

亚精胺对渗透胁迫下甜瓜幼苗膜脂 过氧化和抗氧化系统的影响

孙天国^{1,2}, 张梅娟^{1,2}, 马天意^{1,2}, 翟莹^{1,2}, 李想¹

(1. 齐齐哈尔大学生命科学与农林学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006;

2. 抗性基因工程与寒地生物多样性保护黑龙江省重点实验室, 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

摘要:为探讨多胺提高作物抗渗透胁迫的生理机制,以甜瓜品种‘齐甜2号’为材料,采用营养液法培养甜瓜幼苗,以15% PEG-6000模拟渗透胁迫,研究1 mmol·L⁻¹亚精胺(Spd)对不同渗透胁迫时间下甜瓜幼苗的生长、活性氧代谢、抗氧化酶活性、渗透调节物质和非酶抗氧化剂的影响。结果表明:渗透胁迫后4 d,与胁迫处理相比,1 mmol·L⁻¹ Spd处理使甜瓜幼苗生物量提高11.34%,根系活力提高24.20%;叶片和根系H₂O₂含量、O₂⁻产生速率、MDA含量和相对电解质渗透率降低,叶片中分别降低30.72%、29.99%、29.34%和14.62%,根中分别降低29.33%、25.31%、28.23%和20.34%。Spd诱导甜瓜叶片和根系中抗氧化酶活性增加,与胁迫处理相比,叶中SOD、POD、CAT和APX抗氧化酶活性分别提高25.54%、28.70%、27.72%和28.41%,根中分别提高23.35%、27.38%、25.06%和20.34%。与渗透胁迫处理相比,Spd处理在渗透胁迫后16 d甜瓜幼苗叶片脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白的含量分别增加46.51%、49.72%和40.25%;渗透胁迫后16 d幼苗叶片ASA含量增加62.50%,渗透胁迫后12 d幼苗叶片GSH含量增加37.17%,ASA/DHA和GSH/GSSG分别提高74.46%、60.95%。说明在渗透胁迫下1 mmol·L⁻¹浓度Spd能够促进甜瓜幼苗生长,稳定生物膜系统,增强甜瓜幼苗抗氧化能力,有效缓解渗透胁迫对甜瓜幼苗伤害的作用。

关键词:亚精胺;甜瓜幼苗;渗透胁迫;膜脂过氧化;抗氧化系统

中图分类号:S143.8;S652 **文献标志码:**A

Effects of spermidine on membrane lipid peroxidation and antioxidative system of melon seedling under osmotic stress

SUN Tianguo^{1,2}, ZHANG Meijuan^{1,2}, MA Tianyi^{1,2}, ZHAI Ying^{1,2}, LI Xiang¹

(1. College of Life Sciences, Agriculture and Forestry, Qiqihar University, Qiqihar, Heilongjiang 161006, China;

2. Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Resistance Gene Engineering and Protection of Biodiversity
in Cold Areas, Qiqihar, Heilongjiang 161006, China)

Abstract: To explore the physiological mechanism of polyamine to improve the drought tolerance of melon, 15% polyethylene glycol (PEG-6000) was used to simulate osmotic stress and with ‘Qi Tian No. 2’ cultivated by nutrient solution as the experiment material. The effects of 1 mmol·L⁻¹ spermidine (Spd) on the growth, reactive oxygen metabolism, antioxidant enzyme activity, osmotic regulating substances and non-enzymatic antioxidants of melon seedlings at different drought times were investigated. The results showed that after 4 days of osmotic stress, 1 mmol·L⁻¹ Spd increased the biomass of melon seedlings by 11.34% and the root activity of melon seedlings by 24.20%. The H₂O₂ content, O₂⁻ production rate, MDA content and electrolyte leakage of melon leaves and roots were reduced by 30.72%, 29.99%, 29.34% and 14.62% respectively in leaves, and 29.33%, 25.31%, 28.23% and 20.34%, respectively in roots. The antioxidant enzyme activities of SOD, POD, CAT and APX were increased by 25.54%, 28.70%, 27.72% and 28.41% in leaves, and increased by 23.35%, 27.38%, 25.06% and 20.34% in roots, respectively. Compared with osmotic stress treatment, the contents of proline, soluble sugar and soluble protein in leaves of melon seedlings under Spd treatment increased by 46.51%, 49.72% and 40.25% after 16 days of osmotic stress. After 16 days of osmotic stress, the content of ASA in melon seedlings increased by 62.50%.

After 12 days of osmotic stress, the content of GSH increased by 37.17%, ASA/DHA increased by 74.46%, GSH/GSSG increased by 60.95%. Therefore, under osmotic stress, 1 mmol · L⁻¹ Spd can promote the growth of melon seedlings, stabilize the cell membrane system, enhance the antioxidant capacity of melon seedlings, and effectively alleviate the damage of osmotic stress on melon seedlings.

Keywords: spermidine; melon seedling; osmotic stress; membrane lipid peroxidation; antioxidative systems

随着全球变暖趋势加剧,干旱已经成为威胁农业发展的重要限制因子^[1]。近年来,学者研究发现多胺在缓解植物渗透胁迫、盐胁迫和高温胁迫等逆境胁迫中发挥着重要作用^[2-4]。多胺是一种具有强烈生理活性的含氮碱性化合物,广泛分布于植物各器官中,细胞中多胺生物合成与细胞分裂活跃程度有关^[5]。在非生物胁迫下,多胺能够清除植物体中的自由基,调节阴阳离子平衡和渗透平衡,与植物胁迫耐性调控密切相关^[6]。多胺主要包括亚精胺(Spermidine, Spd)、腐胺(Putrescine, Put)和精胺(Spermine, Spm)3种^[7],其中Spd具有独特的分子结构,与植物抗逆性的关系更加密切,多应用于抗逆性研究^[8]。张春梅等^[9]研究发现,叶面喷施Spd可使番茄幼苗的净光合速率和气孔导度显著提高;彭丹丹等^[10]研究发现Spd浸种能够有效提高渗透胁迫下白三叶种子的萌发能力;杜红阳等^[11]发现亚精胺通过提高脯氨酸的积累,有效提高了小麦抵抗渗透胁迫的能力;李丽杰等^[12]发现Spd通过增加玉米渗透调节物质的积累加强了细胞膜系统的稳定性,使玉米幼苗对干旱逆境的适应性增强。

