

H₂O₂ 诱导低温胁迫下草莓苗抗冷性研究

耶兴元, 刘建军, 刘磊

(信阳农业高等专科学校 园艺系, 河南 信阳 464000)

摘 要:以草莓品种“丰香”为试材,研究了在低温胁迫下叶面喷施低浓度 H₂O₂ 后草莓相关抗逆性生理指标的特性。结果表明:不同浓度 H₂O₂ 处理抑制低温胁迫草莓叶细胞电解质渗透率和丙二醛(MDA)含量的增加,增强了草莓叶细胞内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)和谷胱甘肽还原酶(GR)的活性。

关键词:H₂O₂;草莓苗;低温胁迫;抗冷性

中图分类号:S 668.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)17-0047-03

草莓设施栽培主要在冬春季进行,冬春季节的低温正是草莓设施栽培的主要限制因子,制约着草莓产业的发展。寻求缓解低温对草莓生长的胁迫途径已成为草莓科研工作者的重要课题。H₂O₂ 是一种氧化胁迫因子,但近年来的研究认为,H₂O₂ 是植物细胞内感受逆境的“第二信使”,低浓度的 H₂O₂ 能提高细胞的防御能力,提高植物的抗逆性^[1]。现以草莓苗为试材,研究外源低浓度 H₂O₂ 诱导草莓抗低温胁迫能力的生理效应,旨在为提高设施草莓的抗低温胁迫能力提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试草莓品种为“丰香”。

第一作者简介:耶兴元(1976-),男,陕西长安人,硕士,讲师,现主要从事植物抗逆生理研究工作。E-mail:yexingyuan@126.com。
收稿日期:2011-06-08

1.2 试验方法

选择生长良好、基本一致的草莓苗定植于 20 cm×20 cm 的营养钵中,每钵定植壮苗 2 株,置于露天生长 30 d 后,选形态长势基本一致的苗喷布 0(为对照)、0.001、0.01、0.1、1 mmol/L H₂O₂,3 h 后将草莓苗移入智能人工气候培养箱中进行低温胁迫处理 12 h,低温胁迫温度设定为 1℃,光照 4 000 lx,每个处理 20 株,3 次重复。12 h 低温胁迫结束后进行各项生理指标的测定。

1.3 测定项目与方法

电解质渗透率测定:用 ORION TDS 电导仪测定叶片杀死前电导率(E₁),杀死后电导率(E₂)及所用去离子水电导率(E₀)。电解质渗透率(%)=(E₁-E₀)/(E₂-E₀)×100%。取叶片 1 g,加入 50 mmol/L pH 7.8 磷酸缓冲液(PBS)5 mL 在冰浴中研磨提取,在 4℃ 离心机中 9 000 r/min 离心 20 min,取上清液定容至 10 mL,上清液为酶提取液,用于超氧化物歧化酶(SOD)、

Abstract: Used ‘Beibinghong’, ‘2001-1-135’ and ‘98-8-165’ as materials, studied the different planting way (plant space were 0.5 m, 0.75 m, 1.0 m, 1.5 m; row space were 2.5 m, 3.0 m) and different trellis that effect on the yield and quality of grape. The results indicated that the trees density of fence trellis with planting spacing of (0.5~0.75) m×2.5 m and small scaffolding with planting spacing of 0.5 m×3.0 m was too large, ventilation and light penetration were bad, downy mildew disease occurred seriously, resulted in the great yield reduction on the second year as the rates of germination and fruit setting were lower. In small scaffolding, the tree reserved with 2 main wines in spacing of 1 m×3 m and reserving 3 main vines in spacing of 1.5 m×3 m reached high-yield period after 5 years and 6 year respectively, and had lightly downy mildew disease, higher fruit setting rate, higher sugar content, but low yield. The tree reserved with 1 main wines in the small scaffolding spacing of 0.75 m×3 m had earlier flowering date, and high-yield period at the forth years, and with the highest yield and better fruit quality, the tree reserved with 1 main wines in the fence trellis spacing of 1.0 m×2.5 m had higher yield too, both of the two trellis form had stationary yield in the current year and the second year. Above all, the appropriate plant spacing were 0.75 m×3 m in small scaffolding and 1.0 m×2.5 m in fence trellis for the three varieties of *Vitis amurensis* Rupr.

