

黄瓜抗冷性鉴定方法及指标研究进展

王昶童¹, 曹刚强¹, 位芳¹, 田保明¹, 胡安杰², 史宣杰²

(1. 郑州大学 生物工程系, 河南 郑州 450001; 2. 河南庆发种业有限公司, 河南 郑州 450001)

摘要:黄瓜抗冷性是我国华北及东北等地区黄瓜育种的重要目标, 迄今为止, 已有许多学者对黄瓜抗冷性进行了较深入的研究。现对国内外常用的田间自然环境鉴定、大棚可控条件鉴定和实验室间接鉴定等黄瓜抗冷性鉴定方法以及种子综合活力、形态学、细胞学、生理生化等鉴定指标进行了综述, 并对黄瓜耐冷鉴定指标体系的建立、黄瓜抗冷鉴定温度的统一、抗冷性鉴定操作过程的规范、抗冷性育种发展的方向等进行了展望和建议, 旨在为黄瓜抗冷性优质资源鉴定、育种以及我国黄瓜抗冷性鉴定方法技术规范制定提供参考依据。

关键词:黄瓜; 抗冷性; 鉴定; 指标; 研究进展

中图分类号:S 642.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)18-0179-04

随着反季节黄瓜需求量与种植面积的不扩大, 在黄瓜抗冷品种的选育中, 优良亲本材料和良好目标性状的选择非常重要, 其中目标性状鉴定技术的可行性、准确性、稳定性、高效性、合理性是对育种材料抗冷性进行客观评价的技术关键。目前国外已有建立相关评价方法的报道^[1-3], 我国不少学者在低温耐受性以及早期鉴定等方面已进行了大量研究, 但这些低温相关指标的研究较宽泛且单一, 抗冷性鉴定方法及评价指标没有整体的规范化。黄瓜的抗冷性是长期进化过程中形成的一种环境适应特性, 并受多基因遗传控制^[4-6], 抗冷机制较为繁杂, 单一指标特征并不能反映其抗冷实质, 所以综合利用多指标、多途径、多方法评价才能更精确反映出黄瓜的抗冷能力。该文对国内外采用的黄瓜抗冷性鉴定方法进行归纳分类, 以期筛选较为可靠的黄瓜耐低温性鉴定方法, 为今后优质黄瓜种质资源鉴定以及选育提供理论依据。

1 黄瓜抗冷性鉴定方法

1.1 田间自然环境鉴定法

把鉴定材料放在自然条件下, 如南方的早春和北方低温环境等, 就黄瓜的生长状况及产量来评价其抗冷性。此法简便易行, 无需太多仪器设备, 因作物的抗冷

性特点最终也要体现在其产量上, 此方法又能直接得到产量构成因素。缺点在于易受自然环境影响, 年际间温度差异是一个重要制约因素, 每年鉴定结果很难得到重复, 且田间测试还受到水分、光照强度等综合因素的影响。

1.2 大棚可控条件鉴定法

在人工可控环境下, 根据需要模拟当地低温环境来鉴定抗冷性。大棚鉴定法是指在低温棚或人工小气候室内, 设置所需水分、湿度、温度及光照强度, 低温胁迫下测定黄瓜不同生长阶段的各项生理指标或产量构成因素来讨论其抗冷性。此法不受外界年际间环境不同的影响, 可实现多年鉴定, 具有重复操作性且可靠性较好, 适宜对珍稀试验材料的深入研究。但低温棚鉴定因试验硬件设备的限制, 不能进行大批量的鉴定试验。

1.3 实验室间接鉴定法

在实验室条件下综合生理生化指标来评价黄瓜抗冷性, 可行之处在于黄瓜一些生理生化指标可以作为抗冷性的内部反应。此方法快速简便、对样本破坏小、所需场地小、周期短、且可重复操作性强, 多用于丰富种子资源的筛选以及抗冷品种选育的早期阶段。

2 抗冷性鉴定指标

2.1 种子活力综合指标

不同作物品种在低温下萌发能力有显著差异, 基因型很大程度上决定着种子发芽过程中的抗冷性^[7]。黄瓜低温发芽能力及苗期低温耐受性与品种抗冷性有极显著关系, 可以作为抗冷性鉴定指标^[8]。国内外已有许多关于通过低温发芽并根据发芽率、根和芽的生长速度来评价种子萌发期的抗冷性的介绍, 例如我国科学家于拴仓等^[9]用相对发芽率、发芽指数、活力指数构建出综

第一作者简介:王昶童(1988-), 男, 硕士研究生, 研究方向为作物遗传改良。E-mail: king_pose@126.com.

