

低温胁迫下籽用西瓜幼苗生理变化与耐冷性的研究

杨 燕¹ 王 萍¹ 赵清岩¹ 张 岩²

(1. 内蒙古农业大学 农学院, 内蒙古农业大学野生特有蔬菜种质资源与种质创新省重点实验室,
内蒙古 呼和浩特 010019; 2. 农业部农业贸易促进中心, 北京 100125)

摘要:以三叶一心期的籽用西瓜幼苗为材料,采用10℃低温胁迫的方法,研究了黑籽瓜兰州大片(wb10)和红籽瓜巢湖红(wb7)随着处理天数的延长幼苗的耐冷性、光合特性、生理特性的变化规律,以探讨籽用西瓜耐低温的生理机制,从而为籽用西瓜的引种栽培和抗寒品种选育提供理论依据。结果表明:不同品种籽用西瓜幼苗的叶绿素含量、Pn、Tr、Gs、Ci随低温胁迫时间的延长而逐渐降低;Pro、MDA、相对电导率随低温胁迫时间的延长而升高。两品种的冷害指数存在一定差异,耐冷性表现为wb10>wb7。低温胁迫下,耐冷性较强的wb10幼苗叶片中的叶绿素含量、Pn、Tr、Gs、Ci均高于耐冷性较弱的wb7,而耐冷性较强的wb10幼苗叶片中MDA含量、脯氨酸含量、相对电导率均低于wb7。综合试验中各项指标认为,耐冷性与品种的来源、类型及在低温下植株的冷害指数、光合特性和细胞膜稳定性有关。

关键词:籽用西瓜幼苗;低温胁迫;耐冷性;光合特性

中图分类号:S651 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2012)03-0156-05

Study on Relationship between Physiological Changes and Chilling Tolerance in Seed-used Watermelon Seedling under Low-temperature Stress

YANG Yan¹, WANG Ping¹, ZHAO Qing-yan¹, ZHANG Yan²

(1. College of Agronomy Inner Mongolia Agricultural University, Key Laboratory of Wild Peculiar Vegetable Germplasm Resource and Germplasm Enhancement of Inner Mongolia Autonomous Region, Huhhot 010019, China;
2. Agricultural Trade Promotion Center of Ministry of Agriculture, Beijing 100125, China)

Abstract: The effects of 10℃ low temperature treatment on chilling tolerance, photosynthesis characteristics and protective system against active oxygen of 3 leaf stage seedlings of two seed-used watermelon varieties, one is black (wb10), the other is red (wb7), were investigated under low temperature stress. The research aim at supply theory basis for introduction and cultivation, improving Chilling tolerance of seed-used watermelon. The results showed that compared with control, chlorophyll content, the photosynthetic rate (Pn), stomatal conductance (Gs) and intercellular CO₂ concentration (Ci), transpiration rate (Tr) were declined with the time extension of low temperature treatment, the leakage of electrolytes, the content of proline and the content of MDA were increased in all the four varieties. There was a considerable difference of chilling tolerance among different varieties; Chilling tolerance from being strong to weak is wb10>wb7, seedlings of variety wb10 and wb7 with stronger chilling tolerance had lower electrolytic leakage (%), lower MDA content, higher proline content in leaves than those of variety wb10 and wb7 with weaker chilling tolerance. Therefore, chilling tolerance may be related to chilling injury index, photosynthesis characteristics and membrane stability in the plants.

Key words: Seed-used watermelon seedling; Low temperature stress; Chilling tolerance; Photosynthesis characteristics

籽用西瓜 (*Citrullus lanatus*. var. *megalaspermus*. Linet chao) 俗称打瓜、洗籽瓜、瓜子瓜, 属葫芦科普

收稿日期: 2012-03-12

基金项目: 内蒙古科技计划项目(20090707)

