

脯氨酸对高温胁迫下菜薹耐热性的影响

曹毅¹ 李春梅² 邓燊¹ 刘永聪¹

(¹佛山科学技术学院园艺系, 广东佛山 528231; ²佛山科学技术学院实验室与设备管理处, 广东佛山 528000)

摘要:以 50 天油青菜心为试材, 研究了不同浓度脯氨酸处理对菜薹苗期及田间耐热性的影响。苗期试验结果表明, 随着高温胁迫时间的延长, 菜薹幼苗的热害指数、电解质渗透率不断增高, 高温胁迫 8~12 h, 脯氨酸浓度在 150~200 mg·L⁻¹ 处理的热害指数、电解质渗透率降幅明显, 超氧化物歧化酶、过氧化物酶活性增幅明显; 田间试验结果表明, 脯氨酸浓度在 150~200 mg·L⁻¹ 处理可明显促进叶片生长, 增加叶面积、薹鲜质量和根鲜质量, 以及提高可溶性糖、可溶性蛋白和 VC 含量。结果表明脯氨酸能增强菜薹的抗氧化能力和维持渗透调节能力, 从而缓解高温胁迫对菜薹的伤害。

关键词:脯氨酸; 菜薹; 高温胁迫; 耐热性

中图分类号: S634.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-6346 (2011) 20-0058-05

Effect of Proline on Heat Tolerance of *Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *utilis* Tsen et Lee under High Temperature Stress

CAO Yi¹, LI Chun-mei², DENG Yi¹, LIU Yong-cong¹

(¹Department of Horticulture, Foshan Science and Technology College, Foshan 528231, Guangdong, China;

²Department of Lab and Equipment Management, Foshan Science and Technology College, Foshan 528000, Guangdong, China)

Abstract: Effects of different proline concentrations on heat tolerance of ‘50 tianyouqingcaixin’ (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *utilis* Tsen et Lee) during seedling period and in fields were studied. The result of seedling experiment showed that the heat injury index, leakage of electrolyte in leaves of flower stalk increased continuously along with the prolonging of high temperature stress. With the treatment of Pro concentration in 150–200 mg·L⁻¹ under 8–12 h high temperature stress, the heat injury index and leakage of electrolyte were reduced obviously. The SOD and POD activities were increased obviously. The result of field experiment showed that the treatment of Pro in 150–200 mg·L⁻¹ could obviously promote the leaf growth, increase leaf area, improve flower stem and root weights, and enhance the contents of soluble sugar, soluble protein and VC. All these results indicated that proline could relieve flower stalk damage by boosting antioxidant activity and maintaining osmotic adjustment ability under high temperature stress.

Key words: Proline; *Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *utilis* Tsen et Lee; High temperature stress; Heat tolerance

收稿日期: 2011-04-20; 接受日期: 2011-06-17

基金项目: 广东省农村科技计划项目 (2010A020507001-36)

