

# 亚低温条件下外源褪黑素和 $\text{Ca}^{2+}$ 对西瓜幼苗生理特性的影响

吴 燕<sup>1</sup>, 耿书德<sup>2</sup>, 王向向<sup>1</sup>, 高青海<sup>1</sup>, 孟凡豹<sup>3</sup>

(1. 安徽科技学院 安徽凤阳 233100; 2. 临邑县自然资源局 山东临邑 251500;  
3. 安徽省益丰生态农业科技有限公司 安徽固镇 233700)

**摘 要:**以西瓜品种 8424 种子和幼苗为试材,利用人工气候室进行亚低温处理(昼/夜 18 °C/12 °C)20 d,研究外源褪黑素(MT)和  $\text{Ca}^{2+}$  浸种处理对亚低温条件下西瓜种子萌发,西瓜幼苗抗氧化酶 SOD、POD 和 CAT 等活性,渗透调节物质可溶性糖和脯氨酸含量的影响。结果表明,亚低温处理的西瓜种子发芽率和发芽势仅为 46.5%和 40.5%,外源 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  褪黑素和 5  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}^{2+}$  复合浸种处理西瓜种子发芽率和发芽势分别达到 62.3%和 58.5%。外源褪黑素和  $\text{Ca}^{2+}$  浸种处理显著提高了抗氧化酶 SOD、POD、CAT 和 APX 活性,促进了渗透调节物质可溶性糖和脯氨酸的积累,有效缓解亚低温对西瓜种子萌发和幼苗生长影响;褪黑素和  $\text{Ca}^{2+}$  复合浸种西瓜幼苗在出苗第 20 天时植株鲜质量达到 8.21  $\text{g}\cdot\text{株}^{-1}$ ,达到对照处理的 85.5%。综上,外源褪黑素和  $\text{Ca}^{2+}$  能通过提高西瓜幼苗抗氧化酶活性和渗透调节能力等,缓解亚低温的不良影响,促进西瓜幼苗生长。

**关键词:**西瓜;幼苗;亚低温;褪黑素; $\text{Ca}^{2+}$ ;生理特性

中图分类号:S651 文献标志码:A 文章编号:1673-2871(2022)02-061-06

## Effects of exogenous melatonin and $\text{Ca}^{2+}$ on physiological characteristics of watermelon seedlings under sub-low temperature

WU Yan<sup>1</sup>, GENG Shude<sup>2</sup>, WANG Xiangxiang<sup>1</sup>, GAO Qinghai<sup>1</sup>, MENG Fanbao<sup>3</sup>

(1. Anhui Science and Technology University, Fengyang 233000, Anhui, China; 2. Linyi County Natural Resources Bureau, Linyi 251500, Shandong, China; 3. Anhui Yifeng Ecological Agriculture Technology Co., Ltd, Guzhen 233700, Anhui, China)

**Abstract:** The seeds and seedlings of watermelon cultivar 8424 were treated with sub-low temperature (day/night 18 °C/12 °C) for 20 days in an artificial climate chamber to study the effects of exogenous melatonin (MT) and  $\text{Ca}^{2+}$  on germination, activities of antioxidant enzymes (SOD, POD and CAT), and contents of soluble sugar and proline. The results showed that the germination rate and germination potential of watermelon seeds treated with sub-low temperature were only 46.5% and 40.5%, and those treated with 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  melatonin and 5  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ca}^{2+}$  were 62.3% and 58.5%, respectively. Exogenous melatonin and  $\text{Ca}^{2+}$  treatment significantly increased the activities of antioxidant enzymes (SOD, POD, CAT and APX), promoted the accumulation of osmotic adjustment substances (soluble sugar and proline), and effectively alleviated the effect of sub-low temperature on watermelon seed germination and seedling growth. The seedling fresh weight treated with melatonin and  $\text{Ca}^{2+}$  reached 8.21  $\text{g}\cdot\text{plant}^{-1}$  on the 20th day of emergence, which was 85.5% of the control.

