

## 土壤湿度对低温下黄瓜幼苗光合作用及抗氧化酶活性的影响

刘婧, 毕焕改, 李清明, 艾希珍\*

山东农业大学园艺科学与工程学院, 作物生物学国家重点实验室, 农业部黄淮地区园艺作物生物学与种质创制重点开放实验室, 山东省果蔬优质高效生产协同创新中心, 山东泰安271018

**摘要:** 以‘津优35’黄瓜幼苗为试材, 用称重法控制土壤含水量为80%~90% (T1)、70%~80% (T2)、60%~70% (T3)和50%~60% (T4), 以土壤含水量80%~90%常温处理幼苗作对照, 研究土壤湿度对低温(8℃/5℃, 昼/夜)下黄瓜光合作用及抗氧化酶活性的影响。结果表明: 低温下T2和T3的冷害指数最小, T1最大; 电解质渗漏率(EL)以T2和T3最低, T4最高。低温胁迫使黄瓜幼苗的净光合速率( $P_n$ )、气孔导度( $G_s$ )、蒸腾速率( $T_r$ )、核酮糖-1,5-二磷酸羧化/加氧酶(RuBisCO)和RuBisCO活化酶(RCA)活性以及光系统II (PSII)实际光化学效率( $\Phi_{PSII}$ )、最大光化学效率( $F_v/F_m$ )和光下最大天线转换效率( $F_v'/F_m'$ )均明显降低, 胞间CO<sub>2</sub>浓度( $C_i$ )和初始荧光( $F_0$ )逐渐升高。T2和T3的 $P_n$ 、 $G_s$ 、 $T_r$ 、RuBisCO和RCA活性以及 $\Phi_{PSII}$ 、 $F_v/F_m$ 和 $F_v'/F_m'$ 的降低幅度还有 $C_i$ 和 $F_0$ 的升高幅度较小, T1和T4的较大。低温下T2和T3的丙二醛(MDA)含量最低, T4最高; T2和T3的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和谷胱甘肽还原酶(GR)活性较高; T1和T4明显较低。可见, 适当控水可有效调控黄瓜幼苗的光合适应性, 其可能机理是通过提高抗氧化酶活性增强活性氧清除能力, 减轻低温光抑制, 从而维持较高的光合活性, 增强低温耐受性。

**关键词:** 低温胁迫; 土壤湿度; 光合作用; 抗氧化酶; 黄瓜

## Effect of Soil Moisture on Photosynthesis and Antioxidant Enzyme Activities in Cucumber Seedlings Under Chilling Stress

LIU Jing, BI Huan-Gai, LI Qing-Ming, AI Xi-Zhen\*

College of Horticulture Science and Engineering, State Key Laboratory of Crop Biology, Key Laboratory of Horticultural Crop Biology and Germplasm Innovation of Agriculture Ministry, Shandong Collaborative Innovation Center for Fruit and Vegetable Production with High Quality and Efficiency, Taian, Shandong 271018, China

**Abstract:** The effect of soil moisture on the photosynthesis and antioxidant enzyme activities of ‘Jinyou 35’ cucumber (*Cucumis sativa*) seedlings under low temperature (8 °C/5 °C, day/night) was investigated. The soil moisture was controlled to 80%~90% (T1), 70%~80% (T2), 60%~70% (T3) and 50%~60% (T4) with weighing method. 80%~90% moisture and normal temperature treatment was used as the control. The results revealed that the chilling injury indexes of T2 and T3 were the lowest and T1 the highest, the electrolyte leakage (EL) of T2 and T3 were the lowest either, but T4 the highest, among the four treatments under chilling stress. Chilling stress leads to significant decreases in photosynthetic rate ( $P_n$ ), stomatal conductance ( $G_s$ ), transpiration rate ( $T_r$ ), activities of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RuBisCO) and RuBisCO activase (RCA), actual photochemical efficiency of PSII ( $\Phi_{PSII}$ ), maximum photochemical efficiency ( $F_v/F_m$ ), the antenna transformation efficiency ( $F_v'/F_m'$ ), whereas increases in intercellular CO<sub>2</sub> concentration ( $C_i$ ) and initial fluorescence ( $F_0$ ). T2 and T3 showed lower reductions in  $P_n$ ,  $G_s$ ,  $T_r$ , activities of RuBisCO and RCA,  $\Phi_{PSII}$ ,  $F_v/F_m$  and  $F_v'/F_m'$ , and lower increases in  $C_i$  and  $F_0$ , compared with T1 and T4 under chilling stress. Malondialdehyde (MDA) contents of T2 and T3 were the lowest and T4 the highest among the four treatments. On the contrary, T2 and T3 showed higher activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) and glutathione reductase (GR) than those of T1 and T4 under chilling stress. These data suggest that moderate water control increases the photosynthesis adaptability of cucumber seedlings under low temperature. The mechanism might be the observed increase in scavenging ability of reactive oxygen species by enhancing the antioxidant enzyme activities, alleviating low temperature photoinhibition, consequently maintaining higher photosynthetic activity, and heightening the chilling tolerance.

