

## 抗氧化系统参与水杨酸诱导烟草幼苗抗冷性提高的生化机制

孔春艳<sup>1,2</sup>, 赵 静<sup>1</sup>, 徐照丽<sup>3</sup>, 龚 明<sup>1\*</sup>

1. 云南师范大学生命科学学院/生物能源持续开发利用教育部工程研究中心/云南省生物质能与环境生物技术重点实验室, 云南昆明 650500; 2. 云南省农业科学院甘蔗研究所, 云南开远 661699; 3. 云南省烟草农业科学研究院, 云南昆明 650021

**摘 要:** 烟草苗期冷害是影响烟草农业生产的一个重要问题, 通过各种农艺措施来提高烟苗抗冷性有重要的实际意义。以 2 个烟草主栽品种‘云烟 97’和‘K326’为材料, 用浓度为 0、0.5、1.0、1.5 mmol/L 的水杨酸 (SA) 对其幼苗进行预处理后进行 10℃ 的低温处理 12 d。结果表明, 与未处理的对照相比, SA 预处理能显著降低‘云烟 97’和‘K326’幼苗在低温胁迫过程中叶片的丙二醛 (MDA) 含量和电解质渗漏率, 减缓干物质的消耗速度, 增加叶绿素含量和增强根系活力, 改善幼苗的根长、表面积、体积和根尖数, 促进根系的生长, 最终提高烟草幼苗的抗冷性。不同品种有不同的适宜的 SA 浓度, ‘云烟 97’的最适浓度为 1.5 mmol/L, ‘K326’的最适浓度为 1.0 mmol/L; SA 预处理后, 与未预处理的对照相比, 在进入低温处理前和低温处理期间, 烟草幼苗抗氧化系统中的主要抗氧化剂还原型抗坏血酸 (ASA) 和谷胱甘肽 (GSH) 含量均保持在较高的水平, 而氧化型 ASA 和 GSH 含量则保持在较低水平, 还原型抗氧化剂在总抗氧化剂中的比例提高; 主要的抗氧化酶抗坏血酸过氧化物酶 (APX)、过氧化氢酶 (CAT)、愈创木酚过氧化物酶 (GPX)、谷胱甘肽还原酶 (GR) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 均保持较高的活性。这些结果表明, SA 预处理后, 与未处理对照相比, 烟草幼苗均能保持较高的还原型抗氧化剂水平和抗氧化酶活力, 并且在低温胁迫期间依然能维持较高的抗氧化能力, 这是 SA 处理能诱导烟草幼苗抗冷性提高的重要生化基础。研究结果不仅对烟草抗冷育苗有参考意义, 也对其他农作物、蔬菜的育苗和早期栽培有借鉴作用。

**关键词:** 烟草幼苗; 水杨酸; 低温胁迫; 抗冷性; 抗氧化系统

中图分类号: S572 文献标识码: A

## Involvement of Antioxidant System in Salicylic Acid Induced-Chilling Resistance and Biochemical Mechanism in Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) Seedlings

KONG Chunyan<sup>1,2</sup>, ZHAO Jing<sup>1</sup>, XU Zhaoli<sup>3</sup>, GONG Ming<sup>1\*</sup>

1. School of Life Sciences, Yunnan Normal University / Engineering Research Center of Sustainable development and Utilization of Biomass Energy of Ministry of Education / Key Laboratory of Biomass Energy and Environmental Biotechnology of Yunnan Province, Kunming, Yunnan 650500, China; 2. Sugarcane Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kaiyuan, Yunnan 661699, China; 3. Yunnan Academy of Tobacco Agricultural Sciences, Kunming, Yunnan 650021, China

**Abstract:** Chilling injury during tobacco seedling stage is an important problem affecting tobacco agricultural production, and enhancement of the chilling resistance by various agronomic measures has practical significance. In this study, using two main cultivars Yunyan97 and K326 as the experimental materials, the seedlings were pretreated with salicylic acid (SA) at concentrations 0, 0.5, 1.0 and 1.5 mmol/L. Then the pretreated seedlings were transferred to 10℃ for 12 days for chilling treatment. Compared with the control without SA pretreatment, the SA pretreatment could significantly reduce the malondialdehyde (MDA) content and ratio of electrolyte leakage, slowed down the consumed rate of dry matter, increased chlorophyll content and root vigor, improve root length, surface area, volume and number of roots,

收稿日期 2022-04-01; 修回日期 2022-05-19

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 31860062); 中国烟草总公司云南省公司科技计划项目 (No. 2011YN08, 2019530000241012)。

作者简介 孔春艳 (1993–), 女, 硕士, 研究实习员, 研究方向: 植物逆境生物学。\*通信作者 (Corresponding author): 龚 明 (GONG Ming), E-mail: gongming6307@163.com。

promoted the growth of root system under the chilling stress, and finally enhanced the chilling resistance of ‘Yunyan 97’ and ‘K326’ seedlings. The optimum SA concentration of different tobacco varieties varied, that for ‘Yunyan 97’ and ‘K326’ was 1.5 mmol/L and 1.0 mmol/L respectively. After the SA pretreatment, the content of reduced ascorbic acid (ASA) and glutathione (GSH) in the antioxidant defense system in the seedlings remained a higher level, but oxidized ASA and GSH maintained a lower level, and ratio of the reduced antioxidants in total antioxidants increased. Ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPX), glutathione reductase (GR) and superoxide dismutase (SOD) maintained high activities compared with the control before and during the chilling treatment. The results indicated that after the SA pretreatment, the seedlings could maintain higher reduced antioxidant level and antioxidant enzyme activity, and remain higher antioxidant capacity, which would lay an important biochemical foundation for SA-induced chilling resistance in tobacco seedlings. The results would not only have reference significance for raising chilling-resistant tobacco seedlings, but also referential value for culture of seedlings and early cultivation of other crops and vegetables.

**Keywords:** tobacco seedlings; salicylic acid; low temperature stress; chilling resistance; antioxidant defense system

**DOI:** 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.01.016

低温胁迫是限制植物地理分布、影响农作物产量和品质的主要环境因子之一<sup>[1]</sup>。烟草是喜温植物，对低温较为敏感，25~28℃是烟草生长的最适温度<sup>[2]</sup>。在烟草农业生产实践中，早春低温常常导致育苗期的烟草幼苗发生冷害，进而影响烟草大田移栽后的早生快发、大田生长及烟叶的产量和品质<sup>[3-4]</sup>。因此，通过各种农艺措施来提高烟草的抗冷性对烟草农业生产有重要意义。

水杨酸 (salicylic acid, SA) 是广泛存在于高等植物体内的一种小分子酚类物质，被大量应用于缓解植物低温胁迫<sup>[5-7]</sup>。已有研究表明，由各种抗氧化酶和抗氧化剂组成的细胞抗氧化系统在植物对低温胁迫响应与适应中起重要作用<sup>[8-9]</sup>。陈丹等<sup>[10]</sup>研究发现，SA 预处理对低温胁迫下蝴蝶兰具有缓解效应，能提高蝴蝶兰叶片中的叶绿素、抗坏血酸 (ASA) 和谷胱甘肽 (GSH) 含量，从而缓解低温胁迫对蝴蝶兰的伤害。辛慧慧等<sup>[11]</sup>研究表明，SA 预处理可以显著降低棉花幼苗叶片丙二醛 (MDA) 的积累，提高超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 和过氧化氢酶 (CAT) 的活性来适应低温环境。前期通过对烟草幼苗喷施不同浓度的 CaCl<sub>2</sub>、赤霉素 GA<sub>3</sub>、水杨酸和多效唑 (PP<sub>333</sub>) 进行预处理，比较了这 4 种化学调控剂对 10℃ 低温胁迫下烟草幼苗耐冷性及其光合生理特性的影响，结果表明，SA 综合效果最好<sup>[3]</sup>。SA 预处理能够有效缓解低温胁迫对烤烟幼苗的伤害，减少低温胁迫下幼苗叶片膜脂过氧化作用，降低质膜透性，提高 SOD 活性，增大脯氨酸的含量<sup>[3, 12]</sup>。