Key words: *Vitis amurensis* Rupr.; trellis form; planting spacing; quality; yield

过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷胱甘肽还原酶(GR)、脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)活性及丙二醛(MDA)含量的测定^[2]。SOD活性测定用氮蓝四唑法^[3],CAT活性测定用高锰酸钾滴定法^[4],POD活性测定用愈创木酚法^[5],APX和DHAR活性测定用 Nakano 和 Asada 的方法^[6],GR活性测定用 Foyer^[7]的方法。3次重复,用 DPS 7.05 统计软件进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 H_2O_2 对低温胁迫下草莓苗电解质渗透率和 MDA 含量的影响

低温胁迫下细胞膜透性会增大,膜脂氧化的产物 MDA 含量会增加。从图 1、2 可看出,在低温胁迫下,不同浓度 H_2O_2 处理的草莓细胞电解质渗透率和 MDA 含量都低于对照。其中以 0.01、0.1 mmol/L H_2O_2 处理的草莓苗叶细胞的电解质渗透率和 MDA 含量都显著低于对照($P < 0.05$)。由此可见,0.01、0.1 mmol/L H_2O_2 处理抑制了草莓苗叶细胞透性的增大和 MDA 含量的增加。

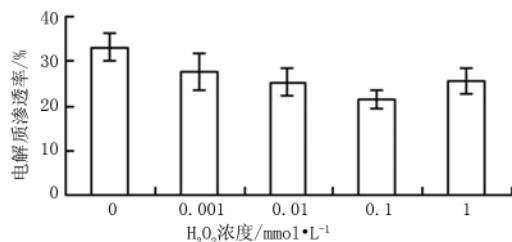


图 1 H_2O_2 对低温胁迫草莓细胞电解质渗透率的影响

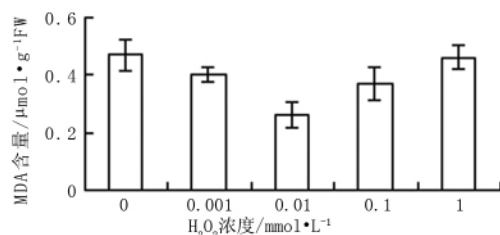


图 2 H_2O_2 对低温胁迫草莓细胞 MDA 含量的影响

2.2 H_2O_2 对低温胁迫下草莓苗抗氧化酶活性的影响

SOD可清除细胞内的超氧阴离子,CAT可清除细胞内的活性氧。由图3可知,在低温胁迫下,不同浓度的 H_2O_2 处理的草莓细胞中SOD活性都不同程度高于对照,以0.01、0.1、1 mmol/L H_2O_2 处理的草莓苗叶细胞中SOD活性显著高于对照($P < 0.05$)。由图4可知,不同浓度的 H_2O_2 处理的草莓细胞中CAT活性都不同程度高于对照,以0.1、1 mmol/L H_2O_2 处理的草莓苗叶细胞中CAT活性显著高于对照($P < 0.05$)。由此可见,0.01、0.1 mmol/L H_2O_2 处理草莓苗可提高SOD和CAT活性,从而可起到清除活性氧和自由基的作用。

