

5-氮杂胞苷对低温胁迫下黄瓜幼苗 光合作用的影响

邢潇晨,索琳格,肖春燕,刘苗苗,刘慧英,崔金霞

(石河子大学农学院园艺系,特色果蔬栽培生理与种植资源利用兵团重点实验室,新疆 石河子 832003)

摘 要:为探究降低基因组 DNA 甲基化水平在低温条件下对黄瓜幼苗光合作用的影响,以‘津研四号’黄瓜幼苗为试材,研究了不同浓度 DNA 甲基化抑制剂 5-azaC 处理对低温(10℃/6℃,300μmol·m⁻²·s⁻¹)胁迫下黄瓜幼苗叶片气体交换参数、叶绿素荧光猝灭、细胞膜透性的影响。结果表明:低温条件下,500~800 μmol·L⁻¹的 5-azaC 处理能够显著降低黄瓜幼苗叶片细胞膜透性($P<0.05$);提高叶片净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(Tr),降低胞间 CO₂ 浓度(C_i);同时也促进 PSⅡ 的最大光化学效率(F_v/F_m)、实际光化学效率($\Phi PSⅡ$)、光合电子传递效率(ETR)和光化学猝灭系数(qP)的升高,非光化学猝灭系数(NPQ)和叶片光化学猝灭参数[$Y(NO)$]的降低,从而提高黄瓜幼苗的耐冷性。

关键词:黄瓜幼苗;5-氮杂胞苷;低温;光合作用;耐冷性

中图分类号:S642.2 **文献标志码:**A

Effect of 5-azacytidine on photosynthesis of cucumber seedlings under low temperature and light intensity

XING Xiao-chen, SUO Lin-ge, XIAO Chun-yan, LIU Miao-miao, LIU Hui-ying, CUI jin-xia

(Department of Horticulture, College of Agriculture, Shihezi University; Xinjiang Production
and Construction Corps Key Laboratory of Special Fruits and Vegetables Cultivation Physiology and
Germplasm Resources Utilization, Shihezi, Xinjiang 832003, China)

Abstract: The objective of this study was to explore the effect of reduction in methylation level of genomic DNA on photosynthesis of cucumber seedlings under low temperature. ‘Jinyan No.4’ cucumber seedlings was used as the experimental materials, and the effects of different concentrations of 5-azaC on the leaf gas exchange parameters, chlorophyll fluorescence quenching and cell membrane permeability of cucumber seedlings under low temperature (10℃/6℃, 300 μmol·m⁻²·s⁻¹) were studied. The results showed that the net photosynthetic rate (P_n), stomatal conductance (G_s), transpiration rate (Tr), the maximum photochemical efficiency of PSⅡ (F_v/F_m), the actual photochemical efficiency ($\Phi PSⅡ$), the photosynthetic electron transport efficiency (ETR) and the photochemical quenching coefficient (qP) of the cucumber seedlings leaf were increased, while leaf cell membrane permeability, intercellular CO₂ concentration (C_i), the non-photochemical quenching coefficient (NPQ) and the leaf photochemical quenching parameters [$Y(NO)$] were reduced by 500 to 800 mol·L⁻¹ of 5-azaC treatment under low temperature, thus improving the cold tolerance of cucumber seedlings.

Keywords: cucumber seedling; 5-azaC; low temperature; photosynthesis; cold tolerance

DNA 甲基化(DNA methylation)是一种常见和重要的表观遗传修饰形式,是在 DNA 甲基转移酶(DNA methyl transferase, DNMT)的作用下,将 S-腺苷-甲硫氨酸(S-daomet, SAM)的甲基基团转移到胞嘧啶(C)或胸腺嘧啶(T)上,最常见的是转移到 C,形成 5-甲基胞嘧啶(5 mC),完成 DNA 的共价修饰,从而影响到 DNA 和蛋白质的相互作用,抑制基因的表达^[1-2]。DNA 甲基化不仅参与植物生长发育调控^[3-4],近期研究表明外界不良环境条件如干旱、盐害、冷害等非生物胁迫能够诱导植物基因组 DNA 甲

基化水平和状态(半甲基化、全甲基化、去甲基化)发生变化,从而影响到植物基因表达和转座子的转座活性,进而对其生物遗传信息进行调节,为植物适应不良环境创造有利的条件,而逆境胁迫结束后,DNA 甲基化又恢复到胁迫之前的水平,避免基因不必要的活跃表达与能量浪费^[5]。

植物体内基因组 DNA 甲基化水平的变化与不同温度环境胁迫有关,低温及高盐胁迫诱导抗逆相关基因编码区去甲基化,增加基因的表达量以应对环境胁迫^[6];低温胁迫条件下,许多种植物都会发生基因组 DNA 甲基化水平的降低。如在低温胁迫条件下,玉米幼苗根部组织的基因组 DNA 甲基化水平降低了至少 10%^[7]。5℃冷处理水稻 48 h 后,基因组甲基化模式和水平发生明显改变^[8]。低温胁迫下甲基化水平降低之后,植物基因组转座子活性被激活,例如金鱼草的 Tam3 转座子,15℃的低温胁迫诱导了 Tam3 序列的甲基化水平特异性变化,即发生了去甲基化,并激活了转座子的转录,25℃时甲基化受到强烈抑制^[9]。低温胁迫往往通过诱导抗逆基因甲基化水平的变化,来改变转录组的转录表达,以提高在低温胁迫下的抵抗力和适应力,Hashida 等研究表明低温胁迫条件下,转座酶在 DNA 复制和细胞分裂结束后立即结合于 Tam3 转座子上,导致了 DNA 甲基化水平降低^[10]。Shan 等利用 MSAP 法研究发现低温处理后,玉米幼苗全基因组 DNA 甲基化多态性占总条带的 32.6%~34.8%,大多数片段发生了去甲基化现象,对特异性片段回收测序,进行 BLAST 比对,结果表明这些片段的同源染色体涉及到许多过程,包括激素调节,低温反应,光合作用和转座子激活等^[11]。