作者简介: 曹毅, 男, 硕士, 副教授, 专业方向: 蔬菜栽培生理, E-mail: caoyi@fosu.edu.cn

《中国蔬菜》学术论文下载 www.cnveg.or

菜薹 (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *utilis* Tsen et Lee) 为十字花科芸薹属 (*Brassica*) 白菜亚种的一个变种, 一年生或二年生草本, 以柔嫩肉质的花薹为食用器官。菜薹生长周期短、经济效益高, 是目前广东省栽培面积最大、具有优势和标志性的蔬菜种类。菜薹生长适宜温度为 15~25 ℃, 30 ℃以上生长比较困难, 且菜薹细小、质劣, 所以南方 7~9 月种植菜薹存在明显的不适应性 (张振贤 等, 2003)。前人研究表明几乎所有的逆境如干旱、高温、低温、冰冻、盐渍、低 pH、营养不良、病害、大气污染等都会造成植物体内脯氨酸 (Pro) 的积累, 部分试验已证实 Pro 积累与植物的胁迫耐受力呈正相关 (许祥明 等, 2000; Hong et al., 2000; Sivakumar et al., 2000; Adams & Valdes, 2002; Matysik et al., 2002; 全先庆 等, 2007), 而关于 Pro 对高温胁迫下菜薹耐热性的研究尚未见报道。本试验在研究了高温胁迫对不同菜薹品种产生不同影响的基础上 (曹毅 等, 2010), 以相对耐热的 50 天油青菜心为试材, 研究不同浓度 Pro 预处理对高温胁迫下菜薹幼苗热害指数、电解质渗透率、抗氧化酶活性, 以及田间自然高温下 Pro 处理对菜薹生长、生物量与品质的影响, 以期探讨 Pro 对高温胁迫下菜薹耐热性的影响, 为进一步研究菜薹抗热栽培技术提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验于 2009、2010 年 7~9 月在佛山科学技术学院教学试验基地进行。采用生产上应用品种: 特抗热 50 天油青菜心 (种子纯度 $\geq 98\%$, 叶色油绿、薹整齐、粗壮、质优、耐热和抗病, 市售); Pro 为生化试剂 (上海求德生物化工, 纯度 $\geq 99\%$, 市售)。

1.2 试验设计

1.2.1 菜薹幼苗耐热性试验 菜薹浸种催芽后播于盛有混合基质 (菜园土: 草菇泥=1 V: 1 V) 的营养钵中, 待幼苗长到二叶一心时, 7 月 16 日定植于 6 cm \times 6 cm 营养钵中, 缓苗后移入人工智能气候培养箱进行培养, 预培养 2 d 后 (温度白天 28 ℃/夜间 20 ℃, 昼/夜各 12 h, 相对湿度白天 75%, 夜间 85%, 光照强度 5×10^4 lx), 采用 Pro 叶面喷施, 浓度设 50、100、150、200、250 mg \cdot L $^{-1}$ 5 个梯度, CK 为清水, 每处理 30 株, 3 次重复, 喷施时间为每天 18:00 时, 喷施量 3 mL \cdot 株 $^{-1}$, 连续喷施 3 d 后, 进行高温胁迫处理, 高温 (42 \pm 1) ℃下培养 0、4、8、12 h, 相对湿度 75%, 光照强度 5×10^4 lx, 取幼苗生长点下第 2 片展开真叶进行各项指标的测定。植株受热害分级参照康俊根等 (2002) 的方法, 并加以改进。分级标准: 正常为 0 级; 叶片绿色轻度反卷萎蔫为 1 级; 叶片微黄中度萎蔫为 2 级; 叶片发黄重度萎蔫为 3 级; 植株茎萎缩, 叶大部枯黄萎蔫为 4 级; 死亡干枯为 5 级。

$$\text{热害指数} = \sum \text{各级株数} / (\text{最高级数} \times \text{总株数}) \times 100$$

电解质渗透率采用罗少波 (1996) 的方法。

$$\text{EL} (\%) = (S_1 - S_0) / (S_2 - S_0) \times 100\%$$

S_0 为蒸馏水空白电导值, S_1 为初始电导值, S_2 为热处理后电导值。

新鲜叶片剪碎混匀后, 称取 0.2 g, 加 pH 7.8 的磷酸缓冲液 1.5 mL 于冰浴中研磨提取, 4 ℃下冷冻离心 15 min 待测, 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性用氮蓝四唑 NBT 法测定, 过氧化物酶 (POD) 活性用紫外吸收法测定 (李合生, 2003)。

1.2.2 菜薹田间耐热性试验 幼苗长到二叶一心 (7 月 16 日) 时定植于露地, 株距 13.3 cm, 行距 16.7 cm, 按照常规管理, 待菜薹生长到四叶一心 (7 月 26 日)、初薹 (8 月 2 日) 时各采用 Pro 叶面喷施一次, 浓度同 1.2.1, CK 为清水, 喷施时间为每天 18:00 时, 喷施量 5 mL \cdot 株 $^{-1}$, 小区面积 12 m 2 , 种植 500 株, 3 次重复, 处理后调查 7 d 的昼夜温度变化 (表 1)。8 月 10 日对

