

夜间低温对樱桃番茄叶片氧化活性的影响

张晓旭¹, 叶景学², 侯杰¹, 王凯¹, 孙雨晴¹, 张广臣^{1*}

(1. 吉林农业大学园艺学院, 长春 130118; 2. 中国医学科学院/北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193)

摘要:以樱桃番茄“魔鬼”为试材, 利用人工气候箱模拟设施栽培中的夜间低温条件, 以 15℃ 夜温为对照, 研究 5℃、8℃、11℃ 夜间温度对番茄叶片活性氧代谢、抗氧化酶活性、丙二醛和可溶性蛋白的影响。实验结果显示: 夜间低温胁迫可以诱导樱桃番茄超氧阴离子产生速率、过氧化氢、丙二醛和可溶性蛋白含量上升; SOD、CAT 活性在夜间低温胁迫下呈现先上升后下降的趋势, 其中 SOD 活性始终高于对照, 但 CAT 活性在处理后期低于对照水平; POD 活性则随处理时间的延长和温度的降低呈上升趋势, 且始终高于对照。

关键词: 樱桃番茄; 夜间低温; 活性氧代谢; SOD; POD; CAT

中图分类号: S641.2

文献标识码: A

文章编号: 1003-8701(2017)02-0039-05

Effect of Low Nocturnal Temperature on Active Oxygen Metabolism of Cherry Tomato Leaves

ZHANG Xiaoxu¹, YE Jingxue², HOU Jie¹, WANG Kai¹, SUN Yuqing¹, ZHANG Guangchen^{1*}

(1. College of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun 130118; 2. Institute of Medicinal Plants, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: With cherry tomato ‘Devil’ as the test material, effect of low nocturnal temperature at 5°C, 8°C and 11°C simulated by climate chambers on the active oxygen metabolism, antioxidant enzyme activity, malondialdehyde (MDA) and soluble protein of tomato leaves were studied, taking nocturnal temperature 15°C as the control. The results showed that low nocturnal temperature treatment increased O₂⁻ production rate, H₂O₂, malondialdehyde (MDA) contents and soluble protein contents. The activity of SOD and CAT showed a tendency to rise first and then decrease under nocturnal low temperature stress. The activity of SOD was higher than that of the control, but CAT activity was lower than the control at the later stage of treatment. The POD activity increased with the prolongation of treatment time and temperature.

Key words: Cherry tomato; Low nocturnal temperature; Active oxygen metabolism; SOD; POD; CAT

樱桃番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.), 学名圣女果, 又名小番茄, 属茄科番茄属的一个变种, 为一年生草本喜光、喜温植物, 是园艺设施生产栽培的主要作物^[1]。在我国北方设施蔬菜栽培的过程中, 温度对蔬菜作物的生长发育有着非常重要的影响, 尤其是在早春和秋冬季节。低温影响植物的生长发育、生理特性和光合特性等^[2]。而樱桃番茄是喜温植物, 所以低温环境是制约设施樱桃番茄高产优质的主要障碍因素之一^[3]。

在早春、冬季设施生产中, 光照弱或黑暗条件下极易引起低温现象, 造成低温胁迫。研究表明低温胁迫下, 植物冷害发生的过程与抗氧化酶活性变化密切偶联^[4-6]; 烤烟幼苗受到低温胁迫后, 叶绿素含量、光合能力显著下降, 脯氨酸含量, 丙二醛含量上升, 超氧化物歧化酶活性、过氧化氢酶活性、抗坏血酸含量和谷胱甘肽含量显著上升, 并且会引起昼间的光抑制现象^[7-8]。目前关于樱桃番茄叶片氧化活性代谢对夜间低温的响应机制尚不清楚。因此本研究以樱桃番茄为试材, 研究夜间低温对樱桃番茄叶片活性氧代谢的影响, 为研究樱桃番茄抗低温胁迫响应机制提供理论参考。

1 材料与与方法

1.1 试验材料

收稿日期: 2017-01-18

基金项目: 吉林省科技发展计划项目(20140204053NY); 长春市科技计划项目(2014187)