5-氮杂胞苷(5-azaC)是目前植物上研究和应用最多的 DNA 甲基化抑制剂之一,可以降低基因组甲基化水平^[12],在植物的表型性状^[13-14],植物春化作用和开花^[15-17]等方面都有研究。但对于 5-azaC 降低基因组甲基化水平在植物抗逆机理中的作用相关研究较少,有研究表明合适浓度的 5-azaC 处理可以减缓白菜幼苗在高温胁迫下的生长量、POD 活性和蛋白质含量的降低幅度,同时降低 MDA 含量和细胞膜透性^[18]。

黄瓜是一种喜温作物,其所有组织对低温都敏感^[19]。10℃~12℃以下低温即能引起黄瓜生理活动的失调,呈现生理障碍^[20],黄瓜光合器官的受损也表现的较为明显^[21]。低温能降低植物光合效率、改变光合色素组成、抑制叶绿体发育等,因此本试验以黄瓜为材料,喷施不同浓度 5-azaC,对低温胁迫

下黄瓜幼苗叶片气体交换参数、光化学效率、光能分配、相对电导率等进行了一些探索,以期降低基因组 DNA 甲基化水平在植物耐冷性中的作用机理提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料及其处理

以“津研四号”黄瓜品种为试材,5-azaC 药剂购自美国 Sigma 公司。试验于 2013 年在石河子大学农学院试验站温室中进行。

黄瓜种子经 55℃温汤浸种处理后,于 28℃条件下在人工智能光照培养箱中进行避光培养催芽,选择刚刚萌动、芽势一致的种子播于 72 孔穴盘内,子叶展开时分苗于 120 cm×110 cm 的育苗钵中,基质为草炭:蛭石=2:1(v:v),间隔 5 d 浇灌一次霍格兰营养液。幼苗长出两片真叶时,选取大小、形态一致且无病虫害的幼苗进行预处理。

5-azaC 浓度设:CK、100、250、500、800、1 000、2 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 5 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。处理期间,每天早上 10:00,整株幼苗均匀喷施 5-azaC,同时 CK 喷洒蒸馏水,每天一次,连续喷 3 d,然后置于光照培养箱中进行低温处理,昼夜温度设定为 10℃/6℃,光照时间为 12 h,光照度为 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。分别于低温处理 0 h(即低温处理前)、低温处理 24 h 和低温处理 48 h 三个时间段进行取样,每个处理重复 3 次。

1.2 细胞膜透性的测定

细胞膜透性采用相对电导法^[22]。

1.3 气体交换参数的测定

用英国 PP-Systems 公司生产的 CIRAS-2 型光合仪在光照培养箱内测定 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 下黄瓜幼苗最佳功能叶片(上数第 2 叶)的光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(Tr)和胞间 CO_2 浓度(C_i)。

1.4 叶绿素荧光猝灭

在低温 0 h、24 h 和 48 h,黄瓜幼苗在光照培养箱内暗适应 25 min,用英国 Hansatech 公司生产的 FMS-2 脉冲调制式叶绿素荧光仪测定叶绿素荧光参数。根据 Demming-Adams 和 Adams^[23]及 FMS-2 型叶绿素荧光仪使用手册进行计算,公式如下:

暗适应下 PS II 最大光化学效率(F_v/F_m) = $(F_m - F_o)/F_m$;

PS II 实际光化学效率($\Phi_{PS II}$) = $(F_m' - F_s)/F_m'$;

PS II 天线转化效率 $F_v'/F_m' = (F_m' - F_o')/F_m'$;

Fm' ;

光化学猝灭系数 $qP = (Fm' - Fs) / (Fm' - Fo')$;

非光化学猝灭系数 $NPQ = (Fm - Fm') / Fm'$;

电子传递速率 $ETR = \Phi PS II \times PFD \times 0.84 \times 0.5$, 其中 PFD 是被吸收的光通量密度 ($\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$), 0.5 代表光能在两个光系统间的分配系数, 0.84 指入射到叶片表面的光能平均有 84% 被叶片吸收^[24]。

利用荧光参数计算 PS II 吸收光能分配和光系统激发能分配的情况^[25-26]: PS II 吸收光能用于光化学反应的相对份额 (P) = $Fv' / Fm' \times qP \times 100\%$; 用于天线热耗散的相对份额 (D) = $(1 - Fv' / Fm') \times 100\%$; 用于反应中心耗散的相对份额 (Ex) = $Fv' / Fm' \times (1 - qP) \times 100\%$ 。

光系统 I (PS I) 与 PS II 间激发能分配不平衡性 ($\beta / \alpha - 1$) = $(1 - f) / f$ (其中 f 为 PS II 反应中心开放程度, $f = (Fm - Fs) / (Fm - Fo)$; α 、 β 分别为 PS I 和 PS II 的激发能分配系数)。

1.5 数据统计分析

采用 Excel 软件进行数据的统计分析, 计算平均值、标准差; 用 SPSS 17.0 软件对数据进行单因素方差分析, 并用 Duncan's 检验法对显著性差异 ($P < 0.05$) 进行比较; 用 OriginLab 7.5 软件作图。

