

高温胁迫下2,4-表油菜素内酯对甜瓜幼苗生理及光合特性的影响

张永平, 陈幼源*, 杨少军

上海市农业科学院园艺研究所, 上海市设施园艺技术重点实验室, 上海201403

摘要: 研究了高温胁迫下不同浓度2,4-表油菜素内酯(EBR)处理对甜瓜幼苗生长、叶片抗氧化酶活性和光合作用的影响。结果显示0.5~1.5 mg·L⁻¹ EBR处理能有效缓解甜瓜幼苗高温胁迫下受到的伤害, 显著促进了幼苗生长, 提高了叶片抗氧化酶活性、脯氨酸和可溶性蛋白含量、净光合速率(P_n)和气孔导度(G_s); 降低了丙二醛(MDA)含量, 胞间CO₂浓度(C_i)和蒸腾速率(T_r)。研究结果表明, EBR缓解甜瓜幼苗高温胁迫具有剂量效应, 以1.0 mg·L⁻¹ EBR的效果较好, 有利于甜瓜幼苗在高温胁迫下抗氧化酶活性的维持和对光能的捕获与转换, 促进生长。

关键词: 2,4-表油菜素内酯; 甜瓜; 高温胁迫; 生理特性; 光合作用

Effects of 2,4-Epibrassinolide on Physiological Characteristics and Photosynthesis of Melon Seedlings under High Temperature Stress

ZHANG Yong-Ping, CHEN You-Yuan*, YANG Shao-Jun

Shanghai Key Laboratory of Protected Horticultural Technology, Horticultural Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China

Abstract: Under high temperature condition, the effects of 2,4-epibrassinolide (EBR) on the growth, activities of antioxidant enzymes and photosynthesis in melon seedling leaves were investigated. The results showed that the treatment of 0.5–1.5 mg·L⁻¹ EBR could alleviate high temperature damage effectively. At these concentrations, the seedling growth, activities of antioxidant enzymes, contents of proline and soluble protein, net photosynthetic rate (P_n) and stomatal conductance (G_s) in leaves were significantly increased, while malondialdehyde (MDA) content, intercellular carbon dioxide concentration (C_i) and transpiration rate (T_r) in leaves were decreased. The above results indicated that there were dosage effect of EBR on the alleviation of high temperature in melon seedlings, and the better alleviating effect on high temperature damage was 1.0 mg·L⁻¹ EBR. EBR was favorable for the seedlings to increase the growth, maintain antioxidant enzyme activity, capture and converse solar energy, and thus improving melon growth.

Key words: 2,4-epibrassinolide; melon; high temperature stress; physiological characteristics; photosynthesis

油菜素内酯(brassinolide, BR)是一类新型的植物生长调节物质, 被称为第六大类植物激素, 通过改变植物的生理生化水平以及保护植物免受逆境胁迫而促进植物的生长发育(Steber和McCourt 2001; 曹云英和赵华2007)。研究结果表明, BR对许多胁迫如温度、水分、盐分及病害等都具有抗性。周玉萍等(2002)认为2,4-表油菜素内酯(EBR)能够提高香蕉幼苗低温胁迫时和低温胁迫后恢复期叶片过氧化酶活性和相应降低其电导率。朱诚等(1996)研究发现EBR对黄瓜种子浸种24 h, 能有效促进幼苗脯氨酸的积累, 提高幼苗对热激的忍耐性。一定浓度的BR处理可以提高毛豆幼苗根系活力、脯氨酸含量, 维持细胞膜的完整性, 从而增强毛豆幼苗对渍水环境的抵抗力, 促进渍水胁迫

下毛豆幼苗的生长(陆晓民等2006)。吴雪霞等(2011)研究表明0.05 mg·L⁻¹外源EBR能明显缓解叶片氧化损伤, 增强茄子的耐盐能力, 显著促进盐胁迫下茄子种子萌发和幼苗生长。屈淑平等(2008)研究显示, EBR处理南瓜幼苗后降低了疫病病情指数, 最高降幅达29%。甜瓜是世界十大水果之一, 为重要的园艺作物, 起源于热带且对温度要求较高, 适宜生长的温度为25~35 °C, 但不耐高温(齐三魁等1991)。在南方夏秋季设施栽培中, 高温往往

