

# 外源多胺对低温胁迫下黄瓜幼苗 叶绿素荧光参数的影响

曹玉杰, 钱春桃, 薄凯亮, 程春燕, 陈劲枫

(作物遗传与种质资源创新国家重点实验室 南京农业大学园艺学院 南京 210095)

**摘要:**应用外源多胺(Polyamines, PAs)腐胺(Putrescine, Put)、亚精胺(Spermidine, Spd)、精胺(Spermine, Spm)处理2叶1心黄瓜幼苗, 然后进行8℃/8℃低温及恢复处理, 研究Put、Spd、Spm对黄瓜幼苗叶绿素荧光参数的影响。结果表明, 在低温胁迫下黄瓜幼苗叶片叶绿素荧光参数最大荧光 $F_m$ 、最大光化学效率 $F_v/F_m$ 、PSII(光系统II)潜在活性 $F_v/F_0$ 均下降, 初始荧光 $F_0$ 上升, 表明PSII受到了伤害, 使得PSII原初光能转换效率、PS潜在活性降低; 与单纯低温胁迫相比, 外源Put、Spd、Spm预处理均可以提高 $F_m$ 、 $F_v/F_m$ 、 $F_v/F_0$ , 而使 $F_0$ 降低。这一结果从叶绿素荧光动力学方面说明Put、Spd、Spm对改善黄瓜的耐冷性有一定的作用。

**关键词:**黄瓜; 低温胁迫; 多胺; 叶绿素荧光参数

## Effect of Polyamines, Putrescine, Spermidine and Spermine on Chlorophyll Fluorescence Parameters of Cucumber Seedlings under Low Temperature Stress

CAO Yu-jie, QIAN Chun-tao, BO Kai-liang, CHENG Chun-yan, CHEN Jin-feng

(State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement · College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095, China)

**Abstract:** Cucumber seedlings of two true leaves were sprayed by exogenous PAs (Put, Spd, Spm) and then they were stressed under low temperature of 8℃/8℃ for three days and recovered for one day. Effect of exogenous PAs on the changes of chlorophyll fluorescence parameters of cucumber seedlings under low temperature stress was studied. The results indicated that the fluorescent parameters of chlorophyll,  $F_m$ ,  $F_v/F_m$  and  $F_v/F_0$  appeared to decline and  $F_0$  appeared to increase, suggesting that PSII could be damaged, causing some decrease of primary light energy conversion and potential activities of PSII. Compared with the control treatment, exogenous PAs pre-treatment could significantly promote the increment of  $F_m$ ,  $F_v/F_m$  and  $F_v/F_0$ , whereas decreased  $F_0$ . The effect of exogenous PAs on cold-tolerance of cucumber is proved again by improving the changes of chlorophyll fluorescence parameters of cucumber seedlings.

**Key words:** Cucumber; Low temperature stress; PAs; Chlorophyll fluorescence parameters

黄瓜(*Cucumis sativus* L.)起源于亚热带地区, 属于喜温植物, 其生长过程对低温极为敏感, 生长温度低于10℃时就会受到抑制。与其他葫芦科作物相似<sup>[1-2]</sup>, 黄瓜设施栽培过程中亦经常遭受低温弱光, 严重影响其生长发育及其产量和品质<sup>[3]</sup>。叶绿素荧光动力学技术是以植物体内叶绿素a分子作为天然探针, 研究和探测植物光合生理状况及各种外界环境因子对其影响的新型植物活体测定和诊断技术, 具有快速便捷、反应灵敏和不具破坏性等优点, 被看作探测和分析植物光合生理与逆境胁迫关

系的理想技术<sup>[4]</sup>; 越来越多的研究表明植物体内的叶绿素荧光蕴藏着丰富的生物信息, 在水分胁迫<sup>[5]</sup>、低温胁迫等逆境胁迫方面有着广泛的应用。已有报道对黄瓜的耐冷研究多集中在生理生化指标<sup>[6-7]</sup>、光合作用<sup>[8-9]</sup>以及单纯低温弱光对黄瓜叶绿素荧光特性影响<sup>[10-12]</sup>等方面。而关于外源Put、Spd、Spm对黄瓜耐冷性的影响, 前人多是从多胺提高抗氧化酶活性, 减缓黄瓜叶片MDA累积, 提高可溶性物质含量等方面进行研究<sup>[13-15]</sup>。本文采用耐冷性不同的2份黄瓜材料, 进行外源Put、Spd、Spm对低温胁迫下

