

网络出版时间:2012-03-21 17:50

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20120321.1750.023.html>

水杨酸对低温胁迫下藜豆种子萌发和 幼苗生理特性的影响

张凤银,雷 刚,张 萍,孙彩云

(江汉大学 生命科学院,湖北 武汉 430056)

【摘要】 **【目的】**研究外源水杨酸(SA)对低温胁迫条件下藜豆种子萌发和幼苗生理特性的影响。**【方法】**将用蒸馏水浸种的藜豆种子置于15,20,25,30,35,40℃可控温培养箱中培养,4 d时测定发芽势,7 d时测定发芽率、发芽指数及幼苗的芽长、主根长、侧根数,确定其适宜的萌发温度。分别用0,0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 mmol/L的SA浸泡藜豆种子,然后进行培养,萌发时温度控制在15℃,幼苗生长温度控制在20℃,4 d时测发芽势,7 d时测定发芽率、发芽指数,2片真叶时测定幼苗叶绿素、丙二醛(MDA)含量及过氧化物酶(SOD)和超氧化物歧化酶(POD)活性。**【结果】**(1)藜豆种子萌发适宜的温度为25~35℃。(2)低温胁迫下,随外源SA浓度的增大,藜豆种子的发芽率、发芽势、发芽指数以及幼苗叶片的POD和SOD活性均呈先上升后下降的变化趋势,在SA浓度为1.5 mmol/L达最大值,而MDA含量呈现先下降后上升的变化趋势;藜豆幼苗叶片叶绿素含量在不同SA浓度之间差异不显著。**【结论】**实际生产中,应将藜豆种子萌发的温度尽可能控制在25~35℃。外源SA能提高藜豆的抗寒性,其浸种浓度以1.5 mmol/L为宜。

【关键词】 藜豆;低温胁迫;水杨酸;抗寒性;种子萌发;生理特征

【中图分类号】 S643.9

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2012)04-0205-05

Effects of salicylic acid on the germination of velvetbean seeds and physiological characteristics of velvetbean seedlings under cold stress

ZHANG Feng-yin, LEI Gang, ZHANG Ping, SUN Cai-yun

(College of Life Science, Jiangnan University, Wuhan, Hubei 430056, China)

Abstract: **【Objective】** The research was carried out to study the effects of salicylic acid (SA) on the germination of velvetbean seeds and physiological characteristics of the velvetbean seedling under cold stress. **【Method】** The velvetbean seeds were soaked with distilled water and cultured in the temperature-controlled culture box at 15, 20, 25, 30, 35 and 40℃, respectively. The germination vigor was measured after 4 days. The germination rate, germination index, and stem length, root length and number of lateral roots of the seedlings were measured after 7 days to determine the optimum germination temperature. The seeds were soaked with different concentrations (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 and 2.5 mmol/L) of SA. The germination temperature was controlled at 15℃ and the growth temperature of the seedlings was controlled at 20℃. The germination vigor was measured after 4 days. The germination rate and germination index were determined after 7 days. Chlorophyll content, MDA content, SOD activity and POD activity of the seedlings were determined at two-leaf stage. **【Result】** (1) The suitable temperature for germination of the velvetbean

* [收稿日期] 2011-10-21

[基金项目] 武汉市科技攻关项目(201120822281)

[作者简介] 张凤银(1964—),女,湖北鄂州人,副教授,硕士,主要从事园艺植物栽培生理研究。

E-mail: zhangfengyin0811@126.com

seeds was 25—35 °C. (2) Under cold stress, with the increase of exogenous SA concentrations, the germination rate, germination vigor, germination index, and activities of POD and SOD in the seedling leaves showed the trend of increase first and then the trend of decrease, but MDA content decreased first and then increased. There were no significant differences in Chlorophyll contents among different SA concentrations. 【Conclusion】 In practice, the germination temperature for the velvetbean seeds should be controlled between 25—35 °C. SA can increase the chilling resistance of the velvetbean and the optimum treatment concentration of SA is 1.5 mmol/L.

