

外源褪黑素对低温胁迫下番茄幼苗生理指标的影响^①

包 宇, 罗庆熙, 黄 娟, 池 浩

西南大学 园艺园林学院, 重庆 400715

摘要: 研究了外源褪黑素对低温胁迫下番茄幼苗体内丙二醛 (MDA) 含量、脯氨酸含量、叶绿素含量、活性氧代谢等生理指标的影响. 结果表明: 外源褪黑素能有效提高番茄幼苗的低温抵抗能力, 与对照比较相对电导率和丙二醛含量分别降低了 39.3%, 31.0%, 保持了细胞膜的完整性; 同时 SOD、POD 的活性较对照升高了 39.2%, 48.2%, 渗透调节物质 (脯氨酸) 含量显著提高了 52.8%, 增强了幼苗的抗冷性.

关键词: 番茄; 低温胁迫; 褪黑素; 渗透调节; 抗氧化酶

中图分类号:

文献标志码: A

低温一直是限制喜温蔬菜生长的重要环境因素, 虽然近年来设施农业的发展较为迅速, 但是总体水平仍然不高, 目前农业生产以日光温室和塑料大棚等保温型设施为主^[1]. 番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 属于冷敏感性强的作物, 温度低于 10 °C 时生长发育受阻, 8 °C 时生长量增加迟缓, 5 °C 时生长完全停止, 生产上常因低温的影响而使生育期受阻^[2]. 为了降低低温环境对番茄生长带来的不利影响, 生产过程中可以采用低温炼苗、喷施多种激素和氯化钙等方法. 已有实验表明: 在低温条件下, 用 ABA、SA、Spd、CaCl₂ 进行预处理, 能够抑制番茄等幼苗植物体内的 ROS 的产生, 提高抗氧化酶活性, 降低膜质过氧化水平, 保护质膜的完整性, 减少电解质的外渗, 减轻低温胁迫对幼苗造成的伤害, 提高幼苗抗低温胁迫能力^[3-9].

褪黑素 (Melatonin, MT), 化学名 N-乙酰基-5-甲氧基色胺, 是色氨酸的吲哚衍生物. 20 世纪 90 年代初, Tan 等报道 MT 具有抗氧化活性, 是一种高效的自由基清除剂, 能有效地清除羟自由基 ($\cdot\text{OH}$)、过氧烷自由基、过氧亚硝基 (OONO-), 超氧阴离子 ($\text{O}\cdot^-$) 及单线态氧 ($^1\text{O}_2$). 虽然褪黑素在植物研究领域报道较少, 但是随着其抗氧化能力慢慢被人们了解, 正逐渐在植物抗逆性实验中使用^[10]. 本实验以番茄幼苗为材料, 采用 MT 溶液喷施叶片的方法进行处理, 通过实验分析讨论, 探寻 MT 在植物抵御低温方面的生理机制, 以期 MT 在生产上的使用提供依据和参考.

1 材料与方 法

1.1 实验材料

选用大红番茄“合作 903”作为材料, 种子购买于重庆市种子公司.

① 收稿日期: 2013-05-20

作者简介: 包 宇 (1982-), 男, 重庆九龙坡人, 硕士研究生, 主要从事蔬菜生理与设施园艺研究.

通信作者: 罗庆熙, 副教授.

1.2 测定方法

采用穴盘进行育苗, 幼苗的使用标准统一采用 5 叶 1 心, 在第 5 片真叶展平时, 分别用 0 $\mu\text{mol/L}$, 50 $\mu\text{mol/L}$, 100 $\mu\text{mol/L}$, 150 $\mu\text{mol/L}$, 200 $\mu\text{mol/L}$, 250 $\mu\text{mol/L}$ 的褪黑素溶液喷洒叶片, 隔 24 h 再喷洒 1 次, 诱导 48 h 后选取大小一致的幼苗放入光照培养箱中, 温度设定为白天 10 $^{\circ}\text{C}$ /夜晚 5 $^{\circ}\text{C}$ (各 12 h), 光照强度 4 000 lx, A 是不采用试剂预处理在正常温度和光照条件下进行的生理分析, 其余 6 个样品在低温处理 3 d 后进行各项生理指标的测定, 以 0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度处理的番茄为对照, 每次每个品种取 5 株, 3 次重复.

