

# 壳聚糖对黄瓜幼苗抗热性的影响

李红斌<sup>1</sup>, 苗立祥<sup>2</sup>, 寿森炎<sup>2</sup>

(1. 杭州市农科院 蔬菜研究所 浙江 杭州 311115; 2. 浙江大学 园艺系 浙江 杭州 310029)

**摘要:** 试验分别采用 0(对照, CK)、50、75 和 100 mg/L 4 个浓度的壳聚糖(CTS)处理一叶一心的黄瓜幼苗, 喷施一次 CTS 溶液, 进行白天/夜间温度(45℃/40℃)的高温处理 4 d, 并每隔 24 h 喷一次 CTS 溶液, 以研究 CTS 对黄瓜幼苗抗热性的影响。结果表明, CTS 处理可以提高高温胁迫下黄瓜叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)的活性, 有效降低 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率。表明适宜浓度的 CTS 具有增强活性氧清除能力, 降低细胞膜脂过氧化水平和膜透性增加的程度, 保护生物膜功能, 提高黄瓜幼苗抗高温的作用。

**关键词:** 壳聚糖; 黄瓜; 抗热性

**中图分类号:** S 642.2 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2007)08-0007-03

壳聚糖(Chitosan, CTS)是从虾、蟹壳中提取的天然活性高分子化合物, 它溶解性好, 并且安全、无毒, 因而被广泛地应用于医药、农业、食品、化工等领域。CTS 能促进种子发芽, 增强植物根系活力、调节作物生长发育、增强植物抗病性, 提高作物产量。此外 CTS 还能提高植物的抗盐性和抗冷性, 现初步研究 CTS 对黄瓜幼苗的抗热作用, 以期在生产应用提供理论和技术依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

黄瓜(*Cucumis sativus* L.)品种为‘津研四号’。CTS 分子量为 6 000 Da, 由浙江永隆山生物有限公司提供, 用双蒸水稀释至 1 000 mg/L 备用。

### 1.2 试验设计

CTS 设 0(CK)、50、75、100 mg/L 系列处理浓度。黄瓜幼苗长到一叶一心时, 喷施一次 CTS 溶液, 然后放入人工气候室, 白天/夜间温度为 45℃/40℃, 光周期为白天、黑夜各 12 h, 以后每 24 h 喷一次 CTS 溶液, 每次每株约喷施 4 mL。在放入人工气候室前取样一次, 然后每隔 2 h 取一次样, 共取 5 次。试验 3 次重复。当幼苗有明显热伤害时常温下恢复栽培 4 d, 然后将最健壮的幼苗移至装有基质(蛭石:草炭=1:1)的 15 孔穴盘上, 定期浇灌园试配方营养液, 每隔 5 d 记录最大叶长和宽及株高。近似计算叶面积=叶长×叶宽。

### 1.3 指标测定

超氧化物歧化酶(SOD)的活性测定参照朱广廉等<sup>[1]</sup>(1990)的方法; 过氧化物酶(POD)的活性测定参照

张龙翔等<sup>[2]</sup>(1997)的方法; 过氧化氢酶(CAT)活性测定按照 Cakmak 和 Marschner<sup>[3]</sup>(1992)的方法; 抗坏血酸过氧化物酶(APX)的活性测定按照 Nakano 和 Asada<sup>[4]</sup>(1981)的方法; O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率的测定参照王爱国和罗广华<sup>[5]</sup>(1990)的方法。

## 2 结果与分析

### 2.1 CTS 对热处理下黄瓜幼苗死亡率的影响

由表可知, 在热处理第 3 天对照和 50 mg/L 死亡率没有差异, 而对照和 100 mg/L 有差异, 但在热处理第 4 天处理 CK、50 mg/L 和 100 mg/L 之间死亡率都达到了极显著差异。

热处理黄瓜幼苗的死亡率表

CTS 浓度 /mg·L <sup>-1</sup>	死亡率/%		
	热处理第 3 天	热处理第 4 天	常温继续培养 4 天
0	9.7 a	51.1 A	58.3 a
50	4.4 ab	30.7 B	50.6 ab
75	4.6 ab	29.8 B	48.4 ab
100	1.9 b	13.9 C	39.8 b

注: 数字后的字母表示 Duncan's 新复极差检验结果, 不同小写字母表示处理间差异达显著水平 ( $\alpha=0.05$ ), 不同大写字母表示处理间差异达极显著水平 ( $\alpha=0.01$ )。