Key words: velvetbean; cold stress; salicylic acid; chilling resistance; seed germination; physiological characteristics

藜豆(*Stizolobium capitatum* Kuntze), 别名猫豆、狗爪豆、龙爪豆、狸豆、虎豆等, 为豆科(Leguminosae)藜豆属(*Stizolobium*)一年生缠绕草质藤本植物^[1]。藜豆原产于亚洲南部热带和亚热带地区, 目前在日本广为栽培, 我国主要分布在广西、四川、贵州、云南等地, 其嫩荚果或种子可供蔬食^[2]。同时, 藜豆还是一种药用植物, 因其种子中富含可用于治疗帕金森症的活性物质左旋多巴^[3], 而深受人们青睐^[4-5], 但目前从藜豆种子中提取的左旋多巴还远不能满足市场的需求^[4], 因此其种植前景非常广阔。为了扩大藜豆的种植区域, 笔者最近几年将广西、四川、贵州等地的藜豆北移引入湖北种植, 然而北移后藜豆在早春播种时因遇持续低温, 导致出苗率低、出苗期推迟, 这限制了藜豆种植产业的发展。因此, 寻求提高藜豆抗寒性的途径和方法对扩大藜豆北移的种植区域具有重要意义。

水杨酸(Salicylic acid, SA)即邻羟基苯甲酸, 是一种广泛存在于植物体内的小分子酚类化合物, 其不仅是植物抗病反应的信号分子, 也是植物对非生物逆境反应的抗性信号分子^[6-7]。研究证实, 外源 SA 能提高植物的抗寒性^[8-9], 它可以通过抑制脂膜过氧化来维持细胞膜的完整性^[10], 但目前关于外源 SA 对藜豆抗寒性能的影响尚未见报道。本研究以广西东兰县主栽的灰籽藜豆种子为试材, 探讨了其种子萌发的适宜温度, 以及在低温逆境下外源 SA 对其种子萌发和幼苗抗寒性的影响, 以期为解决藜豆种子萌发过程中低温冷害问题的解决提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为广西东兰县主栽的灰籽藜豆种子。SA, 分析纯, 由上海国药集团提供。

1.2 方法

试验于 2011-03-06 在湖北省江汉大学生命科

学学院实验中心进行。

1.2.1 藜豆种子萌发的适宜温度 精选饱满的藜豆种子, 用蒸馏水浸种 16 h, 摆放在培养皿中, 每个培养皿放置 50 粒, 然后放入可控培养箱中发芽。培养箱的相对湿度设定为 85%, 温度分别设置为 15, 20, 25, 30, 35 和 40 °C, 每个处理重复 3 次。每天观察并统计发芽种子数(以胚根长等于种子长一半作为判断发芽的标准)。7 d 时, 从每个重复中随机抽取 20 株幼苗测量芽长、主根长并统计侧根数。

1.2.2 低温胁迫下外源 SA 对藜豆种子萌发和幼苗生理特性的影响 预备试验发现, 藜豆幼苗在 10 °C 下 2 d 即死亡, 在 15 °C 下, 叶片出现斑点、萎焉等寒害现象。因此, 本试验的低温胁迫温度设定为 15 °C。精选饱满的藜豆种子, 分别用浓度为 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 和 2.5 mmol/L 的 SA 溶液浸种 16 h 后, 用蒸馏水清洗 3 次, 放入铺有 2 层滤纸的培养皿内, 每个培养皿放置 50 粒种子, 置于温度 15 °C、相对湿度 85% 的培养箱中发芽, 每个处理重复 3 次。每天统计发芽种子数, 7 d 时, 挑选长势良好、出芽整齐的种子播于盛有基质的穴盆中, 幼苗在 20 °C 的培养箱中培养, 待 2 片真叶完全展开时, 测定幼苗叶片中叶绿素、丙二醛(MDA)含量及过氧化物酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)活性。

1.3 测定项目及方法

发芽势 = 前 4 d 的发芽种子数 / 总种子数 × 100%。发芽率 = 前 7 d 的发芽种子数 / 总种子数 × 100%。发芽指数 = $\sum (Gt/Dt)$, 其中: Gt 为不同时间发芽的种子数, Dt 为相应的发芽时间。