作者简介: 杨 燕(1985-), 女, 内蒙古巴彦淖尔人, 在读硕士, 主要从事蔬菜种质资源与种质创新研究。

通讯作者: 王 萍(1968-), 女, 内蒙古呼和浩特人, 副教授, 硕士生导师, 主要从事蔬菜种质资源与种质创新研究。

通西瓜亚种中的籽瓜变种, 分红籽瓜和黑籽瓜 2 类, 是一种重要的经济作物。低温胁迫是植物栽培中常常遇到的一种灾害, 而 10℃ 是大多数喜温作物受冷害的临界温度, 籽用西瓜对这一温度更为敏感^[1]。籽用西瓜在早春种植时, 常会受到低温的不良影响, 其中包括 0℃ 左右的冻害与偏低温 (≤15℃) 冷害。因此, 研究低温对籽用西瓜幼苗生长发育的影响, 就显得十分迫切。目前, 国内外学者对低温胁迫下西瓜^[2]、甜瓜^[3]、黄瓜^[4]、番茄^[5]、辣椒^[6]等蔬菜作物幼苗生长及生理特性、光合特性、抗氧化酶系统^[7]的影响研究报道较多。然而, 有关籽用西瓜耐低温的研究至今还未见报道。

本试验选取 2 份不同的籽用西瓜品种为材料, 研究 10℃ 低温处理下籽用西瓜幼苗的冷害指数、叶绿素含量、光合参数 (Pn、Tr、Gs、Ci)、游离脯氨酸 (Pro)、丙二醛 (MDA)、相对电导率在低温逆境胁迫下的变化, 以探讨籽用西瓜耐低温的生理机制, 从而为引种栽培和抗寒品种选育提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试籽用西瓜品种均为采集而来的品种, 见表 1。

表 1 籽用西瓜品种名称、来源及类型

Tab. 1 The varieties name, type and source of Seed-used Watermelon

品种名称 Varieties name	类型 Type	品种来源 Seed source
巢湖红 wb7	红瓜籽	内蒙古巴盟中旗德岭山镇
兰州大片 wb10	黑瓜籽	内蒙古巴盟中旗德岭山镇

1.2 试验方法

1.2.1 籽用西瓜幼苗的栽培与处理 试验分别于 2010 年 6 月、2011 年 6 月在内蒙古农业大学农学院蔬菜试验地进行。具体方法: 两品种选取籽粒饱满的种子, 通过浸种催芽, 待 80% 种子露白后, 播种于 (10 cm × 10 cm) 塑料营养钵中, 以蛭石和草炭 (1:2) 混合作基质。当幼苗长至三叶一心时, 挑选生长一致的幼苗进行低温处理, 低温处理温度为 10℃, 光照 100 μmol/(m²·s), 光照 12 h, 黑暗 12 h, 交替处理^[8]。然后选取低温处理 0, 3, 6, 9 d 的籽用西瓜幼苗在实验室测定各项指标, 包括幼苗叶片的冷害指数、叶绿素含量、光合参数包括光合速率 (Pn)、细胞间隙 CO₂ 浓度 (Ci)、气孔导度 (Gs)、蒸腾速率 (Tr)、丙二醛 (MDA)、脯氨酸 (Pro)、相对电导率, 每个处理 3 次重复。

1.2.2 各项指标测定方法 冷害指数的测定方法。参照 Semenik^[9] 标准进行冷害分级: 0 级, 无明显症

状; 1 级, 第 1、2 叶叶缘失水, 其他无明显症状; 2 级, 第 1、2 叶叶缘失水严重, 第 3 叶叶缘略失水, 第 4 叶及心叶无明显症状; 3 级, 第 1、2 叶出现脱水斑, 第 3 叶叶缘严重失水, 心叶略失水; 4 级, 第 1、2 叶脱水斑连接成片, 叶片萎蔫; 5 级全部叶片萎蔫, 幼苗在常温下不能恢复。逐日观察冷害情况, 并按下式计算冷害指数。冷害指数 = Σ (各级株数 × 级数) / 总株数。

叶绿素及光合参数的测定方法。叶绿素的测定方法: 叶绿素含量的测定采用丙酮无水乙醇浸提法^[11]。光合参数的测定方法: 低温处理 0, 3, 6, 9 d, 10:30 时用 LI-6400 光合仪测定从植株顶部向下第 3 片最大完全展开功能叶片的净光合速率 (Pn)、细胞间隙 CO₂ 浓度 (Ci)、气孔导度 (Gs)、蒸腾速率 (Tr)。测定均在 25℃、光照强度为 600 μmol/(m²·s)、CO₂ 浓度为 350 μL/L 下进行^[10]。

