

低温胁迫对东北四种设施作物叶片光合特性及抗氧化酶活性的影响

张溪荷¹, 杨再强¹, 陈艳秋², 王学林¹

(1. 南京信息工程大学 气象灾害预报预警与评估协同创新中心, 江苏 南京 210044; 2. 沈阳中心气象台, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:为了研究低温对东北地区4种设施作物生理特性的影响,以茄子‘黑旋风一代’、番茄‘靓粉2号’、甜椒‘卡迪’、黄瓜‘碧露’为试材,于2013年9—12月在南京信息工程大学人工气候室,模拟寒潮动态降温过程,设计4个低温处理,最低气温分别为2、1、0、-1℃,系统研究了动态低温胁迫对4种作物叶片光合特性和抗氧化酶活性的影响。结果表明:动态低温胁迫处理明显抑制了4种设施作物叶片的光合速率,最低温度越低,处理时间越长,叶片光合速率下降越快,黄瓜、番茄在最低温度达0、-1℃,茄子、甜椒均于1℃时,叶片最大光合速率开始降为负值, F_v/F_m 下降至0.4以下且无法恢复至对照水平。4种设施作物不同处理下超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性均呈先升高后降低趋势;丙二醛(MDA)含量呈现与保护酶相反的趋势。MDA含量为甜椒>茄子>黄瓜>番茄。研究表明茄子、甜椒在最低气温1℃,黄瓜0℃,番茄-1℃时,叶片光系统活性遭到不可逆伤害,4种设施作物抗寒性由大到小的顺序为:番茄>黄瓜>茄子>甜椒。

关键词:低温;茄子;番茄;甜椒;黄瓜;光合特性;抗氧化酶活性

中图分类号:S 626 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)10-0015-09

低温是一种很重要的非生物胁迫因子^[1]。近年来,我国设施农业得到了非常迅猛的发展,至2012年,我国设施农业面积达逾386 hm²,居世界第一位。设施农业的发展极大地丰富了设施蔬菜的供应,满足了人们生活的需求。黄瓜(*Cucumis sativus* Linn.)、番茄(*Lycopersicon*

esculentum Miller.)、甜椒(*Capsicum annum* L.)、茄子(*Solanum melongena* Linn.)作为栽培最广的设施蔬菜,均属于喜温植物,不耐低温。但由于我国东北地区主要以日光温室为主,环境可控度相对较低,低温成为设施作物致灾和减产的主要因素。前人研究表明低温严重影响了喜温蔬菜作物的正常生长,使叶片气孔关闭、光合作用碳同化的关键酶RuBP羧化酶活性明显下降^[2],并减缓淀粉等的运输,造成对光合作用的反馈抑制^[3-6]。低温还会降低黄瓜等作物的光系统II(PSII)活性,从而出现光抑制现象^[7]。叶绿素荧光与光合作用中的各个反应过程都紧密相关,能够反映PSII的生理过程,叶绿素荧光分析技术通过植物光合过程中荧光特性的探测可以了解植物的生长、病害及受胁迫等生理状况^[8-10]。Hu

第一作者简介:张溪荷(1991-),女,河南郑州人,硕士研究生,现主要从事设施农业气象灾害等研究工作。

责任作者:杨再强(1976-),男,博士,教授,研究方向为设施农业气象服务。E-mail:yzq@nuist.edu.cn.

基金项目:公益(气象)行业科研专项资助项目(GYHY201206024);国家自然科学基金面上资助项目(41275117,41475107);国家“十二五”科技支撑计划资助项目(2014BAD10B07)。

收稿日期:2015-03-15

Abstract: Wild bilberry resources are rich in China, some of which are excellent germplasm resources, however, relatively low level in development and utilization currently. In order to better utilize wild bilberry resources of China, characterization of three groups (Sect. Galeopetalum J. J. Smith, Sect. Eococcus Sleumer, Sect. Bracteata Nakai) were researched in this paper. Compared analysis was performed for plant vigor, fruit diameter, blooming date, ripening period and suitable altitude to select excellent wild bilberry germplasm resources of China by morphology. This paper provided a certain theoretical basis and material foundation for improving excellent characters of wild bilberry and cultivated blueberry of China.

Keywords: *Vaccinium*; wild resources; germplasm; breeding

等^[11]研究表明低温胁迫下黄瓜 SOD 活性和 MDA 含量与对照相比明显增加;林多等^[12]报道低温寡照下番茄生长受到抑制,净光合速率、气孔导度、叶绿素含量均下降;何勇等^[13]研究表明对甜椒的株高、节间长、茎粗、开展度、叶片数都有减少作用;Xu 等^[14]报道低温胁迫下烟草种子的 POD 活性和 MDA 含量显著上升,而 SOD 和 CAT 活性呈降低趋势。以上研究侧重于恒定低温对某一种作物生长发育的研究,目前关于动态低温对于多种设施作物的光合荧光、保护酶活性的机理研究尚鲜见报道。

该研究设计环境控制试验模拟寒潮发生时设施内气温变化模式,系统研究动态低温胁迫对茄子、番茄、甜椒、黄瓜光合特性和保护酶活性的影响,研究结果为设施作物的环境控制以及低温气象灾害预警与防御提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试黄瓜品种为‘碧露’,甜椒品种为‘卡迪’,番茄品种为‘靓粉 2 号’,茄子品种为‘黑旋风一代’。

1.2 试验方法

试验于 2013 年 9—12 月于南京信息工程大学进行。前期育苗在玻璃温室中进行,选取生长一致的盆栽苗移入智能型人工气候箱(TPG-1260-TH-CO₂, Australian)中,进行控制试验。动态低温试验设计参考寒潮动态降温过程,动态低温控制试验及温度和湿度控制参见表 1~4 的方法分别在 4 种蔬菜苗期进行。试验期间,人工气

表 1 动态低温控制试验处理 1

Table 1 Dynamic low temperature control treatment 1

时间 Time	要素 Factor	0:00—9:00	9:00—11:00	11:00—16:00	16:00—0:00
第 1 天	温度/℃	5	5	5	5
	湿度/%	95	95	95	95
第 2 天	温度/℃	5	5	5	4
	湿度/%	95	95	95	95
第 3 天	温度/℃	2	10	25	8
	湿度/%	95	95	70	95
第 4 天	温度/℃	4	15	25	
	湿度/%	95	70	70	

表 2 动态低温控制试验处理 2

Table 2 Dynamic low temperature control treatment 2

时间 Time	要素 Factor	0:00—9:00	9:00—11:00	11:00—16:00	16:00—0:00
第 1 天	温度/℃	5	5	5	5
	湿度/%	95	95	95	95
第 2 天	温度/℃	5	5	5	3
	湿度/%	95	95	95	95
第 3 天	温度/℃	1	10	25	8
	湿度/%	95	95	70	95
第 4 天	温度/℃	3	15	25	
	湿度/%	95	70	70	

