

## 植物生长物质冠菌素提高黄瓜幼苗耐冷性的效应

王蕾 王倩 李召虎 孙令强 段留生

(中国农业大学 农学与生物技术学院, 北京 100094)

**摘要** 为研究植物生长物质冠菌素对黄瓜幼苗耐冷性的影响,以冷敏感黄瓜品种津春四号幼苗为材料,在第2片真叶完全展开时分别用0(对照CK)、0.0001、0.001、0.01和0.1 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的冠菌素溶液进行叶面处理,然后在(5 $\pm$ 1)下低温胁迫4d。结果表明:0.001 $\mu\text{mol/L}$ 冠菌素处理的黄瓜幼苗低温胁迫后,冷害指数比CK降低了44.9%,叶绿素含量、光系统原初光能转化效率( $F_v/F_m$ )、脯氨酸、可溶性糖含量分别比CK提高46.7%、99.0%、48.2%和43.1%,而电解质渗漏率含量比CK降低了27.8%,差异均达到显著水平;因此,适宜的冠菌素处理可以显著提高黄瓜幼苗耐冷性。

**关键词** 冠菌素; 黄瓜; 幼苗; 耐冷性; 植物生长物质

中图分类号 Q945

文章编号 1007-4333(2006)06-0045-04

文献标识码 A

### Plant growth substance coronatine improve chilling tolerance of cucumber seedlings

Wang Lei, Wang Qian, Li Zhaohu, Sun Lingqiang, Duan Liusheng

(College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

**Abstract** Chilling-sensitive cucumbers (*Cucumis sativus* L. cv. Jinchun 4) were used as materials to investigate effects of coronatine on chilling tolerance in cucumber seedlings under low temperature. Cucumber seedlings were treated in two-leaf stage through spraying coronatine at 0 (CK), 0.0001, 0.001, 0.01, and 0.1  $\mu\text{mol/L}$ , and then were stressed under low temperature (5 $\pm$ 1) in a growth chamber for 4 days. Compared with CK, the chilling injured index of the seedlings treated with 0.001  $\mu\text{mol/L}$  coronatine declined by 44.9%, and the leaf electrolyte leakage declined by 27.8%, while the content of chlorophyll, proline and soluble sugar in treated seedlings were increased by 46.7%, 48.2% and 43.1% respectively. The chlorophyll fluorometer  $F_v/F_m$  was decreased by 99.0% in coronatine treatment at 0.001  $\mu\text{mol/L}$  under chilling stress. These results indicated that foliar spraying with coronatine improved the chilling tolerance of cucumber seedlings.

**Key words** coronatine; cucumber; seedling; chilling tolerance; plant growth substance

黄瓜是我国栽培面积较大的蔬菜作物,2002年已达到125.3万 $\text{hm}^2$ ,其中保护地黄瓜生产面积约占总面积的42%<sup>[1]</sup>。黄瓜对低温敏感,生长期间易受低温冷害。生产上冷害最严重、损失最大的是日光温室冬春栽培的黄瓜。因此,研究冷害的机理并寻找一种简单、切实可行的方法来提高黄瓜的耐冷能力对黄瓜生产有重要意义。

低温条件下植物细胞受到破坏的最初部位是细胞膜<sup>[2]</sup>,低温胁迫下生物膜发生由液晶相向凝胶相

的变化,膜流动性降低,透性增加,造成细胞内溶质外渗<sup>[3]</sup>。另外,低温胁迫导致活性氧代谢失衡,而造成膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)的积累,对膜和细胞造成进一步的伤害<sup>[4]</sup>。一般认为,植物在低温条件下,叶绿体会受到破坏,叶绿素含量下降,从而发生严重的光抑制现象;而且可溶性物质增加,可能是植物对低温的一种适应机制<sup>[5]</sup>。

应用植物生长物质能有效提高植物对各种环境逆境的抗性/耐性,已报道油菜素内酯、茉莉酸等能

收稿日期: 2006-03-06

基金项目: 国家高技术研究发展计划资助项目(2003AA241170)