收稿 2012-03-12 修定 2012-06-01

资助 上海市科技兴农重点公关项目[沪农科攻字(2009)第2-1号]、上海市闵行区科技项目(2011MH001)和上海市西甜瓜产业体系项目。

* 通讯作者(E-mail: yy12@saas.sh.cn; Tel: 021-52630133)。

成为影响甜瓜植株正常生长的环境因子。本试验以甜瓜为材料,研究外施不同浓度的EBR对高温胁迫下甜瓜幼苗生长、叶片抗氧化酶活性和光合作用的影响,明确高温胁迫下EBR改善甜瓜幼苗生长的最适浓度及可能的生理生化机制。

材料与方法

1 试验材料

供试甜瓜(*Cucumis melo* L.)品种为‘白玉香’,由上海市农业科学院园艺研究所西甜瓜课题组提供。EBR购于上海源叶生物有限公司,先用95%的乙醇溶解,再用蒸馏水配制100 mg·L⁻¹的母液,4 °C保存,用时按试验所需浓度进行稀释。

2 试验处理

试验在上海市农业科学院园艺研究所进行。挑选饱满的甜瓜种子浸种催芽,出芽后播于直径10 cm、高10 cm的塑料营养钵中,蛭石作基质。幼苗培养过程中放置于光照培养箱中,温度设置昼(30 °C±1 °C)/夜(20 °C±1 °C),光照12 h,光照强度为400 μmol·m⁻²·s⁻¹左右,相对湿度为80%左右(用培养箱匹配的加湿器控制)。真叶展开后每2 d浇1/8浓度日本园试营养液一次,每株浇50 mL,3片真叶后每株浇80 mL。当幼苗具有3~4片真叶时,选取生长一致的幼苗作如下处理:用浓度分别为0、0.05、0.1、0.5、1.0、1.5 mg·L⁻¹的EBR溶液(含1/8浓度日本园试营养液)喷施甜瓜幼苗,每株50 mL,连续4 d,以便甜瓜幼苗充分吸收EBR,4 d后将处理的幼苗进行高温胁迫(以喷施EBR浓度0、不进行高温胁迫为对照),温度为昼(42 °C±1 °C)/夜(30 °C±1 °C)。高温处理与对照培养箱除温度不同外,光照和湿度状况均一致。高温胁迫2 d后取第2片真叶

进行各项指标的测定,每处理10株,3次重复。

3 测定指标与方法

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性、丙二醛(MDA)、可溶性蛋白和脯氨酸含量的测定参照吴雪霞等(2006)的方法;利用LI-6400光合仪(美国LI-COR公司生产)测定净光合速率(P_n),蒸腾速率(T_r),气孔导度(G_s)和胞间CO₂浓度(C_i),测定时光照强度约800 μmol·m⁻²·s⁻¹,温度为(30±1) °C,CO₂浓度约为(400±10) μmol·mol⁻¹;处理结束后进行生物量的测定,利用游标卡尺测量茎粗,即子叶展开方向的子叶节的直径;用去离子水冲洗植株并吸干水分,称地上鲜重和地下鲜重;叶面积公式采用叶长×叶宽×0.66,叶长和叶宽的测定以最大值为基准(王加蓬等2009)。

4 统计分析

每个指标测定重复3次,取平均值。数据采用Origin软件绘图,用SPSS统计软件对平均数用Duncan新复极差法进行多重比较。

实验结果

1 EBR对高温胁迫下甜瓜幼苗生长的影响

如表1所示,高温胁迫时,甜瓜幼苗茎粗、叶面积、地上鲜重和地下鲜重均显著低于对照(CK),分别下降了11.78%、37.24%、26.86%和37.23%。EBR处理均使幼苗在高温胁迫下的生长量增加,但不同浓度EBR处理对甜瓜幼苗生长量积累的影响存在差异,与未用EBR处理相比,0.05和0.1 mg·L⁻¹ EBR处理的差异不显著,0.5~1.5 mg·L⁻¹ EBR处理的差异显著(地下鲜重除外),其中1.0 mg·L⁻¹处理的生物量增加最大,茎粗、叶面积、地上和地下鲜重

