

油菜素内酯对低温弱光胁迫下西瓜幼苗耐冷性的影响

范小玉, 张 显

(西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:以‘辽引一号’西瓜品种为试材,于三叶一心期用 0(CK)、0.01、0.05、0.10、0.50、1.00 mg/L 的油菜素内酯(BR)喷雾处理,在温度(10±1)℃,光照 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 条件下胁迫,分析西瓜幼苗耐冷性的生理生化特性变化,以期筛选出提高西瓜幼苗耐冷性的最佳 BR 浓度。结果表明:通过油菜素内酯(BR)处理,可以显著降低西瓜幼苗冷害指数,提高 SOD、POD 和 CAT 活性,降低丙二醛、超氧阴离子自由基含量,其中 0.10 mg/L 的 BR 喷施效果最佳。

关键词:油菜素内酯(BR);西瓜;幼苗;耐冷性;低温弱光

中图分类号:S 651 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)07-0005-04

西瓜(*Citrullus lanatus* Thunb.)起源于非洲,属于典型的喜温性水果。随着日光温室及早春大棚西瓜栽培的面积越来越大,西瓜在反季节栽培中往往会遇到较长时间的低温弱光等灾害性天气,严重影响了幼苗的生长发育,进而影响到产量和品质。因此,研究西瓜幼苗在低温弱光下的生理生化特性变化,对于培育壮苗,提高西瓜的产量和品质具有重要指导意义。

油菜素内酯(Brassinolide, BR)是一种新型植物激素,在植物体内含量很低,但生理活性却极高,植物经低浓度处理后便能表现出明显的生理效应^[1-2]。近年来,

许多研究证明,BR 具有改善植物生理代谢,提高品质和产量的作用,并能调节植物生长发育的许多过程,在提高作物性耐冷性方面表现出良好的效果^[3-5]。BR 在西瓜上的应用前人虽有报道^[6-8],但对西瓜幼苗耐冷性的影响却未见报道。现对西瓜幼苗在低温弱光胁迫下引起的生理生化特性变化分析,探讨 BR 诱导提高西瓜幼苗耐冷性机制,为 BR 在西瓜生产中的有效应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试西瓜品种为‘辽引 1 号’。

1.2 试验方法

试验于 2010 年 6 月在西北农林科技大学园艺学院日光温室和栽培生理实验室进行。首先在日光温室进行常规育苗,生长平均昼夜温度为 28/18℃,光强 300 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。待西瓜长至三叶一心时进行不同浓度的 BR 喷雾,共设 6 个处理,分别为: T1: 1.00 mg/L, T2: 0.50 mg/L, T3: 0.10 mg/L, T4: 0.05 mg/L, T5: 0.01 mg/L, CK: 0(对照,清水喷雾),每处理 15 株,3 次重复。常温培养 1 d 后,置于 RZX 型人工气候箱(宁波江南仪

第一作者简介:范小玉(1984-),女,河南商丘人,在读硕士,现主要从事西瓜育种方面的研究工作。E-mail: fxy084627@126.com。

责任作者:张显(1961-),男,陕西扶风人,博士,教授,博士生导师,现主要从事蔬菜种质资源和育种方面的研究工作。E-mail: zhangxian098@126.com。

基金项目:国家西甜瓜产业技术体系水分管理和旱作栽培岗位专家资助项目(CARS-26-18);陕西省科技厅 13115 科技创新工程资助项目(2010ZDKG-02)。

收稿日期:2012-02-01

Abstract: To improve the embryo development and germination in embryo rescue, taking stenospemocarpic seedless grapes of ‘Sultanina Rose’, ‘Perlette’, ‘Autumn Royal’ as test materials, the best timing for embryo rescue of the three species under natural pollination conditions were investigated, and the suitable media were selected for the cultivation of embryo culture. The results showed that the best sampling time for ‘Sultanina Rose’, ‘Perlette’, ‘Autumn Royal’ were 51~53 d, 55 d and 66 d after full bloom respectively. The optimum media that selected was MM4+0.5 mg/L GA_3 +1.5 mg/L IAA+500 mg/L hydrolyzed casein+60.0 g/L sucrose+1.5 g/L activated carbon+10.0 $\mu\text{mol/L}$ ZnSO_4 +1.0 mmol/L glycine+1.0 mmol/L cysteine+100.0 mmol/L mannitol. The development rate and germination rate of ‘Sultanina Rose’, ‘Perlette’ and ‘Autumn Royal’s’ ovules was 15.00% and 6.67%, 24.00% and 10.00%, 10.00% and 5.00% respectively, and an average of 16.33% and 7.22%.