作者简介: 王蕾,硕士研究生;段留生,教授,通讯作者,主要从事作物生理与化学控制研究, E-mail: duanlsh@cau.edu.cn

显著提高黄瓜等作物的抗性,而且使用方便<sup>[6-8]</sup>。但目前黄瓜生产上,尚未形成稳定成熟的植物生长物质应用技术。进一步研究黄瓜耐冷性生理,筛选能提高黄瓜耐冷性的新植物生长物质,并研究其作用机制,不仅对植物抗逆性诱导有重要理论意义,而且为降低和减轻冷害损失、提高黄瓜种植效益提供新的技术途径。

冠菌素(coronatine)是丁香假单胞菌产生的致病毒素,近年 Young 等<sup>[9]</sup>陆续证明冠菌素是一种新型植物生长物质,与脱落酸、茉莉酸类物质(JAs)有类似功能,其活性比JAs强100~1000倍<sup>[10-11]</sup>。已经证明冠菌素能提高植物对病害<sup>[12]</sup>、干旱<sup>[8]</sup>等多种逆境的抗性,同时提高与逆境相关的乙烯产生量<sup>[13-14]</sup>等,但目前对冠菌素能否提高作物耐冷性尚未见报道,本试验旨在探讨冠菌素对黄瓜幼苗耐冷性的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料培养

试验于2005年春在中国农业大学科学园日光温室进行,黄瓜(*Cucumis sativus* L.)品种为津春四号。种子用蒸馏水浸种6h,然后于28℃下催芽,选择出芽整齐一致的种子播到50孔育苗穴盘中,栽培基质为草炭土:蛭石=1:1(质量比)。当黄瓜幼苗长至第2片真叶完全展开时进行冠菌素处理。

### 1.2 处理方法

冠菌素为中国农业大学作物化学控制研究中心提供,处理浓度为0(CK)、0.0001、0.001、0.01和0.1 μmol/L,每处理60株,3次重复。

黄瓜幼苗第2片真叶完全展开时,选取形态及长势基本一致的黄瓜幼苗,用小型喷雾器将各处理浓度的冠菌素溶液均匀喷施到黄瓜幼苗叶片两面,每处理用量为200 mL(含0.5%(质量分数)吐温20),对照喷等量蒸馏水。在常温条件(25℃)下生长24h后,将幼苗移至光照培养箱中进行低温处理,温度为(5±1)℃,光强80 μmol/m<sup>2</sup>/s,每日光照12h,黑暗12h。低温处理4d后调查形态指标,并取样进行各项生理测定。

### 1.3 测定方法

植株形态和干鲜重:每处理取10株分别测定株高、茎粗、全株鲜重,鲜样在105℃杀青30min,70℃烘24h至恒重,称量干重。

冷害指数:参照 Semeniuk 的方法<sup>[15]</sup>,对幼苗冷

害症状进行分级,0级为植株无明显受害症状,5级为植株受害死亡,指数越低受害越轻。冷害指数按如下公式计算:

$$\text{冷害指数} = \left[ \sum_{i=0}^5 X_i \cdot i \right] / 6n$$

式中:  $X_i$  为各级苗的株数;  $n$  为总株数。

电解质渗漏率:参照赵世杰的方法<sup>[16]</sup>,用 EC215 电导测定仪(意大利 HANNA 公司生产)测定并按下式计算:电解质渗漏率 = ((初电导率 - 空白电导率) / (终电导率 - 空白电导率)) × 100%。以电解质渗漏率表示细胞膜的相对透性。

叶绿素含量及叶绿素荧光参数:叶绿素含量用叶绿素仪 SPAD-502(日本 MINOLTA 公司生产)测定幼苗第2片叶。叶绿素荧光用叶绿素荧光仪 Fimr-2100(德国 WALZ 公司生产)测定幼苗第2片叶的光系统原初光能转化效率  $F_v/F_m$ (测定前暗适应20min)。