2 结果与分析

2.1 低温下不同浓度 5 - azaC 处理对黄瓜幼苗细胞膜透性的影响

由图 1 可知, 低温 0 h (低温处理前), 不同浓度 5 - azaC 处理的黄瓜幼苗叶片相对电导率比较一致, 随着低温处理时间的逐渐延长, 各处理相对电导率的值也逐渐增大。低温胁迫 24 h 和 48 h, 与各自对照相比, 100 ~ 800 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 的 5 - azaC 处理降低了相对电导率值, 其中喷施浓度为 500 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 的 5 - azaC 处理的相对电导率降低幅度最大, 比各自的对照分别减小了 24.94% 和 27.98%。说明喷施合适浓度的 5 - azaC 处理可以缓解低温弱光对黄瓜幼苗细胞质膜结构和功能造成的影响。

2.2 低温下不同浓度 5 - azaC 处理对黄瓜幼苗光合作用的影响

从图 2(A, B, C, D) 可以看出, 与低温 0 h 相比, 低温 24 h 和 48 h, 不同浓度 5 - azaC 处理的 Pn 、 G_s 和 Tr 呈现下降的趋势, Ci 呈现上升的趋势; 在低温 0 h、24 h 和 48 h, 不同浓度的 5 - azaC 处理表现出明显的浓度效应, 从 100 ~ 500 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 处理的 Pn 、 G_s 和 Tr 值逐渐上升, Ci 值逐渐下降, 500 ~ 5 000 $\mu mol \cdot$

L^{-1} 的 5 - azaC 处理 Pn 、 G_s 和 Tr 值逐渐下降, Ci 值逐渐上升, 其中 500 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 的 5 - azaC 处理是拐点, 表明低浓度的 5 - azaC 处理在低温处理前和低温下可以增强黄瓜的光合作用, 而高浓度 5 - azaC 处理则表现出抑制作用。

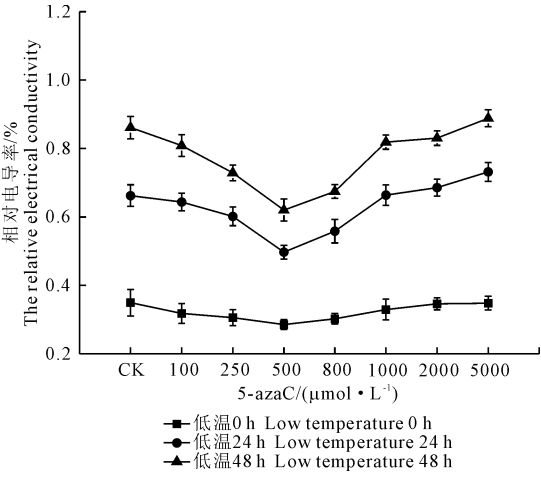


图 1 低温下不同浓度 5-azaC 对黄瓜幼苗叶片相对电导率的影响

Fig.1 Effects of 5-azaC concentrations on relative electrical conductivity of cucumber seedling under low temperature

2.3 低温下不同浓度 5 - azaC 处理对黄瓜幼苗叶绿素荧光参数的影响

由图 3(A) 可知, 进行低温处理后, 随着低温时间的增长, 黄瓜幼苗叶片的 Fv' / Fm' 值逐渐降低, 低温 24 h 和 48 h 的对照与 0 h 的 CK 相比, 分别降低了 3.46% 和 5.26%, 这表明低温处理促使 PS II 天线激发能的捕获效率降低。喷施 5 - azaC 可以减缓黄瓜幼苗叶片的 Fv' / Fm' 值降低的速度。低温处理 24 h, 500 ~ 800 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 的 5 - azaC 处理与其对照相比 Fv' / Fm' 值分别提高了 3.94% 和 3.67%。低温处理 48 h, 500 ~ 800 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 的处理 Fv' / Fm' 值比 CK 分别提高了 2.79% 和 2.80%。 Fv / Fm 的下降, 表明 PS II 受到损伤。

由图 3(B) 可知, 低温 0 h, 与 CK 相比, 经 5 - azaC 处理的幼苗 Fv / Fm 值升高, 但都在 0.80 ~ 0.85 之间, 表明此时黄瓜叶片的 PS II 未受到任何损伤, 且经 5 - azaC 处理, 能提高 PS II 反应中心内能转化效率。与低温处理 0 h 相比, 低温 24 h 和 48 h 黄瓜幼苗叶片的 Fv / Fm 值都降低, 表明此时黄瓜叶片已经受到光抑制。与各自对照相比, 在 100 ~ 800 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 的浓度范围内, 随着浓度的增加, Fv / Fm 值也逐渐提高, 经 500 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 的 5 - azaC 处理的叶片 Fv / Fm 值提高最明显, 分别提高了 0.98% 和 1.11%。

