

外源亚精胺对低温胁迫下甜瓜幼苗生长和抗氧化系统的影响

张永平, 许爽, 杨少军, 陆世钧, 陈幼源*

上海市农业科学院园艺研究所, 上海市设施园艺技术重点实验室, 上海201403

摘要: 以甜瓜(*Cumumis melo*)品种‘GL-1’为试验材料, 在人工气候箱内采用基质栽培方式, 研究了0.1~2 mmol·L⁻¹的外源亚精胺(spermidine, Spd)对低温胁迫[昼(12±1)°C/夜(6±1)°C]及恢复下甜瓜幼苗生长和活性氧代谢系统的影响, 以探讨外源Spd调控低温胁迫对甜瓜幼苗伤害的可行性。结果显示: 低温胁迫能显著影响甜瓜幼苗的生长和活性氧代谢系统的相关指标。适宜浓度的外源Spd能不同程度缓解甜瓜幼苗所受低温胁迫伤害, 并以1 mmol·L⁻¹ Spd处理效果最好, 其显著促进了幼苗生长, 提高了超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)、谷胱甘肽还原酶(GR)等抗氧化酶活性, 同时也提高了还原型抗坏血酸(AsA)、还原型谷胱甘肽(GSH)、可溶性蛋白和脯氨酸含量, 降低了过氧化氢(H₂O₂)和丙二醛(MDA)的积累及超氧阴离子(O₂⁻)产生速率。研究表明, 外源Spd缓解甜瓜幼苗低温胁迫伤害具有剂量效应, 以1 mmol·L⁻¹ Spd效果最好。低温胁迫下, 外源Spd处理可增强甜瓜幼苗抗氧化酶活性, 提高抗氧化剂含量, 维持AsA-GSH循环系统的稳定性, 降低H₂O₂和MDA的积累及O₂⁻产生速率, 从而减轻活性氧对甜瓜幼苗的伤害, 保护细胞膜结构的稳定性, 增强抗低温能力。

关键词: 外源亚精胺; 甜瓜; 低温胁迫; 植株生长; 抗氧化性

甜瓜为喜温耐热作物, 生育期适温为25~35°C, 幼苗期适温为20~25°C, 10°C以下停止生长, 7.4°C以下发生冷害(刘鸿先等1981; 吕星光等2016)。在甜瓜栽培过程中, 尤其是早春栽培中, 经常遇到低温危害, 低温已经成为许多喜温植物生长发育、生存和作物产量的一个重要限制因素, 对植物最直接的影响就是使植株生长受到抑制(吴雪霞等2016; 胡俊杰等2011), 活性氧会大量产生, 引起膜脂过氧化, 对植物产生氧化伤害, 甚至导致植株死亡(Liu等2009; 惠竹梅等2013); 耐低温性强的品种通过提高自身的抗氧化活性以抵御低温胁迫对其伤害。外源物质的应用是提高低温胁迫作物抗性的主要途径之一。多胺是广泛存在于植物体内的一类低分子含氮碱, 是一种重要的植物生长调节物质。近年来, 随着转基因等分子生物学手段的应用, 人们认识到多胺在植物体内信号传递中起第二信使的作用, 能促进植物生长发育, 延迟衰老, 与植物生存密切相关(Imai等2004; 杜长霞等2007); 主要有腐胺(putrescine, Put)、亚精胺(spermidine, Spd)和精胺(spermine, Spm)。其中, Spd由于其多价阳离子特性, 生理功能更强, 与植物抗逆境胁迫关系密切, 在植物抗逆过程中不仅可直接作为胁迫保护物质, 而且还在胁迫信号转导中作为信号分子, 促进胁迫抗性机制的构建(Ding等2010; 萨日娜等2013)。研究发现, 外施一定浓度的Spd能减轻淹涝胁迫对玉米(*Zea mays*)根系质膜的伤害, 促进玉米幼苗的生长(尤东玲等2016); 提高黄瓜(*Cucumis sativus*) (李斌

等2012)和番茄(*Solanum lycopersicum*) (胡晓辉等2009)抗氧化酶活性, 维持光合机构的稳定性, 缓解盐胁迫对植株的伤害; 降低高温胁迫下生姜(*Zingiber officinale*)叶片损伤程度, 维护叶绿体的正常生理功能, 维持内源激素的正常代谢, 进而提高植株的耐热性(李秀等2015); 甜瓜幼苗可以通过Spd的快速积累及代谢产生的过氧化氢(H₂O₂)来启动相应机制, 进而通过增强防御酶活性等途径来提高对白粉病的抗性(刘长命等2016)。大量研究表明, 外源Spd在作物抗逆方面发挥重要作用, 但有关Spd对低温胁迫下甜瓜幼苗的生理生化代谢调控的研究鲜有报道。本试验以甜瓜‘GL-1’为材料, 研究叶面喷施Spd对低温胁迫下甜瓜幼苗生长、叶片抗氧化酶活性、抗氧化物质含量、质膜透性等的影响, 探究外源物质缓解甜瓜低温胁迫的适宜浓度及其生理机制, 以期减轻低温胁迫对植物生长的抑制作用提供理论依据。

材料与方法

1 试材培育

供试的甜瓜(*Cumumis melo* L.)品种为‘GL-1’, 种子由上海市农业科学院设施园艺研究所提供, 试验在上海市农业科学院设施园艺研究所进行。

收稿 2017-02-20 修定 2017-03-24

资助 上海市瓜果产业技术体系(沪农科产字[2017]第1号)和上海市科委重点攻关项目(14391900900)。

* 通讯作者(E-mail: yy12@saas.sh.cn)。

2015年11月15日将饱满、整齐一致的种子浸种催芽,出芽后播于10 cm×10 cm的塑料营养钵中,以蛭石作基质,然后放置于光照培养箱中进行幼苗培养,温度设置为昼(28±1)°C/夜(22±1)°C,光照12 h,光照强度为400 μmol·m⁻²·s⁻¹左右。

2 试验处理

2015年12月1日,当幼苗长到3~4片真叶时,选取生长一致的幼苗作如下处理:浓度分别为0、0.1、0.5、1和2 mmol·L⁻¹的Spd溶液(含1/8浓度日本园试营养液)喷施甜瓜幼苗,每株50 mL,连续2 d,以便甜瓜幼苗充分吸收Spd。2 d后将处理的幼苗进行低温胁迫[浇灌Spd浓度为0、不进行低温胁迫为对照(CK)],温度为昼(12±1)°C/夜(6±1)°C。低温处理与对照培养箱除温度不同外,光照和湿度状况均一致。低温培养7 d后温度调为昼(28±1)°C/夜(22±1)°C,进行7 d恢复处理。每种处理50株,3次重复,处理7 d和恢复7 d分别进行各项指标的测定。

