

甜瓜组培苗与实生苗生理生化指标的对比分析

李海伦, 王 琰, 赵卫星, 常高正, 李晓慧, 康利允, 梁 慎, 徐小利, 高宁宁

(河南省农业科学院园艺研究所 郑州 450002)

摘要: 为利用组培技术进行甜瓜遗传育种提供科学支撑, 对 F1 代薄皮甜瓜 '15F9' 的组培苗和实生苗生长过程中若干生理生化指标进行比较分析。结果表明, 薄皮甜瓜组培苗与实生苗在生长过程中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、叶绿素(Chl)、可溶性蛋白(Pr)和丙二醛(MDA)的变化趋势基本一致。SOD 和 POD 活性总体变化先降后升, CAT 活性变化呈先上升后下降趋势, Chl 含量变化呈缓慢上升趋势, Pr 含量变化曲线呈“W”型, MDA 含量呈直线升高。果实单果质量实生苗为 945.84 g 大于组培苗子代的 878.96 g, 果实中心可溶性固形物含量组培苗子代为 14.83% 高于实生苗 12.28%。综合对比分析认为, 组培苗的生长势和品质较好于实生苗。

关键词: 甜瓜; 组培苗; 生理指标

DOI:10.16861/j.cnki.zggc.20190408.006

Comparative study on the physiological and biochemical indexes of tissue culture and seeded seedling of oriental melon

LI Hailun, WANG Yan, ZHAO Weixing, CHANG Gaozheng, LI Xiaohui, KANG Liyun, LIANG Shen, XU Xiaoli, GAO Ningning

(Horticulture Research Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, Henan, China)

Abstract: In order to provide scientific support for oriental melon genetic breeding via tissue culture technique, some physiological and biochemical indexes of tissue culture plantlets and seeded seedling of oriental melon F1 '15F9' were compared and analyzed. The results showed that the variation trend of activities or contents of oxygen dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT), chlorophyll (Chl), soluble protein (Pr) and malondialdehyde (MDA) were basically consistent during the development of tissue culture plantlets and seedling. The changes of SOD and POD activities first decreased and then increased, CAT activity showed a trend from rising to decline, chlorophyll content was slowly increased, changing curve of soluble protein content presented "W" type, and MDA content went up linearly. The single fruit weight of seeded seedling (945.84 g) was larger than that of tissue culture plantlets (878.96 g), while the content of the fruit center soluble solids of tissue culture plantlets (14.83%) was higher than that of the seeded seedling (12.28%). Comprehensive analysis showed that the growth potential and quality of tissue culture plantlets were better than those of melon seeded seedlings.

Key words: Melon; Tissue culture plantlets; Physiological index

甜瓜是世界十大公认的健康水果之一, 含有丰富的营养和药用价值。随着生活水平的提高, 消费者对甜瓜的品质要求越来越多, 培育出高产优质的甜瓜, 成为甜瓜育种工作者亟待解决的重要课题。传统的育种方式耗时长, 离体组织培养技术是一条快速高效的育种途径, 甜瓜再生体系的建立, 对于基因功能等的生物学研究十分必要, 运用分子生物学手段对甜瓜品种进行遗传改良, 能够加速育种进

程。目前, 甜瓜离体组织培养技术已经取得了很大的进展^[1-5], 但是有关组培苗生育期生理生化指标的研究较少, 在牛角瓜、萝卜和苏铁^[6-8]上有报道。笔者分析比较组培苗与实生苗在不同生育期的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、叶绿素(Chl)、可溶性蛋白(Pr)、丙二醛(MDA)的生理生化指标的变化以及甜瓜果实品质, 为利用组织培养技术进行甜瓜新品种选育和改良

收稿日期: 2018-11-23; 修回日期: 2018-12-21

基金项目: 国家西甜瓜产业技术体系建设项目(CARS-25); 河南省农科院科技发展专项(2019CY017); 河南省农业科学院优秀青年科技基金项目(2018YQ12); 河南省农业科学院自主创新项目

作者简介: 李海伦, 女, 研究实习员, 主要从事园艺作物生物技术。E-mail: 704522973@qq.com

通信作者: 高宁宁, 女, 助理研究员, 主要从事西甜瓜分子育种研究。E-mail: gnnzhu@163.com

提供有力的科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为F1代薄皮甜瓜‘15F9’的组培苗和实生苗,由河南省农业科学院园艺所西甜瓜课题提供。

