

# 三种植物生长调节剂对甜椒幼苗抗寒性的协同诱导效应

罗立津<sup>1</sup>, 洪淑珠<sup>2</sup>, 吴慧玲<sup>1</sup>, 翁华钦<sup>2</sup>, 李召虎<sup>1</sup>

1. 植物生长调节剂教育部工程研究中心; 中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100193
2. 福建超大现代农业科技研究所, 福州 350003

**摘要** 为验证冠菌素 (COR)、脱落酸 (ABA) 和矿源黄腐酸 (MFA) 3 种调节剂对提高甜椒抗寒性的协同效应, 以甜椒为材料, 采用砂培法, 用三元复配剂 (MIXII) 和各种单剂进行灌根处理 (10mL/株) 并于低温 (10~15℃) 环境下生长 60d 后, 分析低温 (5℃, 48h) 胁迫下, 幼苗生长、细胞质膜透性、渗透物质、植株体内活性氧代谢及其抗氧化酶活性的差异。结果表明, 复配剂 MIXII 在低温环境下促进甜椒幼苗生长, 同时 3 种调节剂对抗寒性有一定的协同诱导效应, 表现为超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、过氧化物酶 (POD) 活性显著提高, 从而更加有效地清除体内的活性氧, 其效果比使用单剂更为明显; 并且 MIXII 在低温环境下通过 ABA 的作用提高叶片脯氨酸、可溶性糖等渗透调节物质的含量, 来减轻低温胁迫造成的伤害。

**关键词** 植物生长调节剂; 甜椒; 抗寒; 逆境生理

中图分类号 S482.8

文献标识码 A

文章编号 1000-7857(2010)15-0036-05

## Cooperative Inducing Effects of Three Plant Growth Regulators on the Chilling Resistance of Sweet Pepper (*Capsicum annuum*) Seedlings

LUO Lijin<sup>1</sup>, HONG Shuzhu<sup>2</sup>, WU Huiling<sup>1</sup>, WENG Huaqin<sup>2</sup>, LI Zhaohu<sup>1</sup>

1. Engineering Research Center of Plant Growth Regulator, Ministry of Education; College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China
2. Fujian Chaoda Modern Agriculture Technology Research Institute, Fuzhou 350003, China

**Abstract** To study the cooperative inducing effects of coronatine (COR), abscisic acid (ABA), and mineral fulvic acid (MFA) on the chilling resistance of plants, the sandy culture method was used to identify the effects of mepiquat chloride on the lipid peroxidation, electrolyte leakage, reactive oxygen species and antioxidant enzyme activities in sweet pepper (*Capsicum annuum*) seedlings under cold stress. Sweet pepper seedlings were irrigated with 10mL per plant of COR, ABA, MFA, and their mixture, respectively. The seedlings were planted at temperature of 10~15℃ for 60d, and then cold stress under 5℃ for 48h. The growth of seedlings and the development of lateral roots were promoted by the mixture. The cooperative inducing effects of three plant growth regulators on the chilling resistance is remarkable. Under cold stress, the activities of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), catalase (CAT, EC 1.11.1.6) and peroxidase (POD, EC 1.11.1.7) in leaves were increased. As a result, the efficiency of reactive oxygen species elimination was enhanced. With the higher content of proline and sugar as the effect of abscisic acid in the leaf, the harms of the membrane were relieved by the mixture.

**Keywords** plant growth regulator; sweet pepper (*Capsicum annuum*); chilling resistance; stress physiology

### 0 引言

近年来, 全球性气候变化异常, 在中国冬春季节, 气温屡

创新低, 使得冷敏感植物的冷害问题受到广泛关注。甜椒 (*Capsicum annuum*) 是中国各地普遍栽培的大宗蔬菜之一, 随

收稿日期: 2010-05-10

作者简介: 罗立津, 博士, 研究方向为作物化学控制和生物调节剂, 电子信箱: luolijin@sina.com; 李召虎 (通信作者), 教授, 研究方向为作物抗逆高产调控机制与化学控制技术, 电子信箱: lizhaohu@cau.edu.cn

