

水杨酸对低温胁迫下黄瓜幼苗叶片 抗寒生理指标的影响

常云霞¹, 徐克东², 陈 璨¹, 阮先乐¹, 朱慧琴¹, 陈 龙¹

(1. 周口师范学院 生命科学系, 河南 周口 466001; 2. 周口师范学院, 植物遗传与分子育种重点实验室, 河南 周口 466001)

摘 要:以“津研 2 号”黄瓜为试材, 采用水培方法, 研究了不同浓度的水杨酸(Salicylic acid, SA)对 4℃低温胁迫下黄瓜幼苗生长的影响, 以为黄瓜抗低温胁迫研究提供参考。结果表明: 低温胁迫下, 黄瓜幼苗叶绿素和可溶性蛋白含量显著降低, 可溶性糖、脯氨酸(Pro)、丙二醛(MDA)含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性显著增加($P < 0.01$); 外施 SA 显著提高了低温胁迫下幼苗叶片的叶绿素、可溶性蛋白、可溶性糖和 Pro 含量, SOD、POD 活性也显著升高, 使膜脂过氧化产物 MDA 含量显著降低($P < 0.01$)。由此可见, 外施 SA 可以通过提高黄瓜幼苗可溶性蛋白、可溶性糖、Pro 含量以及 SOD、POD 活性来维持细胞膜的稳定性, 降低膜脂过氧化伤害程度, 从而缓解了低温胁迫对幼苗生长的抑制, 并以 1.5 mmol/L 外源 SA 缓解效果最好。

关键词:水杨酸; 低温胁迫; 黄瓜幼苗; 生理指标

中图分类号:S 642.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)12-0001-04

黄瓜(*Cucumis sativus* L.)属葫芦科双子叶植物, 又称胡瓜, 起源于印度喜马拉雅山, 具有喜温、喜湿、耐一定弱光的特点^[1], 气温过高或过低, 都会影响黄瓜的生长发育。而在北方黄瓜冬、春栽培中低温是影响黄瓜生长的主要自然灾害, 在黄瓜整个生长过程中均会造成不利影响, 使黄瓜生长发育不良, 品质和产量大大下降^[2]。为此, 研究缓解低温对黄瓜的伤害, 探究低温对黄瓜的冷害机理已逐渐被人们所重视。

水杨酸(Salicylic acid, SA)是一种具有信号传递功能的小分子酚类物质, 是植物体内普遍存在的内源信号分子之一^[3]。在逆境下, SA 在过氧化氢(H_2O_2)的参与下通过减轻植物细胞的结构变化与调节抗氧化酶活性和质外体蛋白的含量提高植物的抗寒性^[4], 如 SA 能提高香蕉、大豆、水稻、萝卜和玉米幼苗的抗寒性^[5-9], 但 SA 能否缓解低温对黄瓜的伤害, 相关报道甚少。该试验以黄瓜为试材, 研究了不同浓度 SA 对低温胁迫下黄瓜幼苗叶片部分生理指标的影响, 以期为解决黄瓜苗期低温冷害问题提供参考。