生理指标的测定方法: MDA 含量的测定采用硫代巴比妥酸显色法^[11], 质膜透性的测定采用电导仪法^[12], Pro 含量的测定采用磺基水杨酸法^[12]。上述指标的测定取样均为鲜质量。

1.3 数据统计

所有数据均为 2 年试验数据的平均值进行统计学分析, 应用 SAS 软件进行方差分析, 并应用 Microsoft Excel 2000 对试验数据进行作图。

2 结果与分析

2.1 不同品种籽用西瓜耐冷性分析

冷害指数是确定植物耐冷性的有效指标之一, 也能直接从外观上反映低温胁迫对幼苗叶片的伤害程度。冷害指数与植物的耐低温能力呈负相关^[13]。由表 2 可知, 不同品种的冷害指数存在一定差异, 耐冷性表现为 wb10 > wb7。品种间的差异主要表现在对低温的敏感程度和忍受低温时间长短两方面。低温处理前 2 d 时, 2 个品种均未出现冷害症状, 且品种间无显著差异 (P > 0.05); 低温处理 3 d 时, wb7 出现冷害症状, wb10 未出现冷害; 待低温处理 5 d 时, 冷害症状加剧, 品种间差异显著 (P < 0.05)。wb7 受害严重, 叶片开始萎蔫下垂。9 d 时, wb7 有 80% 的幼苗萎蔫下垂, 冷害症状严重; 与之相比, wb10 相对较轻。因此, wb10 幼苗耐冷性强于 wb7。

2.2 低温胁迫对不同品种籽用西瓜幼苗叶片叶绿素含量和光合特性的影响

2.2.1 低温胁迫对不同品种籽用西瓜幼苗叶片叶绿素含量变化的影响 由于低温能够加剧叶绿体的降解并抑制其合成, 因此, 叶绿素含量的变化也能充

分反映低温对植物的伤害程度。在本试验中,由表 3 可知,0 d 时 wb10 的叶绿素含量高,wb7 的含量低。随着低温胁迫天数的增加两品种幼苗叶片叶绿素的含量逐渐降低,其中以 wb7 下降幅度较小,而

wb10 下降幅度较大,并随着低温胁迫天数的增加下降幅度逐渐增大,wb7 下降幅度依次为 8.99%, 20.09%, 47.70%, 且 2 品种间差异不显著($P > 0.05$)。

表 2 低温胁迫下两不同品种籽用西瓜幼苗耐冷指数的比较

Tab.2 The comparison of chilling injury index of different Seed-used Watermelon seedling under low temperature stress

品种 Varieties	冷害指数 Chilling injury index								
	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d
wb7	0.000a	0.000a	0.125a	0.375a	0.833a	0.833a	1.417b	1.708a	2.500a
wb10	0.000a	0.000a	0.000b	0.363a	0.775b	0.875a	1.542a	1.667b	2.333b

注:小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。表 3~6 同。

Note: Small letter indicate significant differences at 5% lever. The same as Tab.3-6.

表 3 低温胁迫对不同品种籽用西瓜
幼苗叶片中叶绿素含量变化的影响

Tab.3 The effects of low temperature stress on the
chlorophyll in leaves of Seed-used Watermelon seedling

处理天数/d Days of treatment	叶绿素含量/(mg/L) Chlorophyll content	
	wb7	wb10
0	30.060a	31.611a
3	27.359b	28.318a
6	24.022a	23.920b
9	15.720a	16.232a

2.2.2 低温胁迫对不同品种籽用西瓜幼苗叶片的净光合速率(P_n)及蒸腾速率(T_r)变化的影响 从表 4 可以看出,随着低温胁迫时间的延长,各品种的 P_n 和 T_r 总体上呈降低趋势。低温胁迫 3 d 时,wb7、wb10 的 P_n 都下降,分别比未处理前降低了 48.13%,39.90%,且 wb7 下降幅度较大,此时 wb10 与 wb7 具有显著性差异($P < 0.05$);低温胁迫 3 d 时, T_r 也呈持续下降趋势,两品种分别比未胁迫前降低了 20.80%,10.93%,此时 wb10 与 wb7 具有显著性差异($P < 0.05$)。低温胁迫 6 d 时,两品种叶片的 P_n 和 T_r 都继续下降,但下降幅度较小;低温胁迫 9 d 时,两品种叶片 P_n 在下降; T_r 也持续下降,其中 wb7 的 T_r 下降幅度较大,为 19.32%,而 wb10 下降幅度较小,为 9.15%,两品种具有显著性差异($P < 0.05$)。

