

# 油菜素内酯对苦瓜幼苗抗冷性的影响

黄玉辉<sup>1,2</sup>, 罗海玲<sup>1</sup>, 陈小凤<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>广西农业科学院蔬菜研究所; <sup>2</sup>广西作物遗传改良生物技术重点开放实验室: 南宁 530007)

**摘要:**【目的】筛选出油菜素内酯(BR)提高苦瓜抗冷性的最佳浓度,为解决苦瓜低温胁迫问题提供理论依据。【方法】设CK1和CK2为清水对照(CK1为常温处理,CK2为低温胁迫处理),通过对不同浓度( $10^{-4}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-1}$ 、10 mg/L)BR处理后的苦瓜幼苗进行(8.0±0.5)℃ 72 h低温胁迫,并测定植株生长指标及功能叶片中的丙二醛(MDA)含量、可溶性蛋白含量、细胞质相对电导率及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性等。【结果】与CK2相比,不同浓度BR处理可以促进苦瓜幼苗在低温下生长,其鲜物重和叶片叶绿素含量增加,冷害指数降低,POD、SOD活性增加,可溶性蛋白和Pro含量升高,并在一定程度上减缓叶片中MDA的积累,同时可以明显降低细胞质相对电导率。【结论】喷施不同浓度BR可有效提高苦瓜幼苗的抗冷性,其中以 $10^{-2}$  mg/L浓度处理最佳。

**关键词:** 苦瓜; 油菜素内酯; 抗冷性; 影响

中图分类号:S642.501

文献标识码:A

文章编号:2095-1191(2011)05-0488-04

## Effect of brassinosteroid on improving chilling resistance of bitter gourd seedlings

HUANG Yu-hui<sup>1,2</sup>, LUO Hai-ling<sup>1</sup>, CHEN Xiao-feng<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Vegetable Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences; <sup>2</sup>Guangxi Crop Genetic Improvement and Biotechnology Lab; Nanning 530007, China)

**Abstract:** 【Abstract】The objective of the current study was to screen the optimum concentration of brassinosteroid (BR) to improve chilling resistance of bitter gourd seedlings in order to lessen the losses caused by low temperature stress. 【Method】The plant growth indices, metabolites, viz., MDA and soluble sugar content, relative conductivity, and activities of peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD) enzymes in the leaves were investigated in bitter gourd seedlings treated with different concentrations of BR ( $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-1}$  and 10 mg/L) under the conditions of low temperature (8.0±0.5℃) stress for 72 h, CK1 (normal temperature) and CK2 (low temperature stress) were set as controls. 【Result】Different concentrations of BR treatment promoted the growth of bitter gourd seedlings and decreased the chilling effects (chilling index) by increasing the fresh weight, the contents of chlorophyll, soluble protein, proline, and the activities of POD and SOD enzymes, reducing the accumulation of MDA and decreasing the relative conductivity significantly, compared to CK2. 【Conclusion】BR treatment with different concentrations could significantly enhance chilling resistance of bitter gourd seedlings, however, the best seedlings growth was observed in the treatment  $10^{-2}$  mg/L concentration of BR.

**Key words:** bitter gourd; brassinosteroid (BR); chilling resistance; effect

## 0 引言

【研究意义】油菜素内酯(Brassinosteroid, BR)是一种新型植物激素,在高等植物中广泛存在(横田孝雄,1984)。BR与植物的抗性关系密切,其主要通过修复逆境伤害途径来保护植物,并促进植物生长。低温胁迫是苦瓜反季节生产的主要限制因子之一,植物激素修复苦瓜冷害影响是除选用苦瓜耐冷品种外又一简单有效的方法,因此,研究BR对提高苦瓜幼苗抗冷性,解决苦瓜低温胁迫问题具有重要意义。【前人研究

进展】近年来对BR的应用报道逐年增多,特别是在提高作物耐冷性方面表现出良好的效果(Li and Chiry, 1999;康云艳等,2006)。周天等(2004)进行了BR对玉米幼苗影响研究,结果表明,BR可能参与植物对低温适应性的调节,低温下细胞膜结构和功能具有一定保护作用,从而提高植物的耐冷性。刘德兵等(2008)研究低温胁迫下BR对香蕉幼苗的影响,结果表明,低温胁迫下BR可以明显降低胞间电解质外渗率,减缓叶绿素降解,提高MDA、可溶性糖和可溶性蛋白含量,减少