表1 EBR对高温胁迫下甜瓜幼苗生长的影响
Table 1 Effects of EBR on the growth of melon seedlings under high temperature

EBR浓度/mg·L ⁻¹	茎粗/mm	叶面积/cm ²	地上鲜重/g	地下鲜重/g
CK	4.020±0.092 ^a	32.023±2.070 ^a	7.174±0.192 ^a	0.863±0.046 ^a
0	3.547±0.150 ^c	20.099±2.013 ^d	5.247±0.471 ^d	0.542±0.052 ^b
0.05	3.597±0.190 ^c	21.586±2.042 ^{cd}	5.399±0.336 ^d	0.557±0.054 ^b
0.10	3.730±0.087 ^b	23.492±0.233 ^{bcd}	5.578±0.488 ^{cd}	0.586±0.052 ^b
0.50	3.873±0.087 ^{ab}	25.225±0.469 ^{bc}	6.192±0.144 ^{bc}	0.647±0.049 ^b
1.00	3.987±0.140 ^a	26.737±2.584 ^b	6.674±0.554 ^{ab}	0.678±0.066 ^b
1.50	3.937±0.127 ^{ab}	26.182±2.879 ^b	6.588±0.499 ^{ab}	0.661±0.062 ^b

同列数值旁不同小写字母表示差异达5%显著水平。

分别提高了12.41%、33.02%、27.20%和25.23%。

2 EBR对高温胁迫下甜瓜幼苗叶片抗氧化酶活性的影响

由图1可知, EBR处理对甜瓜幼苗叶片SOD、

POD、CAT和APX的活性具有显著影响, 随着EBR浓度的增加, 4种酶活性均呈先升高后下降的趋势, 表明EBR对甜瓜幼苗上述4种酶活性的影响具有剂量效应。

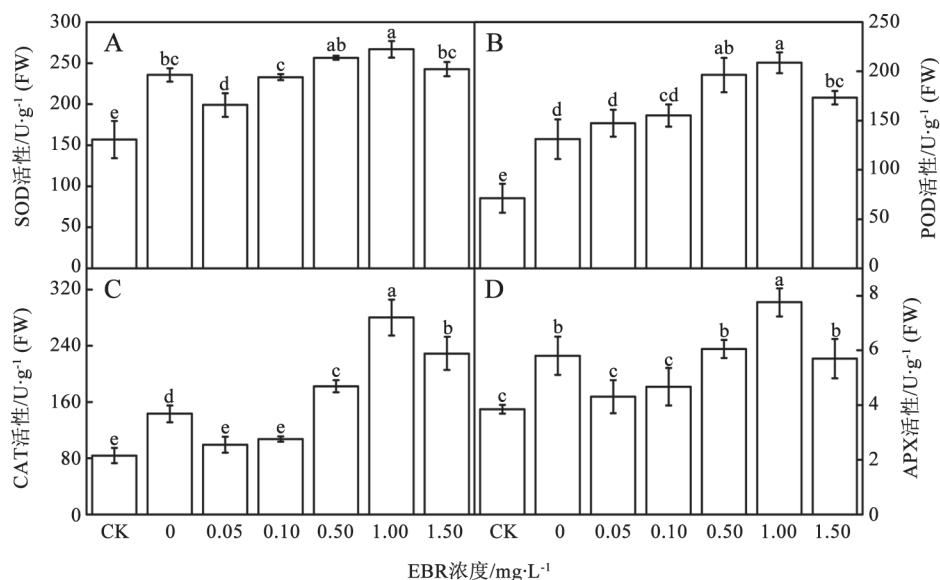


图1 EBR对高温胁迫下甜瓜幼苗叶片抗氧化酶活性的影响

Fig.1 Effects of EBR on activities of antioxidant enzymes in melon seedling leaves under high temperature

同一测定项目不同小写字母表示差异达5%显著水平, 下图同。

从图1-A可知, 高温胁迫时, 甜瓜幼苗叶片SOD活性显著高于对照(CK)。与未用EBR处理相比, 0.5~1.5 mg·L⁻¹的EBR处理均能提高SOD活性, 其中以1.0 mg·L⁻¹处理活性最高, 且差异显著, 0.1 mg·L⁻¹ EBR处理差异不显著; 0.05 mg·L⁻¹ EBR处理显著降低SOD活性。