表 3 动态低温控制试验处理 3

Table 3 Dynamic low temperature control treatment 3

时间 Time	要素 Factor	0:00—9:00	9:00—11:00	11:00—16:00	16:00—0:00
第 1 天	温度/℃	5	5	5	5
	湿度/%	95	95	95	95
第 2 天	温度/℃	5	5	5	2
	湿度/%	95	95	95	95
第 3 天	温度/℃	0	10	25	7
	湿度/%	95	95	70	95
第 4 天	温度/℃	2	15	25	
	湿度/%	95	70	70	

表 4 动态低温控制试验处理 4

Table 4 Dynamic low temperature control treatment 4

时间 Time	要素 Factor	0:00—9:00	9:00—11:00	11:00—16:00	16:00—0:00
第 1 天	温度/℃	5	5	5	5
	湿度/%	95	95	95	95
第 2 天	温度/℃	5	5	5	1
	湿度/%	95	95	95	95
第 3 天	温度/℃	-1	10	25	7
	湿度/%	95	95	70	95
第 4 天	温度/℃	0	15	25	
	湿度/%	95	70	70	

候箱光周期控制日长为 12 h,白天光合有效辐射控制在 $800 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,以 25℃处理为对照。不同低温处理后在 25℃,相对湿度为 75%,PAR $800 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 照射 12 h,进行 5 d 恢复处理。保证试验期间水分和养分在适宜水平。

1.3 项目测定

1.3.1 光合作用速率测定 分别对不同温度水平处理下的茄子、番茄、甜椒、黄瓜苗期测定光合参数。利用光合作用测定系统 LI-6400(LI-COR Biosciences Inc., USA)在 9:00—11:00 进行光合参数的测定,选择生长良好的功能叶作为测定叶片,测定时叶室内温度设定为当前人工气候箱内环境温度,CO₂浓度为 $400 \mu\text{mol}/\text{mol}$,光合有效辐射设置为 1 800、1 600、1 400、1 200、1 000、800、600、400、300、200、100、60、30、0 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,由 LI-6400 内置程序自动完成测量不同 PAR 水平下的光合速率,即光响应曲线。每个处理重复 3 次。

1.3.2 叶绿素荧光参数测定 叶绿素荧光参数测量选取生长良好的功能叶,采用 FMS-2 型便携脉冲调制式荧光仪(Hansatech, UK)测定初始荧光(F₀)、最大荧光(F_m)等。在 10:00 左右荧光基本稳定时测定光适应状态下的荧光参数 F_s、F₀'、F_m'等,然后再让叶片暗适应 20 min,测量暗适应荧光参数 F₀、F_m等。每个处理均重复测定 3 次。

1.3.3 酶活性参数测定 超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定:将 20 μL 酶液和 3 mL 反应液(含 0.02 M pH 7.8 磷酸缓冲液 150 mL、130 mM 甲硫氨酸 30 mL、

750 μM 氮蓝四唑 30 mL、100 μM EDTA 30 mL、20 μM 核黄素 30 mL 和蒸馏水 25 mL) 放入 10 mL 试管中,同时取 2 支试管做对照,2 支试管做空白(不加酶液,用缓冲液代替),空白置暗处,对照与酶液同置于 4 000 lx 条件下光照 30 min,以空白调零,560 nm 比色。SOD 总活性 = $(\text{ACK} - \text{AE}) \times V / (W \times 0.5 \times \text{ACK} \times \text{VE})$, 式中, W 为样重, V 为样液总体积 (mL), VE 为测定时酶液用量 (mL), ACK 为照光对照管的吸光度值, AE 为样品管的吸光度值。过氧化物酶 (POD) 活性的测定: 将 20 μL 酶液和 3 mL 反应液 (含 0.1 M pH 6.0 磷酸缓冲液 50 mL, 愈创木酚 28 μL , 30% H_2O_2 19 μL) 于比色皿中, 470 nm 下每 30 s 读 1 次, 共 5 次。以每分钟吸光度变化值表示酶活性大小, 即以 $\Delta A_{470} / (\text{min} \cdot \text{g})$ 表示, 计算公式: $\text{POD 活性} = A \cdot V / (V_a \cdot W \cdot 0.5)$, 式中, A 为样品管的吸光度值, W 为样重, V 为样液总体积 (mL), V_a 为测定时酶液用量 (mL); 过氧化氢酶 (CAT) 活性的测定: 将 0.1 mL 酶液和 2.5 mL 反应液 (含 0.01 M H_2O_2 5 mL 和 0.1 M pH 7.0 磷酸缓冲液 20 mL) 于比色皿中, 240 nm 比色, 每 30 s 读 1 次, 共 5 次。以每分钟吸光度变化值表示酶活性大小, 即以 $\Delta A_{240} / (\text{min} \cdot \text{g})$ 表示。CAT 活性 = $A \cdot V / (V_a \cdot W \cdot 0.5)$, 式中 A 为样品管的吸光度值, W 为样重, V 为样液总体积 (mL), V_a 为测定时酶液用量 (mL); 丙二醛 (MDA) 含量的测定: 将 1 mL 酶液和 2 mL 0.6% TBA 反应液 (含 0.6 g 硫代巴比妥酸, 10% 三氯乙酸) 于离心管中, 封口沸水浴 15 min, 迅速冷却后 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液在 600、532、450 nm 波长下比色。MDA 含量 = $(6.45 \times (D_{532} - D_{600}) - 0.56 \times D_{450}) \times 0.015 / W$ 。 D_{600} 为样品在 600 nm 处的吸光度值, D_{532} 为样品在 532 nm 处的吸光度值, D_{450} 为样品在 450 nm 处的吸光度值。

1.4 数据分析

试验数据运用 DPS 软件、SPSS 软件进行相关统计分析, Excel 软件作图, 使用 Photosynthesis Work Bench 程序进行光合作用光响应曲线拟合。