相对电导率、游离脯氨酸和丙二醛含量及活性氧(SOD、POD、CAT)活性测定均采用李合生的方法^[11], 可溶性糖含量测定采用蒽酮比色法, 可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法, 均参照邹琦方法^[12], 叶绿素含量测定采用陈福明的方法^[13]进行.

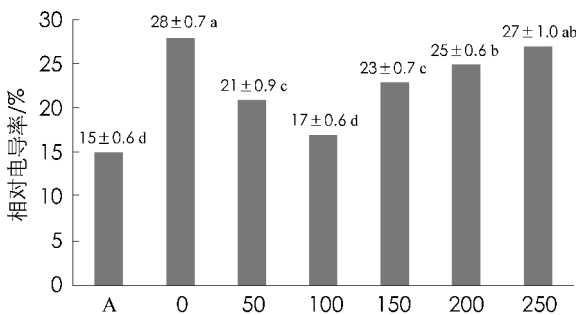
2 结果与分析

2.1 外源褪黑素诱导对番茄幼苗电导率的影响

从图 1 可以看出, 番茄在 3 d 低温处理后, 相对电导率较 A 都呈现升高的趋势, 说明细胞膜系统有不同程度的受损, 但是在不同浓度褪黑素的处理中, 只有 100 $\mu\text{mol/L}$ 处理时, 电导率只增加了 11.8% ($p < 0.05$), 说明喷施适宜浓度的外源褪黑素可有效降低电解质渗透率, 减轻冷害对质膜的伤害, 从而提高番茄的耐低温能力.

2.2 外源褪黑素诱导对番茄幼苗丙二醛含量的影响

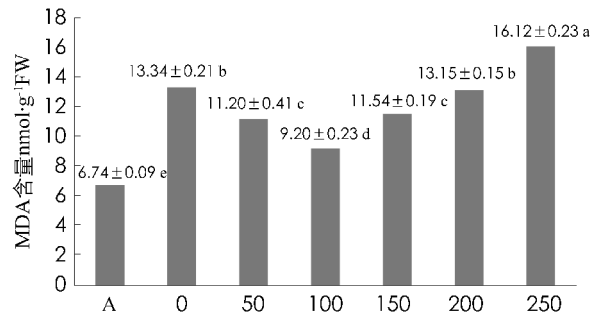
从图 2 可以看出, 在施用 50 $\mu\text{mol/L}$ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 的褪黑素时, MDA 含量较对照低了 16% 和 31% ($p < 0.05$), 与相对电导率的趋势大致相同. 表明喷施一定浓度的外源物质可有效减弱番茄幼苗低温胁迫后的膜脂过氧化作用, 从而减轻 MDA 对细胞膜系统的伤害.



A: 常温对照; 0: 低温对照; 50~250: 褪黑素浓度 $\mu\text{mol/L}$

注: 小写字母表示不同处理间差异达 $p < 0.05$ 显著性水平. 下同.

图 1 褪黑素对番茄电导率的影响



A: 常温对照; 0: 低温对照; 50~250: 褪黑素浓度 $\mu\text{mol/L}$

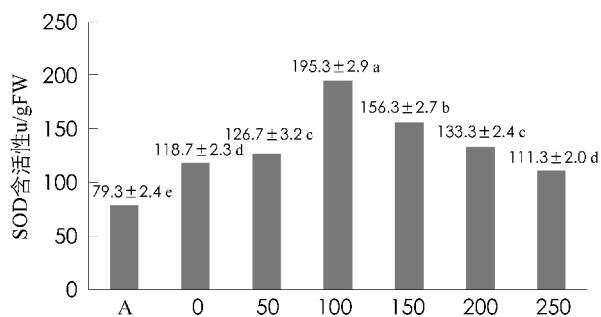
图 2 褪黑素对番茄丙二醛含量的影响

2.3 外源褪黑素诱导对番茄幼苗活性氧代谢的影响

图 3、4、5 分别显示了 SOD、POD、CAT 的活性变化, 3 项数据都表明番茄经过 3 d 的低温胁迫, 其活性都有不同程度的提高, 用浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 的褪黑素处理的样品, 其含有的 3 种酶的活性较对照分别提高了 39.1%, 48.2%, 22.3% ($p < 0.05$), 达到显著差异.

