方日光温室冬春生产中经常遭遇低温冷害, 导致其生长受阻, 进而严重影响产量和品质(Puyaubert和Baudouin 2014)。因此, 研究黄瓜耐冷机制, 提高黄瓜的耐低温能力, 进而采取有效措施缓解低温对黄瓜的伤害, 对设施黄瓜栽培具有重要意义。

低温冷害是导致植物多种生理过程紊乱的主要因素, 而光合作用是对低温冷害最敏感的生理过程之一(Bilska和Sowiński 2010)。低温破坏植物光合器官的超微结构, 降低光合效率(Liu等2015; Hao等2016; Yang等2016), 包括类囊体膜上的光合电子流传递受阻以及荧光产量的变化等。快速叶绿素荧光诱导动力学技术作为评价植物光合机构是否受损的内在指标, 能比较准确地判断和研究环境因素如低温、光照、水分、盐、金属离子等(Yang等2018; Khoshbakht等2018)的变化以及植物生长发育的不同阶段对植物光合系统[光合系统I (PSI)、光合系统II (PSII)]影响的动态变化, 有助于探

明光合机构受损的部位(Murchie和Lawson 2013)。自Strasser等(1994)以生物膜的能量流动为基础建立高度简化的能量流动模型图以来, JIP分析得以广泛应用, 这种方法可以在光合机构水平上检测叶片在照光阶段所发生的分子过程, 包括相邻光合单元之间的能量迁移以及PSII和PSI的供体和受体位点之间的电子转移情况。Force等(2003)利用JIP分析发现低温下植物PSII功能受到抑制, 另外, 该方法还被用于研究干旱、盐渍、水涝对植物的影响(Khoshbakht等2018)。

利用外源物质提高植物的光合效率、增强植株的抗性已经在许多植物上得到应用。一氧化氮(NO)作为植物体内的信号分子和新型激素近年来备受关注(Fan等2014)。植物可以通过一氧化氮合酶和硝酸还原酶途径产生NO (Asgher等2017; Mur

收稿 2018-12-20 修定 2019-05-22

资助 国家自然科学基金(31560571)。

* 通讯作者(jinxiaocui77@163.com)。

等2013), 其具有调节植物生长发育、参与植物应答各种逆境胁迫的生理功能(Fancy等2017; Jian等2015)。Zhao等(2009)研究发现, 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)内源NO产生与低温驯化正相关, 并指出在冷应激反应中, NO合成的迅速增加伴随着冷应答基因的表达, 进而增强植物耐冷性, 近年来NO对低温下植物抗氧化系统影响的研究较多, 但对低温胁迫下NO缓解黄瓜幼苗光合机构受损程度及PSII氧化还原状态的研究鲜有报道。

本试验以两品种黄瓜幼苗为试材, 通过快速叶绿素荧光诱导动力学技术研究了低温胁迫下黄瓜幼苗光合机构的受损状态及PSII氧化还原状态, 并通过外源喷施NO供体硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)来研究NO对黄瓜幼苗光合系统的保护作用, 通过研究低温下两品种黄瓜幼苗光合系统的状态, 以期深入了解低温对黄瓜幼苗光合系统的伤害机制及在此过程中NO的缓解机制。

1 材料与方法

1.1 试验材料与处理

供试材料为冷敏感黄瓜(*Cucumis sativus* L.)品种‘津研四号’(山东祥云种业有限公司)和耐冷型黄瓜品种‘津优一号’(天津科润黄瓜研究所)。试验所用NO供体SNP购自Sigma公司, 草炭购自德国Floragard公司。

试验于2018年3~6月在石河子大学农学院特色果蔬栽培生理与种质资源利用实验室人工气候箱(Percival, 美国)中进行。挑选籽粒饱满、大小一致的黄瓜种子55°C浸种20 min, 室温浸泡6 h后在28°C的恒温箱内黑暗催芽24 h。将发芽一致的种子播于72孔穴盘, 每孔1粒, 气候箱内维持温度为昼28°C/夜18°C, 光照强度100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 光周期14 h/10 h。待两片子叶完全展开时移入装有基质(草炭、蛭石体积比2:1)的花盆(直径120 mm, 高110 mm), 每盆1株, 此时人工气候箱条件设置为昼26°C/14 h、夜18°C/10 h, 光照强度300 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 相对湿度昼75%/夜70%。于缓苗7 d后每隔4 d浇一次Hoagland营养液(1倍), 每次50 mL。待幼苗长至三叶一心时, 选取整齐一致的两品种幼苗各48株, 分成4组, 每组24株, 每处理重复6次, 于每天上午

10:00进行以下处理: T1, ‘津研四号’喷施蒸馏水; T2, ‘津研四号’喷施200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP; T3, ‘津优一号’喷施蒸馏水; T4, ‘津优一号’喷施200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SNP。

连续喷施药剂2 d后, 于第3天上午10:00对以上植株进行低温处理: 昼(10 \pm 1)°C/14 h、夜(6 \pm 1)°C/10 h, 光照强度100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 相对湿度昼75%/夜70%, 分别在低温24和48 h后对植株第二片叶进行相关指标的测定。采用双因素完全随机试验设计。

1.2 测定项目及方法

1.2.1 叶绿素荧光参数测定

黄瓜幼苗暗适应2 h后, 利用脉冲调制式叶绿素荧光成像系统MAX-Imaging-PAM测定黄瓜幼苗第二片真叶的PSII最大光化学效率(F_v/F_m)、实际光化学效率(Y_{II})、光化学淬灭系数(q_p)、PSII次级电子受体 Q_A 的氧化还原状态($1-q_p$)、光合电子传递速率(ETR)。