1.2 方法

1.2.1 样品采集 2018年4月15日实生苗播种,组培苗生根驯化。于河南省农业科学院园艺研究所原阳试验基地设施大棚内采用地膜覆盖栽培,且整个试验过程中栽培管理,温光水肥管理^[9]均保持一致,于5月5日定植,5月11日第1次取样,各随机选取3株,3次重复,之后每隔1周取样,共取样5次,第1次取最新展开叶,其余4次皆取功能叶,采无病虫害的健康叶片,且保持叶片的长势、叶龄相似;甜瓜成熟后各随机选取3个果实,重复3次,测其品质。

1.2.2 叶片生理数据测定 酶活性测定^[10]:超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑(NBT)法测定,过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定,过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外吸收法测定;衰老相关指标测定^[10]:叶绿素(Chl)含量采用95%乙醇法测定,可溶性蛋白(Pr)含量采用考马斯亮蓝法测定,丙二醛(MDA)含量采用分光光度计法测定。

1.2.3 果实生理数据测定 可溶性糖采用蒽酮比色法测定,可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝法测定^[10];维生素C含量采用2,6-二氯酚靛酚滴定法测定,可滴定酸含量采用NaOH滴定法测定^[11];测定果实的纵径和横径、糖度、单果质量。果形指数为果实的纵径与横径之比。

2 结果与分析

2.1 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定结果

超氧化物歧化酶(SOD)是活性氧清除系统中第一个发挥作用的抗氧化酶,能消除生物体在新陈代谢过程中产生的有害物质,其活性能够体现植物生长发育的状况。SOD测定结果图1表明,组培苗与实生苗SOD活性的变化的趋势一致,SOD活性都是先变弱,在5月25日活性最低,这个时期甜瓜植株生长旺盛,细胞内产生的活性阳离子较少,相对应的清除超氧阴离子自由基 O_2^- 的SOD活性也偏低,5月25日之后甜瓜处于坐果期,SOD活性又开始上升,但变化幅度较小,表明甜瓜生长后期,植

株细胞内活性氧增加,SOD活性也随之上升。SOD活性曲线总体呈正“V”型变化,薄皮甜瓜实生苗比组培苗的变化幅度稍偏大。

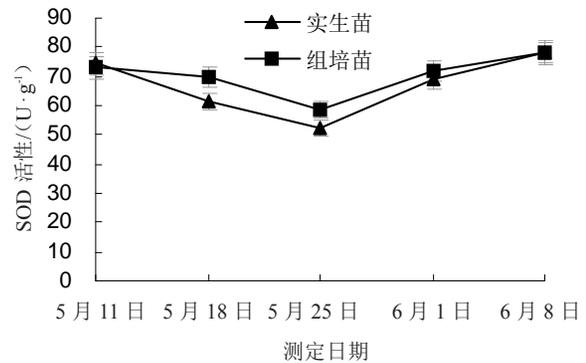


图1 甜瓜组培苗与实生苗SOD活性

2.2 过氧化物酶(POD)活性测定结果

过氧化物酶(POD)是植物细胞的一种抗氧化的保护酶,其主要作用是将细胞毒性物质 H_2O_2 进一步分解为无毒的 H_2O 和 O_2 ,减轻自由基对细胞的伤害。如图2所示,5月25日之前甜瓜处于伸蔓期组培苗与实生苗的POD活性变化趋势一致,并且保持在较低的水平,6月1日甜瓜坐果期POD活性骤然上升且达到最大值。6月1日后POD活性开始下降。甜瓜组培苗和实生苗的POD活性在生长前期差异不大,后期差异明显,但变化趋势一致,均先升后降,且组培苗POD活性总体高于实生苗。

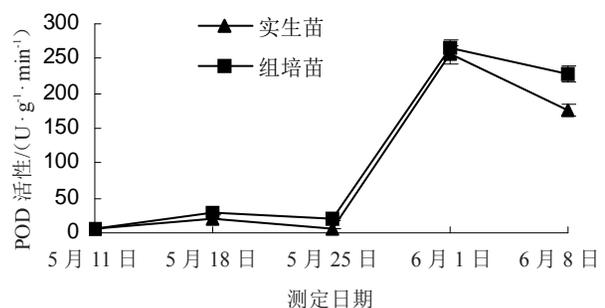


图2 甜瓜组培苗与实生苗POD活性

2.3 过氧化氢酶(CAT)活性测定结果

过氧化氢酶(CAT)是植物体内的一种酶类清除剂,清除植物内的 H_2O_2 ,使细胞免受毒害。图3表明,甜瓜伸蔓期,组培苗与实生苗CAT活性呈上升的趋势。6月1日甜瓜坐果期CAT活性变化急剧下降,之后较平稳。甜瓜植株在生长的整个过程中,实生苗CAT活性高于组培苗,生长前期差异明显,后期差异较小,总体变化一致呈先上升后下降的趋势。