收稿日期: 2014-05-21; 修回日期: 2014-08-08

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(2009CB119001-01; 2012CB113900); 863计划专项(2010AA10A108; 2012AA100202); 江苏省科技支撑计划(BE2009310); 江苏省农业科技支撑自主创新基金(CX(11)1002)

作者简介: 曹玉杰, 女, 在读硕士生, 研究方向为蔬菜遗传育种与生物技术。电子信箱: caoyujie08@163.com

通信作者: 陈劲枫, 男, 教授, 博导, 研究方向为蔬菜遗传育种与生物技术。电话: 025-84396279; 电子信箱: jfchen@njau.edu.cn

黄瓜幼苗叶片叶绿素荧光参数影响的研究,初步从叶绿素荧光动力学方面探讨外源多胺对黄瓜耐冷性的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

材料<sup>[6]</sup>由南京农业大学蔬菜重点实验室黄瓜课题组提供:耐冷材料 长春密刺,冷敏性材料 北京截头。

### 1.2 幼苗培养

分别将2份材料种子消毒,55℃温汤浸种,放于铺有2层湿润滤纸的培养皿中,28℃黑暗条件下催芽。种子发芽后,播于装有草炭:蛭石=1:1的塑料营养钵中,于温室内培养,每2d浇灌1次1/2倍Hoagland营养液,中间浇清水,幼苗培养至2片真叶完全展平时用作实验材料进行处理。

### 1.3 试验处理

幼苗在低温处理开始前的12h,进行如下处理:(1)喷施清水(CK):MCK(M,长春密刺,下同),BCK(B,北京截头,下同);(2)喷施1mmol·L<sup>-1</sup> Put:MPut,BPut;(3)喷施0.5mmol·L<sup>-1</sup> Spd:MSpd,BSpd;(4)喷施0.5mmol·L<sup>-1</sup> Spm:MSpm,BSpm(多胺处理浓度为实验室前人实验结果)。在喷施的溶液中均加入1滴吐温-20,以提高附着叶片的能力。用微型塑料喷雾器对植株的全部叶片喷洒清水或Put、Spd、Spm,以不下滴为宜(注意不要滴到培养基质)。将幼苗转移到光照培养箱中进行低温处理,实验选用8℃/8℃的温度作为冷处理温度(光照度:150μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>;光周期:12L/12D;RH:60%~75%),冷处理3d,第4天将幼苗移回常温状态,恢复处理1d(R1d)。

### 1.4 叶绿素荧光参数的测定

叶绿素荧光参数的测定<sup>[7]</sup>,分别于处理后0d、1d、2d、3d、恢复后1d选取幼苗第2片真叶进行。采用英国Hansatech公司生产的FMS-2便携调制式荧光仪测定。测定前先将叶片利用配套叶夹夹住,暗适应20min,然后依次测得参数最小荧光(F<sub>0</sub>)、最大荧光(F<sub>m</sub>),并计算PSII原初光能转换效率(F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>)、PSII的潜在光化学活性(F<sub>v</sub>/F<sub>0</sub>)。每个处理12株,3次重复。对测定数据采用SPSS和Excel软件进行显著性分析和作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 外源Put、Spd和Spm对低温胁迫下及恢复常

### 温后黄瓜幼苗初始荧光F<sub>0</sub>的影响

如图1-A、B所示,低温胁迫下,长春密刺和北京截头幼苗叶片F<sub>0</sub>均显著增加,表明PSII反应中心均被破坏或发生可逆失活。长春密刺和北京截头幼苗叶片的初始荧光F<sub>0</sub>均在低温胁迫1d时即开始显著增加,在3d时上升到最高值,分别比处理前增加10.81%、19.21%。应用外源Put、Spd和Spm处理后,均可减缓2份材料F<sub>0</sub>的上升;在胁迫的2d时,Spd降低效果最优,分别比对照降低10.40%、9.66%;在3d时,Spm的处理效果最好,分别比对照下降9.45%、14.02%。在恢复期,处理BCK的F<sub>0</sub>仍高于处理前,其他处理基本恢复到处理前的水平。