1.2.2 快速叶绿素荧光诱导动力学曲线的测定

参考Schansker等(2003)的方法并略有改动, 利用多通道植物效率仪M-PEA (Hansatech Instruments, Norfolk, 英国)测定叶片快速叶绿素荧光诱导动力学(O-J-I-P)曲线。叶片经2 h暗适应后暴露在饱和脉冲光(3 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)下, 荧光信号记录从10 μs 开始至3 s结束, 记录的初始速率为每秒 1×10^5 个数据, 绘制快速叶绿素荧光诱导动力学曲线。通过JIP分析叶片快速叶绿素荧光诱导动力学曲线, 可得到以下参数: 最小荧光(F_0)、最大荧光(F_m)、反应中心最大关闭速率(M_0)、单位反应中心的光能吸收(ABS/RC)、单位反应中心的热能量耗散(DI_0/RC)、单位反应中心的光能捕获(TR_0/RC)、单位反应中心的能量传递(ET_0/RC)、单位反应中心从 Q_A 到PSI末端的电子传递(RE_0/RC)、反应中心密度(RC/ CS_0)、反应中心捕获的电子传递到 Q_A 以后的效率(Ψ_0)、反应中心吸收的光能用于电子传递的量子产额(Ψ_{E_0})、PSII叶绿素分子作为反应中心起作用的概率(γ_{RC})、电子由次级电子受体 Q_B 传递到PSI末端电子受体的概率(δ_{R_0})、PSI末端电子受体的还原能力(Ψ_{R_0})、光合性能指数(PI_{ABS})。

1.3 数据统计分析

采用Excel 2010软件进行数据统计, R语言(Mango, 英国)软件进行数据分析($P < 0.05$), Origin 7.5软件绘图。

2 实验结果

2.1 低温胁迫下外源NO对黄瓜幼苗叶绿素荧光参数的影响

图1-A展示了低温胁迫下不同处理诱导的 F_v/F_m 图像颜色及数值的变化, 颜色从蓝色到黄绿色表示 F_v/F_m 的比率降低。随着低温胁迫时间延长, 图像由蓝色变为黄绿色, NO预处理后, 两品种之间表现出一致的趋势。低温胁迫下, 与T1相比, T3具有更多的蓝色区域(24 h)和绿色区域(48 h)。两品种SNP

处理(T2、T4)图像较各自清水处理(T1、T3)具有更多的蓝色区域(24 h)和更少的黄绿色区域(48 h)。

图1-A显示了 F_v/F_m 的数值, 随着低温处理时间延长, F_v/F_m 呈整体下降趋势, SNP处理能够增加 F_v/F_m 值。低温胁迫24 h, T2与T1之间差异显著, 与T3相比, T4的 F_v/F_m 显著增加16.3%; 低温48 h后, T2与T1、T4与T3相比, F_v/F_m 分别显著增加41.6%和32.8%, F_v/F_m 的图像与值的变化趋势相一致。图2-A表明, Y_{II} 在处理期间也呈下降趋势, 低温胁迫24 h后, T2较T1、T4较T3分别显著增加14.3%和12.9%; 低温处理48 h后, T2较T1显著升高27.8%, 与T3相比, T4显著升高1.04倍; 在整个处理期间, ETR表现出与 Y_{II} 相同的趋势, 低温24 h后, T2与T1、T4与T3相比分别显著增加13%和13.5%; 低温48 h后, 与T1