着蔬菜的周年生产、均衡供应的需要,秋冬茬及春茬保护地甜椒栽培发展迅速。但由于甜椒是起源于亚热带的喜温蔬菜,低温天气常使秋冬茬及春茬保护地甜椒发生冷害,导致光合速率明显降低,产量和品质受到很大影响<sup>[1-2]</sup>,而使用植物生长调节剂诱导抗寒性是一条有效途径。已有一些利用植物生长调节剂提高辣(甜)椒抗寒性的研究,如,付亚文等研究表明,应用4-氯苯氧乙酸(PCPA)、萘乙酸(NAA)处理后能在逆境条件下保蕾保花,但对花粉发育有不良影响<sup>[3]</sup>。杨建平的研究表明,外源NAA、GA<sub>3</sub>可降低纤维素酶和聚半乳糖醛酸酶的活性,从而减少落花,其筛选的150mg/L NAA+0.2% ZnSO<sub>4</sub>+0.2% H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>复合配方,可使落花率由57.5%下降至16.9%<sup>[4]</sup>。曲亚英等的研究表明,甜椒种子经啉效唑(S3307)处理后,在适宜条件和低温逆境下,能稳定幼苗体内膜的结构,减轻膜受伤害的程度,幼苗体内超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性均有所上升,从而提高甜椒的抗寒性;研究中也发现IBA+NAA处理后,SOD和POD活性都上升,但上升幅度不及S3307处理<sup>[5]</sup>。郁继华等用50mg/L壳聚糖喷施,连续喷施5d,每天1次,低温处理后,辣椒的SOD、POD和过氧化物酶(CAT)活性都提高,且幼苗叶片中丙二醛(MDA)含量升高的幅度较对照少。但这些生长调节物质由于使用效果不稳定,至今都未见在甜椒生产上的大面积应用。笔者前期的研究发现,冠菌素(COR)、脱落酸(ABA)和矿源黄腐酸(MFA)都对甜椒抗寒性有一定的诱导效应并根据使用单剂的不足,筛选出较优组合复配剂(MIXII),为了进一步明确其在诱导甜椒抗寒性上的应用效果,本文对MIXII与各个单剂在甜椒幼苗抗寒性的诱导效应和生理机制上的差异进行分析,从而为开发甜椒抗寒专用调节剂提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

冠菌素(COR),由中国农业大学植物生长调节剂教育部工程研究中心提供,经检测含量为4.3mg/L,纯度>90%。脱落酸(ABA),原药纯度>90%,由中国科学院成都生物研究所提供。矿源黄腐酸(MFA)由中国农业大学环境微生物实验室提供,为褐煤经微生物降解后的产物。

供试甜椒品种为“红英达”,由寿光先正达种子有限公司提供,该品种抗烟草花叶病毒和耐马铃薯病毒。

试验于福建超大现代农业集团福州黄山高科技试验示范农场的智能控制温室内进行,材料培养同文献[6]。甜椒幼苗移栽1周后,分别用蒸馏水(空白对照)和三元复配剂(MIXII)以及相应浓度的冠菌素、脱落酸和矿源黄腐酸单剂对甜椒灌根处理,每处理15株,每株灌10mL,置于10~15℃低温下生长60d后,置于5℃下低温胁迫处理48h,取样,进行各项指标的测定。

### 1.2 生理指标测定

分别取顶芽下第2片完全展开叶测定各种生理指标,其中脯氨酸、MDA含量测定参照李合生的方法<sup>[7]</sup>;可溶性糖测定采用蒽酮法<sup>[8]</sup>;相对电导率参照Lutts等的方法<sup>[9]</sup>;过氧化氢参照Vema等的方法<sup>[10]</sup>。抗氧化酶液的提取参照李忠光等<sup>[11]</sup>和Kuk等的方法<sup>[12]</sup>,其中可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝G250染色法<sup>[8]</sup>;SOD(EC 1.15.1.1)活性测定参照Mishra等的方法<sup>[13]</sup>和Dhinds等的方法<sup>[14]</sup>;CAT(EC 1.11.1.6)活性测定参照李合生的方法<sup>[7]</sup>;POD(EC 1.11.1.7)活性参照Tatiana等的方法<sup>[15]</sup>。