作者简介: 张晓旭(1989-), 女, 在读硕士, 主要从事蔬菜遗传育种与栽培生理研究。

通讯作者: 张广臣, 男, 教授, 硕士生导师, E-mail: gczh2005@126.com

本试验在吉林农业大学园艺学院蔬菜管理基地日光温室内进行,供试番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill.)品种为樱桃番茄“魔鬼”,于2015年3月1日播种,待幼苗长至两叶一心分苗至塑料营养钵(10 cm×10 cm)中,按照实际生产进行栽培管理,保证试验期间水分和养分在适宜水平。待番茄幼苗长至六叶一心时,取长势一致的幼苗,移入人工气候培养箱,进行不同的夜间低温处理。分别进行夜间15℃(对照)、11℃、8℃、5℃处理15 d,昼温为25℃。处理过程中,光照强度为 $600\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,CO₂浓度昼间为 $(700\pm 50)\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$,夜间为 $(300\pm 50)\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$;昼夜湿度均为60%。

1.2 测定项目及方法

每一温度条件下处理20株,在处理的第0、5、10、15天选取第5片功能叶进行取样测定各项指标。单株取样,3次重复。

酶液提取参照文献[9];蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝法^[10];MDA含量测定采用硫代巴比妥酸法^[11];O₂⁻产生速率测定采用羟胺氧化法^[12];H₂O₂含量的测定参照文献[13];超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性的测定参照文献[11];过氧化氢酶(CAT)活性的测定参照文献[14]。

2 结果与分析

2.1 夜间低温胁迫对樱桃番茄叶片MDA和可溶性蛋白含量的影响

丙二醛是膜脂过氧化的产物,常被用于指示氧化胁迫下膜脂过氧化的程度,对植物有毒害作用,是植物衰老的重要标志之一。由图1可以看出,5℃、8℃、11℃夜间低温处理的樱桃番茄MDA含量测定期间高于对照处理,且随着处理天数的延长,MDA含量呈逐渐增加的趋势。其中11℃夜

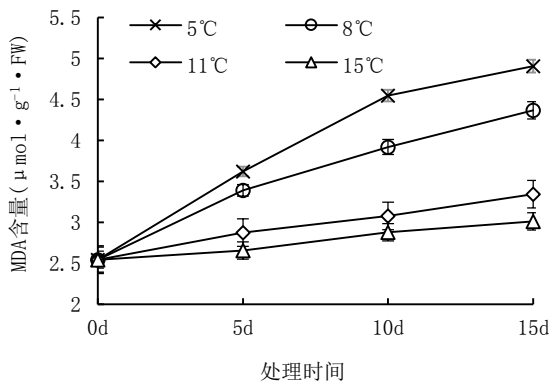


图1 夜间低温胁迫对樱桃番茄叶片MDA含量的影响

间低温胁迫下的樱桃番茄叶片MDA含量与对照差异不显著($P>0.05$),8℃夜温胁迫下处理的樱桃番茄叶片MDA含量与对照呈显著性差异($P<0.05$),而5℃夜温胁迫下叶片MDA含量极显著高于对照水平($P<0.01$)。这表明,5℃的夜间低温胁迫对樱桃番茄叶片胁迫最严重,膜质氧化损伤程度最高。

可溶性蛋白可缓解植物在逆境条件下的伤害,是植物体内的一种渗透调节物质。如图2所示,在夜间低温处理过程中,三个夜间低温处理的樱桃番茄叶片可溶性蛋白含量数值始终高于对照数值,随着处理天数的增加,可溶性蛋白含量呈现先增加后降低的趋势,且峰值出现在第5天。5℃夜温处理下的可溶性蛋白含量与对照差异显著($P<0.05$),而8℃、11℃的夜温处理与对照差异不显著($P>0.05$)。