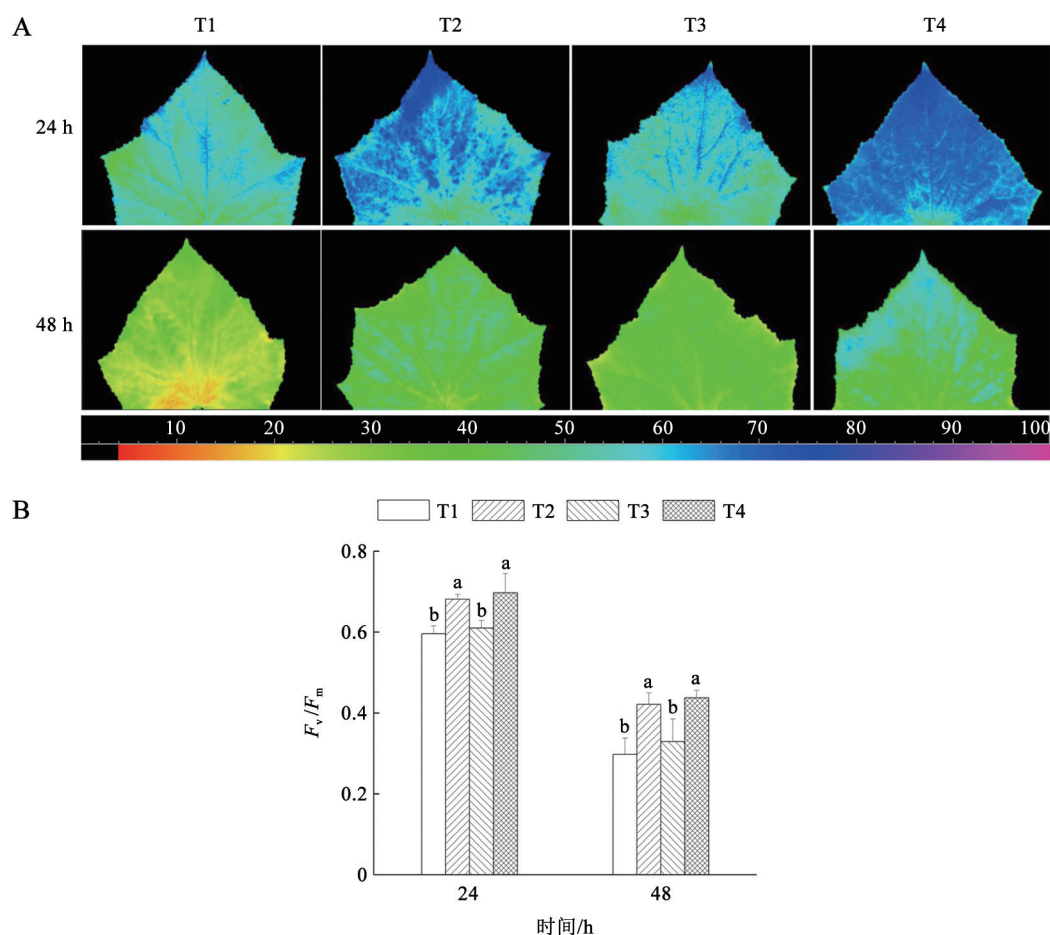


图1 低温胁迫下NO对黄瓜幼苗 F_v/F_m 的影响

Fig.1 Effect of NO on F_v/F_m in cucumber seedlings under chilling stress

A: F_v/F_m 荧光图像; B: F_v/F_m 数值。同一时间柱形上用不同小写字母标识表示差异显著($P < 0.05$), 图2和4同。

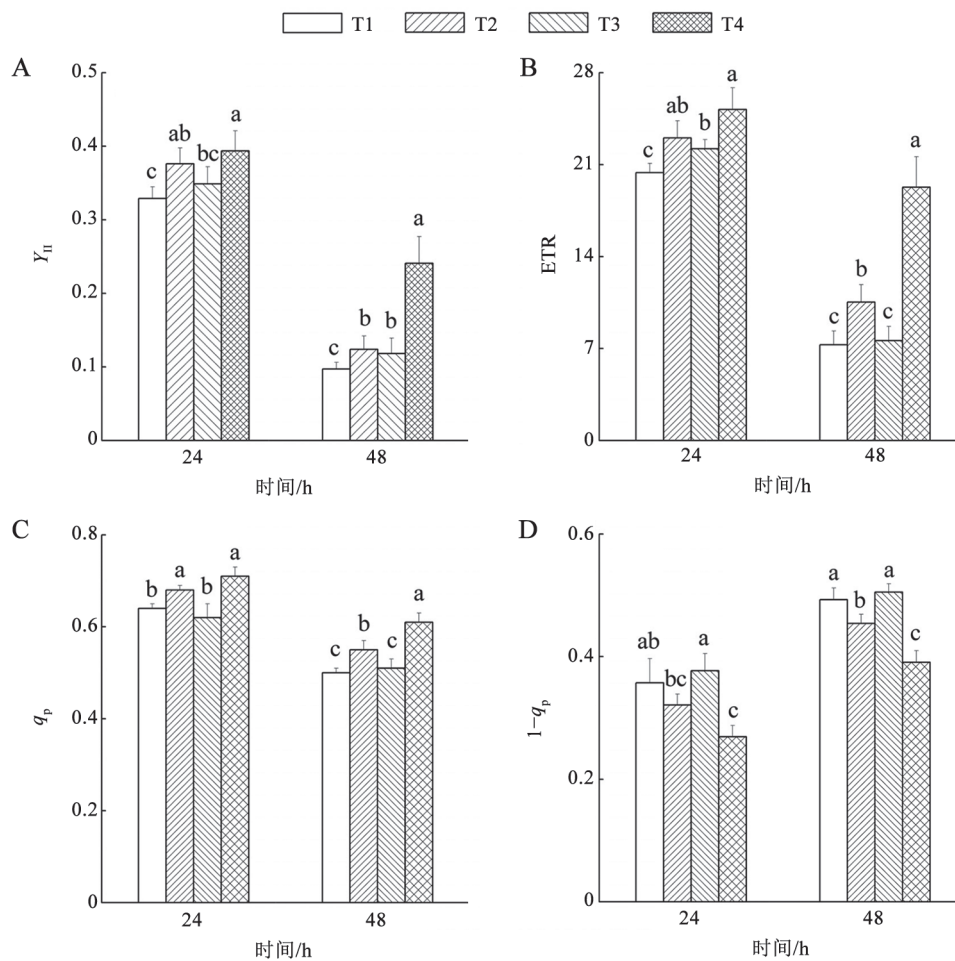


图2 低温胁迫下NO对黄瓜幼苗叶绿素荧光参数的影响

Fig.2 Effect of NO on chlorophyll fluorescence parameters in cucumber seedlings under chilling stress

相比, T2显著增加44.8%, 与T3相比, T4显著增加1.53倍(图2-B)。 q_p 在处理期间也呈下降趋势, T2与T1、T4与T3相比于低温处理24 h后分别显著增加6.25%和14.5%, 于低温48 h后分别显著增加10.3%和19.6% (图2-C)。 $1-q_p$ 反映PSII Q_A 的氧化还原状态, 随低温胁迫时间延长, $1-q_p$ 呈升高趋势, 与T1相比, T2在低温48 h后显著降低7.9%; 与T3相比, T4在低温24和48 h后分别显著降低28.6%和22.6% (图2-D)。

2.2 低温胁迫下外源NO对黄瓜幼苗快速叶绿素荧光诱导的影响

2.2.1 对快速叶绿素荧光诱导曲线的影响

采用JIP分析了低温胁迫下不同黄瓜品种之间以及NO对黄瓜幼苗叶片光依赖性光合作用过程的

状态。植物在暗适应后, 记录3 s内的叶绿素荧光诱导曲线的变化, 如图3-A和B所示。在整个处理期间, T1与T3的O点无明显差异, 低温24 h后, T4的O点处于最低点; 低温48 h, T2与T1、T4与T3相比, 其O点相对较低; P点在处理期间呈降低趋势, T1、T3的P点在处理24 h无明显差异, 但在处理48 h后T3较T1大; T2与T1、T4与T3相比P点于整个处理期间相对较高。在低温24 h后, T2、T4于I点以后快速增加, 直至P点达到最大值; 而低温48 h后, 虽然T2、T4的变化趋势与24 h相同, 但各处理曲线均无下降趋势, 即还未达到真正的P点。为了更好地分析快速叶绿素荧光诱导曲线形状的差异, 我们对曲线进行双标准化(F_o 和 F_m), 如图3-C和D所示。通过这种方式, 我们可以清楚地看到各处理中间诱