Spd购买于上海源叶生物有限公司,用蒸馏水配制1 000 mmol·L⁻¹的母液,4°C保存,用时按试验所需浓度进行稀释。

3 测定项目与方法

3.1 生长量测定

用直尺测量幼苗株高(子叶节至生长点)。利用游标卡尺测量茎粗,即子叶展开方向的子叶节的直径。用去离子水冲洗植株并吸干水分,称地上鲜重。

3.2 生理生化特性测定

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性采用核黄素-四唑氮蓝法测定,过氧化物酶(peroxidase, POD)活性采用愈创木酚显色法测定,过氧化氢酶(catalase, CAT)活性采用Dhindsa等(1981)的方法测定,抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate

peroxidase, APX)活性测定参照李合生等(2000)的方法,谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)和脱氢抗坏血酸还原酶(dehydroascorbic acid reductase, DHAR)活性测定参照郭欣欣等(2015)的方法。

还原型抗坏血酸(reductive-form abscisic acid, AsA)含量的测定参考Law等(1983)的方法,总抗坏血酸[AsA+脱氢抗坏血酸(dehydroascorbic acid, DHA)]含量通过被二硫苏糖醇还原后的AsA测定,DHA含量=总抗坏血酸含量-AsA含量;还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)和氧化型谷胱甘肽(oxidized glutathione, GSSG)含量参照Jiang等(2001)的方法。

可溶性蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝G250法(李合生2000),脯氨酸含量的测定采用酸性茚三酮比色法(张殿忠等1990),丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量的测定采用硫代巴比妥酸法(Heath and Packer 1968),超氧阴离子(O₂⁻)产生速率的测定参照王爱国和罗广华(1990)的方法,H₂O₂按照郭欣欣等(2015)的方法。

4 统计分析

每个指标测定重复3次,取平均值。数据采用Origin软件绘图,用SPSS统计软件对平均数用Duncan's新复极差法进行多重比较。

实验结果

1 外源Spd对低温胁迫下甜瓜幼苗生长的影响

如表1所示,低温胁迫及常温恢复时,甜瓜幼苗株高和地上鲜重均显著低于CK,株高分别下降了31%和32.93%,地上鲜重分别下降了30.2%和31.25%,茎粗与CK相比低温胁迫7 d时差异不显著,常温恢复后差异显著。各浓度Spd处理均使幼苗

表1 Spd对低温胁迫下甜瓜幼苗生长的影响

Table 1 Effect of Spd on the growth of melon seedlings under low temperature

Spd浓度/mmol·L ⁻¹	株高/cm		茎粗/mm		地上鲜重/g	
	处理7 d	恢复7 d	处理7 d	恢复7 d	处理7 d	恢复7 d
CK	7.63±0.38 ^{ab}	8.30±0.75 ^a	2.64±0.21 ^{ab}	2.71±0.10 ^a	2.21±0.10 ^{cd}	2.94±0.24 ^a
0	5.27±0.32 ^e	5.57±0.15 ^{fg}	2.43±0.24 ^b	2.47±0.04 ^b	1.54±0.13 ^e	2.02±0.08 ^{de}
0.1	6.13±0.46 ^{ef}	6.73±0.15 ^{cde}	2.44±0.06 ^b	2.51±0.04 ^{ab}	1.60±0.12 ^e	2.11±0.08 ^{cd}
0.5	6.77±0.29 ^{cde}	6.93±0.57 ^{bcd}	2.49±0.05 ^{ab}	2.59±0.07 ^{ab}	1.86±0.07 ^{ef}	2.31±0.07 ^{bc}
1	7.17±0.25 ^{bc}	7.57±0.47 ^b	2.61±0.15 ^{ab}	2.64±0.06 ^{ab}	2.01±0.03 ^b	2.45±0.12 ^b
2	6.27±0.29 ^{def}	6.33±0.21 ^{de}	2.42±0.05 ^b	2.51±0.08 ^{ab}	1.69±0.05 ^{fg}	2.18±0.09 ^{cd}

同一检测指标的数据用不同小写字母标识表示差异显著($P<0.05$)。

在低温胁迫下及常温恢复后的生长量增加, 但不同浓度Spd处理对甜瓜幼苗生长量积累的影响存在差异, 与单独低温胁迫相比, 0.1和2 mmol·L⁻¹ Spd处理的地上鲜重和茎粗差异不显著, 1.0 mmol·L⁻¹处理的生物量增加最大, 株高分别提高了36.08%和35.93%, 茎粗分别提高了6.98%和6.46%, 地上鲜重分别提高了30.61%和21.15%。由此可见, 低温

胁迫处理显著抑制了甜瓜幼苗的生长, 外源Spd能有效缓解低温胁迫对甜瓜幼苗生长的抑制作用, 且具有剂量效应, 以1 mmol·L⁻¹ Spd处理效果最好, 但仍未能恢复到CK水平。

