

外源 EBR 对低温胁迫下火龙果苗抗氧化系统及脂肪酸不饱和度的影响

王楚侨¹, 罗 澜¹, 罗 弦^{1*}, 贾永霞², 黄一梅¹

1. 四川农业大学园艺学院, 四川成都 611130; 2. 四川农业大学资源学院, 四川成都 611130

摘 要: 低温是限制火龙果生长发育和产量的重要因素。2,4-表油菜素内酯 (2,4-epibrassinolide, EBR) 能够增强植物对低温等多种逆境的抗性。为提高火龙果的耐寒性, 缓解低温对其造成的伤害, 以‘台湾 6 号’红心火龙果扦插苗为材料, 外源喷施 0.5 mg/L 的 EBR, 在低温胁迫下 (4℃/0℃, 12 h/12 h) 处理 7 d, 测定火龙果苗活性氧 (ROS) 含量、抗氧化酶活性、相对电导率 (REC)、丙二醛 (MDA) 含量、脂肪酸组分及含量等, 明确 EBR 对火龙果苗耐寒性的调控作用, 进一步研究低温胁迫下抗氧化系统与膜脂脂肪酸不饱和度之间的关系, 阐明 EBR 的作用机理。结果表明: (1) 低温胁迫使火龙果苗 ROS 含量增加, 不饱和脂肪酸含量显著下降, 脂肪酸不饱和度 (UFA/SFA) 和双键指数 (DBI) 分别降低了 32.1% 和 32.4%, 导致膜稳定性降低, 膜透性增大, MDA 含量及 REC 显著升高, 植株出现明显的水渍状斑点与轻微萎焉, 寒害指数达 0.60。(2) 低温下, 外源 EBR 处理提高了火龙果苗超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶活性, 有效清除了过量积累的 ROS, 超氧阴离子产生速率、过氧化氢含量显著降低, 从而缓解了 ROS 与膜脂中不饱和脂肪酸的氧化反应, 提高了火龙果苗不饱和脂肪酸相对含量, 饱和脂肪酸的比例显著降低, UFA/SFA 和 DBI 均显著增加, 维持了细胞膜稳定性, 减少了膜脂过氧化产物 MDA 含量和 REC, 植株水渍状斑点大量减少, 寒害指数降低至 0.25。综上, 低温胁迫下, 外源 EBR 有效提高了火龙果苗的耐寒性, 其作用机理为通过增加火龙果苗抗氧化酶活性, 清除过量积累的 ROS, 显著提高细胞膜脂肪酸不饱和度, 从而减轻膜脂过氧化程度和电解质外渗, 维持细胞膜稳定性和功能。

关键词: 火龙果; 低温胁迫; 2,4-表油菜素内酯; 抗氧化系统; 脂肪酸不饱和度

中图分类号: S667.9 文献标识码: A

Effects of Exogenous EBR on Antioxidant System and Fatty Acid Unsaturation of Pitaya Seedling under Low Temperature Stress

WANG Chuqiao¹, LUO Lan¹, LUO Xian^{1*}, JIA Yongxia², HUANG Yimei¹

1. College of Horticulture, Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611130, China; 2. College of Resources, Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611130, China

Abstract: Low temperature is an important factor limiting the growth, development and yield of pitaya. 2,4-Epibrassinolide (EBR) can enhance the resistance of plants to various stresses such as low temperature. In order to improve the cold resistance of pitaya and alleviate the damage caused by low temperature, the cutting seedlings of red pulp pitaya ‘Taiwan No. 6’ was sprayed with 0.5 mg/L EBR, and treated under low temperature stress (4℃/0℃, 12 h/12 h) for 7 days. Reactive oxygen species (ROS) content, antioxidant enzyme activity, relative conductivity (REC), malondialdehyde (MDA) content, fatty acid composition and content were determined to clarify the regulatory effect of EBR on the cold tolerance of pitaya seedlings. Furthermore, the relationship between antioxidant system and fatty acid unsaturation of membrane lipids under low temperature stress was studied. Low temperature stress (4℃/0℃, 12 h/12 h) increased the content of reactive oxygen

收稿日期 2022-01-25; 修回日期 2022-05-11

基金项目 四川农业大学学科建设双支计划项目 (No. 20206813); 四川农业大学专业建设支持计划项目 (No. 20217860)。

作者简介 王楚侨 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 果树逆境生物学。*通信作者 (Corresponding author): 罗 弦 (LUO Xian), E-mail: lawxian@aliyun.com。

species (ROS), significantly decreased the content of unsaturated fatty acids. The fatty acids unsaturation (UFA/SFA) and double bond index (DBI) reduced by 32.1% and 32.4% respectively, and significantly increased the content of malondialdehyde (MDA) and relative conductivity (REC), resulting in decreased membrane stability and increased membrane permeability. The plants showed obvious watery stains and slight wilting, and the index of chilling injury reached 0.60. Under low temperature, exogenous EBR treatment increased the activities of superoxide dismutase, peroxidase and catalase, effectively removed the excessive accumulated ROS, significantly reduced the production rate of superoxide anion and the content of hydrogen peroxide, alleviated the oxidation reaction between ROS and unsaturated fatty acids in membrane lipids, and increased the relative content of unsaturated fatty acids in pitaya seedlings. The proportion of saturated fatty acids decreased significantly, UFA/SFA and DBI increased significantly, EBR maintained the stability of cell membrane, reduced REC and the content of membrane lipid peroxidation products MDA, greatly reduced watery stains of plants, and the index of chilling injury was reduced to 0.25. It is because EBR can activate the antioxidant enzyme system and effectively remove a large number of accumulated ROS under stress, leading to reduce the double-bond fracture of unsaturated fatty acids in membrane lipids, alleviate the degree of membrane lipid peroxidation, maintain the stability and function of membrane membrane. In conclusion, under low temperature stress, exogenous EBR can effectively improve the cold tolerance of pitaya seedlings. Its mechanism is by increasing the activity of antioxidant enzymes in pitaya seedlings, remove excess accumulated ROS, and significantly increase the unsaturation of cell membrane fatty acids, so as to reduce the degree of membrane lipid peroxidation and electrolyte leakage, maintain the stability and function of cell membranes.