前人关于Spd对植物抗逆性影响的研究多集中于粮食作物和蔬菜类,而在甜瓜方面的研究很少。甜瓜(*Cucumis melo* L.)是我国重要的水果,因其营养丰富、果肉细腻、口感香甜而受到人们的喜爱,我国甜瓜种植面积和消费数量均居世界首位^[13]。由于我国农业水资源严重不足,甜瓜的生产多年来受到干旱的制约。本研究以薄皮甜瓜为材料,探讨外施Spd对渗透胁迫下甜瓜幼苗生长和生理活性的变化,揭示Spd提高甜瓜幼苗抗渗透胁迫的生理机制,以为甜瓜的抗逆性生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试甜瓜品种为薄皮甜瓜‘齐甜2号’,购于齐齐哈尔种业公司。

1.2 试验方法

1.2.1 甜瓜培育 试验于2021年4—8月在齐齐哈尔大学植物资源试验室开展,采用0.1% HgCl₂浸泡甜瓜种子4 min进行消毒,再用无菌水多次浸泡冲

洗。将清洗后的种子放在铺有棉花和滤纸的培养皿中,置于28℃人工气候箱中催芽,将出芽的种子移栽到装有土壤和蛭石的育苗盘中,每盘100粒,并将育苗盘置于无菌培养室(28℃,相对湿度60%,光照/黑暗为12 h/12 h)培育幼苗。每4 d用50% Hoagland营养液浇灌,待幼苗第3片真叶展开时,选择长势较好的幼苗定苗,每盘70株,转到温室大棚中生长。

1.2.2 试验处理 试验分3组,每组70株,将甜瓜幼苗定植于盛有50% Hoagland营养液的水槽中培养40 d开始处理:(1)对照组(CK):50% Hoagland营养液培养;(2)干旱组(Dry):含有15% PEG-6000的Hoagland营养液培养;(3)Spd处理组(Dry+Spd):15% PEG-6000 Hoagland营养液+1 mmol · L⁻¹ Spd培养。分别在试验处理后4、8、12 d和16 d采样测定指标,各指标测量3次取平均值;每次取样后更换营养液。

1.3 测定项目

1.3.1 幼苗生长指标 将幼苗从育苗盘取出,并将地上和地下部分分开,水洗后用滤纸吸干表面水分,称取鲜质量后置于120℃烘箱中7 min,温度降至80℃烘干至恒重,用分析天平称干质量,取12株幼苗的平均值计算鲜质量和干质量;根系活力用TTC法测定^[14]。

1.3.2 幼苗生理指标 根据Talaat等^[15]的方法测定H₂O₂含量;根据Elstner和Heupel^[16]的方法测定O₂⁻产生速率;MDA含量和相对电解质渗透率依据李丽杰^[17]的方法测定;SOD、POD活性和CAT活性分别采用NBT、愈创木酚法和紫外吸收法测定^[18];APX活性根据Guo等^[19]的方法测定;脯氨酸含量、可溶性糖含量和可溶性蛋白含量分别采用茚三酮比色法、蒽酮比色法和考马斯亮蓝法测定^[20];还原型抗坏血酸(ASA)和氧化型抗坏血酸(DHA)含量参照赵云霞等^[21]的方法测定;还原型谷胱甘肽(GSH)和氧化型谷胱甘肽(GSSG)含量按照Hodges等^[22]的方法测定。

1.4 数据分析

试验数据采用SPSS 22.0 One-way ANOVA分析,使用Microsoft Excel 2016绘图,数据取3次重复平均值。

2 结果与分析

2.1 外源 Spd 对渗透胁迫下甜瓜幼苗生长的影响

如表 1 所示,随着渗透胁迫时间的延长,甜瓜幼苗地上和地下部干质量较 CK 显著下降,渗透胁迫后 4 d 地上和地下部干质量分别下降 12.66% 和 17.65%,胁迫后 16 d 分别下降 44.30% 和 52.87%。Spd 处理后不同渗透胁迫时间下生物量均得到提高,但提高比例随渗透胁迫处理时间推进逐渐减小,处理 4 d 后地上和地下部干质量分别较 Dry 处理显著增加 10.14% 和 14.29%,且与 CK 差异不显著;处理 16 d 后地上和地下部干质量分别增加 6.02% 和 7.31%,地上部与 Dry 处理间差异不显著,说明渗透胁迫处理和 Spd 处理时地下部比地上部更加敏感。

随着渗透胁迫时间的增加,甜瓜幼苗根系活力逐渐降低(表 2),渗透胁迫后 16 d 根系活力较 CK 下降 76.84%;外源 Spd 的施用有效提高了各渗透胁迫时间下的根系活力,与 Dry 处理相比,Dry+Spd 处理 4 d 后活力增加 24.20%,8 d 后增加 19.04%,12 d 后增加 10.12%,16 d 后增加 8.61%,除处理后 16 d 外,其余处理时间差异均达显著水平。

2.2 外源 Spd 对渗透胁迫下甜瓜幼苗 H_2O_2 含量、 O_2^- 产生速率、MDA 含量和相对电解质渗透率的影响

甜瓜幼苗在渗透胁迫下叶片和根系中活性氧(ROS)升高,随着渗透胁迫时间增加, H_2O_2 含量、 O_2^-

产生速率、MDA 含量和相对电解质渗透率与 CK 相比大幅增加(表 3)。渗透胁迫后 4 d 叶片和根系中 H_2O_2 含量分别增加 60.24% 和 62.87%,胁迫 16 d 分别为对照的 3.92 倍和 3.80 倍。渗透胁迫后 4 d 叶片 O_2^- 产生速率增加 51.37%,根系增加 53.82%;渗透胁迫 16 d 增幅最大,叶片和根系分别为 CK 的 2.71 倍和 3.06 倍。MDA 含量在渗透胁迫 4 d 时增加幅度最小,叶片和根系分别增加 59.55% 和 70.61%;渗透胁迫后 16 d 时增幅最大,分别为 CK 的 2.07 倍和 2.27 倍。渗透胁迫下甜瓜幼苗相对电解质渗透率发生了较大变化,渗透胁迫后 4 d 叶片和根系中分别增加 21.60% 和 45.80%,渗透胁迫后 16 d 分别增加 91.38% 和 100.42%。表明甜瓜幼苗在渗透胁迫下叶片和根系细胞膜透性增大,稳定性下降,且对根系的氧化损伤更大。