责任作者:曹刚强(1972-), 男, 博士, 副教授, 研究方向为基因功能鉴定和转基因与植物遗传改良。E-mail: caogangqiang126@126.com.

基金项目:河南省重大科技攻关资助项目(0522010420)。

收稿日期:2013-06-19

合指标,来评价种子活力及生活力大小,为黄瓜萌发期耐低温鉴定提供了相对精准的方法。关于种子抗冷性活力测定的温度也是国内外学者研究的重点,普遍认为在 13~17℃ 之间^[8,10-11]。

利用低温发芽指数鉴定供试材料的抗冷性,不仅简单、可靠,而且周期性短,可作为黄瓜低温耐受性早期鉴定的指标,进而进行抗冷种质资源的筛选。但是种子成熟度、种子年龄、处理过程、种子生产环境和贮藏条件都影响种子对低温的反应,所以要做好所用材料与常温下的对照试验。

2.2 形态学指标

形态学指标一般把苗期作为鉴定时期。形态学特征可以直接反映出幼苗在低温下的生长情况,幼苗在低温条件下株高、茎高、茎粗、叶面积大小等都可以作为形态学指标,可以与常温对照区分鉴别^[12]。闫世江等^[13]的研究结果表明,黄瓜抗冷指数与株高、茎粗、物质含量等相关性较大。另外,叶面积也是一个有效且实用的鉴定指标,这一指标鉴定的有效性得到了学者的一致认可^[14]。

形态学指标的优点在于直观、简便,对仪器要求不高,且可应用于田间大量材料的筛选,但是全株干物重及叶干重等生物含量的测定需毁大批量苗,容易造成珍贵材料的丢失,可能影响其它指标以及后续的研究,对种质资源量较小的材料不太适用。

2.3 细胞学方面的指标

2.3.1 花粉萌发活力 在自然条件下,黄瓜受精结实与花粉萌发能力关系较密切,低温下花粉萌发率较高的材料,其座果率亦较高,相反,花粉萌发率较低的材料,座果率亦较低,因此低温下花粉的萌发率可以作为鉴定黄瓜品种耐冷性的指标。不同品种花粉的活力差异在 12℃ 的萌发温度下表现最明显,一般把此温度作为区别黄瓜不同品种在低温下花粉活力鉴定的理想温度^[15-16]。

2.3.2 黄瓜花粉的形状特征 黄瓜花粉的形状特征:黄瓜花粉的形状、大小及萌发孔各式各样,花粉粒表面纹饰有两方面区别:一是表面覆盖层的区别,抗冷类型为半覆盖层,且表面纹饰呈现开放网状,冷敏型其覆盖层显穿孔状,其表面纹饰呈穴状;二是花粉表面的平滑程度的区别,冷敏感型呈现流云块状,起伏不平,与之相反,抗冷型则表现平坦,没有凸凹,且花粉的雕纹是鉴定抗冷特性的一个较好形态指标^[16]。

2.3.3 气孔张合程度 植物气孔是植物与外界环境之间气体和水分交换的重要通道,温度高低主要影响气孔开启和关闭,不同品种间气孔大小及形状无特殊差异,但开张程度却有着明显的不同,黄瓜叶片气孔的开张度与其抗冷性的密切联系已经得到了学者的验证^[14]。冷敏型气孔张开程度较大,而抗冷型的气孔张开度较小,

中间型则趋于二者之间^[13,17]。

2.3.4 叶片的表皮细胞 叶片表皮细胞特征:黄瓜叶片的表皮细胞虽然都是凸起状的,但品种间细胞存在显著差异。低温环境下抗冷性弱的品种叶表面毛刺密集且显著,抗冷型品种较稀疏,这可能是品种不同的黄瓜长期进化与环境适应的结果^[12,18],但在极端黄瓜无毛突变体的研究上余纪柱等^[19]对此存有不同看法。

2.4 生理生化方面的指标鉴定

2.4.1 生理生化指标间接测定 植物体对低温的反应是一种复杂的生理变化过程,是一系列的生理生化反应综合作用的结果。低温对黄瓜的影响是多方面的,形态指标则是最直观的差异特征,但归根结底还是适应冷环境下一系列生理生化过程(光合过程、水与营养的运输途径、呼吸代谢过程等),且不同品种抗冷性反应都有其独特的生理生化基础。研究者在冷环境下对黄瓜生理生化特性做了许多研究,并没有哪位学者具体明确哪种指标最适合抗冷性鉴定,都是利用这些指标与抗冷性相关性去说明抗冷问题,或者建议作为抗冷性鉴定指标。较多的研究结果主要集中在自由水与结合水含量、叶片相对大小、电导率、叶绿素含量、脯氨酸含量、H₂O₂、可溶性蛋白含量、可溶性糖含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量,过氧化物酶(POD)活性等均可用于抗冷性鉴定^[20-24]。