表 4 低温胁迫对不同品种籽用
西瓜幼苗叶片 P_n 和 T_r 变化的影响

Tab.4 The effects of low temperature stress on the P_n
and T_r in leaves of Seed-used Watermelon seedling

处理天数/d Days of treatment	光合速率/($\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$) Photosynthetic rate (P_n)		蒸腾速率/($\text{mmol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$) Transpiration rate (T_r)	
	wb7	wb10	wb7	wb10
0	4.160a	4.912a	1.892b	1.913a
3	2.158b	2.952a	1.497b	1.704a
6	1.019b	1.251a	1.227b	1.388a
9	0.908b	0.882a	0.990b	1.261a

2.2.3 低温胁迫对不同品种籽用西瓜幼苗叶片

的 G_s 及 C_i 变化的影响 由表 5 可知,随着低温胁迫时间的增加两品种叶片的 G_s 及 C_i 这 2 项指标总体呈降低趋势。低温胁迫 3 d 时,wb7、wb10 叶片的 G_s 降幅为 28.45%,23.69%,且 wb7 下降幅度相对较大,有显著性差异($P < 0.05$)。低温胁迫前,两品种幼苗叶片 C_i 不存在差异,但低温胁迫 3 d 时,两品种 C_i 的降幅分别为 17.14%,14.82%,且差异显著($P < 0.05$);低温胁迫 6 d 时,两品种叶片 G_s 和 C_i 总体呈降低趋势;9 d 时, G_s 和 C_i 仍在下降,但 wb10 叶片保持较高的 G_s 和 C_i 。

表 5 低温胁迫对不同品种籽用西瓜
幼苗叶片 G_s 和 C_i 变化的影响

Tab.5 The effects of low temperature stress on the G_s
and C_i in leaves of Seed-used Watermelon seedling

处理天数/d Days of treatment	气孔导度/($\text{mmol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$) Stomatal conductance(G_s)		胞间 CO_2 浓度/($\mu\text{L}/\text{L}$) Intercellular CO_2 concentration(C_i)	
	wb7	wb10	wb7	wb10
0	0.253a	0.249a	297.0a	298.2a
3	0.181b	0.190a	246.1b	254.0a
6	0.136a	0.135a	218.4b	222.7a
9	0.090b	0.095a	205.9b	207.7a

2.3 低温胁迫对不同品种籽用西瓜幼苗生理指标的影响

2.3.1 低温胁迫对不同品种籽用西瓜幼苗叶片脯氨酸(Pro)含量变化的影响 脯氨酸是植物体内一种重要渗透调节物质,可反映植物受胁迫状况^[10]。从图 1-A 可以看出,两品种脯氨酸含量随低温胁迫时间的延长呈明显上升趋势且上升幅度不同。处理前,两品种的脯氨酸含量无明显差异,经过 3 d 低温胁迫后,两品种植株幼苗叶片内的脯氨酸含量均随着低温时间的延长而增加,说明其对膜系统的保护作用增强。在低温处理 6 d 时,wb7 增加幅度大于 wb10,与 0 d 相比,两品种分别增加了 63.11%,57.15%。低温处理 6~9 d,wb10 呈继续上升趋势,而 wb7 开始下降,两品种差异显著($P < 0.05$)。

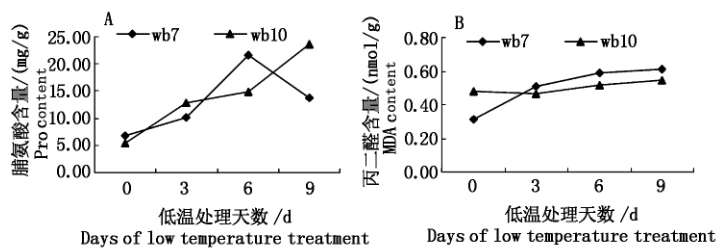


图1 低温胁迫对不同品种籽用西瓜幼苗叶片中 Pro、MDA 含量变化的影响

Fig.1 The effects of low temperature stress on the content of proline MDA in leaves of Seed-used Watermelon seedling