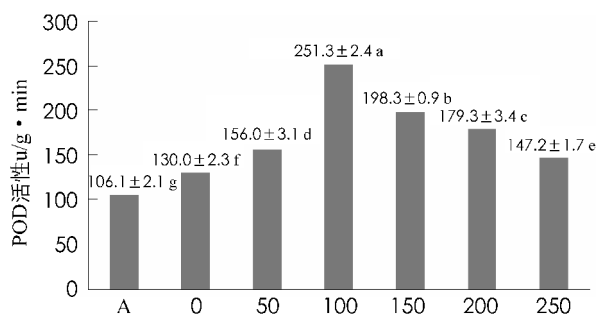
2.4 外源褪黑素诱导对番茄幼苗叶绿素含量的影响

由图 6 可以看出, 番茄幼苗叶绿素含量在低温影响下有明显下降, 用 100 $\mu\text{mol/L}$ 褪黑素处理较 A 只降低了 29.8%, 但较对照升高了 28.8%, 相对其他浓度处理来说保持了较高的水平. 经方差分析, 用不同浓度褪黑素处理的幼苗叶绿素含量较对照含量的差异均达到了显著水平 ($p < 0.05$).



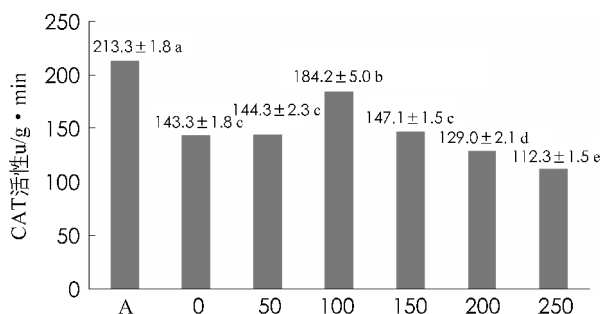
A: 常温对照; 0: 低温对照; 50~250: 褪黑素浓度 $\mu\text{mol/L}$

图 3 褪黑素对 SOD 活性的影响



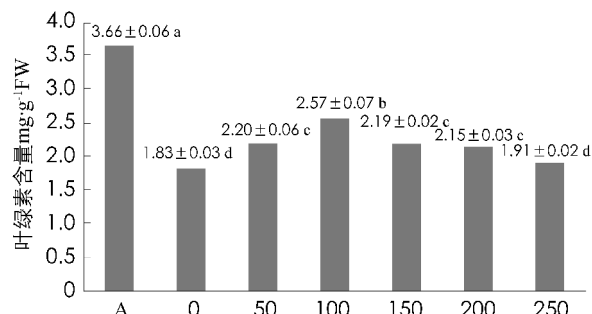
A: 常温对照; 0: 低温对照; 50~250: 褪黑素浓度 $\mu\text{mol/L}$