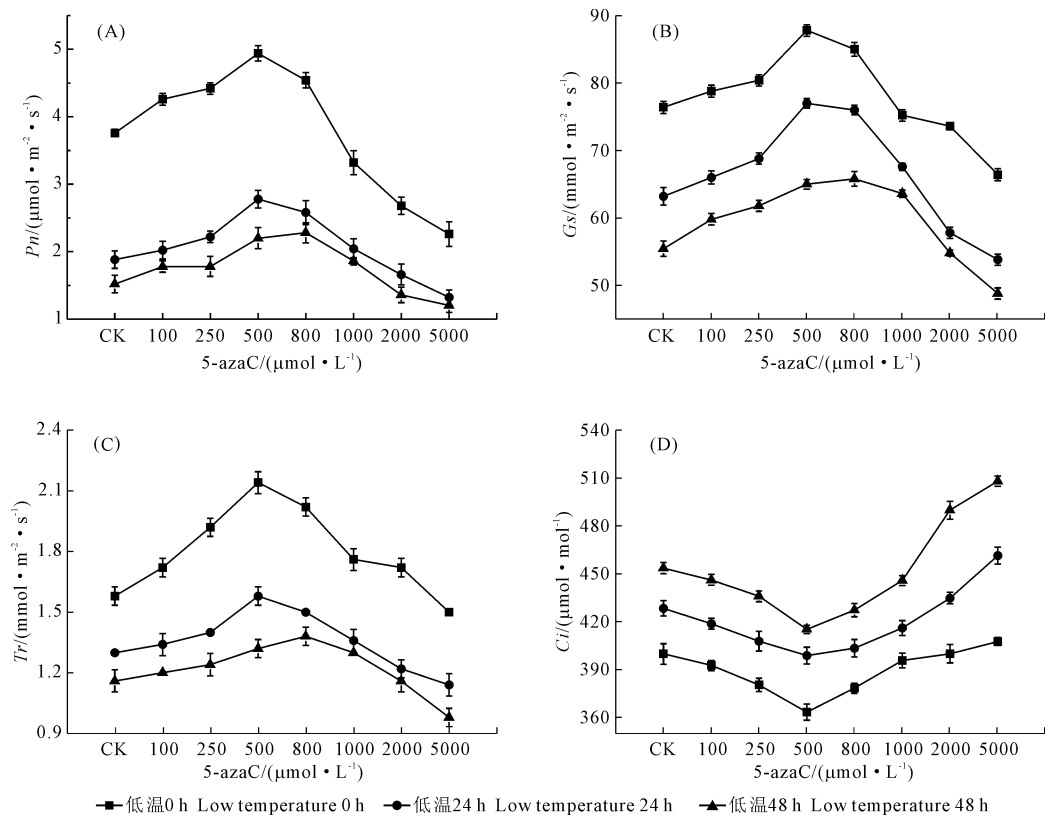


图 2 低温下不同浓度 5-azaC 对黄瓜幼苗叶片光合作用的影响

Fig.2 Effects of 5-azaC concentrations on photosynthesis of cucumber seedlings under low temperature

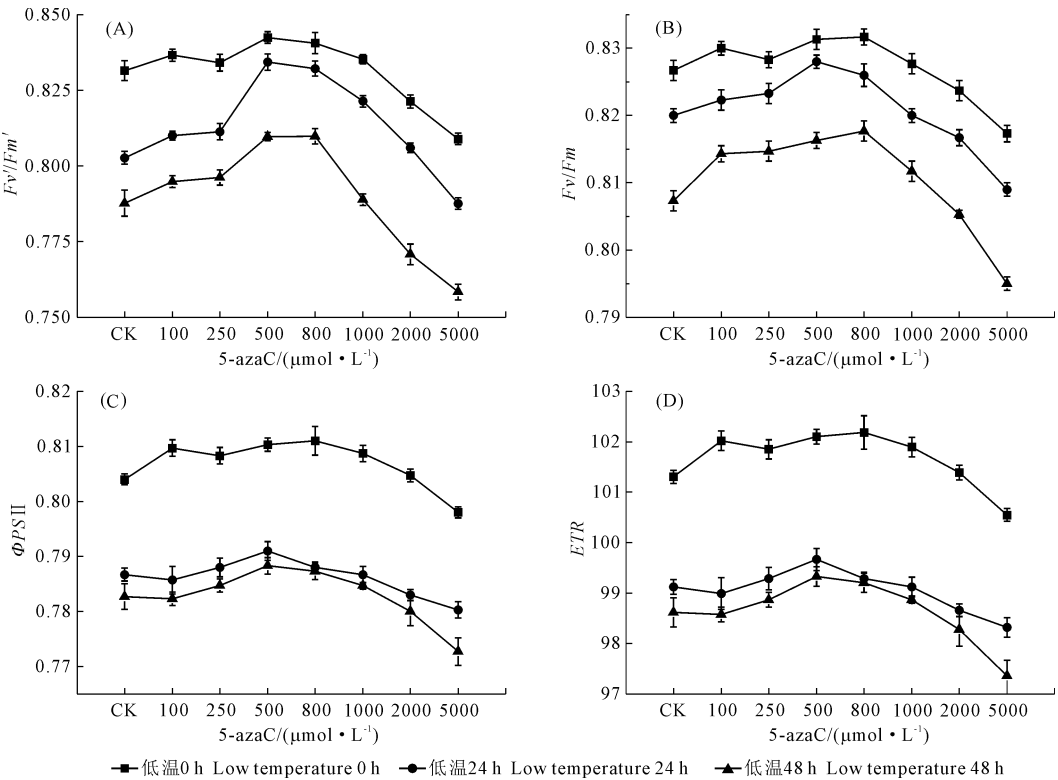


图 3 低温下不同浓度的 5-azaC 对黄瓜幼苗叶片叶绿素荧光参数的影响

Fig.3 Effects of 5-azaC concentrations on chlorophyll fluorescence parameters of cucumber seedlings under low temperature

由图 3(C)可知,与低温 0 h 相比,低温 24 h 和 48 h, $\Phi PSII$ 逐渐下降。但经 5 - azaC 处理可提高低温胁迫下黄瓜幼苗叶片的 $\Phi PSII$ 值,且在 100 ~ 1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度范围内随着浓度的增加而提高, 500 ~ 800 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的处理 $\Phi PSII$ 值提高最明显。1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 之后的处理使 $\Phi PSII$ 值急剧下降,说明高浓度的 5 - azaC 处理促使 PS II 光化学活性降低。

由图 3(D)可知,与低温 0 h 相比,低温 24 h 和 48 h 黄瓜幼苗 $\Phi PSII$ 和 ETR 都显著降低,说明黄瓜幼苗经低温处理,PS II 光化学活性降低,光合电子传递受到限制。低温下不同浓度的 5 - azaC 引起的光合电子传递速率(ETR)的变化趋势与 $\Phi PSII$ 相似。