2.4.2 应用仪器直接鉴定生理指标 刘建辉等^[25]把黄瓜子叶期幼苗在低温下处理,渗透一定时间后,用电导法鉴定黄瓜品种抗冷性,效果明显。除此之外,20 世纪 80 年代日本就有过许多用荧光仪对黄瓜的抗低温进行鉴定的报道,我国也有类似的文献报道^[26-29]。

2.5 内源性激素与物质

王丽丽等^[30]研究认为,低温对赤霉素(GA)和吲哚-3-乙酸(IAA)含量的影响程度在不同品种间存在差异,这说明基因型不同的品种内源激素含量与黄瓜抗冷性有密切关系,所以 GA 和 IAA 可以作为黄瓜抗冷性间接鉴定的指标。冷环境可以促进黄瓜叶片中 GA 和 IAA 的合成,在对黄瓜冷处理时,黄瓜叶片中 IAA 含量升高,而随着处理时间延长,GA 和 IAA 含量均表现为先升高后降低。另有试验表明在低温下黄瓜叶片中脱落酸(ABA)和 GA 含量均有不同程度增加,且抗冷性越强的品种,其增加的幅度越大,而抗冷性较弱的品种含量则有所降低,抗冷性中等的品种略微增加^[31]。

3 展望与建议

3.1 黄瓜耐冷鉴定指标体系的建立

不同的鉴定指标适合于植物生长的不同阶段,并且各有优劣,选择何种鉴定指标决定着试验结果的准确性及过程的简繁程度。例如,形态指标的鉴定主要用于大

田间大量材料的筛选,此方法准确且易于观察测定,不足之处是易造成珍贵稀有植物材料的丢失,建议种子材料较少时不使用此指标;耐冷指数则是较好的鉴定指标,主要应用在耐冷材料筛选和遗传群体构建等方面,但此指标的测定与研究者多项实验技能有关,因人而异,主观因素影响较大。

黄瓜在冷环境下的反应和适应是一系列生理生化反应综合作用的结果,仅从某一侧面或者某层次去研究黄瓜的抗冷性是不够的,并且有试验表明,有些理化性状的鉴定结果和形态特征的鉴定结果不完全一致,所以积极探索出一种多方法、多途径的黄瓜抗冷性的综合鉴定体系则较为必要,综合已有相关的指标,外加科学的数量分析方法,总结一套科学、系统和完善的黄瓜抗冷鉴定体系则具有重要意义。

3.2 黄瓜抗冷鉴定温度的统一

在进行低温抗冷研究时,温度设置主要采用2种条件,1种是自然条件,这种情况无法控制具体温度;另1种是人工控制条件,设定的温度一般采用抗冷指标差异显著的温度。但因黄瓜品种类型不同、生育阶段不同和育种目标不同,所采用的处理温度也不一样,并且现阶段对于黄瓜同一指标耐冷性鉴定所采用的低温强度也不尽相同,应予以完善。如关于引起黄瓜叶片细胞中电解质大量泄漏或者能反映不同抗冷性品种间泄漏差异的低温温度,现有的研究报道差异较大。一些研究证明,在2~5℃低温下,就能引起黄瓜叶片细胞中电解质的大量泄漏,并且不同品种间表现出差异性^[32-33],而刘鸿先等^[34]研究认为,只有当苗在严重伤害的低温-3℃条件下,黄瓜子叶中电解质才会大量泄漏,并能表现出品种间的明显差异。Wehner^[3-4]发现在11~15℃低温下发芽能力有差异,而在国内,侯锋^[36]用15℃的偏低温作为测试发芽试验的温度,结果发现抗冷性不同的品种在发芽能力方面有明显不同,王永健等^[11]则认为在13~17℃下的低温发芽表现差异明显。

3.3 抗冷性鉴定操作过程的规范

试验的严谨性是成败的关键,在黄瓜耐冷性鉴定中,鉴定材料的种子准备、处理消毒、浸泡、育苗、萌发,及田间种植、管理、低温处理、抗冷指标的确立等各个环节都不能忽视,任何一环节的疏忽都可能对试验造成影响。例如刘剑辉等^[35]研究认为在评价不同黄瓜品种在低温条件下发芽能力时要考虑种子自身的活力因素,为减少因种子自身差异而形成的误差,用所测发芽指标与常温下发芽能力得相对比值来表示,可有效克服种子活力的影响。