采用 SPAD-502 型叶绿素测定仪测定叶绿素含量; 参考文献[11], 用硫代巴比妥酸比色法、愈创木酚法和氮蓝四唑(NBT)显色法分别测定 MDA 含量、POD 活性和 SOD 活性。以上指标均重复测定 3 次。

1.4 数据处理

数据采用 DPS2000 统计软件进行分析处理, 显

著性检验采用邓肯氏新复极差法进行。

2 结果与分析

2.1 温度对藜豆种子萌发和幼苗生长的影响

2.1.1 对种子萌发的影响 植物种子的萌发表现可以反映播种品质的优劣,通常用发芽势、发芽率及发芽指数等指标来衡量。发芽势高说明发芽快、发芽整齐;发芽率反映种子生活力的高低;而发芽指数则同时受种子生活力和发芽速度的影响,种子生活力越高,发芽越快,则发芽指数越高。种子的萌发除了受种子本身生活力的影响以外,还受外界环境条件(水分、氧气、温度等)的影响。由表 1 可知,藜豆种子的发芽势、发芽率和发芽指数与萌发时的温度

关系密切,在 25,30 和 35 ℃时,藜豆种子的发芽势和发芽率分别达到 87%和 95%以上,而且这 3 个温度下的发芽率和发芽势差异不显著;当温度低于 25 或高于 35 ℃时,发芽势和发芽率均显著下降,其中发芽势在 15 ℃时最低(13.3%),发芽率在 40 ℃时最低(51.1%)。随着温度的增高,藜豆种子的发芽指数呈增大趋势,在 35 ℃时达到最大(50.64),但当温度超过 35 ℃时,发芽指数呈下降趋势;15 ℃时的发芽指数最小(8.77)。同时,试验还观察到,温度达 40 ℃时,藜豆种子极易霉变,发芽 7 d 时霉变率高达 46 %。结果表明,25~35 ℃是藜豆种子萌发的适宜温度。

表 1 温度对藜豆种子萌发的影响

Table 1 Effects of different temperatures on germination of velvetbean seeds during germination			
温度/℃ Temperature	发芽势/% Germination vigor	发芽率/% Germination rate	发芽指数 Germination index
15	13.3 d	67.4 c	8.77 c
20	25.6 c	83.3 b	14.38 c
25	87.8 a	97.8 a	36.43 b
30	92.2 a	95.6 a	32.27 b
35	96.7 a	96.7 a	50.64 a
40	65.7 b	51.1 c	33.05 b

注:同列数据后标不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。下表同。

Note:Significant differences($P<0.05$)among treatments in the same column are indicated by different small letters. The following tables are the same.

2.1.2 对幼苗生长的影响 由表 2 可知,藜豆幼苗的生长与温度有密切关系,当温度低于 25 或高于 30 ℃时,芽的生长(芽长)均受到显著抑制,25 和 30 ℃下的芽长差异不显著;最不利于芽生长的温度为 15 和 20 ℃,在此温度下,萌发 7 d 种子均没有长出幼芽。最适于主根生长(主根长)的温度是 25~35

℃,在该温度范围内藜豆的主根长差异不显著;当温度高于 35 或低于 25 ℃时,主根的生长均受到极显著抑制。15,20 和 40 ℃下藜豆幼苗均未长出侧根,而在 25~35 ℃下藜豆幼苗均长出大量侧根,且以 35 ℃时的侧根最多。结果表明,藜豆幼苗生长的适宜温度为 25~35 ℃。

表 2 温度对藜豆幼苗生长的影响

Table 2 Effects of different temperatures on the growth of velvetbean seedlings during germination			
温度/℃ Temperature	芽长/cm Stem length	主根长/cm Main root length	侧根数 Number of lateral roots
15	0*	1.4 cC	0*
20	0*	3.8 bB	0*
25	4.8 a	10.1 aA	23 ab
30	4.6 a	10.1 aA	22 b
35	2.7 b	10.0 aA	25 a
40	1.1 c	1.4 cC	0*

注:同列数据后标不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$);* 表示该数据不包括在同列数据的统计分析中。

Note:Significant differences($P<0.01$)among treatments in the same column are indicated by different capital letters. * indicates that the data are excluded in the statistical analysis of the data in the same column.