目前，有关 SA 诱导烟草幼苗抗冷性形成的生化途径和分子机制尚未完全清楚。此外，在烟草实

际生产中，烟草育苗都是在 大棚或温室里进行，育苗期遭遇寒潮时棚内温度一般都能保持在 10℃ 左右，但有关烟草幼苗低温处理实验通常在 4~5℃<sup>[2, 12]</sup>，难以准确模拟生产实践中烟草育苗期遭遇寒潮的实际情况。为此，本研究以生产上广泛应用的 ‘云烟 97’ 和 ‘K326’ 2 个主栽品种为材料，用浓度 0、0.5、1.0、1.5 mmol/L 的 SA 对三叶一心期的烟草幼苗进行预处理后进行 10℃ 的低温处理 12 d，测定烟草幼苗的多项耐冷性指标，并详细研究和比较 2 个烟草品种中还原型/氧化型抗坏血酸及谷胱甘肽含量的变化，以及 5 种重要的抗氧化酶活性变化，旨在进一步阐明 SA 诱导烟草幼苗抗冷性形成的生理基础和生化途径，为烟草抗冷育苗的实际生产奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验材料为烤烟 (*Nicotiana tabacum* L.) 主栽品种 ‘云烟 97’ 和 ‘K326’，按 (GB/T 25241.1—2010) 的方法进行漂浮育苗和管理<sup>[3]</sup>。

### 1.2 方法

1.2.1 SA 预处理及低温胁迫处理 将 ‘云烟 97’ 和 ‘K326’ 2 个品种的包衣种子在温室进行播种，采用漂浮育苗方式，温室温度为 25~28℃，自然光照。待幼苗长到三叶一心时，叶面分别喷施浓度为 0 (CK)、0.5、1.0、1.5 mmol/L 的水杨酸，每隔 4 d 喷施一次，共喷施 5 次。喷施时以全株淋湿，药液欲滴下为宜。最后一次喷完后让其生长 2 d，后转入人工气候室[光周期为 14 h/10 h，光照强度为 400 μmol/(m<sup>2</sup>·s)，室内湿度为 75%~80%] 进行 10℃ 低温处理 12 d，分别在处理的 0、6、12 d

测定电导率和根系活力, 并进行根系扫描, 后取叶片, 液氮速冻后保存在 $-80^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱, 用于后续各种测定<sup>[3]</sup>。

1.2.2 相对生长速率的计算 在低温处理的 0 d ( $t_1$ ) 和 12 d ( $t_2$ ) 分别取长势一致的幼苗 15 株, 每 5 株 1 个重复, 洗净晾干水分后杀青烘干, 称其干重, 用下述公式计算相对生长速率 (RGR)。

$$\text{RGR} = \frac{\ln(W_1) - \ln(W_2)}{t_2 - t_1}$$

式中:  $W_1$ 、 $W_2$  分别表示在时间  $t_1$  和  $t_2$  时的干重。

1.2.3 MDA 含量的测定 MDA 含量的测定采用硫代巴比妥酸 (TCA) 法, 参照赵世杰等<sup>[13]</sup>的方法。

1.2.4 叶片电解质渗漏率的测定 叶片电解质渗漏率的测定采用电导法, 参照李合生<sup>[14]</sup>的方法。

1.2.5 叶绿素含量的测定 叶绿素含量的测定根据王学奎<sup>[15]</sup>的方法, 用 95% 乙醇提取, 分光光度法测定。

1.2.6 根系活力的测定 根系活力的测定根据王学奎<sup>[15]</sup>的方法, 用 TTC 法测定。

1.2.7 抗氧化剂含量的测定 还原型抗坏血酸 (ASA)、氧化型抗坏血酸 (DHA)、还原型谷胱甘肽 (GSH)、氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 含量的测定参照本实验室方法<sup>[16]</sup>。

1.2.8 抗氧化酶含量的测定 愈创木酚过氧化物酶 (GPX)、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX)、谷胱甘肽还原酶 (GR) 酶液的提取参照李忠光等<sup>[17]</sup>的方法, GPX 测定按照 CHANCE 等<sup>[18]</sup>的方法, SOD 的测定采用氮兰四唑 (NBT) 还原法测定<sup>[19]</sup>, CAT 测定参照 AEBI<sup>[20]</sup>的方法, APX 测定参照 NAKANO 等<sup>[21]</sup>的方法, GR 测定参照 HALLIWELL 等<sup>[22]</sup>的方法。

### 1.3 数据处理

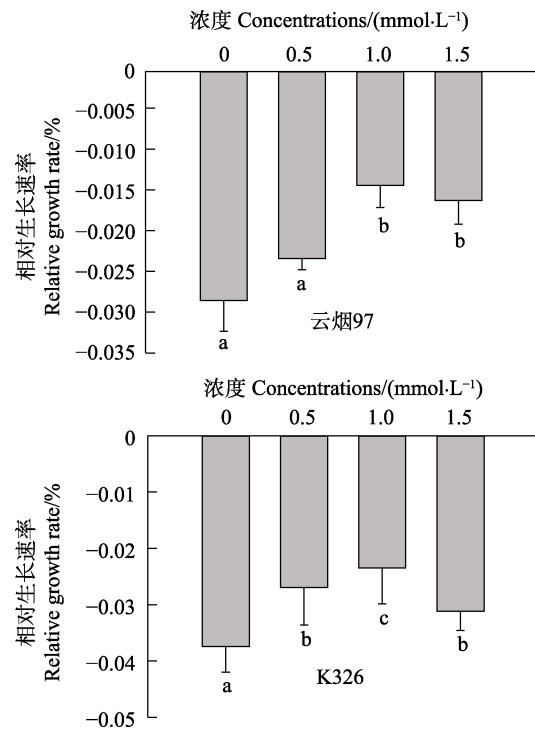
每组实验进行 3 次重复, 每个实验重复 2 次。数据用 SPSS 21.0 软件进行统计分析和  $t$  检验, 采用 SigmaPlot 12.0 软件作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 SA 预处理对低温胁迫下烟草幼苗相对生长速率的影响

如图 1 所示,  $10^{\circ}\text{C}$  低温显著抑制烟草幼苗的生长。‘云烟 97’ 和 ‘K326’ 在  $10^{\circ}\text{C}$  低温处理 12 d 后, 各处理的相对生长速率均呈负值, 表明在这

段时间, 烟草幼苗不但没有生长且干物质消耗量大于合成量。但经 SA 预处理后, 2 个品种幼苗的干物质消耗量显著低于对照 (0 mmol/L), 在 1.0 mmol/L SA 预处理下尤为明显。这些结果表明, SA 预处理能减缓烟草幼苗在低温胁迫下的干物质消耗速度 (图 1)。



不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ).

图 1 SA 预处理对  $10^{\circ}\text{C}$  低温胁迫下 ‘云烟 97’ 和 ‘K326’ 幼苗相对生长速率的影响

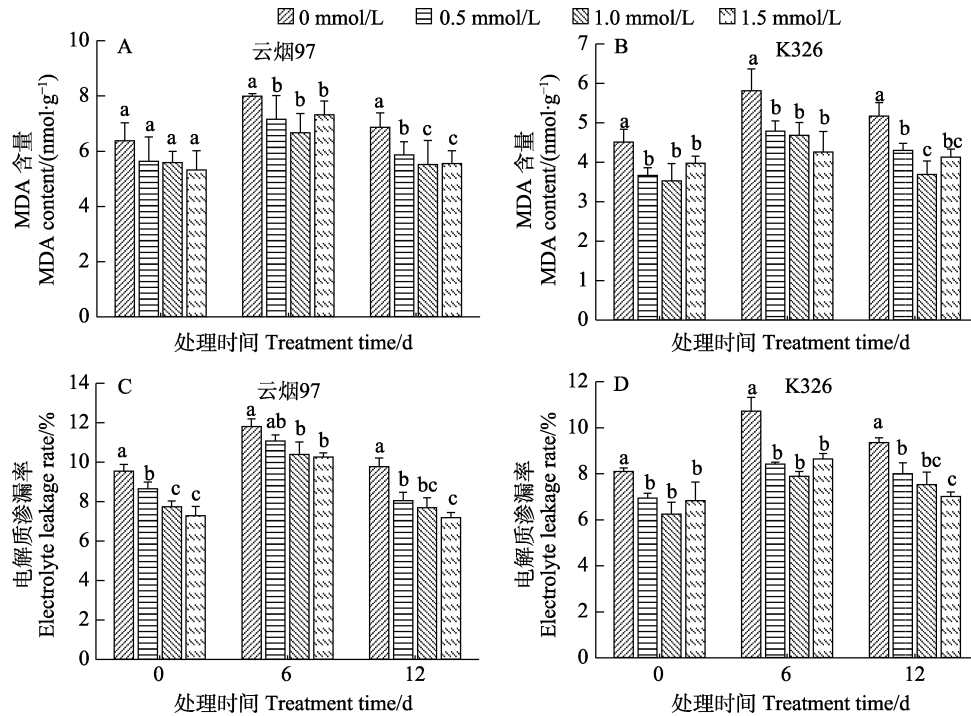
Fig. 1 Effect of SA pretreatment on relative growth rate of ‘Yunyan 97’ and ‘K326’ seedlings under low temperature stress at  $10^{\circ}\text{C}$

