

极多产对冷胁迫后黄瓜幼苗恢复生长的影响

吕晓菡, 寿森炎, 廖芳宾

(浙江大学 园艺系 浙江 杭州 310029)

摘要:以黄瓜(*Cucumis sativus* L.) 幼苗为试材, 研究了不同浓度极多产溶液(壳聚糖的酸性溶液)的处理对其低温胁迫后的生长势和生理生化特性变化的影响。结果表明:在低温胁迫后恢复生长过程中,极多产处理浓度为 100 mg/L 和 200 mg/L 的黄瓜幼苗恢复生长较快,常温下恢复生长 15 d 幼苗的光曲线净光合速率及活性氧清除酶 SOD、APX 和 POD 也明显高于对照,同时植株的株高、最大叶面积、鲜重和干重也都显著高于对照。说明适宜浓度的极多产处理能有效地促进冷胁迫后黄瓜幼苗的生长,对低温胁迫有一定的缓解效应。

关键词:冷胁迫;极多产;生长势;抗氧化酶;光合作用

中图分类号:S 642.2;Q 945.18 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2007)08-0003-04

低温是黄瓜冬春季早熟栽培中常常遇到的主要危害之一,其危害程度深、范围广,常常会导致植株生长缓慢甚至死亡,并最终造成大面积减产。黄瓜耐冷性的研究,近些年来一直受到国内外科研工作者的关注^{1,2},但至今还未取得关键性的进展。极多产由高纯度低分子几丁聚糖(主要为壳聚糖: chitosan)、柠檬酸等加工而成的,是一种非生长激素,非肥料,非农药,无公害的植物生化机转的激活剂³。极多产具有保持植株健康,防止细菌感染;提升品质,增加干物质积累;对阴离子农药有较强吸附能力,降低农药残留;延缓果实衰老等作用并被广泛应用于农业生产的诸多环节⁴⁻⁶。然而,对于极多产在诱导植物抗逆性促进生长方面的研究还不多见。因此,试验以黄瓜幼苗为试材,初步探讨了极多产对黄瓜幼苗遭受低温胁迫后恢复生长阶段主要作用的机理,希望获得黄瓜冬春季栽培的新技术,使黄瓜生产达到稳产、高产的目地。

1 材料与方法

1.1 试材的培养与处理

供试品种为津研 4 号黄瓜。供试品种于 2005 年 3 月中下旬在浙江大学蔬菜研究所温室内开始栽培。先将供试种子在 30℃ 的温度下浸泡 4 h,放入垫有两层充分湿润的滤纸的培养皿中 25℃ 催芽,胚芽长至 0.5 cm,播于装满蛭石的穴盘中,再放在温室中育苗,温度约为 25℃/15℃ (昼/夜)。待黄瓜苗子叶完全张开,移栽进行水培,每 1 周加 1 次营养液。待黄瓜开始长到两叶一心时,备用。

用浓度分别为 0、50、100、200 mL/L,分子量约为 6 000 Da 极多产溶液分别对黄瓜叶面进行喷施处理 1 次后,以清水作为对照。将幼苗移至 10℃/8℃(昼/夜),光照时间为 12 h 的人工气候箱中低温处理,以后每天喷施一次极多产处理液。低温连续处理 4 d 后,将黄瓜幼苗放置于日光温室(约 28℃/18℃)继续栽培。常温下恢复栽培 12 d 后,经随机取样,测量黄瓜幼苗的株高、最大叶长宽,称量其鲜重和干重以及测定其光合及抗氧化酶变化。叶面积近似计算按叶面积=叶长×叶宽。

1.2 分析方法

1.2.1 抗氧化酶的测定 称取 0.5 g 叶片,在 5 mL 预冷的 pH 7.8(0.05 mol/L)磷酸缓冲液中冰浴研磨,于 4℃ 下 12 000×g 离心 15 min,上清液即为酶提取液。SOD 酶活性的测定用 Giannopoliti 和 Ries⁷ 的方法,测定 560 nm OD 值。POD 酶活性的测定用 Rao 等⁸ 的方法,在 470 nm 比色,测定其单位时间内吸光度的变化。APX 酶活性的测定用 Dalton 等⁹ 方法,在 290 nm 比色,测定其单位时间内吸光度的变化。各抗氧化酶活性测定的比色均用 UV-1601 型分光光度计(日本岛津)。