**Key words:** Watermelon; Seedlings; Sub-low temperature; Melatonin;  $\text{Ca}^{2+}$ ; Physiological characteristics

西瓜为葫芦科西瓜属一年生水果型蔬菜。西瓜喜光耐热不耐寒,在世界上均有广泛栽培。在早春大棚西瓜栽培中经常遇到低温或亚低温环境,研究表明,低温不仅影响西瓜种子萌发<sup>[1]</sup>,同时也影响西瓜的生长发育,低温条件下,西瓜幼苗生长受到

抑制、授粉受精不良、果实容易发育成畸形果<sup>[2]</sup>。低温逆境胁迫下,西瓜植株会产生大量活性氧自由基,西瓜为适应低温逆境环境会提高自身保护酶 SOD、POD、CAT 等的活性,促进可溶性糖、脯氨酸等渗透调节物质的积累<sup>[3-4]</sup>。

收稿日期:2021-01-20;修回日期:2021-03-30

基金项目:安徽省科技重大专项(202003b06020029)

作者简介:吴 燕,女,副教授,主要从事植物生理及栽培技术与推广。E-mail:wuy@ahstu.edu.cn

通信作者:高青海,男,教授,主要从事瓜类作物生理及栽培技术与推广。E-mail:gaoqh1977@163.com

褪黑素(Melatonin, MT)是一类重要的吲哚类化合物,广泛存在于动植物体内<sup>[5]</sup>。前人研究表明,褪黑素不仅能提高苜蓿、黄瓜、番茄、香椿等<sup>[5-8]</sup>植物种子在逆境胁迫下的萌发,而且能通过提高植物抗氧化酶 SOD、CAT 和 APX 等的活性,增加细胞内脯氨酸含量,降低细胞相对电导率和丙二醛含量等途径提高植物抵御逆境胁迫。外源钙能够显著提高辣椒幼苗叶片抗氧化酶活性、增加可溶性糖含量、降低丙二醛含量,从而提高辣椒幼苗抗寒性<sup>[9]</sup>。目前针对外源物质褪黑素和钙提高作物耐寒性研究主要集中在黄瓜、甜瓜、茄子等<sup>[6, 10-11]</sup>作物上,褪黑素和钙在提高西瓜耐寒性上是否有协同作用等目前还不清楚。为此,笔者以西瓜为材料,通过浸种处理西瓜种子,研究外源物质褪黑素和钙对西瓜耐寒性的影响,为西瓜耐寒性研究及生产应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

西瓜品种为早佳 8424,为长三角地区主栽西瓜品种,由安徽科技学院农学院园艺教研室提供。试验于 2020 年 1—5 月在安徽科技学院种植科技园日光温室及园艺实验室进行。

### 1.2 试验设计

选择大小一致无病虫害的西瓜种子,每个处理 100 粒,3 次重复,将精选西瓜种子在 28 °C 条件下浸种 24 h,中间换水 6 次,浸种处理分别为蒸馏水(CK)、蒸馏水(LT,亚低温处理)、100 μmol·L<sup>-1</sup>MT 溶液(LT+MT)、5 mmol·L<sup>-1</sup>CaCl<sub>2</sub> 溶液(LT+Ca<sup>2+</sup>)、100 μmol·L<sup>-1</sup>MT+5 mmol·L<sup>-1</sup>CaCl<sub>2</sub> 溶液(LT+MT+Ca<sup>2+</sup>);然后放置在人工气候箱中,控制不同的温度条件进行催芽。其中,对照处理西瓜种子放置 28 °C 条件下催芽,其余亚低温处理则放置在昼/夜 18 °C/12 °C 条件下进行催芽,光照时间为每天 12 h。

待种子发芽后开始统计发芽率。将发芽的种子播种于装有基质的 32 孔穴盘中,然后继续在培养箱中培养。在西瓜出苗后第 5、第 10、第 15、第 20 天时测定西瓜幼苗的鲜质量。在第 20 天时取样测定西瓜幼苗的生理指标,各生理指标重复测定 3 次。