### 2.2 SA 预处理对低温胁迫下烟草幼苗 MDA 含量和电解质渗漏率的影响

MDA 含量和电解质渗漏率是衡量植物在低温胁迫下细胞膜受损伤的重要指标<sup>[2-3]</sup>。图 2 显示, 经 0.5、1.0、1.5 mmol/L 不同浓度的 SA 预处理后 (即低温胁迫的 0 d), ‘云烟 97’ 和 ‘K326’ 幼苗叶片中 MDA 含量和电解质渗漏率均比对照有不同程度的减少; 在  $10^{\circ}\text{C}$  低温胁迫过程中, 2 个品种的 MDA 含量和电解质渗漏率均为先上升后下降。其中, 在低温胁迫 12 d 后, ‘云烟 97’ 中经 0.5、1.0、1.5 mmol/L SA 预处理后的幼苗 MDA 含量分别比对照降低 14.5%、19.6%、19.5% (图

2A), 电解质渗漏率分别减少 16.3%、19.3%、25.0% (图 2C); 在 ‘K326’ 中, 则是 MDA 分别减少 16.8%、28.6%、20.2% (图 2B), 电解质渗漏率分别减少 14.7%、18.2%、23.6% (图 2D)。相比之下, 3 个 SA 浓度的作用效果在 ‘云烟 97’

中 1.5 mmol/L 最好, 在 ‘K326’ 中则是 1.0 mmol/L 好于另外 2 个。说明 SA 预处理能降低烟草幼苗在叶片中的 MDA 含量和电解质渗漏率, 减缓低温下的细胞膜损伤, 且这种作用在低温胁迫过程中能一直保持, SA 浓度不同, 作用效果不同。



不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ).

图 2 SA 预处理对低温胁迫下 ‘云烟 97’ 和 ‘K326’ 幼苗叶片 MDA 含量 (A、B) 和电解质渗漏率 (C、D) 的效应  
Fig. 2 Effects of SA pretreatment on MDA content (A, B) and electrolyte leakage rate (C, D) in ‘Yunyan 97’ and ‘K326’ seedling leaves under low temperature stress

### 2.3 SA 预处理对低温胁迫下烟草幼苗总叶绿素含量的影响

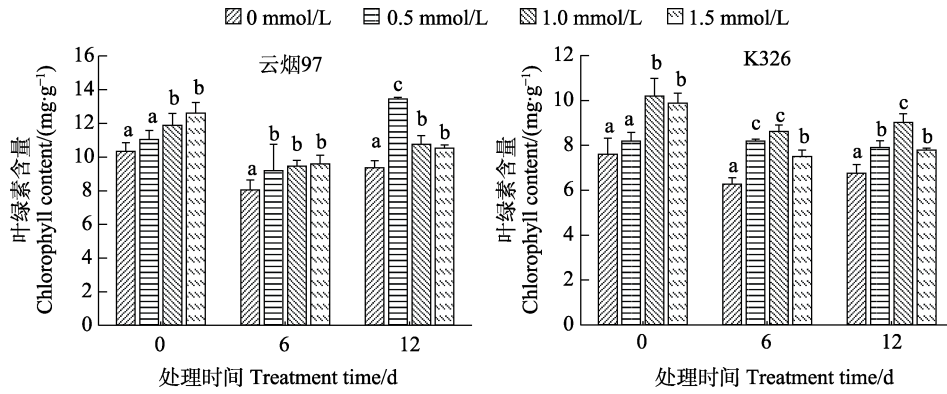
在 10℃ 低温胁迫下, 2 个品种烟草叶片的幼苗叶绿素含量下降 (图 3)。从图 3 可以看出, 1.0、1.5 mmol/L SA 预处理显著提高了低温处理前 ‘云烟 97’ 和 ‘K326’ 烟草幼苗的叶绿素含量。经低温胁迫 12 d 后, 叶绿素含量比 0 d 减少, 但经 0.5、1.0、1.5 mmol/L 不同浓度的 SA 预处理后的幼苗叶绿素含量显著高于对照, ‘云烟 97’ 中 3 个不同浓度的处理分别比对照高 40.4%、12.9%、9.9%, ‘K326’ 中则分别高 17.9%、33.4%、13.4%, 表明 SA 预处理能缓解 10℃ 低温胁迫下烟草幼苗叶片叶绿素的降解。

### 2.4 SA 预处理对低温胁迫下烟草幼苗根系活力和根系发育的影响

从图 4 可以看出, SA 预处理会显著提高正常

温度培养的 ‘云烟 97’ 和 ‘K326’ 幼苗的根系活力, 在 ‘云烟 97’ 中, 0.5、1.0、1.5 mmol/L 的 SA 预处理的根系活力分别比对照提高 15.5%、16.3%、33.1%, 在 ‘K326’ 中则分别提高 65.8%、88.0%、54.5%; 在 10℃ 低温胁迫过程中, 2 个品种的根系活力均是先下降, 而后又有所回升, 但经 3 个浓度的 SA 预处理后, 幼苗根系活力普遍显著高于对照, 其中 ‘云烟 97’ 为 1.5 mmol/L 最显著, ‘K326’ 中则是 1.0 mmol/L 最好 (图 4)。

对根系扫描的结果表明, SA 预处理增加了正常培养条件下 ‘云烟 97’ 和 ‘K326’ 幼苗的根长、表面积、体积和根尖数, 但对平均直径的影响不是特别明显 (表 1、表 2)。这些结果说明 SA 预处理能促进烟草幼苗根系的发育并使其具有较高的根系活力, 并且这种优势在 10℃ 低温胁迫下能一直保持。

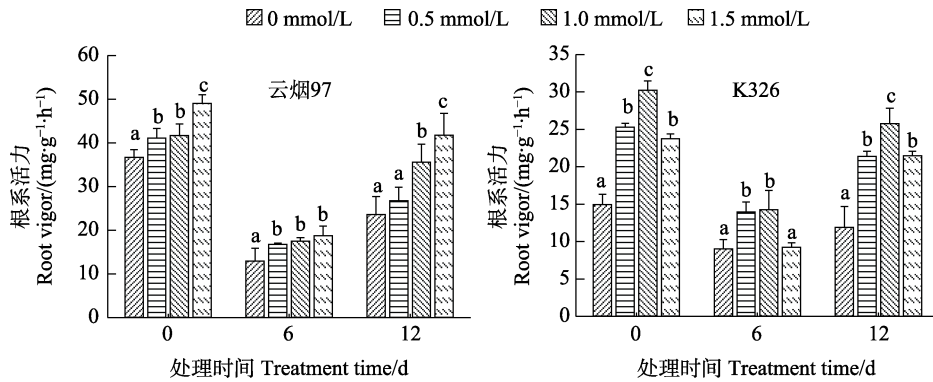


不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ).

图 3 SA 预处理对低温胁迫下‘云烟 97’和‘K326’幼苗叶片总叶绿素含量的效应

Fig. 3 Effects of SA pretreatment on total chlorophyll content of ‘Yunyan 97’ and ‘K326’ seedling leaves under low temperature stress



不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ).

图 4 SA 预处理对低温胁迫下‘云烟 97’和‘K326’幼苗根系活力的效应

Fig. 4 Effects of SA pretreatment on root vigor of ‘Yunyan 97’ and ‘K326’ seedlings under low temperature stress

表 1 SA 预处理对低温胁迫下‘云烟 97’幼苗根系发育情况分析

Tab. 1 Analysis of root development of ‘Yunyan 97’ seedlings with SA pretreatment under low temperature stress