2 结果与分析

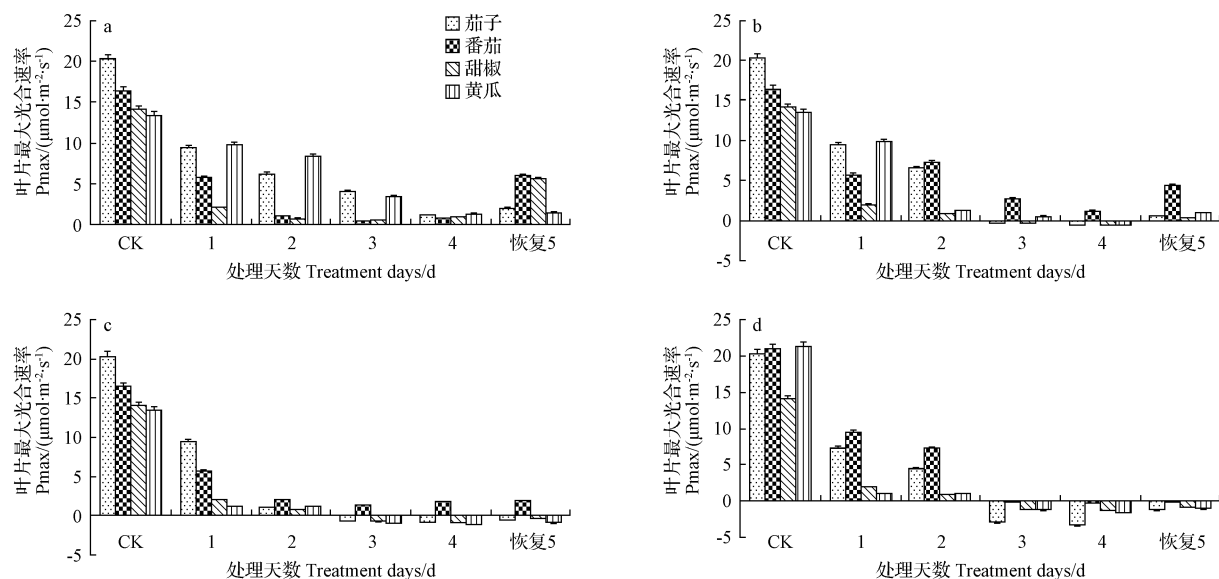
2.1 低温胁迫对 4 种设施作物最大光合速率的影响

动态低温处理期间, 茄子、番茄、甜椒、黄瓜叶片的最大光合速率都随着低温胁迫时间的延长逐渐降低。如图 1a 所示, 处理 1 动态低温胁迫至第 2 天, 4 种设施作物的光系统均受到了一定的抑制作用。第 3 天温度骤降至 2℃, 4 种设施作物的最大光合速率都有所下降, 对植株造成了一定的影响, 但经过 5 d 的恢复, 4 种作物尤其是番茄、甜椒的最大光合速率均有显著上升。在处理 2 中, 如图 1b 所示, 番茄经处理后, 最大光合速率由 5.69 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 下降至 1.12 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 明

显低于 CK 的 16.43 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 但番茄最大光合速率始终为正值。黄瓜在处理至第 4 天时最大光合速率降为负值 -0.55 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 经恢复上升至 0.95 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。而甜椒及茄子经过第 3 天的 1℃ 处理后, 最大光合速率均降为负值, 说明甜椒、茄子抗低温能力较黄瓜、番茄弱; 结合动态低温试验 1 可初步判定寒潮期间最低 1℃ 低温是甜椒和茄子致灾的临界点。在动态低温试验 3 中, 如图 1c 所示, 经连续 2 d 动态低温处理后, 温度骤降至 0℃ 时 4 种设施作物的最大光合速率表现的不完全相同。番茄最大光合速率仍表现为正值, 且有较为缓慢的升高, 光系统可恢复能力较强。黄瓜、甜椒、茄子的最大光合速率迅速降低至 -1.11、-0.94、-0.82 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$; 且恢复期间无大幅度上升, 结合动态低温试验 2 可初步判定寒潮期间最低 0℃ 低温是黄瓜致灾的临界点。在动态低温试验 4 中, 如图 1d, 当第 3 天最低温度骤降至 -1℃, 4 种设施作物的最大光合速率都降为负值, 番茄的最大光合速率也降至 -0.18 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 结合动态低温试验 3 可初步判定寒潮期间最低 -1℃ 低温是番茄致灾的临界点。4 种蔬菜光系统均遭到破坏, 植株停止生长, 甚至死亡; 恢复期间, 4 种蔬菜叶片的光系统发生不可逆的恢复, 光合能力显著下降, 由此可断定此动态低温试验方案对 4 种设施作物全部造成伤害。

2.2 低温胁迫对 4 种设施作物 F_v/F_m 的影响

为了进一步探讨动态低温使光合速率下降的机理, 该试验同时测定了低温胁迫对 4 种作物 F_v/F_m 的影响。如图 2 所示, 4 种试验结果都表明, 随着低温处理时间的延长, F_v/F_m 均降低, 说明低温胁迫降低了 PSII 的原初光能转换效率和潜在活性。如图 2a 所示, 动态低温处理 1 至第 3 天, 茄子、番茄、甜椒、黄瓜的 F_v/F_m 分别由 0.82、0.86、0.83、0.82 下降至 0.59、0.64、0.57、0.56, 明显低于 CK。处理至第 4 天, 茄子与甜椒的 F_v/F_m 进一步下降, F_v/F_m 低于番茄与黄瓜。恢复 5 d, 4 种设施作物潜在活性显著增强。在动态低温处理 2 中, 如图 2b 所示, 经过第 3 天 1℃ 处理后, 番茄、黄瓜于第 4 天 F_v/F_m 呈现出与茄子、甜椒较为一致的趋势, 4 种设施作物均受到了一定程度的伤害, 但黄瓜、番茄潜在活性较高, 恢复期间, F_v/F_m 显著增高。随着试验最低温度的进一步降低, 如图 2c、d, 经过 0℃ 和 -1℃ 处理后, 4 种设施作物 F_v/F_m 迅速降低至 0.4 以下, 第 4 天 F_v/F_m 仍继续下降, 且 -1℃ 处理后 4 种设施作物 F_v/F_m 均大于 0℃ 处理。恢复 5 d 后 4 种设施作物均无法恢复至正常水平, 说明此动态低温试验使得 4 种设施作物 PSII 的原初光能转换效率急剧降低, 致灾严重。在各动态低温试验中, 4 种设施作物抗低温能力均呈现出一致的趋势, 即番茄 > 黄瓜 > 茄子 > 甜椒, 与 4 种设施作物的致灾温度临界点吻合性较好。



注:图 a、b、c、d 分别对应动态低温处理 1、处理 2、处理 3、处理 4。以下同。

Note: Figure a, b, c, d corresponding low temperature treatment 1, treatment 2, treatment 3, treatment 4. The same below.