菜薹生长、生物量与品质指标进行测定, 主要测定株高、茎粗、叶数、叶面积、薹鲜质量、根鲜质量、可溶性糖、可溶性蛋白和 VC 含量, 采用 5 点取样, 每点 6 株, 共 30 株, 3 次重复。其中, 叶面积用便携式活体叶面积测定仪

(哈尔滨光学仪器厂) 在生长盛期测定, 从齐口花向下留 15 cm 称取薹质量, 可溶性糖含量 (取 8 月 10 日收薹叶测得, 下同) 用蒽酮法测定, VC 含量用 2, 6-二氯酚酚滴定法测定, 可溶性蛋白含量用考马斯亮蓝 G-250 快速测定法测定 (王忠, 2001)。

1.3 数据统计

试验数据均采用 DPS 处理, 用 Duncan's 新复极差法进行分析。

2 结果与分析

2.1 脯氨酸对高温胁迫下菜薹幼苗耐热性的影响

2.1.1 对幼苗热害指数和电解质渗透率的影响 从表 2 中可以看出, 随着高温胁迫时间的延长, CK 热害指数和电解质渗透率不断增高。对热害指数, 胁迫 0 h, 各处理差异均不显著; 胁迫 4 h, 150、200 mg · L⁻¹ Pro 处理显著低于 CK, 降幅分别为 8.9%、8.3%; 胁迫 8 h, 150、200、100 mg · L⁻¹ Pro 处理比 CK 降低显著, 降幅分别为 13.7%、13.4%和 11.9%; 胁迫 12 h, 200、150 mg · L⁻¹ Pro 处理比 CK 降低显著, 降幅分别为 15.0%、12.9%, 250、100 mg · L⁻¹ 处理的降幅分别为 10.3%、10.0%。对电解质渗透率, 胁迫 0、4 h, Pro 各处理差异均不显著; 胁迫 8 h, 200、150、100 mg · L⁻¹ 处理显著低于 CK, 降幅分别为 16.7%、13.7%和 13.4%; 胁迫 12 h, 200、150、250、100 mg · L⁻¹ 处理显著低于其他处理, 与 CK 比降幅分别为 20.3%、15.8%、15.6%和 15.2%。

对菜薹热害指数 (Y) 和电解质渗透率 (X) 进行二次多项式回归分析, 胁迫 8 h, $Y_1=5.434+0.179X_1+0.008X_1^2$, 相关系数 $R=0.973$, $F=26.642$, 显著水平 $p=0.012$, 剩余标准差 $S=0.093$, 调整后的相关系数 $R_a=0.955$; 胁迫 12 h, $Y_2=1.953+0.151X_2+0.003X_2^2$, 相关系数 $R=0.982$, $F=39.691$, 显著水平 $p=0.069$, 剩余标准差 $S=0.081$, 调整后的相关系数 $R_a=0.969$ 。表明高温胁迫 8、12 h 热害指数和电解质渗透率呈正相关关系, 植株外部观测到的热害症状与内部受到的伤害程度是一致的。

表 2 脯氨酸对高温胁迫下菜薹热害指数和电解质渗透率的影响

Pro 处理 mg · L ⁻¹	热害指数				电解质渗透率/%			
	0 h	4 h	8 h	12 h	0 h	4 h	8 h	12 h
0 (CK)	4.32 a	5.28 a	6.12 a	6.42 a	19.13 a	22.76 a	25.75 a	27.90 a
50	4.31 a	5.07 ab	5.49 ab	5.82 b	19.21 a	21.32 a	22.61 ab	24.62 b
100	4.56 a	5.06 ab	5.39 b	5.78 bc	19.32 a	21.88 a	22.31 b	23.67 c
150	4.48 a	4.81 b	5.28 b	5.59 c	19.24 a	21.27 a	22.22 b	23.48 c
200	4.33 a	4.84 b	5.30 b	5.46 c	19.25 a	20.97 a	21.44 b	22.25 c
250	4.50 a	5.07 ab	5.55 ab	5.76 bc	20.13 a	21.71 a	22.52 ab	23.56 c