如图1-B所示, 高温处理时, 甜瓜幼苗叶片POD活性显著高于对照(CK)。与未用EBR处理相比, 不同浓度的EBR提高了POD活性, 0.5~1.5 mg·L⁻¹ EBR处理差异显著, 其中以1.0 mg·L⁻¹活性最高。

从图1-C可以看出, 高温处理时, 甜瓜幼苗叶片CAT活性显著高于对照(CK)。0.5~1.5 mg·L⁻¹的EBR处理的CAT活性均显著高于未用EBR处理, 其中以1.0 mg·L⁻¹活性最高。

如图1-D所示, 高温胁迫处理时, 甜瓜幼苗叶片APX活性显著高于对照(CK)。与未用EBR处理相比, 1.0 mg·L⁻¹的EBR处理显著提高了APX活性, 0.5 mg·L⁻¹和1.5 mg·L⁻¹差异不显著, 0.05和0.1 mg·L⁻¹处理的APX活性降低。

3 EBR对高温胁迫下甜瓜幼苗叶片MDA、脯氨酸和可溶性蛋白含量的影响

如图2-A所示, 高温胁迫处理时, 甜瓜幼苗叶片MDA含量显著高于对照(CK), 增加了155.65%。不同浓度的EBR处理均可降低高温胁迫下MDA的含量, 其中EBR 1.0 mg·L⁻¹处理最低, 与未用EBR处理相比, 降低了33.11%, 且差异显著。

由图2-B可知, 高温胁迫时, 脯氨酸含量显著高于对照(CK)。与未用EBR处理相比, 不同浓度的EBR处理提高了脯氨酸含量, 0.1~1.5 mg·L⁻¹ EBR处理差异显著, 其中EBR 1.0 mg·L⁻¹处理的最高, 提高了50.66%。

如图2-C所示, 高温胁迫处理时, 可溶性蛋白含量显著低于对照(CK)。不同浓度的EBR处理对可溶性蛋白含量有一定的影响, 其中以EBR 1.0 mg·L⁻¹处理的可溶性蛋白含量最高, 与未用EBR处理相比, 提高了33.87%, 且差异显著。

4 EBR对高温胁迫下甜瓜幼苗光合指标的影响

由图3-A和B可知, 高温胁迫处理时, 甜瓜幼苗

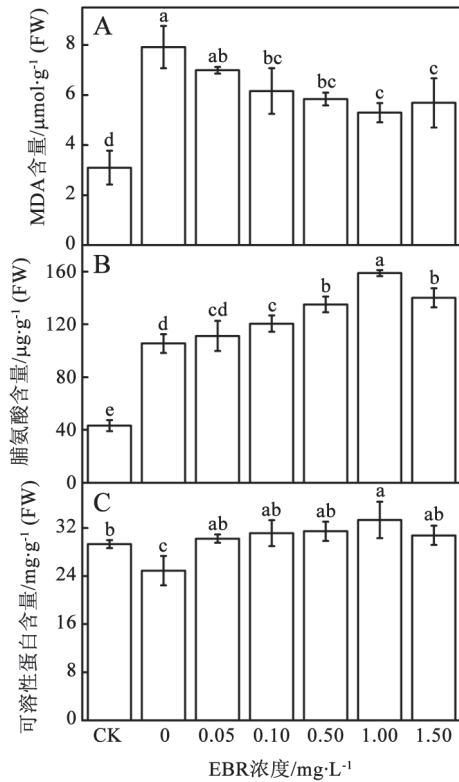


图2 EBR对高温胁迫下甜瓜幼苗叶片丙二醛(A)、脯氨酸(B)和可溶性蛋白(C)含量的影响

Fig.2 Effects of EBR on MDA (A), proline (B) and soluble protein (C) contents in melon seedling leaves under high temperature