图 1 动态低温胁迫对茄子、番茄、甜椒、黄瓜最大光合速率的影响

Fig. 1 Effect of dynamic low temperature stress on photosynthetic rate of eggplant, tomato, sweet pepper and cucumber

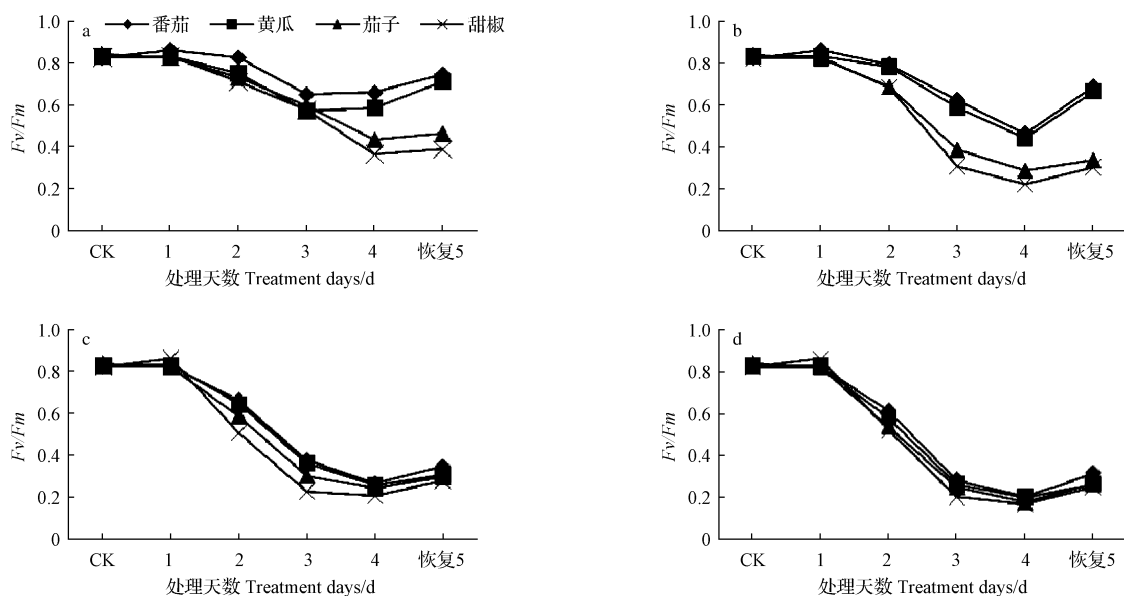


图 2 动态低温胁迫对茄子、番茄、甜椒、黄瓜 F_v/F_m 的影响

Fig. 2 Effect of dynamic low temperature stress on F_v/F_m of eggplant, tomato, sweet pepper and cucumber

2.3 低温胁迫对 4 种设施作物保护酶活性的影响

2.3.1 低温胁迫对 SOD 活性的影响 超氧化物歧化酶 (SOD) 是植物细胞中最重要的清除活性氧的酶类之一, SOD 是植物防御体系中的第一道防线, 能催化超氧阴离子 ($O_2^{\cdot-}$) 歧化生成 O_2 和 H_2O_2 。所以, 在低温胁迫下, 植物体中保护酶 SOD 活性的强弱直接关系到抵御低温伤害的能力。低温胁迫下作物 SOD 活性迅速增强, 可以有效清除 $O_2^{\cdot-}$ 等活性氧自由基, 减少细胞膜受损伤及细

胞内物质的渗漏程度。由图 3 动态低温胁迫对 SOD 活性的影响结果可知, 不同处理 4 种设施作物 SOD 活性均呈先升高后降低趋势, 且 SOD 活性番茄 > 黄瓜 > 茄子 > 甜椒。低温胁迫处理初期, 随着处理时间的延长, 4 种设施作物 SOD 活性增加, 与 CK 相比, 茄子、番茄、甜椒、黄瓜分别升高了 36.3%、29.6%、38.9%、54.9%。动态低温胁迫至第 2 天, 4 种设施作物的 SOD 活性达最大值, 但其增幅随着处理最低温度的降低而降低, 在动

态低温处理 1 中,茄子、番茄、甜椒、黄瓜 SOD 活性第 2 天与第 1 天相比,增幅分别为 73.1%、32.9%、68.3%、48.4%,而在动态低温处理 2 中,4 种设施作物 SOD 活性增幅小于试验 1。在处理 3、4 中,第 2 天 4 种作物 SOD 活性增幅随最低温度的下降而进一步降低。动态低温胁迫至第 3 天,4 种设施作物 SOD 活性均开始下降,第 4 天降至最小值。在动态低温处理 1 中,4 种设施作物 SOD 活性第 3 天达 241.3、338.5、187.2、

248.1 U/g,与 CK 相比,仍高于对照水平,说明寒潮期间最低 2℃低温并未导致 4 种设施作物受灾。在试验 2 中,甜椒及茄子经过第 3 天的 1℃处理后 SOD 活性分别降至 76.5、105 U/g,明显低于对照,且恢复 5 d 后仍低于 CK。在处理 3、4 中,黄瓜、番茄分别于 0、-1℃处理后 SOD 活性明显下降至 CK 以下,且不能恢复至正常水平。说明随着低温胁迫时间的延长,SOD 活性逐渐衰退。

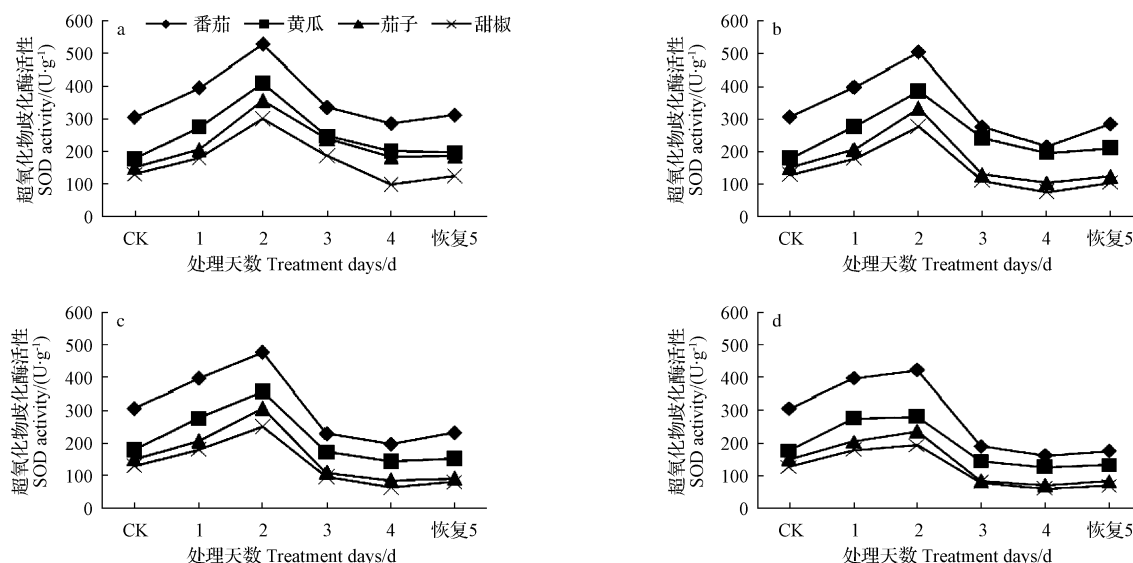


图 3 动态低温胁迫对茄子、番茄、甜椒、黄瓜 SOD 活性的影响

Fig. 3 Effect of dynamic low temperature stress on SOD activity of eggplant, tomato, sweet pepper and cucumber

