



EBR 预处理对盐胁迫下葡萄幼苗叶片 抗氧化物质及酶活性的影响

周亚丽¹, 栾雪涛¹, 王利廷¹, 张振文^{1,2}, 惠竹梅^{1,2*}

(1 西北农林科技大学 葡萄酒学院, 陕西杨陵 712100; 2 陕西省葡萄与葡萄酒工程中心, 陕西杨陵 712100)

摘 要:以 2 年生葡萄(*Vitis vinifera* L.)酿酒品种赤霞珠扦插苗为材料,在水培条件下,分别用 0、0.05、0.10 和 0.20 mg/L 24-表油菜素内酯(EBR)预处理幼苗,然后进行 50 mmol/L NaCl 胁迫,分别在胁迫 6 d 和 12 d 测定幼苗叶片中超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)、丙二醛(MDA)、抗氧化物质含量以及相关酶活性,探讨 EBR 预处理对葡萄幼苗耐盐性的影响。结果表明:与单独盐胁迫处理相比,不同浓度的 EBR 预处理使盐胁迫葡萄幼苗叶片 $O_2^{\cdot-}$ 和 MDA 含量显著降低,同时使其抗氧化物质抗坏血酸(AsA)、脱氢抗坏血酸(DHA)、还原型谷胱甘肽(GSH)和氧化型谷胱甘肽(GSSG)含量以及抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷胱甘肽还原酶(GR)、超氧化物歧化酶(SOD)活性显著升高;其中,0.10 mg/L EBR 预处理的表现最佳,在盐胁迫 12 d 时,其葡萄叶 $O_2^{\cdot-}$ 和 MDA 含量比单独盐胁迫处理分别显著降低 30.5% 和 22.0%,其叶片相应 AsA 和 GSH 的含量较单独盐胁迫处理分别显著提高 82.8% 和 27.9%,且 GR、APX 和 SOD 活性分别显著提高 7.2%、8.5% 和 24.0%。研究发现,在盐胁迫条件下,适宜浓度的外源 BRs 预处理能够显著降低葡萄叶片中活性氧含量,提高抗氧化物质含量和抗氧化酶活性,以促进 AsA-GSH 循环的快速有效运转,有效减轻植株的过氧化伤害,缓解盐胁迫对葡萄幼苗的伤害,提高葡萄的耐盐性。

关键词:葡萄;赤霞珠;24-表油菜素内酯;AsA-GSH 循环

中图分类号:Q945.78; S663.1 **文献标志码:**A

Effects of EBR Pretreatment on Antioxidant Substances and Enzyme Activities of Grapevine Seedling Leaves under Salt Stress

ZHOU Yali¹, LUAN Xuetao¹, WANG Liting¹, ZHANG Zhenwen^{1,2}, XI Zhumei^{1,2*}

(1 College of Enology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi, 712100, China; 2 Shaanxi Engineering Research for Viti-Viniculture, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The 2-year-old *Vitis vinifera* grape seedlings were cultured in nutrient solution and pretreated with 0, 0.05, 0.10 and 0.20 mg/L of exogenous 24-Epibrassinolide (EBR), respectively, and then stressed with 50 mmol/L NaCl. The content of superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$), malondialdehyde (MDA), antioxidants and the activities of related enzymes in the seedling leaves were measured at 6 and 12 days after salt stress, respectively. This study was conducted to determine the influence of EBR pretreatment on antioxidant substances and enzyme activities of grapevine seedling leaves under salt stress. The results showed that compared with the salt stress alone, the EBR pretreatment at different concentrations decreased the contents of $O_2^{\cdot-}$ and MDA significantly in the grape leaves, as well as, the contents of ascorbate (AsA), dehydroascorbic acid (DHA), reduced glutathione (GSH) and oxidized glutathione (GSSG). In addition, the EBR pretreatment significantly increased the activities of ascorbate peroxidase (APX), glutathione re-

收稿日期: 2017-09-02; 修改稿收到日期: 2018-01-07

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-30-zp-09)

作者简介: 周亚丽(1990—), 女, 在读博士研究生, 主要从事葡萄与葡萄酒品质研究。E-mail: zhouyali@nwfau.edu.cn

* 通信作者: 惠竹梅, 教授, 博士生导师, 主要从事葡萄生理生态、葡萄与葡萄酒品质研究。E-mail: xizhumei@nwsuaf.edu.cn

ductase (GR) and superoxide dismutase (SOD). Among these treatments 0.10 mg/L EBR pretreatment showed the best performance. Compared with the salt stress alone, after salt treated for 12 days, the 0.10 mg/L EBR pretreatment decreased the contents of O_2^- and MDA by 30.5% and 22.0%, significantly increased the contents of AsA and GSH by 82.8% and 27.9%, improved the activities of GR, APX and SOD by 7.2%, 8.5% and 24.0%, respectively. The results showed that exogenous BRs pretreatment reduced the content of reactive oxygen and increased the contents of antioxidant substances and activities of enzymes through promoting the ascorbate-glutathione (AsA-GSH) cycle. Meanwhile, BRs pretreatment reduced the oxidative damage and mitigated the effects of grape seedling leaves in salt stress, enhancing the tolerance of grape seedling to salt stress.