图 4 褪黑素对 POD 活性的影响



A: 常温对照; 0: 低温对照; 50~250: 褪黑素浓度 $\mu\text{mol/L}$

图 5 褪黑素对 CAT 活性的影响

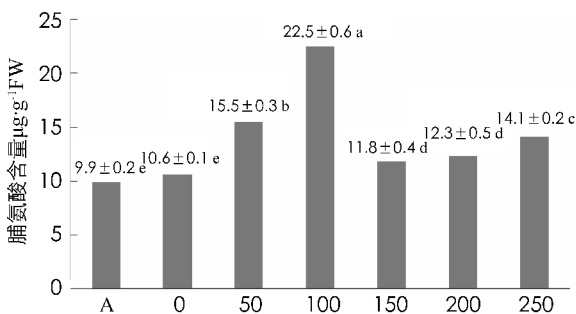


A: 常温对照; 0: 低温对照; 50~250: 褪黑素浓度 $\mu\text{mol/L}$

图 6 褪黑素对番茄叶绿素含量的影响

2.5 外源褪黑素诱导对番茄幼苗脯氨酸含量的影响

如图 7 所示, 低温胁迫条件下, 经外源褪黑素处理后, 植株体内脯氨酸含量迅速积累, 与 A 相比, 各处理均明显升高. 100 $\mu\text{mol/L}$ 处理下脯氨酸含量最高为 22.5 $\mu\text{g/g}$, 其次为 50 $\mu\text{mol/L}$ 处理, 再次为 150 $\mu\text{mol/L}$ 处理. 在本实验选用的 5 种不同浓度的褪黑素处理下, 表现出先升高后降低的趋势, 说明只有在适宜的浓度下, 才能保证脯氨酸的积累, 保持渗透调节的平衡.

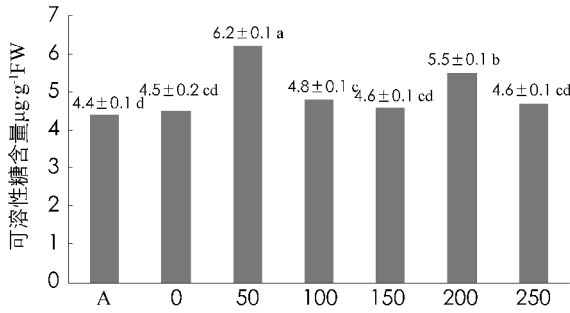


A: 常温对照; 0: 低温对照; 50~250: 褪黑素浓度 $\mu\text{mol/L}$

图 7 褪黑素对番茄脯氨酸含量的影响

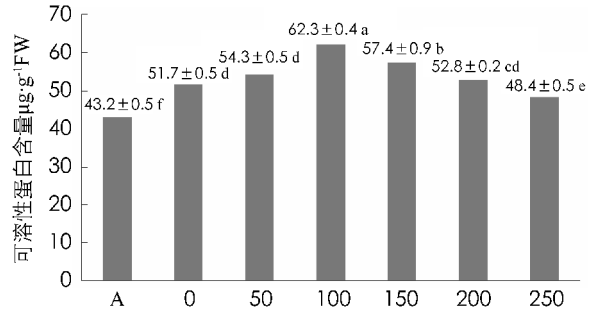
2.6 外源褪黑素对番茄幼苗可溶性糖和蛋白质含量的影响

从图 8、9 可以看出, 通过低温胁迫, 改变了植物体内的渗透调节平衡. 在此过程中, 为了抵抗低温带来的伤害, 可溶性糖和可溶性蛋白质含量都得到了一定程度的提高, 数据显示可溶性糖和可溶性蛋白质含量在褪黑素分别为 50 mol/L 和 100 mol/L 时达到峰值, 与对照相比分别提高了 27.4%, 17.0%, 为显著差异 ($p < 0.05$), 图 8 中, 在 200 mol/L 也出现一个小的上升变化, 可能是由于体内的合成物的积累, 其具体原因尚不明确, 有待进一步研究.



A: 常温对照; 0: 低温对照; 50~250: 褪黑素浓度 μmol/L

图 8 褪黑素对番茄可溶性糖含量的影响



A: 常温对照; 0: 低温对照; 50~250: 褪黑素浓度 μmol/L

图 9 褪黑素对番茄可溶性蛋白质含量的影响

3 结论和讨论

细胞膜系统的完整性对植物生长有重要作用,许多研究表明细胞膜在植物抗逆性方面起着重要作用,当细胞膜受到伤害时,植物对逆境的抵抗能力会下降^[14-18].本实验表明,用 100 μmol/L 的褪黑素预处理番茄幼苗 48 h 后,置于 5 °C 的低温下,测出的相对电导率和 MDA 含量虽然和 A 相比有一定程度的升高,但与对照相比已经显著降低($p < 0.05$),说明褪黑素能够保持膜的完整性,从而有效降低番茄受到的低温伤害.

低温下叶片内 SOD、POD 和 CAT 等抗氧化酶在清除氧自由基和降低质膜过氧化程度方面起重要作用^[18-19].本实验表明经外源褪黑素处理可维持番茄幼苗体内较高的 SOD 和 POD 活性,降低膜脂过氧化作用,减轻质膜的伤害程度,减少低温对番茄幼苗的伤害.