处理时间 Treatment time/d	SA 浓度 SA concentrations (mmol·L <sup>-1</sup> )	根长 Root length/cm	表面积 Surface area/cm <sup>2</sup>	平均直径 Average diameter/mm	体积 Volume/cm <sup>3</sup>	根尖数 Number of root
0	0	973.6 <sup>a</sup>	135.4 <sup>a</sup>	0.43 <sup>a</sup>	0.98 <sup>a</sup>	6759.7 <sup>a</sup>
	0.5	1085.8 <sup>b</sup>	136.7 <sup>a</sup>	0.46 <sup>a</sup>	1.25 <sup>a</sup>	8181.3 <sup>b</sup>
	1.0	1132.4 <sup>b</sup>	135.2 <sup>a</sup>	0.38 <sup>a</sup>	1.36 <sup>b</sup>	8980.0 <sup>c</sup>
	1.5	1123.2 <sup>b</sup>	158.6 <sup>b</sup>	0.38 <sup>a</sup>	1.33 <sup>b</sup>	7988.0 <sup>b</sup>
6	0	656.3 <sup>a</sup>	74.2 <sup>a</sup>	0.36 <sup>a</sup>	0.67 <sup>a</sup>	4872.3 <sup>a</sup>
	0.5	991.0 <sup>b</sup>	115.9 <sup>c</sup>	0.37 <sup>a</sup>	1.08 <sup>c</sup>	7473.0 <sup>b</sup>
	1.0	888.7 <sup>b</sup>	96.1 <sup>b</sup>	0.35 <sup>a</sup>	0.83 <sup>b</sup>	7764.0 <sup>bc</sup>
	1.5	1046.3 <sup>b</sup>	126.6 <sup>c</sup>	0.39 <sup>a</sup>	1.22 <sup>c</sup>	8342.0 <sup>c</sup>
12	0	587.4 <sup>a</sup>	75.1 <sup>a</sup>	0.42 <sup>a</sup>	0.78 <sup>a</sup>	3654.0 <sup>a</sup>
	0.5	717.2 <sup>a</sup>	90.7 <sup>a</sup>	0.37 <sup>a</sup>	1.10 <sup>b</sup>	7328.3 <sup>c</sup>
	1.0	992.6 <sup>b</sup>	119.8 <sup>b</sup>	0.39 <sup>a</sup>	1.16 <sup>b</sup>	7302.0 <sup>c</sup>
	1.5	1009.7 <sup>b</sup>	117.4 <sup>b</sup>	0.40 <sup>a</sup>	1.26 <sup>c</sup>	5131.0 <sup>b</sup>

注：同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Note: Different lowercase letters after the same column of data indicate significant difference ( $P < 0.05$ ).

表 2 SA 预处理对低温胁迫下 ‘K326’ 幼苗根系发育情况分析

Tab. 2 Analysis of root development of ‘K326’ seedlings with SA pretreatment under low temperature stress

处理时间 Treatment time/d	SA 浓度 SA concentrations/ (mmol·L <sup>-1</sup> )	根长 Root length/cm	表面积 Surface area/cm <sup>2</sup>	平均直径 Average diameter/mm	体积 Volume/cm <sup>3</sup>	根尖数 Number of root
0	0	768.5 <sup>a</sup>	91.8 <sup>a</sup>	0.36 <sup>a</sup>	0.98 <sup>a</sup>	4582.0 <sup>a</sup>
	0.5	859.2 <sup>ab</sup>	98.2 <sup>a</sup>	0.38 <sup>ab</sup>	0.99 <sup>a</sup>	5260.3 <sup>a</sup>
	1.0	940.3 <sup>b</sup>	111.6 <sup>b</sup>	0.41 <sup>b</sup>	1.21 <sup>b</sup>	5885.0 <sup>a</sup>
	1.5	881.7 <sup>ab</sup>	122.7 <sup>b</sup>	0.41 <sup>b</sup>	1.32 <sup>b</sup>	5620.7 <sup>a</sup>
6	0	545.3 <sup>a</sup>	70.4 <sup>a</sup>	0.36 <sup>a</sup>	0.64 <sup>a</sup>	3498.3 <sup>a</sup>
	0.5	901.5 <sup>b</sup>	113.8 <sup>b</sup>	0.39 <sup>a</sup>	1.10 <sup>b</sup>	6815.0 <sup>c</sup>
	1.0	958.2 <sup>b</sup>	120.8 <sup>b</sup>	0.40 <sup>a</sup>	1.01 <sup>b</sup>	5621.0 <sup>b</sup>
	1.5	959.2 <sup>b</sup>	103.5 <sup>b</sup>	0.36 <sup>a</sup>	1.10 <sup>b</sup>	5280.3 <sup>b</sup>
12	0	560.2 <sup>a</sup>	60.7 <sup>a</sup>	0.36 <sup>a</sup>	0.55 <sup>a</sup>	2534.0 <sup>a</sup>
	0.5	682.7 <sup>b</sup>	76.0 <sup>ab</sup>	0.37 <sup>a</sup>	0.92 <sup>b</sup>	4400.3 <sup>b</sup>
	1.0	805.8 <sup>c</sup>	98.7 <sup>c</sup>	0.41 <sup>b</sup>	0.90 <sup>b</sup>	5614.7 <sup>c</sup>
	1.5	739.7 <sup>bc</sup>	89.5 <sup>bc</sup>	0.38 <sup>ab</sup>	0.87 <sup>b</sup>	5403.7 <sup>c</sup>

注：同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Note: Different lowercase letters after the same column of data indicate significant difference ( $P < 0.05$ ).

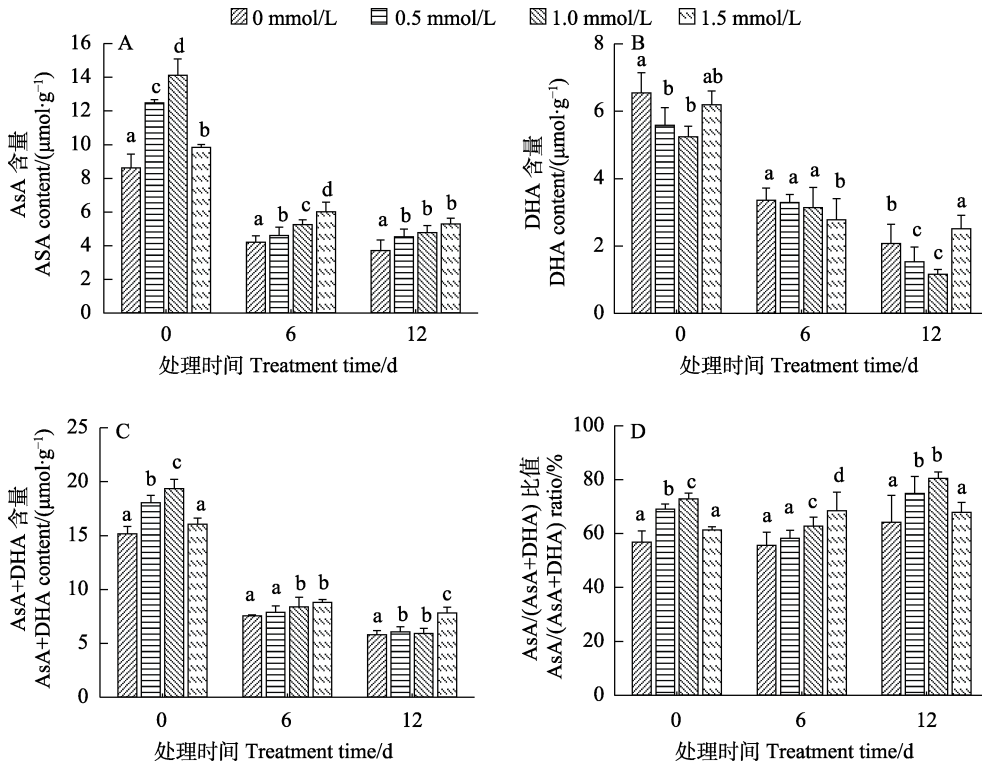
## 2.5 SA 预处理对低温胁迫下烟草幼苗抗氧化剂含量的影响

2.5.1 低温胁迫下烟草幼苗还原型/氧化型抗坏血酸的变化 植物在遭受低温胁迫时会产生大量活性氧 (ROS), 破坏植物的氧化还原平衡, 影响植物的正常生长, 还原型抗坏血酸 ASA 是存在于植物体内有效清除 ROS 的小分子抗氧化剂, 对于维持植物的氧化还原平衡有重要作用<sup>[1, 7]</sup>。图 5 和图 6 结果表明, SA 预处理显著提高了正常培养的 ‘云烟 97’ 和 ‘K326’ 幼苗的 ASA 含量 (图 5A、图 6A), 显著降低了氧化型抗坏血酸 DHA 含量 (图 5B、图 6B), 总抗坏血酸 (ASA+DHA) 含量在 ‘云烟 97’ 中也得到了提高 (图 5C), 对 ‘K326’ 则影响不大 (图 6C), ASA/(ASA+DHA) 比值同样得到了提高 (图 5D、图 6D); 在低温胁迫结束后, 2 个品种中的 ASA 含量、DHA 含量和 ASA+DHA 含量比对照 (0 d) 均降低, 但经 SA 预处理后的幼苗 ASA 含量和 ASA/(ASA+DHA) 比值仍显著高于对照, DHA 含量则显著低于对照, ASA+DHA 含量差异不显著。结果表明, SA 预处理能增加烟草幼苗及其在低温胁迫过程中的 ASA 含量和 ASA/(ASA+DHA) 的比值, 而减少 DHA 含量。

2.5.2 低温胁迫下烟草幼苗还原型/氧化型谷胱甘肽的变化 谷胱甘肽是植物体内含量极为丰富且富含巯基的低分子肽, 能有效清除植物体内的自由基, 分为还原型 (GSH) 和氧化型 (GSSG) 2 种状态<sup>[23]</sup>。图 7 和图 8 结果表明, SA 预处理显

