

外源海藻糖对黄瓜幼苗抗冷性的影响

胡慧芳

(长治职业技术学院园艺系, 山西 长治 046000)

摘要: 通过外源海藻糖对冷胁迫下黄瓜幼苗生理的影响试验, 初步探讨外源海藻糖对黄瓜抗冷性的影响。将发芽期和三叶一心期的黄瓜幼苗分别用含有 0 mM、10 mM 海藻糖随 1/2 Hoagland 营养液根灌 3 次, 然后在 4℃ 的低温下胁迫 5 h, 随后测定与抗冷性相关的典型生理指标。结果表明: 在 4℃ 的低温胁迫下, 用 10 mM 海藻糖处理的不同阶段的黄瓜幼苗比 0 mM 海藻糖处理的黄瓜幼苗根系和叶片的 MDA 含量低, 电导率低, 叶绿素含量、POD 和 CAT 酶的活性较高。结论: 外源海藻糖处理可提高黄瓜幼苗的抗冷性。

关键词: 海藻糖; 低温胁迫; 黄瓜幼苗; 抗冷性

中图分类号: S 642.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)02-0011-03

冷害是保护地和早春露地黄瓜栽培中面临的问题。在低温寒冷季节, 由于下雪或寒流的侵袭, 或保温措施不利, 常会引起温室栽培的黄瓜发生冷害或冻害; 对于早春露地栽培的黄瓜, 当天气骤变气温下降时, 黄瓜幼苗也会受到冷害或冻害, 给生产带来严重的损失。所以, 提高黄瓜抗冷性是蔬菜生产面临的一项重要

的问题。在自然界中寻找安全无毒的天然物质提高蔬菜的抗逆性是当今无公害蔬菜生产的课题。而海藻糖以其独特的生物学特性备受科学家的关注。海藻糖(Trehalose)最初由 Wiggers 等于 1882 年从黑麦的麦角菌中分离出来, 后来发现它是一种广泛存在于植物、细菌、真菌和无脊椎动物体内的非还原性的双糖。最初被认为只是作为一种碳源被贮存, 后来发现海藻糖往往是在环境胁迫条件下产生, 含量可随外界环境条件的变化而变化, 是一种应激代谢物。当生物体处于饥饿、干燥、高温、低温、冷冻、辐射、高渗、有毒试剂等不良环境的胁迫时, 它可对生物体及生物大分子的活性有着良好的保护作用^[1]。一直以来, 人们普遍认为在大多数高等植物体内不存在海藻糖, 然而拟南芥试验的成功使人们开始考虑海藻糖在作物生产上的应用^[2]。

关于它在农业生产中的研究主要集中在两个方面, 一是抗逆性品种的培育, 二是作为外源物质施用。目前, 有关外源海藻糖提高作物抗盐性的报道有: 丁顺华的外源海藻糖对小麦幼苗耐盐性的影响^[3]、汤绍虎的海藻糖在渗透胁迫下对油菜种子萌发和幼苗生理的影

响^[4]及关洪斌的海藻糖对大豆植物抗性的影响^[5]。而外源海藻糖对提高作物抗寒性方面的研究还未见报道。所以, 试验以黄瓜为材料, 初步研究外源海藻糖对黄瓜抗冷性的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

黄瓜种子为中国农科院蔬菜花卉研究所生产的中农 16 号。海藻糖为国药集团化学试剂有限公司生产的分析纯试剂。

1.2 仪器

所用的主要实验仪器有: LRH-25C-G II 微电脑控制光照培养箱, Heraeus 台式高速冷冻离心机, UV-7504C 紫外可见分光光度计、DDS-307 型数字电导率仪、BS 200S 电子天平、HH-W 三用恒温水箱、HJ-2 双头磁力加热搅拌器、PHS-4CT 型精密酸度计等。

1.3 方法

分别在黄瓜幼苗两个不同的生长阶段进行试验。于 2007 年 3 月 8 日至 2007 年 4 月 29 日在辽宁师范大学生命科学学院实验室内进行。

1.3.1 发芽期的幼苗 挑选健康、干净、新鲜、饱满的黄瓜种子, 用 55℃ 的温水浸泡 10 min, 进行表面消毒后, 使温水自然冷却至室温继续浸泡 5 h。然后在体积为 300 mL 的塑料钵内催芽。催芽在光照培养箱内进行, 温度为 28℃。钵的底部垫 2 张用清水湿透的滤纸, 上盖用清水湿透的纱布保湿, 催芽在无光照的条件下进行。自催芽后的第 3 天开始, 分设处理, 每个处理设 3 个重复, 每个重复 70 粒种子。各处理的催芽液的配方: 对照: 清水; 处理: 清水+10 mM 的海藻糖。每天更换经催芽液湿透的滤纸, 并用其浸泡芽苗 2 min, 连续处理 4 d。自播后第 8 天开始冷胁迫处理。首先将催芽温度降至 7℃ 冷胁迫