**Keywords:** chilling stress; soil moisture; photosynthesis; antioxidant enzyme; cucumber

收稿 2015-09-15 修定 2015-12-12

资助 “十二五”国家科技支撑计划(2014BAD05B03)和山东省农业重大应用技术创新课题(鲁财农指[2013]136号)。

\* 通讯作者(E-mail: axz@sdau.edu.cn; Tel: 0538-8246218)。

黄瓜是一种典型的冷敏感植物,在北方日光温室生产中经常遭遇低温胁迫,导致其生长发育不良,生理代谢受抑,产量和品质降低。因此,研究黄瓜在低温下的生长发育和生理活动规律及其防御机理具有重要意义。前人研究认为,植物虽然对干旱、高温、低温和盐渍等逆境胁迫的响应有所不同,但对不同胁迫的抗性之间存在密切联系(刘海霞等2007),逆境锻炼诱导的交叉适应性是植物获得抗逆性的一种既经济又环保的有效手段(Zang等2001)。Gong等(2001)研究表明,热激预处理可诱导玉米幼苗对热、冷、干旱和盐胁迫的交叉适应性。高温和低温锻炼能够诱导葡萄幼苗对温度逆境的交叉适应性(张俊环和黄卫东2007;张俊环等2006)。轻度低温或盐胁迫预处理能增强植物对高温(Lu和Zhang 1998)和低温(曾韶西和李美茹1999)的抗性。干旱预处理可使低温下玉米叶片的蒸腾速率减小,水势降低幅度和水分亏缺程度降低,增强玉米幼苗的耐冷性(Javier等1997)。在日光温室黄瓜生产中,土壤湿度较易控制,董绪兵等(2011)和Dong等(2013)研究证实,利用PEG模拟干旱胁迫处理可诱导黄瓜幼苗对低温胁迫的适应性,然而植物对长期水分胁迫的响应与适应性变化目前还不清楚。肖文静等(2010)研究发现,适度水分胁迫可使弱光下黄瓜幼苗叶片的色素含量、光饱和和光合速率、表观量子效率、羧化效率、核酮糖-1,5-二磷酸(ribulose-1,5-bisphosphate, RuBP)再生速率、暗下光系统II (PSII)最大光化学效率( $F_v/F_m$ )和光下实际光化学效率( $\Phi_{PSII}$ )等均明显提高,认为适度水分胁迫有利于增强弱光下黄瓜幼苗的光合适应性。那么适度控水能否提高植物的耐冷性?若能,其生理机制是什么?为了探明以上问题,本文通过调节土壤湿度,测定低温胁迫下黄瓜幼苗叶片的气体交换参数、光合关键酶活性、叶绿素荧光参数和抗氧化酶活性等的变化,为缓解日光温室黄瓜低温逆境障碍提供理论和技术参考。

## 材料与方法

### 1 植物材料及处理

试验于2014年在山东农业大学园艺实验站进行。供试黄瓜(*Cucumis sativus* L.)品种为‘津优35’。

3月20日播种,在日光温室用8 cm×8 cm营养钵育苗,育苗环境为:光量子通量密度(PFD)日均值约560  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ,温度均值约24 °C/17 °C (昼/夜)。营养土为自配沙壤土,最大持水量为18%,每钵装营养土280 g。出苗后将幼苗分为4组处理,每组40株,用称重法控制土壤相对含水量(RH)分别为80%~90% (RH降至80%时浇水至90%, T1)、70%~80% (RH降至70%时浇水至80%, T2)、60%~70% (RH降至60%时浇水至70%, T3)和50%~60% (RH降至50%时浇水至60%, T4)。幼苗长至2叶1心时(4月10日)随机选取20株T1幼苗置人工气候室内常温(昼/夜温度25 °C/18 °C, PFD 600  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )处理作为对照,另外20株与T2、T3和T4一起移至光照培养箱,在18 °C/12 °C (昼/夜)下预处理6 h后,进行低温处理,处理条件为:温度8 °C/5 °C(昼/夜), PFD 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ,光周期11 h/13 h(昼/夜)。分别于低温胁迫0、1、3和5 d后取上数第2叶进行测定,每处理重复3次,取平均值。

### 2 指标测定

#### 2.1 冷害指数与电解质渗漏率(electrolyte leakage, EL)

参照于贤昌等(1998)的方法测定冷害指数。按以下标准对幼苗的冷害症状进行分级:0级:无受害症状;1级:叶片稍皱缩,下数第1或第2叶叶缘发黄或略失水,第3叶和新叶无受害症状;2级:叶片皱缩,下数第1叶和第2叶叶缘严重失水,第3叶叶缘发黄或略为失水,心叶无明显受害症状;3级:下数第1和第2叶中部出现脱水斑,第3叶叶缘严重失水,心叶轻微失水;4级:下数第1和第2叶中部脱水斑连接成片,叶片萎蔫,第3叶中部始显脱水斑,心叶失水较明显,但常温下心叶尚能恢复;5级:所有叶片严重失水萎蔫,幼苗再置于常温下不能恢复。用以下公式计算冷害指数:冷害指数 $= (1\times S_1 + 2\times S_2 + 3\times S_3 + 4\times S_4 + 5\times S_5) / (\text{每处理株数}\times 5)$ ,式中S为各级幼苗株数。用美国产ORIONTDS型电导率仪测定并参照中国科学院上海植物生理研究所和上海市植物生理学会(1999)的方法计算EL,  $EL = (E_1 - E_0) / (E_2 - E_0)$ ,式中 $E_0$ 为去离子水电导率, $E_1$ 为杀死前电导率, $E_2$ 为杀死后电导率。

