

防腐剂胁迫下外源芸苔素内酯对玉米幼苗生长及抗性的影响

胡春红, 郭婕, 陈龙, 李季平, 乔琳, 何乐

(周口师范学院 生命科学与农学学院, 河南 周口 466001)

摘要: 采用改良土培法, 研究防腐剂胁迫下玉米幼苗对不同浓度芸苔素内酯处理的响应, 探索外源芸苔素内酯缓解防腐剂对玉米胁迫的适宜浓度。结果表明: 10.0 g/L 复合防腐剂(苯甲酸钠、山梨酸钾的质量比为 2:3)显著抑制玉米幼苗生长发育, 玉米出苗延迟, 植株矮化, 叶绿素含量、根系活力均降低, 膜过氧化加剧; 适宜浓度芸苔素内酯处理能提高玉米幼苗的抗性, 缓解复合防腐剂的胁迫, 且以质量浓度 0.12 mg/L 芸苔素内酯处理的效果最佳。

关键词: 玉米; 芸苔素内酯; 防腐剂胁迫; 改良土培法

中图分类号: S513; Q945.78

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2014)02-0113-04

Influence of exogenous brassinolide on the growth and resistance of maize seedling with preservative stress

HU Chun-hong, GUO Jie, CHEN Long, LI Ji-ping, QIAO Lin, HE Le

(College of Life Science and Agriculture, Zhoukou Normal University, Zhoukou, Henan 466001, China)

Abstract: In order to investigate the right dose of exogenous brassinolide on alleviating the compound preservative (the mass ratio of sodium benzoate to potassium sorbate was 2:3) stress, maize seedling was employed to test its response to various concentration of brassinolide by improved soil culture. The results showed that compound preservative with 10.0 g/L concentration had a significant inhibition on maize seedling, which resulted in seedling emergence delayed, plant dwarfed, chlorophyll content declined, root vigor lowered, and membrane peroxidation exacerbated. However, the resistance of maize seedlings to compound preservative could improve with applied appropriate concentration of brassinolide as well as alleviated its stress. The best concentration of brassinolide to alleviate the stress of compound preservative was 0.12 mg/L.

Key words: maize; brassinolide; preservatives stress; modified soil culture method

防腐剂的过量摄入对动物有害^[1], 对植物的生长发育也表现出显著的抑制作用和遗传毒性, 特别是复合防腐剂(苯甲酸钠和山梨酸钾)的毒害更大, 高浓度下可完全抑制幼苗生长和叶片发育^[2-4]。目前虽尚未见有关防腐剂对农业生产造成严重影响的报道, 但随着工业的发展, 防腐剂使用量逐年增加, 大量的防腐剂势必直接或间接进入土壤和水

源, 影响农作物的生长。芸苔素内酯(brassinolide, BR)是一种新型的植物生长调节剂。较低浓度的芸苔素内酯能促进植物生长, 增强植物抗性^[5-8]。人们已对芸苔素内酯作用下植物的多种抗胁迫机制^[9-11]及其生理生化特性^[12-13]进行了深入研究, 但芸苔素内酯是否能缓解防腐剂对农作物的胁迫尚未见报道。笔者结合前期研究结果^[2,4], 研究玉米幼苗在10.0

收稿日期: 2013-12-09

基金项目: 国家重点实验室项目(CB2013A15); 河南省科学技术厅科技计划项目(142300410310); 河南省教育厅自然科学研究计划重点项目(12A180029); 周口师范学院青年科研基金项目(zksyqn201325A)

