

酚酸类物质对嫁接哈密瓜植株生长及保护酶活性的影响^{*}

徐胜利^{1, 2, 3}, 陈青云², 陈小青¹, 高疆生¹

(1 塔里木农垦大学 植物科技学院, 新疆 阿拉尔 843300;

2 中国农业大学 农业与生物技术学院, 北京 100094;

3 上海交通大学 农业与生物技术学院, 上海 201101)

[摘 要] 研究了以香草酸、香草醛和对-羟基苯甲酸为代表的酚酸类物质对嫁接哈密瓜植株和保护酶活性的影响。结果表明, 3种酚酸类物质对嫁接哈密瓜植株生长和产量的抑制作用不显著, 而对自根哈密瓜植株的生长和产量有明显抑制作用, 且抑制作用随处理浓度的提高而明显增强, 香草酸比香草醛和对-羟基苯甲酸具有更强的抑制作用; 3种酚酸类物质对嫁接哈密瓜根系的过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响均呈上升趋势, 并保持较高水平, 而对照呈现先升后降的变化趋势, 并显著低于各个处理。另外, 高浓度酚酸类物质可使对照的丙二醛(MDA)含量增加。

[关键词] 嫁接哈密瓜; 植株生长; 香草酸; 香草醛; 对-羟基苯甲酸; 保护酶活性

[中图分类号] S652.104⁺.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)12-0066-05

新疆哈密瓜 (*Cucurbitaceae melo var. saccharinus* Naud) 属晚熟厚皮甜瓜, 以其肉厚、质脆、味香甜、汁浓、色美、种腔狭小、果实中大、果皮致密无网纹和耐贮运而著称, 是享誉国内外的甜瓜极品, 现已成为新疆的一大名优特产。随着哈密瓜产业化的发展, 哈密瓜的连作障碍现象愈见普遍, 随着连作年份的增加, 哈密瓜产量降低, 品质变劣^[1]。导致连作障碍的原因较多, 有研究^[2]证实, 自毒 (autotoxic effect) 作用是重要原因之一。从瓜类植物中分离出的 11 种酚酸类物质, 其中有 10 种具有生物毒性, 其中香草酸、香草醛和对-羟基苯甲酸是毒性较强的 3 种。在瓜类植物连续种植过程中, 当酚酸类物质积累到一定程度时, 就会对瓜类植物产生自毒作用。迄今为止, 关于酚酸类物质对哈密瓜自毒作用的报道较少, 尤其对嫁接哈密瓜的报道更少。本研究旨在探讨酚酸类物质对嫁接哈密瓜植株生长及保护酶活性的影响, 揭示嫁接哈密瓜抵御自毒作用的机理, 以期自毒作用的调控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验与处理

本试验于 2002-03~2003-09 在塔里木农垦大

学科学园智能温室中进行, 试材以伽师甜瓜为接穗, 云南黑籽南瓜为砧木; 采用无土育苗, 营养钵直径为 10 cm, 基质为经清洗的蛭石, pH 为 7。砧木于 03-12 播种, 伽师甜瓜推后 3 d 点播。于 03-22 采用插接法进行嫁接, 嫁接后用遮阳网适当遮荫并保湿。酚酸类物质为香草酸、香草醛和对-羟基苯甲酸, 由中国农业大学格瑞恩生物技术公司提供。

将嫁接成活的哈密瓜移栽入口径为 35 cm 的培养盆中, 基质为经过清洗的蛭石。3~5 d 缓苗后, 每 3 d 浇 1 次 1/4 甜瓜霍格兰营养液。两叶一心时改浇 1/2 营养液, 10 d 后用于试验。头瓜坐住后, 开始用不同浓度的香草酸(A)、香草醛(B)和对-羟基苯甲酸(C)灌根处理嫁接哈密瓜植株, 处理浓度分别为 50, 100, 150 $\mu\text{mol/L}$ (嫁接处理分别以 A 50, A 100, A 150; B 50, B 100, B 150; C 50, C 100, C 150 表示; 未嫁接处理分别以 CK_{A50}, CK_{A100}, CK_{A150}, CK_{B50}, CK_{B100}, CK_{B150}; CK_{C50}, CK_{C100}, CK_{C150} 表示), 每个处理 60 株, 随机排列, 重复 3 次。每处理嫁接与未嫁接幼苗各 30 盆, 每盆 1 株。株行距 45 cm $\times$ 80 cm, 用竹竿插架, 以自根苗为对照。处理后第 0, 7, 14, 21, 28 和 35 天进行嫁接哈密瓜植株生长和保护酶活性测定。营