2 外源Spd对低温胁迫下甜瓜幼苗抗氧化酶活性的影响

由图1可知, 与CK相比, 低温胁迫7 d时, 甜瓜

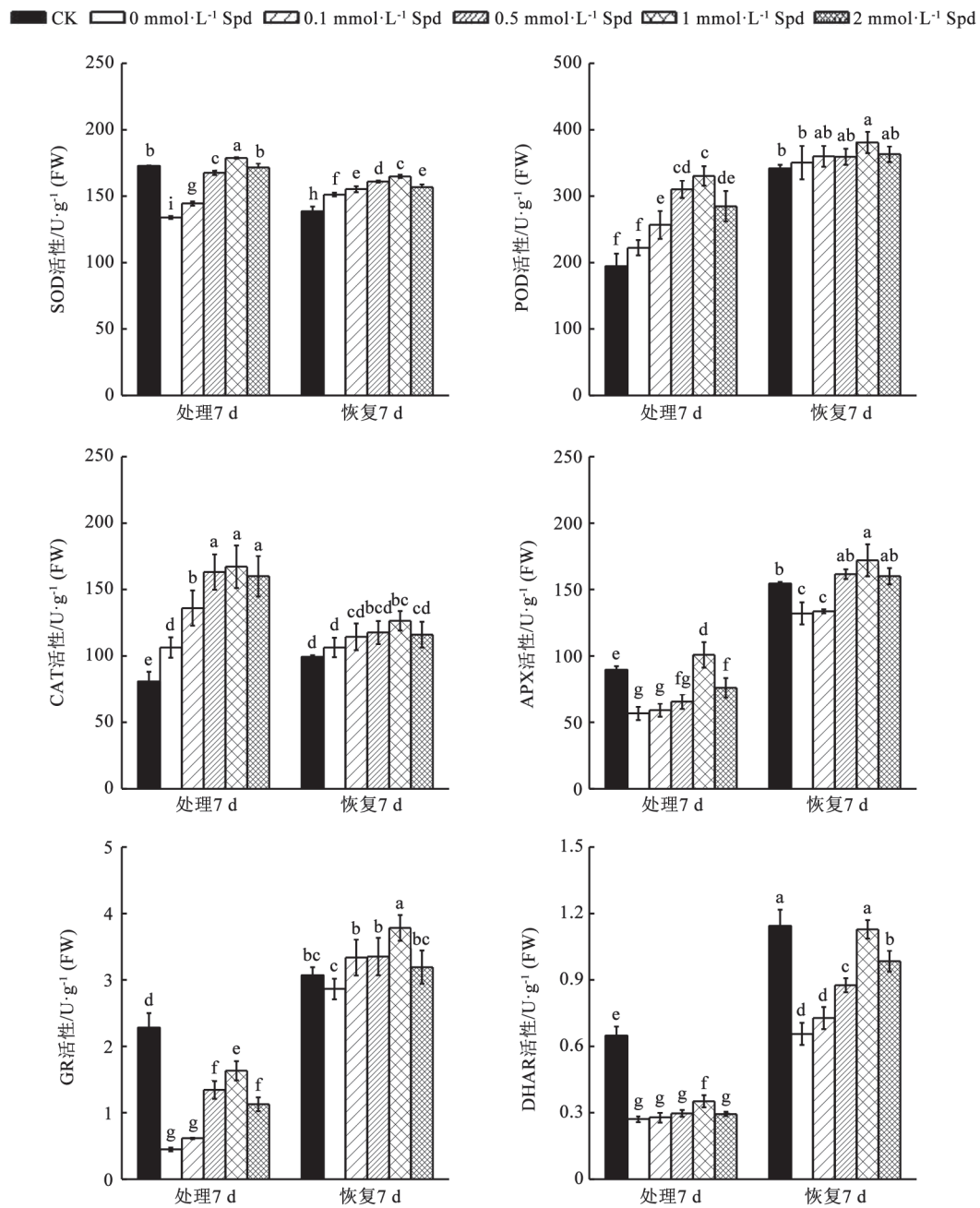


图1 外源Spd对低温胁迫下甜瓜幼苗抗氧化酶活性的影响

Fig.1 Effect of exogenous Spd on antioxidant enzyme activities of melon seedlings under low temperature stress

同一检测指标各柱形上用不同小写字母标识表示差异显著($P < 0.05$), 下同。

幼苗叶片SOD、APX、GR和DHAR活性显著下降,分别降低了22.38%、36.61%、80.35%和58.02%;CAT和POD活性升高,分别上升了31.68%和14.40%。不同浓度Spd处理下,甜瓜幼苗叶片的抗氧化酶活性均增大,SOD活性随着Spd浓度的增加表现出先增加后降低的趋势,在Spd浓度为1 mmol·L⁻¹时活性达最大值,比单独低温胁迫时增加了33.37%,且不同浓度处理间差异显著。POD活性随着Spd浓度的增加而升高,在Spd浓度为0.5~1 mmol·L⁻¹时达最大,增幅为39.57%~48.56%,显著高于单独低温胁迫,当Spd浓度为2 mmol·L⁻¹时,POD活性下降,CAT活性表现趋势与POD基本一致,0.5、1和2 mmol·L⁻¹ Spd浓度的处理间差异不显著。喷施0.1~0.5 mmol·L⁻¹ Spd后,甜瓜幼苗叶片APX和DHAR活性变化不显著,随着Spd浓度的增加,APX和DHAR活性呈先增加后降低的趋势,在Spd浓度为1 mmol·L⁻¹时达最大值,比单独低温胁迫7 d时增加77.46%和29.41%。GR活性随着Spd浓度的增加而升高,与单独低温胁迫7 d相比,浓度

为0.1 mmol·L⁻¹处理的差异不显著,Spd浓度为1 mmol·L⁻¹时达最大值,升高了2.64倍。恢复7 d后,抗氧化酶活性变化规律与低温胁迫7 d相似(SOD活性除外),1 mmol·L⁻¹ Spd处理的甜瓜幼苗叶片抗氧化酶活性最大,且与CK相比显著增加(DHAR活性除外),其他浓度处理的POD、CAT和GR活性差异不显著,低浓度(0.1 mmol·L⁻¹) Spd处理与单独低温胁迫相比,APX和DHAR活性差异不显著。表明低温胁迫下喷施不同浓度的Spd可增强甜瓜幼苗抗氧化酶的活性,其中1 mmol·L⁻¹ Spd能显著增强甜瓜幼苗抗氧化酶的活性,减轻低温对甜瓜幼苗的伤害。

3 外源Spd对低温胁迫下甜瓜幼苗AsA循环的影响

图2表明,低温胁迫7d时,甜瓜幼苗叶片中ASA、ASA+DHA含量及ASA/DHA比值较CK显著降低,分别降低了75.42%、23.3%和85.03%;DHA显著升高,增加了63.93%。与单独低温胁迫相比,不同浓度Spd处理下,甜瓜幼苗叶片的ASA、ASA+DHA含量及ASA/DHA比值显著增加,且随着

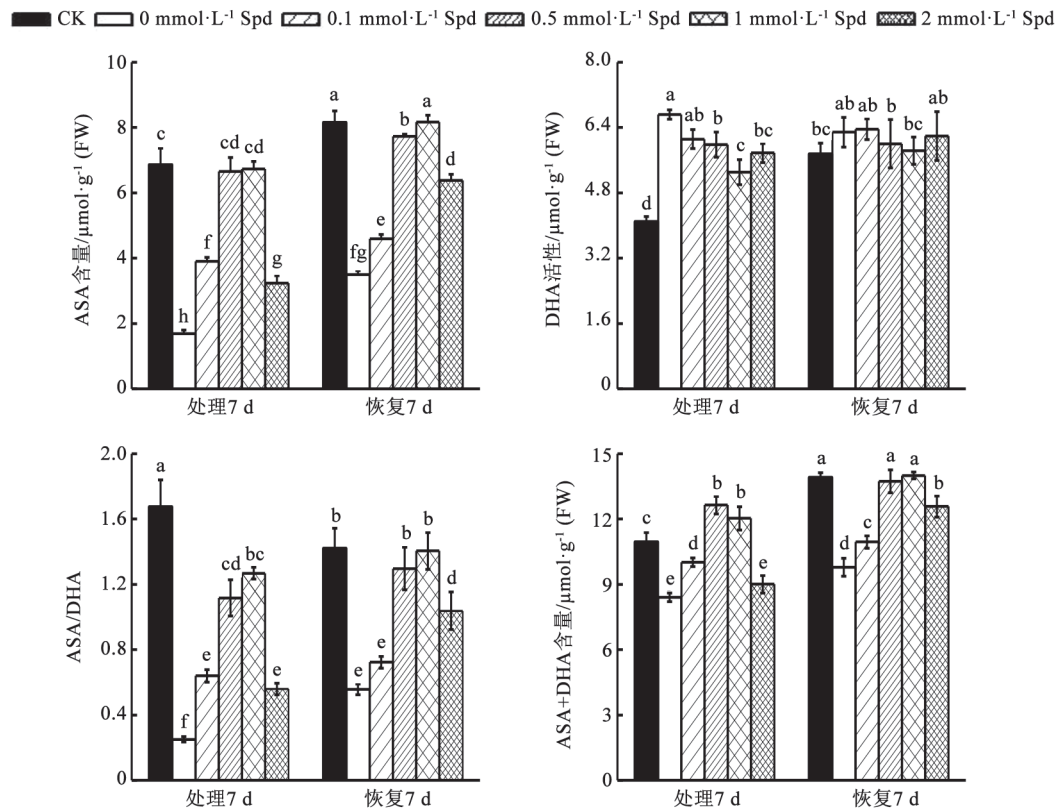


图2 外源Spd对低温胁迫下甜瓜幼苗AsA循环的影响

Fig.2 Effect of exogenous Spd on AsA cycle of melon seedlings under low temperature stress