注: 表中同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($\alpha=0.05$), 下表同。

2.1.2 对幼苗 SOD 和 POD 活性的影响 从表 3 中可以看出, 对 SOD 活性, 胁迫 0、4 h, Pro 各处理差异均不显著; 胁迫 8 h, 150、200 mg · L⁻¹ Pro 处理显著高于其他处理, 与 CK 比增幅分别为 33.7%、30.9%, 50、100、250 mg · L⁻¹ 处理的增幅分别为 11.0%、14.6%和 10.3%; 胁迫 12 h, 200、150 mg · L⁻¹ 处理增加显著, 与 CK 比增幅分别为 26.8%、26.1%, 其次为 250、100、50 mg · L⁻¹

处理,增幅分别为 15.6%、13.9%和 13.3%。

对 POD 活性,胁迫 0 h, Pro 各处理差异不显著;胁迫 4 h 和 8 h, 200、250 mg · L⁻¹ Pro 处理显著高于 CK,增幅分别为 11.4%、9.8%和 22.8%、22.4%,其次为 150、100、50 mg · L⁻¹ 处理,增幅分别为 7.0%、8.1%、7.9%和 19.7%、17.8%、16.4%;胁迫 12 h, 150、200 mg · L⁻¹ 处理的增加显著,与 CK 比增幅分别为 25.1%、24.8%,其次是 Pro 浓度为 100、250、50 mg · L⁻¹ 的处理,POD 活性增幅分别为 20.1%、15.9%和 15.1%。

表 3 脯氨酸对高温胁迫下菜薹幼苗 SOD 和 POD 活性的影响

Pro 处理 mg · L ⁻¹	SOD 活性/U · g ⁻¹ (FW)				POD 活性/U · g ⁻¹ (FW)			
	0 h	4 h	8 h	12 h	0 h	4 h	8 h	12 h
0 (CK)	100.57 a	102.73 a	100.01 c	100.01 c	75.66 a	76.67 b	75.89 c	80.69 c
50	101.59 a	105.38 a	110.97 b	113.32 b	76.42 a	82.71 ab	88.36 b	92.87 b
100	101.64 a	105.45 a	114.59 b	113.91 b	79.18 a	82.86 ab	89.39 ab	96.87 ab
150	101.81 a	107.92 a	133.68 a	126.08 a	75.72 a	82.03 ab	90.81 ab	100.96 a
200	101.90 a	108.13 a	130.91 a	126.72 a	79.39 a	85.41 a	93.17 a	100.68 a
250	100.85 a	110.43 a	110.27 b	115.65 b	75.89 a	84.21 a	92.85 a	93.51 b

2.2 脯氨酸对高温胁迫下菜薹田间耐热性的影响

2.2.1 对菜薹生长的影响 从表 4 中可以看出,Pro 各处理对菜薹株高无显著影响;对茎粗,200、150、250 mg · L⁻¹ Pro 处理显著高于 CK,增幅分别达到 10.2%、7.8%、7.8%,其次是 100 mg · L⁻¹ 处理;对叶数,200、250、150 mg · L⁻¹ 处理显著高于其他处理,比 CK 分别增加 13.4%、12.2%、12.2%;对叶面积,200、150 mg · L⁻¹ 处理显著高于其他处理,比 CK 分别增加 20.8%和 19.4%,其次是 250、100 mg · L⁻¹ 处理,增幅分别达到 17.4%和 16.9%。