脯氨酸和可溶性糖测定:脯氨酸含量的测定用酸性茚三酮比色法<sup>[17]</sup>,可溶性糖用蒽酮比色法<sup>[17]</sup>。

试验数据用 SAS 数据软件进行处理,以邓肯新复极差法测验不同处理间的差异显著性( $P < 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 低温胁迫下冠菌素对黄瓜幼苗生长的影响

黄瓜幼苗经0.0001~0.01 μmol/L处理后,对低温胁迫下黄瓜幼苗生长有一定程度的促进(表1)。0.001 μmol/L冠菌素处理分别使黄瓜株高、茎粗、整株干重、鲜重分别比对照高18.9%、19.8%、40.0%和83.7%,均达差异显著水平。0.1 μmol/L冠菌素处理与对照差异不显著。

表1 低温胁迫下冠菌素对黄瓜幼苗生长的影响

Table 1 Effect of coronatine on seedling growth under low temperature stress

处理浓度/ (μmol/L)	株高/ cm	茎粗/ mm	鲜重/ g	干重/ g
CK	5.55 b	3.17 b	1.59 c	0.20 b
0.0001	5.77 ab	3.36 ab	1.98 bc	0.20 b
0.001	6.60 a	3.80 a	2.92 a	0.28 a
0.01	5.71 ab	3.30 ab	2.15 b	0.21 b
0.1	5.56 b	3.32 ab	1.58 c	0.19 b

注:同列数据字母不同者差异显著( $P < 0.05$ ),下同。

## 2.2 低温胁迫下冠菌素对黄瓜幼苗冷害指数的影响

低温胁迫后黄瓜功能叶片的主要冷害症状是出现焦边和水渍状斑点,严重时形成大片干枯斑。0.000 1~0.01  $\mu\text{mol/L}$  冠菌素均提高黄瓜幼苗耐冷能力,其中 0.001  $\mu\text{mol/L}$  处理与对照差异显著。处理后 4 d 大部分幼苗没有表现出明显的受害症状,冷害指数为 0.27,比对照降低了 44.9%。0.1  $\mu\text{mol/L}$  冠菌素处理的冷害指数为 0.52,与对照无显著差异(表 2)。

表 2 低温胁迫下冠菌素对黄瓜幼苗电解质渗漏率和冷害指数的影响

Table 2 Effect of coronatine on electrolyte leakage, chilling injury index under low temperature stress

处理浓度/ ( $\mu\text{mol/L}$ )	电解质渗 漏率/ %	冷害指数
CK	57.87 a	0.49 a
0.000 1	55.63 a	0.42 b
0.001	42.20 c	0.27 d
0.01	50.70 b	0.37 c
0.1	58.17 a	0.52 a

## 2.3 低温胁迫下冠菌素对黄瓜幼苗叶片细胞膜透性的影响

黄瓜幼苗叶片细胞膜对低温十分敏感。低温处理 4 d 后,对照的电解质渗漏率达到 57.87%,冠菌素处理均降低了黄瓜幼苗的电解质渗漏率,其中 0.001 和 0.01  $\mu\text{mol/L}$  与对照达到显著水平,分别比对照降低了 27.8%和 12.4%(表 2)。

## 2.4 低温胁迫下冠菌素对黄瓜幼苗叶片叶绿素含量和光系统 原初光能转化效率的影响

低温胁迫可导致叶绿素含量降低,由表 3 可以看出 0.001  $\mu\text{mol/L}$  冠菌素处理可以显著提高黄瓜幼苗叶片的叶绿素含量,与对照相比提高了 46.7%。

在叶绿素荧光动力学分析中,可变荧光  $F_v$  与最大荧光  $F_m$  的比值 ( $F_v/F_m$ ) 是原初光能转换效率或最大量子产额,与生物产量直接相关。由表 3 看出,除最高浓度以外,其他浓度处理均显著提高了低温胁迫下黄瓜幼苗的  $F_v/F_m$  值。