叶片净光合速率(P_n)和气孔导度(G_s)显著低于对照(CK)。与未用EBR处理相比,不同浓度的EBR处理提高了 P_n 和 G_s , P_n 是0.1~1.5 mg·L⁻¹ EBR处理差异显著, G_s 是0.5~1.5 mg·L⁻¹ EBR处理差异显著,其中以EBR 1.0 mg·L⁻¹的处理升高幅度最大,分别增加了54.11%和48.37%。而胞间CO₂浓度(C_i)和蒸腾速率(T_r)变化趋势与 P_n 和 G_s 正好相反,高温胁迫时, C_i 和 T_r 高于CK。与未用EBR处理相比,不同浓度的EBR处理均降低 C_i 和 T_r ,不同处理间, T_r 存在一定差异,而 C_i 差异不显著。

讨论

高温胁迫下,植物生长受到不同程度的影响,表观体现于形态结构变化上。在农业生产上,已经发现施用外源EBR可以提高作物的产量以及在盐害和高温等逆境条件下促进植株生长(尚庆茂等2006; Dhaubhadel等1999)。本试验表明,高温胁迫后甜瓜幼苗生物量的积累受到明显抑制,EBR可以有效缓解高温胁迫对甜瓜幼苗生长的抑制作用(表1),这与前人的报道结果一致(朱诚等1996; 张燕和方力1998; 万正林2007),EBR浓度0.5~1.5 mg·L⁻¹的缓解效果较好,其中以EBR 1.0 mg·L⁻¹处理生物量增加最大。

在正常生长条件下,植物体内活性氧的产生

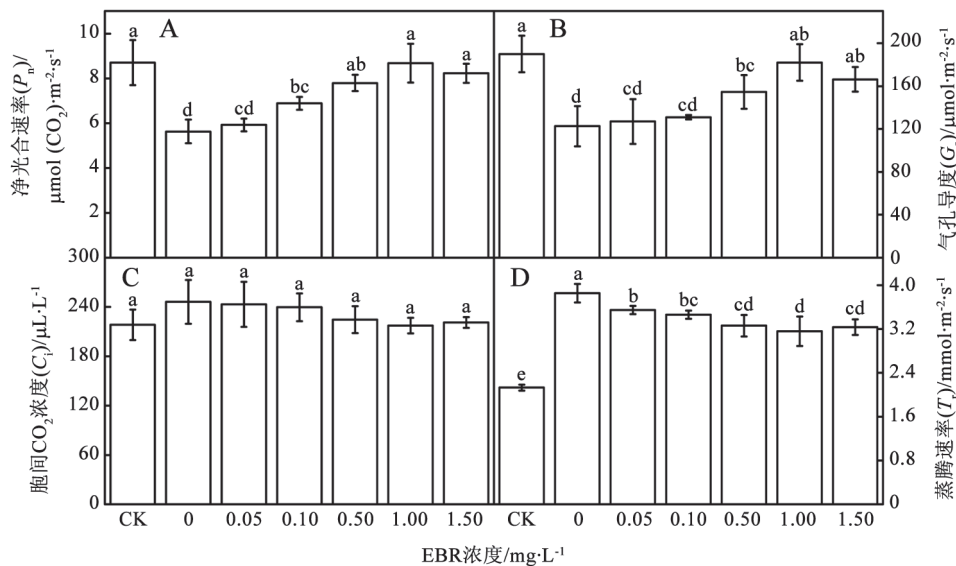


图3 EBR对高温胁迫下甜瓜幼苗叶片光合作用的影响

Fig.3 Effects of EBR on photosynthesis in melon seedling leaves under high temperature