1.2.2 光合作用测定 气体交换变量用 LI-6400 便携式光合仪(LI-COR 美国)测定。

1.2.3 叶绿素荧光参数的测定 用 FMS-2 型调制式荧光仪(Hansatech,英国)测定各项荧光参数。各参数意义及计算公式如下:光化学猝灭系数: $qp = (Fm' - Fs) / (Fm' - Fo')$ ¹⁰; PS II 反应中心光能捕获效率: $Fv' / Fm' = (Fm' - Fo') / Fm'$ ¹¹; 实际光化学效率: $\Phi PS II = qpPx (Fv' / Fm') = (Fm' - Fs) / Fm'$ ¹²。上述各符号的意义如下: Fo' 为光适应后的初始荧光; Fm' 为光适应后的最大荧光; Fv' 为光适应后的最大可变荧光; Fs 为光适应后稳态荧光。

第一作者简介:吕晓菡(1982-),女,硕士,主要从事园艺植物环境调控及生理生态的研究。E-mail: shousy@zju.edu.cn.

基金项目:国家“863”计划资助项目(202AA207013-2)。

收稿日期:2007-03-20

2 结果与分析

2.1 对黄瓜幼苗生长势的影响

由表 1 可见, 经不同浓度极多产溶液处理后, 低温胁迫后恢复生长的黄瓜幼苗的株高、最大叶面积、整个植株的鲜重及干重均明显高于对照。但是, 这种促进作用并不是随着浓度的增大而增大。其中以 100 mg/L 极多产溶液喷施效果最佳, 处理后黄瓜幼苗的株高、最大叶面积、鲜重和干重分别比对照增加 84.85%, 117.12%, 156.65% 和 163.99%。此后当浓度进一步增大至 200 mg/L 时, 这种效果反而下降, 但还是高于对照。这

充分说明, 极多产能提高植物的抗逆性, 使黄瓜幼苗在受到低温胁迫后能迅速恢复生长, 缓解了由于低温而使黄瓜幼苗在生长量上的损失。

表 1 极多产对低温胁迫后恢复生长黄瓜幼苗生长量的影响

处理浓度 /mg·L ⁻¹	株高/cm	最大叶面积 /cm ²	鲜重/g	干重/g
0	8.25	28.82	3.442	0.361
50	9.00	42.65 *	5.183 **	0.531 **
100	15.25 **	62.575 *	8.834 **	0.953 **
200	11.25 **	52.975 *	7.467 **	0.57 **

注: *P<0.05 **P>0.01.

2.2 对黄瓜幼苗光合系统的影响

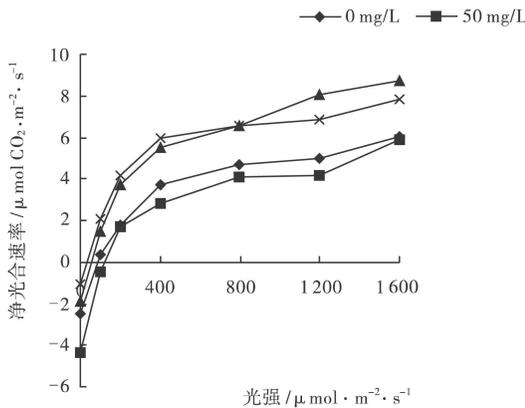


图 1 低温胁迫后黄瓜幼苗净光合速率的变化

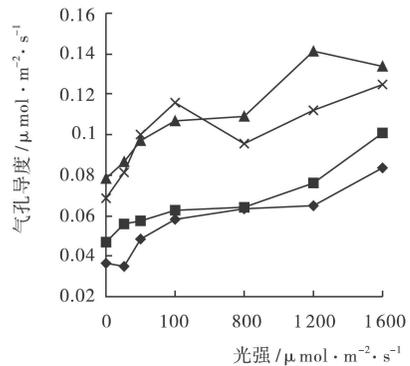


图 2 低温胁迫后黄瓜幼苗气孔导度的变化

2.2.1 对黄瓜幼苗净光合速率的影响 从图 1 可以看出, 经过 10℃/8℃(昼/夜)的低温胁迫后, 各个处理以及对照的黄瓜幼苗在光强逐渐增强的情况下, 净光合速率都呈现升高→稳定的趋势。各个处理以及对照的黄瓜幼苗的 LCP(光补偿点)的大小为: 200 mg/L 的处理 < 100 mg/L 的处理 < 对照 < 50 mg/L 的处理。此外, 当光强在 0~1600 μmol · m⁻² · s⁻¹ 之间变化时, 100 mg/L 和 200 mg/L 的极多产处理的净光合速率都要比对照高, 并且达到了显著性差异水平 (P=0.05), 尤其是 100 mg/L 处理的净光合速率比其他处理都显著的高。