Keywords: pitaya; low temperature stress; 2,4-epibrassinolide; antioxidant system; fatty acid unsaturation

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.01.011

火龙果 (*Hylocereus undatus*) 原产于墨西哥南部及中美洲太平洋沿岸地区, 为仙人掌科量天尺属的多年生肉质藤蔓型果树^[1], 其果实含有一般植物少有的植物白蛋白、花青苷以及丰富的矿物质、糖类、水溶性膳食纤维等, 具有独特的风味和极高的营养价值^[2]。近年来, 火龙果栽培面积在我国海南、广东、福建、广西、贵州、云南、四川等地迅速扩大^[3]。作为热带、亚热带果树, 火龙果最适生长温度为 25~35℃, 低于 5℃时可能会对其造成寒害, 而广西、云南、贵州、四川等地冬季的极端低温天气, 温度多在 0~5℃之间, 易对火龙果植株造成低温伤害^[3-4]。

细胞膜作为植物细胞与外界环境进行物质和能量交换的界面, 最先感知低温, 也是低温伤害的原发部位^[5-6]。常温下细胞膜为液晶相, 而当低温胁迫达到一定程度时, 细胞膜发生膜脂相变, 由液晶相转为凝胶相, 失去流动性, 此时的温度为膜相变温度^[7]。脂肪酸作为细胞膜磷脂双分子层的必要组分, 其不饱和程度增加, 膜相变温度随之降低, 细胞膜流动性增强, 低温下细胞膜的完整性及其生物学功能更易维持^[8-9]。而当细胞膜脂肪酸不饱和度较低时, 膜相变温度随之升高, 低温下细胞膜的生理功能受阻, 膜透性增大, 电解质外渗, 活性氧 (ROS) 积累、丙二醛 (MDA) 含量及相对电导率 (REC) 增加, 严重时会导致植株死亡^[10-11]。因此, 脂肪酸含量及不饱和程度

与细胞稳定性和抗寒性密切相关^[6]。

2,4-表油菜素内酯 (2,4-epibrassinolide, EBR) 是一种植物内源激素, 不仅能够调节植物的生长发育^[12], 还能够增强植物对低温^[13]、干旱^[14]、盐胁迫^[15]等多种逆境的抗性。研究发现, 低温胁迫下, EBR 处理在一定程度上提高了橄榄叶片^[16]和高山离子芥悬浮细胞^[17]膜脂脂肪酸不饱和程度并明显增强细胞的稳定性和抗寒能力。另有研究发现, 低温胁迫下, 外源 EBR 可以提高黄瓜^[18]、棉花^[19]的抗氧化酶活性, 减少 ROS 和 MDA 的产生, 保护植株叶绿素与光合机制, 从而缓解低温对植株造成的伤害。而外源 EBR 调控低温胁迫下火龙果耐寒性的研究较少^[20], 且 EBR 对低温下火龙果抗氧化系统与脂肪酸不饱和度之间关系的影响未见报道。本研究以口感好、营养价值高但耐寒性较弱的‘台湾 6 号’红心火龙果为试验材料, 研究外源 EBR 对低温胁迫下火龙果苗抗氧化系统和膜脂脂肪酸含量及不饱和指数、细胞膜透性的影响, 以期明确 EBR 对火龙果苗耐寒性的调控作用及机理, 探索低温胁迫下抗氧化系统与膜脂脂肪酸不饱和度的关系, 为亚热带地区火龙果抗寒栽培提供一定的参考依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

试验所采用的‘台湾 6 号’红心火龙果苗,

购自成都市双流区金桥镇粤蓉火龙果基地 (30°34'30"N, 103°55'20"E), 种植于四川农业大学成都校区 (30°42'30"N, 103°51'32"E)。选择生长良好、无病虫害的火龙果植株扦插于直径 18 cm, 高 15 cm 的花盆中, 每盆 1 株, 土壤配比为田园土: 通用型营养土=1:1, 土壤 pH 为 6.69, 有机质为 35.37 g/kg, 碱解氮含量为 143 mg/kg, 有效磷为 93 mg/kg, 速效钾为 238 mg/kg。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 试验在四川农业大学成都校区进行, 当扦插苗成活后继续培养 2 周, 选取无病虫害、长势一致的植株, 放入 GZX-180F 型光照培养箱中进行预培养 (温度为 30°C/20°C, 12 h/12 h, 培养箱光照强度为 8000 lx, 相对湿度为 50%)。3 d 后进行以下处理:

(1) CK: 常温 (30°C/20°C, 12 h/12 h) 喷施蒸馏水;

(2) CK+EBR: 常温 (30°C/20°C, 12 h/12 h) 喷施 0.5 mg/L EBR;

(3) LT: 低温 (4°C/0°C, 12 h/12 h) 喷施蒸馏水;

(4) LT+EBR: 低温 (4°C/0°C, 12 h/12 h) 喷施 0.5 mg/L EBR。

常温处理仍然放在 GZX-180F 型光照培养箱中继续培养, 低温处理的植株转移至 DRXM-358C-3 型人工气候箱 (气候箱光照强度为 8000 lx, 相对湿度为 50%), 并逐渐降温至 4°C/0°C。在处理第 0、1、2 d 对植株喷施 EBR (0.5 mg/L 为预实验中确定的最佳浓度) 和蒸馏水, 一共 3 次, 每次在 4°C 时间段喷施 (每天早上进行, 以全部茎秆湿润即可)。处理 7 d 后观察扦插苗寒害症状, 计算寒害指数。取火龙果扦插苗茎秆顶部 3 cm 测定植株超氧阴离子 (O_2^-) 产生速率、过氧化氢 (H_2O_2) 含量、REC 和 MDA 含量、抗氧化酶活性、脂肪酸组分及含量, 各处理重复 3 次, 每个重复各 5 株。

1.2.2 指标测定 (1) 寒害指数。低温胁迫 7 d 后, 参照高国丽等^[21]的方法统计植株的寒害指数 (CI)。

设火龙果苗茎秆无寒害症状为 0 级; 茎秆有 1/3 面积出现水渍状斑点、黄化、萎焉等寒害症状为 1 级 (轻度寒害); 茎秆有 1/2 面积出现寒害症状为 2 级 (中度寒害); 茎秆有 2/3 面积出现寒害症状为 3 级 (中重度寒害); 整个茎秆出现寒害症

状为 4 级 (重度寒害)。

寒害指数 $CI = (\sum \text{各寒害级数} \times \text{该级别苗数}) / (4 \times \text{总苗数})$

(2) 活性氧和细胞膜稳定性。 O_2^- 产生速率采用羟胺氧化法^[22]测定, H_2O_2 含量采用试剂盒 (南京建成生物工程研究所) 测定, MDA 含量采用硫代巴比妥酸法测定^[22], REC 采用电导率法^[23]测定。