Key words: *Vitis vinifera*; Cabernet Sauvignon; 24-epibrassinolide; AsA-GSH cycle

土壤盐渍化是世界性的农业问题,严重影响植物的生长发育和作物产量,甚至还会造成植株死亡^[1]。Downton 将赤霞珠葡萄(*Vitis vinifera*)定义为对盐适度敏感的植物,当温室栽培的赤霞珠葡萄用 NaCl 浓度超过 50 mmol/L 的营养液灌溉时,芽的生长速度会大大减少^[2]。盐胁迫产生的活性氧类物质会造成葡萄植株根际微环境的紊乱,叶片中叶绿素含量、有机渗透调节物质含量及抗氧化酶活性降低等伤害,进而影响葡萄的产量和品质^[3]。在植物系统中,这些活性氧类物质通过由抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷胱甘肽还原酶(GR)、超氧化物歧化酶(SOD)及其他抗氧化剂组成的抗氧化防御系统来清除^[4],这一系统就是我们所知的抗坏血酸-谷胱甘肽(ASA-GSH)循环系统。正常情况下,植物细胞内活性氧的产生与清除处于一种动态平衡状态,不会对植物产生伤害。在盐胁迫初期,植物可通过自身调节增加体内抗氧化酶类和非酶类抗氧化物质协同清除由于盐胁迫产生的活性氧自由基,减轻盐胁迫对植物的伤害,提高植物的抗盐性。长时间盐胁迫会使植物体内活性氧代谢系统失去平衡,氧自由基大幅增加诱导氧化胁迫,进而引起细胞膜系统氧化损伤^[5-7]。

应用外源植物生长调节剂被认为是提高植物抗逆性的有效方法之一^[4, 8]。油菜素内酯(brassinosteroids, BRs)是一种新型的天然植物激素,在逆境条件下,BRs 能够激发植物的内在潜能,缓解植物受到的逆境伤害,提高植物的抗逆性^[9-11];研究表明,BRs 处理可以显著提高葡萄^[12]、黄瓜^[13]、小麦^[14, 15]、薄荷^[16]等作物对低温胁迫、盐胁迫的抗性;在逆境胁迫下,BRs 处理通过提高 AsA-GSH 循环系统中抗坏血酸(AsA)和还原型谷胱甘肽(GSH)等抗氧化物质的含量及 APX、GR、SOD 活性,从而提高茄子^[17]、黄瓜^[18]和无柄小叶榕^[19]等植物的抗氧化能力,缓解高温、低温和盐胁迫对植株造

成的伤害。但关于外源 BRs 预处理对盐胁迫下葡萄幼苗叶片中抗氧化物质及酶活性影响的研究还未见报道。因此,本试验以 2 年生扦插苗葡萄品种赤霞珠为试材,探究外源油菜素内酯(EBR)预处理对盐胁迫下葡萄幼苗叶片抗氧化物质及酶活性的影响,以明确 EBR 在葡萄幼苗受到盐胁迫时的调节作用,为进一步研究 BRs 调控葡萄幼苗耐盐机理和利用 EBR 减轻葡萄幼嫩组织盐碱伤害提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

本试验于 2016 年在西北农林科技大学水土保持研究所人工智能气候室和葡萄酒学院实验室进行,供试品种为欧亚种酿酒葡萄品种赤霞珠(Cabernet Sauvignon),材料为两年生扦插苗。

1.2 幼苗预培养与试验设计

(1)移苗:当盆栽扦插苗长到 10~12 片真叶时,选取生长势基本一致的幼苗用自来水将根系上的泥土洗净,并用海绵缠绕根的基部,然后将其移到装有 1/2 Hoagland 营养液的水培盆中(50 cm×35 cm×15 cm),并固定在水培盆的泡沫盖上,在人工气候室(AGC-D001P 顶置光气候室)中进行预培养。

(2)加营养液:在水培盆中注水,每盆添加 1/2 Hoagland 营养液 17 L,然后用带刻度注射器向水中添加各种营养成分,其中大量元素每种添加 21.25 mL,微量元素添加 8.5 mL,用 H_3PO_4 或 NaOH 将营养液 pH 调至 6.5 ± 0.1 。

(3)环境调控:将通气管穿过泡沫板小孔,底部连接沙锤。各个水培盆用三通与通气管连接,再将主通气管与气泵相连,气泵正常通气(30 min/h)。每 5 d 更换 1 次营养液。培养室内温度为昼温 23~25 °C/夜温 15~18 °C,光源为日光灯(14 h 光照/d),光照强度为 $160 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

(4)处理:幼苗在营养液中培养 5 d 完全适应水

培环境后,按照试验设计向营养液中加入不同浓度(0.05、0.10、0.20 mg/L)EBR(美国 Sigma 公司),适应 5 d 后,加入 50 mmol/L 的 NaCl 进行盐胁迫处理。试验设 5 组处理:CK,正常生长组(0 mg/L EBR+0 mmol/L NaCl);T₀,盐对照组(0 mg/L EBR+50 mmol/L NaCl);T₁,0.05 mg/L EBR+50 mmol/L NaCl;T₂,0.10 mg/L EBR+50 mmol/L NaCl;T₃,0.20 mg/L EBR+50 mmol/L NaCl。各处理 3 次重复,每个重复 8 株幼苗,共计 120 株。EBR 施用前用 98%的乙醇溶解后稀释到需要的浓度,乙醇最终含量为 0.1%(v/v),用吐温-80 ℃作为展开剂,最终含量为 0.1%(v/v),CK 和 T₀ 组也加入同样体积的 98%乙醇和吐温-80 ℃。