著提高了正常培养的 ‘云烟 97’ 和 ‘K326’ 幼苗中的 GSH 含量 (图 7A、图 8A)、GSH+GSSG 含量 (图 7C、图 8C) 和 GSH/(GSH+GSSG) 比值 (图 7D、图 8D)。在低温胁迫结束后, 经 SA 预处理过的幼苗, 三者的含量均显著高于对照, 其中, ‘云烟 97’ 中 1.5 mmol/L 浓度处理的效果最好, ‘K326’ 中则是 1.0 mmol/L 最好; GSSG 含量 (图 7B、图 8B) 2 个品种基本为先上升后降低, 胁迫结束时 ‘云烟 97’ 和 ‘K326’ 都是 1.0 mmol/L 浓度的处理显著低于对照。该结果表明, SA 预处理能增加烟草幼苗在低温胁迫过程中的 GSH 含量、GSH+GSSG 含量和 GSH/(GSH+GSSG) 比值, 浓度不同效果也不同, 其中 ‘云烟 97’ 中 1.5 mmol/L 的作用效果最显著, ‘K326’ 中则是 1.0 mmol/L 最好。

2.5.3 低温胁迫下烟草幼苗抗氧化酶活性的影响 植物细胞抗氧化系统主要由抗氧化剂和抗氧化酶构成。其中, APX、CAT、GPX、GR 和 SOD 是植物细胞最重要的抗氧化酶组分, 在清除 ROS 和维持细胞氧化平衡动态中起重要作用<sup>[1, 7]</sup>。图 9 结果表明, 经 SA 预处理后, ‘云烟 97’ 和 ‘K326’ 幼苗的 APX 活力处理组和对照组差异均不显著, 而在低温胁迫过程中, ‘云烟 97’ 幼苗的 APX 活力 (图 9A) 逐渐升高, ‘K326’ 幼苗的 APX 活力 (图 9B) 先升高后降低, 但 2 个品种的 APX 活力在低温胁迫的 6 d 和 12 d 时经 SA 预处理过的均显著高于对照, 3 个浓度中, 2 个品种均是

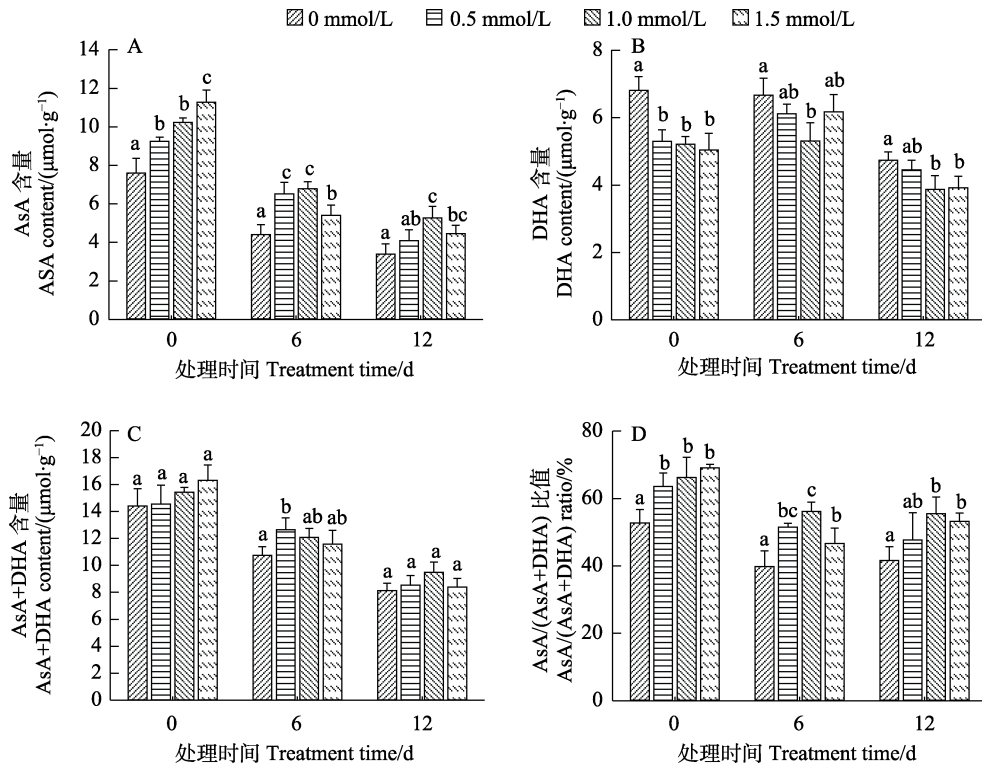


不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ).

图 5 SA 预处理对低温胁迫下 '云烟 97' 幼苗还原型/氧化型抗坏血酸的影响

Fig. 5 Effects of SA pretreatment on reduced/oxidized ascorbic acid of 'Yunyan 97' seedlings under low temperature stress

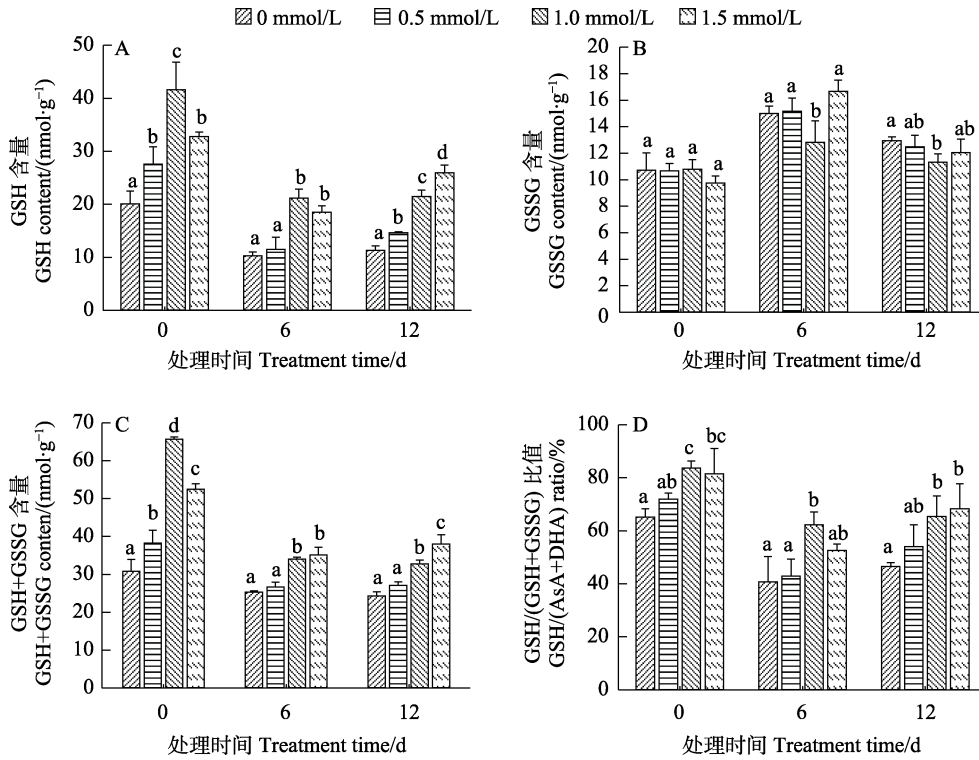


不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ).