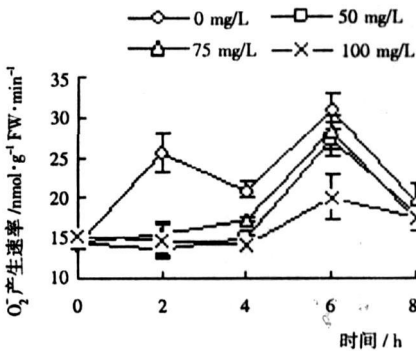


图1 CTS 对热胁迫下黄瓜幼苗叶片 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生速率的影响

### 2.2 CTS 对热胁迫下黄瓜幼苗抗氧化系统的影响

第一作者简介: 李红斌(1978-), 男, 硕士, 从事蔬菜逆生理和茄果类蔬菜育种研究。Email: lhbhg@sohu.com.  
收稿日期: 2007-03-28

### 2.2.1 CTS 对热胁迫下黄瓜幼苗 $O_2^-$ 产生速率的影响

由图 1 可知, 在热胁迫下 0~4 h 内对照的  $O_2^-$  产生速率要远高于 CTS 处理。对照在热处理 2 h 时  $O_2^-$  产生速

率有个高峰, 而其它 3 个 CTS 处理没有, 在 6 h 时对照和 3 个 CTS 处理  $O_2^-$  产生速率均达到最大, 对照和 50、75 mg/L 处理较接近, 而 100 mg/L 处理明显低于前两者。

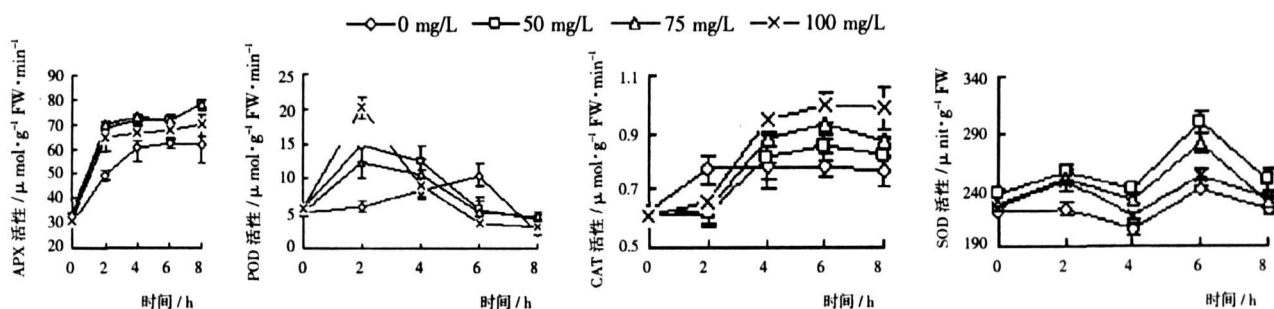


图 2 CTS 对热胁迫下黄瓜幼苗叶片 APX、POD、CAT 和 SOD 活性的影响

### 2.2.2 CTS 对热胁迫下黄瓜幼苗叶片 SOD、APX、POD 和 CAT 活性的影响

由图 2 可知, 50、75 和 100 mg/L CTS 处理的 SOD 活性随着时间呈现先升高后下降再升高的趋势, 其中 50、75 和 100 mg/L 的处理在 2~6 h 的变化过程均高于对照。对照和 CTS 处理的 APX 活性升高后处于高水平状态, 其中 CTS 处理 APX 在 2 h 时, 已达到较

高水平, 而对照在 4 h 时才达到较高水平。在热处理下, 对照黄瓜幼苗叶片的 CAT 活性, 在 2 h 时升高之后比较平稳, 但 50、75 和 100 mg/L 处理在 6 h 达到最高, 特别是 100 mg/L 处理, 显著高于对照。CTS 处理的植株 POD 活性升高较快, 2 h 时已达到最高, 其中以 100 mg/L 处理增加最快, 而对照 POD 上升较缓慢, 在 6 h 时才达最高。