(3) 抗氧化酶活性。超氧化物歧化酶 (SOD) 活性采用氮蓝四唑光化学还原法^[22]测定, 过氧化物酶 (POD) 活性采用愈创木酚法^[22]测定, 过氧化氢酶 (CAT) 活性采用紫外吸收法^[22]测定, 抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性采用抗坏血酸氧化法^[22]测定。

(4) 脂肪酸含量。脂肪酸含量的测定参考 ZHANG 等^[24]的方法进行。取 0.2 g 鲜样用液氮研磨后转至离心管中, 加入 1 mL 0.1 mol/L 盐酸甲醇 (含 5% 的 2, 2-二甲氧基丙烷), 同时加入 100 μ g 十七烷酸 (C17:0) 标准品作为内参。将离心管在 80°C 水浴加热 90 min, 然后冷却到室温, 依次加入 1 mL 0.9% 的 NaCl 和 1.5 mL 己烷后涡旋 20 s, 5000 g 离心 5 min, 将分层后的己烷层进行上机测试。采用安捷伦 5890A 气相色谱仪进行测定分析, 脂肪酸含量以该种脂肪酸占所测总脂肪酸含量的百分比表示。脂肪酸不饱和度 (UFA/SFA) 和双键指数 (DBI) 的计算参考董春娟等^[8]的公式:

$UFA/SFA = \text{不饱和脂肪酸相对含量} / \text{饱和脂肪酸相对含量}$

$DBI = \text{不饱和脂肪酸相对含量} \times \text{双键数} / \text{饱和脂肪酸相对含量}$

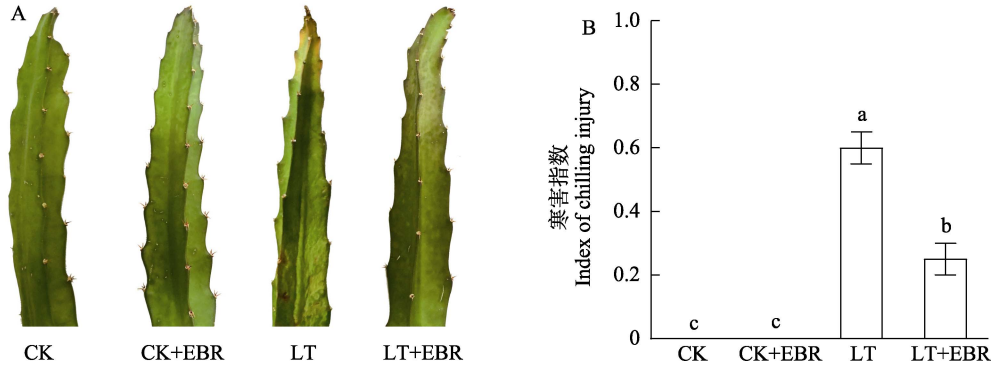
1.3 数据处理

数据采用 Excel 2003 和 SPSS 23.0 软件进行计算和统计分析, 单因素方差分析 (One-way ANOVA)、邓肯 (Duncan) 进行差异显著性 ($P < 0.05$) 检验, 利用 GraphPad Prism 8 软件绘图。图表中数据为平均值 \pm 标准差。

2 结果与分析

2.1 EBR 对低温胁迫下火龙果扦插苗植株表型与寒害指数的影响

图 1 为低温胁迫下火龙果扦插苗的植株表型与寒害指数。由图 1 可以看出, 单纯低温处理 7 d 后植株顶部出现明显黄化, 植株整体表现出萎焉的症状, 受寒害较为严重, 寒害指数达 0.60。低



A 表示 CK、CK+EBR、LT、LT+EBR 处理 7 d 的植株表型, B 为植株寒害指数。不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。A, plant phenotypes treated with CK、CK+EBR、LT、LT+EBR for 7 days. B, chilling injury index. Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

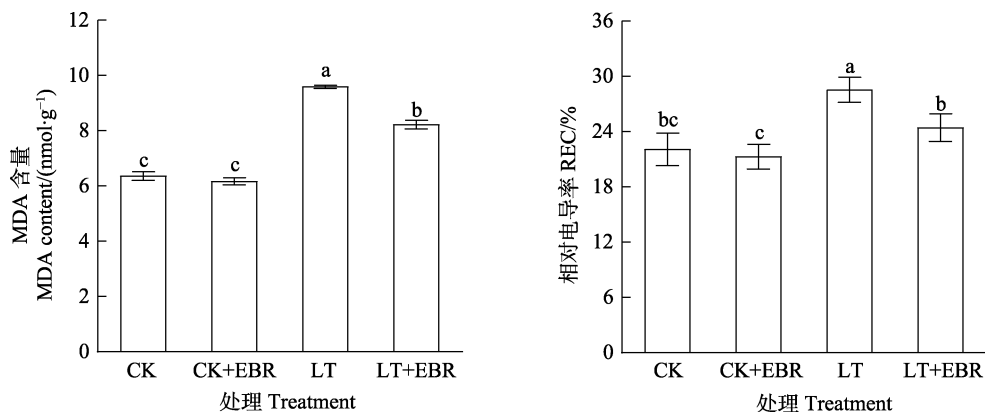
图 1 外源 EBR 对火龙果扦插苗植株表型及寒害指数的影响

Fig. 1 Effect of exogenous EBR on plant phenotypes, cold injury rate and chilling injury rate

温下喷施 EBR 可以减轻火龙果扦插苗的寒害症状, 仅植株顶部出现些许水渍状斑点以及轻微黄化, 未表现出萎焉症状, 受害较轻, 寒害指数降低了 0.35。而对照条件下喷施外源 EBR, 对火龙果植株表型及寒害指数无影响。说明低温胁迫下喷施外源 EBR 可以有效减轻火龙果扦插苗受到的低温伤害。

2.2 EBR 对低温胁迫下火龙果扦插苗细胞膜稳定性的影响

由图 2 可以看出, 常温条件下, 外源喷施 EBR 对火龙果扦插苗 MDA 含量和 REC 没有显著影响。而低温胁迫会导致火龙果扦插苗 MDA 含量和 REC 显著升高, 分别为对照的 1.5 倍和 1.3 倍。



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 2 外源 EBR 对火龙果扦插苗 MDA 含量和 REC 的影响

Fig. 2 Effect of exogenous EBR on MDA content and REC in pitaya cutting seedlings