收稿日期:2010-10-09

基金项目:广西科学基金项目(桂科基0991018);广西农业科学院基本科研业务专项项目[200914(基)]

作者简介:黄玉辉(1978-),女,广西宜州人,硕士,助理研究员,主要从事蔬菜分子生物学研究工作

叶片萎蔫面积,0.9 mg/L的BR处理对冷胁迫期间香蕉幼苗的保护效果最好。【本研究切入点】目前,研究植物激素BR对苦瓜幼苗抗冷性影响的报道较少,其对扩大苦瓜反季节生产具有积极的促进作用。【拟解决的关键问题】以苦瓜幼苗为试验材料,研究不同BR浓度处理对苦瓜幼苗各项生理指标的影响,为合理利用BR提高苦瓜耐冷性提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试的苦瓜品种为抗低温能力较弱的泰国青皮苦瓜材料。

### 1.2 试验设计

试验设5个处理,苦瓜幼苗于室温和培养至4叶1心时,分别用(A)10<sup>-4</sup> mg/L、(B)10<sup>-3</sup> mg/L、(C)10<sup>-2</sup> mg/L、(D)10<sup>-1</sup> mg/L、(E)10 mg/L BR喷施幼苗叶片,CK1和CK2均为清水对照,CK1喷清水后于常温下培养,CK2和BR处理均在常温下培养1 d后,于(8.0±0.5)℃、光照强度2000 lx、相对湿度70%的光照培养箱中低温胁迫72 h。取苦瓜幼苗心叶下一对叶片进行相关生理指标的测定。每处理各20株,重复3次,试验数据用Excel 2003和SPSS软件处理分析。

### 1.3 测定指标

冷害分级标准:0级,无明显症状;1级,第1、2叶叶缘失水,无其他明显症状;2级,第1、2叶叶缘失水严重,第3叶略失水,心叶无明显症状;3级,第1、2叶出现脱水斑,第3叶叶缘严重失水,心叶略失水;4级,第1、2叶脱水斑连接成片,叶片萎蔫,第3叶叶缘出现脱水

斑,心叶严重失水;5级,全部叶片萎蔫,幼苗在常温下不能恢复。冷害指数=Σ(各级株数×级数)/总株数。过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法(华东师范大学,1982)测定;超氧化物歧化酶(SOD)活性采用NBT法(邹琦,1995)测定;脯氨酸含量(Pro)采用茚三酮法(李合生,2000)测定;丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸比色法(李合生,2000)测定;膜透性采用电导仪法(李合生,2000)测定;叶绿素含量采用丙酮比色法(西北农业大学,1987)测定。

## 2 结果与分析

### 2.1 低温胁迫对苦瓜幼苗叶片生长量的影响

苦瓜幼苗受低温胁迫时首先表现为叶片失水凋萎,因此,叶片萎蔫出现的迟早和多少跟植株抗冷性的强弱有密切关系。本研究将经不同浓度BR处理过的幼苗在低温(8.0±0.5)℃条件下处理72 h后,结果发现苦瓜幼苗表现出不同程度的受害症状。由表1可知,经BR处理的苦瓜幼苗地上部分和地下部分鲜重均高于低温对照CK2,其中C处理的幼苗地上部分和地下部分鲜重分别比CK2增加9.99%和34.29%,根冠比比对照CK2高出22.13%。D处理的地上部分和地下部分鲜重分别比对照CK2增加13.40%和28.57%,根冠比比对照CK2高出13.21%。此外,对照CK2的冷害指数为2.40,而经BR处理过的幼苗冷害指数均比对照CK2低,表明BR处理能不同程度减轻低温对苦瓜幼苗造成的伤害。其中C处理的冷害指数最低,为1.60,其次是D处理,为1.70。以上分析可知,苦瓜幼苗在(8.0±0.5)℃低温条件下,C和D处理可明显改善苦瓜幼苗的生长状况,提高植株抗冷性。