第一作者简介:常云霞(1978-), 女, 硕士, 讲师, 现主要从事植物抗性生理等研究工作。E-mail: changyx618@126.com

责任作者:陈龙(1962-), 男, 本科, 教授, 现主要从事生物化学与分子生物学等研究工作。E-mail: chenlongzg@126.com

基金项目:河南省教育厅自然科学研究计划资助项目(2011B180057); 周口师范学院生物化学与分子生物学重点学科建设资助项目。

收稿日期:2012-03-04

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试“津研 2 号”黄瓜由周口市种子公司提供。

1.2 试验方法

选取饱满、整齐一致的黄瓜种子, 用 0.1% $HgCl_2$ 表面消毒 7 min, 去离子水反复冲洗, 在 38℃的去离子水中浸泡 24 h, 将已经浸过种的黄瓜种子均匀播种于加有 2 层纱布的 300 mm×200 mm×50 mm 的托盘中, 每盘 200 粒, 播种 18 盘, 每天上午 9:00、下午 17:00 用 50 mL 处理液使纱布保持湿润, 处理液为不同浓度的(0、0.5、1.0、1.5、2.0 mmol/L)SA 溶液, 每个浓度 3 次重复, 培养室昼、夜温度分别保持在 25~30℃、15~20℃, 光照度 4 000~4 500 lx, 光/暗周期为 14 h/10 h。待幼苗 3 叶 1 心时将生长一致的黄瓜幼苗(每盘定苗 100 株)放入光照培养箱(LRH-250-G 型)内进行低温胁迫处理 2 d。温度设定为 4℃, 光/暗周期为 14 h/10 h, 光照强度为 4 000 lx。同时以常温条件下生长且用去离子水培养的幼苗作为对照。

1.3 项目测定

低温胁迫 2 d 后随机取黄瓜幼苗的叶片, 去离子水反复冲洗、剪碎、混匀, 采用丙酮-乙醇提取法测定叶绿素的含量^[10]; 采用考马斯亮蓝 G-250 法测定可溶性蛋白的含量^[11]; 采用蒽酮比色法测定可溶性糖含量^[10]; 采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定丙二醛(MDA)的含量^[10]; 采用磺基水杨酸浸提法^[11]测定 Pro 的含量; 采用靛蓝四唑法测定

SOD 活性^[11];采用愈创木酚法测定 POD 活性^[11]。

1.4 数据分析

所有数据均取 3 次重复的平均值,采用 Microsoft Excel 2003 和 SPSS 10.0 统计分析软件进行数据分析和差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 SA 对低温胁迫下黄瓜幼苗叶片光合色素含量的影响

叶绿素含量的多少影响着植物对光能的吸收和转换,但随着叶片的衰老,组织老化或逆境损害,其含量逐步降低,影响捕获光能并转化成化学能的能力,使得光合速率明显下降^[12]。由表 1 可知,黄瓜幼苗叶片中叶绿素 a 含量的变化与叶绿素 b、总叶绿素含量的变化基本上相似,低温胁迫下均急剧下降,与对照(CK)相比叶绿素含量下降效果均达到差异极显著水平($P < 0.01$)。外施 SA 后,叶绿素含量随着 SA 处理浓度的增加呈现先增加而后略微降低的趋势。SA 处理有效地提高了低温胁迫下黄瓜幼苗叶片内叶绿素的含量,积累更多的光合产物,可以为黄瓜幼苗生长提供更多的营养物质。以 1.5 mmol/L 处理效果最好,与 0 mmol/L 处理相比,叶绿素含量增加了 29.36%,叶绿素含量增加效果达差异极显著水平($P < 0.01$)。

表 1 SA 对低温胁迫下黄瓜幼苗叶绿素含量的影响

Table 1 Effects of exogenous SA on chlorophyll content in leaves of cucumber seedlings under low temperature stress

处理 Treatments /mmol · L ⁻¹	叶绿素 a 含量 Content of chlorophyll a /mg · g ⁻¹ FW	叶绿素 b 含量 Content of chlorophyll b /mg · g ⁻¹ FW	总叶绿素含量 Content of total chlorophyll /mg · g ⁻¹ FW
CK	3.21dC	0.80dD	4.01dD
0	2.05aA	0.29aA	2.34aA
0.5	2.13abAB	0.38abAB	2.51abAB
1.0	2.31bcAB	0.47bcABC	2.78bcABC
1.5	2.43cB	0.61cCD	3.04cC
2.0	2.33bcAB	0.52bcBC	2.85bcBC

注:数据用 Duncan 法进行测验。英文字母表示不同处理间的差异显著性,小写字母表示 $P=0.05$ 显著水平,大写字母表示 $P=0.01$ 显著水平,有相同字母的为差异不显著。下同。

Note: The datas were tested by the method of Duncan. English letters were used to distinguish significance of difference between letter different treatments. Lowercase letters denote $P=0.05$ significance level, capital letters denote $P=0.01$ significance level, the same letters means there is no significant difference. The same as below.