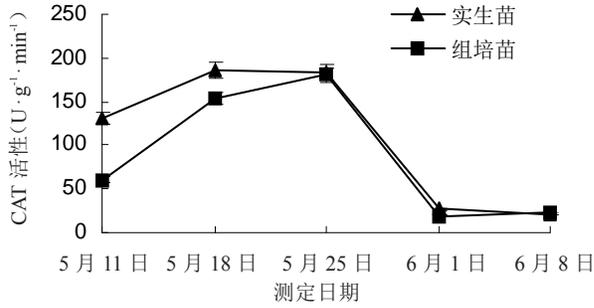


图3 甜瓜组培苗与实生苗 CAT 活性

2.4 叶绿素(Chl)含量测定结果

叶绿素(Chl)是植物光合作用的参与者,是衡量植物光合性能的一个标志。图4显示,甜瓜组培苗整个生长期 Chl 含量一直处于上升趋势,实生苗 Chl 含量先降低后升高,伸蔓期到开花期降低,开花期到坐果期 Chl 含量上升。总体上实生苗的 Chl 含量高于组培苗。

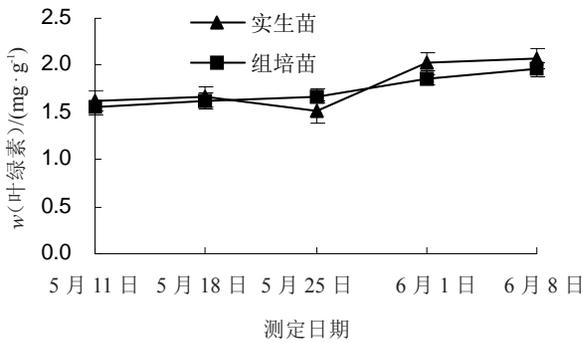


图4 甜瓜组培苗与实生苗 Chl 含量

2.5 可溶性蛋白含量(Pr)测定结果

植株可溶性蛋白含量可以反映植株生理活性的强弱。由图5可以看出,甜瓜实生苗和组培苗可溶性蛋白含量的变化曲线呈“W”型。甜瓜伸蔓期组培苗可溶性蛋白含量在实生苗之上,甜瓜坐果之后,组培苗可溶性蛋白含量低于实生苗。甜瓜植株在5月18日之前生长过程中需要消耗大量蛋白质,可溶性蛋白含量下降;到5月25日植株趋于木质化生长,植株体内木质素逐渐增加,蛋白质的生产量大于消耗量,可溶性蛋白呈上升趋势;再到6月1日,甜瓜植株坐果,需要积攒营养,对蛋白的消耗量增加,可溶性蛋白含量下降;到果实成熟前期,

植株体内蛋白消耗量减弱,可溶性蛋白含量则呈现上升趋势。

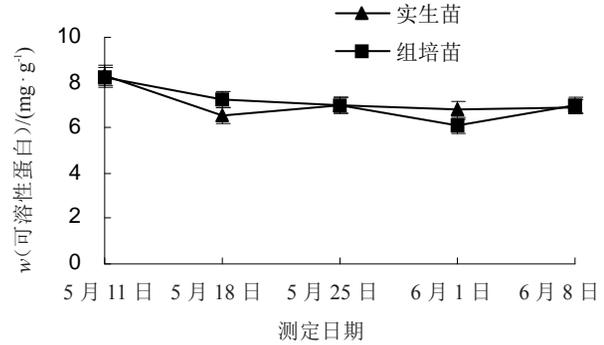


图5 甜瓜组培苗与实生苗可溶性蛋白含量

2.6 丙二醛(MDA)含量测定结果

丙二醛(MDA)能够反映植株细胞膜脂过氧化程度,是植物器官衰老的一个常用的指标。由图6明显的可以看出,MDA 含量是线性上升的趋势,其含量随植株生长势的减弱而逐渐增加,且实生苗 MDA 含量变化曲线始终在组培苗的上方,表明甜瓜实生苗的衰老速度比组培苗的快。