Spd浓度的增加表现出先增加后降低的趋势, 其中Spd浓度为0.5和1 mmol·L⁻¹时, ASA和ASA+DHA差异不显著, ASA/DHA比值在Spd浓度为1 mmol·L⁻¹时达到最大, 比单独低温处理提高4倍多; DHA含量显著下降, Spd浓度为1 mmol·L⁻¹时达到最低, 降低了21%, 其他浓度处理间差异不显著。恢复7 d后, 各值的变化规律与低温胁迫7 d相似, 1 mmol·L⁻¹ Spd处理的甜瓜幼苗叶片ASA、ASA+DHA含量及ASA/DHA比值最大, 与CK相比差异不显著, 与单独低温胁迫处理相比差异显著, DHA含量最低, 但各处理间差异不显著。表明低温胁迫下喷施不同浓度的Spd有利于维护AsA循环系统的稳定性。

4 外源Spd对低温胁迫下甜瓜幼苗GSH循环的影响

图3显示, GSH循环与AsA循环变化规律相似, 与CK相比, 低温胁迫7 d时, 甜瓜幼苗叶片中GSH、GSH+GSSG含量及GSH/GSSG比值显著降低, 分别降低了73.24%、40.73%和85.56%; GSSG含量显著

升高, 增加了84.90%。与单独低温胁迫相比, 不同浓度Spd处理下, 甜瓜幼苗叶片的GSH、GSH+GSSG含量及GSH/GSSG比值显著增加, 且随着Spd浓度的增加表现出先增加后降低的趋势, 其中Spd浓度为1 mmol·L⁻¹时, 达到最大值, 比单独低温胁迫时分别增加了180.51%、48.75%和275.10%, 且不同浓度处理间差异显著。GSSG含量显著下降, Spd浓度为1 mmol·L⁻¹时达到最低, 比单独低温胁迫降低了25.07%, 0.1 mmol·L⁻¹ Spd处理差异不显著。恢复7 d后, 1 mmol·L⁻¹ Spd处理的甜瓜幼苗叶片GSH含量和GSH/GSSG比值与CK相比差异不显著, 与单独低温胁迫处理相比差异显著, GSSG含量最低, GSH+GSSG含量与胁迫7 d时变化规律相反, 低温胁迫恢复后, GSH+GSSG含量比CK显著升高, 不同浓度的Spd显著降低其含量, 但不同浓度之间差异不显著。表明外源Spd可保护低温胁迫下GSH循环系统, 减轻低温胁迫引发的氧化胁迫。

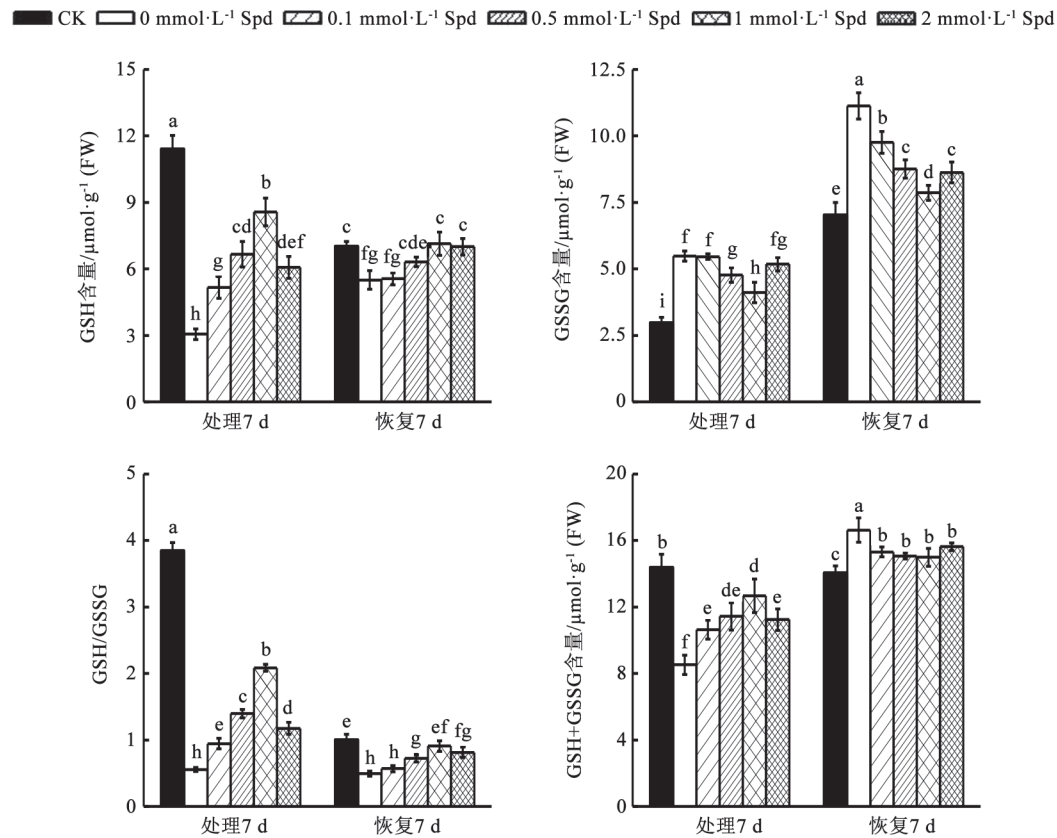


图3 外源Spd对低温胁迫下甜瓜幼苗GSH循环的影响

Fig.3 Effect of exogenous Spd on GSH cycle of melon seedlings under low temperature stress

5 外源Spd对低温胁迫下甜瓜幼苗渗透调节物质含量的影响

图4表明,低温胁迫7 d时,与CK相比,甜瓜幼苗叶片中可溶性蛋白含量显著下降,降低了62.89%,脯氨酸含量显著升高,增加了68.18%。与单独低温胁迫相比,不同浓度Spd处理下,甜瓜幼苗叶片的可溶性蛋白含量(2 mmol·L⁻¹ Spd处理除外)和脯氨酸含量(0.1和2 mmol·L⁻¹ Spd处理除外)显著增加,且随

