

doi:10.11937/bfyy.20164959

## 外源褪黑素在低温胁迫下对 黄瓜幼苗抗冷性的影响

赵小红, 罗庆熙, 饶 玲

(西南大学 园艺园林学院, 重庆 400715)

**摘 要:**以“清白”黄瓜为试材,在低温(昼/夜,15℃/10℃)条件下,研究了不同浓度褪黑素(0、50、100、200、400  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )对黄瓜幼苗生长及抗氧化活性等指标的影响。结果表明:当 MT 浓度为 100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时生长效果最佳,其株高、茎粗、壮苗指数、叶面积、根冠比分别比对照提高了 10.4%、22.9%、57.4%、18.0%、63.6%;超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等保护酶活性显著升高,在低温处理的第 2 天,100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  MT 处理的酶活性分别比对照提高了 20.7%、28.6%、10.3%。

**关键词:**褪黑素;低温;保护酶;抗氧化物质

**中图分类号:** S 642.204<sup>+</sup>.3 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2017)14-0055-05

褪黑素(melatonin, MT),又名 N-乙酰-5-甲氧色胺,首次在动物的多个生物活动过程中被发现,进而被认定为一种重要的动物激素<sup>[1-3]</sup>。经进一步研究发现,原生生物、藻类、真菌和植物等生命形式中均含有褪黑素<sup>[4-7]</sup>。现有研究证明褪黑素在植物不同发育过程以及应激反应中起着重要的保护作用,包括参与生长调节、光合调节及提高抗逆作用等<sup>[8-9]</sup>。在 4℃ 低温条件下,采用 10~30  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  褪黑素处理拟南芥,其株高、主根长度以及鲜质量等显著性增加,而抗冷适应相关的基因和因子如 CBFs、DREBs、Zat10、Zat12、COR15a 等的表达量明显增加,刺激相关抗冷化合物的合成帮助植物抵御冷环境的不利影响<sup>[10]</sup>。此外,用 0.1  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  褪黑素预处理低温保存 5 d

的大花红景天愈伤组织,其过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性能够显著的提高,表明褪黑素可以通过提高抗氧化酶的活性来保护植物细胞免受低温胁迫造成的伤害,提高植物的抗冷性<sup>[11]</sup>。说明褪黑素能缓解低温逆境给植物带来的伤害,在农业生产中具有重要的应用价值。黄瓜(*Cucumis sativus* L.)属于冷敏感植物,在设施生产中经常受到低温弱光的影响,使黄瓜幼苗抗氧化酶活性升高、光合作用下降、生长发育受到抑制,使得黄瓜产量和品质降低。这已成为目前黄瓜设施栽培亟待解决的问题之一。该试验以黄瓜幼苗为试材,在低温胁迫下研究外源褪黑素对黄瓜幼苗生长及抗氧化系统等生理特性的影响,旨在明确外源褪黑素诱导黄瓜幼苗耐低温的生理机制,为 MT 在冬春低温季节设施黄瓜生产上的应用提供参考依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

供试“清白”黄瓜由重庆三千种业公司提供。褪黑素(MT)购自上海源叶生物科技有限公司。

**第一作者简介:**赵小红(1991-),女,硕士研究生,研究方向为蔬菜生理技术与设施园艺。E-mail: 1178943096@qq.com

**责任作者:**罗庆熙(1957-),男,硕士,副教授,硕士生导师,研究方向为蔬菜生理技术与设施园艺。E-mail: qxluo@swu.edu.cn

**收稿日期:** 2017-02-08

## 1.2 试验方法

试验于2015年3—11月在西南大学园艺园林学院园艺实验室进行。选均匀饱满、大小一致的种子,用9%  $\text{H}_2\text{O}_2$  消毒10 min,蒸馏水漂洗3遍,用滤纸吸干后,用蒸馏水浸种催芽,待种子露白后播种在装有园土:草炭=1:1的营养钵中(8 cm×8 cm)。当幼苗子叶展平时,根据情况补充1/2 Hoagland 营养液。待幼苗长出三叶一心时,选择大小一致的幼苗放置在 GDN 光照培养箱温度设置低温(25℃/20℃,昼夜12 h/12 h,光照强度5 000 lx)进行预培养2 d。