(5)采样:分别在盐胁迫处理后的第 6 天和第 12 天,采取葡萄幼苗从基部起 3~7 节位的叶片。将叶片样品用剪刀除去叶脉,并将叶片其他部位剪碎,放入封口袋中,密封保存于-80 ℃冰箱,用于各项指标的测定。

1.3 测定指标与方法

超氧阴离子(O₂⁻)含量采用对氨基苯磺酸法,MDA 含量用硫代巴比妥显色法,具体分别参照 Elstner and Heupel^[20]和高俊凤方法测定^[21];抗坏血酸(AsA)、脱氢抗坏血酸(DHA)、还原型谷胱甘肽(GSH)和氧化型谷胱甘肽(GSSG)含量的测定方法均参照 Shan 和 Zhao 的方法^[22];超氧化物歧化酶(SOD)活性参照 Giannopolitis 的方法测定^[23],抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性参照 Nakano 和 Asada

的方法测定^[24],谷胱甘肽还原酶(GR)活性的测定参照 Foyer 和 Halliwell^[25]方法。

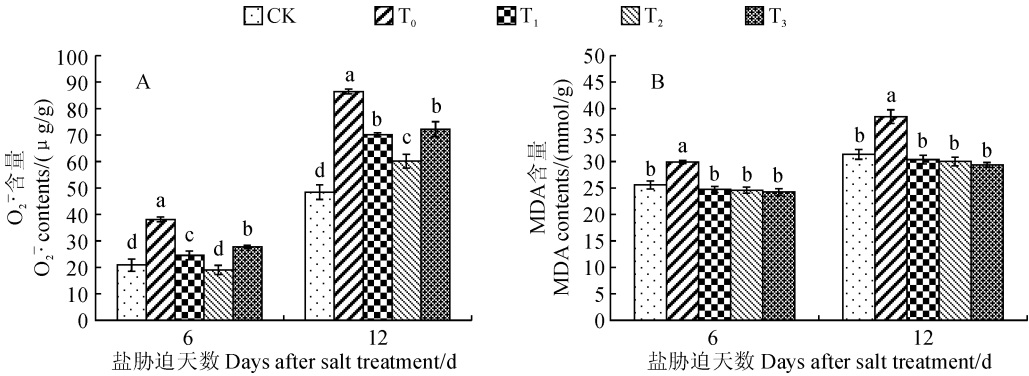
1.4 数据处理

试验数据用 Excel 2007 软件作图、DPS7.55 进行统计分析。采用邓肯氏检验方法进行多重比较,差异显著性用不同的字母显示。每组试验重复 3 次,试验结果用 3 次试验的平均值表示。

2 结果与分析

2.1 EBR 预处理对盐胁迫下葡萄幼苗叶片超氧阴离子(O₂⁻)和丙二醛(MDA)含量的影响

如图 1,A 所示,与正常对照(CK)相比,葡萄幼苗叶片 O₂⁻ 含量在单独盐胁迫处理(T₀)6 和 12 d 时分别显著增加 82.4%和 78.5%(P<0.05),并显著高于其余处理;与 T₀ 相比,葡萄幼苗叶片 O₂⁻ 含量在 3 个浓度的 EBR 预处理(T₁~T₃)下均显著降低,并以 T₂ 处理显著较低,其在盐胁迫处理 6 d 时甚至降低到 CK 水平。同时,葡萄幼苗叶片 MDA 含量在 T₀ 处理下显著高于 CK 和其余处理;与 T₀ 处理相比,3 种浓度的 EBR 预处理(T₁~T₃)葡萄幼苗叶片 MDA 含量均显著降低,并达到同期 CK 水平,但三者之间无显著性差异(图 1,B)。上述结果表明,盐胁迫导致葡萄幼苗叶片中超氧阴离子 O₂⁻ 大量积累,并启动膜脂过氧化反应,使过氧化产物 MDA 积累;而 EBR 预处理能够有效地清除 O₂⁻ 活性氧自由基,降低葡萄叶片 MDA 的含量,缓解盐胁迫导致的氧化损伤,保护叶片细胞及叶绿体免受伤害。



CK. 正常对照(无 EBR 和盐处理);T₀. 盐处理(50 mmol/L NaCl);T₁. EBR 0.05 mg/L +50 mmol/L NaCl;

T₂. EBR 0.10 mg/L +50 mmol/L NaCl;T₃. EBR 0.20 mg/L +50 mmol/L NaCl,同期不同小写字母表示处理间在 0.05

水平存在显著性差异(P<0.05);图中短线代表标准误差;下同

图 1 EBR 预处理葡萄幼苗叶片 O₂⁻ 和 MDA 含量在盐胁迫下的变化

CK. Control(without EBR and salt treatments);T₀. Salt treatment(50 mmol/L NaCl,only);T₁. EBR 0.05 mg/L +50 mmol/L NaCl;

T₂. EBR 0.10 mg/L +50 mmol/L NaCl;T₃. EBR 0.20 mg/L +50 mmol/L NaCl,Different normal letters above the columns mean

significant difference among treatments within same time at the 0.05 level; Bars represent SE. The same as below

Fig. 1 The O₂⁻ and MDA contents in grape seedlings with EBR pretreatment under salt stress