2.4 低温下不同浓度 5 - azaC 处理对黄瓜幼苗叶绿素荧光猝灭的影响

叶绿素荧光猝灭包括光化学猝灭(qP)和非光化学猝灭(NPQ)。光化学猝灭系数(qP)表示总 PS II 反应中心中开放的反应中心所占比例的指标,在一定程度上反映了植物光合活性的高低。由图 4 (A)可知,与低温 0 h 相比,低温处理 24 h 和 48 h 的 qP 值持续下降,表明叶片捕获的激发能中用于推动光化学反应的部分所占比例下降,植物光合活性降低。低温 0 h、低温 24 h 和 48 h,不同浓度 5 - azaC 处理的黄瓜幼苗 qP 值呈现先升高后降低的趋势, 500 ~ 800 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 5 - azaC 处理表现最为明显, qP 值达到峰值。这表明 100 ~ 800 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 5 - azaC 处理能够减缓低温下黄瓜叶片光合活性降低的速度,提高叶片捕获的激发能中用于推动光化学反应的部分所占比例。

NPQ 反映了植物耗散过剩光能为热的能力,常用于衡量过刺激发能的耗散情况, NPQ 逐渐增大,说明叶片为保护光合机构免遭破坏迅速启动热耗散,以耗散过剩能量。由图 4(B)可以看出,与低温 0 h 对照相比,低温处理 24 h 和 48 h 黄瓜幼苗叶片 NPQ 值急剧增大,分别增大了 153. 83% 和 250. 48%。低温 24 h 和 48 h,与各自的对照相比,不同浓度 5 - azaC 处理使 NPQ 值呈现先减小后增大的趋势。最明显的是低温 24 h, 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的处理急剧减少,与其对照相比,减少了 46. 10%。

$Y(NO)$ 是 PS II 处于非调节性能量耗散的量子产量,若 $Y(NO)$ 较高,表明光化学能量转换和保护性的调节机制(如热耗散)不足以将植物吸收的光能完全消耗掉,即入射光强超过了植物能接受的程度,因此 $Y(NO)$ 可以作为光损伤的重要指标。由图 4 (C)可知,与低温 0 h 相比,随着低温时间的延长, Y

(NO)值逐渐升高,表明低温时间的长短与黄瓜叶片的光损伤程度成正比。喷施一定浓度的 5 - azaC 可减缓低温造成的黄瓜叶片光损伤程度。其中 500 ~ 800 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的处理效果最明显。

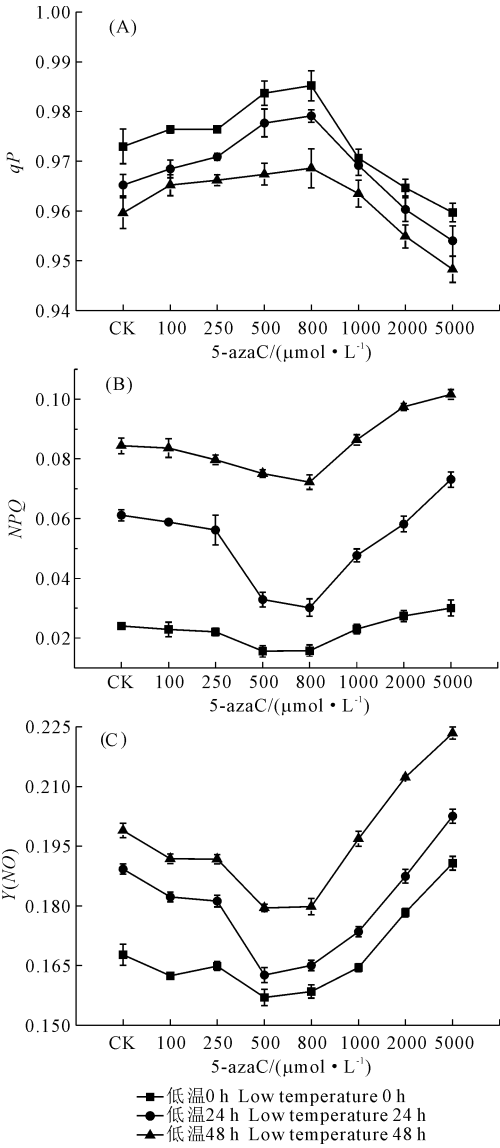


图 4 低温下不同浓度 5 - azaC 对黄瓜幼苗叶片 qP 、 NPQ 和 $Y(NO)$ 的影响
Fig.4 Effects of 5 - azaC concentrations on qP , NPQ and $Y(NO)$ of cucumber seedlings under low temperature

2.5 低温下不同浓度 5 - azaC 处理对黄瓜幼苗光化学速率、天线热耗散速率及其分配比例影响
利用荧光参数可将植物叶片吸收的光能分为三个部分:天线上耗散的能量 D 、反应中心由非光化学反应耗散的能量 E_x 、用于光化学反应的部分 P 。通过计算它们占总吸收光能的百分比,可以了解植物的光能利用能力。

由图 5(A, B, C)可知,与低温 0 h 相比,低温处理 24 h 和 49 h,黄瓜幼苗叶片反应中心用于光化学

反应的能量(P)逐渐降低,用于反应中心由非光化学反应耗散的能量(Ex)和天线上耗散的能量(D)逐渐增高。其中喷施 $500 \sim 800 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 5-azaC 处理与对照相比 P 值逐渐升高。与此相对应,说明喷施 5-azaC 可以提高黄瓜幼苗叶片反应中心用于光化学反应的能量所占的比例。