施用外源 Spd 有效降低了渗透胁迫对细胞膜的破坏,在渗透胁迫后 4 d 的效果最为显著,叶片和根系的 H_2O_2 含量较 Dry 处理分别降低 30.72% 和 29.33%, O_2^- 产生速率分别降低 29.99% 和 25.31%,MDA 含量分别降低 29.34% 和 28.23%,相对电解质渗透率分别降低 14.62% 和 23.69%;随着渗透胁迫时间的增加,Spd 对胁迫的缓解效果仍较显著,处理后 16 d 叶片和根系 H_2O_2 含量分别降低 14.07% 和 19.67%, O_2^- 产生速率分别降低 15.42% 和 13.72%,MDA 含量分别降低 17.59% 和 18.46%,相对电解质渗透率分别降低 13.16% 和 16.63% ($P < 0.05$)。说明 Spd 减少 ROS 累积和减弱自动氧化速率的调控作用十分有效。

表 1 外源亚精胺对渗透胁迫下甜瓜幼苗干质量的影响/(g·株⁻¹)

Table 1 Effects of exogenous spermidine on the dry mass of melon seedlings under osmotic stress/(g·plant⁻¹)

处理 Treatment	处理后 4 d 4 days after treatment		处理后 8 d 8 days after treatment		处理后 12 d 12 days after treatment		处理后 16 d 16 days after treatment	
	地上部 Shoot	地下部 Root	地上部 Shoot	地下部 Root	地上部 Shoot	地下部 Root	地上部 Shoot	地下部 Root
	CK	0.79±0.06a	0.34±0.03a	0.95±0.11a	0.45±0.04a	1.24±0.13a	0.69±0.07a	1.49±0.20a
Dry	0.69±0.04b	0.28±0.03b	0.73±0.06c	0.34±0.04c	0.79±0.09c	0.38±0.05c	0.83±0.09b	0.41±0.01c
Dry+Spd	0.76±0.05a	0.32±0.04a	0.80±0.07b	0.38±0.02b	0.85±0.07b	0.41±0.06b	0.88±0.09b	0.44±0.01b

注:同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$),下同

Note: Values with different lowercase letters in the same column are significantly different among treatments ($P < 0.05$), the same below.

表 2 外源亚精胺对渗透胁迫下甜瓜幼苗根系活力的影响/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)

Table 2 Effects of exogenous spermidine on the root activity of melon seedlings under osmotic stress

处理 Treatment	处理后 4 d 4 days after treatment	处理后 8 d 8 days after treatment	处理后 12 d 12 days after treatment	处理后 16 d 16 days after treatment
CK	36.79±4.20a	38.25±4.43a	40.57±5.24a	42.61±5.07a
Dry	27.36±2.53c	21.43±2.31c	18.38±1.37c	9.87±0.90b
Dry+Spd	33.98±3.13b	25.51±2.48b	20.24±2.08b	10.72±1.14b

2.3 外源 Spd 对渗透胁迫下甜瓜幼苗抗氧化酶活性的影响

在渗透胁迫下甜瓜幼苗叶片和根系 SOD 和 APX 活性先升高后降低(表 4),均在渗透胁迫 8 d 达到最大值,与 CK 相比,叶片和根系中 SOD 活性分别增加 25.96% 和 32.45% ($P < 0.05$),APX 活性分别增加 62.50% 和 66.00% ($P < 0.05$);渗透胁迫后 16 d

Dry 处理 SOD 和 APX 活性降到最低,叶片和根系中 SOD 活性降幅分别达 54.27% 和 55.79%, APX 活性分别下降 60.87% 和 53.19%。POD 和 CAT 的变化趋势相同,在渗透胁迫 4 d 达到最大值,叶片和根系的 POD 活性分别增加 17.32% 和 29.10% ($P < 0.05$), CAT 活性分别增加 37.92% 和 39.54% ($P < 0.05$); 渗透胁迫后 16 d, 叶片和根系的 POD 活性分别下降 77.44% 和 82.00%, CAT 活性分别降低 78.66% 和 81.98%, 降幅均为最大。

4 种酶的活性在外源 Spd 的诱导下均有所上升,渗透胁迫时间越短活性提高越显著。与 Dry 处理相比,渗透胁迫后 4 d 甜瓜幼苗叶片 SOD、POD、CAT 和 APX 酶活性分别提高 25.54%、28.70%、27.72% 和 28.41% ($P < 0.05$), 根系中分别提高 23.35%、27.38%、25.06% 和 20.34% ($P < 0.05$); 而渗透胁迫后 16 d 叶片中 4 种酶活性分别提高 9.82%、

8.90%、8.99% 和 7.41%, 根系中分别提高 10.39%、9.18%、9.59% 和 9.09%, 差异均不显著 ($P > 0.05$)。说明 Spd 通过调节抗氧化酶活性有效降低了渗透胁迫对甜瓜幼苗的伤害,但是渗透胁迫时间较长时发挥的作用有限。

2.4 外源 Spd 对渗透胁迫下甜瓜幼苗叶片渗透调节物质含量的影响

由图 1 可见,随着渗透胁迫时间延长,甜瓜幼苗叶片脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白的含量逐渐升高,渗透胁迫后 16 d 这 3 个指标均显著提高并达到最大值,与 CK 相比分别增加 54.11%、99.47% 和 84.00%。外源施用 Spd 后 3 种物质的含量随着渗透胁迫时间延长增加显著,处理后 16 d 较 Dry 处理分别增加 46.51%、49.72% 和 40.25%。说明渗透胁迫能够诱导甜瓜幼苗的渗透调节物质的积累,外源 Spd 使得这些物质的含量增加。

表 3 外源 Spd 对渗透胁迫下甜瓜幼苗 H_2O_2 、MDA 含量、 O_2^- 产生速率和相对电解质渗透率的影响

Table 3 Effects of exogenous Spd on contents of MDA and H_2O_2 , O_2^- production rate, electrolyte leakage in melon seedlings under osmotic stress