表1 BR对苦瓜幼苗生长的影响

Table 1 Effect of brassinosteroid on growth of bitter melon seedling

处理 Treatment	地上部鲜重		地下部鲜重		根冠比 Root/shoot ratio		冷害指数 Index of chilling injury
	Fresh weight of overground parts		Fresh weight of underground parts		比值 Value	比CK2±%	
	g	比CK2±%	g	比CK2±%			
CK1	24.54	16.19	4.88	54.92	0.20	33.40	-
CK2	21.12	-	3.15	-	0.15	-	2.40
A	21.87	3.55	4.10	22.22	0.18	18.04	1.85
B	21.13	0.05	3.97	20.00	0.18	19.99	1.75
C	23.23	9.99	4.23	34.29	0.18	22.13	1.60
D	23.95	13.40	4.05	28.57	0.17	13.21	1.70
E	23.11	9.42	3.72	18.10	0.16	7.98	1.74

### 2.2 低温胁迫下BR对苦瓜幼苗叶片酶活性的影响

POD和SOD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<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,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。由表2可知,在低温胁迫下,经不同浓度BR处理的幼苗SOD活性均有所提高,与CK2相比差异均达显著水平,说明在低温胁迫条件下,BR可以增加苦瓜幼苗体内SOD活

性,其中以C处理效果最佳,比对照CK2增加116.42%。与常温对照CK1相比,对照CK2和经不同浓度BR处理的幼苗POD的活性均下降,但经BR处理的POD活性明显比对照CK2高,以C处理的效果最好,比对照CK2高23.85%,差异达显著水平,其次为D和E处理,较对照CK2差异达显著水平,处理A和B较对照CK2差异不显著。说明经BR处理的苦瓜幼苗在低温胁迫下能保持较高的POD和SOD活性,从而缓解低温造成的伤害,这与

江福英等(2002)的研究结果一致。

### 2.3 低温胁迫下BR对苦瓜幼苗叶片可溶性蛋白含量的影响

可溶性蛋白的亲水性较强,可明显增强细胞的持水力,随着组织可溶性蛋白质含量的增加,苦瓜耐低温能力也随之增加(江福英等,2002)。从表2可知,较对照CK1相比,低温胁迫下苦瓜幼苗叶片内可溶性蛋白质含量均有所上升,处理C、D和E苦瓜幼苗叶片内可溶性蛋白质含量较对照CK2分别增加21.21%、20.76%和17.51%,差异达显著水平,处理A和B较对照CK2分别增加8.08%和9.65%。

表 2 BR对苦瓜幼苗叶片POD、SOD活性及可溶性蛋白的影响  
Table 2 Effect of BR on activities of peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD) enzymes and soluble protein content in leaves of bitter gourd seedlings

处理 Treatment	POD活性 POD activity		SOD活性 SOD activity		可溶性蛋白含量 Content of soluble protein	
	U/gFW	比CK2±%	U/gFW	比CK2±%	mg/gFW	比CK2±%
CK1	56.08a	35.10	15.63d	-0.89	0.717c	-19.53
CK2	41.51c	-	15.77d	-	0.891b	-
A	46.97bc	13.15	22.33c	41.60	0.963ab	8.08
B	46.49bc	12.00	28.73b	82.18	0.977ab	9.65
C	51.41ab	23.85	34.13a	116.42	1.047a	21.21
D	48.90b	17.80	28.77b	82.44	1.076a	20.76
E	49.20b	18.53	23.63c	48.84	1.080a	17.51

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  
Note: Small alphabets in the same column represent significant difference at 0.05 level

### 2.4 低温胁迫下BR对苦瓜幼苗叶片MDA和Pro含量的影响

从图1可知,与常温对照CK1相比,对照CK2和经不同浓度BR处理(C处理除外)的幼苗在低温胁迫后MDA含量均增加。除D处理外,其他处理与对照CK2均达显著水平,说明BR具有降低膜脂过氧化,减轻对细胞的伤害作用,其中以B和C处理的效果最佳,分别比对照CK2减少了20.82%和23.70%。

从图2可以看出,与常温对照CK1相比,低温胁迫使苦瓜幼苗叶片中Pro含量明显升高;不同浓度BR处理的苦瓜幼苗叶片中Pro含量均高于对照CK2,其中C处理最高,较对照CK2增加28.3%,差异达显著水平,其次是E处理,较对照CK2差异达显著水平,A、B和D处理较对照CK2差异不显著。