Key words: stenospemocarpic; seedless grapes; embryo rescue; sampling time; medium; screening

器厂制造)中进行低温弱光处理,温度为 $(10 \pm 1)^\circ\text{C}$,光强 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光暗各 12 h。

1.3 项目测定

1.3.1 冷害指数测定 参照许勇等冷害分级方法略有修改。0 级:无症状;1 级:老叶边缘黄化或皱缩,花叶,变形;2 级:少数功能叶边缘黄化或皱缩花叶,变形,其它部分完好;3 级:功能叶缘以至全部皱缩或失绿,新叶完好;4 级:功能叶完全变黄,失绿,萎蔫,新叶受伤害;5 级:新叶受害严重,植株受冷害而全部萎蔫或死亡^[9]。在处理第 1、2、4、6、8、10、12 天时调查西瓜幼苗在低温弱光胁迫下的冷害症状,并统计冷害指数。采用 SPSS 软件进行显著性分析。冷害指数 = $\sum(\text{各级株数} \times \text{级数}) / \text{总株数}$ 。

1.3.2 生理指标测定 在低温弱光胁迫第 0、2、4、6、8 和 10 天时,分别取西瓜幼苗第 2 片和第 3 片真叶同一部位进行生理生化指标的测定。丙二醛(MDA)和超氧阴离子自由基(O_2^-)含量测定参照高俊凤^[10]方法。超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活性测定采用氮蓝四唑法(NBT),过氧化物酶(Peroxidase, POD)活性测定采用愈创木酚法,过氧化氢酶(Catalase, CAT)活性测定采用紫外吸收法, SOD、POD 和 CAT 活性具体测定参照李合生^[11]方法。

2 结果与分析

2.1 BR 对低温弱光胁迫下西瓜幼苗冷害指数的影响

西瓜是喜温耐热作物,在低温下容易造成伤害, 10°C 是大多数作物的冷害临界温度^[12]。冷害对植物体的伤害除取决于低温程度外,还取决于低温维持时间的长短和光照的强弱^[13]。由表 1 可知,通过 BR 不同浓度处理,均可不同程度地降低西瓜幼苗的冷害指数。胁迫第 1 天,CK 和 T1 处理植株就表现出冷害症状,且二者差异显著;在胁迫第 2 天,仅 T3 处理没有表现冷害症

表 1 BR 对低温弱光胁迫下西瓜幼苗冷害指数的影响

Table 1 Effect of brassinolide on chilling injury index of watermelon seedlings under low temperature and poor light stress		胁迫天数 Stress days / d						
处理浓度 Treatment concentration / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$		1	2	4	6	8	10	12
CK	0.164aA	0.175aA	2.098aA	3.077aA	3.856aA	4.582aA	4.808aA	
T1	0.091bA	0.121abAB	1.617bB	2.769aAB	3.267bB	4.037bB	4.492bB	
T5	0.000cB	0.067bB	1.449bB	2.364bB	2.909cC	3.895bB	4.038cC	
T4	0.000cB	0.040bcB	0.945cC	2.088bB	2.698dC	3.449cC	4.028cC	
T2	0.000cB	0.001cB	0.505dD	1.914cBC	2.300eD	3.314cC	3.872cC	
T3	0.000cB	0.000cB	0.057eE	1.552dC	1.945fE	2.466dD	3.087dD	

注:每列数据后的小写英文字母表示 0.05 水平上差异显著性,大写英文字母表示 0.01 水平上差异显著性。

Note: Lowercase letters in the same column represent significant difference at 0.05 level; capital letters in the same column represent significant difference at 0.01 level.