2.4 EBR 对低温胁迫下火龙果扦插苗抗氧化酶活性的影响

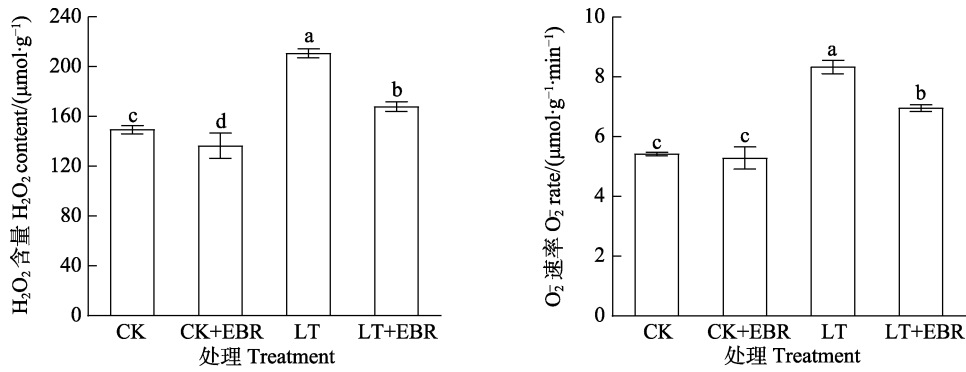
从图 4 可以看出, 低温胁迫使 SOD、POD、

低温胁迫下, 外源喷施 EBR 的植株 MDA 含量和 REC 显著降低, 分别比单纯低温处理降低了 14.3% 和 14.4%。

2.3 EBR 对低温胁迫下火龙果扦插苗 O_2^- 产生速率、 H_2O_2 含量的影响

如图 3 所示, 与对照相比, EBR 处理降低了火龙果扦插苗的 H_2O_2 含量, 对 O_2^- 产生速率没有显著影响, 说明常温下喷施 0.5 mg/L 的 EBR 对火龙果扦插苗不会产生胁迫效应。低温胁迫下, 火龙果扦插苗 O_2^- 产生速率和 H_2O_2 含量显著升高, 分别为常温对照的 1.5 倍和 1.4 倍; 而低温下外源喷施 EBR 可以显著降低 O_2^- 产生速率和 H_2O_2 含量, 且相比于单纯低温处理分别降低了 16.6% 和 20.3%。

CAT 活性显著增强, 与常温对照相比分别增加了 16.7%、73.3% 和 38.0%, 对 APX 活性没有显著影响。而低温下外源喷施 EBR 使 SOD、POD、CAT

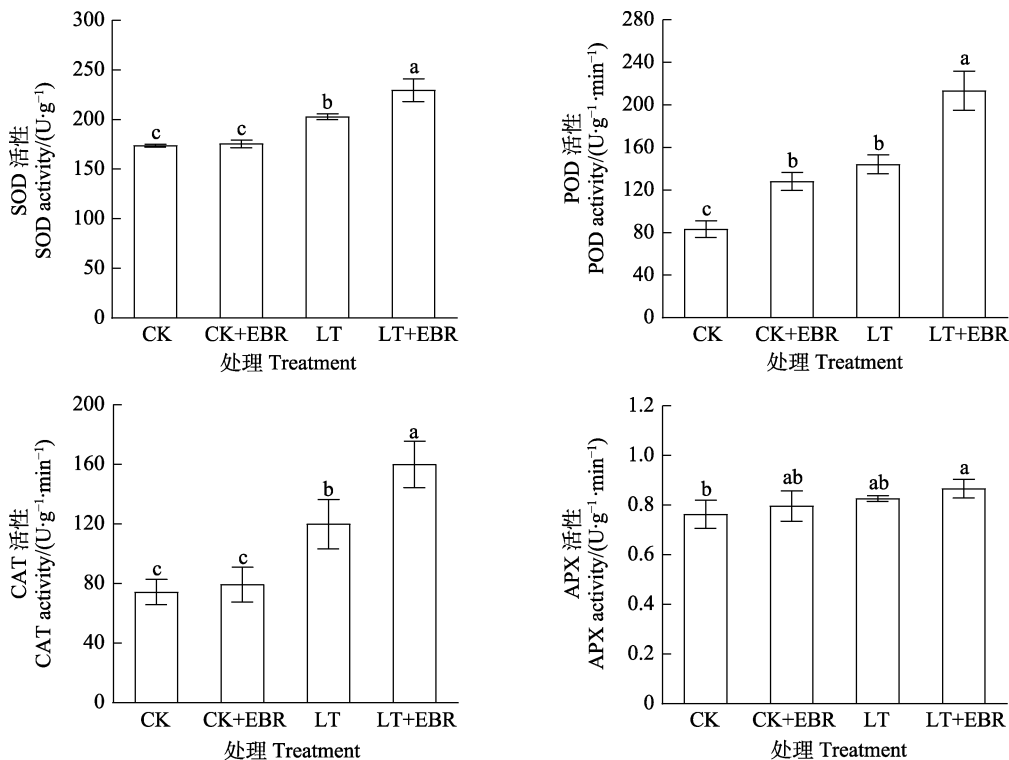


不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 3 外源 EBR 对火龙果扦插苗 O₂⁻ 产生速率和 H₂O₂ 含量的影响

Fig. 3 Effect of exogenous EBR on O₂⁻ production rate and H₂O₂ content in pitaya cutting seedlings



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 4 外源 EBR 对火龙果扦插苗抗氧化酶活性的影响

Fig. 4 Effect of exogenous EBR on antioxidant enzymes activity in pitaya cutting seedlings

活性进一步增强,与单纯低温处理相比分别升高了 13.2%、48.0%和 33.3%,对 APX 活性无显著影响。对照条件下外源喷施 EBR 使火龙果扦插苗 POD 活性增加,对 SOD、CAT 和 APX 活性均无显著影响。

2.5 EBR 对低温胁迫下火龙果扦插苗总脂肪酸含量的影响

如表 1 所示,常温条件下外源喷施 EBR 对火龙果扦插苗总脂肪酸含量没有显著影响。低温使

火龙果苗总脂肪酸含量显著升高;而低温胁迫下,外源喷施 EBR 对火龙果扦插苗的总脂肪酸含量无显著影响。

2.6 EBR 对低温胁迫下火龙果扦插苗脂肪酸组分的影响

由表 2 可以看出,在火龙果扦插苗中共检测到 10 种脂肪酸组分。常温条件下喷施外源 EBR 处理后,饱和脂肪酸组分 C22:0 相对含量升高为对照的 1.3 倍, C16:0 相对含量比对照降低了

表 1 外源 EBR 对火龙果扦插苗总脂肪酸含量、脂肪酸不饱和度 (UFA/SFA) 和双键指数 (DBI) 的影响
Tab. 1 Effect of exogenous EBR on total fatty acid content, fatty acid unsaturation (UFA/SFA) and double bond index (DBI) in pitaya cutting seedlings

处理 Treatment	总脂肪酸含量 Total fatty acid content	脂肪酸不饱和度 UFA/SFA	双键指数 DBI
CK	38.51±1.16 ^b	0.53±0.05 ^a	1.05±0.12 ^a
CK+EBR	37.42±1.08 ^b	0.56±0.03 ^a	1.08±0.15 ^a
LT	43.79±1.88 ^a	0.36±0.02 ^c	0.71±0.04 ^c
LT+EBR	45.24±2.44 ^a	0.42±0.03 ^b	0.83±0.06 ^b

注: 同列不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

Note: Different letters in the same column mean significant difference ($P<0.05$).