MT 用蒸馏水配成0、50、100、200、400  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 等5种浓度溶液。对预培养的黄瓜幼苗喷施褪黑素,以叶片正反两面均喷为准,重复3次,晾干后放入低温处理(15℃/10℃,昼夜12 h/12 h,光照强度5 000 lx)。试验每处理水平30株幼苗,重复3次,分别在处理0、2、4、6 d时在每株植株样品上选取均匀完整的功能叶,测定黄瓜幼苗的生理指标;在第6天时测定黄瓜幼苗的生长指标。

## 1.3 项目测定

### 1.3.1 生长指标的测定

随机选取各处理的幼苗30株,用水冲洗黄瓜幼苗根部的基质,用吸水纸吸干水分,测定株高、茎粗、地上/地下部鲜质量、地上/地下部干质量、壮苗指数、叶面积、根冠比等指标,其中壮苗指

数=(茎粗/株高)×植株干质量;采用 Ci-203 激光叶面积仪测定叶面积;根冠比=地下部鲜质量/地上部鲜质量。

### 1.3.2 生理指标的测定

相对电导率、丙二醛、脯氨酸含量和超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性的测定均参照李合生<sup>[12]</sup>的方法;可溶性糖含量采用蒽酮法<sup>[13]</sup>测定;叶绿素含量采用乙醇-丙酮混合提取法<sup>[14]</sup>测定。

## 1.4 数据分析

采用 Excel 软件对试验数据进行整理分析,利用 SPSS 19.0 软件进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 外源 MT 对黄瓜幼苗的生长指标的影响

从表1可以看出,在低温条件下,不同浓度的 MT 处理的黄瓜幼苗生长表现出显著性差异( $P<0.05$ ),株高、茎粗、壮苗指数、叶面积、根冠比等变化趋势大致相同,随着 MT 的浓度的增大,生长指标呈现出先上升后下降的趋势。当 MT 浓度为100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到最高值,其指标分别比对照提高了10.4%、22.9%、57.4%、18.0%、63.6%,与对照相比达到显著性差异( $P<0.05$ ),可以表明适宜浓度的 MT 能缓解温度逆境对黄瓜幼苗的伤害,对黄瓜生长有一定的促进作用,并以100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 效果为最佳。

表1 低温下不同浓度 MT 对黄瓜幼苗生长的影响

处理	株高/cm	茎粗/cm	壮苗指数	叶面积/ $\text{cm}^2$	根冠比
CK	20.07±0.04c	0.35±0.04c	0.047±0.003e	143.46±0.41e	0.22±0.04d
MT50	21.13±0.05b	0.39±0.01bc	0.053±0.001c	151.49±1.27c	0.26±0.02c
MT100	22.16±0.11a	0.43±0.03a	0.074±0.002a	169.33±0.56a	0.36±0.01a
MT200	21.02±0.07b	0.41±0.01ab	0.065±0.004b	156.70±0.68b	0.33±0.03b
MT400	19.99±0.35c	0.36±0.02bc	0.050±0.002d	147.14±0.79d	0.27±0.03c

注:小写字母表示不同处理间差异显著( $P<0.05$ )。下同。

### 2.2 外源 MT 对黄瓜幼苗保护酶活性的影响

由图1可知,在低温胁迫下,黄瓜保护酶活性变化趋势基本一致,均呈先上升后下降趋势。在处理2 d后,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性均处于峰值,

且100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 MT 处理效果最好,分别比对照提高了20.7%、28.6%、10.3%。低温处理第6天,褪黑素处理对 SOD 活性的影响,除400  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 CK 处理效果没有达到显著性差异( $P>0.05$ )外,其余各浓度处理均达到

显著性差异( $P<0.05$ );POD 活性变化中 CK 与  $50\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理无显著性差异( $P>0.05$ ),与  $400\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理达到显著性差异( $P<0.05$ ),

并且以  $400\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理效果最差;而各浓度 MT 处理的 CAT 活性变化均达到显著性差异( $P<0.05$ ),且以 CK 处理效果最差。