作者简介: 胡慧芳(1972-), 女, 讲师, 在读硕士, 研究方向: 植物逆境生理。E-mail: huifanghu121@163.com.

收稿日期: 2007-08-29

1 d, 第 2 天进一步将催芽温度降至 4℃处理 5 h, 然后测定根系电导率、MDA 含量、POD 和 CAT 酶的活性。

1.3.2 两叶一心期的幼苗 挑选健康、干净、新鲜、饱满的黄瓜种子, 用 55℃的温水浸泡 10 min, 使温水自然冷至室温继续浸泡 5 h, 使种子充分吸水膨胀。然后播种在 225 mL 装有干净沙子的纸杯内, 杯的底部和侧壁穿孔通气, 每杯播 3 粒种子, 浇透清水。置于微电脑控制的光照培养箱内培养。昼夜温度 28/16℃, 光周期 12/12 h。待芽长出后, 进行间苗, 每杯保留 2 株苗。此后, 每 2 d 浇灌 1 次 1/2 的 Hoagland 营养液, 待幼苗长至一叶一心时, 开始在营养液中添加 0、10 mM 的海藻糖作为 2 个不同的处理, 连续处理 3 次后, 将幼苗首先置于白天 10℃, 夜晚 8℃的低温下处理 1 d 后, 第 2 天开始在 4℃的低温下持续胁迫 5 h, 然后测定叶绿素含量、叶片细胞质膜透性、MDA 含量、POD、CAT 酶的活性。每个处理设 3 个重复, 每重复设 20 株幼苗。各处理的处理液配方设置如下: 对照: 1/2 的 Hoagland。处理: 1/2 的 Hoagland + 10 mM 的海藻糖。

1.4 相关指标的测定

叶绿素含量^[6]: 选取第 3 片真叶, 用比色法测定(华东师大, 张志良)。叶片细胞质膜透性^[3]: 将叶子用蒸馏水冲洗干净, 用吸水纸吸干叶片表面的水分, 在叶子上取直径为 5 mm 的圆片 20 个, 放入粗试管中加入双蒸水 10 mL, 真空抽透, 抽放气 3 次, 以使水与叶片紧密接触而电解质易于渗出, 30 min 后取出, 在室温下静置 2 h, 用电导仪测电导值, 为原电导值。将样品材料高温杀死(100℃, 10 min), 再测电导值, 总电导值。电导率=原电导值/总电导值×100%。

根系电导率^[6]: 取出幼苗, 尽量不要伤害根系, 用镊子除去幼苗的子叶, 用蒸馏水漂洗几次, 以除去伤口上的物质, 将各重复的 20 个芽苗的根分别放在盛有 20 mL 的蒸馏水的小烧杯中, 务必将根系浸入蒸馏水中。在 4℃下经过 1 h 后, 测根系的原电导, 将含材料的蒸馏水高温煮沸后再测电导, 为总电导。电导率=原电导值/总电导值×100%。

POD 活性^[6]: 采用愈创木酚法。CAT 活性^[6]: 采用紫外吸收法。MDA 含量^[7]: 采用赵世杰、许长成等的方法。每个指标至少重复 3 次。表 1 中数据为平均值。试验结果采用杜荣骞方法进行统计分析^[8]。试验重复 2 次。

表 1 对根系和幼苗叶片的 MDA 含量的影响		
处理号	芽苗根系的 MDA 含量	3 真叶幼苗根系的 MDA 含量
	/μmol · g ⁻¹ FW	/μmol · g ⁻¹ FW
对照	8.94	30.24
处理	6.74	27.48