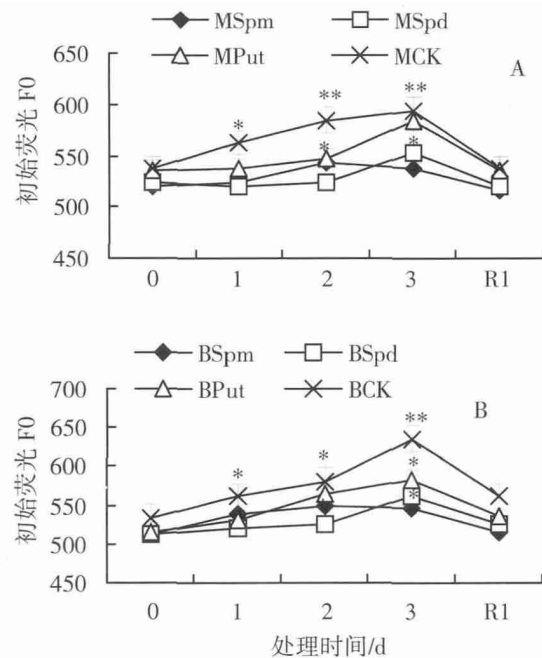


图1 外源Put、Spd和Spm对低温胁迫下及恢复常温后黄瓜幼苗初始荧光F<sub>0</sub>的影响

显著性为相同处理在不同时间的比较,\*表示在5%水平上差异显著,\*的数量表示不同时间点之间的差异程度。下同。

### 2.2 外源Put、Spd、Spm对低温胁迫下黄瓜幼苗最大荧光F<sub>m</sub>的影响

由图2-A、B可以看出,进行低温处理后,材料长春密刺和北京截头幼苗叶片的最大荧光F<sub>m</sub>均呈下降趋势,并随胁迫时间的延长下降幅度加大,3d时分别比处理前降低18.04%、21.49%。Put、Spd和Spm处理均可使低温胁迫引起的幼苗叶片F<sub>m</sub>的降低减少。在长春密刺中,低温胁迫在2d时Spd减缓效果优于Spm、Put,分别比对照提高10.04%、8.39%、5.39%,3d时Spm减缓幅度最大,比对照提高12.32%;北京截头中,Spm处理减少

低温胁迫下  $F_m$  降低的效果最好,在 1 d、2 d、3 d 分别比对照提高 8.47%、15.33%、16.68% ,Spd 次之。在恢复期,各处理  $F_m$  均有不同程度的恢复,但仍低于处理前的水平。