### 1.3 测定指标及方法

1.3.1 发芽率和发芽势的测定 对照处理催芽的西瓜种子第 3 天开始统计发芽率和发芽势;亚低温处理催芽的西瓜种子在第 5 天开始统计发芽势,第 7 天统计发芽率。

$$\text{发芽率}/\% = \frac{\text{发芽种子数}}{\text{种子总数}} \times 100;$$

$$\text{发芽势}/\% = \frac{\text{规定天数发芽种子数}}{\text{种子总数}} \times 100。$$

1.3.2 西瓜植株鲜质量测定 将西瓜幼苗用清水洗净,植株表面的水分用纸巾吸干,尽量避免损坏根系与叶片,称量西瓜整株鲜质量,每个处理取 5 株,4 次重复。

1.3.3 抗氧化酶活性的测定 在亚低温处理第 20 天时,每处理分别称取 0.5 g 新鲜叶片,在研钵中用液氮研磨成粉末,将研磨后的粉末混匀到 10 mL 含有 1 mmol·L<sup>-1</sup>EDTA 和 1% 聚乙烯吡咯烷酮(PVP)的 50 mmol·L<sup>-1</sup>的磷酸缓冲液(pH 7.0)中。4 °C 15 000 r·min<sup>-1</sup> 高速冷冻离心 20 min,取上清液用于酶的活性检测。参照李合生<sup>[12]</sup>的方法进行过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性的测定,参照 Zhu 等<sup>[13]</sup>的方法进行抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的测定。

1.3.4 叶片相对电导率和 MDA 含量的测定 在亚低温处理第 20 天时,测定西瓜幼苗叶片相对电导率和丙二醛(MDA)含量,具体试验步骤参照高俊凤<sup>[14]</sup>的方法。

1.3.5 叶片脯氨酸和可溶性糖含量测定 在亚低温处理第 20 天时,测定西瓜幼苗叶片脯氨酸和可溶性糖含量,具体试验步骤参照高俊凤<sup>[14]</sup>的方法。

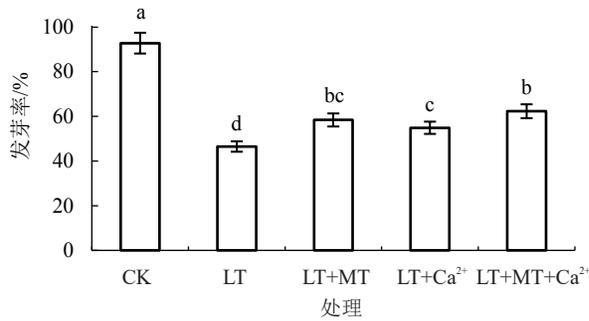
### 1.4 数据处理

采用 WPS 2016 和 SPSS 19.0 软件对数据进行处理和统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 亚低温条件下外源 MT 和 Ca<sup>2+</sup>对西瓜种子发芽率和发芽势的影响

从图 1 和图 2 中可以看出,与对照相比,亚低温处理显著影响西瓜种子的发芽,西瓜种子的发芽率和发芽势显著降低。亚低温处理下,外源 100 μmol·L<sup>-1</sup>褪黑素和 5 mmol·L<sup>-1</sup>Ca<sup>2+</sup>浸种处理可以促进西瓜种子萌发,外源褪黑素处理的西瓜种子发芽率和发芽势分别为 58.39% 和 50.58%,外源 100 μmol·L<sup>-1</sup>褪黑素和 5 mmol·L<sup>-1</sup>Ca<sup>2+</sup>复合浸种处理西瓜种子达到发芽率和发芽势分别为 62.30% 和 58.52%,而亚低温处理的西瓜种子发芽率仅为 46.51%。由此说明外源褪黑素和 Ca<sup>2+</sup>浸种可以促进西瓜种子萌发,二者复合浸种促进效果更为显著。