表 2 外源 EBR 对火龙果扦插苗脂肪酸组分的影响
Tab. 2 Effect of exogenous EBR on fatty acid compositions in pitaya cutting seedlings

处理 Treatment	C12:0	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0
CK	0.44±0.03 ^b	2.67±0.12 ^a	32.84±0.48 ^b	1.87±0.11 ^b	28.36±0.54 ^b
CK+EBR	0.41±0.04 ^b	2.55±0.05 ^a	30.77±0.35 ^c	2.36±0.21 ^a	29.27±0.36 ^b
LT	0.58±0.06 ^a	2.56±0.09 ^a	35.55±0.87 ^a	1.36±0.05 ^c	34.25±0.89 ^a
LT+EBR	0.61±0.08 ^a	2.36±0.11 ^b	32.01±0.64 ^b	1.84±0.07 ^b	34.49±1.22 ^a
处理 Treatment	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C22:0
CK	9.96±0.35 ^a	12.38±0.56 ^a	10.58±0.73 ^a	0.43±0.05 ^a	0.47±0.04 ^b
CK+EBR	10.49±0.47 ^a	12.89±1.57 ^a	10.26±0.46 ^a	0.41±0.04 ^a	0.59±0.06 ^a
LT	8.43±0.52 ^b	6.47±0.69 ^c	9.97±0.52 ^a	0.28±0.02 ^b	0.55±0.07 ^{ab}
LT+EBR	8.71±0.39 ^b	8.93±1.08 ^b	9.98±0.71 ^a	0.41±0.06 ^a	0.66±0.09 ^a

注: 同列不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

Note: Different letters in the same column mean significant difference ($P<0.05$).

6.3%, 不饱和脂肪酸 C16:1 相对含量比对照升高了 26.2%, 其余脂肪酸组分未发生显著变化。低温处理使饱和脂肪酸 C12:0、C16:0 和 C18:0 的相对含量显著增加, 分别为常温对照的 1.3、1.1 和 1.2 倍, 而 C20:0 相对含量相比与常温对照降低了 34.9%; 低温胁迫下, 不饱和脂肪酸 C16:1、C18:1、C18:2 的相对含量均显著降低, 相比于常温对照分别降低了 27.2%、15.3% 和 47.7%, 其余脂肪酸组分无显著差异。与单纯低温处理相比, 低温下喷施 EBR 使饱和脂肪酸 C14:0、C16:0 相对含量显著降低, 分别降低了 7.8% 和 10.0%; 不饱和脂肪酸 C16:1、C18:2 相对含量显著升高, 分别升高了 35.3% 和 38.0%。低温下喷施 EBR 处理已使 C16:1 恢复至常温对照水平, 但 C18:2 与常温对照相比仍存在显著差异。

2.7 EBR 对低温胁迫下火龙果扦插苗 UFA/SFA 和 DBI 的影响

如表 1 所示, 低温导致火龙果扦插苗 UFA/SFA 和 DBI 显著降低, 分别降低了 32.1% 和 32.4%。与单纯低温处理相比, 低温下外源喷施 EBR 使火龙果扦插苗 UFA/SFA 和 DBI 显著升高,

分别增加了 16.7% 和 16.9%, 但仍低于常温对照。常温下外源喷施 EBR 对火龙果扦插苗 UFA/SFA 和 DBI 均未产生显著影响。

3 讨论

低温作为一种常见的非生物胁迫, 是影响火龙果生长发育和地域分布的主要环境因子之一。低温条件下, 植物细胞膜透性增大, 电解质外渗, REC 升高; 同时, 膜脂过氧化作用加剧, 而膜脂过氧化的最终产物是 MDA。因此 REC 和 MDA 可以在一定程度上反映植物的受损程度^[5-6]。本研究中, 通过人工模拟成都冬季的低温 4/0°C (12 h/12 h) 7 d 后, 火龙果扦插苗的 MDA 含量和 REC 显著升高, 说明低温胁迫打破了火龙果扦插苗细胞膜系统的稳定性, 导致火龙果受到低温伤害, 出现黄化与萎焉的症状, 寒害指数达 0.60, 这与苹果^[25]和苜蓿^[11]上的研究结果一致。EBR 是广泛存在于植物中的甾醇类植物激素, 可促进植物蛋白质的合成、提高酶活性, 增强植物对环境胁迫的抵抗力^[26]。研究发现, 低温胁迫下外源 EBR 可显著降低棉花^[19]、披碱草^[27]的 MDA 含量和 REC,

减轻膜脂过氧化作用。与前人研究结果一致，本研究中，外源 EBR 处理显著降低了火龙果扦插苗的 MDA 含量和 REC，减轻了细胞膜受到的膜脂过氧化伤害，植株仅出现部分水渍状斑点与轻微黄化，并未表现出萎焉的症状，寒害指数降低至 0.25。表明 EBR 可以有效缓解低温对火龙果扦插苗造成的伤害，提高其耐寒性。

低温会破坏植物细胞 ROS 平衡，导致 ROS 过量积累，高浓度的 ROS 具有很强的氧化能力，使细胞膜上不饱和脂肪酸发生氧化反应，进而影响细胞膜系统的稳定性，此时植物会启动 SOD、POD、CAT、APX 等抗氧化酶，清除过量的 ROS，缓解低温伤害^[28]。本研究中，低温胁迫诱导火龙果扦插苗 SOD、POD、CAT 活性增强，表明植物体启动了抗氧化系统，然而 O_2^- 、 H_2O_2 含量仍显著增加，说明低温胁迫下抗氧化酶活性的增强并不能有效清除过量积累的 ROS，使膜脂过氧化加剧，细胞膜上不饱和脂肪酸双键断裂^[8]，细胞膜稳定性遭到破坏，植株受到了低温损伤。这与苜蓿^[11]和甜瓜^[29]上的研究结果一致。低温下喷施外源 EBR 后，火龙果扦插苗的 SOD、POD 和 CAT 活性进一步增强， O_2^- 、 H_2O_2 含量显著降低。这可能是因为 EBR 在逆境下可以增强防御基因如 *POD*、*CAT* 等的表达，或调节特定基因的转录与翻译进一步激活抗氧化酶系统^[30]，从而诱导火龙果苗的抗氧化酶活性增加，有效清除了大量积累的 ROS，并因此减少了膜脂中不饱和脂肪酸双键断裂，使得膜脂过氧化程度有所缓解，细胞膜稳定性及其功能得以维持^[31]，减轻了低温伤害，火龙果的耐寒性得到提高。类似的研究结果在葡萄^[26]和黄瓜^[18]中也得到证实。