## 2.5 低温胁迫下冠菌素对黄瓜幼苗叶片可溶性糖及脯氨酸含量的影响

0.001 和 0.01  $\mu\text{mol/L}$  冠菌素处理可以提高黄瓜幼苗叶片的可溶性糖含量(表 4),与对照相比提

表 3 低温胁迫下冠菌素对黄瓜幼苗叶片叶绿素含量和叶绿素荧光的影响

Table 3 Effect of coronatine on the chlorophyll content and  $F_v/F_m$  under low temperature stress

处理浓度/ ( $\mu\text{mol/L}$ )	叶绿素含量/ SPAD 值	叶绿素荧光 $F_v/F_m$
CK	17.73 cd	0.364 3 c
0.000 1	21.57 b	0.507 3 b
0.001	25.30 a	0.725 3 a
0.01	20.57 bc	0.603 7 b
0.1	17.43 d	0.333 0 c

高了 43.1%和 31.4%,达到了显著水平;冠菌素处理的黄瓜幼苗,在低温胁迫下,其脯氨酸含量均高于对照,提高了 17.4%~48.2%,均达到显著水平,说明冠菌素处理提高了黄瓜幼苗叶片细胞的渗透调节能力。

表 4 低温胁迫下冠菌素对黄瓜幼苗叶片可溶性糖和脯氨酸含量的影响

Table 4 Effects of coronatine on soluble sugar and proline content under low temperature stress

处理浓度/ ( $\mu\text{mol/L}$ )	可溶性糖质量比/ ( $\mu\text{g/g}$ )	脯氨酸质量比/ ( $\mu\text{g/g}$ )
CK	6 834.7 c	73.12 d
0.000 1	6 917.8 c	85.83 c
0.001	9 778.3 a	108.33 a
0.01	8 981.0 b	103.55 ab
0.1	6 803.4 c	96.39 b

## 3 讨 论

本实验结果表明,与低温下清水处理对照比,适宜浓度的冠菌素处理降低了冷害指数和叶片电解质渗漏,增加了叶绿素含量、 $F_v/F_m$  及渗透调节物质可溶性糖和脯氨酸含量,证明冠菌素处理有减少低温胁迫造成的损害、提高黄瓜幼苗耐冷性效应。本试验中 0.000 1、0.001 和 0.01  $\mu\text{mol/L}$  处理均不同程度提高了黄瓜幼苗耐冷性,其中以 0.001  $\mu\text{mol/L}$  效果最佳。

冠菌素提高黄瓜幼苗耐冷性可能与减轻低温下光合作用的降低有关。光系统 (PS) 是光抑制的重要部位,许多胁迫因子,如干旱,热害和冷害都可以使 PS 光能利用效率下降,从而使植物更易受到光抑制的伤害, $F_v/F_m$  的下降是光抑制的主要指标。叶绿素是捕获光能、同化  $\text{CO}_2$  的基本色素,它

直接反映光合效率和同化能力的大小。黄瓜叶绿体的超微结构在遇到低温时会发生变化,叶绿素降解加剧,而其合成能力降低,导致叶绿素总含量下降,光合速率和最大光化学效率下降,使黄瓜植株的生长受到抑制。本试验结果表明,与对照相比,冠菌素处理减缓了低温胁迫导致的黄瓜幼苗叶片最大光化学效率下降和叶绿素降解,减轻了低温胁迫下叶片的光抑制,提高了黄瓜幼苗的光合能力和光能利用率,从而使低温胁迫后冠菌素处理的幼苗生长量高于对照植株。低温引起叶绿素含量降低的另一原因可能是抗氧化酶活性的变化。

冠菌素提高黄瓜幼苗耐冷性还可能与脯氨酸和可溶性糖等渗透调节物质的增加有关。在本试验中,也发现低温胁迫下冠菌素处理的黄瓜幼苗叶片维持较高的可溶性糖和脯氨酸水平,且与耐冷性提高一致。一般认为,低温下这2种物质的积累是作为渗透调节物质和防脱水剂起作用的<sup>[18]</sup>。在低温胁迫下它们可以降低细胞水势,增强持水力。有研究表明,脯氨酸的积累需要碳水化合物,碳水化合物通过氧化磷酸化作用为脯氨酸的合成提供必要的氢和还原能力<sup>[19]</sup>,可溶性糖和脯氨酸的同步积累可能与此相关。