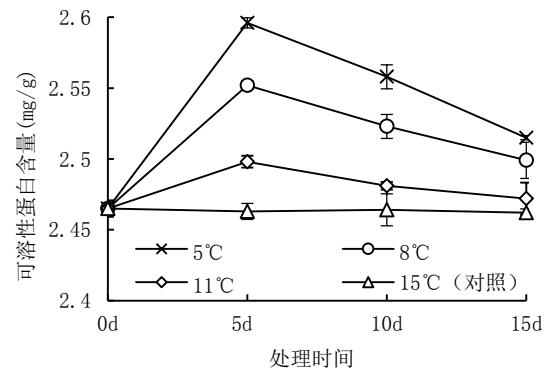


图2 夜间低温胁迫对樱桃番茄叶片可溶性蛋白含量的影响

2.2 夜间低温胁迫对樱桃番茄叶片活性氧积累的影响

2.2.1 O₂⁻产生速率

各夜温处理的樱桃番茄幼苗叶片的O₂⁻产生速率随着处理时间的延长均呈现不同幅度的上升趋势,见图3。其中,5℃、8℃夜温处理的番茄叶片

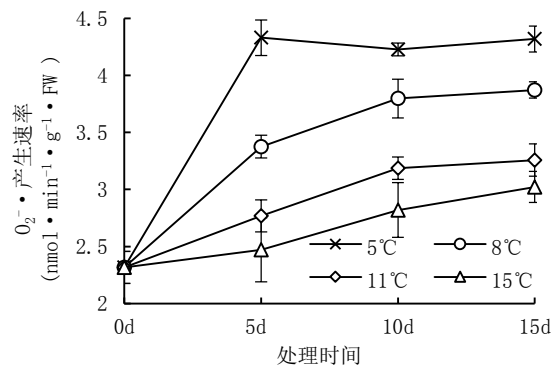


图3 夜间低温胁迫对樱桃番茄叶片O₂⁻产生速率的影响

O_2^- 产生速率分别在第5 d、10 d达到最大值,此时与对照相比分别增加75.2%、34.7%,并达到极显著差异水平($P<0.01$),但11℃夜温处理下,樱桃番茄幼苗叶片的 O_2^- 产生速率与对照差异不显著($P>0.01$)。

2.2.2 H_2O_2 积累

如图4所示,樱桃番茄叶片中 H_2O_2 含量随处理时间的延长不断增加,且在处理结束的第15天时,各处理下的樱桃番茄叶片的 H_2O_2 含量达到最大值。此时5℃、8℃处理比对照处理分别增加19.2%和6.5%,且达到极显著差异水平($P<0.01$)。而11℃夜温条件处理与对照处理差异不显著。由此可知,温度越低, H_2O_2 的积累量越大,且随着处理时间增长不断积累。

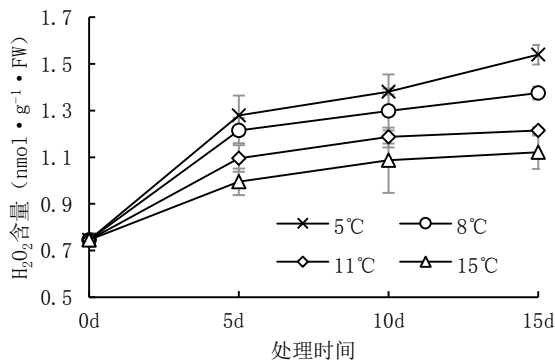


图4 夜间低温胁迫对樱桃番茄叶片 H_2O_2 积累量的影响

2.3 夜间低温胁迫对樱桃番茄叶片SOD、POD、CAT活性的影响

如图5,对照处理的SOD活性在处理期间变化较平稳。其余三低温处理下的樱桃番茄植株叶片SOD活性呈现先升高后下降的趋势,但SOD活性始终高于对照处理,且番茄植株叶片的SOD活性峰值出现在第5天,分别对比对照值增加33.9%、24.36%、16.61%,且与对照处理呈极显著

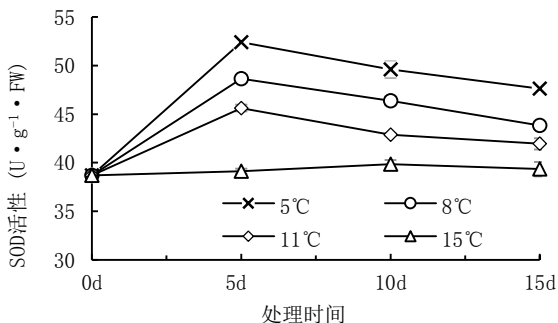


图5 夜间低温胁迫对樱桃番茄叶片SOD活性的影响

差异($P<0.01$)。

如图6所示,在夜间低温条件下处理的植株叶片POD活性变化趋势和对照处理相似,但含量均高于对照处理,且温度越低,植株叶片的POD活性值越高。

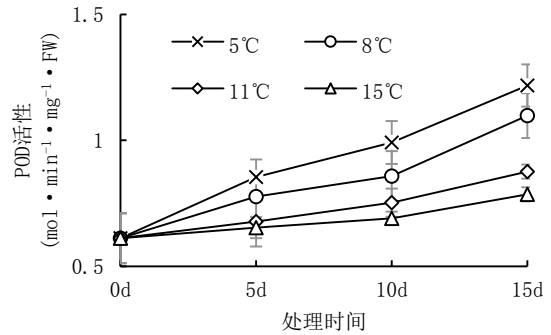


图6 夜间低温胁迫对樱桃番茄叶片POD活性的影响

如图7所示,在夜间低温胁迫下,5℃、8℃处理下的樱桃番茄叶片中的CAT含量随处理时间的延长呈先升后降的趋势,在处理5 d时达到峰值。但11℃夜温处理的变化趋势与对照相似,且始终高于对照,说明亚低温夜间处理使CAT活性上升,且没有使CAT活性失活。