注:不同小写字母表示在0.05水平差异显著。下同。

图1 亚低温条件下外源褪黑素和Ca<sup>2+</sup>对西瓜种子发芽率的影响

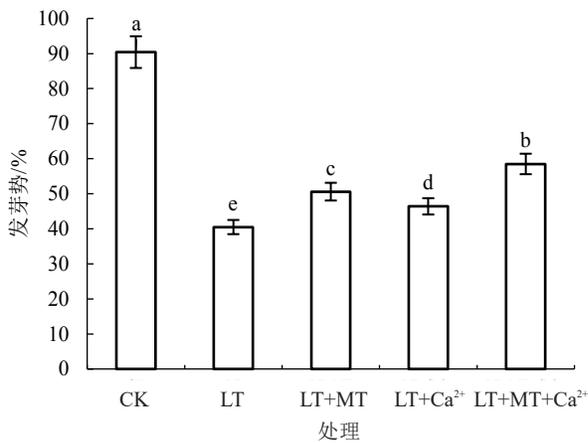


图2 亚低温条件下外源褪黑素和Ca<sup>2+</sup>对西瓜种子发芽势的影响

### 2.2 亚低温条件下外源MT和Ca<sup>2+</sup>对西瓜幼苗生长的影响

由图3可以看出,与常温处理相比,亚低温条件下西瓜幼苗生长缓慢,植株鲜质量增加较少,而外源物质浸种处理可以促进西瓜幼苗的生长。在幼苗生长到20 d时,亚低温处理的西瓜幼苗单株鲜

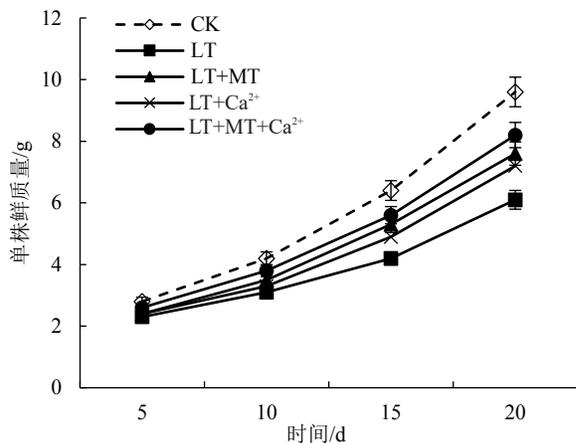


图3 亚低温条件下外源褪黑素和Ca<sup>2+</sup>对西瓜幼苗鲜质量的影响

质量为6.10 g,外源100 μmol·L<sup>-1</sup>褪黑素和5 mmol·L<sup>-1</sup>Ca<sup>2+</sup>浸种可以促进西瓜幼苗的生长,尤其是褪黑素和Ca<sup>2+</sup>复合浸种西瓜,西瓜幼苗在20 d时单株鲜质量达到8.21 g,达到对照处理的85.42%。由此说明,外源褪黑素和Ca<sup>2+</sup>浸种处理可以促进西瓜幼苗在亚低温条件下生长。

### 2.3 亚低温条件下外源MT和Ca<sup>2+</sup>对西瓜幼苗叶片SOD和POD酶活性的影响

从图4和图5中可以看出,与常温处理相比,亚低温处理下西瓜幼苗叶片保护酶SOD和POD活性升高,外源100 μmol·L<sup>-1</sup>褪黑素和5 mmol·L<sup>-1</sup>Ca<sup>2+</sup>浸种处理可显著提高西瓜幼苗的SOD和POD活性,尤其是外源褪黑素和Ca<sup>2+</sup>复合浸种处理,西瓜幼苗SOD和POD活性分别达到69.43 U·mg<sup>-1</sup>和23.61 U·mg<sup>-1</sup>,比对照处理提高94.94%和306.90%。由此说明,亚低温处理下,外源褪黑素和Ca<sup>2+</sup>浸种处理可以提高西瓜幼苗保护酶SOD和POD活性。