^{*} [收稿日期] 2003-10-30

[基金项目] 教育部科学技术研究重点项目(2001DF02183)

[作者简介] 徐胜利(1966-), 男, 上海市人, 教授, 博士, 主要从事果蔬逆境生理及分子生物学研究。E-mail: slxe@hotmail.com

养液管理照常进行。

1.2 测定项目与方法

叶面积采用美国生产的 L F-COR-MDEL F-3000 型叶面积仪测定。果实迅速膨大期观察叶片数、叶面积、瓜形状、单瓜质量, 分前期和后期统计产量。结瓜中期晴天取瓜秧顶部下数第 3 片功能叶, 用美国产 L F-6200 便携式光合仪测定光合速率, 每处理 15 片叶, 计平均值。过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚比色法^[3]; 过氧化氢酶(CAT)活性测定采用碘量滴定法^[3]; 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用氮蓝四唑光还原法^[4]; 丙二醛(MDA)含量测定采用巴比妥酸显色法^[4]。

2 结果与分析

2.1 酚酸类物质对嫁接哈密瓜生长和产量的影响

采用酚酸类物质处理后, 结瓜期哈密瓜植株生长发育状况的测定结果如表 1 所示。从表 1 可见, 3 种酚酸类物质对嫁接哈密瓜的叶面积、雌花数、坐瓜率、正常瓜比例以及产量和品质均无明显影响, 而对对照的生长发育和产量、品质均有显著的抑制作用, 且随着处理浓度的增加, 抑制作用有增强的趋势。从 3 种酚酸类物质对对照生长和产量的抑制效应看, 香草酸> 香草醛> 对-羟基苯甲酸。

表 1 酚酸类物质对嫁接哈密瓜生长发育及产量品质的影响

Table 1 Effect of different phenolic acids on the development and yield quality of grafted muskmelon