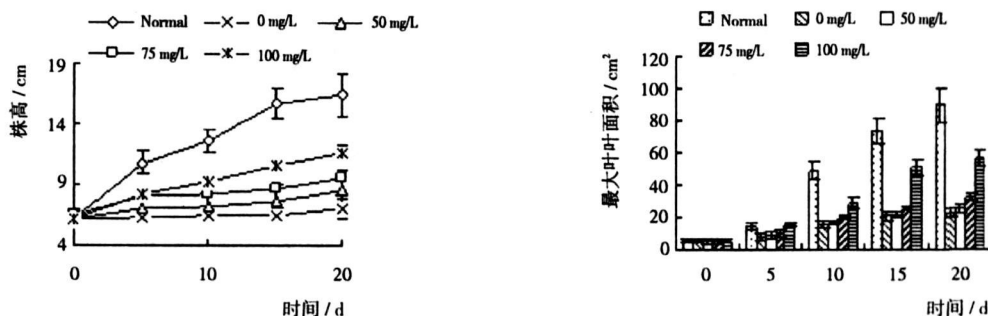


图 3 常温下继续培养黄瓜株高和最大叶面积变化

### 2.3 热处理后常温下继续培养黄瓜的生长势

#### 2.3.1 常温下继续培养黄瓜株高和最大叶面积变化

由图 3 可知, 未经热处理(normal)的黄瓜长势最好, 其次是 100 mg/L 处理的黄瓜, 在株高上 50 mg/L 和 75 mg/L 的处理比对照(0 mg/L)略高, 但最大叶面积两者几乎没有差别。100 mg/L 的处理虽然在株高和叶面积上都明显低于未热处理(normal), 但明显高于对照(0 mg/L)。

2.3.2 常温恢复栽培 20 d 后黄瓜幼苗鲜重和干重 由黄瓜幼苗经过热处理后在常温下恢复栽培 20 d 后(图 4), 鲜重和干重都是对照(0 mg/L)最小, 其中几个 CTS 浓度处理中以 100 mg/L 处理鲜重和干重最大, 极显著(1%)大于对照, 这表明 100 mg/L 处理的黄瓜在高温胁迫下的伤害最少。

### 3 讨论

正常环境下生长的植物体内活性氧的产生和消除处于动态平衡, 活性氧含量处于较低水平, 氧化胁迫不明显,

植物得以正常的生长发育。但当植物受到外界胁迫时, 往往导致活性氧代谢平衡破坏, 活性氧生成速率加快, 同时清除系统活力反而下降, 使活性氧水平提高, 导致膜脂过氧化及透性增加, 使细胞损伤, 严重导致死亡<sup>[6,7]</sup>。

Prasad<sup>[8]</sup> (1994) 和 Hernández<sup>[9]</sup> (2000) 认为  $O_2^-$  的产生会影响细胞代谢, 破坏各种细胞器, 阻碍蛋白的合成和降解, 甚至影响 DNA 的变化, 而 SOD、CAT、POD 和 APX 等酶可以保护细胞不受伤害。马德华等<sup>[10]</sup> (2000) 认为 SOD 等保护酶是植物细胞中最重要的清除氧自由基的酶之一, 其主要功能是清除  $O_2^-$ , 而 CAT、POD 等则具有分解  $H_2O_2$  的作用, 从而减少自由基的产生, 减轻高温对细胞的危害。高温处理之后, 保持高的酶活性可能提高黄瓜幼苗耐高温的能力。

试验研究发现喷施 CTS 的黄瓜幼苗在热胁迫下 8 h 内体内活性氧清除主要酶类 SOD、POD、CAT 和 APX 都有明显的提高, 同时  $O_2^-$  的产生速率明显低于对照。这

说明幼苗体内的活性氧酶清除系统有明显的提高<sup>11, 12</sup>。CTS 在幼苗热胁迫的初期刺激了幼苗体内的保护酶活性, 从而减少或减缓了热胁迫对黄瓜体内脂膜的损伤, 因此在热处理第 4 天时, 由于 CTS 发挥了作用, 3 种处

理黄瓜幼苗的死亡率达到了极显著, 100 mg/L 处理死亡率只有 13.9%, 而对照高达 61.1%。恢复栽培期间, 部分被 CTS 缓解受伤的幼苗慢慢死亡, 不同处理之间的死亡率又较为接近。