#### 2.2 气体交换参数

用Cirac-2型光合仪(PP-Systems公司,英国)测

定PFD  $600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、 $\text{CO}_2$ 浓度 $350\sim 360 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ 、叶温( $25\pm 1$ ) °C时黄瓜幼苗最佳功能叶(上数第2叶)的光合速率( $P_n$ )、气孔导度( $G_s$ )、胞间 $\text{CO}_2$ 浓度( $C_i$ )和蒸腾速率( $T_r$ ), PFD、 $\text{CO}_2$ 浓度和叶温分别由仪器的可调光源、内置式 $\text{CO}_2$ 供气系统和温度监控装置控制。

### 2.3 核酮糖-1,5-二磷酸羧化/加氧酶(RuBisCO)和RuBisCO活化酶(RCA)活性

RuBisCO和RCA活性分别用GMS16015.1 v.A和GMS16016.1 v.A试剂盒(上海杰美基因医药科技有限公司), 参照其说明书测定。

### 2.4 叶绿素荧光参数

将叶片预暗30 min, 用英国Hansatech公司生产的FMS-2型调制式叶绿素荧光仪测定暗适应下最大荧光( $F_m$ )、可变荧光( $F_v$ )、初始荧光( $F_o$ )以及作用光为 $600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 下的稳态荧光( $F_s$ )、初始荧光( $F_o'$ )、最大荧光( $F_m'$ )和可变荧光( $F_v'$ )等荧光参数, 各参数的意义及计算参照Demming-Adams和Adams (1996)及FMS-2使用手册, 公式为:  $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$ ;  $\Phi_{PSII} = (F_m' - F_s)/F_m'$ ;  $F_v'/F_m' = (F_m' - F_o')/F_m'$ 。

### 2.5 丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量及抗氧化酶活性

用硫代巴比妥酸(TBA)比色法测定MDA含量(李合生等2000); 用氮蓝四唑(NBT)还原法测定超

氧化物歧化酶(SOD)活性, 以抑制光化还原50%为1个酶活性单位(u, 下同)(李合生等2000); 用愈创木酚法(Omran1980)测定过氧化物酶(POD)活性, 以每分钟470nm波长吸光度( $A_{470}$ )变化0.01为1个酶活性单位; 参照Chance和Maehly (1995)的方法测定过氧化氢酶(CAT)活性, 以每分钟内 $A_{240}$ 变化0.01为1个酶活性单位; 抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性按Nakano和Asada (1981)的方法测定, 以每分钟内氧化1  $\mu\text{mol}$ 抗坏血酸为1个酶活性单位; 参照Foyer和Halliwell (1976)的方法测定谷胱甘肽还原酶(GR)活性, 以每分钟还原1  $\mu\text{mol}$ 氧化型谷胱甘肽(GSSG)为1个酶活性单位。

### 3 数据分析

用Microsoft Excel和SigmaPlot软件处理数据和作图, 用DPS软件对数据进行单因素方差分析并运用Duncan检验法对显著性差异( $P < 0.05$ )进行多重比较。

## 实验结果

### 1 土壤湿度对低温下黄瓜幼苗冷害指数与EL的影响

从表1看出, 随着低温胁迫时间的延长, 黄瓜幼苗的冷害指数逐渐升高, 各处理相比, 以T2和T3最低, T4其次, T1最高。胁迫5 d时, T1、T2、T3和T4的冷害指数分别为0.50、0.43、0.43和0.47, 说明适当控水可提高黄瓜幼苗的耐冷性。

表1 土壤湿度对低温下黄瓜幼苗冷害指数的影响

Table 1 Effect of soil moisture on chilling injury index of cucumber seedlings under chilling stress

处理	冷害指数				
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d
对照	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>d</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>
T1	0.23±0.02 <sup>a</sup>	0.40±0.02 <sup>a</sup>	0.48±0.01 <sup>a</sup>	0.48±0.02 <sup>a</sup>	0.50±0.02 <sup>a</sup>
T2	0.18±0.02 <sup>b</sup>	0.23±0.01 <sup>bc</sup>	0.42±0.02 <sup>b</sup>	0.43±0.01 <sup>b</sup>	0.43±0.01 <sup>b</sup>
T3	0.17±0.01 <sup>b</sup>	0.22±0.01 <sup>bc</sup>	0.40±0.01 <sup>b</sup>	0.40±0.03 <sup>b</sup>	0.43±0.03 <sup>b</sup>
T4	0.23±0.01 <sup>a</sup>	0.28±0.02 <sup>b</sup>	0.35±0.01 <sup>c</sup>	0.40±0.01 <sup>b</sup>	0.47±0.01 <sup>ab</sup>

表中1~5 d为低温胁迫时间。同列不同小写字母表示处理间差异显著( $P < 0.05$ )。

图1表明, 低温胁迫1 d时, T4的EL明显升高, 其他处理变化不大; 胁迫时间延长至3 d时, T1和T4的EL分别比胁迫前增加了15.0%和32.7%, 而T2和T3仍与胁迫前差异不明显; 胁迫时间继续延长, 各处理的EL均逐渐升高, 但升高幅度仍以T4最大, T1