2.2 EBR 预处理对盐胁迫下葡萄幼苗叶片 AsA、DHA 含量及其比值的影响

抗坏血酸(AsA)是植物抵抗氧化胁迫的重要物质,其含量的高低与植物的抗逆性密切相关;而脱氢抗坏血酸(DHA)含量的积累对细胞代谢及相关酶活性会产生不利影响^[26]。而 AsA/DHA 也是植物抵抗非生物胁迫诱发的活性氧类物质积累的关键因素,AsA/DHA 的值越大,抗胁迫能力越强^[27]。图 2,A 显示,T₀ 处理葡萄幼苗叶片中 AsA 含量在盐胁迫 6 d 和 12 d 时均比 CK 不同程度升高,且在盐胁迫 12 d 时达到显著水平。与 T₀ 处理相比,T₂ 处理葡萄幼苗叶片 AsA 含量在盐胁迫 6 和 12 d 时分别显著提高 20.3%和 82.8%,而 T₁ 和 T₃ 处理葡萄叶片 AsA 含量在盐胁迫后均无显著变化。

同时,如图 2,B 所示,T₀ 处理葡萄幼苗叶片中 DHA 含量均比 CK 不同程度降低,在盐胁迫 6 d 时还达到显著水平。与 T₀ 处理相比,T₁ 处理葡萄幼苗叶片中 DHA 含量仅在盐胁迫 12 d 时显著升高

45.5%,在胁迫 6 d 时无显著变化,T₂ 处理 DHA 含量在盐胁迫 6 和 12 d 时分别显著升高 23.4%和 70.9%,而 T₃ 处理 DHA 含量在盐胁迫过程中均无显著变化。另外,在图 2,C 中,T₀ 处理葡萄幼苗叶片中 AsA/DHA 均比同期 CK 显著升高。在盐胁迫 6 d 时,T₁~T₃ 处理葡萄叶片 AsA/DHA 均与 T₀ 之间无显著性差异;在盐胁迫 12 d 时,T₁ 处理葡萄幼苗叶片中 AsA/DHA 比 T₀ 显著降低 39.1%,T₂ 处理 AsA/DHA 比 T₀ 显著升高 7.0%,而 T₃ 处理 AsA/DHA 则与 T₀ 处理之间无显著性差异。以上结果说明 0.1 mg/L EBR 预处理使葡萄幼苗叶片具有较高的 AsA、DHA 含量和 AsA/DHA,从而表现出更强的抗盐能力。

2.3 EBR 预处理对盐胁迫下葡萄幼苗叶片 GSH、GSSG 含量及其比值的影响

GSH 是细胞内过氧化物的有效清除剂之一,GR 在植物细胞 AsA-GSH 循环中可将 GSSG 还原为 GSH,从而增强植物的抗逆性。同时,GSH/GSSG 也是植物抵抗非生物胁迫诱发的活性氧类物质积累的关键因素,GSH/GSSG 的值越大,抗胁迫能力越强^[27];保持较高 GSH/GSSG 在提高植物耐盐性方面起着非常重要的作用^[28]。首先,T₀ 处理葡萄幼苗叶片中 GSH 含量在盐胁迫过程中均比同期 CK 显著增加;与 T₀ 处理相比,葡萄叶片 GSH 含量除在 T₂ 处理 12 d 时显著升高 29.7%外,而在其余时期 EBR 预处理中显著降低(图 3,A)。其次,T₀ 处理葡萄幼苗叶片中 GSSG 含量在盐胁迫 6 和 12 d 后均比 CK 不同程度增加,但仅在盐胁迫 12 d 时达到显著水平;与 T₀ 处理相比,葡萄叶片 GSSG 含量仅在盐胁迫 6 d 时的 T₁ 处理显著升高 6.8%,而在其余胁迫时间各浓度 EBR 处理下显著降低(图 3,B)。另外,T₀ 处理葡萄幼苗叶片中 GSH/GSSG 在盐胁迫 6 和 12 d 时分别比 CK 显著增大 185.2%和 106.6%;与 T₀ 处理相比,T₂ 处理葡萄叶片 GSH/GSSG 在盐胁迫 6 d 和 12 d 时均不同程度增加,且在处理 12 d 时显著增加 49.2%,而 T₁ 和 T₃ 处理葡萄叶片 GSH/GSSG 在两个时期均显著降低(图 3,C)。可见,盐胁迫诱导葡萄幼苗叶片 GSH、GSSG 及比值不同程度提高,而 0.1 mg/L EBR 预处理又促使各指标值在盐胁迫葡萄幼苗叶片中保持较高水平,从而有效增强葡萄幼苗的抗盐能力。