处理 Treatment	叶面积/cm ² Leaf area	雌花数 Number of female flower	坐瓜率/% Fruit setting percentage	正常瓜比例/% Normal muskmelon	畸形瓜比例/% Unnormal muskmelon	前期产量/(kg·hm ⁻²) Early yield	后期产量/(kg·hm ⁻²) Later yield	总产量/(kg·hm ⁻²) Whole yield	单瓜质量/kg Single fruit mass	含糖量/(g·kg ⁻¹) Sugar content
A 50	267.2 a	15.5 a	31.3 a	97.4 a	2.6 eE	28 069.5 A	76 030.5 A	104 100.0 A	5.8 a	133 a
A 100	254.3 a	15.3 a	30.5 a	95.6 a	4.4 dD	27 886.3 A	75 874.3 A	103 760.6 A	5.7 a	132 a
A 150	246.5 a	14.7 a	29.8 a	94.3 a	5.7 cC	27 697.5 A	75 689.6 A	103 387.1 A	5.6 a	132 a
CKA 50	198.1 b	8.4 b	9.5 b	48.4 d	51.6 aA	15 816.0 B	35 805.0 B	51 621.0 B	4.2 b	94 b
CKA 100	181.2 c	7.3 b	7.4 b	43.5 d	56.5 aA	13 544.2 C	26 774.2 C	40 318.4 C	3.8 c	76 c
CKA 150	177.4 d	6.2 c	5.8 c	36.7 e	63.3 aA	11 765.6 D	18 794.4 D	30 560.0 D	2.6 d	57 d
B 50	264.3 a	15.4 a	30.6 a	96.4 a	3.6 dD	27 986.4 A	75 890.5 A	103 876.9 A	5.7 a	134 a
B 100	257.6 a	15.0 a	31.2 a	94.3 a	5.7 cC	27 874.2 A	75 234.1 A	103 108.3 A	5.7 a	133 a
B 150	254.7 a	14.8 a	28.8 a	94.1 a	5.9 cC	27 765.8 A	75 135.7 A	102 901.0 A	5.5 a	132 a
CKB 50	203.5 b	9.3 b	11.2 b	57.6 c	42.4 bB	15 765.3 B	35 574.2 B	51 339.5 B	4.3 b	95 b
CKB 100	200.6 b	8.0 b	8.7 b	53.2 c	46.8 bB	12 674.8 C	26 875.3 C	39 550.1 C	3.7 c	78 c
CKB 150	180.4 c	7.1 c	7.6 b	48.7 d	51.3 aA	10 897.2 D	17 986.8 D	28 884.0 D	2.9 d	59 d
C 50	256.8 a	15.4 a	31.5 a	95.5 a	4.5 dD	27 873.4 A	75 688.6 A	103 562.0 A	5.8 a	132 a
C 100	248.6 a	15.7 a	31.0 a	93.3 a	6.7 cC	27 654.7 A	74 887.9 A	102 542.6 A	5.7 a	133 a
C 150	255.1 a	15.0 a	30.7 a	92.7 a	7.3 cC	27 445.3 A	74 697.4 A	102 142.7 A	5.6 a	131 a
CKC 50	213.8 b	10.5 b	13.5 b	65.4 b	34.6 bB	15 631.5 B	35 667.2 B	51 298.7 B	4.4 b	96 b
CKC 100	211.3 b	9.2 c	10.6 b	60.2 b	39.8 bB	13 004.4 C	25 998.7 C	39 003.1 C	3.7 c	77 c
CKC 150	198.7 c	8.0 d	9.1 b	57.6 c	42.4 bB	10 332.1 E	19 788.5 D	30 120.6 D	2.8 d	58 d

注: LSR 测验, 不同大、小写字母分别表示 $P=0.01$, $P=0.05$ 差异水平。

Note: Means followed by the different capital and little letters are significantly different at $P=0.01$, 0.05 level (test Duncan, LSR method).

2.2 酚酸类物质对嫁接哈密瓜根系保护酶活性的影响

2.2.1 对嫁接哈密瓜根系 POD 活性的影响 由图 1 可见, 对嫁接哈密瓜植株进行香草酸、香草醛和对-羟基苯甲酸处理后, 与对照相比处理的 POD 活性均有显著增强, 处理后 28 d 活性达到峰值, 此后趋缓, 并达到较高水平, 但各处理间差异不显著。而对照(自根植株)根系 POD 活性于第 2 天达到峰值, 随后急剧下降, 第 21 天和第 28 天差异显著, 于第 35 天降到同一低点。同时, 随着 3 种酚酸类物质浓度的

升高, 对照自根植株根系中的 POD 活性明显降低, 3 种酚酸类物质对 POD 活性的作用效应呈香草酸> 香草醛> 对-羟基苯甲酸。而嫁接哈密瓜 POD 保护酶活性一直维持在高水平, 显示出了砧木的保护效应。可见, 采用黑籽南瓜作为砧木嫁接的哈密瓜, 较自根哈密瓜更能有效地抵御酚酸类物质的毒害。

2.2.2 对嫁接哈密瓜根系 CAT 活性的影响 由图 2 可以看出, 经过 3 种酚酸类物质处理后, 香草酸和香草醛处理的嫁接哈密瓜植株根系 CAT 活性于第 14 天达到峰值, 而对-羟基苯甲酸处理的于第 7