着Spd浓度的增加表现出先增加后降低的趋势,其中Spd浓度为1 mmol·L⁻¹时达到最大,比单独低温胁迫分别升高322.98%和13.11%。恢复7 d后,各值的变化规律与低温胁迫7 d相似,1 mmol·L⁻¹ Spd处理的甜瓜幼苗叶片可溶性蛋白和脯氨酸含量最大,与单独低温胁迫相比差异显著。表明低温胁迫下喷施不同浓度的Spd有利于渗透调节物质的合成积累,减轻低温对甜瓜幼苗的伤害。

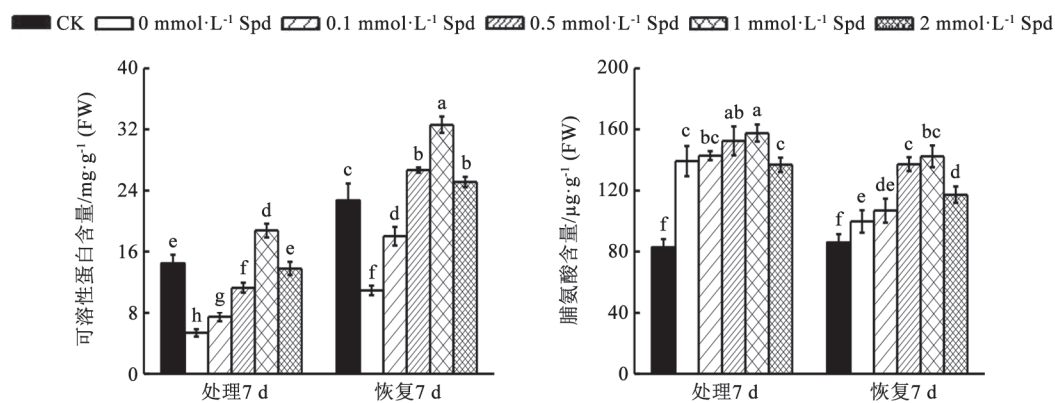


图4 外源Spd对低温胁迫下甜瓜幼苗渗透调节物质含量的影响

Fig.4 Effect of exogenous Spd on osmotic adjustment substances of melon seedlings under low temperature

6 外源Spd对低温胁迫下甜瓜幼苗活性氧和膜脂过氧化的影响

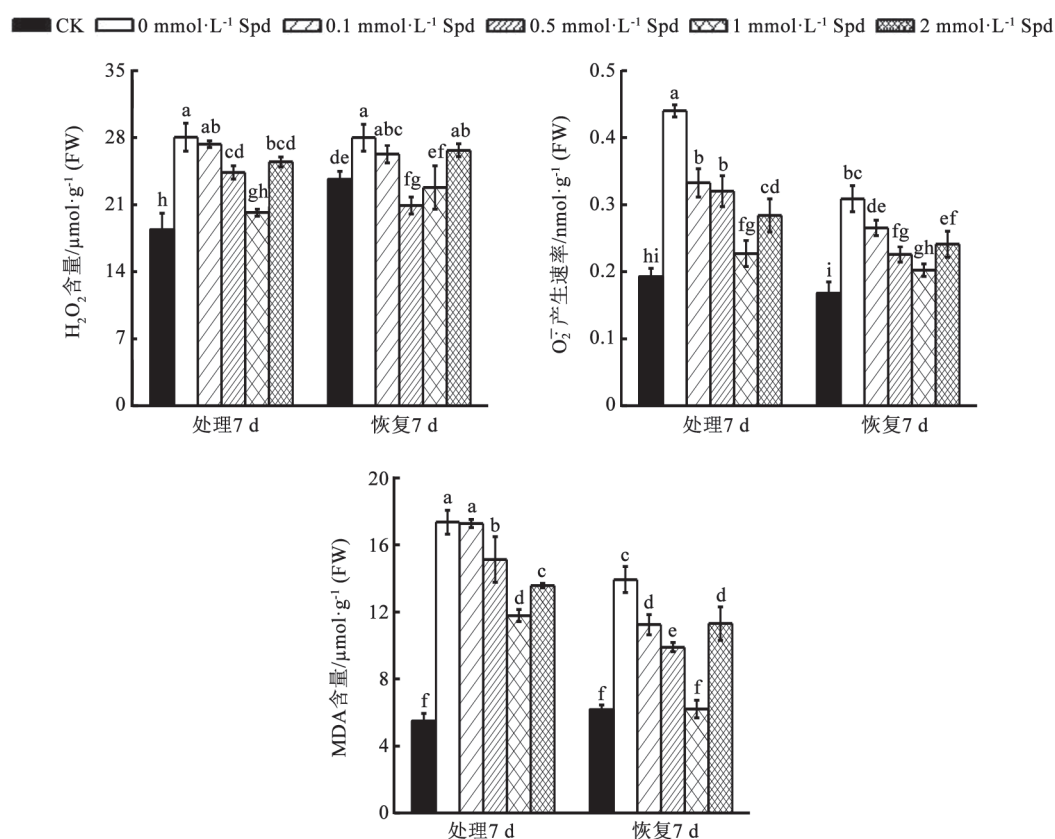
由图5可知, O₂⁻产生速率以及H₂O₂和MDA含量变化趋势基本一致,与CK相比,低温胁迫7 d时,甜瓜幼苗叶片O₂⁻产生速率以及H₂O₂和MDA含量显著上升,分别升高了128.42%、52.51%和217.02%。不同浓度Spd处理下,甜瓜幼苗叶片的这些指标均下降,且随着Spd浓度的增加表现出先降低后升高的趋势,与单独低温胁迫相比,不同浓度的Spd处理差异显著(0.1 mmol·L⁻¹处理下的H₂O₂和MDA含量除外),在Spd浓度为1 mmol·L⁻¹时达最小值,比单独低温胁迫时分别降低了48.39%、28.07%和32.16%。恢复7 d后,Spd浓度为0.1和2 mmol·L⁻¹处理的H₂O₂含量与单独低温胁迫相比差异不显著,Spd浓度为0.5 mmol·L⁻¹处理的H₂O₂含量最低,1 mmol·L⁻¹ Spd处理的H₂O₂含量与CK接近。O₂⁻产生速率和MDA含量变化规律与低温胁迫7 d相似,1 mmol·L⁻¹ Spd处理的值最小,其中MDA含量与CK差异不显著。表明低温胁迫提高了甜瓜幼苗O₂⁻产生速率,从而发生膜脂过氧化反应,通过喷施不同

浓度的Spd可缓解甜瓜幼苗由低温胁迫诱导的膜脂过氧化伤害。

讨 论

植物的生长会因为低温胁迫的作用而受到抑制,尤其是在植物的幼苗期表现最为明显。本试验中,与CK相比,低温胁迫下,甜瓜幼苗的生长量受到显著抑制,即使适温恢复后,株高、茎粗和地上鲜重也显著降低。外源Spd可以有效缓解低温胁迫对甜瓜幼苗生长的抑制作用,其中以1 mmol·L⁻¹ Spd处理的缓解效果最好。这与刘彤彤(2016)在黄瓜上的研究结果基本一致。