2.3.2 低温胁迫对 POD 活性的影响 过氧化物酶 (POD) 是膜保护系统的组成部分,能够在低温中清除植物体内的过氧化氢,减少氢氧自由基的形成,维持体内的活性氧代谢平衡和保护膜结构,减轻有毒物质对生活细胞的毒害。由图 4 低温胁迫对 POD 活性的影响结果可知,POD 活性变化趋势与 SOD 活性一致,且 POD 活性番茄>黄瓜>茄子>甜椒。随着不同处理胁迫时间延长,4 种设施作物 POD 活性迅速升高,其增幅随着处理最低温度的降低而降低,在第 2 天各处理 POD 活性达到最大值。动态试验处理 1 中至第 2 天,茄子、番茄、甜椒、黄瓜分别为 17.05、38.61、13.15、21.19 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,比 CK 增加了 41.2%、31.3%、53.1%、37.6%。说明 4 种设施作物保护酶 POD 的活性在低温胁迫下增强,以此抵御低温逆境对其造成的伤害。动态低温胁迫至第 3 天,4 种设施作物 POD 活性均开始下降,第 4 天降至最小值,但下降程度不同。此时在动态低温处理 1、2 中番茄、黄瓜虽与最大值相比,有一定程度的下降,但仍高于 CK。说明寒潮期间最低 1℃低温并未导致番茄、黄瓜受灾。在处理 2 中,茄子、甜椒经过第 3 天的 1℃处理后 POD 活性分别降至 6.2、3.4 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,与 CK 相比下降了

38.2%、44.7%,且恢复 5 d 后仍低于 CK。说明寒潮期间最低 1℃低温导致茄子、甜椒受灾。在处理 3、4 中,黄瓜、番茄分别于 0、-1℃处理后,POD 活性降幅增大,处理至第 4 天,POD 活性明显下降至 CK 以下,且不能恢复至正常水平。说明寒潮期间 0、-1℃分别对黄瓜、番茄的抗氧化能力造成伤害。

2.3.3 低温胁迫对 CAT 活性的影响 过氧化氢酶 (CAT) 对于防御活性氧毒害具有重要作用。在植物体中,CAT 使 H_2O_2 转化为 H_2O 和 O_2 ,从而使自由基维持在一个较低的水平,从而避免细胞膜受损伤及细胞内物质的渗漏程度。由图 5 低温胁迫对 CAT 活性的影响结果可知,在动态低温胁迫处理初期,随处理时间延长,4 种设施作物 CAT 活性迅速增加,其增幅随着处理最低温度的降低而降低。CAT 活性番茄>黄瓜>茄子>甜椒。说明 4 种作物在初期低温胁迫的过程中,植物体加强了对活性氧、自由基的清除,以使其尽快恢复到平衡状态,降低对植物体的伤害。4 种处理均在第 2 天 CAT 达最大值,处理 12 d 茄子、番茄、甜椒、黄瓜分别为 2.83、4.11、1.65、3.64 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,与 CK 相比,明显升高。随着低温胁迫时间的延长和处理最低温度的降

低,各处理从第3天开始,4种设施作物CAT活性均开始下降,第4天降至最小值。在处理1中4d后番茄、黄瓜CAT活性仍高于CK,茄子、甜椒与CK相比,下降了4.65%、9.43%,但经5d恢复后趋近正常水平。说明寒潮期间最低2℃低温并未导致4种作物受灾。在处理2中,茄子、甜椒经过第3天的1℃处理后CAT活性分别降至0.67、0.41 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,与CK相比下降了

22.09%、22.64%,且恢复5d后仍低于CK。说明寒潮期间最低1℃低温导致茄子、甜椒受灾后不能恢复至正常水平。黄瓜、番茄分别于处理3、4第3天0、-1℃处理后CAT活性降幅增大,处理至第4天,CAT活性明显下降至CK以下,且恢复后仍明显低于对照。说明寒潮期间最低0、-1℃低温导致黄瓜、番茄清除活性氧能力降低。

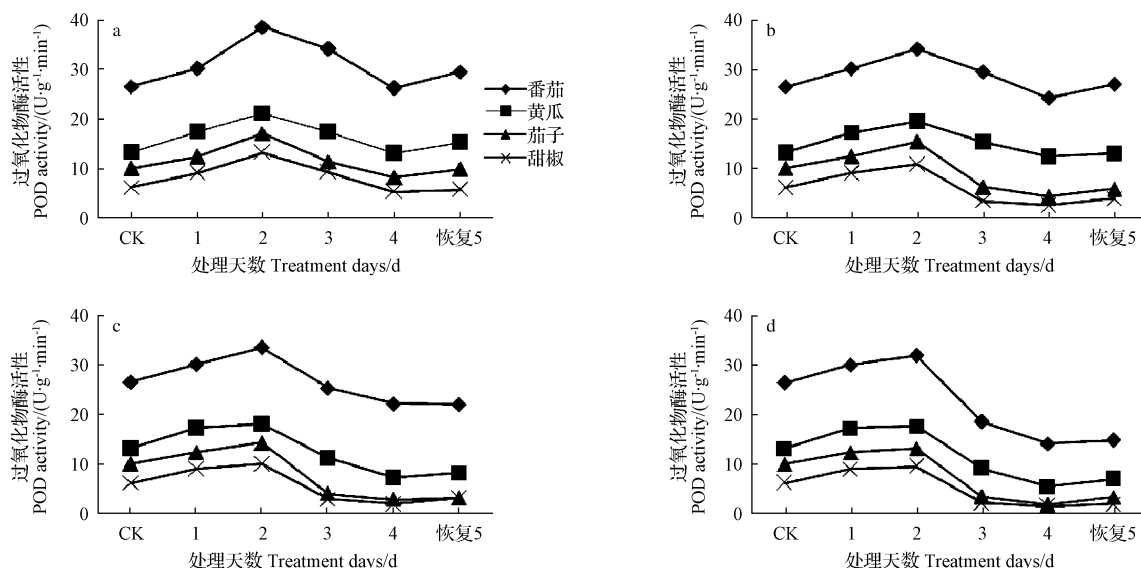


图4 动态低温胁迫对茄子、番茄、甜椒、黄瓜 POD 活性的影响

Fig. 4 Effect of dynamic low temperature stress on POD activity of eggplant, tomato, sweet pepper and cucumber