3.4 抗冷性育种发展的方向

现阶段抗冷性性状的获得主要通过冷驯化、激素处理和培育耐低温品种等,其中最重要的途径是抗冷品种

选育。虽然现代生物技术发展已经确定了许多优良的抗冷基因材料,但大多还停留在研究阶段,离实际应用还有差距。育种方面应加强黄瓜抗冷基因资源的发掘及抗冷生理学和遗传学的研究,利用工程技术方法解决抗冷基因的定位、克隆及转移等瓶颈问题,加快抗冷性黄瓜新品种培育,进而实现稳产、增产和高效优质的育种目标,切实解决实际所需。另外,进一步加强黄瓜大棚栽培技术创新体系建设,加大降低冷环境影响的对策研究。

值得注意的是,黄瓜是多基因控制的数量性状^[4-6],而且在发芽期、苗期、成株期可能由不同基因控制,通过单一基因导入很难从根本上解决问题,因此应对不同时期耐寒控制基因进行研究,借助分子标记,通过辅助育种的作用提高黄瓜不同生长期的耐寒性。

参考文献

- [1] Aoki S, Oda M, Nagaoka M. Chilling and heat sensitivities in cucumber seedlings measured by chlorophyll fluorescence[J]. Bull Natl ResInst Veg Ornament Plant and Tea Japan A, 1988(2): 81-92.
- [2] Den Nijs A P M, Smeets L. Analysis of differences in growth of cucumber genotypes under low light conditions in relation to night temperature[J]. Euphytica, 1987, 36(1): 19-31.
- [3] Wehner T C. Estimates of heritabilities and variance components for low-temperature germination ability in cucumber[J]. Horticultural Science, 1984, 109(5): 664-667.
- [4] Wehner T C. Screening for low-temperature germination ability in cucumber[J]. Hort Science, 1981, 16(3): 379.
- [5] Hutton M G. Genetics and Physiology of Cold Tolerance in Muskmelon (*Cucumis melo* L.) [D]. New Hampshire University of New Hampshire, 1988.
- [6] Nienhuis J, Lower R L. The effects of fermentation and storage time on germination of cucumber seeds at optimal and suboptimal temperatures[J]. Cucurbit Genetics Cooperative Annual Reports, 1981(4): 13-16.
- [7] Haskell G, Singleton W R. Use of controlled low temperature in evaluating the cold hardiness of inbred and hybrid maize[J]. Agronomy Journal, 1949, 41(1): 34-40.
- [8] 许勇, 王永健. 黄瓜耐低温研究中几个问题的讨论[C]//中国园艺学会. 中国科学技术协会第二届青年学术年会园艺学论文集, 1995.
- [9] 于拴仓, 崔鸿文, 孟焕文. 黄瓜发芽期耐低温性鉴定方法与指标的研究[J]. 西北农业大学学报, 2000(3): 1-6.
- [10] Mc Creight J D, Nerson H, Grumet R. Melon, *Cucumis melo* L [M]. New York: Pergamon Press, 1993: 267-294.
- [11] 王永健, 姜亦巍, 曹宛虹, 等. 低温对不同品种黄瓜种子萌发、过氧化物酶及同功酶的影响[J]. 华北农业学报, 1995(2): 72-76.
- [12] 马德华, 庞金安, 霍振荣. 黄瓜耐低温研究进展[J]. 天津农业科学, 1997(4): 3-10.
- [13] 闫世江, 司龙亭, 马志国, 等. 黄瓜苗期耐低温性及相关形态学性状的遗传分析[J]. 沈阳农业大学学报, 2008(1): 11-14.
- [14] 朱其杰, 高守云, 蔡洙湖, 等. 黄瓜耐冷性鉴定及遗传规律的研究[M]//李树德. 中国主要蔬菜抗病育种进展. 北京: 科学出版社, 1995: 462-474.
- [15] 田斐. 黄瓜花粉生活力与耐冷性关系的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2007.