2.4 EBR 预处理对盐胁迫下葡萄幼苗叶片 SOD、APX、GR 活性的影响

首先,与 CK 相比,T₀ 处理葡萄幼苗 SOD 活性

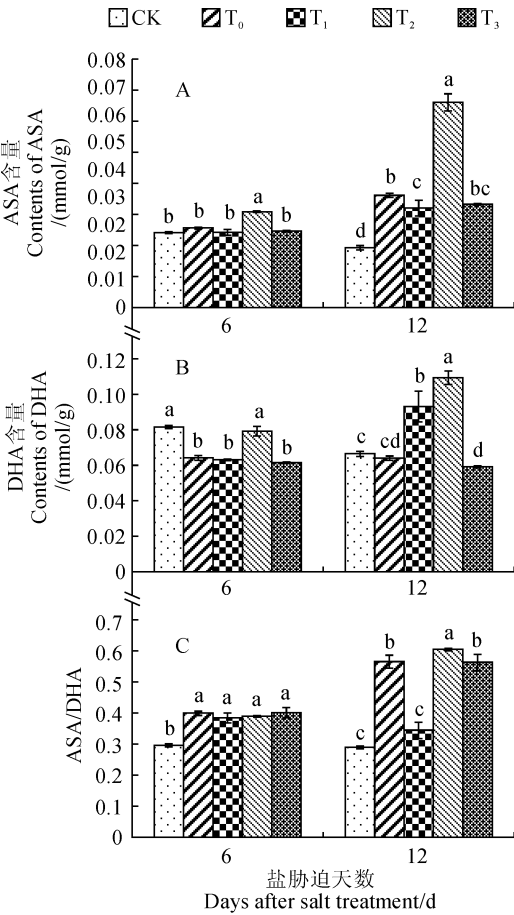


图 2 EBR 预处理葡萄幼苗叶片 AsA 含量、DHA 含量及 AsA/DHA 在盐胁迫下的变化
Fig.2 The AsA, DHA contents and AsA/DHA in grape seedlings with EBR pretreatment under salt stress

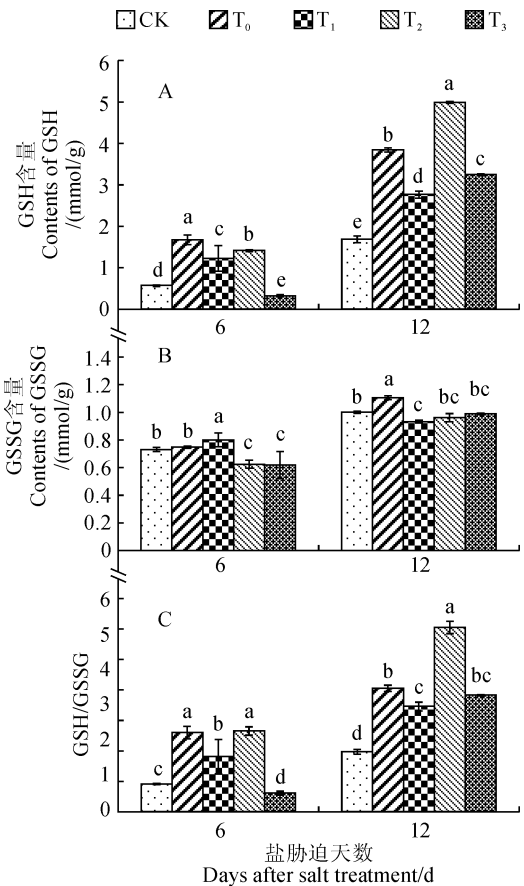


图3 EBR 预处理葡萄幼苗叶片 GSH 含量、GSSG 含量及 GSH/GSSG 在盐胁迫下的变化

Fig. 3 The GSH, GSSG contents and GSH/GSSG of grape seedlings with EBR pretreatment under salt stress

在各盐胁迫时间内均显著增加;而与 T₀ 处理相比,3 种浓度的 EBR 预处理均使葡萄幼苗 SOD 的活性不同程度增加,尤其在 T₂ 处理下升幅均达到显著水平(图 4,A),在盐胁迫 6 和 12 d 时 SOD 活性分别显著升高 20.1%和 24.0%。其次,T₀ 处理葡萄叶片 APX 活性均比同期 CK 显著升高;与 T₀ 处理相比,同期 T₁ 和 T₃ 处理葡萄幼苗叶片 APX 活性均不同程度降低,在盐胁迫 6 d 还达到显著水平,而 T₂ 处理 APX 活性却在盐胁迫 6 和 12 d 时分别显著升高 7.1%和 8.5%(图 4,B)。此外,GR 是 AsA-GSH 循环系统的重要组成部分,可维持细胞内 GSH 含量的稳定,催化 GSSG 还原为 GSH,其活性限制 AsA-GSH 循环系统的运行速率。图 4,C 显示,T₀ 处理处理葡萄幼苗叶片中 GR 活性在盐胁迫 12 d 时比 CK 显著升高 35.1%,而在胁迫 6 d 时比 CK 稍高。与 T₀ 处理相比,T₁ 和 T₃ 处理葡萄幼苗叶片中 GR 活性在盐胁迫 6 d 时均显著升高,而在胁迫 12 d 时均显著降低,T₂ 处理葡萄幼苗叶片 GR 活性则在两个时期均显著升高,其在盐胁迫 12 d 时