和清除处于动态平衡, 逆境会使活性氧产生增加, 损伤膜系统, 使细胞受到氧化胁迫。抗氧化酶, 如SOD、CAT、POD和APX均可清除活性氧, 从而防止自由基的毒害。前人研究表明, EBR可提高玉米和羊草的抗旱性(邹华文2002; 韩德复等2007)、水稻的抗冷性(陈善娜等1997)、黄瓜的耐盐性(尚庆庆等2006), 同时证明了EBR通过增强植物体内抗氧化酶活性来提高植物抗逆境的能力。本实验中, 高温胁迫下, 甜瓜幼苗叶片SOD、POD、CAT和APX活性增加, 说明甜瓜幼苗可通过自身的调节机制, 维持较高的抗氧化酶活性, 以适应环境胁迫。与未用EBR处理相比, EBR 1.0 mg·L⁻¹处理显著提高了甜瓜幼苗抗氧化酶(SOD、POD、CAT和APX)活性, 有利于及时清除自由基, 减少膜脂过氧化产物MDA的生成, 保护膜的结构和功能的完整。渗透调节是植物在胁迫下降低渗透势、抵抗逆境胁迫的一种重要方式(Gegg等2003), 脯氨酸是植物体内主要渗透调节物质之一(郁继华等2007), 在高温环境下, 植物会主动积累脯氨酸, 抵抗热胁迫的伤害(何晓明等2002)。可溶性蛋白对维持细胞的膨压、抵御或减轻高温伤害具有一定的保护作用。有研究表明, 在高温胁迫下, 可溶性蛋白含量增加(马德华等1999); 也有人认为, 植物体内的可溶性蛋白含量下降(冯兆忠等2005), 可溶性蛋白的高低可能与植物本身特性和胁迫温度有关。本实验研究表明, 与对照(CK)相比, 高温胁迫后, 甜瓜幼苗可溶性蛋白含量显著降低, 脯氨酸含量显著增加。不同浓度EBR处理, 可溶性蛋白和脯氨酸含量均不同程度的增加, 与未用EBR处理相比, EBR 1.0 mg·L⁻¹处理差异显著。EBR对高温胁迫下促进脯氨酸积累起着显著的作用, 脯氨酸的增加有助于细胞或组织持水, 增强了植物对不良环境的抵抗力。可溶性蛋白含量增加的原因可能是由于高温胁迫下EBR能促进甜瓜幼苗合成更多的热激蛋白, 产生的热激蛋白可保护机体蛋白质免遭损伤或修复已受损的蛋白质, 使植物耐热性增强, 但也不排除是不溶性蛋白变成可溶的可能, 还有待于进一步研究。

光合作用是植物叶片对光能吸收、传递和利用的过程。高温抑制植物的光合作用, 导致光合速率下降, 叶片光合速率的降低可能是气孔因素,

也可能是非气孔因素造成的。Farquhar和Sharkey (1982)认为, 如果 G_s 下降, 而 C_i 维持不变甚至上升, 则光合速率的下降应是由叶肉细胞同化能力降低等非气孔因素所致; 只有 C_i 和 G_s 同时下降的情况下, 才能证明光合速率的下降主要是由气孔因素引起的。本研究结果表明, 高温胁迫后, P_n 和 G_s 值下降, 但 C_i 值升高, 表明 P_n 的下降不是因为 G_s 下降使 CO_2 供应减少所致, 而是由于非气孔因素阻碍了 CO_2 的利用, 与刘书仁等(2010)研究结果一致。而 T_l 的升高说明在高温胁迫过程中, 植株可以通过改变蒸腾速率来调节体温和矿质盐的运转, 从而减轻高温的伤害。在高温胁迫下, EBR处理能提高甜瓜幼苗的 G_s , 使幼苗能够保持较高的光合速率。高温胁迫下EBR能一定程度地提高甜瓜幼苗光合作用, 增加生物量。

综上所述, EBR缓解甜瓜幼苗高温胁迫具有剂量效应, 以1.0 mg·L⁻¹ EBR的效果较好, 可以提高抗氧化酶的活性和净光合速率, 从而增强植株的耐热性, 增加甜瓜幼苗生物量。