2 结果与分析

2.1 海藻糖对冷胁迫下黄瓜芽苗的根系和 3 片真叶期幼苗叶片的 MDA 含量的影响

MDA 是衡量冷胁迫下细胞膜脂被氧化伤害程度的指标^[9]。在冷害胁迫下, 植物细胞膜的不饱和脂肪酸被氧化生成 MDA。MDA 的含量越高, 说明膜脂被损害的越重, 受逆境胁迫影响越大。从表 1 看出, 在 4℃的低温胁迫下, 添加 10 mM 海藻糖处理的黄瓜发芽期根系和幼苗期叶片的 MDA 含量都比 0 mM 海藻糖的对照要低, 方差分析显著。

2.2 海藻糖对冷胁迫下黄瓜芽苗的根系和 3 片真叶期幼苗叶片的电导率的影响

表 2 对根系和幼苗叶片的电导率的影响		
处理号	芽苗根系的电导率/%	3 叶期幼苗叶片的电导率/%
对照	14.39	19.28
处理	8.12	14.65

电导率是衡量细胞膜通透性的指标。在冷害的胁迫下, 植物细胞膜系统受损, 通透性发生改变, 其溶液的电导率升高^[9]。从表 2 看出, 在 4℃的低温胁迫下, 添加 10 mM 海藻糖处理的黄瓜发芽期根系和幼苗期叶片的电导率都比未加海藻糖的对照低, 差异显著, 可见, 适宜浓度的海藻糖可减缓低温胁迫下的细胞膜的损害。

2.3 海藻糖对冷胁迫下黄瓜幼苗叶片的叶绿素含量的影响

表 3 对黄瓜幼苗叶片的叶绿素含量的影响			
处理号	叶绿素 a	叶绿素 b	mg · g ⁻¹ FW
	叶绿素 a+b		
对照	0.42	4.23	4.64
处理	0.59	4.70	5.29

在冷胁迫下, 植物叶片的光合作用减弱, 叶绿素合成受阻, 同时叶绿素遭到破坏^[10]。从表 3 可看出, 添加 1 mM 海藻糖处理的叶绿素 a、b 和叶绿素 a+b 的含量都高于对照, 且方差分析显著。说明外源海藻糖处理可以提高黄瓜对冷害的胁迫。

2.4 海藻糖对冷胁迫下黄瓜芽苗根系和幼苗叶片 POD 酶和 CAT 酶活性的影响

表 4 对黄瓜芽苗根系和幼苗叶片 POD 酶和 CAT 酶活性的影响				
幼苗的不同时期	POD 酶/△OD · min ⁻¹ · g ⁻¹		CAT 酶/U · min ⁻¹ · g ⁻¹	
	对照	处理	对照	处理
芽苗期	17.91	28.20	1.96	2.75
3 片真叶期	25.35	44.48	0.85	2.95

POD 和 CAT 酶是植物体内维持活性氧代谢平衡的重要的酶类^[11]。CAT 和 POD 酶催化 H₂O₂ 生成 H₂O 和 O₂。POD、CAT 酶和其它酶类相互协调, 有效清除代谢过程产生的活性氧, 使生物体内活性氧维持在一个低水平上, 从而防止活性氧引起的膜脂过氧化和其它伤害过程。从表 4 可以看出, 在营养液中添加海藻糖处理冷胁迫下黄瓜不同时期的黄瓜幼苗, CAT 和 POD 酶的活

性较对照有明显的提高, 方差分析显著。

3 讨论

从结果来看, 添加 10 mM 海藻糖处理的冷胁迫下的黄瓜幼苗的细胞膜通透性和 MDA 含量较对照低, 而叶绿素和 POD、CAT 酶的活性较对照高。海藻糖通过什么途径可减少低温对膜脂的伤害至今还未见报道。马德华和孙其信^[12]认为活性氧过多的积累是低温对黄瓜幼苗产生毒害的一种方式。在正常情况下, 植物体内的活性氧的产生和清除处于动态平衡中, 低温胁迫使植物体内积累过多的活性氧, 对植物细胞造成伤害甚至死亡。活性氧引起膜脂过氧化作用加剧^[13], MDA 含量升高, 细胞膜系统因脂质过氧化作用而受损害, 导致细胞膜透性增大^[14]。在试验中, 营养液中添加 10 mM 的海藻糖的处理测得的 MDA 和细胞膜的通透性都较对照低, 说明用外源海藻糖处理黄瓜幼苗可减轻低温胁迫对幼苗的伤害。