其次, T2和T3最小。胁迫结束时(5 d), T1和T4的EL分别比胁迫前增加了31.5%和46.3%, 而T2和T3分别增加了15.7%和13.0%。说明适度控制土壤湿度(60%~80%)可减轻低温胁迫伤害, 但降至60%以下时会加重低温对黄瓜幼苗细胞膜的损伤程度。

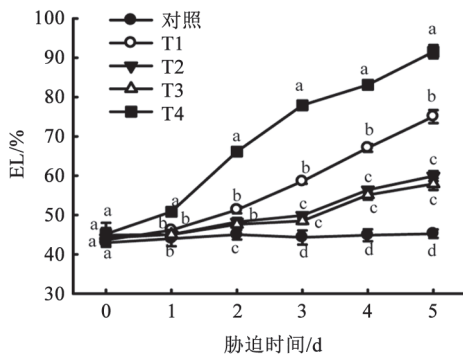


图1 土壤湿度对低温下黄瓜幼苗EL的影响  
Fig.1 Effect of soil moisture on EL of cucumber seedlings under chilling stress

图中数据为3次重复的平均值±标准偏差, 相同胁迫时间下不同小写字母表示处理间差异显著( $P<0.05$ )。图2~5同。

## 2 土壤湿度对低温下黄瓜幼苗气体交换参数的影响

从图2看出, 低温下各处理黄瓜幼苗叶片的 $P_n$ 、 $G_s$ 和 $T_r$ 的变化趋势相似, 均随胁迫时间的延长而降低, 降低幅度以T4最大, T2和T3最小。胁迫结束时, T1、T2、T3和T4的 $P_n$ 分别比胁迫前降低了58.6%、30.8%、28.4%和74.6%;  $G_s$ 分别降低了64.2%、43.2%、47.7%和65.9%;  $T_r$ 分别降低了64.4%、40.2%、43.3%和75.0%。 $C_i$ 的变化与 $P_n$ 相反, 即随着胁迫时间的延长而升高, T2和T3的升高幅度明显低于T1和T4, 且T1和T4差异不显著, 表明低温下黄瓜 $P_n$ 降低的主要原因为非气孔限制; 适度控湿有利于叶肉细胞维持较高的光合活性, 对缓解低温对黄瓜光合功能的影响发挥积极作用。

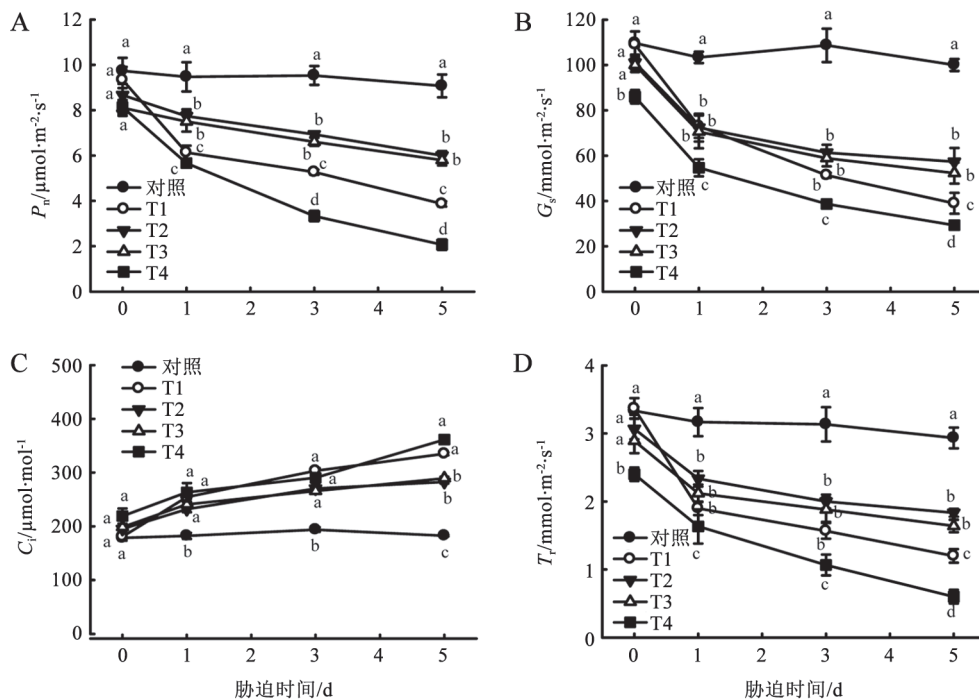


图2 土壤湿度对低温下黄瓜气体交换参数的影响

Fig.2 Effect of soil moisture on gas exchange parameters of cucumber seedlings under chilling stress

## 3 土壤湿度对低温下黄瓜幼苗RuBisCO与RCA活性的影响

RuBisCO和RCA是卡尔文循环的关键酶。由图3可看出, 低温胁迫前T4的RuBisCO和RCA活性显著低于对照, 其他处理与对照差异不显著。胁迫3 d后, 各处理的RuBisCO和RCA活性均有所下降, 但T1和T4的下降幅度显著大于T2和T3, 说明低温下适当控湿可使黄瓜幼苗维持较高的光合酶活