### 1.3 统计分析

所有数据均采用SPSS统计软件Duncan's新复极差法进行多重比较及差异显著性分析。茎和侧根数据经过格拉布斯(Grubbs)准则异常数据分析( $\alpha=0.05, n=12, k=2.33$ )舍去异常数据,并用各处理平均值弥补,其他图表数据均为3次重复的平均值,图中不同小写字母表示差异显著( $P \leq 0.05$ ),不同大写字母表示差异极显著( $P \leq 0.01$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 调节剂对甜椒幼苗生长的调控作用

由图1可以看出,MIXII和矿源黄腐酸单剂处理均显著促进了幼苗地上部和地下部的生长,其中,株高分别比对照提高了9.34%和12.55%,茎鲜重比对照分别提高了14.20%和19.08%,侧根鲜重比对照分别提高了16.14%和11.16%。从地上部生长上看,矿源黄腐酸单剂处理的促进作用略大于MIXII处理;但对侧根生长,MIXII的促进作用更加明显。

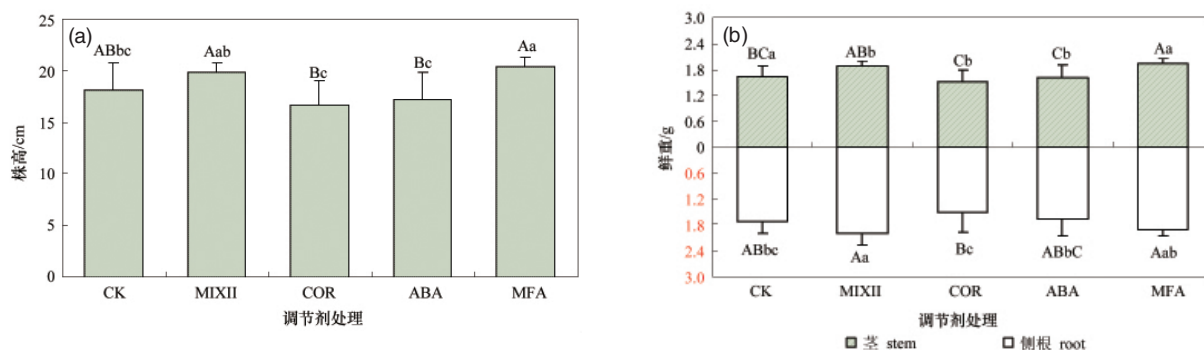


图1 植物生长调节剂对甜椒幼苗生长的调控作用

Fig. 1 Effects of plant growth regulators on biomass accumulation in sweet pepper seedlings

## 2.2 调节剂对甜椒幼苗叶片质膜伤害的减缓作用

图2表明,低温胁迫下,MIXII处理的幼苗叶片的相对电导率极显著低于对照,3种单剂处理也都显著降低了相对电导率,但MIXII处理比单剂处理相对电导率更低。说明3种调节剂配合使用能更加有效地减缓低温胁迫对细胞质膜的伤害。

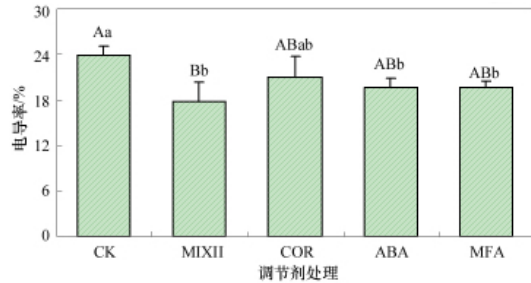
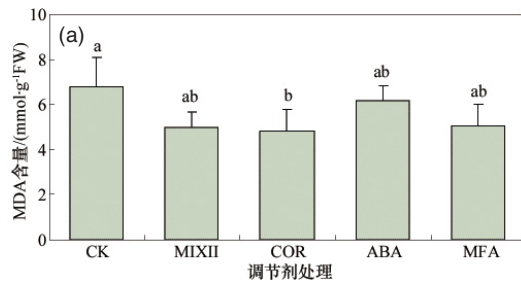


图2 植物生长调节剂处理对甜椒幼苗叶片幼苗质膜透性的影响

Fig. 2 Effects of plant growth regulators on electrolyte leakage of the leaf of sweet pepper seedlings under cold stress