低温胁迫下植物细胞膜脂脂肪酸不饱和程度决定了膜脂的相变温度，对于膜稳定性和流动性至关重要，也是提高植物耐寒性的关键^[5, 32]。董春娟等^[8]和曹宁等^[9]在冷敏感植物黄瓜的研究中发现，低温胁迫显著降低了黄瓜幼苗的 UFA/SFA 和 DBI，影响了细胞膜稳定性，使植株遭受了寒害。与前人的研究结果一致，本研究中，低温下火龙果苗不饱和脂肪酸 C16:1（棕榈油酸）、C18:1（油酸）、C18:2（亚油酸）相对含量显著降低，饱和脂肪酸 C12:0（月桂酸）、C16:0（棕榈酸）和 C18:0（硬脂酸）含量显著增加，UFA/SFA 和 DBI 显著降低，这是由于低温下火龙果苗体内过量积累的 ROS 攻击了膜系统，使膜脂脂肪酸中的不饱和键

被过氧化，导致膜脂流动性降低^[33]，并形成了脂氢过氧化物^[8]，最终转化为 MDA，对植株造成了伤害。而在抗寒性强的冬油菜^[34]研究中则发现，低温胁迫在一定程度上提高了不饱和脂肪酸的比例和脂肪酸不饱和指数（IUFA），增强了细胞膜的稳定性，这可能是由于物种不同、对低温的耐受性不同所致。低温下喷施 EBR 显著提高了火龙果苗不饱和脂肪酸 C16:1、C18:2 的相对含量，降低了饱和脂肪酸 C14:0（肉豆蔻酸）、C16:0 相对含量，UFA/SFA 和 DBI 显著提高，这可以归因于 2 个方面。其一，EBR 显著提高了火龙果苗抗氧化酶活性，清除了过量积累的活性氧，使膜脂中炔碳-碳不饱和键的数量显著增加，从而提高了脂肪酸不饱和度，有效缓解了 ROS 引起的膜脂过氧化作用，增强了细胞膜的流动性^[35]。其二，低温下 EBR 维持了脂肪酸去饱和酶活性、刺激了编码脂肪酸代谢相关酶的基因表达，或直接改善膜脂的物理状态^[17, 36]，从而增加了脂肪酸不饱和度。类似的研究结果在橄榄叶片^[16]和高山离子芥悬浮细胞^[17]中也得到证实。表明 EBR 可以通过提高脂肪酸不饱和度，保持低温下细胞膜稳定性及流动性，提高火龙果的抗寒能力。

4 结论

(1) 低温胁迫下火龙果苗的 O_2^- 和 H_2O_2 大量积累，使细胞膜上不饱和脂肪酸发生氧化反应，降低了脂肪酸不饱和度，破坏了细胞膜系统的稳定性，导致电解质外渗，火龙果苗受到寒害，出现大量水渍状斑点。

(2) 外源 EBR 可以增加火龙果苗的抗氧化酶活性，清除过量积累的 ROS，提高细胞膜上不饱和脂肪酸相对含量以及脂肪酸不饱和指数，维持细胞膜的稳定性，减轻膜脂过氧化程度，从而增强火龙果苗的耐寒性。

参考文献

- [1] 武志江, 梁桂东, 廖以金, 黄黎芳, 黄凤珠, 陆贵锋, 陈东奎, 邓海燕. 碳离子束辐照对火龙果种子萌发、存活率及幼苗生长的影响[J]. 热带作物学报, 2020, 41(7): 1402-1407.
WU Z J, LIANG G D, LIAO Y J, HUANG L F, HUANG F Z, LU G F, CHEN D K, DENG H Y. Effect of carbon ion beams irradiation on seed germination, survival and seedling growth of *Hylocereus polyrhizus*[J]. Chinese Journal of