状,其它处理均表现出冷害症状;胁迫第 8 天,各处理植株冷害指数差异达极显著水平;胁迫第 12 天,CK 和 T1 处理植株均出现大量死亡现象,T2、T4 和 T5 处理植株出现少量死亡现象,T3 处理植株则无死亡现象。因此可以推断不同浓度 BR 低温弱光处理后西瓜幼苗耐冷性高低为: $\text{T3} > \text{T2} > \text{T4} > \text{T5} > \text{T1} > \text{CK}$ 。

2.2 BR 对低温弱光胁迫下西瓜幼苗 MDA 含量的影响

MDA 是细胞膜不饱和脂肪酸过氧化的产物,其含量的高低反映了质膜被破坏的程度,因此,MDA 含量越高,其膜脂过氧化越重,低温胁迫的危害程度越大^[14]。由图 1 可知,在低温弱光胁迫前,各处理 MDA 含量差别不大;在处理第 6 天时,CK 和 T1 处理西瓜幼苗叶片 MDA 含量增幅较大,T4 和 T5 处理增幅相似,其次为 T2 处理,相对 T3 处理增幅最小,仅为 69.2%。因此,与对照相比,经 BR 不同浓度处理后,可不同程度降低西瓜幼苗 MDA 含量,从而在一定程度上提高西瓜幼苗的耐冷性。

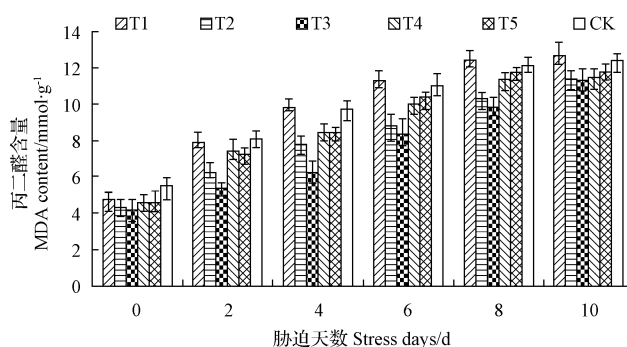


图 1 BR 对低温弱光胁迫下西瓜幼苗 MDA 含量的影响

Fig. 1 Effect of brassinolide on MDA content of watermelon seedlings under low temperature and poor light stress

2.3 BR 对低温弱光胁迫下西瓜幼苗 O_2^- 含量的影响

超氧阴离子自由基(O_2^-)是生物体代谢过程中产生的主要活性氧自由基之一,对细胞膜脂质具有较强的氧化作用^[15]。从图 2 可知,西瓜幼苗经 BR 不同浓度处理,可不同程度地降低 O_2^- 含量,其含量呈逐渐上升的趋

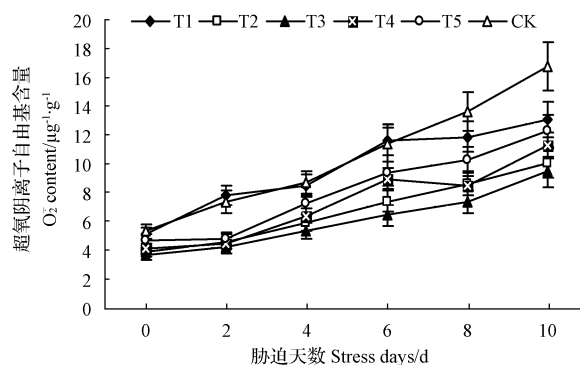


图 2 BR 对低温弱光胁迫下西瓜幼苗 O_2^- 含量的影响

Fig. 2 Effect of brassinolide on O_2^- content of watermelon seedlings under low temperature and poor light stress

势。在胁迫前和胁迫第2天,CK西瓜幼苗叶片 O_2^- 的含量虽然低于T1处理,但随后几天其含量均高于其它处理,而且增幅明显;T2、T4和T5处理西瓜幼苗叶片的 O_2^- 的含量保持同步上升趋势;T3处理西瓜幼苗叶片 O_2^- 含量保持相对较低的水平,均低于其它处理。