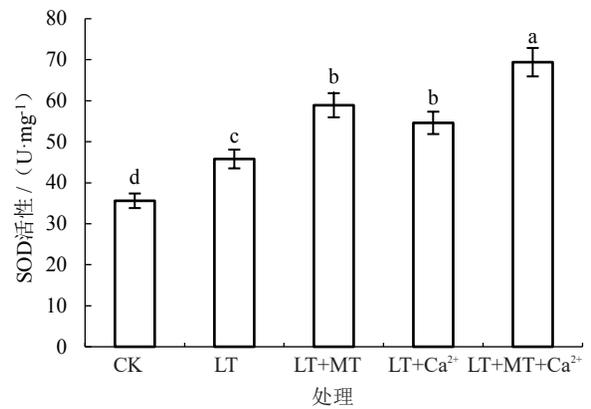


图4 亚低温条件下外源褪黑素和Ca<sup>2+</sup>对西瓜幼苗叶片SOD酶活性的影响

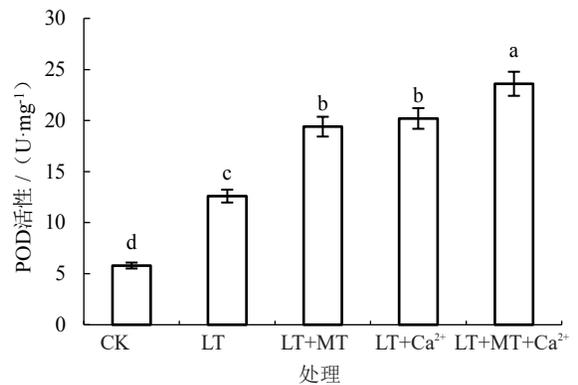


图5 亚低温条件下外源褪黑素和Ca<sup>2+</sup>对西瓜幼苗叶片POD酶活性的影响

### 2.4 亚低温条件下外源MT和Ca<sup>2+</sup>对西瓜幼苗叶片CAT和APX酶活性的影响

从图6和图7中可以看出,与常温处理相比,

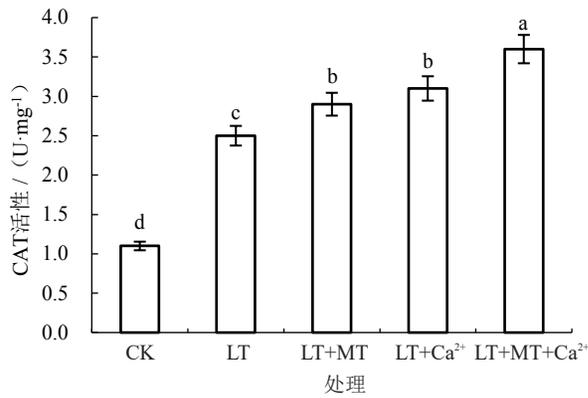


图6 亚低温条件下外源褪黑素和 Ca<sup>2+</sup>对西瓜幼苗叶片CAT酶活性的影响

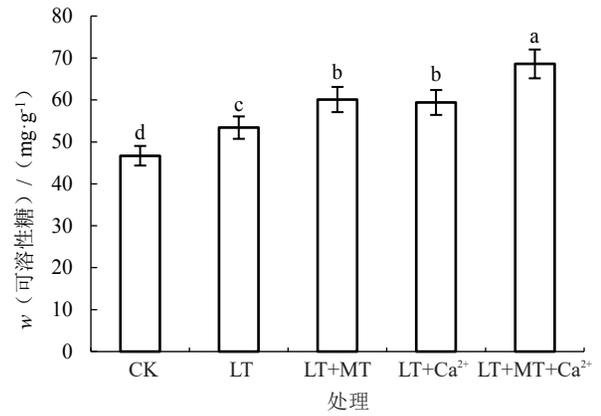


图8 亚低温条件下外源褪黑素和 Ca<sup>2+</sup>对西瓜幼苗叶片可溶性糖含量的影响

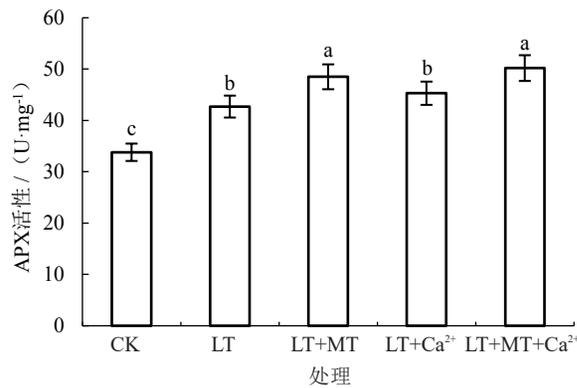


图7 亚低温条件下外源褪黑素和 Ca<sup>2+</sup>对西瓜幼苗叶片APX酶活性的影响

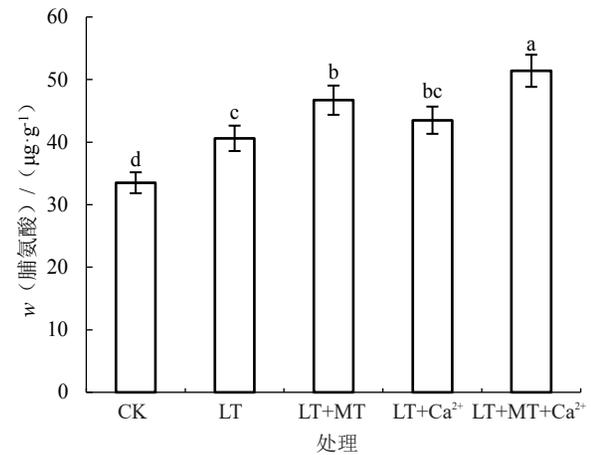


图9 亚低温条件下外源褪黑素和 Ca<sup>2+</sup>对西瓜幼苗叶片脯氨酸含量的影响

亚低温处理下西瓜幼苗叶片保护酶CAT和APX活性升高,外源100 μmol·L<sup>-1</sup>褪黑素和5 mmol·L<sup>-1</sup>Ca<sup>2+</sup>浸种处理可显著提高西瓜幼苗CAT和APX活性,尤其是外源褪黑素和Ca<sup>2+</sup>复合浸种处理,西瓜幼苗CAT和APX活性分别为3.62 U·mg<sup>-1</sup>和50.21 U·mg<sup>-1</sup>,比对照处理提高了227.27%和48.52%。由此说明,亚低温处理下,外源褪黑素和Ca<sup>2+</sup>浸种处理可以提高西瓜幼苗保护酶CAT和APX活性。