本试验初步明确了冠菌素提高黄瓜幼苗耐冷性的效应,其作用的确切机制及与其他植物生长物质作用的关系尚待进一步研究。

### 参 考 文 献

- [1] 李怀智. 我国黄瓜栽培的现状及其发展趋势[J]. 蔬菜, 2003(8):3
- [2] 李美茹,刘鸿先,王以柔. 植物耐冷性分子生物学研究进展[J]. 热带亚热带植物学报, 2000,8(1):70~80
- [3] Lyons J M. Chilling injury in plants[J]. Ann Rev Plant Physiol, 1973,24:445~466
- [4] Ji B H, Zhu S Q, Jiao D M. Photochemical efficiency of PS and membrane lipid peroxidation in leaves of indica and japonica rice (*Oryza sativa*) under chilling temperature and strong light stress conditions[J]. Acta Bot Sini, 2002,44(2):139~146
- [5] Rathinasabapathi B. Metabolic engineering for stress tolerance: installing osmoprotectant synthesis pathways[J]. Ann Bot, 2000,86:709~716
- [6] 丁锦新,陶晓东,黄素青. 表油菜素内酯对黄瓜幼苗耐冷性的影响[J]. 浙江农业科学,1998,4:195~197
- [7] 闫芝芬,魏建昆. 冠菌素和茉莉酸对高粱幼苗耐水分胁迫的诱导效应[J]. 中国农学通报, 1999,15(5):11~15
- [8] 康云艳,郭世荣,段九菊. 外源24-表油菜素内酯对低温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,2005,12:82~86
- [9] Young S A, Park S K. Physical and functional characterization of the gene cluster encoding the polyketide phytoxin coronatine in *Pseudomonas syringae* pv. *glycinia* [J]. J Bacteriol, 1992,174:1837~1843
- [10] Ceiso E B, Daoxin X, John G T. COI 1-Dependent expression of Arabidopsis vegetative storage protein in flowers and siliques and in response to coronatine or methyl jasmonate[J]. Plant Physiol, 1995,109:567~572
- [11] Friedemann G, Teruhiko Y, Akitami I. Coronatine, a bacterial phytotoxin, acts as a stereospecific analogue of jasmonate type signals in tomato cells and potato tissues [J]. J Plant Physiol, 1995,147:359~366
- [12] Block A, Schmelz E, Jones J B, et al. Coronatine and salicylic acid: the battle between *Arabidopsis* and *Pseudomonas* for phytohormone control[J]. Mol Plant Path, 2005,6(1):79~83
- [13] Bent A F, Innes R W. Disease development in ethylene-insensitive *Arabidopsis thaliana* infected with virulent and avirulent *Pseudomonas* and *Xanthomonas* pathogens [J]. Mol Plant Mic Interact, 1992,5:372~378
- [14] Perner B, Schmauder H P. Effect of coronatine on ethylene release and ATPase activity of tomato cell cultures[J]. J Phytopath, 1994,142:27~36
- [15] Semeniuk P, Moline H E, Abbott J A. A comparison of the effects of ABA and an antitranspirant on chilling injury of coleus, cucumbers, and dieffenbachia [J]. J Americ Soc Hort Sci, 1986,111:866~868
- [16] 刘鹏,赵世杰,孟庆伟. 冷锻炼对甜椒叶片光合作用及其低温光抑制的影响[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2002,28(1):51~58
- [17] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社, 2000:166~168
- [18] 马文月. 植物冷害和耐冷性的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2004,32(5):1003~1006
- [19] 彭志红,彭克勤,胡家金,等. 渗透胁迫下植物脯氨酸积累的研究进展[J]. 中国农学通报,2002,18(4):80~83