处理后天数 Days after treatment/d	处理 Treatment	H_2O_2 含量/(nmol·min ⁻¹)		O_2^- 产生速率/(nmol·min ⁻¹)		MDA 含量/(μ mol·min ⁻¹)		相对电解质渗透率/%	
		H_2O_2 content		O_2^- production rate		MDA content		Electrolyte leakage	
		叶片 Leaf	根系 Root	叶片 Leaf	根系 Root	叶片 Leaf	根系 Root	叶片 Leaf	根系 Root
4	CK	61.54±6.20c	54.32±5.27c	98.64±9.31c	87.25±8.34c	2.67±0.24c	2.45±0.21c	18.56±1.42b	20.35±2.04c
	Dry	98.61±9.64a	88.47±8.31a	149.31±11.58a	134.21±12.56a	4.26±0.41a	4.18±0.46a	22.57±2.36a	29.67±2.51a
	Dry+Spd	68.32±7.21b	62.52±6.53b	104.53±9.88b	100.24±11.20b	3.01±0.28b	3.00±0.34b	19.27±2.13b	22.64±2.16b
8	CK	64.38±5.43c	55.82±5.64c	95.38±8.94c	85.29±8.24c	2.68±0.23c	2.41±0.23c	17.62±1.52c	19.86±1.57c
	Dry	157.36±12.37a	147.35±13.26a	175.67±15.34a	152.64±14.36a	4.76±0.42a	4.83±0.49a	26.18±2.37a	32.85±3.06a
	Dry+Spd	114.32±9.62b	109.60±10.39b	134.75±12.36b	124.57±12.46b	3.34±0.32b	3.67±0.32b	21.54±2.06b	22.58±2.21b
12	CK	65.12±6.24c	54.95±5.38c	98.21±8.67c	84.81±8.26c	2.75±0.28c	2.52±0.23c	17.80±1.27c	20.59±2.04c
	Dry	197.51±14.38a	186.34±17.52a	244.67±20.58a	229.84±20.26a	5.08±0.51a	5.57±0.52a	30.57±3.10a	38.54±3.42a
	Dry+Spd	143.68±12.45b	140.65±13.52b	201.56±18.68b	183.64±18.25b	3.99±0.42b	4.66±0.45b	24.87±2.16b	31.87±3.10b
16	CK	62.86±5.87c	57.20±5.43c	102.88±9.86c	86.42±8.72c	2.88±0.23c	2.62±0.25c	19.25±1.67c	21.24±2.05c
	Dry	246.38±21.57a	217.63±20.37a	278.52±23.14a	264.57±24.39a	5.97±5.30a	5.96±0.58a	36.84±3.45a	42.57±4.19a
	Dry+Spd	211.72±18.60b	174.82±14.32b	235.57±21.34b	228.27±21.52b	4.92±0.40b	4.86±0.45b	31.99±2.61b	35.49±3.57b

表 4 外源 Spd 对渗透胁迫下甜瓜幼苗抗氧化酶活性的影响

Table 4 Effects of exogenous Spd on antioxidant enzyme activities in melon seedlings under osmotic stress

处理后天数 Days after treatment/d	处理 Treatment	SOD/(U·g ⁻¹)		POD/(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)		CAT/(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)		APX/(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	
		SOD		POD		CAT		APX	
		叶片 Leaf	根系 Root	叶片 Leaf	根系 Root	叶片 Leaf	根系 Root	叶片 Leaf	根系 Root
4	CK	87.63±7.65c	91.32±9.34c	32.79±2.89c	24.67±2.37c	3.27±0.31c	3.06±0.28c	0.67±0.05c	0.48±0.03c
	Dry	98.30±8.61b	110.75±10.31b	38.47±3.51b	31.85±3.20b	4.51±0.46b	4.27±0.51b	0.88±0.08b	0.59±0.06b
	Dry+Spd	123.41±9.11a	136.61±10.20a	49.51±3.12a	40.57±2.14a	5.76±0.40a	5.34±0.37a	1.13±0.08a	0.71±0.06a
8	CK	89.37±8.31c	90.35±9.64c	34.64±3.84a	27.51±2.64a	3.95±0.33a	3.57±0.36a	0.64±0.05c	0.50±0.04c
	Dry	112.57±11.42b	119.67±12.46b	21.43±1.97c	14.32±1.25c	1.84±0.15c	1.46±0.15c	1.04±0.10b	0.83±0.07b
	Dry+Spd	135.63±10.43a	139.71±11.57a	26.45±2.37b	17.36±2.12b	2.65±0.27b	2.79±0.22b	1.26±0.09a	0.96±0.06a
12	CK	86.89±8.57a	88.59±7.65a	35.76±3.42a	26.19±2.43a	3.72±0.34a	3.53±0.34a	0.66±0.06a	0.51±0.04a
	Dry	64.32±6.27b	59.54±5.76c	14.53±3.23c	12.79±1.41c	1.27±0.14c	1.13±0.10c	0.47±0.04b	0.37±0.03c
	Dry+Spd	75.36±7.35c	66.37±7.03b	18.87±1.98b	17.83±1.87b	2.43±0.15b	2.27±0.17b	0.54±0.04b	0.41±0.03b
16	CK	90.38±8.14a	89.51±7.94a	33.87±3.27a	29.66±2.85a	4.17±0.41a	4.05±0.38a	0.69±0.06a	0.47±0.04a
	Dry	41.33±4.58b	39.57±4.27b	7.64±0.81b	5.34±0.63b	0.89±0.10b	0.73±0.09b	0.27±0.03b	0.22±0.01b
	Dry+Spd	45.39±5.27b	43.68±5.17b	8.32±1.21b	5.83±1.02b	0.97±0.11b	0.80±0.10b	0.29±0.03b	0.24±0.02b

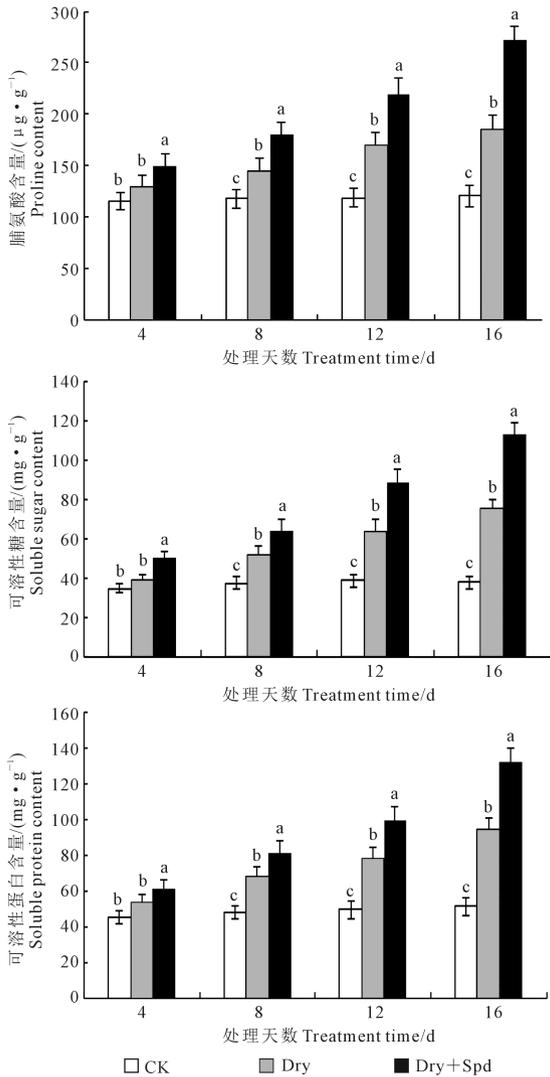


图 1 外源 Spd 对渗透胁迫下甜瓜幼苗叶片渗透调节物质含量的影响

Fig.1 Effects of exogenous Spd on osmoregulation substance in leaves of melon seedling under osmotic stress