- Tropical Crops, 2020, 41(7): 1402-1407. (in Chinese)
- [2] 张琴, 周丹丹, 韩璐, 龙家美, 屠康. 鲜切火龙果低温贮藏期间游离态和结合态香气物质的变化[J]. 食品科学, 2021, 42(14): 144-150.
ZHANG Q, ZHOU D D, HAN L, LONG J M, TU K. Changes of free and bound volatiles in fresh-cut pitaya during cold storage[J]. Food Science, 2021, 42(14): 144-150. (in Chinese)
- [3] 邓仁菊, 范建新, 王永清, 金吉芬, 刘涛. 火龙果幼苗对低温胁迫的生理响应及其抗寒性综合评价[J]. 植物生理学报, 2014, 50(10): 1529-1534.
DENG R J, FAN J X, WANG Y Q, JIN J F, LIU T. Physiological responses of Pitaya (*Hylocereus* spp.) seedlings to chilling stress and comprehensive evaluation of their cold resistance[J]. Plant Physiology Journal, 2014, 50(10): 1529-1534. (in Chinese)
- [4] 程志号, 孙长君, 孙佩光, 郭素霞, 吴琼. 火龙果多倍体诱导体系的优化[J]. 果树学报, 2020, 37(7): 1089-1097.
CHENG Z H, SUN C J, SUN P G, GUO S X, WU Q. Optimization of polyploidy induction system in dragon fruit[J]. Journal of Fruit Science, 2020, 37(7): 1089-1097. (in Chinese)
- [5] 张翔, 杨勇, 刘学勇, 向佐湘. 外源水杨酸对低温胁迫下海滨雀稗抗寒生理特征的影响[J]. 草业学报, 2020, 29(1): 117-124.
ZHANG X, YANG Y, LIU X Y, XIANG Z X. Effect of exogenous salicylic acid on the antioxidant enzyme activities and fatty acid profiles in seashore paspalum under low temperature stress[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2020, 29(1): 117-124. (in Chinese)
- [6] 项洪涛, 郑殿峰, 何宁, 李琬, 王曼力, 王诗雅. 植物对低温胁迫的生理响应及外源脱落酸缓解胁迫效应的研究进展[J]. 草业学报, 2021, 30(1): 208-219.
XIANG H T, ZHENG D F, HE N, LI W, WANG M L, WANG S Y. Research progress on the physiological response of plants to low temperature and the amelioration effectiveness of exogenous ABA[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2021, 30(1): 208-219. (in Chinese)
- [7] 李合生. 现代植物生理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2012: 362-363.
LI H S. Modern plant physiology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2012: 362-363. (in Chinese)
- [8] 董春娟, 曹宁, 尚庆茂. 外源水杨酸对低温胁迫下黄瓜幼苗根系脂肪酸不饱和度的影响[J]. 园艺学报, 2017, 44(7): 1319-1326.
DONG C J, CAO N, SHANG Q M. Effects of salicylic acid on fatty acid compositions in the roots of cucumber seedlings under low temperature[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2017, 44(7): 1319-1326. (in Chinese)
- [9] 曹宁, 董春娟, 尚庆茂. 外源水杨酸对低温下黄瓜幼苗 *CsFAD* 的表达调控[J]. 园艺学报, 2016, 43(10): 1941-1952.
CAO N, DONG C J, SHANG Q M. Effects of exogenous salicylic acid on the expression of *CsFAD* genes in cucumber seedlings under low temperature[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2016, 43(10): 1941-1952. (in Chinese)
- [10] LI S M, YANG Y, ZHANG Q, LIU N F, XU Q G, HU L X. Differential physiological and metabolic response to low temperature in two zoysiagrass genotypes native to high and low latitude[J]. PLoS One, 2018, 13(6): e0198885.
- [11] 赵一航, 孟令东, 张晓萌, 王丽娜, 刘皓玥, 毕琳琳, 刘宏亮, 殷秀杰. 4 个紫花苜蓿品种对低温胁迫的生理响应及抗寒性评价[J]. 草业科学, 2021, 38(4): 683-692.
ZHAO Y H, MENG L D, ZHANG X M, WANG L N, LIU H Y, BI L L, LIU H L, YIN X J. Evaluation of physiological response and cold resistance of four alfalfa cultivars to low temperature stress[J]. Pratacultural Science, 2021, 38(4): 683-692. (in Chinese)
- [12] AVALBAEV A, YULDASHEV R, FEDOROVA K, PETROVA N, SHAKIROVA F. 24-epibrassinolide-induced growth promotion of wheat seedlings is associated with changes in the proteome and tyrosine phosphoproteome[J]. Plant Biology, 2021, 23(3): 456-463.
- [13] DOU L, SUN Y, LI S, GE C, PANG C. Transcriptomic analyses show that 24-epibrassinolide (EBR) promotes cold tolerance in cotton seedlings[J]. PLoS One, 2021, 16(2): e0245070.
- [14] ZAFARI M, EBADI A, JAHANBAKHS S, SEDGHI M. Safflower (*Carthamus tinctorius*) biochemical properties, yield, and oil content affected by 24-Epibrassinosteroid and genotype under drought stress[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(22): 6040-6047.
- [15] ALAM P, ALBALAWI T H, ALTALAYAN F H, BAKHT M A, AHANGER M A, RAJA V, ASHRAF M, AHMAD P. 24-epibrassinolide (EBR) confers tolerance against NaCl stress in soybean plants by up-regulating antioxidant system, ascorbate-glutathione cycle, and glyoxalase system[J]. Biomolecules, 2019, 9(11): 640.
- [16] SAFOORA S, BAHRAM B, MOSTAFA M, MAHDIYEH G. Enhancement of freezing tolerance of olive leaves by foliar application of methyl jasmonate and 24-epibrassinolide through changes in some metabolites and antioxidant activity[J]. Scientia Horticulturae, 2021(284): 110127.
- [17] 刘亚洁, 安黎哲. 低温胁迫下油菜素内酯对高山离子芥悬浮细胞膜系统的影响[J]. 四川大学学报(自然科学版), 2020, 57(4): 797-803.
LIU Y J, AN L Z. Effect of brassinosteroids on the membrane system of *Chorispora bungeana* suspension-cultured