2.2 外源 SA 对低温胁迫下藜豆种子萌发的影响

由表 3 可知,在低温胁迫下,随外源 SA 浓度的增大,藜豆种子的发芽势、发芽率和发芽指数均呈现出先升高后降低的变化趋势,且均以 1.5 mmol/L

SA 处理最高,此时的发芽势、发芽率和发芽指数较对照分别提高了 34.7%,17.6%和 12.17%。结果表明,外源 SA 能缓解藜豆种子萌发时低温胁迫的危害作用,促进种子萌发,其浸种浓度以 1.5

mmol/L为宜。

表 3 不同浓度外源 SA 对低温胁迫下藜豆种子萌发的影响

Table 3 Effects of exogenous SA at different concentrations on the germination of velvetbean under low temperature stress

SA/(mmol · L ⁻¹)	发芽势/% Germination vigor	发芽率/% Germination rate	发芽指数 Germination index
0(CK)	13.3 d	67.4 c	8.77 c
0.5	24.7 c	70.3 bc	13.87 b
1.0	32.0 b	75.5 b	14.18 b
1.5	48.0 a	85.0 a	20.94 a
2.0	37.0 b	58.7 cd	15.37 b
2.5	36.7 b	54.3 d	14.74 b

2.3 外源 SA 对低温胁迫下藜豆幼苗生理特性的影响

植物遭受低温胁迫的表现之一是细胞膜系统受到损伤,产生过多的自由基,使膜脂过氧化,导致MDA形成并累积。MDA 含量的高低可以反映细胞膜受损的程度。由表 4 可见,随 SA 浓度的增大,藜豆幼苗叶片中 MDA 含量呈先下降后上升的变化趋势;1.0 和 1.5 mmol/L SA 处理可以显著降低藜豆幼苗叶片 MDA 含量,说明低浓度 SA 可以减轻低温胁迫对藜豆幼苗细胞膜的伤害;当 SA 浓度超过 2 mmol/L 时,MDA 含量反而逐渐增加,说明高浓度 SA 加剧了冷害对藜豆幼苗叶片细胞膜的伤害。

SOD 和 POD 是植物细胞膜的重要保护酶,其可以清除细胞膜上的自由基,防止膜脂过氧化作用,保护细胞膜的完整性,提高植物对逆境的抗性,其活性常被作为判断植物抗逆性的生理指标。由表 4 可

以看出,随外源 SA 浓度的增大,藜豆幼苗叶片中 SOD 和 POD 活性均呈先上升后下降的变化趋势,且均以 1.5 mmol/L SA 处理最高,此时藜豆幼苗叶片 SOD 和 POD 活性比对照分别提高了 72.7% 和 26.9%,说明 1.5 mmol/L 的 SA 能有效地缓解低温胁迫对藜豆幼苗的伤害;2.5 mmol/L SA 处理的幼苗叶片 POD 活性显著低于对照,说明此浓度的 SA 反而会加重低温胁迫对藜豆幼苗的伤害。

叶绿素含量的消长规律是反映叶片生理活性变化的重要指标之一,与叶片光合能力有密切关系。低温胁迫可降低植物的光合能力,改变光合色素的组成,抑制叶绿体的发育。从表 4 可以看出,不同浓度的外源 SA 对藜豆幼苗叶片中叶绿素含量的影响差异不显著,说明在低温胁迫下,0.5~2.5 mmol/L SA 对藜豆幼苗叶片的光合性能没有明显的改善作用。

表 4 不同浓度外源 SA 对低温胁迫下藜豆幼苗生理特性的影响

Table 4 Effects of exogenous SA at different concentrations on the physiological characteristics of the velvetbean seedlings under cold stress