性, 这可能是其耐冷性增强的重要机制。

## 4 土壤湿度对低温下黄瓜幼苗荧光参数的影响

在 $600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 作用光下, 各处理 $\Phi_{\text{PSII}}$ 均随着胁迫时间的延长而降低(图4-A), 胁迫结束时, T1、T2、T3和T4的 $\Phi_{\text{PSII}}$ 分别比对照低82.8%、35.6%、33.0%和63.2%。从图4-B看出, 低温胁迫1 d时, T1的 $F_v/F_m$ 显著降低, 其他处理变化不大; 之后各处理 $F_v/F_m$ 均逐渐降低, 但降低幅度以T1最大, T4

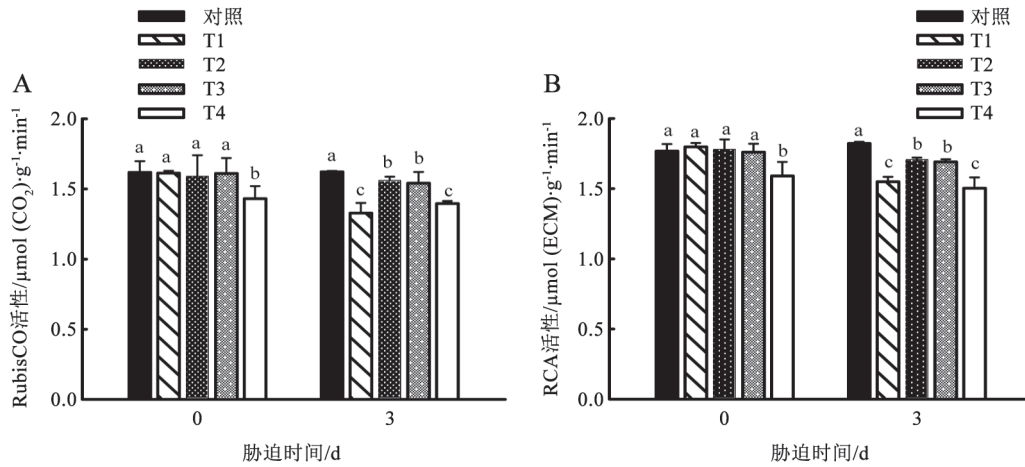


图3 土壤湿度对低温下黄瓜RuBisCO (A)与RCA (B)活性的影响

Fig.3 Effect of soil moisture on RuBisCO (A) and RCA (B) activities in cucumber seedlings under chilling stress

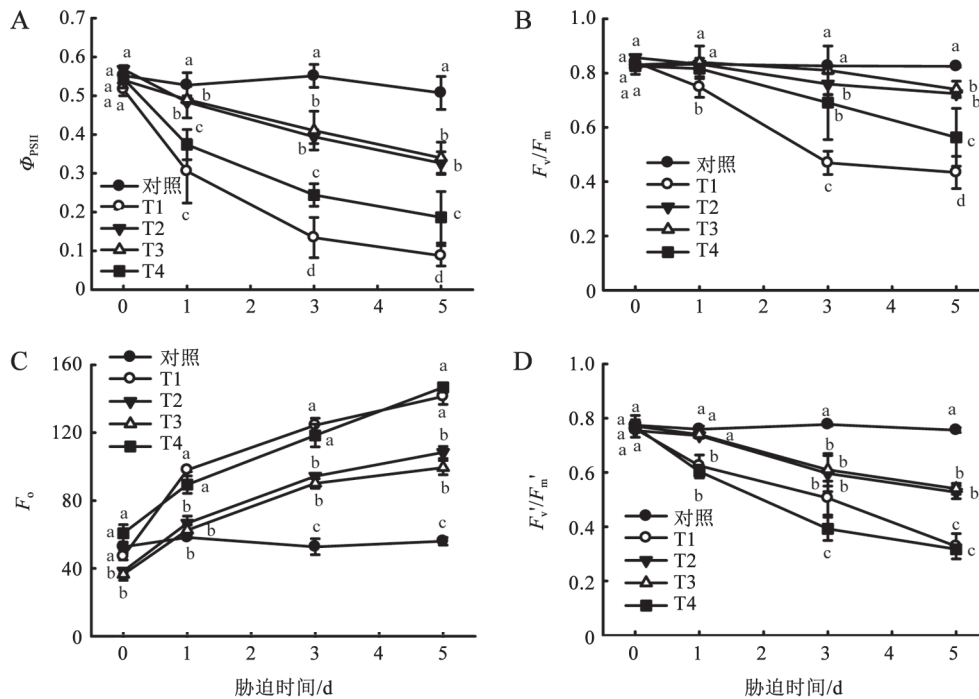


图4 土壤湿度对低温下黄瓜荧光参数的影响

Fig.4 Effect of soil moisture on the fluorescence parameters of cucumber seedlings under chilling stress

其次, T2和T3最小。胁迫结束时, T1、T2、T3和T4的 $F_v/F_m$ 分别比对照低47.4%、12.2%、10.3%和31.7%。图4-C显示, 低温胁迫前T4的 $F_0$ 略高于对照, 而T2和T3稍低于对照。低温胁迫后各处理 $F_0$ 趋于升高, T1和T4的升高幅度显著大于T2和T3。 $F_v'/F_m'$ 是光下最大天线转化效率, 反映天线色素捕光效率。从图4-D看出, 低温下 $F_v'/F_m'$ 的变化趋势

与 $F_v/F_m$ 相似, 即随着胁迫时间的延长而降低。各处理相比, T1和T4的降低幅度较大, 而T2和T3降低幅度较小。胁迫结束时, T1、T2、T3和T4的 $F_v'/F_m'$ 分别比对照低56.6%、30.3%、28.6%和58.0%。