2.5 外源 Spd 对渗透胁迫下甜瓜幼苗叶片 ASA-GSH 循环物质含量的影响

植物体内的 ROS 可以被抗坏血酸-谷胱甘肽循环(ASA-GSH)中重要的抗氧化物质清除。由图 2 可知,甜瓜幼苗叶片 ASA 含量随着渗透胁迫时间延长逐渐降低,渗透胁迫 16 d 后 ASA 含量较 CK 下降 57.07%;而 DHA 含量表现为逐渐升高,在渗透胁迫 16 d 后升高 152.00%;Spd 处理后甜瓜幼苗 ASA 含量较 Dry 处理显著增加,渗透胁迫后 16 d 增幅(62.50%)最大,而 DHA 的含量降低,在渗透胁迫后 16 d 降低 19.05% ($P < 0.05$)。在 Spd 作用下甜瓜叶片 ASA/DHA 值较渗透处理均显著提高,其中渗透胁迫 12 d 增幅最大,提高 74.46%。

GSH 在植物体内过氧化物清除中发挥重要作用,渗透胁迫下甜瓜幼苗 GSH 和 GSSG 含量与 CK 相

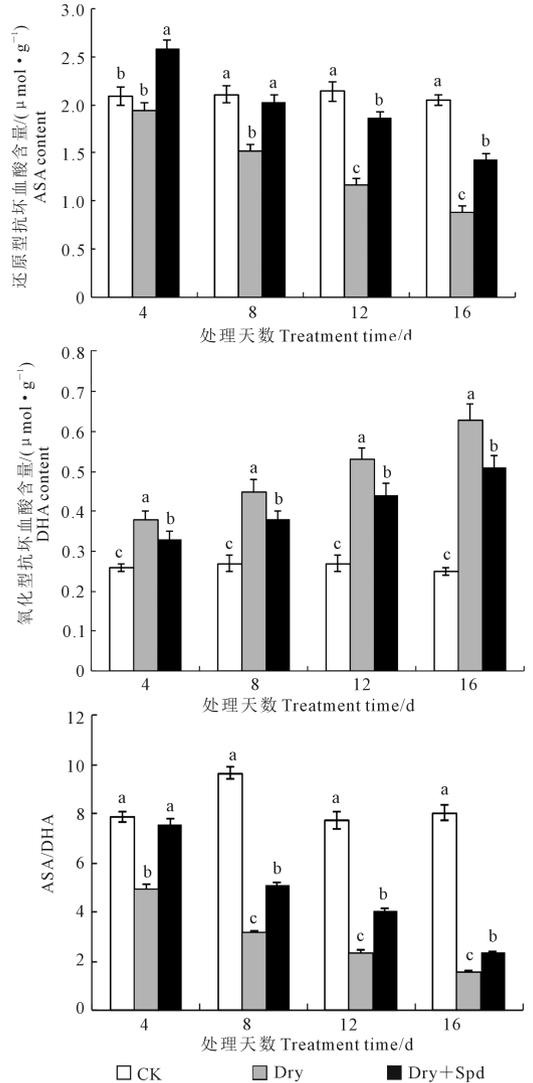


图 2 外源 Spd 对渗透胁迫下甜瓜叶片 ASA、DHA 含量和 ASA/DHA 的影响

Fig.2 Effects of exogenous Spd on contents of ASA and DHA, and ASA/DHA ratios in leaves of melon under osmotic stress

比显著升高(图 3),渗透胁迫后 16 d 增幅最大,分别增加 56.23% 和 85.56%;随着渗透胁迫时间延长,GSH/GSSG 值逐渐下降,渗透胁迫后 16 d 下降 19.43% ($P < 0.05$)。与 Dry 处理相比,Spd 处理甜瓜幼苗 GSH 含量显著增加,渗透胁迫后 12 d 增幅(37.17%)最大;而 GSSG 含量降低,渗透胁迫后 4 d 下降 16.94% ($P < 0.05$),降幅最大;GSH/GSSG 值大幅增加,在渗透胁迫后 12 d 增幅(60.95%)最大。说明外源 Spd 对 ASA-GSH 循环物质含量具有一定的调节作用。

3 讨论与结论

生物量发生变化是植物在遭遇干旱胁迫时的重要反应,本研究中渗透胁迫下甜瓜幼苗的地上部和地下部干质量显著下降,根系活力降低明显,外源 Spd 的施用对渗透胁迫起到显著缓解作用,地

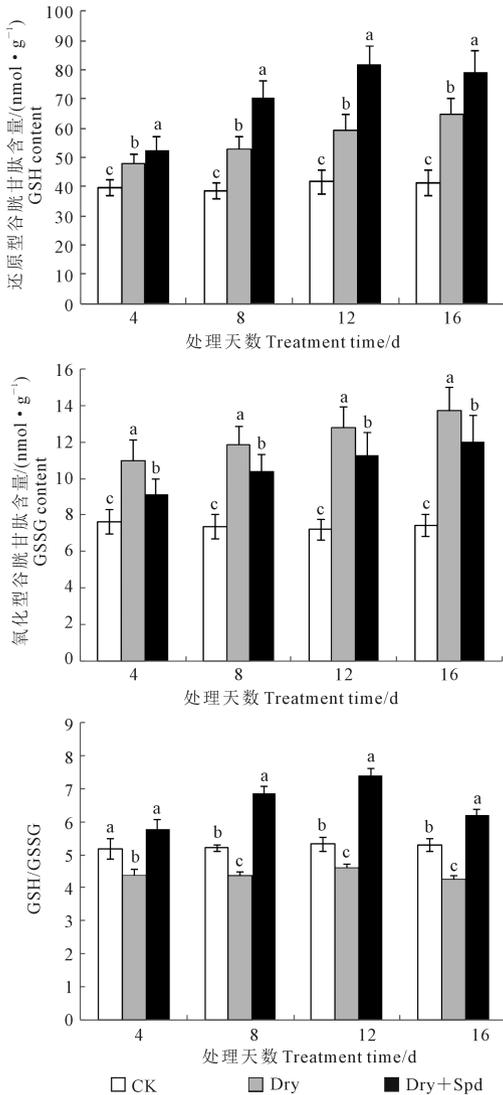


图 3 外源 Spd 对渗透胁迫下甜瓜叶片 GSH、GSSG 含量和 GSH/GSSG 的影响

Fig.3 Effects of exogenous Spd on contents of GSH and GSSG, and GSH/GSSG ratios in leaves of melon under osmotic stress