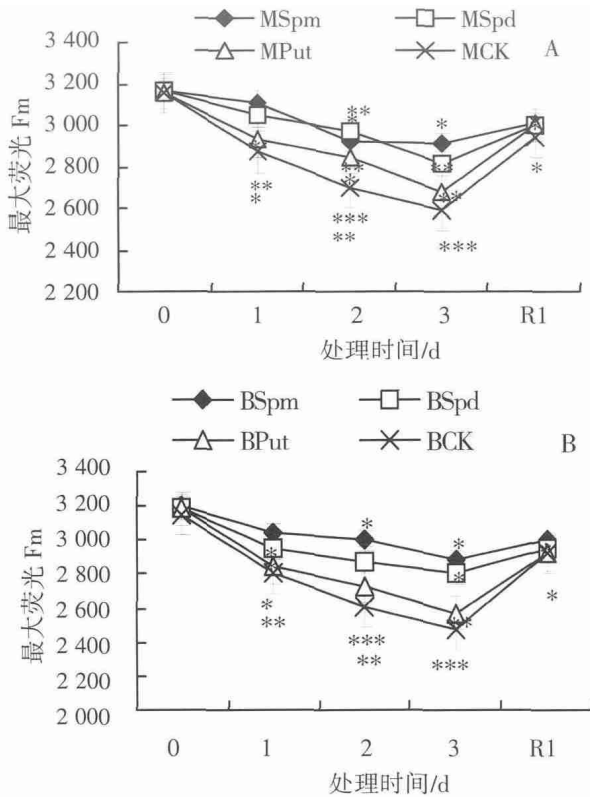


图2 外源 Put、Spd 和 Spm 对低温胁迫下及恢复常温后黄瓜幼苗最大荧光  $F_m$  的影响

### 2.3 外源 Put、Spd、Spm 对低温胁迫下黄瓜幼苗最大光化学效率 $F_v/F_m$ 的影响

如图 3-A、B 所示,进行低温处理后,材料 长春密刺 和 北京截头 幼苗叶片的最大光化学效率  $F_v/F_m$  呈下降趋势,低温胁迫 1 d 时即显著降低,分别比处理前降低 3.31%、5.71%、8.42% 和 4.90%、7.38%、10.5%。Put、Spd 和 Spm 可以明显提高低温处理下幼苗叶片  $F_v/F_m$ ,与单纯低温胁迫相比,在 3 d 时幼苗叶片分别增加 7.20%、5.53%、2.80% 和 8.92%、7.50%、4.01%。在恢复期,各处理的  $F_v/F_m$  有所恢复,但仍低于处理前的水平,表明幼苗叶片的光合作用能力未完全恢复。

### 2.4 外源 Put、Spd、Spm 对低温胁迫下黄瓜幼苗 PSII 潜在活性的影响

由图 4-A、B 可以看出,进行低温处理后,材料 长春密刺 和 北京截头 幼苗叶片的 PSII 潜在活性  $F_v/F_0$  皆呈下降趋势,并随胁迫时间的延长下降幅度加大,处理 1、2、3 d 时  $F_v/F_0$  分别比处理前降低 16.19%、26.00%、31.35% 和 22.15%、31.80%、

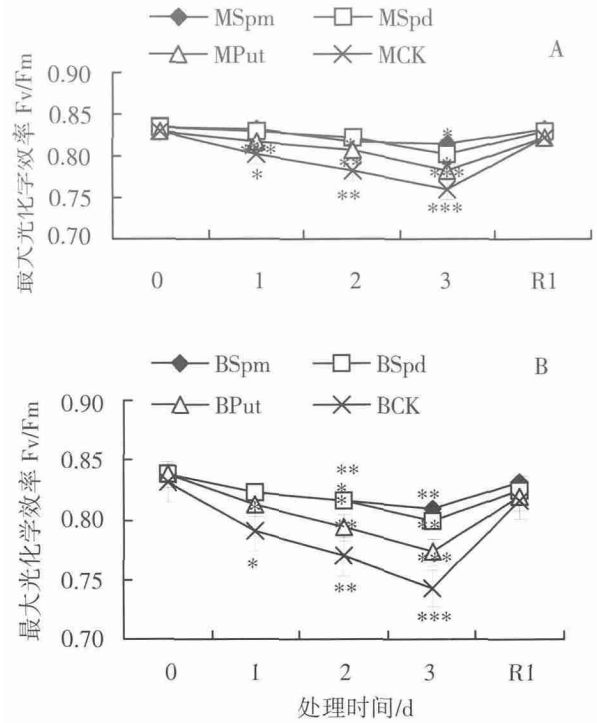


图3 外源 Put、Spd 和 Spm 对低温胁迫下及恢复常温后黄瓜幼苗  $F_v/F_m$  的影响

40.47%。Put、Spd 和 Spm 可以明显提高低温处理下幼苗叶片  $F_v/F_0$ ,与单纯低温胁迫相比,在 3 d 时幼苗叶片分别增加 6.77%、21.97%、31.37% 和 16.76%、36.14%、46.72%。在恢复期,处理 MSpd、MSpm 幼苗  $F_v/F_0$  恢复到略低于处理前的水平,其他处理仍显著低于处理前,表明 PSII 的潜在活性仍未恢复。