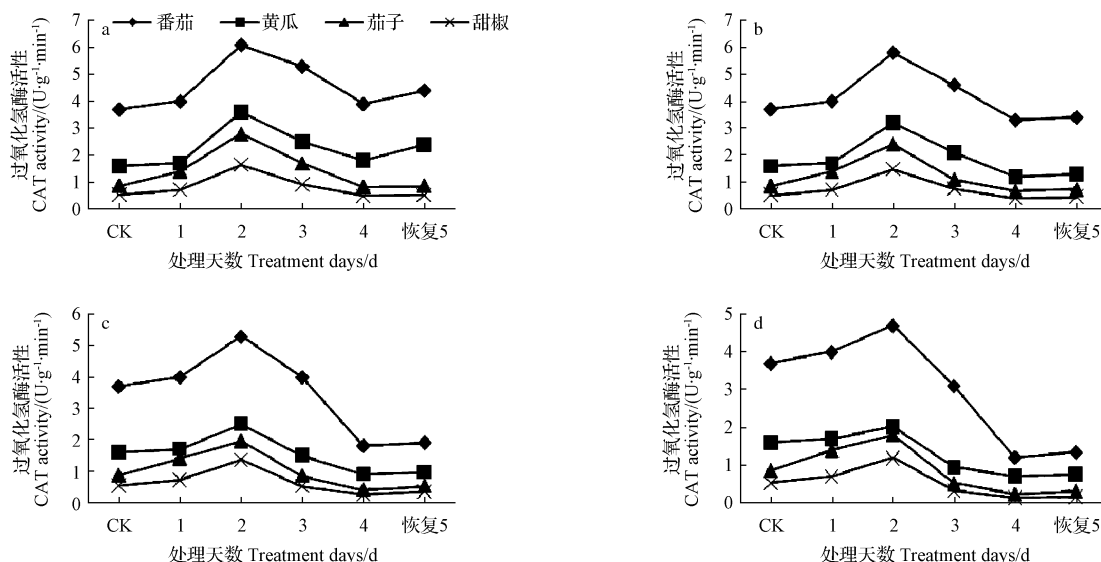


图5 动态低温胁迫对茄子、番茄、甜椒、黄瓜 CAT 活性的影响

Fig. 5 Effect of dynamic low temperature stress on CAT activity of eggplant, tomato, sweet pepper and cucumber

2.3.4 低温胁迫对MDA含量的影响 丙二醛(MDA)是膜脂过氧化作用的主要产物之一,为长期以来是用来衡量膜脂过氧化程度的一个公认指标^[15]。为此,通过测定植物体内MDA含量的变化以及含量多少可以反映出

该品种抵抗低温的能力强弱^[16-18]。由图6低温胁迫对MDA含量的影响结果可知,4种设施作物MDA含量在各处理变化趋势大致相同,呈先降后升趋势。MDA含量甜椒>茄子>黄瓜>番茄。各处理下4种设施作物

均于第2天降到最低,且降幅随处理最低温度的降低而减小。处理1中,4种设施作物与2d处降幅最大,茄子、番茄、甜椒、黄瓜与CK相比,分别下降了71.2%,55.3%,43.3%,47.2%,降幅番茄>黄瓜>茄子>甜椒。说明抗寒性番茄>黄瓜>茄子>甜椒。之后MDA含量开始回升,4种设施作物经过2℃处理后,到第4天,MDA含量仍未升至CK水平以上。说明寒潮期间最低2℃低温并未导致4种作物受灾,且一定程度增加了作物抗寒性。在试验2中,茄子、甜椒经过第3天的1℃处

理后,第4天MDA含量与CK相比,分别增加了22.44%、23.43%,且恢复5d后仍高于CK。说明寒潮期间最低1℃低温导致茄子、甜椒受灾。处理3、4中,黄瓜、番茄分别于第3天0、-1℃处理后MDA含量迅速上升,处理至第4天,MDA含量明显增至CK以上,且不能恢复至正常水平。说明寒潮期间最低0、-1℃低温导致黄瓜、番茄叶片膜脂过氧化作用逐渐增强,细胞膜透性增加,膜系统受到破坏。

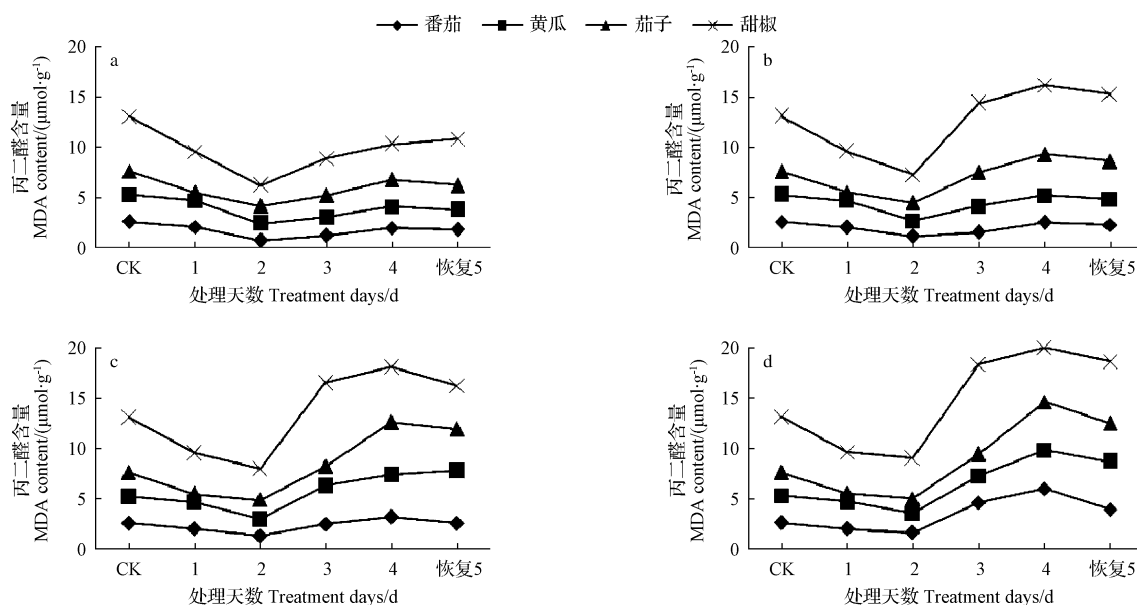


图6 动态低温胁迫对茄子、番茄、甜椒、黄瓜MDA含量的影响

Fig. 6 Effect of dynamic low temperature stress on MDA content of eggplant, tomato, sweet pepper and cucumber