上和地下部干质量及根系活力得到显著提高,这与吴旭红等^[23]的研究结论相同。这是由于 Spd 具有通过直接调控膜的流动性而间接调节膜结合酶活性的功能^[24],从而使得水分亏缺造成的发育障碍得到缓解,植株恢复正常生长,但随着渗透胁迫时间增加其作用有所减弱。

在逆境胁迫下植物体内活性氧等自由基大量产生,由于生物膜发生过氧化作用,膜透性增大。MDA 含量是反映膜脂化程度的重要指标^[25],在渗透胁迫发生时生物膜的稳定性降低,电解质渗透率升高,这些现象都是膜脂化的加剧引起膜脂分子结构排列发生紊乱的结果。本研究表明,外源 Spd 有效提高了渗透胁迫下甜瓜幼苗叶片和根系细胞膜稳定性,该结果与李丽杰等^[12]在玉米上的研究相同。前人发现 Spd 之所以能够清除活性氧自由基,

一方面在于 Spd 是 H⁺ 的载体,与 SOD 的部分功能相似,可以发生歧化反应^[26];另一方面 Spd 能够与膜上带负电的电荷中和,使得膜电势降低,对膜结合酶的活性进行调节,膜的稳定性得以加强^[27]。

胁迫下产生大量活性氧会对植株造成极大危害,植物在长期进化中形成了保护机制来清除活性氧,POD、CAT、SOD 和 APX 这些保护酶相互协调,在活性氧的清除中发挥重要功能^[28]。本研究发现,SOD 和 APX 在渗透胁迫小于 8 d 时活性升高,大于 12 d 时活性下降;而 POD 和 CAT 在胁迫初期(4 d)活性增强,胁迫时间进一步增加时活性下降。说明抗氧化酶在渗透作用时间较短时能够有效发挥作用,渗透时间较长时保护作用降低。Spd 施用显著增加了甜瓜幼苗根系和叶片 POD、CAT、SOD 和 APX 的活性,从而有效降低渗透胁迫对甜瓜幼苗的伤害,起到保护作用;彭丹丹等^[10]在三叶草渗透胁迫研究中也发现 Spd 可诱导保护酶活性升高。

渗透调节物质的积累是植物对水分亏缺的重要响应,渗透调节作用一方面通过调节渗透压提高植株的吸水能力,另一方面发挥渗透保护作用维持细胞结构和功能的完整性^[29],减缓胁迫对植物细胞的伤害。可溶性蛋白具有很强的亲水性能,可使细胞的持水能力加强,因而渗透胁迫下通过可溶性蛋白的积累提高植物细胞束缚水的能力^[30];脯氨酸和可溶性糖一方面可以通过提升膨压来维持渗透胁迫下细胞内结构和膜的稳定性,另一方面发挥清除超氧阴离子自由基的功效,减少渗透对植物的伤害^[31]。本研究表明,在渗透胁迫下甜瓜幼苗中脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量显著增加,施用 Spd 能够进一步增加这 3 种渗透物质的含量。可能是由于多胺和脯氨酸合成途径中具有相同的底物,施用 Spd 增加了合成脯氨酸的底物,使脯氨酸得到积累^[32];此外,Spd 可通过相应的碳代谢积累物质调节可溶性糖的含量^[33],Spd 能够提高可溶性蛋白含量,与其具有缓解蛋白质降解和提高诱导逆境蛋白相关基因的表达水平有关^[34]。

ASA 和 GSH 作为非酶促抗氧化物质在调控细胞的功能和抗氧化防御系统中发挥至关重要作用。在遭遇渗透胁迫时生物体内的 ASA-GSH 的快速运转^[35-36],使得 ASA 和 GSH 含量较高,发挥其保持 ROS 平衡的作用,增加植物的抗氧化能力,从而缓解植物过氧化进程。ASA 在 APX 的催化下能将 H₂O₂ 分解成 H₂O,同时生成 MDHA(单脱氢抗坏血酸),MDHA 的一部分可继续氧化生成 DHA,DHA 和部分 MDHA 分别在还原酶 DHAR(脱氢抗坏血酸

还原酶)和 MDHAR(单脱氢抗坏血酸还原酶)催化下还原生成 ASA^[37]。本研究发现渗透胁迫使甜瓜幼苗 ASA 含量下降,究其原因,一方面可能是逆境胁迫下 ASA 的合成受到抑制,另一方面 ASA 与 H₂O₂ 发生反应后被氧化而减少;同时由于 DHA 含量升高,使得 ASA/DHA 比值下降。作为非酶抗氧化剂的 GSH 可以通过加速 DHAR 的合成促进 ASA 生成,进而发挥抗氧化的作用^[38]。另外 GSH 在促进膜蛋白结构稳定方面发挥重要作用,本研究发现渗透胁迫下 GSH 含量上升显著,这说明甜瓜体内的氧化应激机制发挥了极大作用。细胞所处的氧化还原状态可以通过 ASA/DHA 和 GSH/GSSG 的值来反映,本研究渗透胁迫下甜瓜幼苗的 ASA/DHA 和 GSH/GSSG 的值均低于对照,说明甜瓜内的氧化还原信号系统和氧化还原控制系统遭到破坏。Spd 施用提高了 ASA、GSH 含量及 ASA/DHA 值,说明 Spd 加速了 ASA-GSH 循环,并通过提高 ASA 含量和合成途径中的酶活性增强了甜瓜幼苗的抗氧化能力;另外 Spd 通过提高该代谢途径的关键酶谷胱甘肽还原酶(GR)活力,使 GSH 含量保持在高位,同时提高 GSH/GSSG 值抵御氧化损伤的胞内氧化还原状态,使 ROS 的清除效率得以提高。