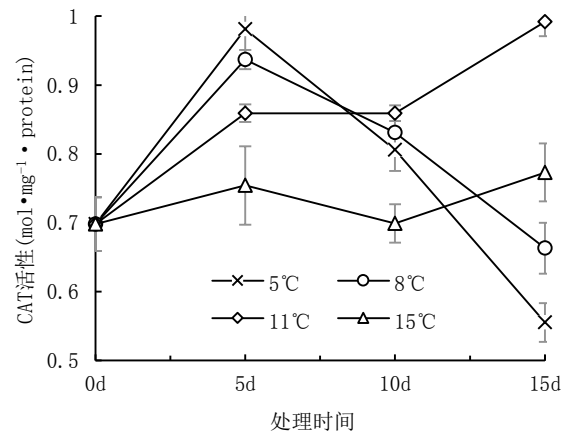


图7 夜间低温胁迫对樱桃番茄叶片CAT活性的影响

3 讨论与结论

逆境条件下,植物体内的活性氧代谢平衡被破坏,氧自由基得以大量积累。本研究发现,在夜温5℃、8℃下,樱桃番茄叶片的氧自由基的产生速率迅速增强、过氧化氢的积累量大幅增加,11℃处理与对照差异不大,但含量也始终高于对照处理,这说明夜间低温胁迫使樱桃番茄的叶片受到了一定程度的氧化损伤。随着处理时间的延长和夜间温度的下降,活性氧的积累越严重。

植物对低温胁迫的响应并非是完全被动的反应,而是一种积极主动的应激过程,低温逆境在提高细胞活性氧水平的同时,也可以诱导植物体内的抗氧化系统对低温环境产生响应,建立防御体系,进而减轻或避免逆境带来的迫害^[15]。SOD、CAT、POD被认为是清除活性氧过程中最主要的抗氧化酶类,三者共同维持植物体内的活性氧代谢平衡,使植物能在一定程度上减缓或抵抗低温胁迫带来的伤害^[16-18]。SOD可以歧化超氧阴离子,生成过氧化氢和氧气,POD和CAT则起到清除过氧化氢的作用。 H_2O_2 的过量积累会与 O_2^- 反应形成氧化性更强的 OH^- ,加重植株叶片的氧化损伤。本研究发现,樱桃番茄叶片的SOD、CAT活性在夜间低温胁迫下呈先升后降的趋势,这可能是由于短期的低温胁迫诱发了植物抗低温的应急机制,避免超氧阴离子的过量积累,然而长时间的低温环境和低温条件可能导致植物的抗逆防御系统受到破坏,进而导致酶活性的降低。这与刘玉凤等^[19]研究的夜间低温对番茄叶片的SOD活性的变化规律相似。但在夜温 $11^{\circ}C$ 胁迫下樱桃番茄的CAT活性变化规律与对照相一致且稍高于对照,未出现下降的现象,说明 $11^{\circ}C$ 亚低温对CAT活性影响较小。POD活性与对照的变化规律一致,但是始终高于对照,且温度越低,酶活性越高。

MDA是作物膜系统膜脂过氧化产生的最终产物。在低温胁迫下,植物体内丙二醛的过量积累对大分子蛋白、细胞膜质分子和其他活性分子有极强的氧化和破坏作用,进一步导致植物细胞的生理活性丧失。研究表明,夜间低温胁迫下,伴随活性氧的急剧增加,番茄叶片的MDA含量也呈大幅上升的趋势,温度越低上升幅度越明显。这可能破坏膜完整性,使膜透性升高,选择透性丧失,损伤膜系统。研究结果还表明,番茄叶片的可溶性蛋白随温度的下降和处理时间的延长呈增加趋势,可溶性蛋白作为渗透调节剂,可以缓解逆境给植物带来的伤害,它可以保护细胞膜,调节渗透压的平衡。孟凡珍等^[20]关于低温对大白菜的影响中也做过类似报道。