CAT、SOD和POD是植物体内活性氧自由基清除系统的保护酶,它们协同作用可以防御活性氧自由基对细胞膜造成的伤害,抑制膜脂过氧化,减轻逆境胁迫对植物细胞造成的伤害(Limón-Pacheco和Gonsebatt 2009)。本试验结果表明,低温胁迫后甜瓜幼苗叶片CAT和POD活性升高,SOD活性下降,表明甜瓜幼苗主要通过CAT和POD来降低活性氧的积累,SOD的作用较小,自我调控能力下

图5 外源Spd对低温胁迫下甜瓜幼苗O₂⁻产生速率、H₂O₂和MDA含量的影响Fig.5 Effect of exogenous Spd on production rate of O₂⁻ and H₂O₂ and MDA contents of melon seedlings under low temperature

降。低温胁迫恢复后, 抗氧化酶活性全部升高, 是植株应对胁迫后适应环境的积极保护机制。外源调节物质的应用是提高植物耐低温的主要途径。惠竹梅等(2013)研究表明, 外源24-表油菜素内酯通过提高低温胁迫下抗氧化酶活性抵御低温胁迫对葡萄幼苗的伤害; 0.6~0.8 mmol·L⁻¹水杨酸预处理可以缓解陆地棉(*Gossypium hirsutum*)幼苗对低温环境的适应(辛慧慧等2014)。多胺是一种重要的植物生长调节物质, 不仅能促进植物的正常生长发育, 还在作物抗逆方面发挥重要作用(Slathia等2012; 程明明等2015)。本试验条件下, Spd处理可提高甜瓜幼苗抗氧化酶活性在低温胁迫下的活性, 这与尹璐璐等(2007)研究结果一致。

APX、DHAR和GR是AsA-GSH循环中关键酶, APX以AsA为底物, 借助由DHAR和GR参与的定位于叶绿体膜上的AsA-GSH循环系统清除H₂O₂, GR是利用NADPH的电子将GSSG还原为GSH(李秀等2014)。本研究中, 在低温胁迫条件下, APX、

DHAR和GR以及AsA和GSH含量、AsA/DHA和GSH/GSSG比值显著下降, DHA和GSSG含量显著升高, 这可能与低温胁迫下较高的活性氧水平诱导的膜结构损伤有关, 在低温胁迫条件下AsA和GSH参与了氧自由基的清除过程而被氧化为DHA和GSSG。适当浓度的Spd处理能提高甜瓜幼苗体内的APX、DHAR和GR活性, 降低DHA和GSSG含量, 从而导致AsA/DHA和GSH/GSSG比值也显著升高。APX通过催化AsA氧化来清除H₂O₂和O₂⁻, H₂O₂则接受GSH为中介的NADPH电子供体还原成H₂O, 从而对H₂O₂的毒性进行清除, GSH能与·OH和O₂⁻反应而保护有关酶的巯基, 因此较高的APX、AsA和GSH含量都有助于植物抗性的提高(孙卫红等2005; Li等2007; 张艳嫣等2013)。这与尤东玲等(2016)研究玉米在淹水胁迫下叶面喷施Spd能够提高AsA-GSH循环中抗氧化剂含量的结果一致。综合以上表明一定浓度的Spd可增强低温胁迫下抗氧化酶活性, 提高其AsA-GSH循环

中抗氧化剂的含量,增强ROS的清除能力,降低膜脂过氧化程度,从而维持细胞结构的稳定性。

可溶性蛋白和游离脯氨酸作为植物细胞内重要的渗透调节物质,对植株的代谢及生长发育有重要作用。逆境胁迫下,细胞能主动积累可溶性蛋白和脯氨酸,来调节细胞渗透势,保护植物组织内各种酶类和细胞膜结构的正常功能(Wu等2015)。本研究中,低温胁迫下,甜瓜幼苗叶片脯氨酸含量显著上升,而可溶性蛋白显著下降,说明脯氨酸在甜瓜低温胁迫中作用显著。外施Spd增加了渗透调节物质的含量,尤其 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Spd处理效果更显著,说明适宜浓度的Spd可有效促进植物渗透物质的积累,通过调节脯氨酸和可溶性蛋白的含量来降低渗透势以适应低温胁迫。

MDA的累积常用来表示膜脂过氧化程度。本研究结果表明,低温胁迫后,甜瓜幼苗叶片MDA含量显著升高,说明低温胁迫导致植物体ROS过量产生,破坏膜的结构,导致膜渗漏和选择透过性受损,使膜脂过氧化,产生毒害更大的氧化产物MDA,低温胁迫及随后的适温恢复,不同浓度的Spd处理下的 O_2^- 产生速率、MDA和 H_2O_2 含量低于单独低温胁迫,Spd浓度以 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时最低,说明叶面喷施适宜浓度的Spd降低了低温胁迫造成的脂质过氧化程度,维持了膜的稳定性,能够对低温胁迫下甜瓜幼苗的细胞膜起到保护作用(Gill等2010)。

综上所述,外源Spd缓解甜瓜幼苗低温胁迫具有剂量效应,并以 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Spd的效果最好,能够促进低温胁迫下甜瓜幼苗的生长,降低 O_2^- 产生速率以及MDA和 H_2O_2 含量,减轻质膜透性,提高抗氧化酶SOD、POD、CAT、APX、DHAR和GR活性以及抗氧化物质AsA和GSH含量,从而提高甜瓜幼苗耐低温性,减小低温胁迫对其的伤害,说明适宜浓度的Spd对提高甜瓜幼苗的耐低温能力具有正向作用。