综上所述,施用 1 mmol · L⁻¹ Spd 可有效提高渗透胁迫下甜瓜幼苗的生物量,降低 H₂O₂ 和 MDA 含量,修复了细胞膜的损伤,稳定了膜结构,有效清除活性氧的伤害,显著提高了甜瓜叶片和根系的 SOD、POD、CAT 和 APX 活性;通过提高叶片脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白的含量维持了细胞渗透平衡,通过加速 ASA-GSH 的运转,提高了 ASA/DHA 和 GSH/GSSG 值,说明 Spd 可以维持渗透胁迫下甜瓜幼苗细胞的正常生理代谢,提高其渗透抗性。

参考文献:

- [1] YANG S L, CHEN K, WANG S S, et al. Osmoregulation as a key factor in drought hardening-induced drought tolerance in *Jatropha curcas* [J]. *Biologia Plantarum*, 2015, 59(3): 529-536.
- [2] 刘球,李志辉,吴际友,等.外源亚精胺对不同程度干旱胁迫下红椿幼苗生理功能的修复调节[J].中南林业科技大学学报,2017,37(7):66-72.
LIU Q, LI Z H, WU J Y, et al. Repair regulation of exogenous Spd on physiological function of *Toona ciliata* seedlings under drought stress with different levels [J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2017, 37(7): 66-72.
- [3] 李娜,陈红,裴孝伯.外源亚精胺对盐胁迫下黄瓜幼苗耐盐性的影响[J].热带作物学报,2013,34(7):1359-1364.
LI N, CHEN H, PEI X B. Effects of exogenous spermidine on the salt tolerance in cucumber seedlings under salt stress [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2013, 34(7): 1359-1364.
- [4] 向丽霞,胡立盼,孟森,等.叶面喷施亚精胺对高温胁迫下番茄叶绿素合成代谢的影响[J].西北植物学报,2020,40(5):846-851.
XIANG L X, HU L P, MENG S, et al. Effects of foliar-spraying spermidine on chlorophyll synthesis metabolism of tomato seedlings under heat stress [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2020, 40(5): 846-851.
- [5] ZEHR-DELIBAŞOĞLU Z, PALAVAN-ÜNSAL N. Effect of gravity on senescence and polyamine content of *Helianthus annuus* cotyledons [J]. *Phytochemistry*, 1994, 35(4): 869-872.
- [6] ROYCHOUDHURY A, BASU S, SENGUPTA D N. Amelioration of salinity stress by exogenously applied spermidine or spermine in three varieties of indica rice differing in their level of salt tolerance [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2011, 168(4): 317-328.
- [7] IMAI A, MATSUYAMA T, HANZAWA Y, et al. Spermidine synthase genes are essential for survival of *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2004, 135(3): 1565-1573.
- [8] HE L X, NADA K, KASUKABE Y, et al. Enhanced susceptibility of photosynthesis to low-temperature photoinhibition due to interruption of chill-induced increase of S-adenosylmethionine decarboxylase activity in leaves of spinach (*Spinacia oleracea* L.) [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2002, 43(2): 196-206.
- [9] 张春梅,邹志荣,黄志,等.外源亚精胺对干旱胁迫下不同品种番茄幼苗光合作用的影响[J].干旱地区农业研究,2010,28(3):182-187.
ZHANG C M, ZOU Z R, HUANG Z, et al. Effects of exogenous spermidine on photosynthesis of tomato seedlings under drought stress [J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2010, 28(3): 182-187.
- [10] 彭丹丹,王晓娟,李州,等.亚精胺对 PEG 渗透胁迫下白三叶种子萌发及幼苗抗旱效应的影响[J].草业科学,2016,33(9):1739-1746.
PENG D D, WANG X J, LI Z, et al. Effects of spermidine on seed germination and seedling drought resistance of white clover under osmotic stress induced by PEG [J]. *Pratacultural Science*, 2016, 33(9): 1739-1746.
- [11] 杜红阳,李青芝,杨青华,等.亚精胺对渗透胁迫下小麦幼苗渗透调节物质含量和脯氨酸代谢酶活性的影响[J].麦类作物学报,2014,34(8):1092-1097.
DU H Y, LI Q Z, YANG Q H, et al. Effects of spermidine on the content of osmoregulation substance and activity of proline metabolic enzyme in wheat seedling under osmotic stress [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2014, 34(8): 1092-1097.
- [12] 李丽杰,顾万荣,孟瑶,等.干旱胁迫下亚精胺对玉米幼苗抗旱性影响的生理生化机制[J].应用生态学报,2018,29(2):554-564.
LI L J, GU W R, MENG Y, et al. Physiological and biochemical mechanism of spermidine improving drought resistance in maize seedlings under drought stress [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2018, 29(2): 554-564.
- [13] 胡国智,熊韬,冯柯鑫,等.施肥对甜瓜风味物质的影响[J].干旱地区农业研究,2020,38(2):93-98.
HU G Z, XIONG T, FENG J X, et al. Effect of fertilization on flavor compounds of muskmelon [J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2020, 38(2): 93-98.
- [14] 张志良,瞿伟菁,李小方.植物生理学实验指导[M].4版.北京:高等教育出版社,2009:227-229.
ZHANG Z L, QU W J, LI X F. *Experimental guidance for plant physiology* [M]. 4th ed. Beijing: Higher Education Press, 2009: 227-229.
- [15] TALAAT N B, SHAWKY B T, IBRAHIM A S. Alleviation of drought-induced oxidative stress in maize (*Zea mays* L.) plants by dual application of 24-epibrassinolide and spermine [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2015, 113: 47-58.
- [16] ELSTNER E F, HEUPEL A. Inhibition of nitrite formation from