## 2.3 调节剂对甜椒幼苗叶片MDA和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>积累的影响

各个处理都明显降低了MDA的积累量,其中MIXII和



COR处理的效果更为明显(图3(a)),分别比对照降低了26.32%和28.70%,但其与对照之间的差异只有COR处理达到显著性水平。

COR、MFA和MIXII处理都明显降低了叶片中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>积累量(图3(b)),分别比对照降低了13.40%、8.23%和20.68%,MIXII处理的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>积累量明显低于单剂处理,但各个处理与对照之间的差异未达显著性水平,而MIXII处理却显著低于ABA处理的积累量。可见,提高H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>清除率主要是COR或MFA作用的结果。

## 2.4 调节剂对甜椒幼苗叶片渗透调节物质含量的影响

脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白是提高植物抗寒性的重要渗透调节物质。图4(a)表明,MIXII和几种单剂处理都显著提高了叶片内脯氨酸含量,分别比对照提高了13.18%、13.28%、25.60%和9.11%,其中ABA单剂处理与对照的差异达到了极显著水平。此外,MIXII和ABA单剂处理也都一定程度提高了叶片中可溶性糖和可溶性蛋白含量,但差异都未达显著性水平(图4(b)、4(c))。综合脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白的分析结果可见,脱落酸处理对于提高叶片渗透调节物质具有明显的促进作用。

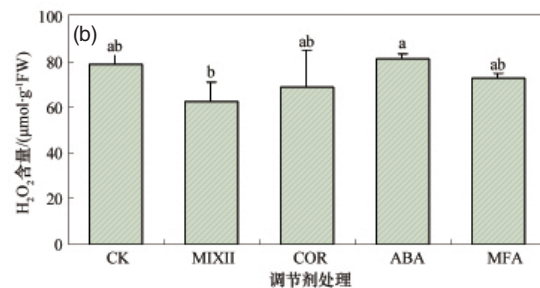


图3 低温胁迫下植物生长调节剂处理对甜椒幼苗叶片MDA、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>积累的影响

Fig. 3 Effects of plant growth regulators on MDA and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content in the leaf of sweet pepper seedlings under cold stress

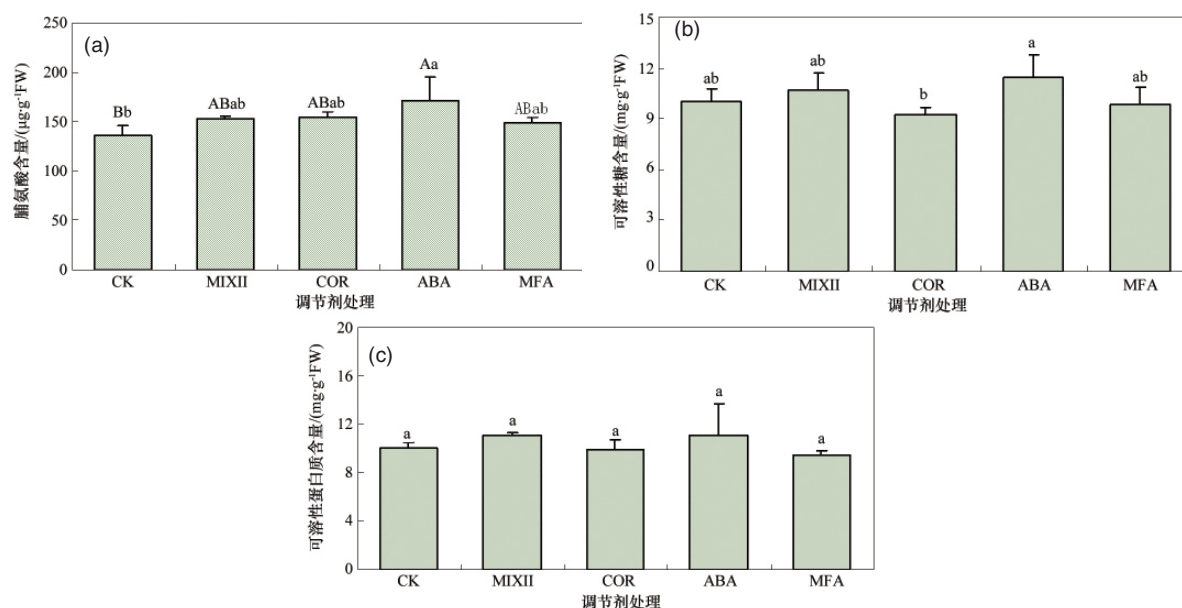


图4 低温胁迫下植物生长调节剂处理对甜椒幼苗叶片渗透调节物质含量的影响

Fig. 4 Effects of plant growth regulators on the content of osmosis-regulating substances in the leaf of sweet pepper seedlings under cold stress