2.2.2 对菜薹生物量与品质的影响 对薹鲜质量,Pro 浓度为 200、150 mg · L⁻¹ 处理显著高于 CK,增幅分别达到 14.5%和 14.1%;对根鲜质量,200、150 mg · L⁻¹ 处理显著高于 CK,增幅分别达到 19.1%和 18.3%;对可溶性糖含量,200 mg · L⁻¹ Pro 处理显著高于其他处理,比 CK 增加 11.8%,其次是 150、100、250 mg · L⁻¹ 处理,增幅分别达到 9.8%、8.5%、8.5%;对可溶性蛋白含量,200 mg · L⁻¹ 处理显著高于 CK,增幅达到 16.7%,其次是 150、100、250 mg · L⁻¹ 处理,增幅分别达到 12.5%、8.3%、8.3%,差异均达显著水平;对 VC 含量而言,200、150 mg · L⁻¹ 处理显著高于其他处理,均比 CK 增加 22.6%,其次是 250、100、50 mg · L⁻¹ 处理,增幅分别达到 16.1%、16.1%、12.9% (表 4)。

表 4 脯氨酸对高温胁迫下菜薹生长、生物量与品质的影响

Pro 处理 mg · L ⁻¹	株高 cm	茎粗 cm	叶数 片	叶面积 cm ²	薹鲜质量 g · 株 ⁻¹	根鲜质量 g · 株 ⁻¹	可溶性糖 mg · g ⁻¹ (FW)	可溶性蛋白 mg · g ⁻¹ (FW)	VC mg · g ⁻¹ (FW)
0 (CK)	23.78 a	1.66 b	8.20 b	413 c	18.76 b	2.51 b	1.53 c	0.48 c	0.31 c
50	23.88 a	1.68 b	8.50 b	455 bc	19.81 b	2.66 b	1.56 c	0.49 c	0.35 b
100	23.86 a	1.73 ab	8.90 b	483 b	20.20 ab	2.76 ab	1.66 b	0.52 b	0.36 b
150	23.91 a	1.79 a	9.20 a	493 a	21.42 a	2.97 a	1.68 b	0.54 ab	0.38 a
200	23.93 a	1.83 a	9.30 a	499 a	21.48 a	2.99 a	1.71 a	0.56 a	0.38 a
250	23.91 a	1.79 a	9.20 a	485 b	20.21 ab	2.78 ab	1.66 b	0.52 b	0.36 b

3 结论与讨论

温度是影响菜薹生长发育的重要条件,是由其起源环境及生物学特性所决定,在我国南方高温季节种植菜薹,选育耐热型的新品种、选用抗热栽培新技术显得更为重要。本试验通过苗

期及田间耐热性研究,结果表明:①随着高温胁迫时间的延长,热害指数、电解质渗透率不断增高,说明高温是造成菜薹叶片损伤、质膜透性发生改变的主要原因,且热害指数和电解质渗透率呈正相关关系,说明植株外部观测到的热害症状与内部受到的伤害程度是一致的,这与贾开志和陈贵林(2005)、冉茂林等(2006)在茄子、萝卜上的研究结果一致,而采用 Pro 处理后,尤其是 $150 \sim 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理,尽管高温胁迫 $8 \sim 12 \text{ h}$,但热害指数、电解质渗透率降幅明显,从而证实了 Pro 对维持膜结构稳定有一定的作用;②高温胁迫 $8 \sim 12 \text{ h}$, $150 \sim 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Pro 处理的 SOD 活性、POD 活性增幅明显,说明 Pro 能缓解高温胁迫对菜薹叶片质膜的过氧化伤害,其可能机理是 SOD、POD 具有抵御多种理化因子胁迫、减少活性氧积累、维护膜结构完整等重要作用,其中 POD 专门清除 MDA, SOD 清除 O_2^- , 减少了 OH^- 生成,植物体内保护性酶活性的大小在一定程度上决定着植物的耐热性。廖飞雄和潘瑞炽(2001)、何晓明等(2002)试验也有类似结果;③使用 $150 \sim 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Pro 叶面喷施,可明显促进叶片生长,增加叶面积,提高薹鲜质量和根鲜质量,以及提高可溶性糖、可溶性蛋白和 VC 含量。在逆境胁迫下,植物细胞中积累的可溶性糖参与渗透保护、渗透调节、碳的贮藏以及活性氧的清除,可溶性蛋白作为一种渗透调节,VC 保护细胞不受氧化伤害等,对缓解高温胁迫下植株的伤害等都起着重要的作用。这与刘书仁等(2010)在黄瓜上的试验结果一致。