然而, 50 mg/L 极多产处理的净光合速率则与对照的较接近, 没有明显的差异。

2.2.2 对黄瓜幼苗气孔导度的影响 如图 2 所示, 各个处理以及对照黄瓜幼苗的气孔导度的变化趋势比较复杂, 极多产处理过的黄瓜幼苗的气孔导度大体上是呈升高→下降→升高的趋势, 然而, 对照的气孔导度则呈下降→升高的趋势。当光强在 0~1600 μmol · m⁻² · s⁻¹ 之间变化时, 用极多产喷施过的黄瓜幼苗气孔导度都比对照要高, 并且, 在总体上 100 mg/L 处理 > 200 mg/L 处理 > 50 mg/L 处理。

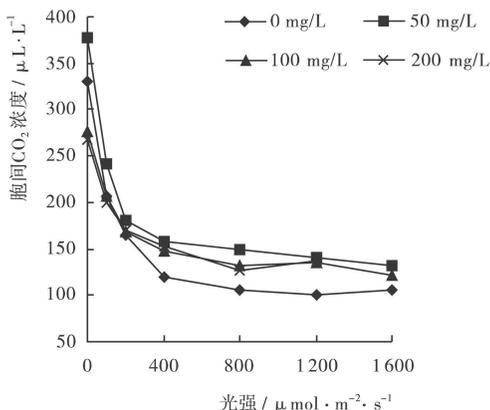


图 3 低温胁迫后黄瓜幼苗胞间 CO₂ 浓度的变化

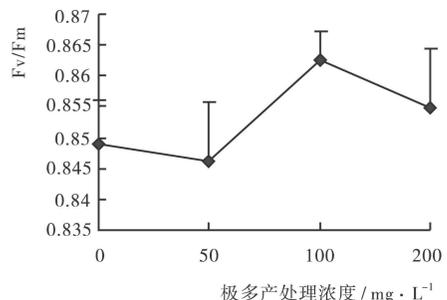


图 4 低温胁迫后黄瓜幼苗光化学效率的变化

2.2.3 对黄瓜幼苗胞间 CO_2 浓度的影响 从图 3 中可以看出, 各个处理以及对照的胞间 CO_2 浓度均呈现下降→稳定的趋势。当光强在 $0 \sim 1600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 之间变化时, 用极多产喷施过的黄瓜幼苗的胞间 CO_2 浓度都比对照要高, 且在总体上 100 mg/L 处理 $> 50 \text{ mg/L}$ 处理 $> 200 \text{ mg/L}$ 处理。

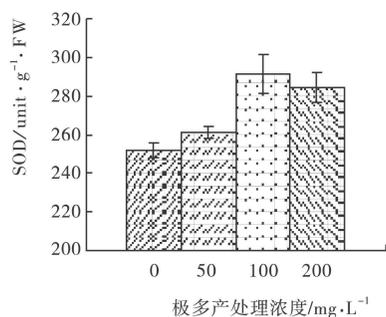


图 5 低温胁迫后的黄瓜幼苗 SOD 活性的变化

2.3 极多产对低温胁迫后恢复生长的黄瓜幼苗抗氧化系统的影响

由图 5 可以看出, 低温胁迫后的黄瓜幼苗, 在 4 个不同的极多产浓度处理后, 其 SOD 酶活性呈现上升→下降的趋势。而且, 在极多产处理浓度为 100 mg/L 时达到最大值, 即 $291.12 \text{ unit} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{FW}$ 。

由图 6 看出, 胁迫后的黄瓜幼苗, 在 4 个不同极多产溶液浓度处理后, 其 APX 酶活性和 POD 酶活性都呈现上升的趋势, 并且两者都在 100 mg/L 和 200 mg/L 这 2 个浓度时达到较高值。

3 讨论

极多产是一种植物生化机转的激活剂, 其主要成分为壳聚糖和柠檬酸^[1]。大量研究表明^[13-16]: 壳聚糖可以通过调节植物的呼吸作用, 缓解膜脂损伤, 干扰病菌生长, 诱导植物抗性等方面延缓衰老、控制病害发生, 从而起到促进植物生长的作用。也有报道, 柠檬酸对提高植物抗逆性促进植物生长方面也有一定的积极作用^[17]。通过试验结果表明(表 1), 喷施适宜浓度极多产的黄瓜幼苗在遭受冷胁迫后其生长势明显比对照强, 并加速了干物质在其体内的积累, 这说明了极多产对低温胁迫后植株的生长也存在着明显的促进效应。