3 结论与讨论

该研究利用控制试验,模拟寒潮来临前的动态降温过程对东北地区4种代表设施作物叶片光合特性、叶绿素荧光及保护酶活性的影响。

光合作用是植物最重要的生理过程,为植物提供能量来源和有机质,是植物一切生长发育活动的基础。与此前许多研究结论相似,低温胁迫显著降低了茄子、番茄、甜椒、黄瓜的最大光合速率,且持续时间越长,胁迫温度越低,作物最大光合速率降低的幅度也越大。该研究发现,低温胁迫期间,当温度骤降至2℃,4种设施作物的最大光合速率都有所下降,但经过5d的恢复,4种作物尤其是番茄、甜椒的最大光合速率均显著上升。而甜椒及茄子经过1℃处理后,最大光合速率均降为负值,说明甜椒、茄子抗低温能力较黄瓜、番茄弱。随着处理温度的进一步降低,黄瓜、番茄分别于0、-1℃时最大光合速率降为负值,且恢复后仍低于CK,可初步判定寒潮期间甜椒和茄子致灾临界点为1℃,黄瓜、番茄的致灾的临界点分别为0、-1℃。这些结果都表明,低温能明显降

低植物对光能的利用,抑制光合作用的进行,导致最大光合速率的下降,这与王萍等^[19]、胡文海等^[20]的研究结果基本一致。

叶绿素荧光技术被认为是用来研究和探测植物光合生理状况以及各种外界因子对光合作用细微影响的天然探针,叶绿素荧光特性和光合作用相结合能够更加有效的研究低温对植物的影响机理^[21]。该研究发现,在各动态低温试验中,4种设施作物抗低温能力均呈现出一致的趋势,即番茄>黄瓜>茄子>甜椒,与4种设施作物的致灾温度临界点吻合性较好。在低温胁迫下,4种设施作物的最大光化学效率(F_v/F_m)均有不同幅度的减小,这说明低温可能破坏叶绿体的结构,抑制光合色素的形成,限制了光电子的捕获和传递过程,降低对光能的利用率。

植物遭遇逆境胁迫后,质膜上的电子传递会发生电子泄露而不可避免地产生大量活性氧,导致生物大分子及膜系统的过氧化反应而损伤细胞。植物的抗寒性与活性氧代谢关系密切,低温胁迫下植物体内会产生大量

的 H_2O_2 、 O_2^- 、 $\cdot\text{OH}$ 等活性氧自由基,这些活性氧可导致膜脂过氧化,进而造成膜系统的氧化损伤^[22]。植物体内也存在着一系列酶促的和非酶促的抗氧化剂如活性氧自由基,保护植物细胞免受活性氧的伤害,维持膜系统的稳定性,以增强植株的抗寒力^[23]。SOD、POD、CAT 被认为是清除活性氧过程中最主要的抗氧化酶类,SOD 的主要功能是清除 O_2^- 并产生 H_2O_2 ,而 POD、CAT 可以清除体内的 H_2O_2 ,以维持植物体内的活性氧代谢平衡,从而使植物能在一定程度上忍耐、减缓或抵抗低温胁迫^[24-26]。MDA 含量是性能较好地反映植物抗逆能力的指标^[27]。该研究发现,茄子、番茄、甜椒、黄瓜的 SOD、POD、CAT 活性均呈现先上升后降低的趋势,与这可能是低温胁迫导致短时间植物体内的应激机制启动,以避免活性氧等自由基的大量积累,从而增强机体的抗寒性,而随着低温胁迫处理时间的延长和胁迫期间最低温度的降低,植物体的防御系统受到的损害加剧,又导致保护酶活性开始下降,这一结果与冯昌军等^[29]研究的苜蓿在低温条件下保护酶活性变化规律相似。

低温胁迫对植物伤害是由于细胞内活性氧自由基产生与清除不平衡所致,使膜脂发生过氧化作用或膜脂脱脂作用,形成丙二醛(MDA),破坏膜结构,其含量高低可反映膜脂过氧化程度的大小^[30-32]。该研究表明,在低温胁迫初期,4种设施作物 MDA 含量呈下降趋势,说明植株为避免遭受伤害而做出了适应性的反应,保护酶活性的增强可有效清除活性氧。随着不同处理胁迫时间的延长和处理期间最低温度的降低,细胞膜透性增大,MDA 含量增加,也说明植株在逆境条件下,体内已产生的自由基能已经超出了 SOD、POD、CAT 等抗氧化系统的清除能力,故部分未能清除的活性氧引起膜脂过氧化,MDA 含量增加,膜系统受到损伤。前人研究表明,MDA 含量是耐冷性鉴定的 2 个非常重要的方面,在该研究中 MDA 含量甜椒>茄子>黄瓜>番茄,与光合、荧光结果相吻合,说明抗寒性番茄>黄瓜>茄子>甜椒。保护酶活性与 MDA 含量均反映了细胞对自由基的清除能力,二者变化趋势表现为负相关^[33],这与该研究结论一致。

植物对低温胁迫的反应机制是由多种因素相互作用而构成的一个较为复杂的综合性状,不同品种的各个生长指标对低温胁迫的反映是不完全一致的,该研究各设施作物仅选取一种品种作为代表,今后可测定同一设施作物的不同品种相关生长指标,可进一步横向比较同一作物不同品种之间的差异。且该研究利用盆栽试验进行低温胁迫处理,由于盆栽作物生长环境与土壤环境不完全相同,因此在大田栽培有待试验验证。