### 2.5 亚低温条件下外源MT和Ca<sup>2+</sup>对西瓜幼苗叶片可溶性糖和脯氨酸含量的影响

从图8和图9中可以看出,与常温处理相比,亚低温处理下西瓜幼苗叶片渗透调节物质可溶性糖和脯氨酸含量均显著升高,外源100 μmol·L<sup>-1</sup>褪黑素和5 mmol·L<sup>-1</sup>Ca<sup>2+</sup>浸种处理可显著提高西瓜幼苗叶片渗透调节物质的积累。其中,褪黑素处理西瓜幼苗叶片可溶性糖和脯氨酸含量分别为60.13 mg·g<sup>-1</sup>和46.71 μg·g<sup>-1</sup>,外源Ca<sup>2+</sup>浸种处理西瓜幼苗叶片可溶性糖和脯氨酸含量分别为59.40 mg·g<sup>-1</sup>和43.52 μg·g<sup>-1</sup>,外源褪黑素和Ca<sup>2+</sup>复合浸种处理效

果更加显著。

### 2.6 亚低温条件下外源MT和Ca<sup>2+</sup>对西瓜幼苗叶片MDA含量和相对电导率的影响

由图10和图11中可以看出,与常温处理相比,亚低温处理下西瓜幼苗叶片MDA含量和相对电导率值显著升高,外源100 μmol·L<sup>-1</sup>褪黑素和5 mmol·L<sup>-1</sup>Ca<sup>2+</sup>浸种处理可显著降低西瓜幼苗MDA含量和相对电导率,尤其是外源褪黑素和Ca<sup>2+</sup>复合浸种处理,西瓜幼苗MDA含量和相对电导率分别为2.90 nmol·g<sup>-1</sup>和23.82%,比亚低温处理西瓜幼苗叶片MDA含量和相对电导率分别降低了25.64%和19.05%。由此说明,亚低温处理下,外源褪黑素和Ca<sup>2+</sup>浸种处理可以降低西瓜幼苗叶片细胞膜受损。