植物的抗冷性与植物细胞对活性氧的清除能力密切相关。清除能力越强, 植物的抗冷性越强。POD 和 CAT 酶是活性氧清除系统的重要酶类, 对维持活性氧代谢平衡起着重要的作用。CAT 和 POD 催化 H₂O₂ 生成 H₂O 和 O₂。POD、CAT 酶和其它酶类相互协调, 有效清除代谢过程产生的活性氧, 使生物体内活性氧维持在一个低水平上, 从而防止活性氧引起的膜脂过氧化和其它伤害过程。在试验中, 营养液中添加 10 mM 的海藻糖的处理测得幼苗不同时期的 CAT 和 POD 酶的活性都比对照要高, 方差分析显著, 说明海藻糖可提高黄瓜幼苗的抗冷性。

在冷胁迫下, 植物叶片的叶绿素合成速度受阻而且遭受破坏, 叶片中叶绿素含量下降, 这一点在李芸瑛和梁广坚等的研究里得到了证实^[11]。在试验中, 营养液中添加 10 mM 的海藻糖的处理所测得的叶绿素 a 和叶绿素

b 以及叶绿素 a+b 的含量都比对照高, 且方差分析显著。说明添加海藻糖可减缓冷害对黄瓜幼苗的胁迫。

总之, 在低温胁迫下, 外源海藻糖可减轻黄瓜体内活性氧的积累, 减轻其对黄瓜的伤害作用, 从而对提高黄瓜的抗冷性有很好的作用。而且, 在黄瓜幼苗的两个不同生长期所得到的结果都一致。

参考文献

[1] 张玉华 凌沛学, 籍保平. 海藻糖的研究现状及其应用前景[J]. 食品与药品, 2005, 7(3): 8-13.
[2] Oscar J M, Goddijn, van Dun K. Trehalose metabolism in plants[J]. Trends in Plant Science, 1999, 4(8): 315-319.
[3] 丁顺华 李艳艳, 丁宝山. 外源海藻糖对小麦幼苗耐盐性的影响[J]. 西北植物学报, 2005, 25(3): 513-518.
[4] 汤绍虎 周启贵. 海藻糖在渗透胁迫下对油菜种子萌发和幼苗生理的影响[J]. 植物生理科学, 2006, 22(6): 206-209.
[5] 关洪斌 王晓兰, 智艳阳. 海藻糖对大豆植物抗性的影响[J]. 贵州农业科学, 2007(1): 13-15.
[6] 赵世杰 史国安, 董新纯. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2002: 84-143.
[7] 赵世杰, 许长成. 植物组织中丙二醛测定方法的改进[J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(3): 207-210.
[8] 杜荣骞. 生物统计学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1999.
[9] 王宝山. 植物生理学[M]. 4 版. 北京: 科学出版社, 2004.
[10] 吴旭红. 中药种衣剂对大豆幼苗抗低温胁迫能力影响研究初报[J]. 大豆通报, 2005(4): 11-13.
[11] 李芸瑛 梁广坚, 李永华. 外源甜菜碱对黄瓜幼苗抗冷性的影响[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(6): 673-676.
[12] 马德华 孙其信. 温度逆境对不同品种黄瓜幼苗膜保护系统的影响[J]. 西北植物学报, 2004, 21(4): 656-661.
[13] 张圣平 顾兴芳, 王烨, 等. 低温胁迫对以野生黄瓜(棘瓜)为砧木的黄瓜嫁接苗生理生化指标的影响[J]. 西北植物学报, 2005, 25(7): 1426-1432.
[14] 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(2): 84-90.

The Effect of Exogenous Trehalose on Cold Resistance of Cucumber Seedlings

HU Hui-fang

(Department of Horticulture, Changzhi Vocational Technical College, Shanxi Changzhi 046000, China)

Abstract: The research was done to superficially study the physiological mechanism of exogenous trehalose enhancing cold stress of cucumber. Cucumber seedlings were treated with 0 or 10 mM trehalose 3 times when they were irrigated with 1/2 Hoagland media, then they were put under low stress of 4 °C for 5 hours, the relative and main indexes about resisting cold were tested. Results showed that under cold stress, MDA content and cell membrane relative permeability were lower, while the activity of POD and CAT and chlorophyll content were higher in cucumber seedlings treated with 10 mM trehalose than those treated with 0 mM trehalose in the different growth periods of cucumber seedlings. Conclusion: the research revealed that external trehalose had the ability of promoting cucumber to resist cold stress.

Key words: Trehalose; Cold stress; Cucumber seedlings; Cold resistance