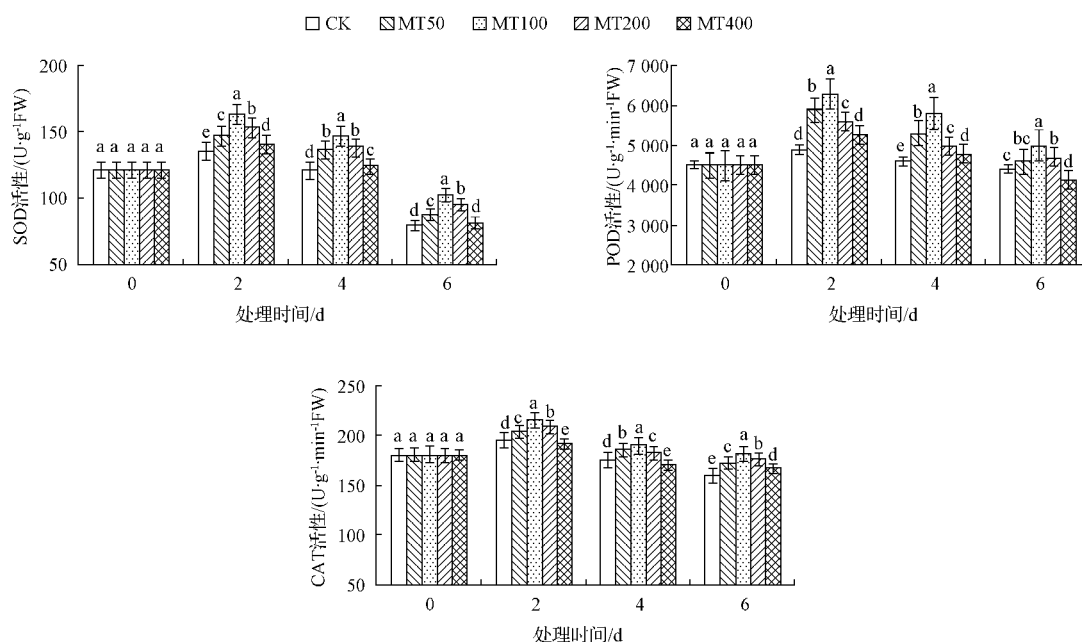


图 1 褪黑素对黄瓜保护酶活性的影响

### 2.3 外源 MT 对黄瓜幼苗丙二醛含量的影响

由图 2 可知,在低温处理的第 2 天,CK 与  $400\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理的效果差异不显著,  $50\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  与  $200\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理效果同样差异不显著,而到第 4、6 天时各浓度处理效果均达到显著性差异( $P<0.05$ ),整体呈上升趋势,并以  $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理效果最佳,表明喷施外源 MT 可缓解黄瓜幼苗经低温处理后的膜脂过氧化作用,从而减轻伤害。

### 2.4 外源 MT 对黄瓜幼苗相对电导率的影响

从图 3 可以看出,黄瓜经低温处理后,各处理浓度的相对电导率呈逐步上升趋势,说明细胞膜系统遭受到不同程度的伤害。在处理的第 2 天,  $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理的效果与 CK 及  $50\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  差异不显著;在第 6 天时,  $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  处理效果最佳,与其它浓度处理达到显著性差异( $P<0.05$ )。

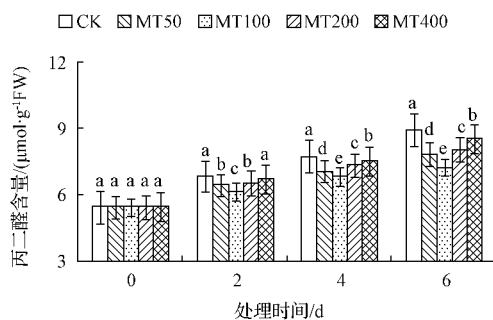


图 2 褪黑素对黄瓜 MDA 含量的影响

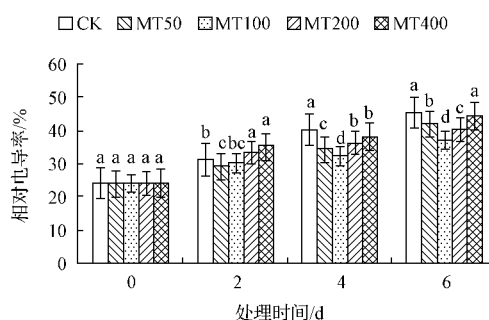


图 3 褪黑素对黄瓜相对电导率的影响

## 2.5 外源 MT 对黄瓜幼苗叶绿素含量的影响

由图 4 可知,黄瓜幼苗的叶绿素含量在低温处理后呈下降趋势,并且第 6 天时叶绿素的含量达到最低值,但各浓度处理除  $400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  外,均与 CK 处理的效果达到显著性差异 ( $P < 0.05$ ),分别比 CK 提高了 41.7%、58.3%、25.0%,以  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的褪黑素处理效果最佳。表明外源褪黑素可以适当缓解叶绿素含量的降解。