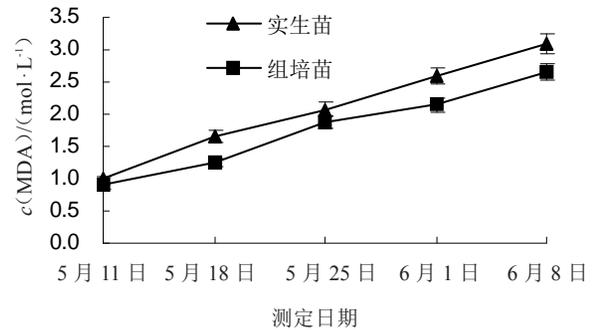


图6 甜瓜组培苗与实生苗 MDA 含量

2.7 甜瓜果实相关指标测定

甜瓜果实成熟采摘后果品的基本测定指标如表1所示,实生苗果实的单果质量、横径、可滴定酸测定数值均高于组培苗。而决定甜瓜品质的几个重要指标,组培苗均高于实生苗,组培苗果实的中心可溶性固形物,维生素C含量、可溶性蛋白、可溶性糖分别是实生苗的1.2、1.08、1.04、1.29倍。结果表明,组培苗甜瓜果实的营养品质略好于实生苗甜瓜果实。

表1 甜瓜果实品质测定结果

组别	单果质量/g	果实纵径/cm	果实横径/cm	果形指数	w(中心可溶性固形物)/%	w(维生素C)/(mg·100g ⁻¹)	w(可溶性蛋白)/(mg·g ⁻¹)	w(可溶性糖)/%	w(可滴定酸)/%
实生苗	945.84±234.39	11.28±1.02	11.90±0.88	0.95±0.04	12.28±0.82	0.84±0.01	3.19±0.19	1.14±0.04	0.10±0.01
组培苗	878.96±163.03	11.41±0.18	11.78±0.68	0.96±0.07	14.83±0.74	0.91±0.05	3.31±0.14	1.47±0.03	0.08±0.01

3 讨论与结论

植物的实生苗比组培苗的生命活力和适应环境的能力强,但是组培苗的繁殖系数远远超过实生苗,而且明显的缩短生长周期^[12]。本研究通过测定‘15F9’薄皮甜瓜组培苗与实生苗的若干生理生化指标,来对比分析组培苗和实生苗对环境的适应能力。

POD、SOD、CAT 均为植物体内的抗氧化酶,能够清除自由基及不利植株生长的氧化产物,保证植物的正常生长代谢^[13-14]。该试验得出,POD、SOD 含量组培苗高于实生苗,表明相同条件下,组培苗比实生苗易受外界环境因素的影响,植株体内有害氧化产物产生较多,保护酶的活性升高,这与张莉等^[15]的在嫁接甜瓜上的研究结果一致。CAT 含量的变化实生苗高于组培苗,这与唐军荣等^[6]的在牛角瓜生长过程中 CAT 的变化一致,先升高,后下降,之后略微上升。甜瓜植株移栽到设施大棚里,为适应环境生长,在伸蔓期甜瓜体内 CAT 含量急剧上升,在坐果后含量下降,在果实膨大期,果实与叶片竞争养分,从而导致叶片 CAT 含量微微上升。SOD、POD、CAT 在植株体内协调互动,维持植物体内氧化还原平衡^[12]。

叶绿素含量、可溶性蛋白含量、MDA 含量与植株生长势息息相关,其含量反映了植物器官衰老以及遭受逆境伤害程度^[16-20]。本试验结果显示,甜瓜组培苗整个生长期叶绿素含量一直呈上升趋势,从伸蔓期到坐果期植株需要的光照强度不断增加,因此叶片光合色素含量增加,这与前人的报道不一致^[21]。实生苗叶绿素含量先降低后升高,伸蔓期到开花期降低,开花期到坐果期叶绿素含量上升,这与孙玉萍等^[14]的研究结果一致。总体上组培苗叶绿素含量和实生苗上升,实生苗的叶绿素含量高于组培苗,这可能与甜瓜的生长势有关,具体原因还要进一步深入研究。可溶性蛋白含量的变化与植株的新陈代谢密切相关,本试验中可溶性蛋白含量变化曲线呈“W”型,甜瓜伸蔓期组培苗可溶性蛋白含量高于实生苗,甜瓜坐果之后,组培苗可溶性蛋白含量低于实生苗,表明组培苗坐果后对蛋白质的消耗量高于实生苗,可溶性蛋白含量的总趋势是下降的,这与植株的生长过程中对可溶性蛋白的需求是相符的,这跟李成军等^[21]的研究结果吻合。MDA 是植株衰老或在逆境条件下的重要产物之一,其含量的高低决定着植株的衰老程度。本研究中 MDA 含量呈直线上升趋势,其含量与植株衰败的程度成正