2.4 BR对低温弱光胁迫下西瓜幼苗叶片保护酶活性的影响

SOD、POD和CAT是膜保护系统的组成部分,能够在逆境胁迫中清除植物体内的 H_2O_2 ,减少氢氧自由基(·OH)的形成,维持体内活性氧代谢平衡,保护膜结构,从而使植物能在一定程度上抵抗逆境胁迫。由图3可知,对低温弱光胁迫下的西瓜幼苗叶片,经BR处理后,与对照相比,西瓜幼苗叶片的SOD活性均有不同程度的提高,且呈先上升后下降的趋势。在低温弱光胁迫第2天,各处理西瓜幼苗叶片SOD活性均有上升,且差异不大;胁迫第6天时,T3处理幼苗叶片SOD活性最高,降幅仅为2.33%,而CK幼苗叶片则最低,降幅达30.8%;T2处理西瓜幼苗叶片SOD活性高于T1、T4和T5,降幅为3.56%,仅次于T3。

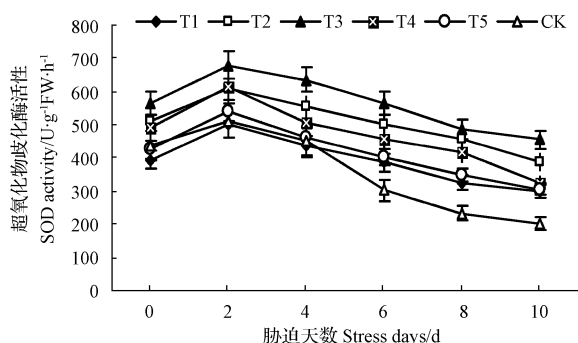


图3 BR对低温弱光胁迫下西瓜幼苗SOD活性的影响
Fig. 3 Effect of brassinolide on SOD activity of watermelon seedlings under low temperature and poor light stress

由图4可知,BR对低温弱光胁迫下西瓜幼苗叶片POD活性影响和SOD活性一样,均呈现先上升后下降的趋势。T3西瓜幼苗叶片POD活性处于最高;T2和T4处理西瓜幼苗叶片的POD活性下降趋势和T3处理相同,但其活性始终低于T3处理;T1和T5处理西瓜幼苗叶片POD活性呈不稳定下降状态,因而不利于保持西瓜幼苗耐冷性的提高;CK西瓜幼苗叶片POD活性最低。

由图5可知,T3处理西瓜幼苗叶片CAT活性一直处于最高,第2天和第4天的CAT活性差别不大,均保持较高的CAT活性;T2和T4处理西瓜幼苗叶片CAT活性也处于相对高的水平;T1处理在胁迫第2天时,西瓜幼苗叶片CAT活性低于CK,其后恢复平缓下降状态;CK的CAT活性最低。因此,在低温弱光胁迫下,西瓜幼苗叶片经BR不同浓度处理后,可以不同程度提高CAT活性,从而在一定程度上提高了西瓜幼苗的耐冷性。

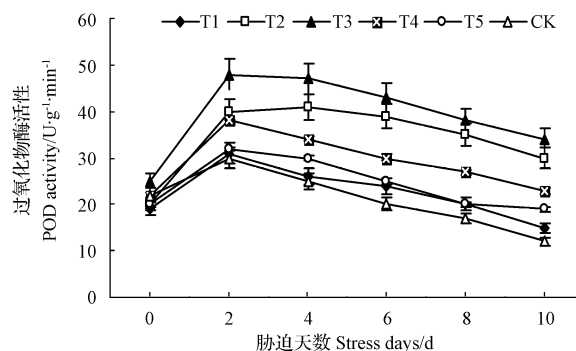


图4 BR对低温弱光胁迫下西瓜幼苗POD活性的影响
Fig. 4 Effect of brassinolide on POD activity of watermelon seedlings under low temperature and poor light stress

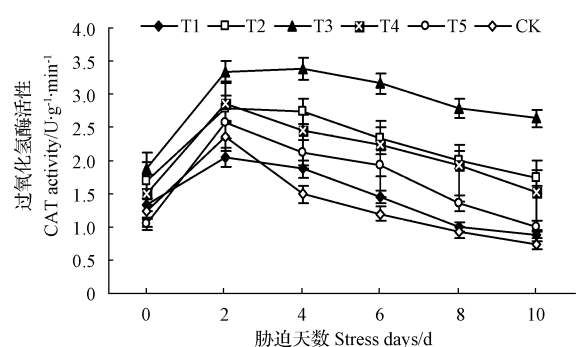


图5 BR对低温弱光胁迫下西瓜幼苗CAT活性的影响
Fig. 5 Effect of brassinolide on CAT activity of watermelon seedlings under low temperature and poor light stress