## 2.5 调节剂对甜椒幼苗抗氧化酶活性的影响

通过分析抗氧化酶系统表明, MIXII 极显著提高了 SOD 活性, 比对照提高了 68.63%; 用 COR 或 MFA 单剂处理也极显著提高了 SOD 活性, 分别比对照提高了 37.96% 和 57.25%, 但其活性都明显低于 MIXII 处理的活性(图 5(a))。MIXII 也显著

提高了 CAT 活性, 比对照提高了 17.04%, 而各种单剂处理的 CAT 活性与对照之间无显著性差异(图 5(b)); MIXII 和 COR 单剂处理都极显著提高了 POD 活性, 分别比对照提高了 48.34% 和 50.93%, 而用 ABA 或 MFA 单剂处理都对 POD 活性无明显调控作用(图 5(c))。

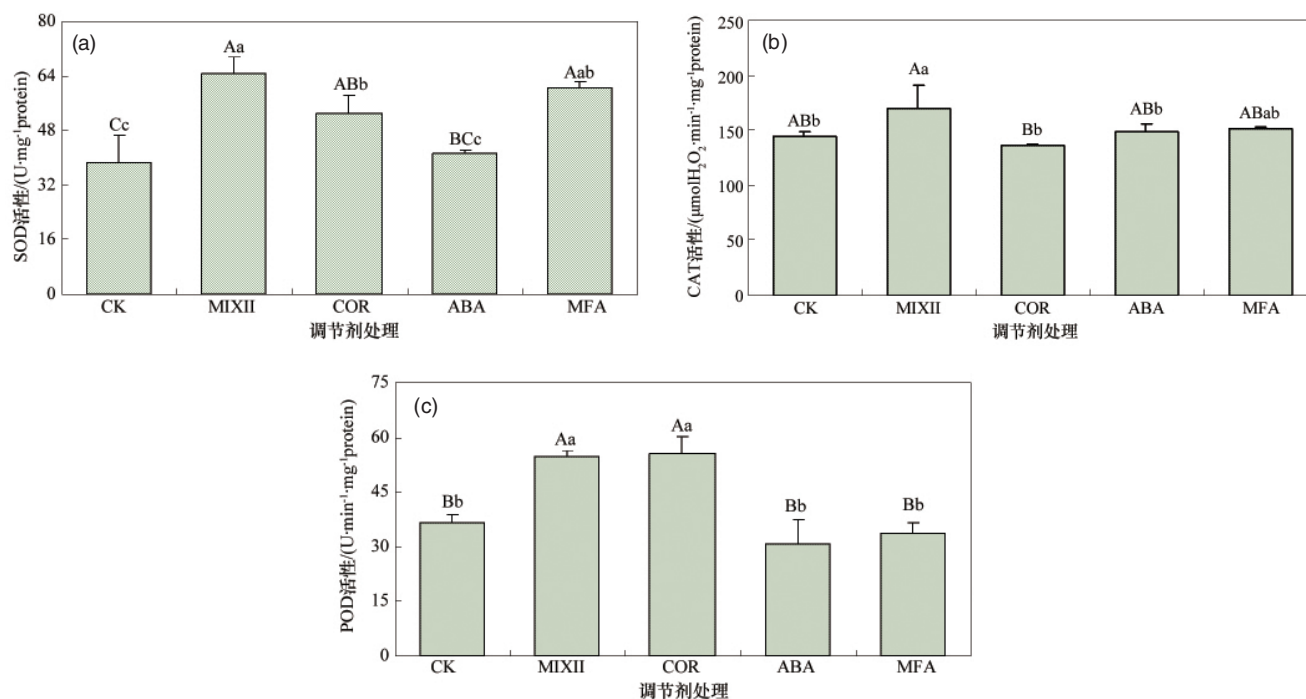


图 5 低温胁迫下植物生长调节剂对甜椒幼苗抗氧化酶(SOD、CAT 和 POD)活性的影响

Fig. 5 Effects of plant growth regulators on the activities of antioxidative enzymes in sweet pepper seedlings under cold stress