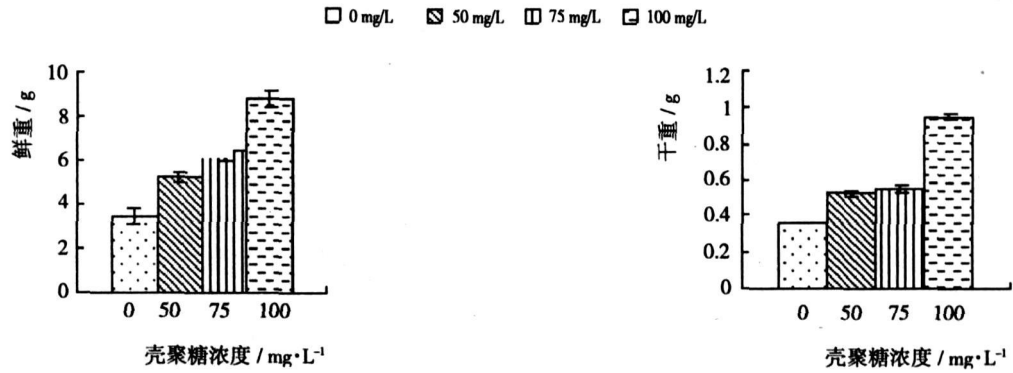


图4 常温恢复栽培 20 d 黄瓜幼苗鲜重和干重

另一方面, 在后期正常温度下继续培养中, 100 mg/L 处理的幼苗长势虽然差于未经热处理的黄瓜幼苗, 但明显好于对照, 鲜重和干重也显著(1%)高于对照, 对照在继续培养中叶片几乎没有生长, 而且黄化严重。这表明在热胁迫时 CTS 处理液减轻了幼苗的损伤, 才能使它在常温下恢复生长。以上研究均表明, CTS 可以通过黄瓜叶片上的 CTS 受体, 启动体内抗氧化体系, 提早为热胁迫做准备, 以减轻或减缓高温胁迫对黄瓜幼苗的损伤, 故可以增强幼苗体内活性氧清除体系可能是其提高植株耐热性的原因之一。

参考文献

[1] 朱广廉, 钟文海, 张海琴. 植物生理学实验[M]. 北京: 科学出版社, 1990.  
[2] 张龙翔, 张庭芳, 李令媛. 生化实验方法和技术[M]. 2版. 北京: 高等教育出版, 1997.  
[3] Cakmak I, Marschner H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves[J]. Plant Physiol, 1992 (98): 1222-1227.  
[4] Nakano Y, Asada K. Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-

specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts[J]. Plant Cell Physiol 1981, 22 (5): 867-880.  
[5] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系[J]. 植物生理学通讯, 1990(6): 55-57.  
[6] 叶陈亮, 柯玉琴, 陈伟. 大白菜耐热性的生理研究III 酶性和非酶性活性氧清除能力与耐热性[J]. 福建农业大学学报, 1997, 26(4): 498-501.  
[7] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J]. 植物生理学通讯, 1991, 27(2): 84-90.  
[8] Prasad T K, Anderson M D, Martin B A, et al. Evidence for Chilling-Induced Oxidative Stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide[J]. The Plant Cell, 1994, 6(1): 65-74.  
[9] Hernández J A, Jiménez A, Mullineux P et al. Tolerance of pea (Pisum sativum L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defences Plant[J]. Cell & Environment, 2000 23(8): 853-862.  
[10] 马德华, 庞金安, 霍振荣等. 高温对黄瓜幼苗膜脂过氧化作用的影响[J]. 西北植物学报, 2000 20(1): 141-144.  
[11] 何晓明, 林毓娥, 陈甬华, 等. 高温对黄瓜幼苗生长、脯氨酸含量及SOD酶活性的影响[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2002 20(1): 30-33.  
[12] 马德华, 庞金安, 李淑菊等. 温度逆境锻炼对高温下黄瓜幼苗生理的影响[J]. 园艺学报, 1998. 25(4): 350-355.

Effect of Chitosan on Heat Tolerance in Cucumber(*Cucumis sativus* L.) Seedlings

LI Hong-bing<sup>1</sup>, MIAO Li-xiang<sup>2</sup>, SHOU Sen-yan<sup>2</sup>

(1. Institute of Vegetable Science, Hangzhou Academy of Agricultural Science, Zhejiang 311115, China; 2. Department of Horticulture, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

**Abstract:** In order to study influence of chitosan on heat tolerance of the cucumber seedlings, chitosan at 0(CK), 50, 75 and 100 mg/L was sprayed on cucumber seedlings on one leaves stage respectively, and the cucumber seedlings were stressed under high temperature at 45℃ in daytime while 40℃ in night for 4 d, and the seedlings were sprayed every 24 h. Results showed that chitosan could increase the activity of superoxide dismutase(SOD), peroxidase(POD), catalase (CAT) as well as ascorbic acid peroxidase (APX), decrease O<sub>2</sub><sup>-</sup> production rate. The study indicated that chitosan at proper concentrations was capable of improving the ability to eliminate reactive oxygen species, reducing cell peroxidation and membrane permeability, protecting the functions of bio-membrane, raising the heat tolerance of cucumber seedlings.  
**Key words:** Chitosan; Cucumber(*Cucumis sativus* L.); Heat tolerance