天达到高峰,随后一直维持较高水平,各处理间差异不显著。与对照比较,各处理根系的CAT活性均显著高于对照,表现出强烈的自身保护作用。对照从第7天开始,CAT活性急剧下降,到第35天时达到最低水平,特别是对照100,150 $\mu\text{mol/L}$ 处理后第7天

至第28天的CAT活性显著低于各嫁接处理,而再无回升趋势,说明该浓度较高,保护酶CAT对自根哈密瓜已经失去了自身保护能力。而嫁接哈密瓜CAT保护酶活性一直维持在较高水平,显示出了砧木的保护效应。

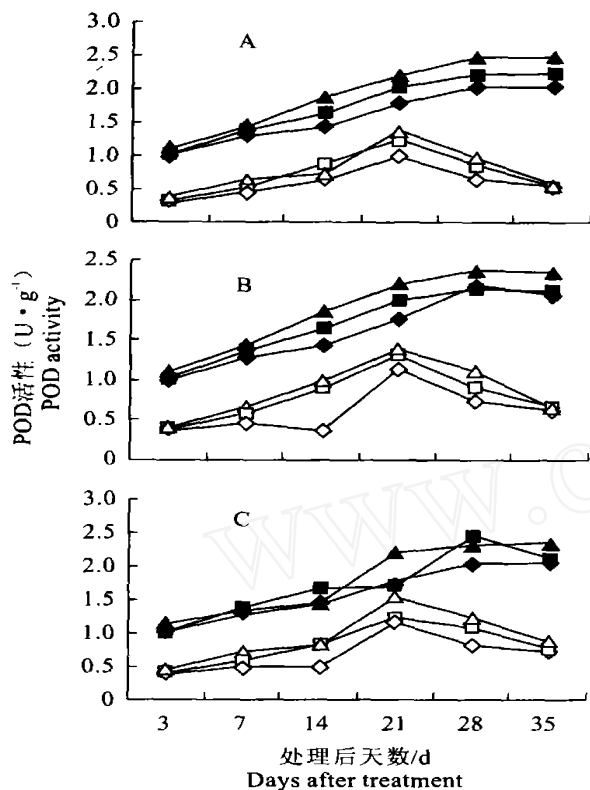


图1 酚酸类物质香草酸(A)、香草醛(B)、对-羟基苯甲酸(C)对嫁接哈密瓜植株根系POD活性的影响

Fig 1 The influence of vanillic acid, vanillin and P-hydroxy benzoic acids on POD activity in the roots of muskmelon

- ◇ - . 50 $\mu\text{mol/L}$; - □ - . 100 $\mu\text{mol/L}$; - △ - . 150 $\mu\text{mol/L}$
- ◇ - . CK 50 $\mu\text{mol/L}$; - □ - . CK 100 $\mu\text{mol/L}$;
- △ - . CK 150 $\mu\text{mol/L}$

2.2.3 对嫁接哈密瓜根系SOD活性和MDA含量的影响 由图3可见,在处理17d前,各处理的SOD活性均低于对照,但随着处理时间的延长其活性增强,并与对照的差距增大;第17天以后,各处理的SOD活性急剧上升。说明砧木根系SOD对活性氧具有积极的清除作用。对照自根哈密瓜在7d前SOD活性稳定升高,随后开始下降,尤其是高浓度处理(CKA100,CKA150,CKB100,CKB150,CKC100,CKC150)的SOD活性急剧下降,而低浓度处理(CKA50,CKB50,CKC50)的略有升高,说明SOD虽对活性氧具