### 2.5 低温胁迫下BR对苦瓜幼苗叶片叶绿素含量和细胞质相对电导率的影响

低温胁迫条件下,植物叶绿体的结构和功能易受到破坏,叶绿体的合成受到抑制。由图3可知,苦瓜叶片受到低温胁迫时叶绿素含量降低,而BR处理可以减缓叶绿素下降的趋势,C处理的效果最佳,叶绿素含量较低温对照CK2高7.8%。

低温胁迫条件下植物细胞膜结构会遭到破坏,由

液晶态转变为凝胶态,细胞内含物外渗,细胞质相对电导率增加,因此,增强膜结构的稳定性是提高植物抗寒性的关键措施之一(王毅等,1994)。由图4可知,在低温胁迫下,苦瓜幼苗叶片的相对电导率显著增加,BR处理的相对电导率增幅较小,以C处理的效果最显著(比CK2低39.57%)。可见,经BR处理后可以较明显地降低苦瓜幼苗细胞电解质外渗率。

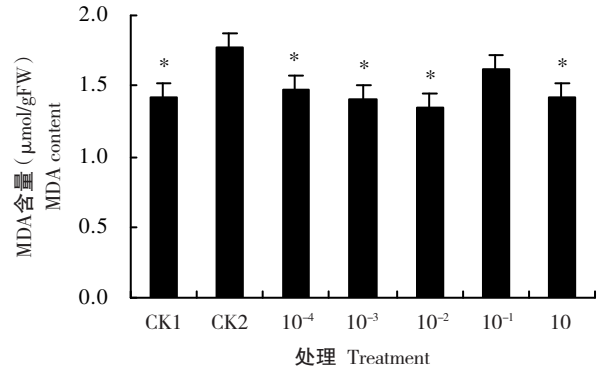


图 1 不同浓度BR处理对苦瓜幼苗叶片MDA含量的影响  
Fig.1 Effect of different concentrations of BR on MDA content in leaves of bitter gourd seedlings

注:\*表示与CK2相比差异达显著水平。下同  
Note: \* represents significant difference at 0.05 level in relation to CK2. The same is followed in the subsequent figures

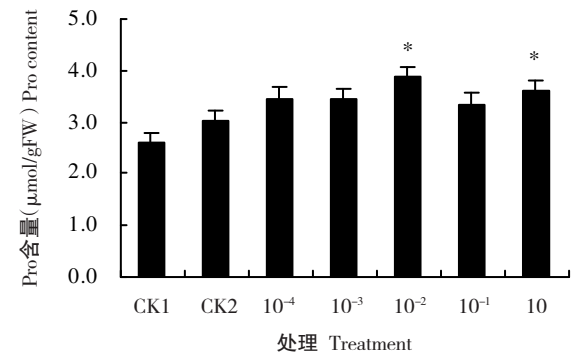


图 2 不同浓度BR处理对苦瓜幼苗叶片Pro含量的影响  
Fig.2 Effect of different concentrations of BR on proline content in leaves of bitter gourd seedlings

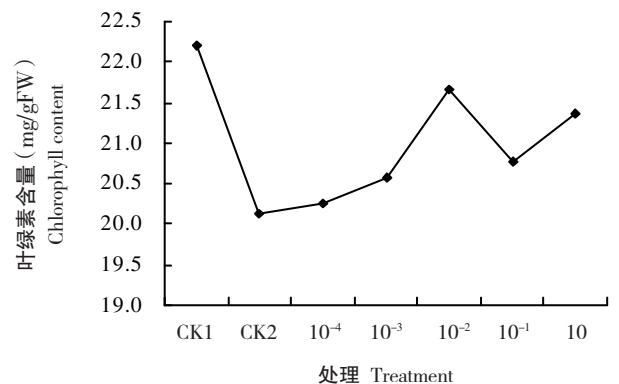


图 3 不同浓度BR处理对苦瓜幼苗叶片叶绿素含量的影响  
Fig.3 Effect of different concentrations of BR on leaf chlorophyll content in leaves of bitter gourd seedlings