2.2 SA 对低温胁迫下黄瓜幼苗叶片中有机渗透调节物质和 MDA 含量的影响

由表 2 可知,低温胁迫 2 d 后黄瓜幼苗可溶性蛋白含量与 CK 相比显著下降了 43.48%,而可溶性糖和 Pro 含量与 CK 相比显著上升了 54.76%、89.87%,下降与增加效果均达差异极显著水平($P < 0.01$),外施不同浓度的 SA 后,黄瓜幼苗叶片中可溶性蛋白、可溶性糖与 Pro 含量显著增强,其中以 1.5 mmol/L SA 处理效果最好,

与 0 mmol/L SA 处理相比分别提高 69.23%、56.15%、45.23%,并且各浓度 SA 处理与 0 mmol/L SA 处理相比叶片内的有机渗透调节物质增加效果均达到差异极显著水平($P < 0.01$)。说明适宜浓度的 SA 能显著提高低温胁迫下黄瓜幼苗叶片内的有机渗透调节物质,增强了其对低温胁迫的适应性。

MDA 是膜脂过氧化的产物,其含量的变化可以衡量植物受伤害的程度^[13]。由表 2 可知,低温胁迫 2 d 后 MDA 含量与 CK 相比显著提高,增加了 181.32%,增加效果达差异极显著水平($P < 0.01$),说明低温对黄瓜幼苗伤害程度很深,而加入不同浓度 SA 后,MDA 含量随 SA 浓度增加显著下降,并随着 SA 浓度增加呈现先下降后略微升高的趋势,与 0 mmol/L SA 处理相比 MDA 含量逐渐下降了 15.76%、28.84%、39.44%、33.67%,MDA 含量降低效果均达到极显著差异水平($P < 0.01$)。说明 SA 能有效降低低温胁迫对黄瓜幼苗细胞膜脂的过氧化程度,从而减轻低温胁迫伤害。

表 2 SA 对低温胁迫下黄瓜幼苗叶片中有机渗透调节物质和 MDA 含量的影响

Table 2 Effects of exogenous SA on organic osmotic adjustment substance and MDA content in leaves of cucumber seedlings under low temperature stress

处理 Treatments /mmol · L ⁻¹	可溶性蛋白含量 Content of soluble protein /mg · g ⁻¹ FW	可溶性糖含量 Content of soluble sugar /mg · g ⁻¹ FW	游离脯氨酸含量 Content of dissociative proline /mg · g ⁻¹ FW	丙二醛含量 MDA content /μmol · g ⁻¹ FW
CK	4.14fF	10.92aA	12.54aA	5.30aA
0	2.34aA	16.90bB	23.81bB	14.91eE
0.5	2.61bB	19.05cC	29.77cC	12.56dD
1.0	3.00cC	21.50dD	32.93dD	10.61cC
1.5	3.96eE	26.39fF	34.58fE	9.03bB
2.0	3.62dD	24.39 eE	33.06eDE	9.89bcBC

2.3 SA 对低温胁迫下黄瓜幼苗叶片抗氧化酶活性的影响

由表 3 可知,低温导致黄瓜叶片内 SOD、POD 活性增加,与 CK 相比分别增加了 15.00%、48.01%,增加效果均达极差异显著水平($P < 0.01$),加入不同浓度 SA 后,SOD 与 POD 活性均随 SA 浓度增加又显著升高,并随着 SA 浓度增加呈现先增加后略微降低的趋势,与

表 3 SA 对低温胁迫下黄瓜幼苗叶片中抗氧化酶活性的影响

Table 3 Effects of exogenous SA on antioxidase activities in leaves of cucumber seedlings under low temperature stress

处理 Treatments /mmol · L ⁻¹	SOD 活性 SOD activity /U · g ⁻¹ FW	POD 活性 POD activity /U · g ⁻¹ FW
CK	106.67aA	8.33aA
0	122.67bB	12.33bB
0.5	133.33cBC	15.00cB
1.0	141.33cC	18.00dC
1.5	165.33eD	21.00eD
2.0	154.67dD	19.33deCD