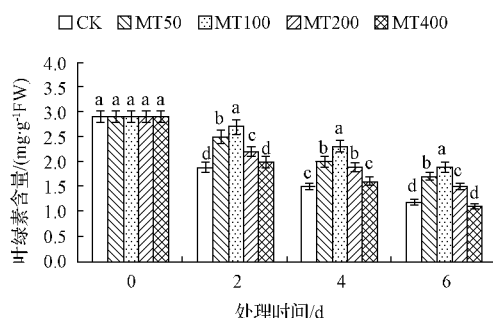


图 4 褪黑素对黄瓜叶绿素含量的影响

## 2.6 外源 MT 对黄瓜幼苗脯氨酸含量的影响

由图 5 可知,低温胁迫下,黄瓜幼苗体内的脯氨酸含量逐渐增加。各处理呈先上升后下降趋势,并在  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  处理时达到峰值。在第 2、4、6 天时,  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  处理分别比对照提高了 26.0%、27.8%、22.4%,效果最佳。表明在适宜浓度下,脯氨酸含量顺利累积能够保持渗透调节的平衡。

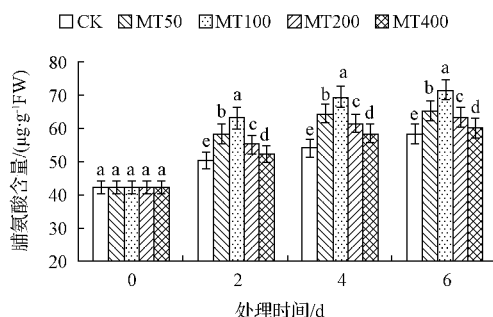


图 5 褪黑素对黄瓜脯氨酸含量的影响

## 2.7 外源 MT 对黄瓜幼苗可溶性糖含量的影响

由图 6 可知,可溶性糖含量(SSC)在低温处理后第 4 天达到峰值,其中  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  处理效果最佳,与 CK 相比达显著性差异 ( $P < 0.05$ );

在第 6 天时,  $400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  处理与 CK 达到显著性差异,但  $400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  处理效果最差,抑制了黄瓜幼苗 SSC 含量的升高。

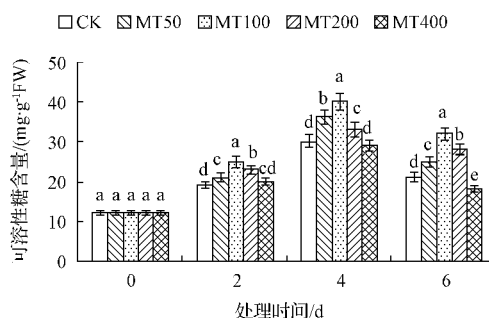


图 6 褪黑素对黄瓜可溶性糖含量的影响

## 3 讨论与结论

有研究表明,植物受到低温胁迫后,细胞膜的透性增大、膜结合酶结构改变,导致植物细胞代谢变化和功能紊乱,MDA 含量作为衡量膜脂过氧化指标,其大小表示细胞膜脂过氧化的程度以及植物对低温条件反应的强弱<sup>[15]</sup>。该试验发现在低温条件下,黄瓜幼苗的 MDA 含量逐渐上升,相比 CK,  $50 \sim 400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  MT 处理的幼苗都有不同程度的降低,尤其是  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  MT 处理效果最佳,表明 MT 确实能够减轻低温对植物带来的伤害。一般情况下,植物体内的抗氧化酶的活性变化复杂,是反映植物抗逆性的重要指标。施用  $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  与  $400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  MT 处理时,黄瓜幼苗体内 SOD、POD、CAT 的活性最低,  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  与  $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  MT 处理时,黄瓜幼苗体内 SOD、POD、CAT 活性较高,表明适宜浓度 MT 处理后的黄瓜幼苗可以保持其体内较高的 SOD、POD、CAT 活性,清除活性氧自由基,缓解低温对黄瓜幼苗的伤害。脯氨酸与可溶性糖是植物体内的重要渗透调节物质,其含量越高,表明植物的抗逆性越强<sup>[16]</sup>。在低温条件下,  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  MT 处理能够有效提高脯氨酸和可溶性糖的含量,而  $400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  MT 处理效果最差。综上所述,在低温胁迫下,适宜浓度的外源 MT 处理保持黄瓜幼苗较高的 SOD、POD、CAT 活性,以及提高 SSC、脯氨酸含量,降低相对电导率和 MDA 含量,能够增强黄瓜幼苗体内的