2.3.2 低温胁迫对不同品种籽用西瓜幼苗叶片丙二醛(MDA)含量变化的影响 MDA 是膜脂过氧化的产物,可以衡量逆境下膜脂过氧化水平^[13]。由图 1-B 可知,低温胁迫下,两品种籽用西瓜幼苗的丙二醛(MDA)含量均随低温胁迫天数增加呈明显上升趋势且上升幅度不同,两品种间丙二醛含量差异不显著($P > 0.05$)。随着低温处理天数的增加,wb7 幼苗丙二醛含量的上升幅度明显高于 wb10,与 0 d 相比,3、6、9 d 分别增加 0.199、0.274、0.295 nmol/g,说明低温造成 wb7 幼苗膜脂过氧化,其损伤程度较大,有较弱的膜质抗氧化能力,而 wb10 有较强的膜质抗氧化能力。

2.3.3 低温胁迫对不同品种籽用西瓜幼苗叶片相对电导率变化的影响 从图 2 可以看出,随着低温胁迫时间的延长,两品种的相对电导率都呈缓慢上升趋势,是因为细胞膜系统开始对低温逆境产生反应,细胞膜透性发生不同程度的增大,电解质有不同程度的外渗,从而导致电导率有不同程度的加大。低温胁迫前,两品种的初始电导率相近;低温胁迫 3 d 时,两品种增加幅度相近,差异不显著($P > 0.05$);低温胁迫 6 d 时,wb7 上升较快,wb10 上升较缓,两品种差异

显著($P < 0.05$);9 d 时,wb7 的相对电导率上升幅度大于 wb10,说明 wb10 原生质膜稳定性较好,耐冷性较强。

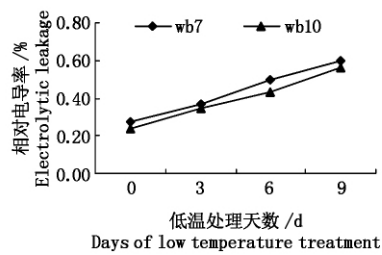


图2 低温胁迫对不同品种籽用西瓜幼苗叶片中相对电导率的影响

Fig.2 The effects of low temperature stress on the electrolytic leakage in leaves of Seed-used Watermelon seedling

2.3.4 低温胁迫下籽用西瓜幼苗叶片的脯氨酸、丙二醛、相对电导率与冷害指数的相关性 由表 6 可知,两品种籽用西瓜幼苗叶片的脯氨酸、丙二醛、相对电导率与所测得的冷害指数呈正相关,说明植株外部观测到的冷害症状与内部受到的伤害程度是一致的。这 3 项指标中,相对电导率与冷害指数的相关系数最大,表明相对电导率可作为籽用西瓜耐冷性鉴定的最佳指标。

表 6 低温胁迫下籽用西瓜幼苗叶片 Pro、MDA、相对电导率与冷害指数的相关性

Tab.6 The relating of low temperature stress on the proline MDA electrolytic leakage and chilling injury index in leaves of Seed-used Watermelon seedling

处理天数/d Days of treatment	脯氨酸/(mg/g) Proline		丙二醛/(nmol/g) Malondialdehyde		相对电导率/% Electrolytic leakage	
	wb7	wb10	wb7	wb10	wb7	wb10
0	6.76a	5.46a	0.31b	0.48a	0.24a	0.28a
3	10.06a	12.73b	0.51a	0.47b	0.34b	0.37a
6	21.53a	14.79b	0.59a	0.51b	0.46b	0.50a
9	13.76b	23.74a	0.61a	0.52b	0.59a	0.57b
与冷害指数的相关系数 r	0.390	0.919	0.704	0.815	0.939	0.904

3 结论与讨论

植物在遇到低温、干旱等逆境胁迫时均涉及到活性氧的伤害问题,这些活性氧对膜、光合器官及许多生物功能分子均有破坏作用^[15]。和红云等^[16]研究了低温胁迫对甜瓜幼苗叶绿素含量及荧光参数的

影响,表明了低温条件造成了甜瓜幼苗叶绿素含量下降及温度胁迫使光合电子传递过程受抑制,光合电子传递速率下降。朱祝军等^[15]对低温胁迫下西瓜嫁接苗的生理变化与耐冷性关系进行了研究,认为耐冷性与低温下植株具有较高的抗氧化能力和细胞膜稳定性有关。本试验结果表明,随着低温胁迫