因此可以认为,外源褪黑素可通过增强 POD 和 SOD 活性和大幅度提高脯氨酸含量来降低电解质渗透率和 MDA 含量,使叶片细胞内的生理反应保持一种动态平衡,以提高番茄植株的抗冷性,缓解活性氧代谢失调.

参考文献:

- [1] 张福墁. 强化科技创新,大力提升我国设施园艺现代化水平 [J]. 沈阳农业大学学报, 2006, 37(3): 261-264.
- [2] 林 多,魏毓棠,王世刚. 番茄耐低温研究进展 [J]. 沈阳农业大学学报, 2000, 31(6): 585-589.
- [3] 郭 确,潘瑞炽. ABA 对水稻幼苗抗冷性的影响 [J]. 植物生理学报, 1984, 31(4): 265-270.
- [4] 李艳军,王丽丽,蒋欣梅,等. 外源水杨酸诱导对番茄幼苗抗冷性的影响 [J]. 东北农业大学学报, 2006, 37(4): 463-467.
- [5] 马红群,梁丽娇,周忆堂,等. 低温胁迫对小麦黄化苗转绿过程中生理生化指标的的动力学研究 [J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2007, 29(10): 71-74.
- [6] 齐代华,王 力,李旭光,等. 冬季低温胁迫对长叶竹柏幼苗细胞膜的伤害 [J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2003, 28(6): 937-941.
- [7] 李国婧,周 燮. 水杨酸与植物抗非生物胁迫 [J]. 植物学通报, 2001, 18(3): 295-302.
- [8] 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.
- [9] 王孝宣,李树德,东慧茹,等. 番茄品种耐寒性与 ABA 和可溶性糖含量的关系 [J]. 园艺学报, 1998, 25(1): 56-60.
- [10] 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.
- [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] 邹 琦. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 161-162.
- [13] 候福林. 植物生理学实验教程 [M]. 北京: 科学出版社, 2004: 90.
- [14] 马德华,庞金安,李淑菊,等. 温度逆境锻炼对高温下黄瓜幼苗生理的影响 [J]. 园艺学报, 1998, 25(4): 350-355.

- [15] 徐跃进, 李艳春, 俞振华. 西葫芦抗冷性生理生化指标分析 [J]. 湖北农业科学, 2006, 45(2): 211—213.
- [16] 郁继华, 张国斌, 冯致, 等. 低温弱光对辣椒幼苗抗氧化酶活性与质膜透性的影响 [J]. 西北植物学报, 2005, 25(12): 2478—2483.
- [17] 郑东虎, 葛晓光, 张宪政, 等. 冷胁迫对番茄膜脂过氧化与抗氧化酶系统的影响 [J]. 北方园艺, 2003(4): 46—47.
- [18] 马德华, 孙其信. 温度逆境对不同品种黄瓜幼苗膜保护系统的影响 [J]. 西北植物学报, 2001, 21(4): 656—661.
- [19] 王凤华, 林德清, 王贵学. 钙提高茄子幼苗抗寒力的研究 [J]. 四川农业大学学报, 2005, 23(2): 192—194, 222.

On Effect of Exogenous Melatonin on Physiological Indexes of Tomato Seedling under Low Temperature Stress

BAO Yu, LUO Qing-xi, HUANG Juan, CHI Hao

College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400716, China

Abstract: The effects of exogenous melatonin on physiological indexes of tomato seedling under low temperature stress includes malondialdehyde content, proline content, chlorophyll content, and the metabolism of active oxygen. The results indicate that exogenous melatonin could effectively improve the cold resistance of tomato seedlings. By comparison, the relative conductivity and malondialdehyde (MDA) content are decreased by 39.3% and 31.0% respectively, and maintain the integrity of cell membrane. At the same time, the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) increase by 39.2%, 48.2%, and the permeate (proline) content increases by 52.8% in tomato seedlings, thus it has enhanced the cold tolerance of the seedlings.

Key words: tomato; chilling stress; melatonin; osmotic regulation; antioxidant enzyme

责任编辑 欧 宾