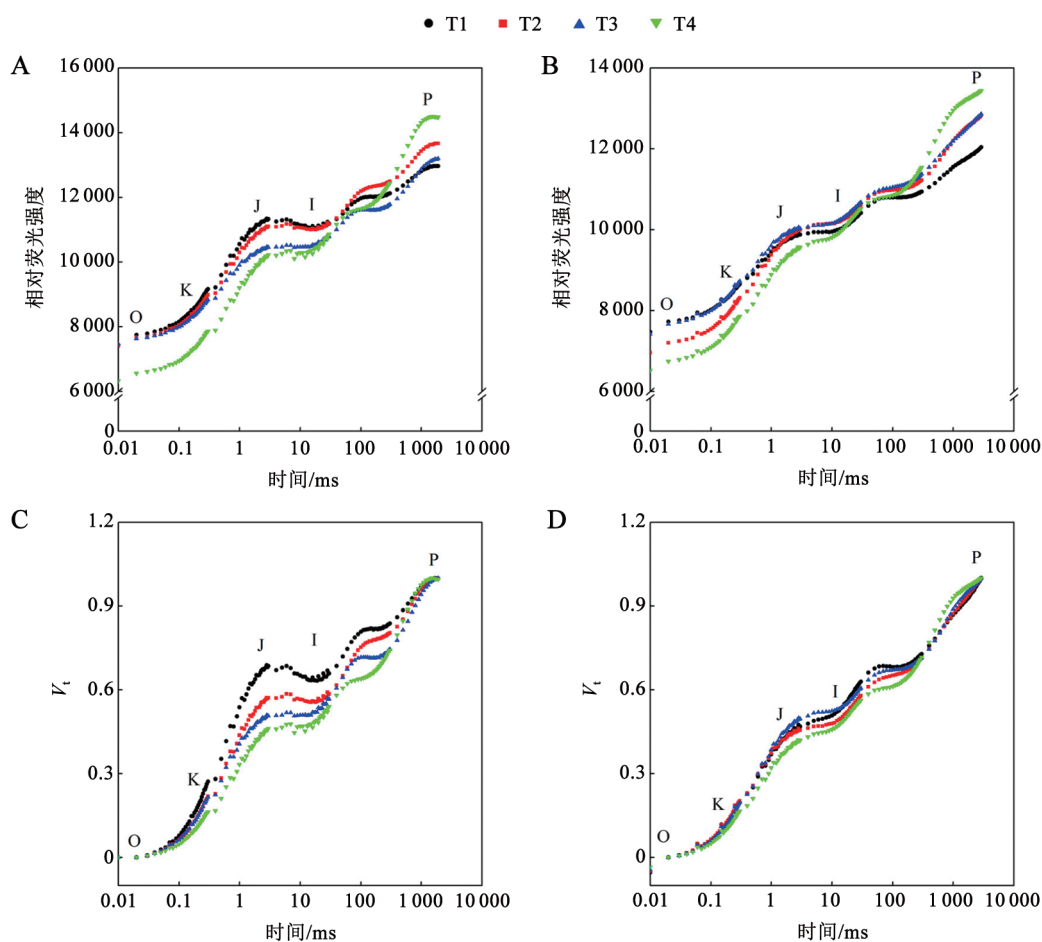


图3 低温胁迫下NO对黄瓜幼苗快速叶绿素荧光诱导动力学曲线的影响

Fig.3 Effect of NO on rapid chlorophyll fluorescence induction kinetic curves in cucumber seedlings under chilling stress

A和C: 低温24 h; B和D: 低温48 h。

导阶段的差异, 与T1相比, T3的J点(2 ms)较低; T2与T1、T4与T3相比, J点降低; I点(30 ms)表现出与J点相同的变化趋势, 但I点以后, T2、T4增幅变大, 并且这种差异在低温24 h后更为明显。

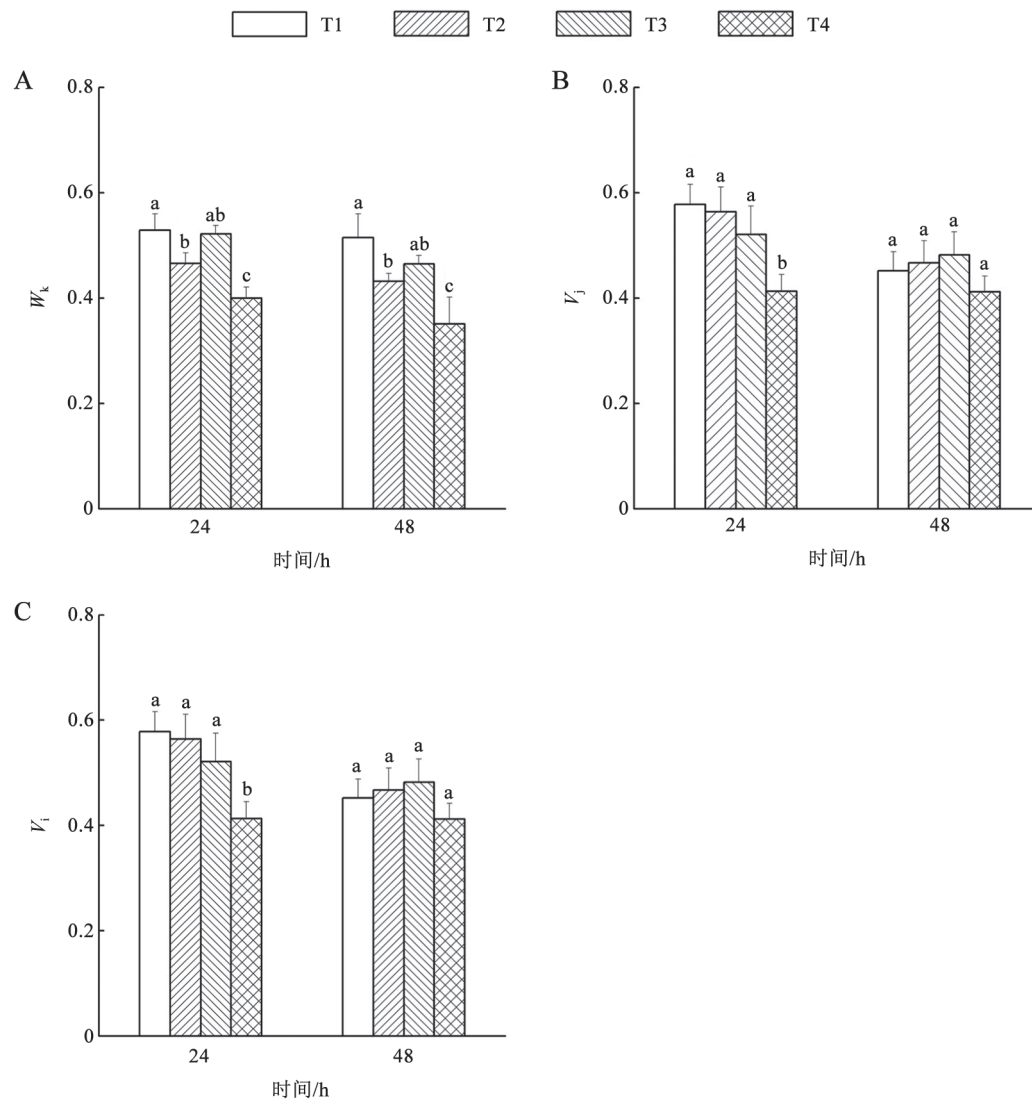
2.2.2 对 W_k 、 V_j 和 V_i 的影响

如图4所示, 低温胁迫下 W_k 、 V_j 和 V_i 随低温时间延长均呈现下降的趋势。低温24和48 h后, T2与T1、T4与T3相比, W_k 均显著降低; V_j 、 V_i 于低温胁迫下表现出相同的趋势, 低温24 h后, 与T3相比, T4的 V_j 和 V_i 分别显著降低20.7%和20.9%, 其余处理之间差异不显著。