图 6 SA 预处理对低温胁迫下 'K326' 幼苗还原型/氧化型抗坏血酸的影响

Fig. 6 Effects of SA pretreatment on reduced/oxidized ascorbic acid of 'K326' seedlings under low temperature stress

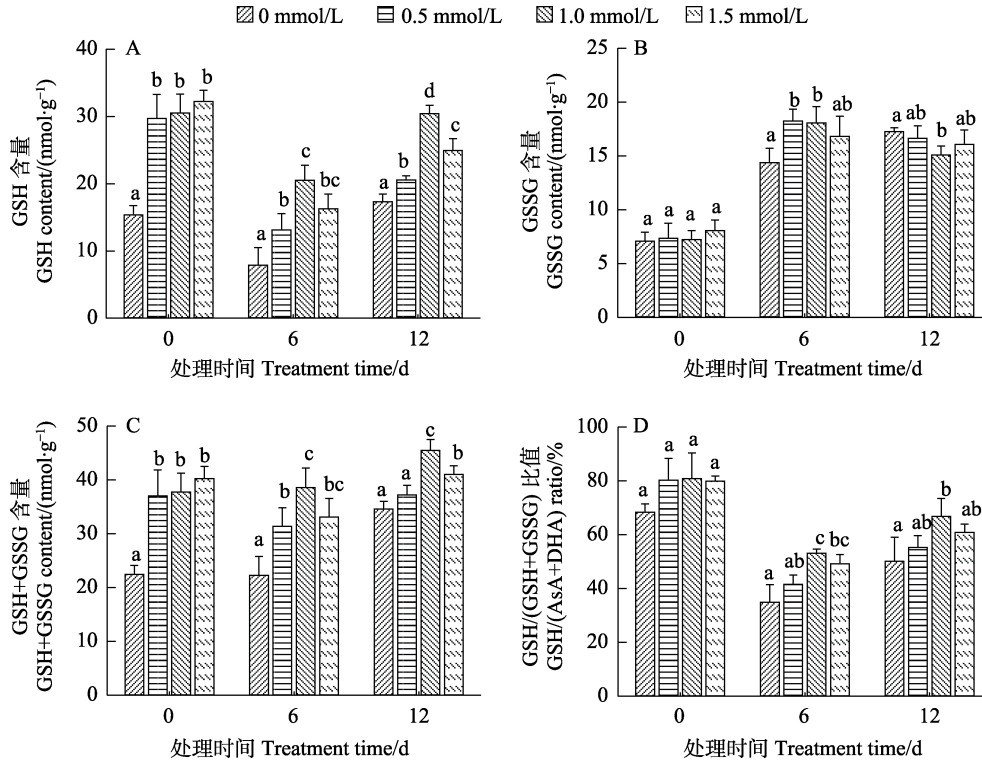


不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ).

图 7 SA 预处理对低温胁迫下‘云烟 97’幼苗还原型/氧化型谷胱甘肽的影响

Fig. 7 Effects of SA pretreatment on reduced/oxidized glutathione of ‘Yunyan 97’ seedlings under low temperature stress

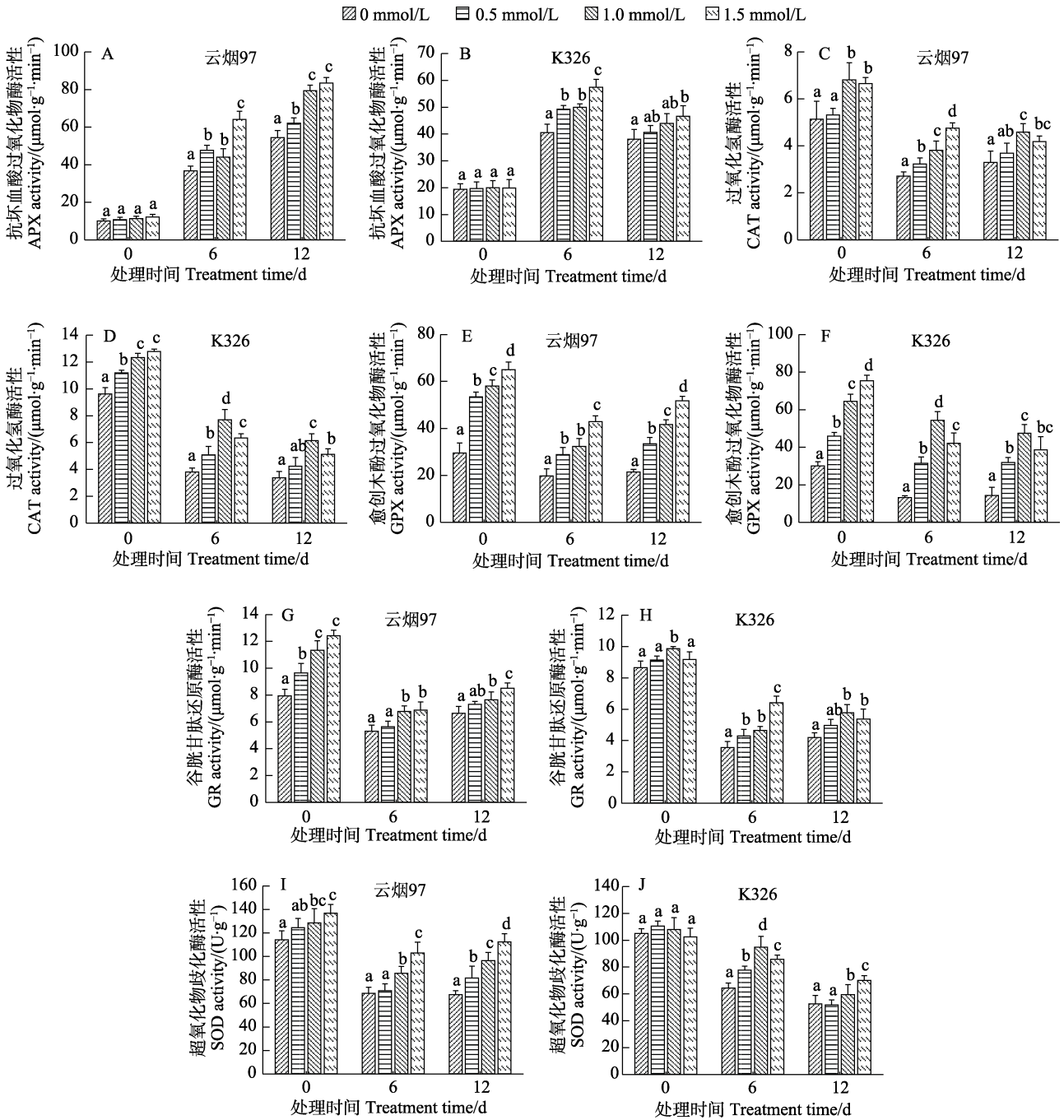


不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ).

图 8 SA 预处理对低温胁迫下‘K326’幼苗还原型/氧化型谷胱甘肽的影响

Fig. 8 Effects of SA pretreatment on reduced/oxidized glutathione of ‘K326’ seedlings under low temperature stress



不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ).

图 9 SA 预处理对低温胁迫下‘云烟 97’和‘K326’幼苗抗氧化酶活性的影响

Fig. 9 Effects of SA pretreatment on antioxidant enzyme activities of ‘Yunyan 97’ and ‘K326’ seedlings under low temperature stress

1.5 mmol/L 浓度的处理效果最显著,在胁迫的 6 d 和 12 d ‘云烟 97’的 APX 活力分别比对照高 75.2%、54.2%, ‘K326’中则分别比对照高 42.3%、22.6%;SA 预处理显著提高了幼苗的 CAT 活力(图 9C、图 9D),在胁迫期间,2 个品种各个处理的 CAT 变化趋势基本为逐渐下降,但经 SA 预处理

后的幼苗 CAT 活力仍高于对照,‘云烟 97’中在胁迫 6 d 为浓度 1.0 mmol/L 的效果最显著,在 12 d 则是 1.5 mmol/L 最好,在 ‘K326’中均为 1.0 mmol/L 浓度的效果最显著;SA 预处理也显著提高了幼苗的 GPX 活力,在胁迫期间,其变化趋势为 ‘云烟 97’中(图 9E)先降低后缓慢升高,

‘K326’ (图 9F) 则是逐渐降低, 胁迫结束后其活力均是 SA 预处理组显著高于对照组, 其中‘云烟 97’为 1.5 mmol/L 浓度处理的效果最好, ‘K326’为 1.0 mmol/L 最好; GR 变化趋势在 2 个品种中 (图 9G、图 9H) 基本为先降低后缓慢升高, 经 1.0、1.5 mmol/L SA 预处理过的幼苗在胁迫过程中 CAT 活力均显著高于对照; SOD 活力变化在‘云烟 97’中 (图 9I) 为先下降后升高, 胁迫结束时, 3 个不同 SA 预处理浓度的 SOD 活力分别比对照高 21.3%、43.0%、66.8%, 在‘K326’中 (图 9J) SOD 活力则是逐渐降低, 3 个浓度的作用效果在胁迫 6 d 为 1.0 mmol/L 最好, 在 12 d 则是 1.5 mmol/L 最好。以上结果表明, SA 预处理能显著提高烟草幼苗的 CAT、GPX 和 GR 活力, 且在低温胁迫过程中 APX、CAT、GPX、GR 和 SOD 五种酶均保持较高活性, 显著高于对照, 综合比较后, ‘云烟 97’中 1.5 mmol/L 浓度的效果最好, ‘K326’为 1.0 mmol/L 最好。