0 mmol/L SA 处理相比 SOD 活性逐渐增加了 8.69%、15.21%、34.78%、26.08%; POD 活性逐渐增加了 21.65%、45.99%、70.31%、56.77%, SOD 与 POD 活性增加效果均达到差异极显著差异水平($P < 0.01$)。说明 SA 能有效增加低温胁迫下黄瓜幼苗清除体内自由基的能力,从而减轻低温胁迫伤害。

3 讨论

低温胁迫条件下,叶绿素合成受抑制,叶绿体超微结构受到破坏,引起光合色素降解,导致叶绿素含量下降,使叶绿素含量降低,该研究结果与唐仕云等^[14]的报道一致。但外施 SA 后,能够促进低温胁迫下幼苗叶片内叶绿素的合成,提高叶绿素含量,促进叶片的光合作用,积累较多的光合产物,进一步提高植物的抗寒性。

当植物处于低温胁迫下时,体内的抗氧化系统平衡遭到破坏,导致活性氧(ROS)累积,这些 ROS 直接攻击细胞膜脂并引发过氧化加剧,促使膜脂中不饱和脂肪酸过氧化并产生 MDA,ROS 的积累导致 MDA 含量明显提高,加速了对植物的伤害^[15]。该试验中,低温胁迫下,黄瓜幼苗体内 MDA 含量增加,说明黄瓜幼苗体内的 ROS 大量积累,使细胞膜受到伤害。为了防御 ROS 的伤害,植物体内存在清除这些 ROS 的酶促反应系统,SOD 可清除 O_2^- ,POD 具有分解 H_2O_2 的作用,生成没有毒害的 H_2O ^[16],所以,增加 SOD 及 POD 活性,均可降低自由基含量,减少细胞膜损伤。该试验结果表明,低温胁迫下,黄瓜幼苗叶片中 SOD、POD 活性增强,并且 SA 处理使 2 种酶活性进一步增强,证明了 SA 能诱导抗氧化酶的生成,及时清除 ROS 的积累,减少 MDA 的生成,从而减轻对植物的伤害。

植物体内的可溶性蛋白大多数是参与各种代谢活动的酶类,其含量的高低可以衡量植物体抗低温胁迫的能力^[17];可溶性糖和 Pro 作为渗透保护物质可提高细胞液的浓度,增加细胞持水组织的非结冰水含量,从而降低细胞质的冰点^[18-19]。在逆境胁迫下可溶性糖和 Pro 会大量积累,有利于抗逆性增强。该试验结果表明,低温胁迫下,适宜浓度的 SA 处理可使黄瓜幼苗叶片可溶性蛋白、可溶性糖以及 Pro 含量增加,说明 SA 能增强黄瓜幼苗的抗低温胁迫的能力。

综上所述,低温胁迫对黄瓜幼苗具有一定的伤害作用,外施 SA 后,使黄瓜幼苗叶片的叶绿素、可溶性蛋白、

可溶性糖和 Pro 含量增加,同时能诱导黄瓜幼苗抗氧化酶的产生,并调节其活性,降低 ROS 的积累,使 MDA 含量下降,减轻对生物大分子的攻击,消除或缓解氧化损伤,减轻低温对黄瓜幼苗的伤害作用。并以 1.5 mmol/L 外源 SA 缓解效果最好。但是,SA 缓解低温胁迫是一个复杂的调控机制,还需进一步研究探讨。

