低温对茶树叶片膜透性和保护酶活性的影响

张玉翠,王连翠

(临沂师范学院 生命科学院,山东 临沂 276005)

摘 要: 对3种不同品种的茶树叶片进行低温处理,测定其 MDA 含量, 电解质渗透率及其保护酶类: SOD, POD, CAT 的活性, 评价 3 种不同茶树的抗寒能力。结果表明: 不同低温的胁迫, 3 个茶树叶片的 MDA 和电解质的渗透率均呈上升的趋势; POD 活性变化趋势与 SOD 的变化趋势基本相同, 表现出"先升后降"的趋势; 而 CAT 在该试验的 3 个品种却表现出活性降低的趋势。应用隶属函数值法综合评价 3 个茶树品种的抗寒能力依次是: 凫早二号> 农抗早> 福鼎大白茶种。

关键词: 低温胁迫; 茶树叶片; 抗寒性指标 中图分类号: S 571. 1 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2010)09-0038-03

茶树(Camellia inensis)属山茶科山茶属植物,是我国南方传统的经济植物。在北方栽培极易发生冻害,越冬防护如果不当,冻死幼苗、冻伤茶蓬现象几乎每年都有发生,茶树冻害已经成为茶叶生产的重大问题。如何选育抗寒能力强的品种,已经是制约北方茶叶生产的一个关键问题。该试验对引进的3个品种进行了低温胁迫,测定其生理生化指标,为选育新的抗寒品种提供科学的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验在山东省临沭县春山茶叶生产基地进行。试验材料为 2005 年 10 月引自安徽省金寨茅坪茶叶繁育场的农抗早(Camellia sinensis cv. Nongkangzao)、凫早二号(Camellia sinensis cv. Fuzao2)、福鼎大白茶(Camellia sinensis cv. Fuding dabaicha)。

1.2 试验方法

1. 2. 1 材料处理 在每种 50 株左右的植株中, 随机采集位于中上部的当年生侧枝上的第 4~6 片完好的叶子, 每种 50 片。采摘后即用潮湿纱布包裹, 装入密封的塑料袋中, 带回实验室。分别用自来水、蒸馏水冲洗, 用吸水纸吸干水分, 将每种树的叶片分成 5 组置于密封塑料袋内。将其中 1 组置于 25 \mathbb{C} 室温作对照, 4 组放入程控冰箱内。样品于 8 \mathbb{C} 预令 5 h, 降温至 5 \mathbb{C} 预冷 7 h。再从 5 \mathbb{C} 开始进行降温, 每次降温 5 \mathbb{C} 、即 5 \mathbb{C} \mathbb{C} 0 \mathbb{C} , 在 0 \mathbb{C}

第一作者简介: 张玉翠(1955), 女, 安徽省滁洲市人, 副教授, 现从 事植物学和植物生理学的教学及科研工作。 E mail: zyc16899@ 163. com。

通讯作者: 王连翠(1973), 女, 本科, 讲师, 现主要从事植物学研究工作。

收稿日期: 2010-01-13

停留 24 h 后, 取出第 1 组样品, 然后继续降温至-5°C, 停留 24 h 后再取出第 2 组样品, 依此类推, 直至温度降至-20°C。将低温处理结束后取出的样品放置于 0~5°C的冰箱内解冻 12 h, 取出, 置于 25°C室温下恢复 12 h后, 用直径为 0.6 cm 的打孔器打成小圆片, 待测, 每个处理重复 3 次。

1.2.2 测定方法 细胞膜的透性采用相对电导率法[1]; MDA(丙二醛) 含量测定采用硫代巴比妥酸法[1]; Pro(脯氨酸) 活性的测定采用酸性茚三酮法[2]; SOD(超氧化物歧化酶) 活性的测定采用 NBT(氯化硝基氮蓝四唑) 光还原法测定[3]; CAT (过氧化氢酶)活性的测定采用碘量法[4], POD(过氧化物酶)活性的测定采用愈创木酚法[5]。1.2.3 数据处理 计算各指标的平均值, 求出相应的变异系数, 分析各个品种之间的差异程度。用方差分析和隶属函数值法综合评价 3 个茶树品种的抗寒性。

2 结果与分析

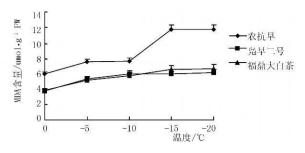
2.1 低温胁迫对不同茶树品种的 MDA 的影响

由图 1 可以看出, 随着温度的降低, 3 个茶树品种叶片的 MDA 的含量均呈上升的趋势。从统计的数据来看, 凫早二号与福鼎大白茶差异并不显著, 而农抗早差异达到显著水平。这表明随着温度的降低, 农抗早受到的伤害程度大。