2.2.3 对比活性参数的影响

通过对快速叶绿素荧光诱导曲线进行JIP分析

可以计算出与每个PSII反应中心相关的比能量通量: 低温期间T1和T3的ABS/RC没有明显差异; 低温24 h后T2与T1相比ABS/RC降低10%, 低温48 h后降低16%; 低温24 h后T4与T3相比ABS/RC降低11.2%, 低温48 h后降低21%。低温期间T1和T3的 DI_0/RC 差异不明显; 低温24 h后T2与T1相比 DI_0/RC 降低8%, 低温48 h后降低21.5%; 低温24 h后T4与T3相比 DI_0/RC 降低7.3%, 低温48 h后降低34%。各处理的 TR_0/RC 在低温期间没有明显差异。T3的 ET_0/RC 在低温24 h后明显低于T1, 低温48 h后没有明显差异; 低温24和48 h后T2与T1相比 ET_0/RC 明显降低; 低温24 h后T4与T3相比 ET_0/RC 明显降低, 低温48 h后降低幅度较小。T3的 RE_0/RC 在低温24

图4 低温胁迫下NO对黄瓜幼苗 W_k 、 V_j 和 V_i 的影响Fig.4 Effect of NO on W_k , V_j and V_i in cucumber seedlings under chilling stress

h后明显低于T1, 低温48 h后没有明显差异;与T1相比, T2的 RE_o/RC 在低温24 h后降低明显, 48 h后两者差距与24 h后接近;与T3相比, T4的 RE_o/RC 在低温24 h后也有明显降低, 48 h后两者差距与24 h后接近。低温24 h后, T3的 RC/CS_o 高于T1 20%, 低温48 h后两者差异不明显;低温24 h后T2与T1相比 RC/CS_o 增加非常明显, 低温48 h后增幅有所减小, 但依然较大;低温24 h后T4与T3相比 RC/CS_o 增加较多, 低温48 h后增幅略减小(图5)。

2.2.4 对PSII量子产量及光合性能参数的影响

低温24 h后T3比T1的 M_o 低27%; T2与T1相比,

低温24 h后 M_o 降低43%, 低温48 h后无明显差异; T4与T3相比, 低温24 h后 M_o 降幅较大, 低温48 h后降幅缩小。与T1相比, T3的 Ψ_{R_o} 在低温期间没有明显差异;低温24或48 h后, T1与T2的 Ψ_{R_o} 没有明显差异, 而T4的 Ψ_{R_o} 明显高于T3。T1和T3的 Ψ_o 在低温期间没有明显差异;低温24 h后T2的 Ψ_o 比T1明显增加8.4%, T4比T3明显增加17.1%;低温48 h后没有明显差异。低温期间T1和T3的 Ψ_{E_o} 之间没有明显差异;低温24 h后, T2的 Ψ_{E_o} 较T1增加, T4较T3增加;低温48 h后, 差异消失。与T1相比, T3的 γ_{RC} 在低温24 h后较高, 低温48 h后差异消失;低温24 h后, T2

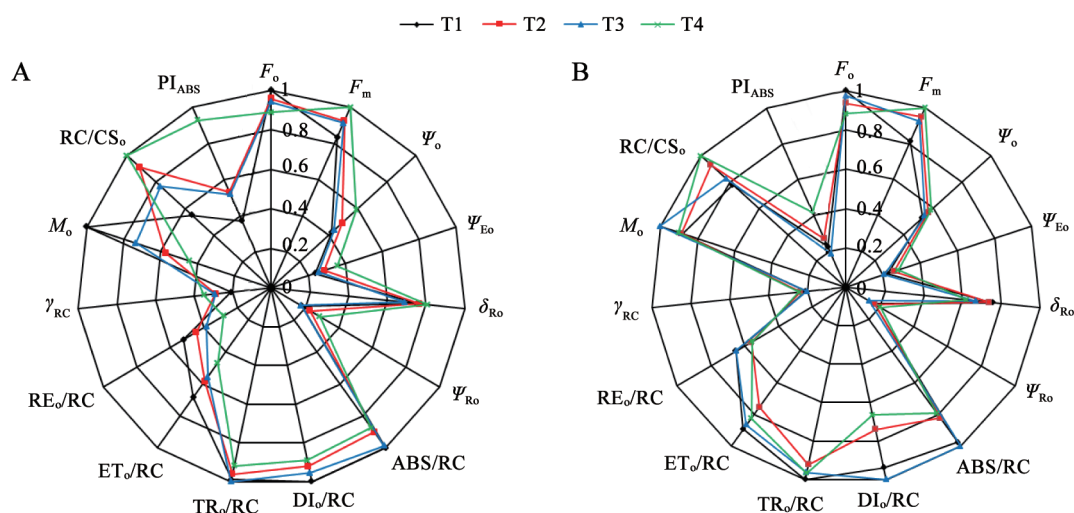


图5 低温胁迫下NO对黄瓜幼苗JIP参数的影响

Fig.5 Effect of NO on JIP parameters in cucumber seedlings under chilling stress

A: 低温24 h; B: 低温48 h。 F_0 : 最小荧光; F_m : 最大荧光; Ψ_0 : 反应中心捕获的电子传递到 Q_A 以后的效率; Ψ_{E0} : 反应中心吸收的光能用于电子传递的量子产额; δ_{R0} : 电子由 Q_B 传递到PSII末端电子受体的概率; Ψ_{R0} : PSII末端电子受体的还原能力; ABS/RC: 单位反应中心的光能吸收; DI_0/RC : 单位反应中心的热能量耗散; TR_0/RC : 单位反应中心捕获的光能; ET_0/RC : 单位反应中心的能量传递; RE_0/RC : 单位反应中心从 Q_A 到PSII末端的电子传递; γ_{RC} : PSII叶绿素分子作为反应中心起作用的比例; M_0 : Q_A 被还原的最大速率; RC/CS₀: 活性PSII反应中心的密度; PI_{ABS} : 光合性能指数。