## 3 讨论与结论

亚低温为一种常见的逆境气候条件,尤其是早春设施栽培中经常遇到。亚低温条件不仅抑制植物的生长,植株生长缓慢,而且可引起植物落花落

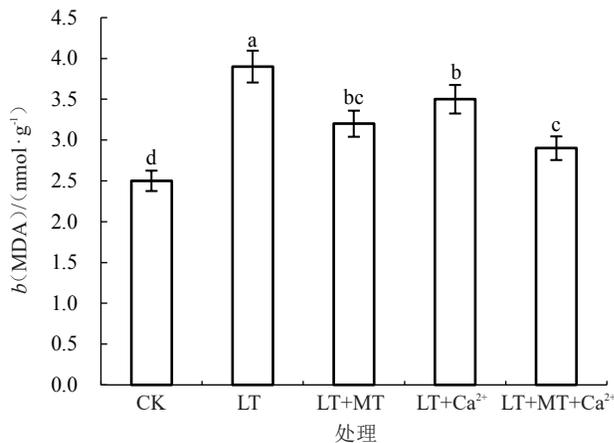


图 10 亚低温条件下外源褪黑素和 Ca<sup>2+</sup>对西瓜幼苗叶片丙二醛含量的影响

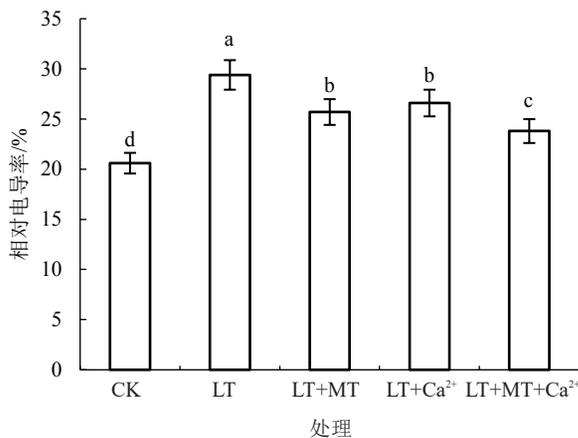


图 11 亚低温条件下外源褪黑素和 Ca<sup>2+</sup>对西瓜幼苗叶片相对电导率的影响

果,果实发育畸形<sup>[10,15]</sup>。前人研究表明,17℃以下的低温处理显著降低了西瓜种子的发芽率和发芽势<sup>[1]</sup>。本研究结果表明,亚低温处理降低了西瓜种子的发芽率和发芽势,外源褪黑素和 Ca<sup>2+</sup>浸种处理可以显著提高西瓜种子的发芽率和发芽势,促进西瓜幼苗的生长。在外源褪黑素促进作物种子萌发时,不同作物对褪黑素浓度需求有所差异,陈莉等<sup>[16]</sup>在棉花上的研究显示,低浓度褪黑素具有提高棉花种子发芽率和发芽势、增加幼苗生物量的效果。

作为一种广泛存在于植物体内的调节物质褪黑素,能调节植物抗氧化酶活性,促进渗透调节物质脯氨酸的积累。前人研究结果发现,外源褪黑素可以提高黄瓜叶片 SOD、POD、CAT 等抗氧化酶的活性,缓解低温胁迫对植物细胞造成的伤害,提高植物的抗寒性<sup>[17-18]</sup>。本研究结果表明,亚低温条件下西瓜幼苗叶片保护酶 SOD、POD、CAT 和 APX 活性显著升高,外源褪黑素和 Ca<sup>2+</sup>浸种可以显著提高西瓜幼苗叶片保护酶活性,尤其是褪黑素和 Ca<sup>2+</sup>复

合浸种效果更好。这是由于亚低温条件下,植物细胞内活性氧清除能力下降,导致叶片中 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub><sup>-</sup>含量的增加,细胞膜受到破坏,表现在细胞相对电导率和 MDA 含量增加,作物生长受到抑制<sup>[19]</sup>;外源褪黑素和 Ca<sup>2+</sup>处理可显著提高西瓜叶片保护酶活性,促进渗透调节物质的积累,有效缓解亚低温环境对西瓜细胞膜造成的不利影响,表现在西瓜幼苗相对电导率和 MDA 含量显著降低,进而起到缓解低温胁迫效果,促进作物在亚低温环境下生长。吴雪霞等<sup>[11]</sup>在茄子上也有类似研究结果。