比,其结果与前人的研究一致^[21],实生苗含量高于组培苗,表明实生苗的衰老速度比组培苗的快。

笔者通过对比甜瓜组培苗和实生苗的生理生化的若干指标得出,组培苗与实生苗的生理指标变化趋势一致,仅在变化幅度上存在差异。通过对比品质指标得出,甜瓜组培苗的可溶性固形物、维生素 C、可溶性蛋白、可溶性糖含量均高于实生苗,表明甜瓜组培苗的果实品质较实生苗好。综合对比分析认为,组培苗生长势和品质较实生苗,组培苗可以用于甜瓜组培苗生产、栽培和育种等方面,为今后甜瓜遗传选育及科学研究提供参考。

参考文献

- [1] 盛慧,陈柏杰,金荣荣,等.三倍体薄皮甜瓜高效再生体系和遗传转化体系的建立[J].内蒙古农业大学学报(自然科学版),2017,38(6):12-17.
- [2] 付秋实,谭明明,王焯,等.不同甜瓜品种再生体系的比较研究[J].中国瓜菜,2015,28(2):5-8.
- [3] 付秋实,曹芸运,谭明明,等.薄皮甜瓜离体再生体系的优化[J].中国瓜菜,2014,27(2):16-19.
- [4] 王爱玲,张敏,郑贺云,等.甜瓜红心脆和早皇后再生体系的建立[J].江苏农业科学,2015,43(11):82-85.
- [5] 王林.甜瓜未受精卵胚珠离体培养研究[D].武汉:华中农业大学,2009.
- [6] 唐军荣,郑元,刘惠民,等.牛角瓜组培快繁过程中生理生化指标的变化[J].西南林业大学学报,2016,36(3):49-53.
- [7] 武剑,邓波,龚义勤,等.萝卜组培苗与实生苗若干生理生化性状的比较研究[J].湖北农学院学报,2003(6):415-418.
- [8] 傅瑞树.苏铁正常绿苗与白化苗若干生理生化指标的差异[J].福建林学院学报,1998(3):78-80.
- [9] 李晓慧,常高正,徐小利,等.14个网纹甜瓜品种比较与综合评价[J].河南农业科学,2017,46(8):102-106.
- [10] 王学奎.植物生理生化试验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2006.
- [11] 曹建康,姜微波,赵玉梅.果蔬采后生理生化实验指导[M].北京:中国轻工业出版社,2016.
- [12] 李合生.现代植物生理学[M].北京:高等教育出版社,2001.
- [13] 汤学军,王康.激动素和 Vc 保护受冷害甜瓜细胞膜和促进 SOD 合成的效应[J].植物学报,1993(增刊):45-49.
- [14] 孙玉萍,户金鸽,杨英,等.冬季弱光条件下不同厚皮甜瓜品种生理指标初探[J].新疆农业科学,2014,51(9):1597-1604.
- [15] 张莉,陈晟,施佳宏,等.不同砧木对嫁接甜瓜若干生理指标的影响[J].热带作物学报,2014,35(6):1161-1165.
- [16] 张明生,谢波,谈锋,等.甘薯可溶性蛋白、叶绿素及 ATP 含量变化与品种抗旱性关系的研究[J].中国农业科学,2003,36(1):13-16.
- [17] 刘建福.磷胁迫对澳洲坚果膜脂过氧化及保护酶活性的影响[J].热带作物学报,2007,28(1):7-10.
- [18] 李会云,郭修武.盐胁迫对葡萄砧木叶片保护酶活性和丙二醛含量的影响[J].果树学报,2008,25(2):240-243.
- [19] 李静.低温弱光胁迫对甜瓜幼苗生长及生理指标的影响[J].河南农业科学,2012,41(5):106-109.
- [20] 喻方圆,徐锡增.植物逆境生理研究进展[J].世界林业研究,2003(5):6-11.
- [21] 李成军,王冰林,何启伟,等.日光温室厚皮甜瓜叶片发育过程中生理生化指标的变化[J].中国蔬菜,2007(6):17-20.