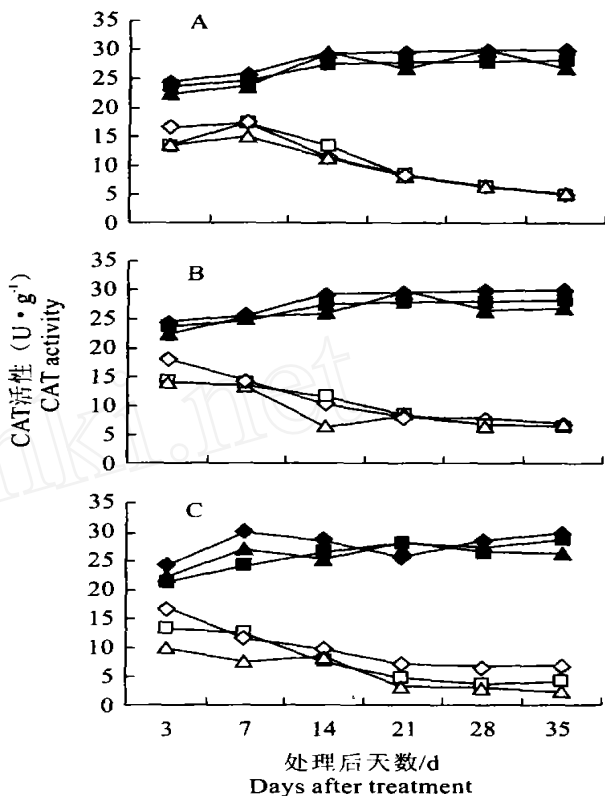


图2 酚酸类物质香草酸(A)、香草醛(B)、对-羟基苯甲酸(C)对嫁接哈密瓜植株根系CAT活性的影响

Fig 2 The influence of vanillic acid, vanillin and P-hydroxy benzoic acids on CAT activity in the roots of muskmelon

- ◇ - . 50 $\mu\text{mol/L}$; - □ - . 100 $\mu\text{mol/L}$; - △ - . 150 $\mu\text{mol/L}$
- ◇ - . CK 50 $\mu\text{mol/L}$; - □ - . CK 100 $\mu\text{mol/L}$;
- △ - . CK 150 $\mu\text{mol/L}$

有积极的清除作用,但浓度过高时,自根哈密瓜根系的SOD并不能正常发挥作用。图4显示,各处理的嫁接哈密瓜MDA含量变化比较平稳,并维持较低水平。而对照自根哈密瓜在低浓度酚酸处理时,MDA含量最终保持一个低水平,高浓度处理28d后MDA含量急剧增加。以上结果表明,高浓度酚酸条件下,对照自根哈密瓜产生大量的MDA,由此导致膜质损伤强烈,同时SOD活性急剧下降,从而显示出毒害作用。

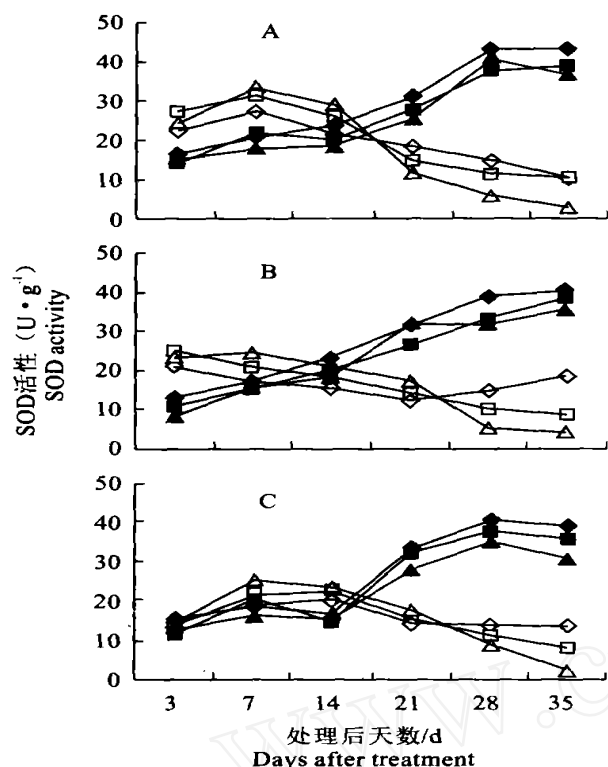


图 3 酚酸类物质香草酸(A)、香草醛(B)、对-羟基苯甲酸(C)对嫁接哈密瓜植株根系 SOD 活性的影响

Fig 3 The influence of vanillic acid, vanillin and P-hydroxy benzoic acids on SOD activity in the roots of muskmelon