- cells under chilling stress[J]. Journal of Sichuan University (Natural Science Edition), 2020, 57(4): 797-803. (in Chinese)
- [18] ANWAR A, BAI L, MIAO L, LIU Y, LI S, YU X, LI Y. 24-epibrassinolide ameliorates endogenous hormone levels to enhance low temperature stress tolerance in cucumber seedlings[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(9): 2497.
- [19] 李淑叶, 马慧娟, 张思平, 刘绍东, 沈倩, 陈静, 葛常伟, 庞朝友, 赵新华. 外源 24-表油菜素内酯对低温胁迫下棉花幼苗光合生理的影响[J]. 棉花学报, 2018, 30(3): 252-260.
LI S Y, MA H J, ZHANG S P, LIU S D, SHEN Q, CHEN J, GE C W, PANG C Y, ZHAO X H. Effects of exogenous 24-epibrassinolide on photosynthetic physiology of cotton seedlings under low temperature[J]. Cotton Science, 2018, 30(3): 252-260. (in Chinese)
- [20] WANG T, LUO Q, WU L, ZHANG J, LUO X. Effects of exogenous 2,4-epibrassinolide on cold resistance of pitaya branch[C]. Advances in Energy Science and Environment Engineering III: Proceedings of the 3rd International Workshop on Advances in Energy Science and Environment Engineering, 2019: 29-31.
- [21] 高国丽, 张冰雪, 乔光, 刘涛, 彭志军, 王彬, 蔡永强, 文晓鹏. 火龙果种质资源的耐寒性综合评价[J]. 华中农业大学学报, 2014, 33(3): 26-32.
GAO G L, ZHANG B X, QIAO G, LIU T, PENG Z J, WANG B, CAI Y Q, WEN X P. Comprehensively evaluating the cold tolerance of pitaya germplasms[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2014, 33(3): 26-32. (in Chinese)
- [22] 刘萍, 李明军. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 科学技术出版社, 2007: 119-165.
LIU P, LI M J. Experimental techniques in plant physiology[M]. Beijing: Science and Technology Press, 2007: 119-165. (in Chinese)
- [23] 熊庆娥. 植物生理学实验教程[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2005: 122-128.
XIONG Q E. Experimental course in plant physiology[M]. Chengdu: Sichuan Science and Technology Press, 2005: 122-128. (in Chinese)
- [24] ZHANG J, KENWORTHY K, UNRUH J B, ERICKSON J, MACDONALD G. Changes of leaf membrane fatty acid composition and saturation level of warm-season turfgrass during drought stress[J]. Crop Science, 2017, 57(5): 2843-2851.
- [25] 张旭, 朱珍珍, 孙鲁龙, 李凤龙, 韦德闯, 朱佳顺, 樊良栋, 赵政阳. 陇东地区不同矮化中间砧对‘长富 2 号’苹果抗寒性的影响[J]. 果树学报, 2020, 37(7): 985-996.
ZHANG X, ZHU Z Z, SUN L L, LI F L, WEI D C, ZHU J S, FAN L D, ZHAO Z Y. Effects of different dwarfing interstocks on cold resistance of ‘Changfu 2’ apple in Longdong area[J]. Journal of Fruit Science, 2020, 37(7): 985-996. (in Chinese)
- [26] 惠竹梅, 王智真, 胡勇, 邓敏敏, 张振文. 24-表油菜素内酯对低温胁迫下葡萄幼苗抗氧化系统及渗透调节物质的影响[J]. 中国农业科学, 2013, 46(5): 1005-1013.
XI Z M, WANG Z Z, HU Y, DENG M M, ZHANG Z W. Effects of 24-epibrassinolide on the antioxidant system and osmotic adjustment substance in grape seedlings (*V. vinifera* L.) under chilling stress[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2013, 46(5): 1005-1013. (in Chinese)
- [27] 普布卓玛, 罗艺岚, 高金柱, 孙鹏越, 赵东豪, 苗彦军, 付娟娟, 呼天明. 2,4-表油菜素内酯对低温胁迫下西藏野生垂穗披碱草幼苗抗氧化保护和渗透调节的影响[J]. 草地学报, 2019, 27(3): 547-552.
PUBU Z M, LUO Y L, GAO J Z, SUN P Y, ZHAO D H, MIAO Y J, FU J J, HU T M. Effect of 2,4-epibrassinolide on antioxidant defense and osmotic adjustment of *Elymus nutans* under low temperature stress[J]. Acta Agrestia Sinica, 2019, 27(3): 547-552. (in Chinese)
- [28] 余明龙, 郑殿峰, 冯乃杰, 赵晶晶, 王新欣, 单莹. 烯效唑对低温胁迫下绿豆初花期碳代谢、抗氧化系统及产量的影响[J]. 植物生理学报, 2021, 57(9): 1808-1818.
YU M L, ZHENG D F, FENG N J, ZHAO J J, WANG X X, SHAN Y. Effect of uniconazole on carbon metabolism, antioxidant system and yield of mung bean at initial flowering stage under low temperature stress[J]. Plant Physiology Journal, 2021, 57(9): 1808-1818. (in Chinese)
- [29] 刁倩楠, 蒋雪君, 陈幼源, 张永平. 外源水杨酸预处理对低温胁迫下甜瓜幼苗生长及其抗逆生理特性的影响[J]. 西北植物学报, 2018, 38(11): 2072-2080.
DIAO Q N, JIANG X J, CHEN Y Y, ZHANG Y P. Effects of exogenous salicylic acid pretreatment on growth and resistance physiological indexes in melon seedling under chilling stress[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2018, 38(11): 2072-2080. (in Chinese)
- [30] 彭小琴, 惠竹梅, 张晖, 高江曼. 24-表油菜素内酯对农药处理下葡萄叶片光合特性和抗逆性的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2015, 33(3): 130-138.
PENG X Q, XI Z M, ZHANG H, GAO J M. Effects of 24-epibrassinolide on photosynthetic characteristics and resistance system in grape leaves after pesticide treatment[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2015, 33(3): 130-138. (in Chinese)
- [31] 彭燕, 李州. 干旱预处理对抗旱性不同的 2 个草地早熟禾

- 品种耐热性能的影响[J]. 草业学报, 2013, 22(5): 229-238.
- PENG Y, LI Z. Effects of drought preconditioning on physiological responses to heat stress in two Kentucky bluegrasses[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2013, 22(5): 229-238. (in Chinese)
- [32] 李双铭, 徐庆国, 杨勇, 刘雪勇, 罗建章, 向佐湘, 胡龙兴. 低温胁迫对结缕草抗氧化酶活性和脂肪酸含量的影响[J]. 草地学报, 2019, 27(4): 906-912.
- LI S M, XU Q G, YANG Y, LIU X Y, LUO J Z, XIANG Z X, HU L X. Effects of low temperature stress on the antioxidant enzyme activities and fatty acid contents in Zoysia-grass[J]. Acta Agrestia Sinica, 2019, 27(4): 906-912. (in Chinese)
- [33] 路丙社, 白志英, 李会平, 崔建州, 董源. 水分胁迫对阿月浑子幼苗叶片膜脂过氧化和膜磷脂脱酯化反应的影响[J]. 果树学报, 2004(1): 33-36.
- LU B S, BAI Z Y, LI H P, CUI J Z, DONG Y. Effects of soil drought on lipid peroxidation and deesterification of phosphatide in leaf cells of Pistachio seedlings[J]. Journal of Fruit Science, 2004(1): 33-36. (in Chinese)
- [34] 方彦, 孙万仓, 武军艳, 刘自刚, 董云, 米超, 马骊, 陈奇, 何辉立. 北方白菜型冬油菜的膜脂脂肪酸组分和 ATPase 活性对温度的响应[J]. 作物学报, 2018, 44(1): 95-104.
- FANG Y, SUN W C, WU J Y, LIU Z G, DONG Y, MI C, MA L, CHEN Q, HE H L. Response of membrane fatty acid composition and ATPase activity in *Brassica rapa* L. to temperature in north China[J]. Acta Agronomica Sinica, 2018, 44(1): 95-104. (in Chinese)
- [35] 夏新莉, 郑彩霞, 尹伟伦. 土壤干旱胁迫对樟子松针叶膜脂过氧化、膜脂成分和乙烯释放的影响[J]. 林业科学, 2000(3): 8-12.
- XIA X L, ZHENG C X, YIN W L. Effect of drought stress on the peroxidation of membrane lipids, the composition of membrane fatty acids and ethylene evolution of needles of *Pinus Sylvestris* Var. *Mongolica* Litv.[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2000(3): 8-12. (in Chinese)
- [36] LIU Y J, JIANG, H F, ZHAO Z G, AN L Z. Abscisic acid is involved in brassinosteroids-induced chilling tolerance in the suspension cultured cells from *Chorispora bungeana*[J]. Journal of Plant Physiology, 2011, 168(9): 853-862.