SA/(mmol · L ⁻¹)	MDA 含量/ (μmol · g ⁻¹) MDA content	POD 活性/ (U · g ⁻¹ · min ⁻¹) POD ctivity	SOD 活性/ (U · g ⁻¹) SOD activity	叶绿素含量/ (mg · g ⁻¹) Content of chlorophyll
0(CK)	4.121 b	714.039 b	52.310 c	42.033 a
0.5	3.895 b	750.419 b	64.552 bc	43.733 a
1.0	3.130 c	786.079 b	72.289 b	41.267 a
1.5	3.316 c	905.860 a	90.341 a	45.500 a
2.0	4.250 ba	728.783 b	68.673 b	48.800 a
2.5	4.600 a	568.177 c	66.285 b	41.200 a

3 结论与讨论

3.1 藜豆种子萌发的适宜温度

种子萌发是在一系列酶的参与下进行的生理生化过程,而酶的活性和温度有密切关系,所以种子要在一定的温度条件下才能发芽^[12]。本研究结果表明,在 15~40 ℃条件下藜豆种子均能萌发,但当温度低于 25 ℃时,由于酶的活性降低,使得种子萌发

率下降,幼苗的生长比较缓慢;当温度为 40 ℃时,因受高温胁迫引起酶蛋白变性,使得部分萌动或萌发的种子失活,发生霉变腐烂,导致发芽率低于发芽势,另外高温引起酶的活性钝化也使得幼苗的生长受到抑制;当温度为 25~35 ℃时,种子发芽较快,发芽率较高,且幼苗生长健壮。因此,藜豆种子萌发的适宜温度为 25~35 ℃。一般来说,喜温蔬菜种子萌发的适宜温度是(25±5) ℃^[13]。藜豆起源于热带和

亚热带地区,也是一种喜温的蔬菜,但其适宜萌发温度的上限值比一般的喜温蔬菜要高,这说明种子萌发的适宜温度范围与植物的种类有关。因此,在藜豆的栽培生产中,应将种子萌发时的环境温度尽可能控制在 25~35 ℃,这样既有利于快速出苗,又能达到培育壮苗的目的。

3.2 外源 SA 对藜豆抗寒性的影响

本研究结果表明,用 1.0~1.5 mmol/L 的 SA 浸种能缓解低温胁迫对藜豆种子萌发的危害,促进藜豆种子萌发,表现为发芽率、发芽势和发芽指数提高,这与舒英杰等^[14]、张素勤等^[15]和马丽等^[16]的研究结果一致。此外,SA 还可提高藜豆幼苗叶片中 POD 和 SOD 的活性,降低 MDA 含量,抑制细胞膜的过氧化作用,保护细胞膜的稳定性,从而使藜豆幼苗的抗寒性能得以改善,这与前人在 SA 对胡枝子和小麦^[16]、紫羊茅^[17]、辣椒^[15]种子萌发影响研究中得出的结论一致。但不同植物或同一植物的不同品种其 SA 的适宜浓度有一定差异,如藜豆及辣椒^[15]的适宜浓度均为 1.5 mmol/L,紫羊茅为 2.0 mmol/L^[17],而二色胡枝子和达乌里胡枝子分别为 0.05~0.1 和 0.1~0.5 mmol/L^[16]。因此在实际中,要根据具体的植物种类和品种选择适宜的 SA 浓度,这样才能更有效地提高植物的抗寒性能。

低温胁迫可改变光合色素的组成,抑制叶绿体发育,降低光合能力^[18]。有研究表明,在低温胁迫下,外源 SA 能使番茄^[19]和玉米^[20]幼苗叶片的叶绿素含量增加。但本研究发现,0.5~2.5 mmol/L SA 处理均未显著提高藜豆幼苗叶片中的叶绿素含量。由此推测,SA 对叶绿素含量的影响可能在不同的植物中表现各异,这还有待进一步探索。

总之,外源 SA 能提高藜豆的抗寒性能,表现为 SA 可促进藜豆种子萌发,提高幼苗叶片 SOD 和 POD 等细胞膜保护酶活性,降低叶片 MDA 含量,其浸种浓度以 1.5 mmol/L 为宜。