PS I 和 PS II 间激发能分配不平衡性可用 β/α - 1 表示。由图 5(D)可知,黄瓜幼苗叶片 PS I 和 PS

II 间激发能分配偏离平衡程度与低温处理时间成正比,即随低温处理时间增加,黄瓜幼苗叶片偏离平衡的程度越严重。从不同浓度处理下叶片 PS I 和 PS II 间激发能分配平衡偏离系数($\beta/\alpha - 1$)来看, $500 \sim 800 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 5-azaC 处理促使黄瓜幼苗叶片 PS I 和 PS II 间激发能分配偏离平衡程度较小,有利于两个光系统之间彼此传递的协调。

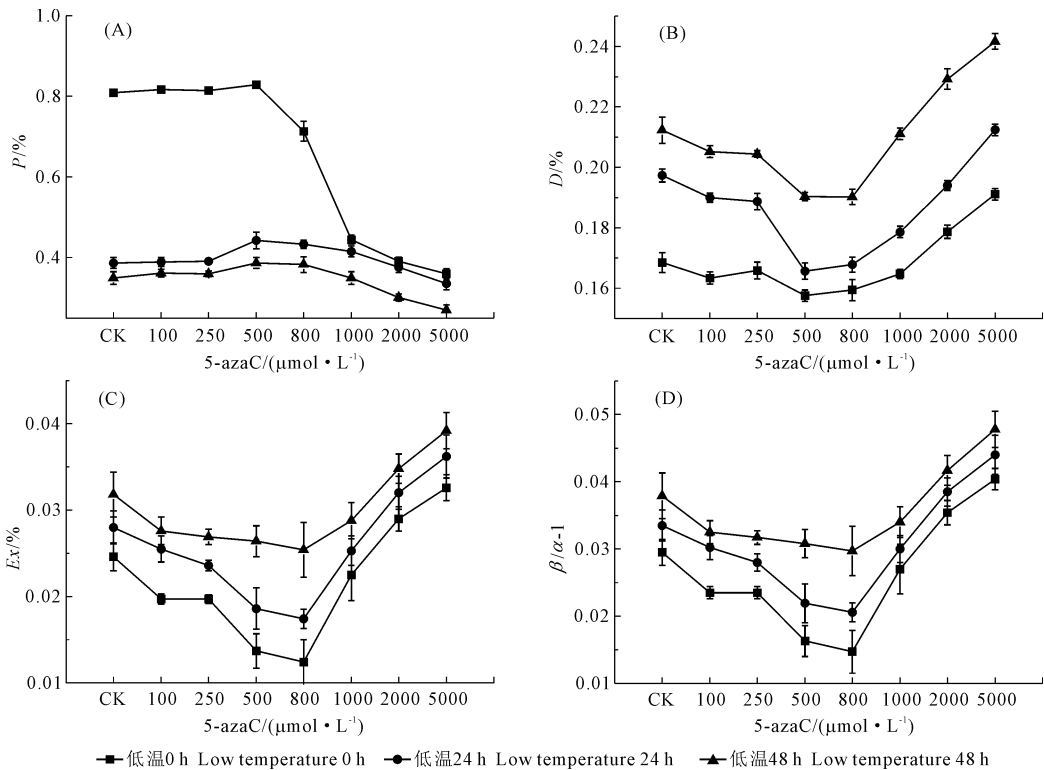


图 5 低温下不同浓度的 5-azaC 对黄瓜幼苗叶片光能分配和光系统激发能分配的影响

Fig.5 Effects of 5-azaC concentrations on the allocation of absorbed light of cucumber seedlings under low temperature

3 讨 论

植物的低温伤害始于细胞膜系统。细胞膜透性增大将会导致一系列代谢变化,最终造成细胞死亡^[27]。本研究结果表明,随着低温时间的延长,与低温 0 h 相比,低温 24 h 和 48 h,黄瓜幼苗叶片相对电导率值明显增加,说明已经对黄瓜幼苗膜系统造成了伤害,而 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 5-azaC 处理显著降低了低温对细胞膜的伤害,因而起到了抗冷的作用。这可能与 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 5-azaC 处理能够显著提高黄瓜叶片 SOD、CAT、APX 和 GR 抗氧化酶活性清除过多活性氧有关^[28]。

低温能够直接影响植物光合器官的结构和活性,也可以通过对植物生理过程作用间接影响植物光合作用。低温导致植物光合作用下降的因素有气

孔因素也有非气孔因素。Farquhar 等^[29]认为植物叶片净光合速率下降的主要原因有两方面:(1) 由于气孔导度下降, CO_2 的供应受到阻滞;(2) 植物叶片叶肉细胞光合性能下降,导致叶肉细胞同化 CO_2 的能力下降,这样就会导致胞间 CO_2 浓度升高。本试验结果表明,低温下,黄瓜幼苗叶片的 P_n 、 $\Phi\text{PS II}$ 和 F_v/F_m 明显降低,胞间 CO_2 浓度(C_i)显著升高($P < 0.05$),由此可以看出 P_n 值下降是由非气孔因素限制。同时也说明叶片的光能转换效率降低,增加了过刺激能,从而引起光抑制,叶片的光合机构受到伤害。这与前人的研究结果^[30]相一致。本试验中,低温下喷施 $500 \sim 800 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 5-azaC 预处理的 P_n 、 $\Phi\text{PS II}$ 和 F_v/F_m 的增幅较大,说明适宜浓度的 5-azaC 能够通过调节低温下黄瓜幼苗叶片的光合功能来减轻低温对植株的伤害。