的 γ_{RC} 比T1有所增加, T4与T3相比略有增加; 低温48 h后各处理之间没有明显差异。对于 δ_{R0} , 除低温24 h后T4较T3明显增加外, 其余处理在低温期间没有明显差异。T3的 PI_{ABS} 在低温24 h后明显高于T1, 低温48 h后反而比T1略低; 低温24 h后, T2的 PI_{ABS} 与T1相比增幅明显, 低温48 h后增幅缩小; 低温48 h后, T4的 PI_{ABS} 与T3相比有较大增幅, 低温48 h后增幅缩小但差别依然明显(图5)。

2.2.5 对 F_0 、 F_m 的影响

在低温24和48 h后, T1和T3的 F_0 差异较小; 与T1相比, T2的 F_0 在低温24 h后降低5%, 在低温48 h后降低7%; 与T3相比, T4的 F_0 在低温24 h后降低6.4%, 在低温48 h后降低9.3%。与T1相比, T3的 F_m 在低温24 h后明显较高, 低温48 h后差异变大; 与T1相比, T2的 F_m 在低温24 h后增加10.8%, 低温48 h后增加17.3%; 与T3相比, T4的 F_m 在低温24 h后增加增加明显, 低温48 h后增幅略变小(图5)。说明NO能有效降低两品种黄瓜叶片 F_0 和反应中心关闭程度, 增加 F_m , 而低温48 h后, 黄瓜叶片受损严重, NO对‘津优一号’反应中心关闭率的影响较‘津研四号’明显。

3 讨论

植物能够通过激发不同的防御机制来应对生物和非生物胁迫, 在植物受到胁迫时, 能够迅速识别外界刺激, 并产生和传递信号(Wang等2015; 邵瑞鑫等2016)。PSII是光化学中对低温最敏感的组分, 因此提高PSII的原初光化学反应及保护光合机构有助于提高植物的低温耐受性(Wang等2016a, b)。叶绿素荧光诱导动力学是利用植物逆境下所发出的具有丰富光合作用信息的荧光信号, 来判定其叶片PSII受损程度、PSII受损的部位及光合电子传递情况(刘超等2014; Wang等2016a, b; Zheng等2015)。

低温胁迫使 F_0/F_m 、 q_p 下降, $1-q_p$ 上升, 表明低温造成植物PSII部分失活或伤害(Demmig等1987), PSII反应中心通过电荷分离进行原初光化学反应, 产生的去激发能力减弱(van Kooten和Snel 1990), 使植物激发能的压力过高, 导致植物光化学反应能力较弱。而外源NO可提高低温胁迫下黄瓜(樊怀福等2011)、玉米(*Zea mays*) (王芳等2017)幼苗的 F_0/F_m , 保持叶片PSII较高的光化学效率和量子产额, 杨美森等(2012)研究发现NO可以有效缓解

低温对植物叶片PSII反应中心造成的伤害。本研究发现,两品种黄瓜幼苗叶片的荧光参数表现出相同的趋势,SNP预处理能通过缓解低温对黄瓜幼苗PSII的伤害,提高PSII反应中心原初光化学反应效率,进而降低黄瓜反应中心的激发能压力,使得光合电子顺利传递,从而引起 Y_{II} 升高。

快速叶绿素荧光诱导动力学曲线不仅与PSII中的氧化还原反应直接相关,而且与整个光合电子传递链中的氧化还原反应直接相关,JIP的应用能够分析PSII的重要能量特征的变化以及植物体在胁迫诱导下的光合作用(Strasser等2004)。典型的快速叶绿素荧光诱导动力学曲线呈现O、J、I、P相,当植物遭遇低温胁迫,其PSII供体侧反应中心放氧复合体(oxygen-evolving complex, OEC)受到伤害时,叶绿素荧光会在极短时间内迅速上升,在J点之前出现K点(刘倩倩等2016)。叶绿素荧光诱导动力学曲线的K点、J点、I点和IP相分别与OEC、 Q_A 、质体醌(plastoquinone, PQ)和PSI电子受体侧末端接受体的还原状态(慢还原性PQ库的还原状态)有关(Lazár 2006),O点和P点则分别代表植物PSII反应中心全部开放时的初始荧光 F_0 和PSII反应中心全部关闭时的 F_m 。 F_0 反映PSII的能量捕获效率情况,其升高说明PSII反应中心破坏或可逆失活,而 F_m 是一个相对复杂的参数,它取决于植物叶片的组织特征(包括叶绿体的受损情况),由叶片叶绿素荧光的光化吸收、反射和重吸收决定(Paunov等2018)。我们的研究显示,低温胁迫对较耐冷品种‘津优一号’的OEC受损程度较轻,其 Q_A 向 Q_B 的电子传递速率较高,PQ接受电子的能力较大,使 Q_A 能快速进入氧化状态。外施NO后,分别与各自的清水处理相比,两黄瓜品种的 F_m 以及IP相升高, F_0 (除低温24 h后的‘津研四号’)、K点、J点降低,NO阻止了两品种黄瓜幼苗的 W_k 及低温24 h后‘津优一号’ V_j 、 V_i 的升高,说明NO能有效缓解黄瓜PSII反应中心及OEC的损坏程度,增加 Q_A 向 Q_B 的电子传递速率,加快PQ库的还原速率,进而提高其光合速率。NO对短时间低温胁迫后‘津优一号’光合电子传递速率的影响更为显著。另外,在我们的研究中,低温48 h后各处理均未达到真正的 F_m 。这可能是由长时间低温使得黄瓜叶片叶绿体结构受损,进而使黄

瓜叶片P700受体侧的Fd-NADP⁺还原酶未能及时激活(Schansker等2004)所导致的。

低温导致黄瓜光合作用下降主要是由于低温对类囊体造成的氧化破坏、阻碍光合电子传递、反应中心失活等造成的(郝辉芳等2017)。通过JIP分析可以对植物光合机构的比活性进行分析,比活性可以更确切地反映植物光合器官对光能的吸收、转化和耗散情况。我们研究发现,低温对‘津优一号’PSII反应中心的抑制作用较小,从而使其光合效率较高。与低温处理相比,低温后外施NO可以减少黄瓜对光能的吸收,并通过阻止低温胁迫下黄瓜幼苗活性PSII活性反应中心密度的降低以及增加叶绿素分子作为反应中心起作用的概率来提高黄瓜对光能的吸收和利用,这一研究与Dulai等(2011)在小麦(*Triticum aestivum*)上的研究结果相一致。此外,低温胁迫下,NO还能通过增加 Ψ_{E_0} 、 Ψ_0 、 Ψ_{R_0} 和 PI_{ABS} 来提高受体侧 Q_A 传递电子的能力以及PSI末端电子受体的还原能力,表现为有活性的反应中心的开放程度升高,PSII光合活性增大。