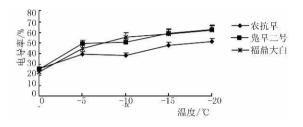
2.2 低温胁迫对不同茶树品种的电解质的影响

如图 2 所示, 各品种的电导率的增加基本上遵循 "S"型。但不同品种的增加量有一定的差异。其中, 以 福鼎大白茶增量较为显著, 增量最少的是农抗早。从统计的数据来看, 3 个品种之间的差异并不显著 (*P* > 0.05)。

2.3 低温胁迫对不同茶树品种的 SOD 活性的影响 由图 3 可以看出. 随着低温的胁迫 3 个茶树品种的



低温对 3 个茶树品种的 M DA 的影响



不同低温胁迫对 3 个茶树品种的电导率的影响

SOD 活性的变化都表现出是"先升后降"的趋势。 凫早 二号和农抗早在- 15℃时达到最高峰, 而福鼎大白茶 在-10℃时活性达到最高峰。并且、农抗早在达到高峰 之后下降的趋势要比凫早二号的降幅度要大。

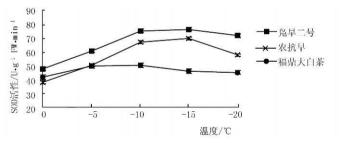
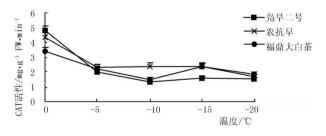


图 3 低温胁迫下茶树 SOD 酶的活性变化



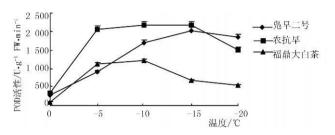
不同低温处理下茶树的 CAT 酶的活性变化

2.4 低温胁迫对不同茶树品种的 CAT 活性的影响

从图 4来看, 凫早二号降低了 131.87%, 农抗早降 低了60.7%,福鼎大白茶降低了45%。 凫早二号与福鼎 大白茶的差异达到极显著的水平(P< 0.05), 而农抗早 和福鼎大白茶的差异并不显著(P > 0.05)。

2.5 低温胁迫对不同茶树品种的 POD 活性的影响

从图 5 可看出,对于不同低温的胁迫, 3 个茶树品种 的 POD 活性变化趋势与 SOD 的变化趋势基本相同,表 现出"升-降"的趋势。从统计的结果来看、农抗早和凫 早二号的上升幅度与福鼎大白茶有极显著的差异(P< 0.01)。其中, 农抗早在温度 0℃到-5℃时 POD 的活性 是直线上升的趋势。-5°到-15°之间变化并不明显。 - 15℃之后是呈明显的下降趋势。而息早二号 在- 15℃之前一直是呈线性上升趋势的。



低温处理对茶树 POD 活性的影响

2.6 应用隶属函数值法综合评价3个茶树品种抗寒性 为综合评价 3 个茶树品种的抗寒能力。使用模糊 数学中隶属函数的方法, 对参加试验的 3 个品种的 5 项 指标测定值进行了隶属函数值计算加权平均值。

用于分析的隶属函数值[Xu1, Xu2] 计算方程为:

$$X \mathbf{u1} = [X - X \min] / [X \max - X \min]$$
 (1),

X u2 = 1 - [X - X min]/[X max - X min] $(2)_{0}$ 其中,X 为各测定茶树品种某一指标的测定值:X max 为 所有测定茶树品种此指标的最大值: Xmin 为所有测定 茶树品种此指标的最小值。若所测指标与植物的抗寒 性呈正相关,则采用(1)式计算隶属值 反之则用(2)式。 累加各品种各指标的具体隶属值并求出平均值后进行 比较。平均值越大则抗寒性越强。由表 1 的综合评价 结果可以得出,3个茶树品种的抗寒能力依次是: 凫早二 号> 农抗早> 福鼎大白茶。

表 1 3 个供试品种茶树的各抗寒指标隶属函数值

R 值	品种指标		
	农抗早	凫早二号	福鼎大白茶种
MDA	0.63	0.34	0.60
电导率	0.41	0.57	0. 56
SOD	0.65	0.82	0.40
POD	0.59	0.47	0. 24
CAT	0.54	0.63	0. 63
平均值	0.56	0.57	0.48