- ◇ - . 50 $\mu\text{mol/L}$; - □ - . 100 $\mu\text{mol/L}$; - △ - . 150 $\mu\text{mol/L}$
 - ◇ - . CK 50 $\mu\text{mol/L}$; - □ - . CK 100 $\mu\text{mol/L}$;
 - △ - . CK 150 $\mu\text{mol/L}$

3 讨 论

3.1 POD, CAT, SOD 活性的变化

正常情况下, 植物细胞内自由基的产生与清除处于一种动态平衡, 一旦这种平衡被打破, 自由基便会积累, 当自由基积累到一定程度时, 膜内拟脂双分子层中含有的不饱和脂肪酸, 易于被自由基氧化分解而造成膜结构的破坏, 进而对植物造成伤害^[5]。逆境条件下, 植物体内代谢过程中产生和积累的自由基会对植物膜系统产生伤害, 但生物体本身有一种保护酶系统来清除自身产生的自由基, 以减轻其伤害, POD, CAT, SOD 就是植物保护系统的主要酶。本研究表明, 嫁接哈密瓜植株在 3 种酚酸类物质的作用下, 整个生长时期, 其 POD, CAT, SOD 均起到了积极的保护作用, 各处理嫁接哈密瓜植株的生长和产量均未受到明显影响。而自根哈密瓜植株(对照)在酚酸类物质作用下, 仅在早期其 POD, CAT

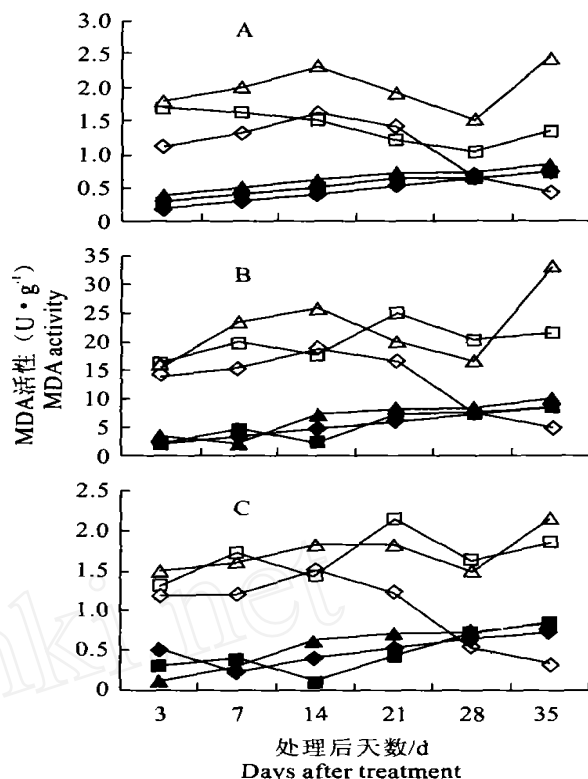


图 4 酚酸类物质香草酸(A)、香草醛(B)、对-羟基苯甲酸(C)对嫁接哈密瓜植株根系 MDA 含量的影响

Fig 4 The influence of vanillic acid, vanillin and P-hydroxy benzoic acids on MDA content in the roots of muskmelon

- ◇ - . 50 $\mu\text{mol/L}$; - □ - . 100 $\mu\text{mol/L}$; - △ - . 150 $\mu\text{mol/L}$
 - ◇ - . CK 50 $\mu\text{mol/L}$; - □ - . CK 100 $\mu\text{mol/L}$;
 - △ - . CK 150 $\mu\text{mol/L}$

和 SOD 出现了不同程度的保护作用, 而在高浓度下, 尤其到了中后期, 3 种酚酸类物质造成 POD 和 CAT 活性下降, 导致植株生长受到显著抑制和减产, 从而表明砧木的保护作用是显著的。