参考文献

- Cheng MM, Du HY, Liu HP (2015). Mitigating effects of exogenous spermidine on oxidative injury induced by waterlogging stress in the roots of maize seedlings. *J Southern Agric*, 46 (1): 36–41 (in Chinese with English abstract) [程明明, 杜红阳, 刘怀攀(2015). 外源亚精胺对涝胁迫下玉米幼苗根的氧化伤害缓解效应. 南方农业学报, 46 (1): 36–41]
- Dhindsa RS, Plumb-Dhindsa P, Thorpe TA (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *J Exp Bot*, 32: 93–101
- Ding C, Shi G, Xu X, Yang H, Xu Y (2010). Effect of exogenous spermidine on polyamine metabolism in water hyacinth leaves under mercury stress. *Plant Growth Regul*, 60: 61–67
- Du CX, Li J, Guo SR, Fan HF (2007). Effects of exogenous spermidine on soluble protein expression in cucumber seedlings under different saline concentrations. *J Wuhan Bot Res*, 25 (6): 586–590 (in Chinese with English abstract) [杜长霞, 李娟, 郭世荣, 樊怀福(2007). 外源亚精胺对不同盐浓度下黄瓜幼苗可溶性蛋白表达的影响. 武汉植物学研究, 25 (6): 586–590]
- Gill SS, Tuteja N (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol Biochem*, 48 (12): 909–930
- Guo XX, Li XF, Zhu HF, Zhu YY, Liu JP (2015). Effects of waterlogging stress on ascorbate-glutathione cycle in *Brassica campestris* ssp. *chinensis*. *Plant Physiol J*, 51 (12): 2181–2187 (in Chinese with English abstract) [郭欣欣, 李晓锋, 朱红芳, 朱玉英, 刘金平(2015). 淹水胁迫对不结球白菜抗坏血酸-谷胱甘肽循环的影响. 植物生理学报, 51 (12): 2181–2187]
- Heath RL, Packer L (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatted acid peroxidation. *Arch Biochem Biophys*, 125 (1): 189–198
- Hu JJ, Zhang GW, Hu QZ, Xu SC, Gong YM (2011). Effects of chilling stress on growth, metabolism of reactive oxygen species and polyamines in vegetable soybean seedlings. *Acta Agric Zhejiang*, 23 (6): 1113–1118 (in Chinese with English abstract) [胡俊杰, 张古文, 胡齐赞, 徐盛春, 龚亚明(2011). 低温胁迫对菜用大豆生长、叶片活性氧及多胺代谢的影响. 浙江农业学报, 23 (6): 1113–1118]
- Hu XH, Wang SP, Qu B (2009). Effects of spermidine on seed germination and seedling antioxidant system of tomato under NaCl stress. *Chin J Appl Ecol*, 20 (2): 446–450 (in Chinese with English abstract) [胡晓辉, 王素平, 曲斌(2009). NaCl胁迫下亚精胺对番茄种子萌发及幼苗抗氧化系统的影响. 应用生态学报, 20 (2): 446–450]
- Hui ZM, Wang ZZ, Hu Y, Deng MM, Zhang ZW (2013). Effects of 24-epibrassinolide on the antioxidant system and osmotic adjustment substance in grape seedlings (*V. vinifera* L.) under chilling stress. *Sci Agric Sin*, 46 (5): 1005–1013 (in Chinese with English abstract) [惠竹梅, 王智真, 胡勇, 邓敏敏, 张振文(2013). 24-表油菜素内酯对低温胁迫下葡萄幼苗抗氧化系统及渗透调节物质的影响. 中国农业科学, 46 (5): 1005–1013]
- Imai A, Matsuyama T, Hanzawa Y, Akiyama T, Tamaoki M, Saji H, Shirano Y, Kato T, Hayashi H, Shibata D, et al (2004). Spermidine synthase genes are essential for survival of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 135 (3): 1565–1573
- Jiang M, Zhang J (2001). Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. *Plant Cell Physiol*, 42: 1265–1273
- Law MY, Charles SA, Halliwell B (1983). Glutathione and ascorbic acid in spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplasts. The effect of hydrogen peroxide and of Paraquat. *Biochem J*, 210: 899–903
- Li B, Guo SR, Sun J, Lu XM, Li J (2012). Effects of exogenous spermidine on cucumber seedling growth and reactive oxygen me-

- tabolism under salt stress. *Acta Agric Jiangsu*, 28 (1): 152–157 (in Chinese with English abstract) [李斌, 郭世荣, 孙锦, 陆晓民, 李娟(2012). 外源Spd对盐胁迫下黄瓜幼苗生长和活性氧代谢的影响. *江苏农业学报*, 28 (1): 152–157]
- Li H (2000). *Principle and Technology of Plant Physiological and Biochemical Experiments*. Beijing: Higher Education Press, 167–169 (in Chinese) [李合生(2000). *植物生理生化实验原理和技术*. 北京: 高等教育出版社, 167–169]
- Li X, Gong B, Xu K (2014). Effects of exogenous nitric oxide on reactive oxygen metabolism in ginger leaves under heat stress. *Acta Hort Sin*, 41 (2): 277–284 (in Chinese with English abstract) [李秀, 巩彪, 徐坤(2014). 外源NO对高温胁迫下姜叶片活性氧代谢的影响. *园艺学报*, 41 (2): 277–284]
- Li X, Gong B, Xu K (2015). Effect of exogenous spermidine on levels of endogenous hormones and chloroplast ultrastructure of ginger leaves under heat stress. *Sci Agric Sin*, 48 (1): 120–129 (in Chinese with English abstract) [李秀, 巩彪, 徐坤(2015). 外源亚精胺对高温胁迫下生姜叶片内源激素及叶绿体超微结构的影响. *中国农业科学*, 48 (1): 120–129]
- Li Y, Schellborn H (2007). Can ageing-related degenerative disease be ameliorated through administration of vitamin C at pharmacological levels? *Med Hypotheses*, 68 (6): 1315–1317
- Limón-Pacheco J, Gonsébat ME (2009). The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*, 674: 137–147.
- Liu C, Yang R, Mo Y, Wang Y, Zheng J, Zhang X (2016). Induction of endogenous polyamine contents and powdery mildew resistance by exogenous spermidine in melon seedlings. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 36 (1): 85–92 (in Chinese with English abstract) [刘长命, 杨瑞平, 莫言玲, 王永琦, 郑俊鸾, 张显(2016). 外源Spd预处理对甜瓜白粉病抗性及其内源多胺的诱导分析. *西北植物学报*, 36 (1): 85–92]
- Liu HX, Zeng SX, Li P (1981). Relationship between plant cold resistance and polymorphism of enzyme system. *Plant Physiol Commun*, (6): 6–11 (in Chinese) [刘鸿先, 曾韶西, 李平(1981). 植物抗寒性与酶系统多态型的关系. *植物生理学通讯*, (6): 6–11]
- Liu T (2016). Effects of treatment of exogenous substances on cold resistance of cucumber seedlings [Master's thesis]. Harbin: Northeast Agricultural University, 8 (in Chinese with English abstract) [刘彤彤(2016). 外源物质复合处理对黄瓜幼苗抗冷性的影响(硕士论文). 哈尔滨: 东北农业大学, 8]
- Liu Y, Zhao Z, Si J, Di C, Han J, An L (2009). Brassinosteroids alleviate chilling-induced oxidative damage by enhancing antioxidant defense system in suspension cultured cells of *Chorispora bungeana*. *Plant Growth Regul*, 59: 207–214
- Lü XG, Zhou MD, Li M (2016). Effects of low temperature stress on characteristics of photosynthesis and chlorophyll fluorescence in leaves of grafted and own root muskmelon seedlings. *Plant Physiol J*, 52 (3): 334–343 (in Chinese with English abstract) [吕星光, 周梦迪, 李敏(2016). 低温胁迫对甜瓜嫁接苗及自根苗光合及叶绿素荧光特性的影响. *植物生理学学报*, 52 (3): 334–343]
- Sa R, Chen G (2013). Effect of exogenous spermidine on antioxidant enzyme system in leaves of *Nitraria sibirica* Pall. seedlings under salt stress. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 33 (2): 352–356 (in Chinese with English abstract) [萨日娜, 陈贵林(2013). 外源亚精胺对盐胁迫下白刺幼苗叶片抗氧化酶系统的影响. *西北植物学报*, 33 (2): 352–356]
- Slathia S, Sharma A, Sikander CP (2012). Influence of exogenously applied epibrassinolide and putrescine on protein content antioxidant enzymes and lipid peroxidation in *Lycopersicon esculentum* under salinity stress. *Am J Plant Sci*, 3 (6): 714–720
- Sun WH, Wang WQ, Meng QW (2005). Functional mechanism and enzymatic and molecular characteristic of ascorbate peroxidase in plants. *Plant Physiol Commun*, 41 (2): 143–147 (in Chinese with English abstract) [孙卫红, 王伟青, 孟庆伟(2005). 植物抗坏血酸过氧化物酶的作用机制、酶学及分子特性. *植物生理学通讯*, 41 (2): 143–147]
- Wang AG, Luo GH (1990). Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants. *Plant Physiol Commun*, (6): 55–57 (in Chinese with English abstract) [王爱国, 罗广华(1990). 植物的超氧物自由基与羟胺反应的定量关系. *植物生理学通讯*, (6): 55–57]
- Wu S, Hu C, Tan Q, Li L, Shi K, Zheng Y, Sun X (2015). Drought stress tolerance mediated by zinc-induced antioxidative defense and osmotic adjustment in cotton (*Gossypium hirsutum*). *Acta Physiol Plant*, 37 (8): 167–175
- Wu XX, Zhu ZW, Xu S, Zha DS (2016). Effects of low temperature stress and recovery on reactive oxygen metabolism and osmotic adjustment substance contents in eggplant seedlings. *Acta Agric Jiangxi*, 28 (7): 17–21 (in Chinese with English abstract) [吴雪霞, 朱宗文, 许爽, 查丁石(2016). 低温胁迫及恢复对茄子幼苗活性氧代谢和渗透调节物质含量的影响. *江西农业学报*, 28 (7): 17–21]
- Xin HH, Li FZ, Hou ZA, Ye J, Kang WJ, Luo J (2014). Physiological response of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seedling to exogenous salicylic acid under low temperature stress. *Plant Physiol J*, 50 (5): 660–664 (in Chinese with English abstract) [辛慧慧, 李防洲, 侯振安, 冶军, 康文晶, 罗建(2014). 低温胁迫下棉花幼苗对外源水杨酸的生理响应. *植物生理学学报*, 50 (5): 660–664]
- Yin LL, Yang XH, Li K, Han DJ, Wang YH, Xu ZH, Yu XC (2007). Effect of spermidine on chilling-tolerance in cucumber seedlings. *Acta Hort Sin*, 34 (5): 1309–1312 (in Chinese with English abstract) [尹璐璐, 杨秀华, 李坤, 韩道杰, 王英华, 许贞杭, 于贤昌(2007). 亚精胺预处理对黄瓜幼苗抗冷性的影响. *园艺学报*, 34 (5): 1309–1312]
- You DL, Zhang X, Yu KK, Li CH, Wang Q (2016). Effect of exogenous spermidine on growth and physiological properties of maize seedling under waterlogging stress. *J Maize Sci*, 24 (1): 74–80, 87 (in Chinese with English abstract) [尤东玲, 张星, 于康珂, 李潮海, 王群(2016). 亚精胺对淹水胁迫下玉米幼苗生长和生理特性的影响. *玉米科学*, 24 (1): 74–80, 87]
- Zhang DZ, Wang PH, Zhao HX (1990). Determination of the content of free proline in wheat leaves. *Plant Physiol Commun*, (4): 62–65 (in Chinese with English abstract) [张殿忠, 汪沛洪, 赵会贤(1990). 测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法. *植物生理学通讯*, (4): 62–65]