叶绿体吸收的光能除用于光合作用外,还有一部分在形成同化力之前以热耗散的形式流失和以荧光的形式重新发射出来。低温下,光化学猝灭系数(qP)呈降低趋势。但喷施 $500 \sim 800 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 5-azaC 处理可以提高低温下黄瓜幼苗叶片的 qP 值,即提高了叶片捕获的激发能中用于推动光化学反应的部分所占比例。而非光化学猝灭系数(NPQ)呈现升高的趋势,说明黄瓜叶片为保护光合机构免遭破坏迅速启动热耗散,以耗散过剩能量,是植物适应低温的体现。 $Y(NO)$ 的趋势与 NPQ 一致,但喷施 $500 \sim 800 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 5-azaC 可减缓 NPQ 下降程度,减缓低温对黄瓜幼苗叶片造成的光损伤。

本试验中通过测算叶片的光化学速率、天线耗散速率及其占总吸收光能的比例,了解黄瓜叶片在低温下的光能利用能力。结果表明,低温条件下,吸收光强分配于光化学反应的部分降低,而用于天线热耗散比例和反应中心由非光化学反应耗散的能量逐渐升高,且主要以光化学反应的部分为主要光能分配途径。经 5-azaC 处理的黄瓜幼苗叶片与低温对照相比,吸收光强分配于光化学反应的部分先减少(低温 24 h)后增加(低温 48 h),而天线热耗散比例先增加后减少,这种变化可以认为低温处理 24 h,植物对逆境的一种适应能力,激发能天线热耗散比例增加,低温处理 48 h,反应中心用于非光化学反应耗散的能量开始升高,这部分能量由于反应中心的关闭不能用于光化学反应,只能作为过剩光能由反应中心以非光学反应的形式加以耗散,在耗散过程中,能量可能会传递至 O_2 ,形成破坏性极大的单线态 1O_2 ^[31],并形成各种活性氧分子,对叶绿体和细胞造成氧化损伤。从黄瓜幼苗叶片 PS I 和 PS II 间激发能分配平衡偏离系数($\beta/\alpha-1$)来看,随着低温处理时间积累, ($\beta/\alpha-1$)逐渐增大,说明植物叶片的两个光系统间激发能分配已严重失衡。经 $500 \sim 1\,000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 5-azaC 处理与低温对照相比偏离平衡的程度较小,说明适宜的浓度可以在一定程度上减缓两个光系统间激发能失衡程度。

综上所述, $500 \sim 800 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 5-azaC 处理可明显缓解低温对黄瓜幼苗叶片细胞膜的伤害,并且在一定程度上抑制了膜脂过氧化作用,降低叶片细胞伤害率; $500 \sim 800 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 5-azaC 处理可促使黄瓜幼苗在低温下的净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(Tr)的升高,胞间 CO_2 浓度(C_i)的降低;同时也促进 PS II 的最大光化学效率(F_v/F_m)、实际光化学效率(Φ_{PSII})、光合电子传递效率(ETR)和光化学猝灭系数(qP)的升高,非光化学猝

灭系数(NPQ)和叶片光化学猝灭参数[$Y(NO)$]的降低。上述结果表明,低温下, $500 \sim 800 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 5-azaC 处理有助于维持黄瓜叶片中较高的光系统活性和碳同化能力,从而保护光合系统,降低低温胁迫对植物的损伤,提高黄瓜幼苗的耐冷性。但 5-azaC 处理对黄瓜幼苗低温下光合特性的影响机理及对以后黄瓜植株生长、产量及品质等的影响,还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Finnegan E J, Kovac K A. Plant DNA methyltransferases[J]. Plant Molecular Biology, 2000,43:189-201.
- [2] Chan S W, Henderson I R, Jacobsen S E. Gardening the genome: DNA methylation in Arabidopsis thaliana[J]. Nature Reviews Genetics, 2005,6:351-360.
- [3] Bird A. DNA methylation de novo[J]. Science, 1999,286(5448):2287-2288.
- [4] Finnegan E J, Peacock W J, Dennis E S. DNA methylation, a key regulator of plant development and other processes[J]. Current Opinion in Genetics & Development, 1996,10(2):217-223.
- [5] Lukens L N, Zhan S. The plant genome's methylation status and response to stress; implications for plant improvement[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2007,10(3):317-322.
- [6] Choic S, Sano H. Abiotic-stress induces demethylation and transcriptional activation of a gene encoding a glycerophosphodiesterase-like protein in tobacco plants[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2007,277:589-600.
- [7] Steward N, Ito M, Yamaguchi Y, et al. Periodic DNA methylation in maize nucleosomes and demethylation by environmental stress[J]. Journal of Biological Chemistry, 2002,277(40):37741-37746.
- [8] 华 扬,陈学峰,熊建华,等.水稻冷胁迫诱导的甲基化差异片段 CIDM7 的分离和分析[J].遗传,2005,27(4):595-600.
- [9] Hashida S N, Kitamura K, Mikami T, et al. Temperature shift coordinately changes the activity and the methylation state of transposon Tam 3 in Antirrhinum majus[J]. Plant Physiology, 2003,132(3):1207-1216.
- [10] Hashida S N, Uchiyama T, Martin C, et al. The temperature-dependent change in methylation of the Antirrhinum transposon Tam 3 is controlled by the activity of its transposase[J]. The Plant Cell Online, 2006,18(1):104-118.
- [11] Shan X H, Wang X Y, Yang G, et al. Analysis of the DNA methylation of maize (*Zea mays* L.) in response to cold stress based on methylation-sensitive amplified polymorphisms[J]. Journal of Plant Biology, 2013,56(1):32-38.
- [12] Santi D V, Garrett C E, Barr P J. On the mechanism of inhibition of DNA - cytosine methyltransferases by cytosine analogs[J]. Cell, 1983,33(1):9-10.
- [13] Sano H, Kamada I, Youssefian S, et al. A single treatment of rice seedlings with 5-aza Cytidine in duces heritable dwarfism and under-methylation of genomic DNA[J]. Molecular and General Genetics, 1990,220(3):441-447.