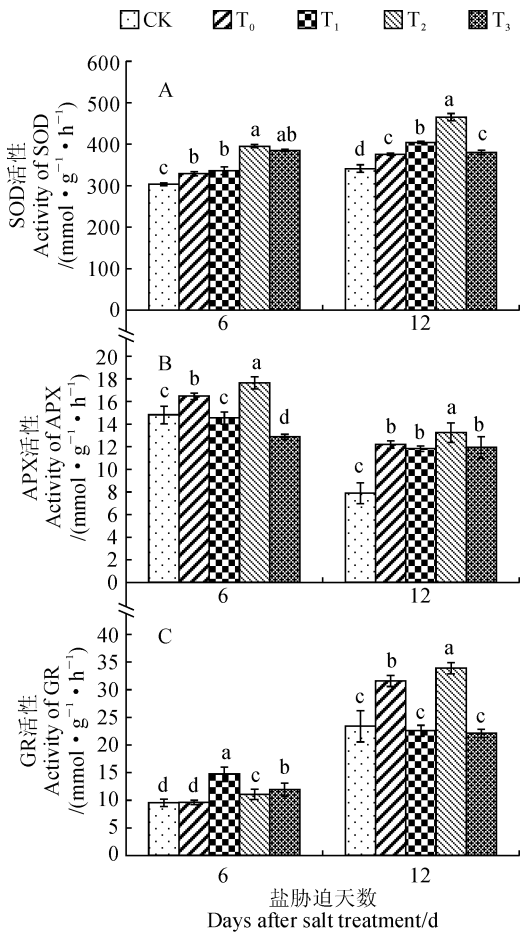


图4 EBR 预处理葡萄幼苗叶片抗坏血酸过氧化物酶 SOD、APX 及 GR 活性在盐胁迫下的变化

Fig. 4 The SOD, APX and GR activities of grape seedlings with EBR pretreatment under salt stress

增加幅度为 7.2%。可见,在盐胁迫环境下,EBR 预处理能诱导葡萄幼苗叶片 APX、SOD 抗氧化酶活性的提高,有效清除超氧阴离子自由基对细胞膜的损害,抑制膜脂过氧化反应;尤其是 0.10 mg/L EBR 预处理还可有效诱导葡萄叶片 GR 活性的提高,进一步增加 GSH 含量和 GSH/GSSG 比值,促进 AsA-GSH 循环高效运行,有助于缓解盐胁迫对葡萄幼苗的伤害^[29]。

3 讨论

BRs 是一种被广泛用于增强植物抗逆性的生长调节剂^[9],它可通过调节植物体内抗氧化物质含量及相关酶的活性,从而提高植株的抗氧化能力,缓解逆境胁迫对植株造成的伤害^[15, 17-19]。

研究表明,在盐胁迫条件下,植物体中会积累大量的 OH⁻、O₂⁻ 等活性氧自由基,从而启动膜脂过氧化反应,使过氧化产物 MDA 积累,因此,可将 MDA 含量作为反映植物细胞膜脂过氧化程度及其

对逆境条件反应强弱的指标^[30]。而外源 BRs 处理可降低逆境胁迫下植物 OH⁻ 的含量及 O₂⁻ 的产生速率,降低 MDA 的含量,提高植株对盐胁迫的耐性^[4]。本试验结果表明,与单独盐胁迫处理(T₀)相比,外源 BRs 处理均降低了 O₂⁻、MDA 的含量,这与 Sun 等^[31]的研究结果一致。说明外源 BRs 处理能有效降低盐胁迫条件下葡萄叶片中 O₂⁻ 和 MDA 的含量,有效缓解超氧阴离子自由基对细胞膜的损害,抑制膜脂过氧化反应。

而抗氧化酶类和非酶类抗氧化物质所构成的抗氧化系统是植物自身在逆境条件下应对膜脂过氧化伤害的重要机制,目前在这方面已有较多研究^[32-34]。其中,AsA 和 GSH 在植物抗氧化系统中发挥着重要作用^[22]。本试验结果表明,与单独盐胁迫处理(T₀)相比,0.05 和 0.20 mg/L EBR 预处理(T₁ 和 T₃)均使葡萄幼苗叶片 AsA 和 GSH 含量降低,以及 AsA/DHA 和 GSH/GSSG 减小,而 0.10 mg/L EBR 预处理(T₂)使葡萄幼苗叶片 AsA 和 GSH 含量以及 AsA/DHA 和 GSH/GSSG 显著增大。说明适宜浓度的外源 BRs 处理可提高葡萄叶片抗氧化剂 AsA 和 GSH 的含量,从而提高赤霞珠葡萄的耐盐性,这与 Özkan 等^[16]的研究结果一致。

另外,SOD 是在植物细胞中 AsA-GSH 循环系统中将 O₂⁻ 歧化为 H₂O₂ 和 O₂ 的主要酶类;APX 是植物特有的清除 H₂O₂ 的重要酶类^[35];GR 是植物体内一种重要的抗氧化酶类,其活性的大小直接决定植物细胞 GSH 的水平,在 AsA-GSH 循环系统中能够将 GSSG 还原成 GSH,提高 GSH 的含量及

GSH/GSSG 的比值,从而为活性氧的清除提供还原力,保护植物降低或不受氧化胁迫的危害^[26,36]。本试验结果表明,与单独盐胁迫处理(T₀)相比,0.10 mol/L EBR 预处理(T₂)显著提高葡萄叶片 GR、APX、SOD 抗氧化酶的活性,这与前人在黑麦草^[30]、芥菜^[37]和大米^[38]中的研究结果一致。外源 BRs 处理对葡萄幼苗盐胁迫伤害的缓解作用,可能是由于 EBR 促进了盐胁迫条件下植物抗氧化酶的合成或者上调了酶的合成基因,提高了抗氧化酶的活性,从而进一步清除葡萄叶片中产生的大量活性氧自由基,抑制膜脂过氧化反应,降低 MDA 的含量,缓解盐胁迫对葡萄幼苗的伤害。再次证明适宜浓度的 EBR 预处理可以有效提高葡萄盐胁迫下的抗氧化能力,显著缓解植株受到盐伤害,提高植株的耐盐能力。