3.2 MDA 含量的变化

MDA 是膜脂过氧化的产物, 其含量可以用来反映逆境条件下细胞膜的稳定性。各处理嫁接哈密瓜植株 MDA 含量变化比较平稳, 且仅维持在一个较低的水平。而对照自根哈密瓜, 在低浓度酚酸条件下, MDA 含量下降; 高浓度酚酸作用下, 随着 SOD 清除作用的下降, MDA 含量急剧上升, 说明自由基积累, 膜脂过氧化加剧, 膜的透性增加, 造成离子渗漏, 严重影响了对照植株的营养吸收, 表现为植株生长受到抑制和减产。酚酸类物质可能通过根系的膜脂过氧化作用影响到细胞膜的透性, 从而影响到膜脂的结构和功能, 最终对自根哈密瓜产生毒害, 关于这一点, 还有待于进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] 徐胜利, 陈小青. 厚皮甜瓜育苗栽培的防病增产效果[J]. 中国蔬菜, 2000, (4): 16- 18
- [2] 喻景权, 王淑凤. 黄瓜根系分泌物对植物有害的物质[J]. 化学生态杂志, 1994, (20): 21- 31.
- [3] 张宪政, 陈凤玉, 王荣贵. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1998
- [4] 刘祖琪, 刘景德. 植物抗性生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1992 371- 372
- [5] 余叔文, 汤章成. 植物生理与分子生物学[M]. 北京: 科学出版社, 1998 770- 778
- [6] Maehly A C. Plant peroxidase[A]. Abelson J L, Simon M I. Methods in enzymology (Vol II) [C]. San Deigo: Academic Press, 1995 801 - 813
- [7] Baziramakenga R. Effect of benzoic and cinnamic acid on permeability of soybean roots[J]. J Chem Ecol, 1995, 10: 1272- 1281.
- [8] Blum U, Shafer S R. Microbial population and phenolic acids in soil[J]. Soil Biol Biochem, 1988, 20(6): 793- 800
- [9] Dao T H. Sorption and mineralization of plant phenolic acids in soil[J]. Allelochemicals, 1987, 3: 358- 370
- [10] Darcy L A. Study of soybean and lentil root exudates influence of soybean isoflavonoids on the growth of rhizobia and some rhizospheric microorganisms[J]. Plant and Soil, 1987, 101: 267- 272
- [11] Einhellig F A. Mechanism of action of allelochemical in allelopathy[J]. Allelopathy, 1995, 1: 97- 115

Effect of phenolic acids on growth and activities of membrane protective enzymes of muskmelon grafted on blackseed pumpkin

XU Sheng-li^{1,2,3}, CHEN Qing-yun², CHEN Xiao-qing¹, GAO Jiang-sheng¹

(1 College of Plant Science and Technology, Agricultural University of Talin Reclamation, Xinjiang, Alar 843300, China;

2 College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China;

3 College of Agriculture and Biotechnology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201101, China)

Abstract: Hami muskmelon was taken as experimental subject. Phenolic acids such as vanillic acid, vanillin and P-hydroxy benzoic acids treatments were applied to study the effects of phenolic on the growth and activities of protective enzymes of muskmelon. The results showed that the three types of phenolic acids inhibited the growth and yield of non-grafted muskmelon. The inhibitory effects were enhanced with increasing concentration of phenolic acids and prolonging time of treatment. Vanillic acid had stronger inhibition effect than vanillin and P-hydroxy benzoic acids. For protective enzymes system (peroxidase (POD), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD)), the result indicated that the grafted muskmelon POD, CAT and SOD activity increased from the beginning and under higher concentration and had a decrease of malonic aldehyde (MDA) content. However the control activity decreased in POD, CAT, SOD and increased in malonic aldehyde (MDA) content. It proved that little active oxygen was produced and protective enzymes were destroyed under all level concentration of phenolic acids in grafted muskmelon roots.

Key words: 'Hami' muskmelon; the growth of 'Hami' muskmelon; vanillic acid; vanillin; P-hydroxy benzoic acids; protective enzymes activity