- hydroxylammonium chloride: a simple assay for superoxide dismutase [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 70(2): 616-620.
- [17] 李丽杰. 外源亚精胺(Spd)对玉米干旱胁迫的缓解效应及调控机理[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2019.
- LI L J. Mitigation effect and regulation mechanism of exogenous spermidine (Spd) on maize under drought stress[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2019.
- [18] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006; 228-231, 142-143, 144-147.
- GAO J F. Experimental guidance for plant physiology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2006; 228-231, 142-143, 144-147.
- [19] GUO W L, CHEN R G, GONG Z H, et al. Exogenous abscisic acid increases antioxidant enzymes and related gene expression in pepper (*Capsicum annuum*) leaves subjected to chilling stress[J]. *Genetics and Molecular Research*, 2012, 11(4): 4063-4080.
- [20] 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: 164-169.
- LI H S. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000; 164-169.
- [21] 赵云霞, 于贤昌, 李超汉, 等. 高低温胁迫对番茄叶片抗坏血酸代谢系统的影响[J]. *山东农业科学*, 2010, 42(4): 22-26.
- ZHAO Y X, YU X C, LI C H, et al. Effects of high and low temperature stresses on ascorbic acid metabolism system in tomato leaves[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2010, 42(4): 22-26.
- [22] HODGES J C, HARIKRISHNAN L S, AULT-JUSTUS S. Preparation of designer resins via living free radical polymerization of functional monomers on solid support[J]. *Journal of Combinatorial Chemistry*, 2000, 2(1): 80-88.
- [23] 吴旭红, 冯晶旻. 外源亚精胺对渗透胁迫下南瓜幼苗抗氧化酶活性等生理特性的影响[J]. *干旱地区农业研究*, 2017, 35(4): 255-262.
- WU X H, FENG J M. Effects of exogenous spermidine on antioxidant enzyme activities and other physiological characteristics of pumpkin seedlings under osmotic stress[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2017, 35(4): 255-262.
- [24] 杜红阳, 常云霞, 刘怀攀. 多胺的作用机理研究进展[J]. *周口师范学院学报*, 2010, 27(5): 88-91.
- DU H Y, CHANG Y X, LIU H P. Study advance of function mechanism of polyamines[J]. *Journal of Zhoukou Normal University*, 2010, 27(5): 88-91.
- [25] 李秀玲, 刘开强, 刘君, 等. 干旱胁迫对六种观赏草枯叶率及生理指标的影响[J]. *中国草地学报*, 2012, 34(4): 93-100.
- LI X L, LIU K Q, LIU J, et al. Effect of soil drought stress on withered leaf rate and physiological changes of six ornamental grasses[J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2012, 34(4): 93-100.
- [26] 李冬, 王艳芳, 申洪涛, 等. 外源亚精胺对渗透胁迫下烤烟幼苗生长及生理特性的影响[J]. *烟草科技*, 2019, 52(9): 1-9.
- LI D, WANG Y F, SHEN H T, et al. Effects of exogenous spermidine on growth and physiological characteristics of flue-cured tobacco seedlings under osmotic stress[J]. *Tobacco Science & Technology*, 2019, 52(9): 1-9.
- [27] 王考艳, 刘美艳, 申杰, 等. 外源亚精胺对芽涝玉米根系膜脂过氧化和保护酶活性的影响[J]. *江苏农业科学*, 2010, 38(5): 139-141.
- WANG K Y, LIU M Y, SHEN J, et al. Effects of exogenous spermidine on membrane lipid peroxidation and activities of protective enzymes of maize seedlings under waterlogging stress[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2010, 38(5): 139-141.
- [28] 刘萍, 范七君, 牛英, 等. 次氯酸钙处理对金柑采后腐烂及抗氧化酶活性的影响[J]. *果树学报*, 2016, 33(9): 1148-1155.
- LIU P, FAN Q J, NIU Y, et al. Effects of calcium hypochlorite treatment on postharvest decay and defense enzyme activity of kumquat fruits[J]. *Journal of Fruit Science*, 2016, 33(9): 1148-1155.
- [29] LAMBERS H, SHANE M W, CRAMER M D, et al. Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus; matching morphological and physiological traits[J]. *Annals of Botany*, 2006, 98(4): 693-713.
- [30] 孙存华, 杜伟, 陈湘玲, 等. 聚乙二醇渗透胁迫对藜幼苗叶片干旱诱导蛋白和可溶性蛋白的影响[J]. *安徽农业科学*, 2009, 37(10): 4373-4374, 4408.
- SUN C H, DU W, CHEN X L, et al. Effects of PEG simulated drought on drought-induced protein and soluble protein in the leaves of *Chenopodium album* L.[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2009, 37(10): 4373-4374, 4408.
- [31] DE CAMPOS M K F, DE CARVALHO K, DE SOUZA F S, et al. Drought tolerance and antioxidant enzymatic activity in transgenic 'Swingle' citrus plants over-accumulating proline[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2011, 72(2): 242-250.
- [32] SHI H T, YE T T, CHAN Z L. Comparative proteomic and physiological analyses reveal the protective effect of exogenous polyamines in the bermudagrass (*Cynodon dactylon*) response to salt and drought stresses [J]. *Journal of Proteome Research*, 2013, 12(11): 4951-4964.
- [33] SHI H T, CHAN Z L. Improvement of plant abiotic stress tolerance through modulation of the polyamine pathway [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2014, 56(2): 114-121.
- [34] KASUKABE Y, HE L X, NADA K, et al. Overexpression of spermidine synthase enhances tolerance to multiple environmental stresses and up-regulates the expression of various stress-regulated genes in transgenic *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2004, 45(6): 712-722.
- [35] 山溪, 秦文斌, 张振超, 等. 低温胁迫对不同品系甘蓝幼叶 AsA-GSH 循环代谢的影响[J]. *南方农业学报*, 2018, 49(11): 2230-2235.
- SHAN X, QIN W B, ZHANG Z C, et al. Effects of low temperature stress on leaf AsA-GSH cycle metabolism in different varieties *Brassica oleracea* L.[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2018, 49(11): 2230-2235.
- [36] BASHRI G, PRASAD S M. Exogenous IAA differentially affects growth, oxidative stress and antioxidants system in Cd stressed *Trigonella foenum-graecum* L. seedlings; toxicity alleviation by up-regulation of ascorbate-glutathione cycle[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2016, 132: 329-338.
- [37] 任瑞芬, 李泽迪, 姜雪茹, 等. AsA-GSH 抗氧化系统在超低温保存后牡丹花粉活力下降中的作用机制[J]. *植物生理学报*, 2021, 57(7): 1517-1526.
- REN R F, LI Z D, JIANG X R, et al. The mechanism of ASA-GSH antioxidant system in the decreasing of *Paeonia suffruticosa* pollen viability after cryopreservation [J]. *Plant Physiology Communications*, 2021, 57(7): 1517-1526.
- [38] 颜志明, 孙锦, 郭世荣, 等. 外源脯氨酸对盐胁迫下甜瓜幼苗根系抗坏血酸-谷胱甘肽循环的影响[J]. *植物科学学报*, 2014, 32(5): 502-508.
- YAN Z M, SUN J, GUO S R, et al. Effects of exogenous proline on the ascorbate-glutathione cycle in roots of *Cucumis melo* seedlings under salt stress[J]. *Plant Science Journal*, 2014, 32(5): 502-508.