综上所述,在本试验 50 mmol/L NaCl 胁迫条件下,葡萄幼苗叶片中 O₂⁻ 和 MDA 的含量显著增加;采用适宜浓度外源 BRs 预处理后,葡萄叶片中 O₂⁻ 和 MDA 的含量显著降低;采用 0.10 mol/L 外源 BRs 预处理可使葡萄叶片中抗氧化因子 AsA 和 GSH 含量及代表抗胁迫能力的 AsA/DHA 和 GSH/GSSG 的比值显著增加,同时也使葡萄叶片抗氧化酶 APX、GR 和 SOD 的活性显著提升。因此,适宜浓度的 EBR 预处理能够显著提高盐胁迫条件下葡萄幼苗抗氧化物质的含量及相关酶的活性,更有效地清除活性氧自由基,降低葡萄叶片 MDA 的含量,缓解盐胁迫导致的氧化损伤,从而增强葡萄幼苗对盐胁迫的耐性。

参考文献:

[1] HASANUZZAMAN M, NAHAR K, FUJITA M. Plant Response to Salt Stress and Role of Exogenous Protectants to Mitigate Salt-Induced Damages [M]// *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress*. Springer New York, 2013: 25-87.

[2] DOWNTON W J S. Salinity effects on the ion composition of fruiting Cabernet Sauvignon vines [Wine grape cultivar][J]. *American Journal of Enology & Viticulture*, 1977, 28: 210-214.

[3] MEGGIO F, PRINSI B, NEGRI A S, *et al*. Biochemical and physiological responses of two grapevine rootstock genotypes to drought and salt treatments [J]. *Australian Journal of Grape & Wine Research*, 2014, 20(2): 310-323.

[4] SALIN M L. Toxic oxygen species and protective systems of the chloroplast [J]. *Physiologia Plantarum*, 2010, 72(3): 681-689.

[5] IKBAL F. E, HERNÁNDEZ J. A. , BARBAESPÍN G. , *et al*. Enhanced salt-induced antioxidative responses involve a contribution of polyamine biosynthesis in grapevine plants [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2014, 171(10): 779-788.

[6] MOHAMMADKHANI N, HEIDARI R, *et al*. Effects of salinity on antioxidant system in four grape (*Vitis vinifera* L.) genotypes [J]. *Vitis Geilweilerhof*, 2013, 52(3): 105-110.

[7] MOHAMMADKHANI N, HEIDARI R, *et al*. Salinity effects on expression of some important genes in sensitive and tolerant grape genotypes [J]. *Turkish Journal of Biology*, 2016,40:95-108.

[8] LIU W, ZHANG Y, YUAN X, *et al*. Exogenous salicylic acid improves salinity tolerance of *Nitraria tangutorum* [J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2016, 63(1): 139-149.

[9] KRISHNA P, PRASAD B D, RAHMAN T. Brassinosteroid action in plant abiotic stress tolerance [J]. *Methods in Molecular Biology*, 2017,1 564: 193.

[10] SASSE J M, Recent progress in brassinosteroid research [J]. *Physiologia Plantarum*, 1997, 100(3): 696-701.

[11] FARIDUDDIN Q, YUSUF M, AHMAD I, *et al*. Brassinosteroids and their role in response of plants to abiotic stresses