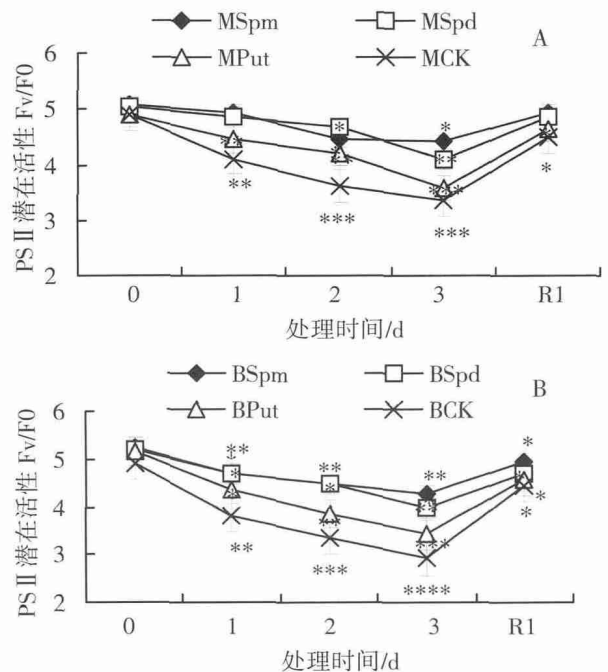


图4 外源 Put、Spd 和 Spm 对低温胁迫下及恢复常温后黄瓜幼苗 PSII 潜在活性  $F_v/F_0$  的影响

### 3 讨 论

叶绿素荧光诱导动力学反映的是光合功能从启动到逐渐达到最适速度的变化过程。一般情况下,叶绿素吸收的光能主要用于光化学反应、发出叶绿素荧光和热耗散3种途径<sup>[18]</sup>,相互之间存在着此消彼长关系,光合作用和热耗散的改变会相应地引起荧光发射的改变。因此,研究者可以通过对荧光的测定来探究光合作用和热耗散的相关情况<sup>[19]</sup>。低温胁迫对植物产生的逆境伤害是多方面的,对植物的光合作用机构也同样产生损伤。本实验中发现低温胁迫使初始荧光  $F_0$  显著上升,而使黄瓜幼苗叶片的最大荧光  $F_m$ 、PSII 的最大光化学效率  $F_v/F_m$ 、PSII 潜在活性  $F_v/F_0$  发生显著降低,冷敏材料北京截头上升( $F_0$ )或下降幅度大于耐冷材料长春密刺,这与刘慧英等<sup>[20]</sup>在研究低温胁迫下嫁接对西瓜叶绿素荧光参数影响、吴雪霞等<sup>[21]</sup>进行低温胁迫对茄子幼苗叶片叶绿素荧光特性的影响的研究及张彩虹等<sup>[22]</sup>在进行砧对低温胁迫下番茄幼苗叶片光合特性与叶绿素荧光参数的影响的研究时所得结果是一致的。 $F_m$ 、 $F_v/F_m$  下降,表明植物叶片发生了光抑制<sup>[23]</sup>,而同时  $F_0$  升高,表明 PSII 遭受到可逆或者不可逆损害<sup>[24]</sup>。PAs 在植物防御各种环境胁迫方面能起到重要作用<sup>[25-26]</sup>。本实验结果表明,Put、Spd、Spm 预处理可以提高低温胁迫下黄瓜幼苗叶片的  $F_m$ 、 $F_v/F_m$ 、 $F_v/F_0$ ,使  $F_0$  降低,Spm 改善效果最优,Spd 次之。这一结果从叶绿素荧光特性方面说明外源多胺可以缓解低温胁迫引起的逆境伤害,改善黄瓜的耐冷性。