作者简介: 胡春红(1978—), 女, 河南西华人, 硕士研究生, 讲师, 主要从事生物学教学与作物逆境生理研究, ourcarrot@163.com

g/L 复合防腐剂(苯甲酸钠和山梨酸钾的质量比为 2:3)胁迫下对不同浓度芸苔素内酯的响应,旨在探索缓解防腐剂对农作物胁迫的措施。

1 材料与方法

1.1 材料

玉米种子“吉祥1号”购于周口市农业科学院;苯甲酸钠、山梨酸钾和芸苔素内酯均为分析纯,购于市场。

1.2 培养土改良

为防止取样时伤及幼苗根部,按质量比 1:2 取大田细土和粗砂,充分混匀后于室内自然风干至含水量 8.5%,作为培养土。

1.3 材料培养与处理

挑选优质、籽粒饱满的玉米种子 1 200 粒,置于清水中催芽 6 h,然后均匀播种在 24 个均装有 2.5 kg 上述改良土的托盘(500 mm×700 mm×60 mm)中,即每托盘播种 50 粒种子,共设 8 个处理(表 1),每处理 3 个重复。各处理的具体操作方法:第 1 天,处理 1 托盘中均匀喷洒 70 mL 清水,其余处理托盘中分别均匀喷洒 70 mL 质量浓度为 10.0 g/L 的复合防腐剂;从第 2 天开始,连续 9 d,处理 3~8 托盘中分别喷洒 0.06、0.08、0.10、0.12、0.14、0.16 mg/L 的芸苔素内酯 60 mL,处理 1 和处理 2 托盘中均喷洒等量清水。整个试验过程中均将样品置于室温下培养,保持土壤湿润,并做好观察记录。

1.4 测定指标与方法

参照文献[14],培养后第 3 天和第 7 天分别统计幼苗的出苗情况,并计算出苗势和出苗率。培养后第 10 天,测定幼苗的根长、根粗、根鲜重、茎高、茎粗等形态学指标,其中,根长为根基部到根尖生长点之间的长度;茎高为最上根基部到生长点之间的高度;根鲜重指去除根部以上部分的鲜质量。

叶绿素(Chl)含量采用研磨提取法^[15]测定;丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸(TBA)法^[15]测定;脯氨酸(Pro)含量采用磺基水杨酸浸提法^[16]测定;根系活力(RV)采用氯化三苯基四氮唑(TTC)法^[15]测定。

1.5 数据分析

运用 SPSS 16.0 统计软件对出苗势和出苗率进行 χ^2 检验;对形态指标和生理指标采用 One-way ANOVA 方法进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 玉米出苗情况

由表 1 可知,与 CK₁ 相比,CK₂ 中玉米幼苗的出苗率和出苗势均有所降低,出苗势由 20%降至 14%,出苗率由 100%降至 96%,说明防腐剂抑制种子萌发,降低出苗速率,但 CK₁、CK₂ 出苗率间的差异和出苗势间的差异均无统计学意义。与 CK₂ 相比,处理 3 至处理 8 玉米的出苗率和出苗势均有一定程度增加,以处理 6 和处理 7 的最大,而且各处理的出苗势均大于 CK₁,表明芸苔素内酯可以缓解甚至解除防腐剂对玉米种子萌发的抑制作用,且以质量浓度 0.12~0.14 mg/L 的效果较佳。

表 1 玉米幼苗的出苗情况

处理	复合防腐剂质量 浓度/(g·L ⁻¹)	芸苔素内酯质量 浓度/(mg·L ⁻¹)	出苗势/ %	出苗率/ %
CK ₁	0.0	0.00	20	100
CK ₂	10.0	0.00	14	96
3	10.0	0.06	20	100
4	10.0	0.08	16	96
5	10.0	0.10	20	100
6	10.0	0.12	24	100
7	10.0	0.14	28	100
8	10.0	0.16	20	100

2.2 玉米幼苗的形态指标

由表 2 可知,与 CK₁ 相比,CK₂ 中玉米幼苗根长、根粗、根鲜重、茎高和茎粗均显著降低;根各指标间的差异均达到极显著水平;茎各指标间的差异均达到显著水平,表明复合防腐剂显著抑制玉米幼苗的生长发育。与 CK₂ 相比,处理 3~8 玉米幼苗的各形态指标值均不同程度地增加,其中处理 6 的各形态指标均达到最大值(根粗除外),与 CK₂ 间的差异除茎粗达到显著水平外,其余均达到极显著水平,并且根长、茎高、茎粗均大于 CK₁,表明芸苔素内酯可以缓解甚至解除防腐剂对幼苗的抑制作用,且以质量浓度 0.12 mg/L 的效果较佳。

表 2 玉米幼苗的形态指标

处理	根长/cm	根粗/mm	根鲜重/g	茎高/cm	茎粗/mm
CK ₁	10.26	1.772	0.305	2.80	3.421
CK ₂	6.96 ^{AA}	1.633 ^{AA}	0.213 ^{AA}	2.31 ^A	3.194 ^A
3	8.50*	1.609	0.279**	2.79*	3.339
4	8.84*	1.639	0.227	2.82*	3.322
5	9.41**	1.662	0.228	3.30**	3.320
6	12.02**	1.735**	0.300**	3.32**	3.452*
7	11.30**	1.761**	0.221	3.01**	3.343
8	9.32**	1.674	0.246	3.23**	3.338