- [J]. *Biologia Plantarum*, 2014, **58**(1): 9-17.
- [12] 惠竹梅,王智真,胡 勇,等. 24-表油菜素内酯对低温胁迫下葡萄幼苗抗氧化系统及渗透调节物质的影响[J]. 中国农业科学, 2013, **46**(5): 1 005-1 013.
- XI Z M, WANG Z Z, HU Y, *et al.* Effects of 24-Epibrassinolide on the antioxidant system and osmotic adjustment substance in grape seedlings (*V. vinifera* L.) under chilling stress [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, **46**(5): 1 005-1 013.
- [13] FARIDUDDIN, Q., MIR B. A., YUSUF M., *et al.* 24-Epibrassinolide and/or putrescine trigger physiological and biochemical responses for the salt stress mitigation in *Cucumis sativus* L [J]. *Photosynthetica*, 2014, **52**(3): 464-474.
- [14] SHAHBAZ, M., ASHRAF M., ATHAR H. U. R.. Does exogenous application of 24-epibrassinolide ameliorate salt induced growth inhibition in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Plant Growth Regulation*, 2008, **55**(1): 51-64.
- [15] TALAAT N B, SHAWKY B T. 24-Epibrassinolide ameliorates the saline stress and improves the productivity of wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Environmental & Experimental Botany*, 2012, **82**(3): 80-88.
- [16] ÖZKAN ÇOBAN, BAYDAR N G. Brassinosteroid effects on some physical and biochemical properties and secondary metabolite accumulation in peppermint (*Mentha piperita*, L.) under salt stress [J]. *Industrial Crops & Products*, 2016, **86**: 251-258.
- [17] 吴雪霞,查丁石,朱宗文,等. 外源 24-表油菜素内酯对高温胁迫下茄子幼苗生长和抗氧化系统的影响[J]. 植物生理学报, 2013, **49**(9): 929-934.
- WU X X, ZHA D S, ZHU Z W, *et al.* Effects of exogenous 24-Epibrassinolide on plant growth and antioxidant system in eggplant seedlings under high temperature stress [J]. *Plant Physiology Journal*, 2013, **49**(9): 929-934.
- [18] JIANG Y P, HUANG L F, CHENG F, *et al.* Brassinosteroids accelerate recovery of photosynthetic apparatus from cold stress by balancing the electron partitioning, carboxylation and redox homeostasis in cucumber [J]. *Physiologia Plantarum*, 2013, **148**(1): 133.
- [19] JIN S H, LI X Q, WANG G G, *et al.* Brassinosteroids alleviate high-temperature injury in *Ficus concinna* seedlings via maintaining higher antioxidant defence and glyoxalase systems [J]. *AoB Plants*, 2015, **7**: doi:10.1093/aobpla/plv00.
- [20] ELSTNER E F, HEUPEL A. Inhibition of nitrite formation from hydroxylammoniumchloride: A simple assay for superoxide dismutase [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, **70**(2): 616-620.
- [21] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [22] SHAN C, ZHAO X. Effects of lanthanum on the ascorbate and glutathione metabolism of *Vigna radiata* seedlings under salt stress [J]. *Biologia Plantarum*, 2014, **58**(3): 595-599.
- [23] GIANNOPOLITIS C N, RIES S K. Superoxide Dismutases: I. Occurrence in higher plants [J]. *Plant Physiology*, 1977, **59**(2): 309-14.
- [24] NAKANO Y, ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts [J]. *Plant & Cell Physiology*, 1981, **22**(5): 867-880.
- [25] FOYER C H, HALLIWELL B. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: A proposed role in ascorbic acid metabolism [J]. *Planta*, 1976, **133**(1): 21.
- [26] GARA L C, DE T M, *et al.* Ascorbate-dependent hydrogen peroxide detoxification and ascorbate regeneration during germination of a highly productive maize hybrid: evidence of an improved detoxification mechanism against reactive oxygen species. [J]. *Physiologia Plantarum*, 2000, **109**(1): 7-13.
- [27] SZALAI G, KELLOCS T, *et al.* Glutathione as an antioxidant and regulatory molecule in plants under abiotic stress conditions. [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2009, **28**(1): 66-80.
- [28] HASANUZZAMAN M, FUJITA M. Exogenous silicon treatment alleviates salinity-induced damage in *Brassica napus* L. seedlings by up-regulating the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system [J]. *Abstract of Plant Biology*, 2011, *American Society of Plant Biology*. <http://abstracts.aspb.org/pb2011/public/P10/P10001.html/>.
- [29] WANG C, ZHANG S H, WANG P F, *et al.* Excess Zn alters the nutrient uptake and induces the antioxidative responses in submerged plant *Hydrilla verticillata* (L. f.) Royle [J]. *Chemosphere*, 2009, **76**(7): 938-945.
- [30] AHMAD P, HASHEM A, ABDALLAH E F, *et al.* Role of *Trichoderma harzianum* in mitigating NaCl stress in Indian mustard (*Brassica juncea* L.) through antioxidative defense system [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, **6**: 868.
- [31] SUN S, AN M, HAN L, *et al.* Foliar application of 24-epibrassinolide improved salt stress tolerance of perennial ryegrass [J]. *Hortscience A Publication of the American Society for Horticultural Science*, 2015, **50**(10): 1 518-1 523.
- [32] SHAN C, LIU H, ZHAO L, *et al.* Effects of exogenous hydrogen sulfide on the redox states of ascorbate and glutathione in maize leaves under salt stress [J]. *Biologia Plantarum*, 2014, **58**(1): 169-173.
- [33] RAHAT N, SHAHID U, KHAN N A. Exogenous salicylic acid improves photosynthesis and growth through increase in ascorbate-glutathione metabolism and S assimilation in mustard under salt stress [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2015, **10**(3).
- [34] MOSTOFA M G, HOSSAIN M A, FUJITA M. Trehalose pretreatment induces salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings: oxidative damage and co-induction of antioxidant defense and glyoxalase systems [J]. *Protoplasma*, 2015, **252**(2): 461-475.
- [35] WILLEKENSH, LANGEBARTELS C., TIRÉ C., *et al.* Differential expression of catalase genes in *Nicotiana glauca* (L.) [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1994, **91**(22): 10 450.
- [36] WANG R, LIU S, ZHOU F, *et al.* Exogenous ascorbic acid and glutathione alleviate oxidative stress induced by salt stress in the chloroplasts of *Oryza sativa* L [J]. *Zeitschrift Fur Naturforschung C*, 2014, **69**(5-6): 226-236.
- [37] GUPTA P, SRIVASTAVA S, SETH C S. 24-epibrassinolide and sodium nitroprusside alleviate the salinity stress in *Brassica juncea* L. cv. *varuna* through cross talk among proline, nitrogen metabolism and abscisic acid [J]. *Plant & Soil*, 2016, **411**: 1-16.
- [38] N ÚÑEZ M, MAZZAFERA P, MAZORRA L M, *et al.* Influence of a brassinosteroid analogue on antioxidant enzymes in rice grown in culture medium with NaCl [J]. *Biologia Plantarum*, 2003, **47**(1): 67-70.