### 5 土壤湿度对低温下黄瓜幼苗MDA含量及抗氧化酶活性的影响

MDA是脂质过氧化的主要产物之一, 其含量

高低可以反映植物膜系统的受伤程度。从图5-A看出, 低温胁迫前T2、T3和T4的MDA含量略高于对照; 胁迫后各处理均逐渐增加, 但T1和T4的增加幅度显著大于T2和T3。胁迫结束时, T1和T4的MDA含量分别比对照高122.4%和230.4%, 而T2和T3比对照高65.3%和69.3%。

低温胁迫前T2、T3和T4的SOD、POD、CAT、APX和GR活性均高于对照(图5), 说明土壤湿度降低时黄瓜幼苗会启动防御机制以减轻逆境伤害。低温胁迫1 d时各处理的SOD活性明显升高, 之后快速下降, T2和T3始终显著高于对照, 而T1和T4胁迫初期高于对照, 3 d后逐渐与对照接近, 胁迫结束时略低于对照。胁迫期内T1、T2和T3的POD

活性逐渐升高, 而T4先升高, 后下降。胁迫结束时, T1、T2、T3和T4的POD活性分别比对照高45.6%、122.6%、103.8%和27.4%。图5表明, 低温胁迫初期T2和T3的CAT活性较明显升高, 1 d后逐渐降低, 但始终高于对照; T1和T4的CAT活性逐渐降低, 初期T4高于对照, T1与对照差异不显著; 1~3 d后二者均明显低于对照。低温胁迫1 d时, T2、T3和T4的APX活性明显升高, 之后逐渐降低, 升降幅度以T4最大, T1的APX活性缓慢降低, 胁迫前期与对照差异不大, 但后期明显低于对照。胁迫结束时, T2、T3和T4的APX活性分别比对照高36.8%、40.7%和14.5%, 而T1比对照低14.4%。低温下各处理黄瓜幼苗的GR活性与APX的变化趋势相似, 胁

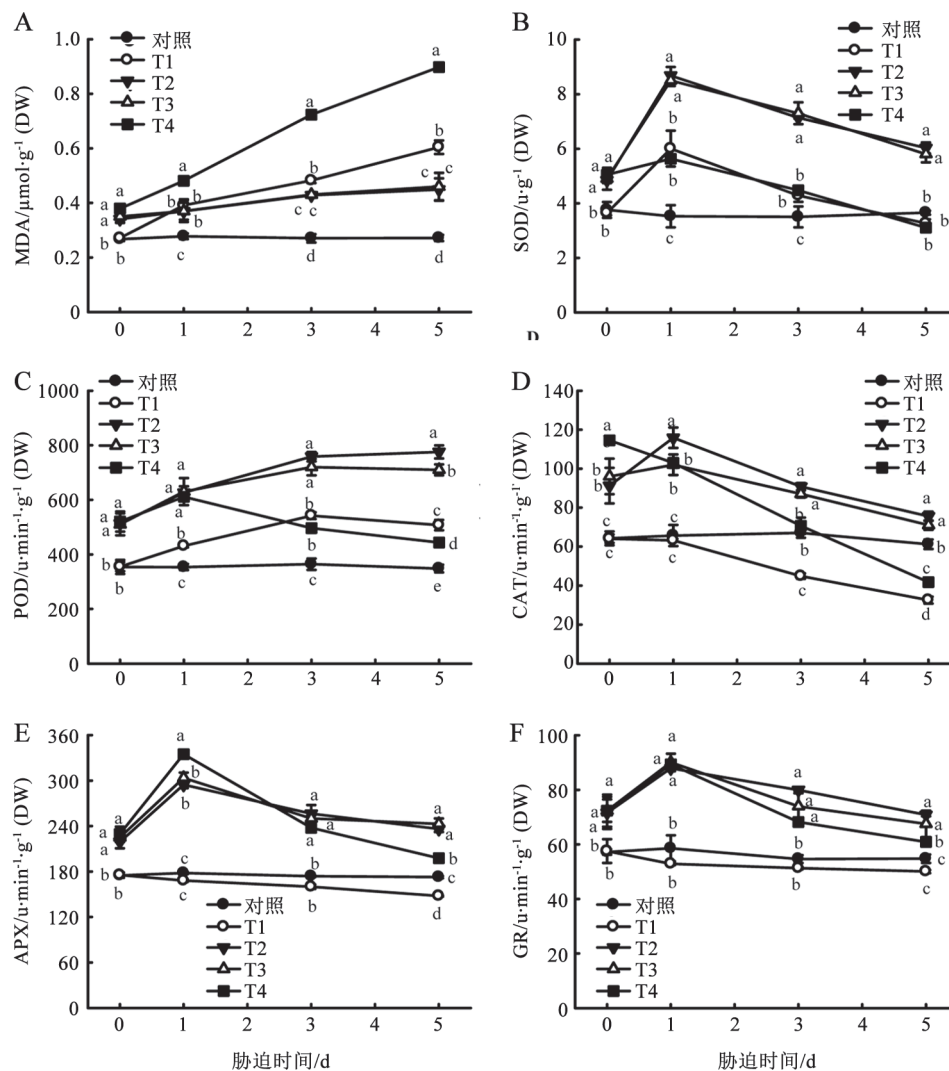


图5 土壤湿度对低温下黄瓜幼苗MDA含量(A)与抗氧化酶活性(B~F)的影响

Fig.5 Effect of soil moisture on MDA content (A) and antioxidant enzyme activities (B~F) of cucumber seedlings under chilling stress