POD和CAT同样可把 H_2O_2 转变为 H_2O ,从而起

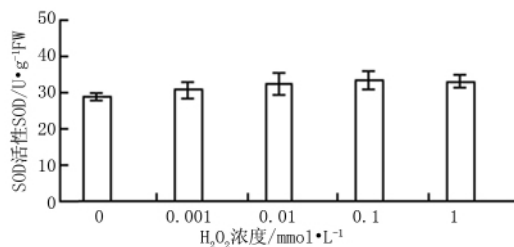


图 3 H_2O_2 对低温胁迫草莓细胞 SOD 活性的影响

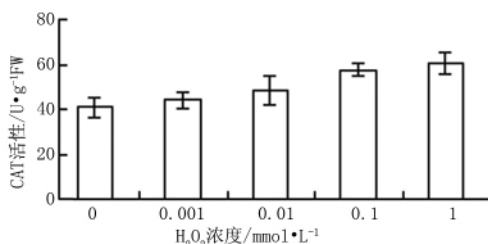


图 4 H_2O_2 对低温胁迫草莓细胞 CAT 活性的影响

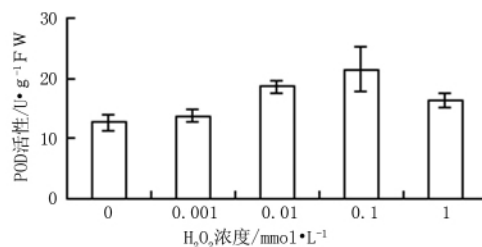


图 5 H_2O_2 对低温胁迫草莓细胞 POD 活性的影响

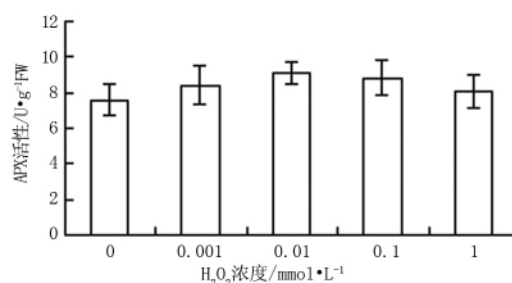


图 6 H_2O_2 对低温胁迫草莓细胞 APX 活性的影响

到清除活性氧的作用。由图5可知,在低温胁迫下,不同浓度的 H_2O_2 处理的草莓细胞中POD活性都不同程度高于对照,以0.01、0.1 mmol/L H_2O_2 处理的草莓苗叶细胞中POD活性显著高于对照($P < 0.05$)。APX参与谷胱甘肽抗坏血酸循环清除细胞内的活性氧。由图6可看出,在低温胁迫下,不同浓度的 H_2O_2 处理的草莓细胞中APX活性都不同程度高于对照,以0.01、0.1 mmol/L H_2O_2 处理草莓苗叶细胞中APX活性显著高于对照($P < 0.05$)。由此可见,0.01、0.1 mmol/L H_2O_2 处理提高了细胞内POD和APX活性,增强了叶细胞在低温胁迫下的抗氧化能力。

GR和DHAR都参与了谷胱甘肽抗坏血酸循环清

除细胞内的活性氧。由图 7 可看出,在低温胁迫下,不同浓度的 H_2O_2 处理的草莓细胞中 GR 活性都不同程度高于对照,以 0.01、0.1 mmol/L H_2O_2 处理的草莓苗叶细胞中 GR 活性显著高于对照 ($P < 0.05$)。由图 8 可看出,在低温胁迫下,0.001、0.01、0.1 mmol/L H_2O_2 处理的草莓苗叶细胞中 DHAR 活性不同程度高于对照,1 mmol/L H_2O_2 处理的草莓苗叶细胞中 DHAR 活性略低于对照,以 0.01、0.1 mmol/L H_2O_2 处理的草莓苗叶细胞中 DHAR 活性显著高于对照 ($P < 0.05$)。由此可见,适当低浓度的 H_2O_2 处理可提高草莓叶细胞中 GR 和 DHAR 活性。

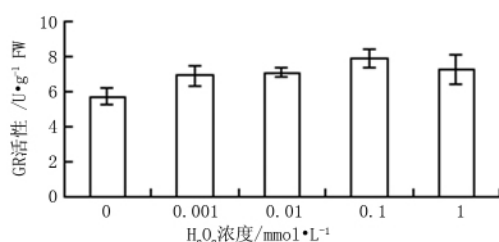


图 7 H_2O_2 对低温胁迫草莓细胞 GR 活性的影响

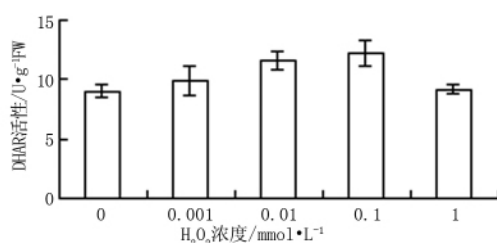


图 8 H_2O_2 对低温胁迫草莓细胞 DHAR 活性的影响

3 结论与讨论

有些研究表明,植物获得抗冷性是通过诱导植物细胞内 H_2O_2 含量升高而实现的^[8],低浓度 H_2O_2 作为一种逆境信号转导因子,可激活植物细胞内抗氧化系统活力^[9-10],维持细胞正常代谢功能。用低浓度的 H_2O_2 处理低温胁迫下的香蕉幼苗^[11]、水稻幼苗^[12]均可