总之,亚低温环境条件抑制了西瓜种子萌发,种子发芽率和发芽势显著降低,幼苗生长受到明显抑制;外源褪黑素和 Ca<sup>2+</sup>浸种处理显著提高了西瓜幼苗抗氧化酶 SOD、POD、CAT 和 APX 活性,促进了西瓜幼苗渗透调节物质可溶性糖和脯氨酸的积累,有效缓解亚低温对西瓜种子萌发和幼苗生长的影响。本试验条件下,外源褪黑素和 Ca<sup>2+</sup>复合处理缓解亚低温效果较好。

#### 参考文献

- [1] 沈虹,孟佳丽,吴绍军,等.低温胁迫对西瓜种子萌发的影响[J].北方农业学报,2020,48(5):95-103.
- [2] 侯伟,杨福孙,李尚真,等.低温寡照对海南棚栽西瓜生长的影响及其灾害等级指标[J].江苏农业科学,2015,43(8):161-166.
- [3] KOHLI S K, BALI S, TEJPAL R, et al. *In-situ* localization and biochemical analysis of bio-molecules reveals Pb-stress amelioration in *Brassica juncea* L. by co-application of 24-Epibrassinolide and Salicylic Acid[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 3524.
- [4] RASHEED R, WAHID A, ASHRAF M, et al. Role of proline and glycinebetaine in improving chilling stress tolerance in sugarcane buds at sprouting[J]. International Journal of Agriculture and Biology, 2010, 12(1): 1-8.
- [5] 毛培胜,张晔,宋玉梅,等.褪黑素引发对盐胁迫豇豆种子发芽特性的影响[J].种子,2019,38(6):36-42.
- [6] 张海军.褪黑素处理对氯化钠胁迫下黄瓜种子萌发的影响及其分子机制[D].北京:中国农业大学,2016.
- [7] 徐宁,孙晓慧,曹娜,等.外源褪黑素对硝酸盐胁迫下番茄幼苗生长及渗透调节物质的影响[J].中国瓜菜,2020,33(9):23-27.
- [8] 刘珂,张嘉欣,杜清洁,等.外源褪黑素对盐胁迫下香椿种子萌发及幼苗生长的影响[J].中国瓜菜,2020,33(5):53-58.
- [9] 郭晓冬,邹志荣,张化生.硝酸钙浸种对低温下辣椒幼苗渗透调节物质的影响[J].干旱地区农业研究,2008,26(5):160-164.
- [10] 高青海,贾双双,苗永美,等.亚低温条件下外源褪黑素对甜瓜幼苗氮代谢及渗透调节物质的影响[J].应用生态学报,2016,27(2):519-524.
- [11] 吴雪霞,朱宗文,张爱冬,等.外源褪黑素对低温胁迫下茄子幼苗生长及其光合作用和抗氧化系统的影响[J].西北植物学报,

- 2017,37(12):2427-2434.
- [12] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [13] ZHU Z J, WEI G Q, LI J, et al. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. *Plant Science*, 2004, 167(3): 527-533.
- [14] 高俊凤. 植物生理实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [15] 李建明, 王平, 李江. 灌溉量对亚低温下温室番茄生理生化与品质的影响[J]. *农业工程学报*, 2010, 26(2): 129-134.
- [16] 陈莉, 刘连涛, 马彤彤, 等. 褪黑素对盐胁迫下棉花种子抗氧化酶活性及萌发的影响[J]. *棉花学报*, 2019, 31(5): 438-447.
- [17] 赵小红, 罗庆熙, 饶玲. 外源褪黑素在低温胁迫下对黄瓜幼苗抗冷性的影响[J]. *北方园艺*, 2017(14): 55-59.
- [18] BAJWA V S, SHUKLA M R, SHERIF S M, et al. Role of melatonin in alleviating cold stress in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Journal of Pineal Research*, 2014, 56(3): 238-245.
- [19] 尉欣荣, 张智伟, 周雨, 等. 褪黑素对低温和干旱胁迫下多年生黑麦草幼苗生长和抗氧化系统的调节作用[J]. *草地学报*, 2020, 28(5): 1337-1345.