迫5 d时, T1的GR活性比对照低9.1%, T2、T3和T4分别比对照高29.3%、23.3%和11.3%。可见, 适当控水可通过提高黄瓜幼苗的抗氧化酶活性增强活性氧清除能力, 从而减轻低温引起的膜脂过氧化伤害, 这可能是其耐冷性增强的重要机理之一。

## 讨 论

一般认为, 常温下最适于黄瓜幼苗生长的土壤湿度为80%~90%, 然而本试验结果表明, 低温下T2和T3的冷害指数和EL均明显低于T1, 说明适当降低土壤湿度(60%~80%)可以提高黄瓜幼苗的耐冷性, 这对日光温室冬春季黄瓜安全生产具有重要意义。T4的冷害指数小于T1或与T1差异不显著, 但其EL明显高于T1, 表明土壤湿度低于60%时干旱胁迫是引起黄瓜幼苗EL升高、电解质外渗的主要原因。

逆境限制植物光合作用的因素有气孔限制和非气孔限制2类(Farquhar和Sharkey1982)。刘伟等(2009)已经证实, 低温下植物 $P_n$ 降低的主要原因是非气孔限制。本试验中黄瓜幼苗的 $P_n$ 和 $G_s$ 均随着低温胁迫时间的延长而降低, 而 $C_i$ 则随着胁迫时间的延长而增加, 光合关键酶RuBisCO和RCA活性明显降低, 可见, 低温阻碍了叶肉细胞对 $CO_2$ 的利用, 降低了光合碳同化, 这与前文研究结果一致。叶绿素荧光参数可以反映植物叶片对光能的吸收和利用情况(Demming-Adams和Adams1996)。本研究结果显示, 低温胁迫下黄瓜叶片的 $\Phi_{PSII}$ 、 $F_v/F_m$ 和 $F_v'/F_m'$ 逐渐降低,  $F_o$ 明显升高, 表明低温使黄瓜幼苗的天线色素捕光效率及光能转换效率降低, 过剩激发能增加, 从而引起低温光抑制, 光合机构受到伤害。各处理相比, T2和T3的 $P_n$ 、 $G_s$ 、 $T_r$ 、RuBisCO和RCA活性以及 $\Phi_{PSII}$ 、 $F_v/F_m$ 和 $F_v'/F_m'$ 的降低幅度还有 $C_i$ 和 $F_o$ 的升高幅度显著小于T1, 而T4明显大于T1, 说明土壤湿度影响了黄瓜幼苗的光合适应性, 减轻了低温对光合机构的伤害, 维持叶肉细胞较高的光合活性、电子传递速率和光能利用效率是T2和T3光合适应性增强的重要机制, 但土壤湿度过低(<60%)时, 干旱和低温有交互效应, 会加重光合机构的受伤程度。

低温首先引起植物细胞膜透性增大, 胞内电解质外渗, 出现膜脂过氧化, MDA含量升高。图5

表明, 低温下T2和T3的MDA含量最低, 而T4最高, 进一步证实了适当控湿可减轻低温下黄瓜幼苗的膜脂过氧化, 增强其对低温的耐受性。低温不仅会提高细胞活性氧水平, 同时也可诱发植物防御体系的建立, 从而避免或减轻活性氧对植物的伤害(罗娅等2007)。抗氧化酶是植物主要的防御系统, 而SOD、POD、CAT、APX和GR等被认为是清除活性氧过程中最主要的抗氧化酶类(孙学成等2006)。一般认为, SOD是植物抗氧化系统的第1道防线, 它可以使Mehler反应中产生的活性氧转化成 $H_2O_2$ , 然后通过POD和CAT等将 $H_2O_2$ 转化为 $H_2O$ 和 $O_2$ , 从而有效地阻止 $O_2^-$ 和 $H_2O_2$ 相互作用对细胞膜产生更大的伤害(Kornyeyev等2001)。APX和GR是植物抗坏血酸-谷胱甘肽循环中的关键酶, 能够直接清除 $H_2O_2$ , 抑制 $O_2^-$ 形成, 从而减少自由基积累(陈华新等2003)。Kornyeyev等(2001)研究表明, 过量表达SOD、APX和GR基因可以提高棉花叶片的光能利用效率, 维持较高的电子传递速率, 减轻冷诱导的PSII光抑制。本研究结果表明, 低温胁迫初期, 除T4的CAT活性快速降低外, 其他处理的抗氧化酶活性均呈升高趋势, 这可能是黄瓜对低温逆境的应激反应, 即通过调节抗氧化酶活性来适应逆境并再次建立活性氧产生与清除的平衡关系。但胁迫时间超过1~3 d后, 各种抗氧化酶活性多随胁迫时间的延长而降低, 说明此时抗氧化酶受抑程度超出黄瓜自身的防御能力, 因此酶活性降低, 膜脂过氧化程度加重(王洪涛等2010)。各处理相比, 低温下T2和T3的SOD、POD、CAT、APX和GR活性较高, 而T1和T4的较低, 表明适当控湿可通过提高抗氧化酶活性增强细胞对活性氧的清除能力, 这可能是其减轻低温对黄瓜幼苗光合机构伤害、增强耐冷性的重要机理之一。