### 3 讨论

起源于热带和亚热带的冷敏植物如水稻、玉米、黄瓜、烟草等在 0℃ 以上低温胁迫下, 对植物的伤害大致可以分为 2 步: (1) 生物膜由液晶态向凝胶态改变, 并伴随着原生质流动停止, 膜结合酶活性降低, 膜透性增大, 电解质及某些小分子有机物大量渗漏; (2) 由于膜损坏而引起代谢紊乱, 细胞 ROS 产生与清除的平衡破坏, 水解酶类的活性高于合成酶类, 致使物质分解大于合成等<sup>[12, 24-25]</sup>。杨利云等<sup>[26]</sup>、JINI 等<sup>[27]</sup>、YU 等<sup>[28]</sup>、RAZMI 等<sup>[29]</sup>的研究均表明 SA 预处理显著降低植物的质膜透性, 减轻低温对植物的伤害。本研究结果表明, SA 预处理能显著降低 2 个品种烟草幼苗在低温胁迫过程中的 MDA 含量和电解质渗漏率, 提高幼苗在低温胁迫前及胁迫过程中叶绿素的含量, 且能缓解幼苗在低温胁迫过程中的干物质消耗速度, 进而提高烟草幼苗的抗冷性。

植物根系的发育及其活力对地上部的生长状况有着直接影响, 较低的土壤温度或灌溉用水水温往往通过抑制根系活力, 进而造成植株的低温冷害。对漂浮育苗的烟草幼苗而言, 高的根系活力和根群分布直接影响着烟草幼苗移栽到大田后尽早成活和早生快发, 进而影响烟叶的产量和质量。课题组前期研究结果表明, SA 预处理能促进正常培养条件下的烟株移栽后的早生快发<sup>[30]</sup>。目前

研究结果表明, 与未处理对照相比, SA 预处理能显著提高烟草幼苗的根系活力, 且增加根长、表面积、体积和根尖数, 缓解低温胁迫对根系生长的抑制, 该效应有助于烟草幼苗在移栽后的早成活或早生快发, 对烟草幼苗的农艺管理和早期栽培有参考意义。

以上结果表明, SA 预处理能降低烟草幼苗在低温胁迫过程中的 MDA 含量和电解质渗漏率, 减缓干物质的消耗速度, 提高叶绿素含量和根系活力, 促进根系生长, 最终提高烟草幼苗的抗冷性, 烟草品种不同, 需要的最适 SA 浓度不同, 综合比较之下, ‘云烟 97’的最适浓度为 1.5 mmol/L, ‘K326’为 1.0 mmol/L。

但是 SA 预处理为何能诱导烟草幼苗形成抗冷性? 其中的生化机制尚待进一步阐明。低温对植物的伤害与 ROS 的大量产生密切相关, 为此, 植物体需要酶促和非酶促两类防御系统来保护机体不受伤害, ASA 和 GSH 是植物体内重要的非酶促类抗氧化物质, 能清除 ROS, 降低氧化伤害, 细胞的还原型/氧化型抗氧化剂比例代表着细胞的氧化还原状态, 而维持较高的还原型/氧化型抗氧化剂比例有助于提高植物的抗逆性。邓世媛等<sup>[12]</sup>研究表明, SA 预处理的烤烟叶片中 ASA 含量增加。本研究结果表明, SA 预处理能显著提高在低温胁迫前即 0 d 时的 ASA 含量、GSH 含量和还原型抗氧化剂在总抗氧化剂中的比值, 经低温胁迫后, 这三者的含量 SA 预处理组仍高于对照, 品种及 SA 浓度不同, 效果不同, ‘云烟 97’中以 1.5 mmol/L 浓度的效果最佳, ‘K326’以 1.0 mmol/L 最好。

APX、CAT、GPX、GR 和 SOD 等抗氧化酶活性的高低在植物体清除 ROS 中扮演着非常重要的作用。杨小环等<sup>[31]</sup>用 0.5 mmol/L SA 预处理玉米种子发现 SA 显著增加了 SOD 和 POD 活性, YU 等<sup>[28]</sup>在研究 SA 预处理与冬小麦抗冷性时, 发现 SA 能提高 SOD、POD、CAT、APX 活性, 减少低温伤害。本研究中, SA 预处理能显著提高‘云烟 97’和‘K326’幼苗中的 CAT、GPX 和 GR 活力, 对 APX 和 SOD 活力无显著影响, 在经过 10℃ 的低温胁迫 12 d 后, APX 活性增加, CAT、GPX、GR 和 SOD 活性均出现不同程度的下降, 但经 SA 处理后, 幼苗中 5 种抗氧化酶活性均显著高于对照组, ‘云烟 97’中 1.5 mmol/L 浓度的处理效果最好, ‘K326’则为 1.0 mmol/L 最好。

此外, 抗氧化酶 APX 和 GR 分别在维持细胞还原型/氧化型抗氧化剂抗坏血酸和谷胱甘肽的动态平衡中起重要作用, 高活力的 APX 和 GR 有助于提高细胞的还原型 ASA 和 GSH 含量, 使细胞保持一个更高的抗氧化能力<sup>[23, 32]</sup>。本研究结果可明显看出, 与对照相比, SA 预处理能显著提高‘云烟 97’和‘K326’幼苗在低温下的 APX 和 GR 活力, 并保持较高水平的还原型 ASA 和 GSH 含量, 这暗示着 SA 处理在某种程度上是通过维持 APX 和 GR 相对较高的活力使烟草幼苗在低温下能保留较高的还原型 ASA 和 GSH 含量。SA 处理是否能通过激活 APX 和 GR 的基因表达、从而使其有较高的酶活力尚待进一步深入的研究。

‘云烟 97’和‘K326’均为云南省和全国主要烟区的烟草主栽品种。从 2 个品种在人工气候室进行 10℃ 低温处理 12 d 的表型及本研究所测的生理指标来看, 其抗冷性无显著差异, 但不同的品种需要不同的适宜 SA 预处理浓度来提高其抗冷性。对比 2 个品种在低温处理过程的抗氧化系统来看, ‘云烟 97’有更高的还原型 GSH 含量, 而所测的 5 个抗氧化酶在 2 个品种中的变化不尽相同, 这可能是由于其遗传背景不同所致。但一个共同的趋势是, SA 预处理后, 与对照相比, 在进入低温处理前和低温处理期间, 烟草幼苗均能保持显著较高的还原型抗氧化剂水平和抗氧化酶活力, 这可能是 SA 处理能诱导 2 个品种烟草幼苗抗冷性提高的重要生化基础。

#### 4 结论

本研究以 2 个国内的主栽烟草品种为材料, 系统调查了 SA 预处理对漂浮育苗的烟草幼苗抗冷性的影响, 证实了 SA 预处理能显著提高烟草幼苗的抗冷性, 不同的品种需要不同的适宜 SA 预处理浓度, ‘云烟 97’的最适浓度为 1.5 mmol/L, ‘K326’的最适浓度为 1.0 mmol/L。SA 预处理后抗氧化系统中还原型抗氧化剂水平和还原型抗氧化剂在总抗氧化剂中的比例提高, 部分抗氧化酶活性的增强以及这种优势在低温胁迫过程中的维持可能是 SA 预处理诱导烟草幼苗抗冷性形成的重要生理基础。研究结果不仅对烟草抗冷育苗有参考意义, 也对其他农作物和蔬菜的育苗和早期栽培有借鉴作用。

#### 参考文献

- [1] 王维领, 赵灿, 李国辉, 许轲, 姜东, 霍中洋. 水杨酸在植物抵御低温胁迫中的作用[J]. 植物生理学报, 2020, 56(12): 2585-2594.  
WANG W L, ZHAO C, LI G H, XU K, JIANG D, HUO Z Y. Role of salicylic acid in plant response to cold stress[J]. *Plant Physiology Journal*, 2020, 56(12): 2585-2594. (in Chinese)
- [2] 侯爽, 陈锦芬, 刘溶荣, 王瑞, 陈俊鸿, 邹聪明, 谢小玉. 外源水杨酸对烟草幼苗低温胁迫的缓解效应[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2020, 46(1): 14-20.  
HOU S, CHEN J F, LIU R R, WANG R, CHENG J H, ZOU C M, XIE X Y. Mitigative effect of exogenous salicylic acid on low temperature stress in tobacco seedlings[J]. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)*, 2020, 46(1): 14-20. (in Chinese)
- [3] 王丽特, 徐照丽, 杨利云, 段胜智, 崔明昆, 龚明. 4 种化学调控剂对烟草幼苗耐冷性及其光合特性的效应研究[J]. 西北植物学报, 2015, 35(4): 801-808.  
WANG L T, XU Z L, YANG L Y, DUAN S Z, CUI M K, GONG M. Effects of four chemical regulators on chilling tolerance and photosynthetic characteristics of tobacco seedlings[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2015, 35(4): 801-808. (in Chinese)
- [4] HE X, LIU T X, REN K, CHEN J, ZHAO G K, HU B B, XU A C, JIN Y, ZHU Y M, ZOU C M. Salicylic acid effects on flue-cured tobacco quality and curing characteristics during harvesting and curing in cold-stressed fields[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020(11): 580597.
- [5] 谷晓勇, 刘扬, 刘利静. 植物激素水杨酸生物合成和信号转导研究进展[J]. 遗传, 2020, 42(9): 858-869.  
GU X Y, LIU Y, LIU L J. Progress on the biosynthesis and signal transduction of phytohormone salicylic acid[J]. *Hereditas*, 2020, 42(9): 858-869. (in Chinese)
- [6] CHEN J, ZHANG J Y, KONG M M, ANDREW F, CHEN H, LIU F Q. More stories to tell: NONEXPRESSOR OF PATHOGENESIS-RELATED GENES1, a salicylic acid receptor[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2021, 44(6): 1716-1727.
- [7] 王艳朋, 杨二波, 祝学刚, 胡跃, 刘晓飞, 阮祥经. 水杨酸与植物耐性研究进展[J]. 安徽农业科学, 2021, 49(23): 24-28.  
WANG Y P, YANG E B, ZHU X G, HU Y, LIU X F, RUAN X J. Research advance on salicylic acid and resistance stress in plants[J]. *Anhui Agricultural Sciences*, 2021, 49(23): 24-28. (in Chinese)
- [8] SERNA-ESCOLANO V, MARTÍNEZ-ROMERO D, GIMÉNEZ M J, SERRANO M, GARCÍA-MARTÍNEZ S, VALERO D, VALVERDE J M, ZAPATA P J. Enhancing antioxidant systems by preharvest treatments with methyl