3 结论与讨论

冷害指数是鉴定植物耐低温的有效指标之一,叶片的冷害指数能够直接从外观上反映低温弱光胁迫对幼苗的伤害程度。在该试验中,经BR处理后西瓜幼苗的冷害指数均低于对照,说明BR可以较为明显地减轻低温弱光对西瓜幼苗叶片形态方面的伤害,不同程度地降低西瓜幼苗的冷害指数,从而提高了西瓜幼苗的耐冷性,为培育壮苗打下了坚实的基础,这与袁凌云等^[16]的研究结果一致。其中0.10 mg/L的BR喷施效果最佳,其它处理虽也能减轻西瓜幼苗的伤害,但是效果不明显。

试验中的西瓜幼苗经低温弱光胁迫,造成了植物体内 O_2^- 的产生和MDA的积累,引起膜脂过氧化和脱脂化作用,细胞膜的结构和功能受到破坏,干扰了细胞的正常代谢,使植物体受到不同程度的冷害。但经BR处理后,可能是通过 Ca^{2+} 及钙信使系统或激素类作用来调节抗冷力的形成,阻止植物幼苗产生过多的自由基,或诱导形成较多的自由基清除剂来减轻膜脂过氧化作用,稳定膜的结构与功能,增强膜的防卫能力,显著降低了西瓜幼苗MDA和 O_2^- 含量,且均低于对照,说明BR可以在一定程度上缓解逆境带来的伤害,提高西瓜幼苗的耐低温弱光能力,这与其他学者研究结果较为一致^[17-18]。其中0.10 mg/L的BR喷施效果最佳。

已知 SOD、POD、CAT 是植物体内酶促防御系统的 3 个重要保护酶,在清除自由基、防止活性氧毒害方面起着重要作用^[19]。试验中经 BR 处理,均可不同程度地提高西瓜幼苗叶片 SOD、POD 和 CAT 活性,且呈先升高后下降的趋势,说明 BR 对细胞膜系统进行调节,并抑制细胞内自由基的过量产生,从而维持细胞结构和功能的相对稳定,这与前人的研究报道一致^[20-21]。从试验中还可以发现,在低温弱光胁迫第 2 天时,T1 处理西瓜幼苗叶片 SOD 和 CAT 活性均低于对照,但这并不意味着 T1 处理对提高西瓜幼苗耐冷性没有效果,因为在逆境胁迫进程中,T1 处理西瓜幼苗叶片的 SOD 和 CAT 活性变化的稳定性远远超过 CK,即其活性下降的速率明显小于对照,这种酶的稳定性可以更好地保持活性氧与防御系统之间的平衡;而对照植株虽然在胁迫第 2 天拥有较高的酶活性,但在低温胁迫中酶活性急剧下降,会造成活性氧的突然大量产生,从而使机体受害严重。西瓜幼苗经低温弱光胁迫后,改变了西瓜幼苗叶片中保护酶的活性,通过不同浓度的 BR 处理后,可以在一定程度上提高 SOD、POD 和 CAT 在西瓜幼苗叶片上的活性,从而缓解了西瓜幼苗由逆境带来的伤害,提高植物的耐低温弱光能力,其中 0.10 mg/L 喷施效果最佳。

综上所述,在低温弱光胁迫下西瓜幼苗可以通过 BR 处理来增加体内保护性物质的含量和抗氧化酶的活性,从而增强对逆境的抵抗能力。BR 浓度不同,对低温弱光下西瓜幼苗生理生化特性的影响也存在差异,对提高西瓜幼苗耐冷性程度也不同,其中 0.10 mg/L BR 处理的喷施效果最佳,能快速启动体内的保护酶系统,细胞膜受到的伤害轻,从而降低了电解质渗透率,提高了西瓜幼苗耐冷性。其它 BR 喷雾处理也能不同程度的增加西瓜幼苗的耐冷性,但是效果不显著。

参考文献

[1] Li J M, Chirj J. Brassinosteroid actions in plants [J]. Journal of Experimental Botany, 1999, 332(50): 275-282.