## 参考文献

- 陈华新, 李卫军, 安沙舟, 高辉远(2003). 钙对NaCl胁迫下杂交酸模(*Rumex K-1*)幼苗叶片光抑制的减轻作用. 植物生理与分子生物学学报, 29 (5):449~454
- 董绪兵, 毕焕改, 刘业霞, 于军辉, 艾希珍(2011). 黄瓜幼苗干旱-低温交叉适应与渗透调节的关系. 中国农业科学, 44 (2): 335~340
- 李合生, 孙群, 赵世杰, 章文华(2006). 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社
- 刘海霞, 王利军, 李绍华, 李晓燕(2007). 温度逆境交叉适应对葡

- 萄叶绿素荧光特性的影响. 内蒙古农业大学学报, 28 (4): 131~136
- 刘伟, 艾希珍, 梁文娟, 王洪涛, 刘升学, 郑楠(2009). 低温弱光下水杨酸对黄瓜幼苗光合作用及抗氧化酶活性的影响. 应用生态学报, 20 (2): 441~445
- 罗娅, 汤浩茹, 张勇(2007). 低温胁迫对草莓叶片SOD和AsA-GSH循环酶系统的影响. 园艺学报, 34 (6): 1405~1410
- 孙学成, 谭启玲, 胡承孝, 甘巧巧, 易长城(2006). 低温胁迫下钼对冬小麦抗氧化酶活性的影响. 中国农业科学, 39 (5): 952~959
- 王洪涛, 艾希珍, 郑楠, 姜飞, 李清明(2010). 嫁接对低温弱光下辣椒幼苗膜脂过氧化及抗氧化酶活性的影响. 应用生态学报, 21 (5): 1289~1294
- 肖文静, 孙建磊, 王绍辉, 孙惠慧, 王虹云, 睦晓蕾, 张振贤(2010). 适度水分胁迫提高黄瓜幼苗光合作用弱光适应性. 园艺学报, 37 (9): 1439~1448
- 于贤昌, 邢禹贤, 马红, 魏珉(1998). 不同砧木与接穗对黄瓜嫁接苗抗冷性的影响. 中国农业科学, 31 (2): 36~40
- 曾韶西, 李美茹(1999). 冷和盐预处理提高水稻幼苗抗寒性期间细胞Ca<sup>2+</sup>-ATP酶活性的变化. 植物学报, 41 (2): 156~160
- 张俊环, 黄卫东(2007). 葡萄幼苗在温度逆境交叉适应过程中活性氧及抗氧化酶的变化. 园艺学报, 34 (5): 1073~1080
- 张俊环, 张国强, 刘悦萍, 黄卫东(2006). 温度逆境交叉适应过程中葡萄幼苗质膜Ca<sup>2+</sup>-ATPase的细胞化学定位与活性变化. 中国农业科学, 39 (8): 1617~1625
- 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会(1999). 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社
- Chance B, Maehly AC (1995). Assay of catalases and peroxidases. *Methods Enzymol*, 2: 764~775
- Demming-Adams B, Adams WW (1996). Xanthophyll cycle and light stress in nature: uniform response to excess direct sunlight among higher plant species. *Planta*, 198: 460~470
- Dong X, Bi H, Wu G, Ai X (2013). Drought-induced chilling tolerance in cucumber involves membrane stabilisation improved by antioxidant system. *Int J Plant Prod*, 7(1): 67~79
- Farquhar GD, Sharkey TD (1982). Stomatal conductance and photosynthesis. *Annu Rev Plant Physiol*, 33: 317~345
- Foyer CH, Halliwell B (1976). The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta*, 133 (1): 21~25
- Gong M, Chen B, Li ZG, Guo LH (2001). Heat-shock-induced cross adaptation to heat, chilling, drought and salt stress in maize seedlings and involvement of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *J Plant Physiol*, 158 (9): 1125~1130
- Javier PJ, José IJ, Manuel SD (1997). Chilling of drought-hardened and non-hardened plants of different chilling-sensitive maize lines. Changes in water relations and ABA contents. *Plant Sci*, 122 (1): 71~79
- Kornyeyev D, Logan BA, Payton P, Allen RD, Holaday AS (2001). Enhanced photochemical light utilization and decreased chilling-induced photoinhibition of photosystem II in cotton over-expressing genes encoding chloroplast-targeted antioxidant enzymes. *Physiol Plantarum*, 113: 323~331
- Lu C, Zhang J (1998). Thermostability of photosystem II is increased in salt-stressed sorghum. *Aust J Plant Physiol*, 25 (3): 317~324
- Nakano Y, Asada K (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol*, 22 (5): 867~880
- Omran RG (1980). Peroxide levels and the activities of catalase, peroxidase, and indoleacetic acid oxidase during and after chilling cucumber seedlings. *Plant Physiol*, 65 (2): 407~408
- Zang JH, Huang WD, Liu YP, Pan QH (2005). Effects of temperature acclimation pretreatment on the ultrastructure of mesophyll cells in young grape plants (*Vitis vinifera* L. cv. Jingxiu) under cross-temperature stresses. *J Integr Plant Biol*, 47 (8): 959~970