有关低温对植物光合作用的影响, 早在 20 世纪 20 年代就有人开始研究。近年来, 这方面的研究取得了许多进展^[18]。有研究发现: 低温会对植物叶片的光补偿点、饱和点、净光合速率以及 CO_2 的补偿点、饱和点产生影响^[19]。低温之所以能对植物光合作用造成影响的原因大致可以分为两个方面: 一是低温直接影响光合机构

2.2.4 对低温胁迫后恢复生长的黄瓜幼苗光化学效率的影响 从图 4 看出, 不同的极多产处理浓度对黄瓜幼苗光化学效率的影响不同。 100 mg/L 和 200 mg/L 处理的光化学效率都比对照高, 分别高 1.6% 和 0.7% 。然而, 50 mg/L 处理的光化学效率则要比对照低。

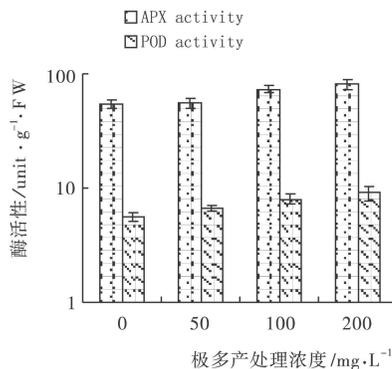


图 6 低温胁迫后的黄瓜幼苗 APX 和 POD 活性的变化

的结构和活性, 如叶绿体类囊体膜的组分、透性和流动性等, 叶绿体的亚显微结构, 叶绿素含量及叶绿素 a/b 比值的变化, 光合作用的光化学反应、暗反应等; 二是低温影响植物体内其他生理过程, 从而间接影响光合作用, 如低温引起水分胁迫, 气孔对 CO_2 扩散阻力的增加等^[18]。试验结果表明: 在光强由弱到强的变化过程中, 适宜浓度的极多产处理使低温胁迫后恢复生长的黄瓜幼苗的光合参数都显著高于对照。其中, 极多产处理过的黄瓜幼苗的蒸腾速率和气孔导度都较对照有所提高(图 2、图 3)。因此认为, 极多产能调节呼吸和蒸腾作用, 在适当的范围内增加水分和 CO_2 进入植株体内, 然而, 这两者恰恰就是植株光合作用所必须的原料。在植物的光合反应链中, 底物的积累将在一定程度上增加其反应速率^[8], 因此, 极多产的净光合速率和光合效率都大大提高了(图 1、图 4)。这说明, 极多产能调节植株的呼吸作用和蒸腾作用, 从而间接促进植物的光合能力的提高。至于极多产能否直接作用植株的光合机构, 目前的研究还不是十分清楚, 有待于进一步探究。总之, 从研究结果可以看出, 喷施极多产能提高低温胁迫后恢复生长的黄瓜幼苗的光合能力。

SOD、POD 和 APX 均属于抗氧化酶类^[20], 对黄瓜幼苗在低温胁迫下清除活性氧, 防止膜质过氧化及抗低温伤害具有重要作用^[21]。植物体内抗氧化酶类活性的强弱直接关系到抗低温的能力^[22]。试验结果表明: 经过极多产处理的黄瓜幼苗, 在低温胁迫后恢复生长时期, 其 SOD、POD 和 APX 均明显高于对照。这说明, 在低温胁迫解除以后, 极多产能有效地激活 SOD、POD 和 APX

的活性,增强了植株抵御低温胁迫的能力。就这3种酶而言,SOD对极多产处理的反应最为敏感,与对照的差异最为显著(图5、图6),这与薛国希^[22]和马德华^[23]的研究结果比较相似,也是符合试验黄瓜品种的一般规律的。

虽然有很多研究发现壳聚糖和柠檬酸对提高植物抗逆性都有一定的积极的影响,但是对极多产在抗性方面的研究却不多见。试验采用适宜浓度的极多产溶液处理低温胁迫后的黄瓜幼苗,发现它能增强植株生长势,加速干物质的积累,调节呼吸和蒸腾作用,提高光合能力,激活植株体内抗氧化酶类的活性,从而促进了黄瓜幼苗的冷胁迫后的恢复生长,对黄瓜幼苗的低温伤害有明显的缓解作用。虽然还有一些具体的抗性机理不是十分清楚,但是该研究结果对冬春季栽培黄瓜达到稳产、高产还是具有较高的现实意义的。