^{AA}和^A示处理CK₂与CK₁之间的差异显著性分析结果, **和*示处理3~8与CK₂之间的差异显著性分析结果; ^A和*示差异显著; ^{AA}和**示差异极显著。下同。

2.3 玉米叶片的生理指标

由表3可知,与CK₁相比,CK₂中玉米幼苗叶片的叶绿素含量和根系活力降低,丙二醛和脯氨酸含量增加,且除脯氨酸含量间无统计学意义外,其余指标间的差异均达到极显著水平,表明复合防腐剂对玉米幼苗造成了严重的胁迫,导致质膜过氧化,细胞质膜透性增加,根系活力降低,吸收功能降低,生物合成代谢减弱,叶绿素含量减少,植株抗性降低。与CK₂相比,处理3~8的上述各生理指标均发生了良性转变,与CK₂间的差异除脯氨酸含量外,其余均达到了差异极显著水平,也表明芸苔素内酯能够缓解防腐剂对玉米幼苗的胁迫作用。这种缓解作用从处理3到处理6逐渐增强,但从处理6到处理8逐渐减弱,即处理6的缓解作用最佳,表明这种缓解作用具有显著的浓度依赖性。

表 3 玉米幼苗的生理指标

处理	叶绿素含量/ (mg·g ⁻¹)	丙二醛含量/ (mmol·g ⁻¹)	脯氨酸含量/ (μg·mL ⁻¹)	根系活力/ (mg·g ⁻¹ ·h)
CK ₁	1.886	0.98	0.029	0.939
CK ₂	1.274 ^{AA}	1.45 ^{AA}	0.033	0.709 ^{AA}
3	1.413**	1.28**	0.032	0.816**
4	1.417**	1.22**	0.031	0.777**
5	1.554**	1.19**	0.030	0.878**
6	1.646**	0.97**	0.029	0.888**
7	1.597**	1.62**	0.039	0.842**
8	1.580**	1.90**	0.042	0.788**

3 结论与讨论

本试验中,外源芸苔素内酯(BR)明显缓解了防

腐剂对玉米的胁迫作用。这可能是因为BR具有调控植物甾醇合成酶基因的表达^[17-18]、提高植物抗性、缓解逆境胁迫对植物伤害^[19-21]的特性。复合防腐剂的主要有效成分苯甲酸和山梨酸均可能通过干扰细胞膜上植物甾醇的合成而抑制植物的生长,因此,添加外源BR可缓解防腐剂对细胞膜上植物甾醇生物合成的干扰作用,从而降低防腐剂对细胞膜所造成的氧化伤害。另外,BR还可能进入细胞内发挥内源激素的作用,如通过调节植株幼苗根系无氧呼吸同工酶的表达量^[22],或类似NO激活根系细胞内抗氧化酶的活性^[23],提高玉米幼苗的抗性,促进幼苗的生长发育等。但较高质量浓度(>0.12 mg/L)的BR对防腐剂胁迫的缓解作用减弱,这可能与渗透压及激素自身的生理效应有关。

玉米出苗时受到防腐剂的胁迫作用显著低于玉米幼苗后期生长受到的胁迫作用,这可能是因为,播种前,种子在催芽期间已吸足了水分用于萌发,因此,种子播种到土壤的初期受防腐剂的抑制作用不明显;随着幼苗的生长,幼苗不断从土壤中获取水分和营养物质,大量防腐剂随之进入幼苗细胞,导致防腐剂对幼苗的胁迫作用增强。

综合分析结果表明,10.0 g/L复合防腐剂(苯甲酸钠和山梨酸钾的质量比为2:3)可通过干扰细胞膜上植物甾醇的生物合成而抑制玉米幼苗的生长发育;外源BR可提高玉米幼苗的抗性,缓解甚至解除复合防腐剂对玉米幼苗的胁迫作用,且以质量浓度0.12 mg/L时的效果较佳。

参考文献:

- [1] 吕娜. 食品防腐剂苯甲酸钠的毒理学研究[D]. 长春: 吉林农业大学动物科学技术学院, 2006.
- [2] 胡春红, 刘坤, 王红星, 等. 外源水杨酸缓解复合防腐剂对小麦幼苗生长的胁迫效应研究[J]. 华中师范大学学报: 自然科学版, 2013, 47(3): 393-396.
- [3] 刘文, 张春海, 张之峰, 等. 防腐剂山梨酸钾对蚕豆根尖细胞的遗传毒性[J]. 江苏大学学报: 医学版, 2004, 14(6): 489-493.
- [4] 胡春红, 史留功, 李淑梅, 等. 防腐剂浸种对玉米种子萌发及幼苗生长机理的研究[J]. 河南农业科学, 2012(5): 20-22.
- [5] Ali Abdel Aziz El-Mashad, Heba Ibrahim Mohamed. Brassinolide alleviates salt stress and increases antioxidant activity of cowpea plants (*Vigna sinensis*)[J]. Protoplasma, 2012, 249: 625-635.