本试验主要研究了菜薹苗期及田间高温胁迫下耐热性的不同表现,探讨了采用 Pro 不同浓度处理能增强菜薹的抗氧化能力和维持渗透调节能力,从而缓解高温胁迫对菜薹的伤害,为进一步研究菜薹抗热栽培技术奠定基础。综合试验各项指标,推荐 Pro 使用浓度为 $150 \sim 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 喷施量为 $3 \sim 5 \text{ mL} \cdot \text{株}^{-1}$, 并以苗期、初蕾期叶面喷施为好。另外,由于外界条件的复杂和试验材料的差异,以及研究范围的局限,Pro 对高温胁迫下菜薹其他生理指标、菜薹其他品种的影响尚有待进一步试验探讨。

参考文献

- 曹毅,李春梅,邓燊,刘永聪. 2010. 不同菜心品种耐热性研究. 西南师范大学学报, 35(5): 128-131.
- 何晓明,林毓娥,陈清华,邓江明. 2002. 高温对黄瓜幼苗生长、脯氨酸含量及 SOD 酶活性的影响. 上海交通大学学报, 20(1): 30-33.
- 贾开志,陈贵林. 2005. 高温胁迫下不同茄子品种幼苗耐热性研究. 生态学杂志, 24(4): 398-401.
- 康俊根,翟依仁,张京社,秦海明,卜晓东. 2002. 甘蓝耐热性鉴定方法. 中国蔬菜, (1): 4-7.
- 李合生. 2003. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社: 167, 258-260.
- 廖飞雄,潘瑞炽. 2001. 热胁迫下菜薹脯氨酸含量变化及其在耐热中的作用. 华南师范大学学报: 自然科学版, (2): 45-48.
- 刘书仁,郭世荣,孙锦,程玉静,刘超杰,王丽萍. 2010. 脯氨酸对高温胁迫下黄瓜幼苗活性氧代谢和渗透物质含量的影响. 西北农业学报, 19(4): 127-131.
- 罗少波,李智军,周微波,飞弹健一,中岛武彦. 1996. 大白菜品种耐热性的鉴定方法. 中国蔬菜, (2): 16-18.
- 全先庆,张渝洁,单雷,毕玉平. 2007. 高等植物脯氨酸代谢研究进展. 生物技术通讯, (1): 14-18.
- 冉茂林,宋明,宋华,雍小平. 2006. 萝卜耐热性鉴定技术体系研究. 中国农学通报, 22(11): 248-252.
- 王忠. 2001. 植物生理学. 北京: 农业出版社: 280-284.
- 许祥明,叶和春,李国凤. 2000. 脯氨酸代谢与植物抗渗透胁迫的研究进展. 植物学通报, 17(6): 536-542.
- 张振贤,喻景权,于贤昌. 2003. 蔬菜栽培学. 北京: 中国农业大学出版社: 177-183.
- Adams S R, Valdes V M. 2002. The effect of periods of high temperature and manipulating fruit load on the pattern of tomato yields. Journal of Horticultural Science & Biotechnology, 77(3): 461-466.
- Hong Z, Lakkinen K, Zhang Z, Verma D P S. 2000. Removal of feedback inhibition of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. Plant Physiol, 122: 1129-1136.
- Matysik J, Alia, Bhalu B, Mohanty P. 2002. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plant. Current Science, 82(5): 525-532.
- Sivakumar P, Sharmila P, Pardha Saradhi P. 2000. Proline alleviates salt stress induced enhancement in ribulose 1,5-bisphosphate oxygenase activity. Biochem Biophys Res Commun, 279: 512-515.