## 3 讨论

本课题组前期的研究表明, 低温环境下, 用矿源黄腐酸灌根处理 30d 后, 生物量积累与对照之间无显著性差异, 但本实验中, 矿源黄腐酸灌根处理后的甜椒于低温下生长 60d, 表现出矿源黄腐酸显著促进植株生长, 这与在常温下矿源黄腐酸促进幼苗生长的效果是一致的, 可能是因为低温下, 幼苗生长缓慢, 30 天还不足以表现生物量积累上的差异。复配剂表现出的促进作用, 可能也是矿源黄腐酸作用的结果。

在逆境胁迫下, 植物体通常主动通过自身的防御网络调控相关的代谢途径, 产生渗透调节物质以降低或消除胁迫的伤害, 其中, 可溶性糖对质膜和蛋白质显示了特殊的保护效果, 植物体内大量积累的脯氨酸, 在降低细胞酸性、解除氨毒等方面起重要作用<sup>[16]</sup>。本实验结果表明, 复配剂 MIXII 和 ABA 处理都显著提高了叶片中脯氨酸和可溶性糖的含量, 但 MIXII 处理低于脱落酸单剂处理的幼苗叶片, 因此, 在提高渗透调节物质上, 3 种调节剂并无协同效应, 而起调控作用的主要是 ABA。

逆境条件下, 植物体内活性氧是引起膜脂质过氧化的重要因素, 及时清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对于维持叶绿体的光合能力是必要的<sup>[17]</sup>, 植物主要通过抗氧化酶系统和非酶系统及时清除活性氧, 抗氧化酶系统包括 SOD、POD、CAT 等<sup>[18-19]</sup>, 其中 SOD 催化的反应为  $O_2 + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ ; CAT 催化的反应为  $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ ; POD 催化的反应为  $H_2O_2 + AH_2(\text{还原剂}) \rightarrow 2H_2O + A$ <sup>[20-21]</sup>。本实验结果表明, 复配剂 MIXII 处理都极显著提高了 SOD 和 POD 活性, 同时也显著提高了 CAT 活性。用冠菌素或矿源黄腐酸单剂处理虽然也极显著提高了 SOD 活性, 但明显低于复配剂 MIXII, 即同时使用冠菌素和矿源黄腐酸处理的活性, 可见冠菌素和矿源黄腐酸在提高 SOD 活性上具有协同效应; MIXII 显著提高了 CAT 活性, 而 3 个单剂处理对 CAT 活性都无显著性影响, 可见 CAT 活性是 3 种调节剂协同作用的结果; MIXII 和冠菌素单剂处理都极显著提高了 POD 活性, 而用脱落酸或矿源黄腐酸处理却都对 POD 活性无明显调控作用, 可见 POD 活性主要是冠菌素作用的结果。并且, 正是由于 CAT 和 POD 活性的提高, 能够更加有效地清除体内的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,

以减缓低温逆境条件下膜脂质的过氧化,减少 MDA 积累量。

#### 4 结论

在低温环境下, 复配剂 MIXII 由于矿源黄腐酸的作用可显著促进甜椒幼苗生长, 同时对抗寒性有一定的协同诱导作用, 其作用机制为: 在冠菌素和矿源黄腐酸协同诱导下, 提高 SOD 活性, 更加有效清除 O<sub>2</sub>; 并通过 3 种调节剂的协同诱导作用提高 CAT 活性, 以及冠菌素的作用提高 POD 活性, 更加有效地清除体内 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 减缓低温逆境条件下膜脂质的过氧化; 并通过脱落酸的调控作用提高叶片渗透调节物质的含量, 来减轻低温胁迫造成的伤害。

#### 参考文献 (References)

[1] 王毅, 杨宏福, 李树德. 园艺植物冷害和抗冷性的研究——文献综述 [J]. 园艺学报, 1994, 21(3): 239-244.  
Wang Yi, Yang Hongfu, Li Shude. *Acta Horticulturae Sinica*, 1994, 21(3): 239-244.