参考文献

- 曹云英, 赵华(2007). 高温胁迫下油菜素内酯对水稻幼苗的保护作用. 中国水稻科学, 21 (5): 525~529
- 陈善娜, 刘继梅, 游慧灵, 朱红俊, 秦志国, 洪国民, 沈云光(1997). 抗寒剂和油菜素内酯对高原水稻抗冷性的影响. 云南植物研究, 19 (2): 184~190
- 冯兆忠, 周华英, 冯宗炜, 王效科(2005). 高温胁迫下三唑酮对黄瓜幼苗某些生理性质的影响. 西北植物学报, 25 (1): 170~173
- 韩德复, 胡勇军, 郭继勋, 李海龙(2007). 油菜素内酯对羊草抗旱性的影响. 长春师范学院学报(自然科学版), 26 (6): 51~53
- 何晓明, 林毓娥, 陈清华, 邓江明(2002). 高温对黄瓜幼苗生长、脯氨酸含量及SOD酶活性的影响. 上海交通大学学报(农业科学版), 20 (1): 30~33
- 齐三魁, 吴大康, 林德佩(1991). 中国甜瓜. 北京: 科学普及出版社, 28~29
- 刘书仁, 郭世荣, 程玉静, 刘超杰, 王丽萍, 束胜(2010). 外源脯氨酸对高温胁迫下黄瓜幼苗叶片AsA-GSH循环和光合荧光特性的影响. 西北植物学报, 30 (2): 309~316
- 陆晓民, 陈勇, 贡伟, 陈运梅(2006). 油菜素内酯对毛豆幼苗生长及其抗渍性的影响. 生物学杂志, 23 (3): 37~39
- 马德华, 庞金安, 霍振荣, 李淑菊(1999). 黄瓜对不同温度逆境的抗性研究. 中国农业科学, 32 (5): 28~35
- 屈淑平, 王力莉, 崔崇士(2008). 表油菜素内酯诱导南瓜幼苗抗病毒病研究. 中国蔬菜, (5): 13~16
- 尚庆庆, 宋士清, 张志刚, 郭世荣(2006). 外源BR诱导黄瓜(*Cucumis sativus* L.)幼苗的抗盐性. 中国农业科学, 39 (9): 1872~1877
- 万正林(2007). 水杨酸、表油菜素内酯诱导番茄幼苗抗高温机理的

- 研究[硕士学位论文]. 重庆: 西南大学
- 王加蓬, 蔡焕杰, 王健, 陈新明(2009). 温室膜下滴灌甜瓜初花期叶面积动态变化与增长模型研究. 节水灌溉, (1): 27~30
- 吴雪霞, 查丁石, 朱宗文, 李贤(2011). 外源24-表油菜素内酯对盐胁迫下茄子种子萌发和幼苗生理特性的影响. 植物生理学报, 47 (6): 607~612
- 吴雪霞, 朱月林, 朱为民, 陈建林, 刘正鲁(2006). 外源一氧化氮对NaCl胁迫下番茄幼苗叶片氧化损伤的保护效应. 江苏农业学报, 22 (3): 276~280
- 郁继华, 雍山玉, 张洁宝, 徐晓昀, 闫晓花, 王玉洁(2007). 外源NO对NaCl胁迫下辣椒幼苗氧化损伤的保护效应. 西北植物学报, 27 (9): 1801~1806
- 张燕, 方力(1998). 表油菜素内酯对几种与烟草幼苗抗热性有关的生理指标的影响. 延边大学农学学报, 20 (2): 96~98
- 周玉萍, 郑燕玲, 田长恩, 王正询(2002). 脱落酸、多效唑和油菜素内酯对低温期间香蕉过氧化物酶和电导率的影响. 广西植物, 22 (5): 444~448
- 朱诚, 曾广文, 刘非燕(1996). 表油菜素内酯对黄瓜幼苗热激忍耐和抗氧化代谢的关系. 浙江农业大学学报, 22 (3): 284~288
- 邹华文(2002). 表油菜素内酯浸种对提高玉米幼苗抗旱性的影响. 湖北农学院学报, 22 (1): 40~43
- Dhaubhadel S, Chaudhary S, Dobinson KF, Krishna P (1999). Treatment with 24-epibrassinolide, a brassinosteroid, increases the basic thermotolerance of *Brassica napus* and tomato seedlings. *Plant Mol Biol*, 40: 333~342
- Farquhar GD, Sharkey TD (1982). Stomatal conductance and photosynthesis. *Annu Rev Plant Physiol*, 33: 317~345
- Gegg ME, Beltran B, Salas-Pino S, Bolanos JP, Clark JB, Moncada S, Heales SJR (2003). Differential effect of nitric oxide on glutathione metabolism and mitochondrial function in astrocytes and neurons: implications for neuroprotection/neurodegeneration? *J Neurochem*, 86: 228~237
- Steber CM, McCourt P (2001). A role for brassinosteroids in germination in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 125: 763~769