参考文献

- [1] 郑丽梅,司龙亭,韩贵超.低温处理对不同耐寒性黄瓜幼苗叶片超微结构的影响[J].西北农业学报,2009,18(4):276-279.
- [2] 周青,王纪忠,陈新红.持续低温对黄瓜幼苗形态和生理特性的影响[J].北方园艺,2010(16):1-3.
- [3] 刘伟,艾希珍,梁文娟,等.低温弱光下水杨酸对黄瓜幼苗光合作用及抗氧化酶活性的影响[J].应用生态学报,2009,20(2):441-445.
- [4] 孟雪娇,郝昆,丁国华.水杨酸在植物体内的生理作用研究进展[J].中国农学通报,2010,26(15):207-214.
- [5] Kang G Z, Wang C H, Sun G C, et al. Salicylic acid changes activities of H_2O_2 -metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings[J]. Environmental and Experimental Botany, 2003, 50(1):9-15.
- [6] 常云霞,徐克东,陈臻,等.水杨酸对低温胁迫下大豆幼苗生长抑制的缓解作用[J].大豆科学,2012,31(6):927-931.
- [7] 张蕊,高志明,吕俊,等.外源水杨酸对水稻幼苗耐寒性的影响[J].江苏农业科学,2012,40(6):62-65.
- [8] 初敏,王秀峰,王淑芬,等.外源 SA 预处理对低温胁迫下萝卜幼苗的生理效应[J].西北农业学报,2012,21(2):142-145,183.
- [9] 王志斌,葛云侠,王建民,等.水杨酸和赤霉素复配剂对低温下玉米光合特性的影响[J].玉米科学,2010,18(6):43-45.
- [10] 刘萍,李明军.植物生理学实验技术[M].北京:科学出版社,2008.
- [11] 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,2000.
- [12] 周建,杨立峰,郝峰鸽,等.低温胁迫对广玉兰幼苗光合及叶绿素荧光特性的影响[J].西北植物学报,2009,29(1):136-142.
- [13] 冀鹏飞,薛斌,刘志华,等.干旱胁迫下葡萄根系的生理生化变化与抗旱性的关系[J].北方园艺,2012(4):17-20.
- [14] 唐仕云,杨丽涛,李杨瑞.低温胁迫下不同甘蔗品种(系)光合特性的变化及其与耐寒性的关系[J].广西植物,2012,32(5):679-685.
- [15] 孙富,杨丽涛,谢晓娜,等.低温胁迫对不同抗寒性甘蔗品种幼苗叶绿体生理代谢的影响[J].作物学报,2012,38(4):732-739.
- [16] 张良英,刘林,牛敬雨. UV-B 辐射增强对油桃光合特性和抗氧化酶活性的影响[J].北方园艺,2012(11):27-29.
- [17] 马迪,岳桦.大叶铁线莲对低温胁迫的响应[J].北方园艺,2010(6):112-114.
- [18] 朱月,赵雪梅,唐立红.低温对几种引种紫斑牡丹叶片可溶性糖含量的影响[J].北方园艺,2012(2):62-64.
- [19] 陈菲.低温胁迫对矮斗菜脯氨酸和可溶性蛋白含量的影响[J].北方园艺,2011(5):29-31.

Effects of Salicylic Acid on Several Physiological Indexes Related to Cold Resistance of Cucumber Seedling Leaf Under Low Temperature Stress

CHANG Yun-xia¹, XU Ke-dong², CHEN Can¹, RUAN Xian-le¹, ZHU Hui-qin¹, CHEN Long¹

(1. Department of Life Science, Zhoukou Normal University, Zhoukou, Henan 466001; 2. Key Lab of Plant Genetics and Molecular Breeding, Zhoukou Normal University, Zhoukou, Henan 466001)

无机硫对韭菜生长及硝酸盐累积的影响

李晓峰¹, 谢鑫¹, 付雪清¹, 王俊玲², 高志奎¹

(1. 河北农业大学 园艺学院, 河北 保定 071001; 2. 河北农业大学 生命学院, 河北 保定 071001)

摘要:针对韭菜生产中硝酸盐累积问题,研究了不同处理时期土壤施用和叶面喷施不同种类、浓度的无机硫对韭菜生长及硝酸盐累积的影响。结果表明:无机硫能促进韭菜的生长、促进硝酸盐的还原同化、降低韭菜叶片硝酸盐的累积;收割后 0 d 和收割后 10 d 土壤施用 12 g/m² 的 NaHSO₃、收割后 10 d 叶面喷施 10 mmol/L 的 NaHSO₃ 可显著降低韭菜叶片硝酸盐含量 6.68%、24.27%、25.54%;同时,无机硫能在一定程度上提高韭菜叶片硝酸还原酶(NR)活性,分别比对照提高了 11.86%、27.43%、37.03%;并且,韭菜的株高、鲜重、叶绿素含量也均有增加。