参考文献

- [1] Heidarvand L, Amiri R M. What happens in plant molecular responses to cold stress? [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2010, 32(3): 419-431.
- [2] Wyn Jones G. Low temperature stress in crop plants: the role of the membrane [J]. *Plant, Cell and Environment*, 1981(6): 413-414.
- [3] 王永健,张海英,张峰,等. 低温弱光对不同黄瓜品种幼苗光合作用的影响 [J]. *园艺学报*, 2001, 28(3): 230-234.
- [4] 张红梅,余纪柱,金海军. 低温弱光对黄瓜植株生长、光合特性的影响 [J]. *沈阳农业大学学报*, 2006, 37(3): 339-342.
- [5] 李光庆,谢祝捷,姚雪琴,等. 花椰菜叶绿素荧光参数与耐寒性的关系研究 [J]. *园艺学报*, 2010, 37(12): 2001-2006.
- [6] 吴雪霞,陈建林,查丁石. 低温胁迫对茄子幼苗叶片光合特性的影响 [J]. *华北农学报*, 2008, 23(5): 185-189.
- [7] 任丽丽,高辉远. 低温弱光胁迫对野生大豆和大豆栽培种光系统功能的影响 [J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2007, 33(4): 333-340.
- [8] Krausegh W. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics [J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1991, 42: 313-349.
- [9] Li P, Li X P, Chen Y Z, et al. Effect of chilling induced photo inhibition stress on chlorophyll fluorescence in flag leaves at heading stage in indica rice varieties with different cold tolerance [J]. *Chinese Journal Rice Science*, 2000, 14(2): 88-92.
- [10] van Kooten O, Snel J F H. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology [J]. *Photosynthesis Research*, 1990, 25(4): 147-150.
- [11] Hu W H, Wu Y, Zeng J Z, et al. Chill-induced inhibition of photosynthesis was alleviated by 24-epibrassinolide pretreatment in cucumber during chilling and subsequent recovery [J]. *Photosynthetica*, 2010, 48(4): 537-544.
- [12] 林多,魏毓棠,王世刚. 番茄耐低温研究进展 [J]. *沈阳农业大学学报*, 2000, 31(6): 585-589.
- [13] 何勇,符庆功,朱祝军. 低温弱光对辣椒叶片光合作用,叶绿素荧光猝灭及光能分配的影响 [J]. *核农学报*, 2013, 27(4): 479-486.
- [14] Xu S C, Li Y P, Hu J, et al. Responses of antioxidant enzymes to chilling stress in tobacco seedlings [J]. *Agricultural Sciences in China*, 2010, 9(11): 1594-1601.
- [15] 孙秉钧,黄礼森,李树玲,等. 利用电解质渗出率方法测定梨的耐寒性 [J]. *中国果树*, 1987(1): 15-18.
- [16] 吴经柔. 果树抗寒性的鉴定-细胞原生质透性测定-电导法 [J]. *中国果树*, 1980(2): 19.
- [17] 朱根海,刘祖祺,朱培仁. 应用 Logistic 方程确定植物组织低温半致死温度的研究 [J]. *南京农业大学学报*, 1986(3): 11-16.
- [18] 陈建白. 电导法在植物抗寒研究中的应用 [J]. *云南热作科技*, 1999, 22(1): 26-28.
- [19] 王萍,郭晓冬,赵鹏. 低温弱光对辣椒叶片光合色素含量的影响 [J]. *北方园艺*, 2007(7): 15-17.
- [20] 胡文海,喻景权. 低温弱光对番茄叶片光合作用和叶绿素荧光参数的影响 [J]. *园艺学报*, 2001, 28(1): 41-46.
- [21] Sarijeva G, Knapp M, Lichtenthaler H K. Differences in photosynthetic activity, chlorophyll and carotenoid levels, and in chlorophyll fluorescence parameters in green sun and shade leaves of ginkgo and fagus [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164(7): 950-955.
- [22] Dat J, Vandenabeele S, Vranova E, et al. Dual action of the active oxygen

species during plant stress responses[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2000, 57(5): 779-795.

[23] O'Kane D, Gill V, Boyd P, et al. Chilling, oxidative stress and antioxidant responses in *Arabidopsis thaliana* callus[J]. Planta, 1996, 198(3): 371-377.

[24] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. Plant and Cell Physiology, 1981, 22(5): 867-880.

[25] Prasad T K. Role of catalase in inducing chilling tolerance in pre-emergent maize seedlings[J]. Plant Physiology, 1997, 114(4): 1369-1376.

[26] Gechev T, Willekens H, van Montagu M, et al. Different responses of tobacco antioxidant enzymes to light and chilling stress[J]. Journal of Plant Physiology, 2003, 160(5): 509-515.

[27] 张恩平, 张淑红, 司龙亭, 等. NaCl 胁迫对黄瓜幼苗子叶膜脂过氧化

的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2001, 32(6): 446-448.

[28] Asada K. The water-water cycle as alternative photon and electron sinks [J]. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, 2000, 355(1402): 1419-1431.

[29] 冯昌军, 罗新义, 沙伟, 等. 低温胁迫对苜蓿品种幼苗 SOD, POD 活性和脯氨酸含量的影响[J]. 草业科学, 2005, 22(6): 29-32.

[30] 逯明辉, 姜群峰, 陈劲枫. 黄瓜的冷害及耐冷性[J]. 植物学通报, 2004, 21(5): 578-586.

[31] 刘明池. 黄瓜幼苗在低温下相对电导率, SOD 及可溶蛋白含量的变化[J]. 华北农学报, 1985, 7(2): 118-119.

[32] 石雪晖, 罗川蕙. 低温胁迫对柑桔离体叶片质膜透性和 MDA 及 VC 含量的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 1997, 23(1): 36-40.

[33] 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.

Effect of Low Temperature Stress on the Leaves Photosynthesis and Antioxidant Enzyme Activities of Four Species Greenhouse Crops in Northeast of China

ZHANG Xi-he¹, YANG Zai-qiang¹, CHEN Yan-qiu², WANG Xue-lin¹

(1. Collaborative Innovation Center on Forecast and Evaluation of Meteorological Disasters, Nanjing University of Information Science and Technology, Nanjing, Jiangsu 210044; 2. Shenyang Central Meteorological Center, Shenyang, Liaoning 110016)

Abstract: Eggplant 'Heixuanfeng Generation 1', tomato 'Liangfen No. 2', sweet pepper 'Kadi' and cucumber 'Bilu' were selected as testing materials, the effect of low temperature on the physiological characteristics of the 4 greenhouse crops in Northeast of China were studied. From September to December in 2013, the dynamic temperature-fall period of cold wave was simulated at the phytotron of Nanjing University of Information Science and Technology. Four low-temperature treatment processes were designed, with respectively the lowest temperature of 2°C, 1°C, 0°C and -1°C. Systematic study was conducted on the effect of dynamic low-temperature stress on the photosynthesis characteristics and antioxidant enzyme activities of the 4 crops. The results showed that apparently dynamic low-temperature stress restrained the photosynthetic rate of the leaves of the 4 greenhouse crops; the lower the lowest temperature became, the longer the time used for treatment lasted and the faster the photosynthetic rate of the leaf fell; when the lowest temperature of the cucumber and tomato came to 0°C and -1°C, and the sweet pepper came to 1°C, the maximum photosynthetic rate of the leaf began to drop to a negative; F_v/F_m fell to below 0.4, unable to restore to the controlled level. In different treatment process, the activities of SOD, POD, CAT of the 4 greenhouse crops uniformly rose at first, and then fell. And the content of MDA changed opposite to protective enzyme. As for the content of MDA, sweet pepper > eggplant > cucumber > tomato. The study showed that when the lowest temperature for eggplant and sweet pepper came to 1°C, and that for cucumber and tomato respectively came to 0°C and -1°C, the activity of leaf photosystem was irreversibly harmed. Performance in cold resistance of the 4 greenhouse crops was shown, in descending order, as follows: tomato > cucumber > eggplant > sweet pepper.

Keywords: low temperature; eggplant; sweet pepper; cucumber; photosynthetic characteristics; antioxidase activity