[2] 张志刚, 尚庆茂. 低温、弱光及盐胁迫下辣椒叶片的光合特性[J]. 中国农业科学, 2010, 43(1): 123-131.  
Zhang Zhigang, Shang Qingmao. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(1): 123-131.

[3] 付亚文, 郭泳, 余鑫, 等. PCPA、NAA 防治甜椒落花的生理效应初探 [J]. 沈阳农业大学学报, 1997, 28(4): 278-282.  
Fu Yawen, Guo Yong, Yu Xin, et al. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 1997, 28(4): 278-282.

[4] 杨建平. 设施辣椒落花机理及应用研究 [D]. 南京: 南京农业大学园艺学院, 1999.  
Yang Jianping. Studies on the mechanism of pepper (*Capsicum Frutescens* L.) flower abscission and its protective cultivation [D]. Nanjing: College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, 1999.

[5] 曲亚英, 郁继华, 陶兴林, 等. S3307 和 IBA+NAA 浸种对低温胁迫下甜椒幼苗抗冷性的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2006, 41(4): 52-55.  
Qu Yaying, Yu Jihua, Tao Xinglin, et al. *Journal of Gansu Agricultural University*, 2006, 41(4): 52-55.

[6] 罗立津, 徐福乐, 洪淑珠, 等. 甲哌鎧对甜椒幼苗抗寒性的诱导作用研究[J]. 农药学报, 2010, 12(2): 142-148.  
Luo Lijin, Xu Fule, Hong Shuzhu, et al. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2010, 12(2): 142-148.

[7] 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, 1999, 195.  
Li Hesheng. Experimental principle and technology of plant biology and biochemistry[M]. Beijing: Higher Education Press, 1999, 195.

[8] 邹琦. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 110-130.  
Zou Qi. Experimental manual on plant physiology [M]. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2000: 110-130.

[9] Lutts S, Kinet J M, Bouharmont J. NaCl induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance[J]. *Annals of Botany*, 1996, 78(3): 389-398.

[10] Verma S, Mishra S N. Putrescine alleviation of growth in salt stressed

*Brassica juncea* by inducing antioxidative defense system [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2005, 162(6): 669-677.

[11] 李忠光, 李江鸿, 杜朝昆, 等. 在单一提取系统中同时测定五种植物抗氧化酶[J]. 云南师范大学学报: 自然科学版, 2002, 22(6): 44-48.  
Li Zhongguang, Li Jianghong, Du Chaokun, et al. *Journal of Yunnan Normal University: Natural Sciences Edition*, 2002, 22(6): 44-48.

[12] Kuk Y I, Shin J S, Burgos N R, et al. Antioxidative enzymes offer protection from chilling damage in rice plants [J]. *Crop Science*, 2003, 43(6): 2109-2117.

[13] Mishra H P, Fridovich I. The role of superoxide anion in auto-oxidation of the epinephrine and a sample assay for superoxide dismutase [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1972, 247(10): 3170-3175.

[14] Dhindsa R S, Plump-Dhindsa P, Thorpe T A. Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability a lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase [J]. *Journal of Experimental Botany*, 1981, 32(1): 93-101.

[15] Zaharieva T, Yamashita K, Matsumoto H. Iron deficiency induced changes in ascorbate content and enzyme activities related to ascorbate metabolism in cucumber roots [J]. *Plant Cell Physiology*, 1999, 40(3): 273-280.

[16] Uemura M, Steponkus P L. Modification of the intracellular sugar content alters the incidence of freeze-induced membrane lesions of protoplasts isolated from *Arabidopsis thaliana* leaves[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2006, 26(7): 1083-1096.

[17] Asada K, Takahashi M. Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis[C]//Kyle D J, Osmond C B, Arntzen C J. Photoinhibition. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1987: 227-287.

[18] Foyer C H, Noctor G. Oxygen processing in photosynthesis: Regulation and signaling[J]. *New Phytologist*, 2000, 146(3): 359-388.

[19] Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, et al. Reactive oxygen gene network of plants[J]. *Trends in Plant Science*, 2004, 9(10): 490-498.

(责任编辑 吴晓丽)

#### 本期完词填空答案

		黄	道			
俭	以	弃	德			洞
			经	济	适	用
	寸				得	
惟	有	饮	者	留	其	名
	所				反	
	长	征				广
			复	活	节	岛
				佛		