关键词:韭菜;无机硫;硝酸盐累积;硝酸还原酶活性

中图分类号:S 633.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)12-0004-04

蔬菜尤其是叶菜类蔬菜,喜硝态氮,极易富集硝酸盐(NO₃⁻)^[1]。一般认为,硝态氮的吸收大于还原是蔬菜产生硝酸盐累积的根本原因。蔬菜中富集的过量 NO₃⁻ 成为危害人体健康的潜在因素已为人所共识^[2]。为了限制硝态氮的吸收,基于土壤溶液中硝态氮过多会被吸收而直接导致硝酸盐累积加重的缘故,目前国内外的一些研究与生产中,以氮素营养调控最为直接,表现在控制氮素的施用量(特别是硝态氮)、氮磷钾的合理配比施肥、氮肥种类及形态配比以及采用氮肥调节剂(硝化抑制剂)等方法来降低蔬菜体内硝酸盐的累积^[3-5]。

现代植物生理生化研究表明,氮和硫 2 种元素在生理代谢-特别是蛋白质合成方面表现出高度的协同关系^[6]。氮、硫中的某一种元素缺乏就抑制另一条代谢途径。Hawkesford 等^[7]研究表明,不充足的硫供应导致暂时的和稳固的硝酸盐积累或特殊的氨基酸库的混乱。一些研究利用土壤施用硫肥(硫酸钾、硫磺等)的手段,在一定程度上调节了植株氮硫代谢过程中的关键酶活性^[8],同时促进了植株的 C-N 运转,降低了硝酸盐的累积。但关于硫肥的不同种类和施用方式对硝酸盐累积的影响鲜见报道。

该试验针对韭菜生产中硝酸盐累积问题,基于 N-S 代谢的偶联与相关平衡关系,采用不同种类、不同浓度的无机硫,结合土壤施用和叶面喷施 2 种处理方式,测试分析了韭菜叶片硝酸盐含量、硝酸还原酶活性、株高、鲜重、叶绿素含量的变化,以期筛选出降低韭菜硝酸盐累积效果显著的无机硫种类及浓度范围,为绿色蔬菜的栽培提供理论指导,以促进中国无公害蔬菜生产及产业发展。

第一作者简介:李晓峰(1976-),男,河北内邱人,博士,讲师,现主要从事蔬菜生理和育种等研究工作。

责任作者:高志奎(1963-),男,河北唐山人,博士,教授,博士生导师,现主要从事蔬菜光合生理等研究工作。

基金项目:河北省自然科学基金资助项目(C2009000625);河北省科技支撑计划资助项目(10220711)。

收稿日期:2013-03-19

Abstract: Using cucumber 'Jinyan-2' as the material, the effects of different concentrations of salicylic acid on the growth of cucumber seedling under 4°C cold stress were studied by hydroponic culture. The results showed that under cold stress, the contents of chlorophyll and soluble proteins were significantly decreased than those of control. The contents of proline, soluble sugar, MDA and the activities of SOD and POD were significantly increased ($P < 0.01$). Exogenous SA application on the root significantly increased the contents of chlorophyll, soluble proteins, soluble sugar and proline, while the activities of SOD and POD were significantly increased, the membrane lipid peroxidation products MDA content decreased significantly ($P < 0.01$). Therefore, the application of SA could improve the contents of cucumber seedling soluble protein, soluble sugar and Pro and the activities of SOD and POD to maintain the stability of cell membrane, decrease membrane lipid peroxidation damage degree, so as to alleviate the low temperature stress on seedling growth inhibition, and the alleviated effect was the best under the condition of 1.5 mmol/L exogenous SA.

Key words: salicylic acid; low temperature stress; cucumber seedling; physiological index