- jasmonate and salicylic acid leads to maintain lemon quality during cold storage[J]. *Food Chemistry*, 2021(338): 128044.
- [9] GUAN C F, WANG C, WU H, LI Q, ZHANG Y, WANG G, JI J, JIN C. Salicylic acid application alleviates the adverse effects of triclosan stress in tobacco plants through the improvement of plant photosynthesis and enhancing antioxidant system[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(2): 1359-1372.
- [10] 陈丹, 王丹, 孙丽, 张艳嫣, 黄冲平. 外源水杨酸对低温胁迫下蝴蝶兰的缓解效应及其抗氧化生理特征变化[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2014, 40(3): 266-274.  
CHEN D, WANG D, SUN L, ZHANG Y Y, HUANG C P. Alleviating effects of exogenous salicylic acid on antioxidative physiological characters of *Phalaenopsis* under low temperature stress[J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sci.)*, 2014, 40(3): 266-274. (in Chinese)
- [11] 辛慧慧, 李防洲, 侯振安, 冶军, 康文晶, 罗建. 低温胁迫下棉花幼苗对外源水杨酸的生理响应[J]. *植物生理学报*, 2014, 50(5): 660-664.  
XIN H H, LI F Z, HOU Z A, YE J, KANG W J, LUO J. Physiological response of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seedling to exogenous salicylic acid under low temperature stress[J]. *Plant Physiology Journal*, 2014, 50(5): 660-664. (in Chinese)
- [12] 邓世媛, 陈建军, 罗福命, 王维, 凌寿军, 王俊. 外源水杨酸对低温胁迫下烤烟抗氧化代谢的影响[J]. *烟草科技*, 2012(2): 71-74.  
DENG S Y, CHEN J J, LUO F M, WANG W, LING S J, WANG J. Effects of exogenous salicylic acid on antioxidant metabolism of flue-cured tobacco under low temperature stress[J]. *Tobacco Science & Technology*, 2012(2): 71-74. (in Chinese)
- [13] 赵世杰, 李德全. 现代生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 2004.  
ZHAO S J, LI D Q. *Experimental guide to modern physiology*[M]. Beijing: China Science Press, 2004. (in Chinese)
- [14] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2007.  
LI H S. *Experimental principles and techniques of plant physiology and biochemistry*[M]. Beijing: China Higher Education Press, 2007. (in Chinese)
- [15] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.  
WANG X K. *Experimental principles and techniques of plant physiology and biochemistry*[M]. Beijing: China Higher Education Press, 2006. (in Chinese)
- [16] 李忠光, 杜朝昆, 龚明. 在单一提取系统中同时测定植物 AsA/DHA 和 GSH[J]. *云南师范大学学报*, 2003, 23(3): 67-70.  
LI Z G, DU C K, GONG M. Simultaneous measurement of ASA/DHA and GSH/GSSG using a single extraction system[J]. *Journal of Yunnan Normal University*, 2003, 23(3): 67-70. (in Chinese)
- [17] 李忠光, 李江鸿, 杜朝昆, 黄号栋, 龚明. 在单一提取系统中同时测定五种植物抗氧化酶[J]. *云南师范大学学报*, 2002, 22(6): 44-48.  
LI Z G, LI J H, DU C K, HUANG H D, GONG M. Simultaneous measurement of five antioxidant enzyme activities using a single extraction system[J]. *Journal of Yunnan Normal University*, 2002, 22(6): 44-48. (in Chinese)
- [18] CHANCE B, MAEHLI A C. Assay of catalases and peroxidases[J]. *Methods in Enzymology*, 1955, 2(55): 764-775.
- [19] GIANNOPOLITIS C N, RIES S K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants[J]. *Plant Physiology*, 1977, 59(2): 309-314.
- [20] AEBI H. *Catalase in vitro*[M]. Pittsburgh: Academic Press, 1984.
- [21] NAKANO Y, ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1981, 22(5): 867-880.
- [22] HALLIWELL B, FOYER C H. Properties and physiological function of a glutathione reductase purified from spinach leaves by affinity chromatography[J]. *Planta*, 1978, 139(1): 9-17.
- [23] KUMAR J, SINGH V P, PRASAD S M. An investigation on involvement of the ascorbate-glutathione cycle in modulating NaCl toxicity in two cyanobacteria photoacclimatized to different photosynthetic active radiation[J]. *Algal Research*, 2018(32): 70-78.
- [24] HUANG C P, QIN N N, SUN L, YU M Y, HU W Z, QI Z Y. Selenium improves physiological parameters and alleviates oxidative stress in strawberry seedlings under low-temperature stress[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(7): 1913.
- [25] GU K Y, HOU S, CHEN J F, GUO J G, WANG F F, HE C G, ZOU C M, XIE X Y. The physiological response of different tobacco varieties to chilling stress during the vigorous growing period[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 1-16.
- [26] 杨利云, 王丽特, 徐照丽, 杨双龙, 何彬, 龚明. 4 种化学调控剂对烟草幼苗耐弱光性及光合特性的影响[J]. *西北植物学报*, 2018, 38(1): 121-130.  
YANG L Y, WANG L T, XU Z L, YANG S L, HE B, GONG M. Effects of four chemical regulators on low light tolerance and photosynthetic characteristics of *Nicotiana glauca* seedlings[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia*

- Sinica, 2018, 38(1): 121-130. (in Chinese)
- [27] JINI D, JOSEPH B. Physiological mechanism of salicylic acid for alleviation of salt stress in rice[J]. Rice Science, 2017, 24(2): 97-108.
- [28] YU J, CANG J, LI Y P, HUANG R, LU Q W, WANG X T, LIU L J, XU Q H, ZHANG K J. Salicylic acid-induced antioxidant protection against low temperature in cold-hardy winter wheat[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2016, 38(11): 261.
- [29] RAZMI N, EBADI A, DANESHIAN J, JAHANBAKHS S. Salicylic acid induced changes on antioxidant capacity, pigments and grain yield of soybean genotypes in water deficit condition[J]. Journal of Plant Interactions, 2017, 12(1): 457-464.
- [30] 赵静, 徐照丽, 段胜智, 王丽特, 杨利云, 盛业龙, 龚明. 水杨酸对移栽后烟株早生快发的影响[J]. 中国农学通报, 2013, 29(22): 152-159.
- ZHAO J, XU Z L, DUAN S Z, WANG L T, YANG L Y, SHENG Y L, GONG M. Effects of salicylic acid to early growth and quick tillering of transplanted tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) plants[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2013, 29(22): 152-159. (in Chinese)
- [31] 杨小环, 赵维峰, 孙娜娜, 孙亮亮, 马金虎. 外源水杨酸缓解低温胁迫对玉米种子萌发和早期幼苗生长伤害的生理机制[J]. 核农学报, 2017, 31(9): 1811-1817.
- YANG X H, ZHAO W F, SUN N N, SUN L L, MA J H. Physiological mechanisms of exogenous salicylic acid-mediated low temperature tolerance in seed germination and early seedling growth of maize[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2017, 31(9): 1811-1817. (in Chinese)
- [32] DUMANOVIC J, NEPOVIMOVA E, NATIC M, KUCA K, JACEVIC V. The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: a concise overview[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 11: 552969.