Zhang Y, Chen D, Tan Y, Wang D, Shen W, Zhou J, Huang C (2013). Alleviating effects of exogenous selenium on *Dendrobium candidum* seedlings under low temperature stress and the change of its antioxidative physiology characteristics. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 33 (4): 747–754 (in Chinese with English abstract) [张艳嫣, 陈丹, 谭艳玲, 王丹, 沈伟桥, 周建华, 黄冲平(2013). 外源硒对低温胁迫下铁皮石斛幼苗的缓解效应及其抗氧化生理特征变化. *西北植物学报*, 33 (4): 747–754]

Alleviating effects of exogenous selenium on *Dendrobium candidum* seedlings under low temperature stress and the change of its antioxidative physiology characteristics. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 33 (4): 747–754 (in Chinese with English abstract) [张艳嫣, 陈丹, 谭艳玲, 王丹, 沈伟桥, 周建华, 黄冲平(2013). 外源硒对低温胁迫下铁皮石斛幼苗的缓解效应及其抗氧化生理特征变化. *西北植物学报*, 33 (4): 747–754]

Effect of exogenous spermidine on the growth and antioxidant system of melon seedlings under low temperature stress

ZHANG Yong-Ping, XU Shuang, YANG Shao-Jun, LU Shi-Jun, CHEN You-Yuan*

Horticultural Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai Key Laboratory of Protected Horticultural Technology, Shanghai 201403, China

Abstract: Using substrate culture, we investigated the effects of 0.1–2 mmol·L⁻¹ exogenous spermidine (Spd) on the growth and reactive oxygen metabolism under low temperature stress [(12±1)°C/(6±1)°C, day/night] and recovery in climate chambers with melon (*Cumumis melo*) variety ‘GL-1’. The results show that low temperature stress had significant effects on the growth and indexes of reactive oxygen metabolism. The suitable concentration of Spd treatment could alleviate the damage of low temperature in various degree; the best effect was observed in the treatment of 1 mmol·L⁻¹ Spd, which significantly increased the seedlings growth and the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), dehydroascorbic acid reductase (DHAR) and glutathione reductase (GR), increased the content of reductive-form abscisic acid (AsA), reduced glutathione (GSH), soluble protein and proline, and decreased the accumulation of H₂O₂ and malondialdehyde (MDA), and the production rate of superoxide anion radical (O₂⁻). The above results indicate that dosage effect of Spd exists on the alleviation of low temperature stress in melon seedlings, and the best alleviating effect was 1 mmol·L⁻¹ Spd, which was favorable for the seedlings to maintain the stability of AsA-GSH circulation system, decrease the accumulation of H₂O₂ and MDA, and the production rate of O₂⁻, protect the stability of cell membrane structure by promoting antioxidant enzyme activities and antioxidant contents, and thereby reduce the damage of the active oxygen to the melon leaf and enhance the cold resistance.

Key words: exogenous spermidine; melon; low temperature stress; seedling growth; antioxidation

Received 2017-02-20 Accepted 2017-03-24

This work was supported by Shanghai Modern Industrial Technology System of Melon and Fruits (Grant No. SCST-I-2017-1), and Shanghai Committee of Science and Technology Key Projects (Grant No.14391900900).

*Corresponding author (E-mail: yy12@saas.sh.cn).