提高抗氧化酶(SOD、POD、CAT、APX)活性,诱导了植物的抗冷性。试验用低浓度 H_2O_2 处理低温胁迫下草莓苗,结果表明低浓度 H_2O_2 可不同程度诱导抗氧化酶(SOD、POD、CAT、APX、GR 和 DHAR)活性增强,同时抑制细胞膜透性的增大和膜脂过氧化产物 MDA 含量增加,从机理上缓解了草莓叶细胞的冷胁迫。结果表明,低浓度 H_2O_2 可从生理水平上诱导植物细胞内抗氧化酶活性增强,维护细胞正常代谢,从而使得植物获得抗冷性。

参考文献

- [1] Becana M, Dalton D A, Moran J F. Reactive oxygen species and antioxidants in legume nodules[J]. *Physiol Plant*, 2000, 109: 372-381.
- [2] 朱祝军,喻景权, Gerendas J, 等. 氮素形态和光照强度对烟草生长和 H_2O_2 清除酶活性的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 1988, 98: 1222-1227.
- [3] 王爱国,罗光华,邵从本. 大豆种子超氧化物歧化酶的研究[J]. *植物生理学报*, 1983, 9(1): 77-84.
- [4] Gissnopollitis C, Nries S K. Superoxide dismutase occurrence in higher plant[J]. *Plant Cell Physiology*, 1977, 59: 309-314.
- [5] Heath R L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation [J]. *Archiv Biochemistry Biophysics*, 1968, 125: 189-198.
- [6] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplast[J]. *Plant Cell Physiology*, 1981, 22: 867-880.
- [7] Foyer C H, Halliwell B. Presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts; a proposed role on ascorbic acid metabolism[J]. *Planta*, 1976, 133: 21-25.
- [8] Luo J P, Jiang S T, Pan L J. Enhanced somatic embryogenesis by salicylic acid of *Astragalus adsurgens* pall: relationship with H_2O_2 production and H_2O_2 metabolizing enzyme activities[J]. *Plant Sci*, 2001, 161: 125-132.
- [9] 李美如,刘鸿先,王以柔. 细胞氧化应激机制与植物抗冷性机理研究[J]. *生命科学*, 1996, 84(4): 30-35.
- [10] 康国章,王正询,孙谷畴. 几种外源物质提高植物抗冷力的生理机制[J]. *植物生理学通讯*, 2002, 38(2): 193-197.
- [11] 康国章,陶均,孙谷畴. H_2O_2 和 Ca^{2+} 对受低温胁迫香蕉幼苗抗冷性影响[J]. *园艺学报*, 2002, 29(2): 119-122.
- [12] 李美如,刘鸿先,王以柔. 氧化胁迫对水稻幼苗抗冷力的影响[J]. *热带亚热带植物学报*, 1997, 7(4): 193-197.

H_2O_2 Induced Chilling Resistance of Strawberry Seedlings under Low Temperature Stress

YE Xing-yuan, LIU Jian-jun, LIU Lei

(Department of Horticulture, Xinyang Agricultural College, Xinyang, Henan 464000)

Abstract: ‘Fengxiang’ strawberry was used as test material, the effects of low concentration of H_2O_2 on physiological character related to chilling resistance of strawberry seedlings under low temperature stress was studied. The results showed that H_2O_2 could inhibit the membrane permeability, decrease the malondialdehyde (MDA) content, improve the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD), ascorbic acid peroxidase (APX), glutathione reductase (GR) and dehydroascorbic acid reductase (DHAR) in strawberry seedling cells.

Key words: H_2O_2 ; strawberry seedlings; low temperature stress; chilling resistance