- [16] 姜亦巍. 不同品种黄瓜花粉低温耐受性[J]. 北京农业科学, 1996(4): 44-45.
- [17] 闫世江, 司龙亭, 马志国, 等. 不同来源黄瓜亲本苗期耐低温鉴定[J]. 沈阳农业大学学报, 2006, 37(5): 766-768.
- [18] 高守云. 黄瓜抗寒性的生理生化及形态指标的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 1988.
- [19] 余纪柱, 李建吾, 王美平, 等. 低温弱光对不同生态型黄瓜苗期若干测定指标及光合特性的影响[J]. 上海农业学报, 2003(4): 46-50.
- [20] Gottwald T R, Timmer L W. The efficacy of windbreaks in reducing the spread of citrus canker caused by *Xanthomonas campestris* pv. *citri* [J]. *Tropical Agriculture*, 1995, 72(3): 194-201.
- [21] Lichtenstein C. Antisense RNA as a tool to study plant gene expression [J]. *Nature*, 1988, 333: 801-802.
- [22] 赵习姮, 李进才. H_2O_2 处理对采后黄瓜抗冷性的影响[J]. 天津农业科学, 2011(4): 1-4.
- [23] Xu P L, Guo Y K, Bai J G, et al. Effects of long-term chilling on ultrastructure and antioxidant activity in leaves of two cucumber cultivars under low light[J]. *Physiologia Plantarum*, 2008, 132(4): 467-478.
- [24] 李宝光, 卢育华, 徐坤, 等. 育苗温度对黄瓜幼苗抗冷性的影响[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2002(2): 174-178.
- [25] 刘建辉, 崔鸿文. 电导法鉴定黄瓜抗寒性的研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 1995(4): 74-77.
- [26] 菅野绍雄. 低温下黄瓜苗期生长和叶绿素荧光强度的品种间差异[J]. 园艺学杂志, 1991, 60(1): 2-3.
- [27] 草间丰子. 低温与高温处理对黄瓜苗期叶绿素荧光强度的影响[J]. 园艺学杂志, 1993, 62(1): 33-33.
- [28] 李智军. 叶绿素荧光在温度逆境分析中的应用[J]. 农业与园艺, 1995, 70(5): 30-38.
- [29] Smillie R M, Hetherington S E. Screening for stress tolerance by chlorophyll fluorescence[J]. *Measurement Techniques in Plant Science*, 1990: 229-261.
- [30] 王丽丽, 于锡宏. 低地温对黄瓜幼苗内源 GA_3 和 IAA 含量的影响[J]. 北方园艺, 2004(3): 44-45.
- [31] 杨佳明, 司龙亭, 闫世江, 等. 黄瓜叶片内源激素含量与耐低温性的关系研究[J]. 安徽农业科学, 2009(11): 4940-4953.
- [32] 杨阿明, 沈征言. 低温锻炼提高黄瓜幼苗耐寒性效应[J]. 园艺学报, 1992, 19(1): 61-66.
- [33] 宋述尧, 刘晓明, 任锡仑. 黄瓜不同品种耐冷力的初步研究[J]. 吉林农业大学学报, 1992, 14(1): 27-32.
- [34] 刘鸿先, 曾韶西, 王以柔, 等. 低温对不同耐寒力的黄瓜 (*Cucumis sativus*) 幼苗子叶各细胞器中超氧化物歧化酶(SOD)的影响[J]. 植物生理学报, 1985(1): 48-57.
- [35] 刘剑辉. 黄瓜耐低温性鉴定方法[J]. 北方园艺, 2005(5): 62-63.
- [36] 侯锋, 沈文云, 吕淑珍, 等. 黄瓜幼苗耐寒性鉴定方法研究[C]. 中国主要蔬菜抗病育种进展, 1995: 477.

Advances in Identification Methods and Indexes of Low Temperature Tolerance in Cucumber

WANG Chang-tong¹, CAO Gang-qiang¹, WEI Fang¹, TIAN Bao-ming¹, HU An-jie², SHI Xuan-jie²

(1. Biological Engineering Department, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450001; 2. Henan Qingfa Seeds Co. Ltd., Zhengzhou, Henan 450001)

Abstract: Cold-resistance of cucumber is an important goal of cucumber breeding in North, Northeast and other regions in China. So far, many scholars had done a large amount of works on the cold resistance of cucumber. Now the appraisal methods of low temperature tolerance in cucumber such as natural environment identification, controlled conditions identification of greenhouse and laboratory indirect identification, and appraisal indexes such as seeds vigor, morphology, cytology, physiology and biochemical identification that always used in both domestic and foreign were summarized. At the same time, the construction of identification index system of cold cucumber, the unity of identification temperature of cold cucumber, the norms of identification procedure of cold resistance, the breeding development direction of cold resistance were discussed and recommended, aimed to provide a reference for identification of high quality resources in cold cucumber, breeding and the formulation of identification technique specifications of cold cucumber.

Key words: cucumber; cold resistance; identification; index; advances