综上所述,本研究认为低温胁迫下‘津优一号’较‘津研四号’有更高的PSII活性及电子传递速率。外源NO能通过显著降低OEC的受损程度,增强 Q_A 的再氧化能力及PQ库的还原速率,增加黄瓜反应中心的密度、PSII叶绿素分子作为反应中心起作用的概率、PSI末端电子受体的还原能力及降低 $1-q_p$ 来降低黄瓜反应中心的激发能势,提高黄瓜的电子传递效率,实现对PSII原初光化学反应的增强效应,为卡尔文循环中CO₂的同化提供更多的还原力,从而提高黄瓜PSII的原初光化学反应。

参考文献(References)

- Asgher M, Per TS, Masood A, et al (2017). Nitric oxide signaling and its crosstalk with other plant growth regulators in plant responses to abiotic stress. *Environ Sci Pollut Res*, 24 (3): 2273–2285
- Bilska A, Sowiński P (2010). Closure of plasmodesmata in maize (*Zea mays*) at low temperature: a new mechanism for inhibition of photosynthesis. *Ann Bot*, 106 (5): 675–686
- Dulai S, Molnár I, Molnár-Láng M (2011). Changes of photosynthetic parameters in wheat/barley introgression lines during salt stress. *Acta Biol Szegediensis*, 55 (1): 73–75
- Fan H, Du C, Xu Y, et al (2014). Exogenous nitric oxide im-

- proves chilling tolerance of Chinese cabbage seedlings by affecting antioxidant enzymes in leaves. *Hortic Environ Biotechnol*, 55 (3): 159–165
- Fan HF, Du CX, Zhu ZJ (2011). Effects of exogenous nitric oxide on plant growth, membrane lipid peroxidation and photosynthesis in cucumber seedling leaves under low temperature. *Acta Agr Zhejiangensis*, 23 (3): 538–542 (in Chinese with English abstract) [樊怀福, 杜长霞, 朱祝军(2011). 外源NO对低温胁迫下黄瓜幼苗生长、叶片膜脂过氧化和光合作用的影响. *浙江农业学报*, 23 (3): 538–542]
- Fancy NN, Bahlmann AK, Loake GJ (2017). Nitric oxide function in plant abiotic stress. *Plant Cell Environ*, 40: 462–472
- Force L, Critchley C, van Rensen JJS (2003). New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. 1. The effect of illumination on the fluorescence parameters of the JIP-test. *Photosynth Res*, 78 (1): 17–33
- Hao H, Fan Y, Li S (2017). Effects of cold acclimation on chilling tolerance and leaf ultrastructure in cotton seedlings. *Cotton Sci*, 29 (3): 268–273 (in Chinese with English abstract) [郝辉芳, 范月仙, 李生泉(2017). 低温锻炼对冷胁迫下棉花叶片细胞超微结构的影响. *棉花学报*, 29 (3): 268–273]
- Hao J, Gu F, Zhu J, et al (2016). Low Night temperature affects the phloem ultrastructure of lateral branches and raffinose family oligosaccharide (RFO) accumulation in RFO-transporting plant melon (*Cucumis melo* L.) during fruit expansion. *PLoS ONE*, 11 (8): e0160909
- Jian W, Zhang DW, Zhu F, et al (2015). Nitrate reductase-dependent nitric oxide production is required for regulation alternative oxidase pathway involved in the resistance to *Cucumber mosaic virus* infection in *Arabidopsis*. *Plant Growth Regul*, 77 (1): 99–107
- Khoshbakht D, Asghari MR, Haghghi M (2018). Effects of foliar applications of nitric oxide and spermidine on chlorophyll fluorescence, photosynthesis and antioxidant enzyme activities of citrus seedlings under salinity stress. *Photosynthetica*, 56 (4): 1313–1325
- Lázár D (2006). The polyphasic chlorophyll *a* fluorescence rise measured under high intensity of exciting light. *Funct Plant Biol*, 33 (1): 9–30
- Liu C, Yuan Y, Gai SP, et al (2014). Effects of strong light coupled with high temperature treatment on energy transfer between PSII and PSI in tree peony leaves. *Acta Hortic Sin*, 41 (2): 311–318 (in Chinese with English abstract) [刘超, 袁野, 盖树鹏等(2014). 强光高温交叉胁迫对牡丹叶片PSII和PSI之间能量传递的影响. *园艺学报*, 41 (2): 311–318]
- Liu QQ, Ma SB, Feng XH, et al (2016). Effects of grafting on the fast chlorophyll fluorescence induction dynamics of pepper seedlings under temperature stress. *Acta Hortic Sin*, 43 (5): 885–896 (in Chinese with English abstract) [刘倩倩, 马寿宾, 冯希环等(2016). 嫁接对高温和低温胁迫下辣椒幼苗快速叶绿素荧光诱导动力学特性的影响. *园艺学报*, 43 (5): 885–896]
- Liu YF, Zhang GX, Qi MF, et al (2015). Effects of calcium on photosynthesis, antioxidant system, and chloroplast ultrastructure in tomato leaves under low night temperature stress. *J Plant Growth Regul*, 34 (2): 263–273
- Mur LAJ, Mandon J, Persijn S, et al (2013). Nitric oxide in plants: an assessment of the current state of knowledge. *AoB Plants*, 5 (1): pls052
- Murchie EH, Lawson T (2013). Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. *J Exp Bot*, 64 (13): 3983–3998
- Paunov M, Koleva L, Vassilev A, et al (2018). Effects of different metals on photosynthesis: cadmium and zinc affect chlorophyll fluorescence in durum wheat. *Int J Mol Sci*, 19 (3): 787
- Puyaubert J, Baudouin E (2014). New clues for a cold case: nitric oxide response to low temperature. *Plant Cell Environ*, 37 (12): 2623–2630
- Schansker G, Srivastava A, Govindjee, et al (2003). Characterization of the 820-nm transmission signal paralleling the chlorophyll *a* fluorescence rise (OJIP) in pea leaves. *Funct Plant Biol*, 30 (7): 785–796
- Schansker G, Tóth SZ, Strasser RJ (2004). Methylviologen and dibromothymoquinone treatments of pea leaves reveal the role of photosystem I in the Chl *a* fluorescence rise OJIP. *Biochim Biophys Acta*, 1706 (3): 250–261
- Shao RX, Li LL, Zheng HF, et al (2016). Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis of maize seedlings under drought stress. *Sci Agr Sin*, 49 (2): 251–259 (in Chinese with English abstract) [邵瑞鑫, 李蕾蕾, 郑会芳等(2016). 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*, 49 (2): 251–259]
- Strasser RJ, Srivastava A, Govindjee (1994). Polyphasic chlorophyll *a* fluorescence transient in plants and cyanobacteria. *Photochem photobiol*, 61: 32–42
- Strasser RJ, Tsimilli-Michael M, Srivastava A (2004). Analysis of the chlorophyll *a* fluorescence transient. In: Papageorgiou GC, Govindjee (eds). *Chlorophyll *a* Fluorescence*. Dordrecht: Springer, 321–362
- van Kooten O, Snel JFH (1990). The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynth Res*, 25 (3): 147–150
- Wang D, Liu Y, Tan X, et al (2015). Effect of exogenous nitric oxide on antioxidative system and S-nitrosylation in leaves of *Boehmeria nivea* (L.) Gaud under cadmium