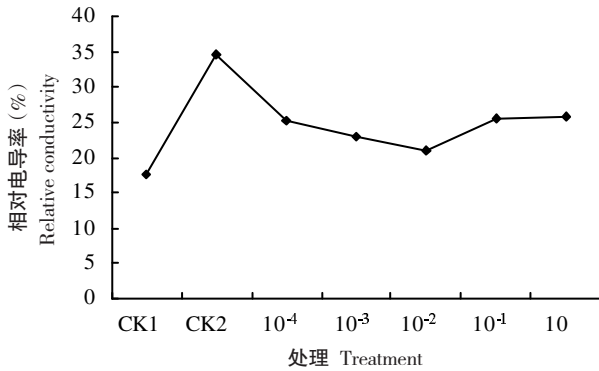


图4 不同浓度BR处理对苦瓜幼苗叶片细胞质相对电导率的影响

Fig.4 Effect of different concentrations of BR on relative conductivity in leaves of bitter melon seedlings

### 3 讨论

当植物处于低温逆境环境时,植株形态及生理生化指标会发生一系列相应的变化,如降解反应、膜脂过氧化、细胞膜变性及蛋白质变性等,植物体内会产生大量自由基对植物细胞造成伤害。本研究结果表明,BR能明显减轻低温对苦瓜幼苗造成的伤害,促使苦瓜幼苗积累大量的Pro,而Pro水合能力较强,其含量增加有助于细胞持水,能增强苦瓜幼苗对低温胁迫的抵抗力,这与前人的研究报道一致(周天等,2004;王红红等,2005;刘德兵等,2008)。另外,与对照CK2相比,在 $(8.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 低温胁迫下,BR处理能显著增加苦瓜幼苗POD和SOD活性,降低MDA含量,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,说明BR预处理可能直接或间接作为自由基的清除剂而起作用,从而减少低温对植物细胞造成的伤害(丁文明等,1995;康云艳等,2005)。

### 4 结论

综合研究表明,喷施不同浓度BR可有效提高苦瓜幼苗的抗冷性,其中 $10^{-2}$  mg/L BR处理对冷胁迫期间苦瓜幼苗的保护效果最好,能减少苦瓜幼苗叶片萎焉

面积,减缓叶片叶绿素降解,降低细胞质相对电导率和MDA含量,提高SOD和DOD活性及Pro含量。

#### 参考文献:

- 丁文明,赵毓橘. 1995. 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,21(3):259-264.
- 横田孝雄. 1984. 高等植物中油菜素甾体类[J]. 植物化学调节,19(2):102-109.
- 华东师范大学. 1982. 植物生理学试验指导[M]. 北京:人民教育出版社.
- 江福英,李延,翁伯琦. 2002. 植物低温胁迫及其抗性生理[J]. 福建农业学报,17(3):190-195.
- 康云艳,郭世荣,段九菊. 2006. 24-表油菜素内酯对低氧胁迫下黄瓜根系抗氧化系统及无氧呼吸酶活性的影响[J]. 植物生理与分子生物学报,32(5):35-542.
- 康云艳,郭世荣,段九菊. 2005. 外源 24-表油菜素内酯对低氧胁迫下黄瓜幼苗抗氧化系统及蛋白含量的影响[J]. 农业工程学报,21(S):82-86.
- 李合生. 2000. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社.
- 刘德兵,魏军亚,李绍鹏,崔百明,彭明. 2008. 油菜素内酯提高香蕉幼苗抗冷性的效应[J]. 植物研究,28(2):195-198.
- 王红红,李凯荣,侯华伟. 2005. 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,23(3):213-219.
- 王毅,杨宏福,李树德. 1994. 园艺植物冷害和抗冷性的研究—文献综述[J]. 园艺学报,21(3):239-244.
- 西北农业大学. 1987. 植物生理学实验指导[M]. 西安:陕西科学技术出版社.
- 周天,周晓梅,胡勇军,姜天亮,郭继勋. 2004. 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),(1):6-8.
- 邹琦. 1995. 植物生理生化实验指导[M]. 北京:中国农业出版社:97-99.
- Li J M, Chiry J. 1999. Brassinosteroid actions in plants[J]. Journal of Experimental Botany,332(50):275-282.

(责任编辑 钦洁)