- [2] 王红红,李凯荣,侯华伟. 油菜素内酯提高植物抗逆性的研究进展[J]. 干旱地区农业研究, 2005, 23(3): 213-219.
- [3] 朱广廉. 油菜素甾醇类植物激素的研究进展[J]. 植物生理学通讯, 1992, 28: 317-322.
- [4] Thompson M J, Meudt W J, Mandava N B, et al. Synthesis of brassinosteroids and relationship of structure to plant growth promoting effects[J]. Steroids, 1982, 38: 89-105.
- [5] 赵毓橘. 油菜素内酯研究进展[J]. 植物学通报, 1995, 12(辑): 30-34.
- [6] 周玉书. Homobrasinolid 在葡萄上的应用试验[J]. 中国果树, 2003(5): 15-16.
- [7] 汤桂钧. 油菜素内酯对西瓜的增产效果[J]. 中国果树, 1987(4): 47-48.
- [8] 熊德桃. 油菜素内酯在西瓜上的应用效果[J]. 天津农业科学, 1996(5): 85-87.
- [9] 许勇,张海英,康国斌,等. 西瓜野生种质幼苗耐冷性的生理生化特性与遗传研究[J]. 华北农学报, 2000, 15(2): 67-71.
- [10] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 210-223.
- [11] 李合生. 植物生理学实验技术指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001: 160-261.
- [12] 刘文革,王鸣,阎志红. 不同倍性蜜柑西瓜幼苗在低温胁迫下的生理生化特性[J]. 果树学报, 2003, 20(1): 44-48.
- [13] 陈杰中,徐春香. 植物冷害及抗冷机制[J]. 福建果树, 1998(2): 21-23.
- [14] Heath R L, Packer L. Photoperoxidation in chloroplasts I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation [J]. Arch Biochem, 1968, 125: 189-198.
- [15] 唐加红. 镧对干旱胁迫下小麦幼苗抗氧化系统的影响[J]. 稀土, 2011, 32(1): 13-15.
- [16] 袁凌云,朱世东,赵冠艳,等. 油菜素内酯诱导番茄幼苗抗冷效果的研究[J]. 中国农学通报, 2010, 26(5): 205-208.
- [17] 黄玉辉,罗海玲,陈小凤. 油菜素内酯对苦瓜幼苗抗冷性的影响[J]. 南方农业学报, 2011, 42(5): 488-491.
- [18] 周天,周晓梅,胡勇军,等. 油菜素内酯对玉米幼苗抗冷性的影响[J]. 吉林师范大学学报(自然科学版), 2004(1): 6-8.
- [19] 王忠. 植物生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 295.
- [20] 刘德兵,魏军亚,李绍鹏,等. 油菜素内酯提高香蕉幼苗抗冷性的效应[J]. 植物研究, 2008, 28(2): 195-198.
- [21] 丁文明,赵毓橘. 表油菜素内酯对黄瓜子叶过氧化物酶和可溶性蛋白含量的影响[J]. 植物生理学报, 1995, 21(3): 259-264.

The Effect of Brassinolide on Chilling Resistance of Watermelon Seedlings under Low Temperature and Poor Light Stress

FAN Xiao-yu, ZHANG Xian

(College of Horticulture, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: Watermelon variety 'Liaoyin No. 1' were treated at the age of three leaves by spraying brassinolide in the concentration of 0(CK), 0.01, 0.05, 0.10, 0.50, 1.00 mg/L, and then were stressed under temperature $(10 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ and light $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. In order to improve chilling resistance of watermelon seedlings, the physiological and biochemical characteristics of watermelon seedlings were measured to screen a optimum concentration of brassinolide (BR). The results showed that the best seedlings growth was observed under the treatment 0.10 mg/L of BR, which could reduce the chilling injury index significantly, increase the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) and reduce the content of malondialdehyde (MDA) and superoxide anion radical.

Key words: brassinolide; watermelon; seedling; chilling resistance; low temperature and poor light