时间的延长,籽用西瓜两品种幼苗叶片的冷害指数、脯氨酸、丙二醛(MDA)、相对电导率随低温胁迫时间的延长而增加,叶绿素含量、光合作用参数(P_n 、 Tr 、 G_s 、 C_i)随低温胁迫时间的延长而逐渐降低,说明低温已造成植株体内膜质过氧化作用,降低了植株的光合作用能力。本试验中耐冷性较强的品种wb10的叶片中相对电导率、MDA含量低于耐冷性弱的wb7,而脯氨酸含量高于耐冷性弱的wb7;冷害指数相关分析显示,低温胁迫后叶片的相对电导率、MDA含量和Pro含量与冷害指数均呈显著的正相关,表明幼苗低温耐受能力与膜透性的破坏和膜脂过氧化有关,这些指标可以反映出不同品种的耐低温能力。

本试验结果表明,兰州大片(wb10)的耐冷性相对强于巢湖红(wb7),这可能与籽瓜品种起源地的生长环境有关。黑瓜籽主要在北方大面积栽培,而红瓜籽有资料记载1664年在江西信丰就有栽培^[17]。起源地的生长环境不同,以致其耐冷性存在一定差异。由本试验可知,10℃下,通过测定冷害指数、脯氨酸、丙二醛、相对电导率、叶绿素含量、光合参数这些指标可以用来鉴定籽用西瓜的耐冷性。

参考文献:

- [1] 傅立国,陈潭清.中国高等植物第七卷[M].青岛:青岛出版社,2001:73-74.
- [2] 许勇,王永健,张峰,等.西瓜幼苗耐低温研究初报[J].华北农学报,1997,12(2):93-96.
- [3] 李建明,黄志,王中红.低温锻炼对冷胁迫下甜瓜幼苗抗氧化酶活性与质膜透性的影响[J].西北农业学报,2007,16(1):168-171.
- [4] 逯明辉,宋慧,李晓明,等.冷害过程中黄瓜叶片SOD、CAT和POD活性的变化[J].西北植物学报,2005,25(8):1570-1573.
- [5] 黄伟,任华中,张福墁.低温弱光对番茄苗期生长和光合作用的影响[J].中国蔬菜,2002(4):15-17.
- [6] 郁继华,张国斌,冯致,等.低温弱光对辣椒幼苗抗氧化酶活性与质膜透性的影响[J].西北植物学报,2005,25(12):2478-2483.
- [7] Alherl H M. Chilling injury: A review of possible causes[J]. HortScience, 1986, 21(6):1329-1333.
- [8] 刘慧英,朱祝军,吕国华.低温胁迫对嫁接西瓜耐冷性和活性氧清除系统的影响[J].应用生态学报,2004,15(4):659-662.
- [9] Smeniuk P, Moline H K. A comparison of effect of ABA and antitranspirant on chilling injury of coleus, cucumber and dieffenbachia[J]. Amer Soc Hort Sci, 1986, 11(6):866-86.
- [10] 刘慧英,朱祝军,史庆华.低温胁迫下嫁接对西瓜光合特性及叶绿素荧光数影响的研究[J].石河子大学学报:自然科学版,2007,25(2):163-167.
- [11] 李合生.植物生理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,2004.
- [12] 郝再彬.植物生理实验[M].哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社,2004.
- [13] 张爱华,王静华,李艳梅,等.西瓜种质资源耐低温性评价[J].中国农学通报,2010,26(18):219-223.
- [14] 张国民,王连敏,王立志,等.苗期低温对玉米叶绿素含量及生长发育的影响[J].黑龙江农业科学,2000(1):10-12.
- [15] 朱祝军,刘慧英,吕国华.低温胁迫对西瓜耐冷性和活性氧清除系统的影响[J].应用生态学报,2004,15(4):659-662.
- [16] 和红云,薛林,田丽萍,等.低温胁迫对甜瓜幼苗叶绿素含量及荧光参数的影响[J].北方园艺,2008(4):13-16.
- [17] 熊得桃.信丰红籽用西瓜生产之浅谈[J].中国西瓜甜瓜,1994(2):28-29.