参考文献

- [1] 王国莉,郭振飞.植物耐冷性分子机理的研究进展[J].植物学通报,2003,21(6):671-679.
- [2] 黄荣峰,王学臣.植物对低温胁迫响应的分子机理[J].农业生物技术学报,2001,9(1):92-96.
- [3] 任明兴,骆耀平,汤玉平,等.生物激活剂极多产在茶树上的应用效应[J].浙江农业科学,2005(1):24-25.
- [4] 邹良栋.极多产涂膜常温保鲜果蔬的研究[J].中国果品研究,1997(2):19-20.
- [5] 水茂兴.极多产处理番茄、青椒的保鲜效果[J].浙江农业科学,2001(4):164-166.
- [6] 胡文玉,邹良栋.极多产涂膜对苹果的保鲜效应(简报)[J].植物生理学通讯,1998,34(1):17-20.
- [7] Giannopolitis C N, Ries S K f. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants[J]. Plant Physiol, 2002, 59: 309-314.
- [8] Vander P, Varum K M, Domard A, et al. Comparison of the ability of partially N-acetylated chitosans and chito oligosaccharides to elicit resistance

- reaction in wheat leaves [J]. Plant Physiol, 1996, 118: 1353-1359.
- [9] Du J M, Gemma H. Effects of chitosan coating on the storage of peach Japanese pear and kiwifruit [J]. J. Jap Soci for Hort Sci, 1997, 66(1): 15-22.
- [10] Van Kooten O, Snel J P H. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature In plant stress physiology [J]. Photosynth Res, 1998, 25: 147-150.
- [11] Demmig-Adams B, Adams WW III. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation [J]. Physiol Plant, 1998, 98: 253-264.
- [12] Genty B, Briantais J M, Baker NR. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence [J]. Biochim Biophys Acta, 1999, 990: 87-92.
- [13] El Ghaouth A, Arul J, Grenier J, et al. Effect of chitosan on cucumber plant; suppression of *Phthium aphinder matum* and induction of defense reaction [J]. Phytopathology, 2001, 84: 313-320.
- [14] Mingahren W J, Perkinson G A, Growich J A, et al. Chitosan by fermentation [J]. Proc Biochem, 1984(19): 88-90.
- [15] Minami S. Mechanism of wound healing acceleration by chitin and chitosan [J]. Jap J Vet Res, 1997, 44(4): 218-219.
- [16] 周天,刘晶,周晓梅,等.壳聚糖对作物的生理效应及其增产作用[J].吉林师范大学学报,2003(2):18-20.
- [17] 蒋依辉,彭姗姗.热处理结合柠檬酸处理对板栗贮藏效应的影响[J].食品工业科技,2004,25(5):117-119.
- [18] 何洁,刘鸿先,王以柔,等.低温与植物的光合作用[J].植物生理学通讯,1986(2):1-6.
- [19] 艾希珍,张振贤,王绍辉,等.温度对大白菜结球初期叶片光合特性的影响[J].山东农业大学学报,1998,29(3):379-383.
- [20] 陈少裕.膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J].植物生理学通讯,1991,27(2):84-90.
- [21] 刘鸿先,曾韶西,王以柔,等.低温对不同耐寒力黄瓜幼苗子叶各细胞器官中SOD的影响[J].植物生理学报,1985,11(1):48-57.
- [22] 薛国希,高辉远,李鹏民,等.低温下极多产处理对黄瓜幼苗生理生化特性的影响[J].植物生理与分子生物学学报,2004,30(4):441-442.
- [23] 马德华,庞金安.温度逆境锻炼对黄瓜幼苗生理的影响[J].园艺学报,1998,25(4):350-355.

Effect of "Ji-Duo-Chan" on the Resumptive Growth of Cucumber Seedling after Low Temperature Stress

LV Xiao-han, SHOU Sen-yan, LIAO Fang-bin

(Zhejiang University Horticulture Department, Hangzhou 310029, China)

Abstract: The paper investigated the effects of "Ji-Duo-Chan" (the acid solution of chitosan) on Characters of growth and development and changes of physiologic and biochemical characters of the cucumber seedling which after chilling stress. The results showed that when the seedling of cucumber move to the natural condition and continue growing, the cucumber seedling spraying concentration of 100 mg/L and 200 mg/L of "Ji-Duo-Chan" grewed better than the control. The activity of SOD, APX and POD and the photosynthetic rate were much higher than the control. Meantime, their plant height, maximum leaf area, fresh weight and dry weight were also increased. This results explained that treating the fit concentration of "Ji-Duo-Chan" could accelerate the growth of cucumber seedling after low temperature stress and to some extent alleviate the chilling injury.

Key words: Chilling Stress; "Ji-Duo-Chan"; Characters of growth and development; Antioxidant enzyme; Photosynthesis