植物对低温胁迫的应激机制是一个较为复杂的综合性状,它受多方面的因素共同作用,因品种不同、处理环境和处理时间的长短不同,生长发育指标对低温胁迫的反应有所不同。本试验只选取一个品种的樱桃番茄作为参照,今后可以测定不同品种的樱桃番茄的抗冷性差异,筛选抗性强品种用于设施栽培。

参考文献:

- [1] 刘晓英,徐志刚,常涛涛,等.不同光质LED弱光对樱桃番茄植株形态和光合性能的影响[J].西北植物学报,2010,30(4):725-732.
- [2] Iersel M W V. Short-term Temperature Change Affects the Carbon Exchange Characteristics and Growth of Four Bedding Plant Species[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science American Society for Horticultural Science, 2003, 128(1): 100-106.
- [3] 刘慧英,朱祝军,吕国华,等.低温胁迫下西瓜嫁接苗的生理变化与耐冷性关系的研究[J].中国农业科学,2003,36(11):1325-1329.
- [4] Lukatkin A S. Contribution of Oxidative Stress to the Development of Cold-Induced Damage to Leaves of Chilling-Sensitive Plants: 2. The Activity of Antioxidant Enzymes during Plant Chilling[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2002, 49(6): 782-788.
- [5] Lurie S, Crisosto C H. Chilling injury in peach and nectarine[J]. Postharvest Biology & Technology, 2005, 37(3):195-208.
- [6] Imahori Y, Takemura M, Bai J. Chilling-induced oxidative stress and antioxidant responses in mume (*Prunus mume*) fruit during low temperature storage[J]. Postharvest Biology & Technology, 2008, 49(1):54 - 60.
- [7] 崔 翠,王利鹏,周清元,等.低温胁迫下烤烟幼苗叶片光合作用的抗氧化能力基因差异表达谱[J].生态学报,2014,34(21):6076-6089.
- [8] LI Tian-Lai, Liu Y F, Song L Y. Effect of Sub-low Night Temperature Treatment and Recovery on the Photoinhibition of Tomato Leaves[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2008, 35(7): 1003-1010.
- [9] Bryk R, Lima C D, Erdjumentbromage H, et al. Metabolic enzymes of mycobacteria linked to antioxidant defense by a thioredoxin-like protein.[J]. Science, 2002, 295(557): 1073-1077.
- [10] 李天来,李益清.钙对弱光胁迫下番茄叶片保护酶活性及可溶性蛋白含量的影响[J].园艺学报,2008,35(11):1601-1606.
- [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,2000:42-44.
- [12] Li Z, Gong M. Improvement of measurement method for superoxide anion radical in plant[J]. Acta Botanica Yunnanica, 2005, 27(2):211-216.
- [13] 马占青,李新旭,孙国钧,等.水杨酸在诱导番茄抗冷性中的作用[J].兰州大学学报(自科版),2013(4):515-524.
- [14] Han J, Tao W, Hao H, et al. Physiology and quality responses of fresh-cut broccoli florets pretreated with ethanol vapor[J]. Journal of Food Science, 2006, 71(5): 385-389.
- [15] 裴冬丽,张红岩,张 贺,等.干旱胁迫对番茄幼苗叶片SOD、POD和PAL活性的影响[J].吉林农业科学,2015,40(4):83-86.
- [16] 逯明辉,宋 慧,李晓明,等.冷害过程中黄瓜叶片SOD、CAT和POD活性的变化[J].西北植物学报,2005,25(8): 1570-1573.

- [17] Prasad T K. Role of Catalase in Inducing Chilling Tolerance in Pre-Emergent Maize Seedlings.[J]. *Plant Physiology*, 1997, 114(4): 1369.
- [18] Gechev T, Willekens H, Montagu M V, et al. Different responses of tobacco antioxidant enzymes to light and chilling stress[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2003, 160(5): 509-515.
- [19] 刘玉凤,李天来,高晓倩.夜间低温胁迫对番茄叶片活性氧代谢及 AsA-GSH 循环的影响[J]. *西北植物学报*, 2011, 31(4): 707-714.
- [20] 孟凡珍,张振贤,于贤昌,等.田间低温胁迫对大白菜某些理化特性的影响研究[J]. *中国生态农业学报*, 2005, 13(2): 84-86.

(责任编辑:王 昱)