[14] King G J. Morphological development in brassica oleracea is modulated by in - vivo treatment with 5 - azaCytidine[J]. Journal of Horticultural Science, 1995,70(2):333.

[15] Burn J E, Bagnall J, Metzger J D, et al. DNA methylation, vernalization, and the initiation of flowering[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1993,90(1):287-291.

[16] Kondo H, Shiraya T, Wada K C, et al. Induction of flowering by DNA demethylation in perilla frutescens and silene armeria; heritability of 5 - azacytidine - induced effects and alteration of the DNA methylation state by photoperiodic conditions [J]. Plant Science, 2010,178(3):321-326.

[17] 李梅兰,曾广文,朱祝军.5 - 氮杂胞苷促进白菜开花的效应分析[J].浙江大学学报(农业与生命科学版),2003,29(3):287-290.

[18] 许会会,刘维信,孙 艳,等.5 - 氮杂胞苷对白菜幼苗 DNA 甲基化和耐热性的影响[J].园艺学报,2012,39(3):567-573.

[19] Cabrera R M, Saltveit M E, Owens K. Cucumber cultivars differ in their response to chilling temperatures[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 1992,117:802-807.

[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报,2004,30(2):153-160.

[21] Allen D J, Ort D R. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants[J]. Trends in Plant Science, 2001,6:36-42.

[22] 中国科学院上海植物生理研究所.现代植物生理学实验技术指南[M].北京:科学出版社,1999:302-303.

[23] Demming - Adam B, Adams W W I I I. Xanthophyll cycle and light stress in nature: Uniform response to excess direct sunlight among higher plant species[J]. Plant, 1966,198:460-470.

[24] Genty B, Briantais J M, Baker N R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence [J]. Biochimica Biophysica Acta, 1989, 990:87-92.

[25] Maxwell K, Johnson G N. Chlorophyll fluorescencea practical guide [J]. Journal of Experimental Botany, 2000,51(345):659-668.

[26] 肖文静,孙建磊,王绍辉.适度水分胁迫提高黄瓜幼苗光合作用弱光适应性[J].园艺学报,2010,37(9):1439-1448.

[27] 薛国希,高辉远,李鹏民.低温下壳聚糖处理对黄瓜幼苗生理生化特性的影响[J].植物生理与分子生物学报,2004,30(4):441-448.

[28] 邢潇晨,崔金霞,刘慧英,等.不同浓度 5 - azaC 处理对低温弱光胁迫下黄瓜幼苗抗氧化酶活性的影响[J].石河子大学学报,2014,(32):422-426.

[29] Farquhar G D, Sharkey T D. Stomatal conductance and photosynthesis[J]. Annual Review of Plant Physiology, 1982,33:317-345.

[30] 刘 伟,艾希珍,梁文娟,等.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[J].应用生态学,2009,20(2):441-445.

[31] Edreva A. Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: A submolecular approach. Agriculture[J]. Ecosystems and Environment, 2005,106:119-133.

(上接第 82 页)

[3] 闫映宇,赵成义,盛 钰,等.膜下滴灌对棉花根系、地上部分生物量及产量的影响[J].应用生态学报,2009,20(4):970-976.

[4] Bange M P, Milroy S P. Growth and dry matter partitioning of diverse cotton genotypes[J]. Field Crop Research, 2004,87(1):73-87.

[5] 高小丽,孙健敏,高金锋,等.不同绿豆品种花后干物质积累与转运特性[J].作物学报,2009,35(9):1715-1721.

[6] 李国强,汤 亮,张文宇,等.不同株型小麦干物质积累与分配对氮肥响应的动态分析[J].作物学报,2009,35(12):2258-2265.

[7] 张旺峰,李蒙春,杨新军.北疆高产棉花干物质积累的模拟[J].石河子大学学报,1998,2(2):87-92.

[8] 李文炳,潘大陆.棉花实用新技术[M].济南:山东科学技术出版社,1992:5-6.

[9] 周晓彬,段洪波,舒 冰,等.钾肥用量对棉花干物质的影响[J].湖北农业科学,2011,50(12):2398-2401.

[10] 王志才,李存东,张永江,等.种植密度对棉花主要群体质量指标的影响[J].棉花学报,2011,23(3):284-288.

[11] 肖莢南,谢光辉,郭向东,等.不同栽培密度下棉花干物质累积的模拟[J].北京农业大学学报,1993,19(1):17-25.

[12] 骆雪娇.棉花不同密度效应研究[D].武汉:华中农业大学,2010.

[13] 杨秀理,朱 江,李鲁华.株行距配置方式对棉花不同层次干物质积累的影响[J].石河子大学学报,2006,24(4):401-405.

[14] 赵中华,刘德章,郭美丽.棉花群体冠层结构与干物质生产及产量的关系[J].棉花学报,1997,9(2):90-94.

[15] 薛晓萍,王建国,郭文琦,等.氮素水平对初花后棉株生物量、氮素累积特征及氮素利用率动态变化的影响[J].生态学报,2006,26(11):3631-3640.

[16] 唐灿明,朱广春.铃重及其构成因素的相关分析[J].中国棉花,1990,(6):9-10.

[17] 马新明,李秉柏.棉花铃重模拟模型研究[J].棉花学报,1999,11(5):278-279.

[18] 夏绍南,陈 宜,张丽娟,等.黄河流域棉花品种在江西棉区的生长发育分析[J].棉花科学,2015,37(4):47-53.