#### 参考文献

- 侯永平,陈年来,康恩祥,等.低温弱光对西葫芦幼苗渗透调节物质的影响[J].中国瓜菜,2009,22(1):8-12.
- 邢燕,徐志红,徐永阳,等.西瓜苗期耐低温弱光性鉴定指标初探[J].中国瓜菜,2012,25(6):31-33.
- 马鸿艳,栾非时,李惠鹤.不同温度环境对黄瓜生长、产量、理化特性的影响[J].东北农业大学学报,2004,35(6):697-700.
- 赵会杰,邹琦,于振文.叶绿素荧光分析技术及其在植物光合机理研究中的应用[J].河南农业大学学报,2000,34(3):2482-2511.
- 姜玉萍,丁小涛,张兆辉,等.淹水对不同葫芦科作物叶绿素荧光特性的影响[J].中国瓜菜,2012,25(1):16-19.
- 曾韶西,王以柔.低温胁迫对黄瓜子叶抗坏血酸过氧化物酶活性和谷胱甘肽含量的影响[J].植物生理与分子生物学报,1989(4):12-15.
- 马德华,卢育华,庞金安.低温对黄瓜幼苗膜脂过氧化的影响[J].园艺学报,1998,25(1):61-64.
- 李晓萍,陈贻竹,刘鸿先,等.冷诱导对黄瓜幼苗光合特性与耐冷力的影响[J].中国科学院华南植物研究所集刊,1991(7):69-74.
- 陈青君,张福壤.不同品种黄瓜在低温弱光胁迫和恢复过程中的光合特性[J].中国农业大学学报,2000,5(5):30-35.
- 王永健,张海英,张峰,等.低温弱光对不同黄瓜品种幼苗光和作用的影响[J].园艺学报,2001,28(3):230-234.
- 曾纪晴,刘鸿先,王以柔,等.黄瓜幼苗子叶在低温下的光抑制及其恢复[J].植物生理学报,1997,23(1):15-20.
- 周艳虹,黄黎锋,喻景权.持续低温弱光对黄瓜叶片气体交换、叶绿素荧光猝灭和吸收光能分配的影响[J].植物生理与分子生物学学报,2004,30(2):153-160.
- Shen W Y, Nada K, Tachibana S, et al. Involvement of polyamines in the chilling tolerance of cucumber cultivars[J]. Plant Physiol, 2000, 124(1):431-439.
- 王学.低温胁迫下精胺对黄瓜幼苗抗氧化酶系统及膜脂过氧化的影响[J].研究报告,2008,27(11):34-36.
- Zhang W P, Jiang B, Li W G, et al. Polyamines enhance chilling tolerance of cucumber (*Cucumis sativus* L.) through modulating anti-oxidative system[J]. Scientia Horti, 2009, 122(2):200-208.
- 透明辉,李晓明,陈劲枫.黄瓜发芽期耐冷性与赖氨酸脱羧酶基因表达[J].中国农业科学,2005,38(12):2492-2495.
- Demmig-Adams B. Carotenoids and photoprotection in plants: A role for the xanthophylls zaxanthin[J]. Biochim Biophys Acta, 1990, 1024:1-24.
- Maxwell K, Johnson G N. Chlorophyll fluorescence- a practical guide[J]. Journal of Experimental Botany, 2000, 51:659-668.
- 徐凯,郭延平,张上隆.草莓叶片光合作用对强光的响应及其机理研究[J].应用生态学报,2005,16(1):73-78.
- 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参数影响的研究[J].石河子大学学报:自然科学版,2007,25(2):02-05.
- 吴雪霞,陈建林,查丁石.低温胁迫对茄子幼苗叶片叶绿素荧光特性和能量耗散的影响[J].植物营养与肥料学报,2009,15(1):164-169.
- 张彩虹,刘慧英,于秀珍.砧对低温胁迫下番茄幼苗叶片光合特性与叶绿素荧光参数的影响[J].中国农学通报,2010,26(5):152-157.
- 吴长艾,孟庆,邹琦,等.小麦不同品种叶片对光氧化胁迫响应的比较研究[J].作物学报,2003,29(3):339-344.
- Peterson R B, Sivak M N, Walker D A. Relationship between steady-state fluorescence yield and photo synthetic efficiency in spinach leaf tissue[J]. Plant Physiology, 1998, 88(1):158-163.
- Katsukabe Y, He L, Nada K, et al. Overexpression of spermidine synthase enhances tolerance to multiple environmental stresses and up-regulates the expression of various stress-regulated genes in transgenic *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Cell Physiol, 2004, 45(6):712-722.
- Groppa M D, Benavides M P. Polyamines and abiotic stress: recent advances[J]. Amino Acids, 2008, 34(1):35-45.