抗逆性,促进黄瓜幼苗的生长,缓解低温给黄瓜幼苗带来的伤害,其中  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 MT 效果最佳,与前人<sup>[17-18]</sup>研究结果基本一致。

### 参考文献

- [1] TAND X, CHEN L D, POEGGELER B, et al. Melatonin: Apotent endogenous hydroxyl radicals scavenger[J]. Endocr J, 1993(1):57-60.
- [2] TAND X, HARDELAND R, MANCHESTER L C, et al. Mechanistic and comparative studies of melatonin and classic antioxidants in terms of their interactions with the ABTS cation radical[J]. J Pineal Res, 2003(34):249-259.
- [3] REITER R J, TAND X, MANCHESTER L C, et al. Melatonin and reproduction revisited[J]. Biol Reprod, 2009, 81:445-456.
- [4] HATTORI A, MIGITAKA H, IIGO M, et al. Identification of melatonin in plants and its effects on plasma melatonin levels and binding to melatonin receptors invertebrates[J]. Biochem Mol Biol Inter, 1995(35):627-634.
- [5] DUBBELS R, REITER R J, KLENKE E, et al. Melatonin in edible plants identified by radio immunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry[J]. J Pineal Res, 1995(18):28-31.
- [6] KOLAR J, MACHACKOVA I. Melatonin in higher plants: Occurrence and possible functions[J]. J Pineal Res, 2005(39):333-341.
- [7] ARNAOM B, HERNANDEZ RUIZ J. The physiological function of melatonin in plants[J]. Plant Signal Behav, 2006(1):89-95.
- [8] 姜超强, 祖朝龙. 褪黑素与植物抗逆性研究进展[J]. 生物技术通报, 2015, 3(4):47-55.
- [9] 王蕊, 杨小龙, 须辉, 等. 高等植物褪黑素的合成和代谢研究进展[J]. 植物生理学报, 2016, 52(5):615-627.
- [10] BAJWA V S, SHUKLA M R, SHERIF S M, et al. Role of melatonin in alleviating cold stress in *Arabidopsis thaliana* [J]. Journal of Pineal Research, 2014, 56(3):238-245.
- [11] ZHAO Y, QI L, WANG W, et al. Melatonin improves the survival of cryopreserved callus of *Rhodiola crenulata* [J]. Journal of Pineal Research, 2011, 50(2):83-88.
- [12] 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.
- [13] 王三根. 植物生理研究技术[M]. 重庆: 西南师范大学出版社, 2011:137-138.
- [14] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学试验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2002:35-36.
- [15] DHINDSA R S, MATOWE W. Drought tolerance in two mosses correlated with enzymatic defence against lipid peroxidation[J]. Exp Bot, 1981, 32:79-91.
- [16] 崔岩, 王丽萍, 霍春玲, 等. 外源抗冷物质对低温胁迫下黄瓜幼苗抗冷性的影响[J]. 中国蔬菜, 2008(2):15-18.
- [17] 包宇, 罗庆熙, 黄娟, 等. 外源褪黑素对低温胁迫下番茄幼苗生理指标的影响[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2013, 38(10):57-60.
- [18] 徐向东, 孙艳, 孙波, 等. 高温胁迫下外源褪黑素对黄瓜幼苗活性氧代谢的影响[J]. 应用生态学报, 2010, 21(5):1295-1300.

## Effects of Exogenous Melatonin on Chilling Tolerance of Cucumber Seedlings Under Low Temperature Stress

ZHAO Xiaohong, LUO Qingxi, RAO Ling

(School of Horticulture and Landscape Architecture, Southwestern University, Chongqing 400715)

**Abstract:** At low temperature (day/night, 15 °C/10 °C), with 'Qingbai' cucumber as raw material, the effect of different MT concentrations (0, 50, 100, 200, 400  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) on the seedling growth and antioxidant activities of cucumber were studied. The results showed that when MT concentration was  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , cucumber growth was the best, the plant height, stem diameter, seedling index, leaf area, root shoot ratio were increased by 10.4%, 22.9%, 57.4%, 18.0%, 63.6%. At the second days of low temperature, the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) were significantly increased, compared with the control,  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  MT respectively increased by 20.7%, 28.6%, 10.3%.

**Keywords:** melatonin; low temperature; protective enzymes; antioxidant substances