- stress. *Environ Sci Pollut Res*, 22 (5): 3489–3497
- Wang F, Li YS, Peng YL, et al (2017). Effects of exogenous nitric oxide on low temperature stress of maize seedlings. *Agr Res Arid Areas*, 35 (4): 270–275 (in Chinese with English abstract) [王芳, 李永生, 彭云玲等(2017). 外源一氧化氮对玉米幼苗抗低温胁迫的影响. *干旱地区农业研究*, 35 (4): 270–275]
- Wang LZ, Wang LM, Xiang HT, et al (2016 a). Relationship of photosynthetic efficiency and seed-setting rate in two contrasting rice cultivars under chilling stress. *Photosynthetica*, 54 (4): 581–588
- Wang Z, Cao J, Jiang W (2016 b). Changes in sugar metabolism caused by exogenous oxalic acid related to chilling tolerance of apricot fruit. *Postharvest Biol Technol*, 114: 10–16
- Yang MS, Wang YF, Gan XX, et al (2012). Effects of exogenous nitric oxide on growth, antioxidant system and photosynthetic characteristics in seedling of cotton cultivar under chilling injury stress. *Sci Agr Sin*, 45 (15): 3058–3067 (in Chinese with English abstract) [杨美森, 王雅芳, 干秀霞等(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]
- Yang XL, Xu H, Li D, et al (2018). Effect of melatonin priming on photosynthetic capacity of tomato leaves under low-temperature stress. *Photosynthetica*, 56 (3): 884–892
- Zhao MG, Chen L, Zhang LL, et al (2009). Nitric reductase-dependent nitric oxide production is involved in cold acclimation and freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 151 (2): 755–767
- Zheng YL, Li WQ, Sun WB (2015). Effects of acclimation and pretreatment with abscisic acid or salicylic acid on tolerance of *Trigonobalanus doichangensis* to extreme temperatures. *Biol Plant*, 59 (2): 382–388

Effect of exogenous nitric oxide on primary photochemical reaction and photosynthetic activity of photosystem II in cucumber seedlings under chilling stress

WU Pei, CUI Jin-Xia*, YANG Zhi-Feng, ZHANG Wen-Bo

Department of Horticulture, College of Agronomy, Shihezi University; Xinjiang Production and Construction Corps Key Laboratory of Special Fruits and Vegetables Cultivation Physiology and Germplasm Resources Utilization, Shihezi, Xinjiang 832000, China

Abstract: The effect of sodium nitroprusside (SNP, a donor of NO) pretreatment on rapid chlorophyll fluorescence kinetic curves and chlorophyll fluorescence parameters of cucumber (*Cucumis sativus*) cold-sensitive cultivar 'Jinyan No. 4' and cold-tolerant cultivar 'Jingyou No. 1' seedlings under chilling (10°C/6°C, day/night) stress was studied. The protective effect of nitric oxide (NO) on the primary photochemical reaction of photosystem II (PSII) in cucumber leaves under chilling stress was discussed, providing a theoretical basis for the mechanism of NO protecting PSII primary photochemical reaction of cucumber at chilling stress. The results show that compare to 'Jinyan No. 4', there is less inhibition on the degree of damage of oxygen decomposition complex (OEC), the reduction rate of secondary electron acceptor Q_A and the inhibition of electron transport efficiency on 'Jingyou No. 1'. Pretreating with SNP of cucumber before chilling stress could significantly increase maximal photochemical efficiency (F_v/F_m), actual photochemical efficiency (Y_{II}), photosynthetic electron transport rate (ETR) and photochemical quenching coefficient (q_p), significantly reduced the redox state of Q_A ($1 - q_p$), improved probability that a trapped exciton moves an electron into the electron transport chain beyond Q_A (Ψ_o), quantum yield for electron transport from Q_A to plastoquinone (Ψ_{Eo}), quantum yield for reduction of end electron acceptors at the PSI acceptor side (Ψ_{Ro}), density of active PSII reaction centers (RC/CS_o), probability that PSII chlorophyll molecule functions as RC (γ_{RC}) and performance index of PSII based on absorption (PI_{ABS}), and reduced absorption flux per RC corresponding directly to its apparent antenna size-ratio between chlorophyll in antenna and chlorophyll in RC (ABS/RC), dissipated energy flux per RC at the initial moment of the measurement (DI_o/RC), approximated initial slope of the fluorescent transient (M_o), electron transport flux from Q_A to plastoquinone per RC (ET_o/RC), K-phase accounts for the relative variable fluorescence of J-phase (W_k) and relatively variable fluorescence of J-phase (V_j) and I-phase (V_i) of 'Jingyou No. 1' under chilling stress for 24 h. It indicates that exogenous NO can effectively protect the oxygen release complex (OEC) in cucumber seedlings, and improve the electron transfer rate of Q_A to Q_B and the ability of plastoquinone to accept electrons. In consequence, Q_A can quickly enter the oxidation state and promote the smooth transfer of electrons. The effect of NO on 'Jingyou No. 1' is more significant.

Key words: cucumber seedling; nitric oxide; chilling; rapid chlorophyll fluorescence induction kinetic curve

Received 2018-12-20 Accepted 2019-05-22

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31560571).

*Corresponding author (jinxiacui77@163.com).