[参考文献]

[1] 林妙正,邝伟生. 广西猫豆资源 [J]. 广西农业科学,1990(2): 23.
Lin M Z,Kuang W S. Velvet bean resources in Guangxi [J]. Guangxi Agricultural Sciences,1990(2):23. (in Chinese)

[2] 张德纯. 蔬菜史话:藜豆 [J]. 中国蔬菜,2009(19):36.
Zhang D C. History of vegetables: Velvet bean [J]. China Vegetables,2009(19):36. (in Chinese)

[3] 欧阳建光,蒋 林,陈元生,等. 猫豆各部位不同生长期左旋多巴含量的动态研究 [J]. 中成药,2008,30(11):1657-1661.

Ouyang J G,Jiang L,Chen Y S,et al. Determination of levodopa in different parts and growth period of *Mucuna pruriens* var. *utilis* [J]. Chinese Traditional Patent Medicine,2008,30 (11):1657-1661. (in Chinese)

[4] 韦棠山,陈元生,杨得坡,等. 石山地区猫豆生态生物学特点与优质高产栽培技术 [J]. 亚太传统医学,2006(12):68-71.
Wei T S,Chen Y S,Yang D P,et al. Bio-ecological characteristics and good cultivation techniques of *Mucuna pruriens* var. *utilis* [J]. Asia-Pacific Traditional Medicine,2006(12):68-71. (in Chinese)

[5] 蔡 军,朱兆仪. 藜豆属药用植物资源研究概况 [J]. 中草药,1988,1(2):37-40.
Cai J,Zhu Z Y. Review in studies of medical resources in velvet beans [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs,1988,1(2): 37-40. (in Chinese)

[6] 王利军,战吉成,黄卫东. 水杨酸与植物抗逆性 [J]. 植物生理学通讯,2002,38(6):619-622.
Wang L J,Zhan J C,Huang W D. Salicylic acid and response to stress in plants [J]. Plant Physiology Communication,2002,38 (6):619-622. (in Chinese)

[7] 康国章,孙谷畴,王正询. 水杨酸在植物抗环境胁迫中的作用 [J]. 广西植物,2004,24(2):178-183.
Kang G Z,Sun G C,Wang Z X. Salicylic acid and its environmental stress tolerance in plants [J]. Guihaia,2004,24(2): 178-183. (in Chinese)

[8] 康国章,欧志英,王正询,等. 水杨酸诱导提高香蕉幼苗耐寒性的机制研究 [J]. 园艺学报,2003,30(2):141-146.
Kang G Z,Ou Z Y,Wang Z X,et al. Salicylic acid alleviated the damage caused by low temperature to cell membrane and some photosynthetic functions of banana seedlings [J]. Acta Horticulture Sinica,2003,30(2):141-146. (in Chinese)

[9] 乔永旭. 低温处理过程中水杨酸对红掌叶片生理指标的影响 [J]. 东北林业大学学报,2010,38(2):11-13.
Qiao Y X. Effect of salicylic acid on physiological index of *Anthurium andraeanum* leaves at low temperature [J]. Journal of Northeast Forestry University,2010,38(2):11-13. (in Chinese)

[10] 李国婧,周 燮. 水杨酸与植物抗非生物胁迫 [J]. 植物学通报,2001,18(3):295-302.
Li G J,Zhou X. Salicylic acid and abiotic stress resistance in plants [J]. Chinese Bulletin of Botany,2001,18(3):295-302. (in Chinese)

[11] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 2 版. 北京:高等教育出版社,2007.
Wang X K. Experimental principles and techniques for plant physiology and biochemistry [M]. 2nd ed. Beijing: Advanced Education Press,2007. (in Chinese)

[12] 潘瑞炽,王小菁,李娘辉. 植物生理学 [M]. 4 版. 北京:高等教育出版社,2002.
Pan R Z,Wang X J,Li N H. Plant physiology [M]. 4th ed. Beijing: Advanced Education Press,2002. (in Chinese)