- [6] Kazuo Soeno, Shozo Fujioka, Sayoko Hiranuma, et al. Metabolic conversion of castasterone and brassinolide into their glucosides in higher plants[J]. *Plant Growth Regulation*, 2006, 25: 195–202.
- [7] Pullman G S, Zhang Y, Phan B H. Brassinolide improves embryogenic tissue initiation in conifers and rice[J]. *Plant Cell Rep*, 2003, 22: 96–104.
- [8] 曹云英, 许锦彪, 赵华. 油菜素内酯对卷丹愈伤组织生长及分化的影响[J]. *吉林农业大学学报*, 2005, 27(2): 172–174.
- [9] Hitoshi Sake, Seiichi Fujii, Abgela Maria Imakawa, et al. Effect of brassinolide applied at the meiosis and flowering stages on the levels of endogenous plant hormones during grain-filling in the rice plant (*Oryza sativa* L.)[J]. *Plant Prod Sci*, 2003, 6(1): 36–42.
- [10] Takashi Shinohara, Katsushige Nakasone, Kiyoshi Tajima, et al. Effect of seed vigour on field emergence and early seeding growth of maize under arid tropical conditions[J]. *Trop Agr Develop*, 2009, 53(4): 112–127.
- [11] 王红红, 李凯荣, 侯华伟. 油菜素内酯提高植物抗逆性的研究进展[J]. *干旱地区农业研究*, 2005, 23(3): 213–219.
- [12] 邹华文, 陈凤玉, 郝建军, 等. 表高油菜素内酯浸种对玉米幼苗某些生理特性的影响[J]. *沈阳农业大学学报*, 2001, 32(6): 452–454.
- [13] 张林青. 油菜素内酯对盐胁迫下番茄幼苗生理指标的影响[J]. *北方园艺*, 2013(1): 1–3.
- [14] 张艺伟, 狄晓燕, 武冬梅, 等. 山西工矿区土壤 SO₂-PAHs 污染对玉米种子萌发和幼苗生长的影响[J]. *应用与环境生物学报*, 2013, 19(1): 134–140.
- [15] 刘萍, 李明军. 植物生理学试验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 39–42, 82–83, 150–152, 101–104.
- [16] 李合生. 植物生理生化试验原理[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 182–184, 258–260.
- [17] 何小钊, 徐慧妮, 龙娟, 等. 植物甾醇在植物逆境胁迫中的研究进展[J]. *生命科学研究*, 2013, 17(3): 267–273.
- [18] 张波, 刘河汝, 安秀峰, 等. 植物甾醇的安全性研究进展[J]. *中国食品卫生杂志*, 2013, 25(5): 478–482.
- [19] Tian J, Ban X Q, Zeng H, et al. The mechanism of antifungal action of essential oil from dill (*Anethum graveolens* L.) on *Aspergillus flavus*[J]. *PloS one*, 2012, 7(1): e30147.
- [20] Arthington-Skaggs B A, Lee-Yang W, Ciblak M A, et al. Comparison of visual and spectrophotometric methods of broth microdilution MIC end point determination and evaluation of a sterol quantitation method for *in vitro* susceptibility testing of fluconazole and itraconazole against trailing and nontrailing *Candida* isolates[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2002, 46(8): 2477–2481.
- [21] Arthington-Skaggs B A, Warnock D W, Morrison C J. Quantitation of *Candida albicans* ergosterol content improves the correlation between *in vitro* antifungal susceptibility test results and *in vivo* outcome after fluconazole treatment in a murine model of invasive candidiasis[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2000, 44(8): 2081–2085.
- [22] 陆晓民, 孙锦, 郭世荣, 等. 低氧胁迫下 24-表油菜素内酯对黄瓜幼苗根系生长及其无氧呼吸同工酶表达的影响[J]. *生态学杂志*, 2011, 30(11): 2497–2502.
- [23] 刘建新, 王瑞娟, 贾海燕. 硝普钠缓解镉引起的黑麦草幼苗生长抑制和根系氧化损伤[J]. *植物研究*, 2012, 32(6): 680–684, 688.

责任编辑: 王赛群

英文编辑: 王 库