3 结论与讨论

低温造成膜伤害的结果是膜半透性的改变和丧失 细胞内物质大量向外渗透,并最终引起细胞死亡[6]。不 同低温胁迫下的 3 个茶树品种叶片的电导率测定结果 表明, 随着温度的降低, 所参试的品种的相对电导率都 呈现出"S"型的上升趋势。随着温度的降低, 农抗早受 到的伤害程度就越大;而凫早二号的抗寒性较强。

MDA 是植物体在遭受衰老或逆境条件下, 发生膜 脂过氧化作用的最终分解产物。其含量的高低可以反 映植物遭受逆境伤害的程度[7]。该试验研究结果表明. 在低温的胁迫下, 3 个茶树品种的叶片的 MDA 都有不 同程度的增加。农抗早增加了44.08%,福鼎大白茶提 高了 45.59%, 凫早二号增加了 43.32%。这说明凫早二 号的抗寒性要高于农抗早和福鼎大白茶。

在低温条件下细胞内的自由基产生和消除的平衡 会遭到破坏, 积累的自由基对植物的膜系统造成伤害, 使膜脂产生过氧化作用,导致细胞膜的结构和功能受到 破坏。而自由基的产生和消除又被细胞中的保护酶系 所控制^图。目前与抗寒性有关的主要酶类是 SOD、 POD、CAT。据研究表明、植物在低温胁迫下 SOD 和 POD 的活性会增加,增加的幅度与植物的抗寒性成正相 关^[9-10]。该试验研究显示,对于不同低温的胁迫, POD 活性变化趋势与 SOD 的变化趋势基本相同, 表现出"升 - 降"的趋势。这是因为在低温胁迫的初期, SOD 活性 增加有助于清除低温造成的细胞内的自由基的积累,从 而保护茶树的细胞膜系统, 但是随着胁迫的温度降低, 低温造成的伤害最终打破了茶树体内的代谢平衡, 酶活 性下降、清除自由基的能力就会减弱。而 CAT 在该试 验的 3 个品种却表现出活性降低的趋势, 但总体来看, 下降的幅度很小。这可能是参与试验的茶树品种的 CAT 酶活性对低温的敏感性较弱。由综合评价结果可 以得出, 3 个茶树品种的抗寒能力依次是: 凫早二号> 农 抗早> 福鼎大白茶。

参考文献

- 睢薇.逆境生理学试验指导[M].哈尔滨:东北农业大学,2004:77-[1] 83.
- [2] 候福林. 植物生理学实验教程[M]. 哈尔滨: 科学出版社,2004.
- 张荣华,李拥军,脯氨酸含量对苜蓿抗寒性影响的研究 []. 现代农业 [3] 研究, 2006(4): 17-18.
- 张中华, 杨建平. 低温胁迫对韭菜膜透性及保护酶活性的影响[J]. 西 北农业学报 2006, 15(2): 124 127.
- 宋尚伟, 李靖. 4个桃品种抗寒性研究初报[J]. 中国农学通报, 2007, 23(1): 225-227.
- 杨亚军. 中国茶树栽培学[M]. 上海: 科学技术出版社, 2005: 510-512.
- 闫永庆, 祖元刚. 低温对红王子锦带生理生化指标的影响[J]. 北方园 艺,2008(5):174-175.
- 黄建安. 茶树保护酶类与抗寒性的关系[J]. 茶叶科学, 1990, 10(1): 35-40.
- 李合生. 现代植物生理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2005: 418-419.
- [10] 彭昌操, 孙中海. 低温锻炼期间柑橘原生质体 SOD 和 CAT 酶活性的 变化[J]. 华中农业大学学报,2000,19(4):384387.

Effect of Low Temperature Stress on Membrane Permeability and Protection of Activity in Tea Leaves

ZHANG Yu-cui, WANG Lian-cui (College of Life Science, Linyi Normal University, Linyi, Shandong 276005)

Abstract: The three different varieties of tea leaves were tested in different temperature. Determination of the MDA, leaf electrolytic leakage rate, and the protection of enzymes: SOD, POD, CAT activity. The results showed that the MDA and leaf electrolytic leakage rate showed an upward trend; POD trend and the trend of changes in SOD were basically the same trend "a first rose and then dropped"; and the CAT test in three varieties showed activity trends. With membership functions comprehensive evaluation method, the capacity of three tea varieties resistance to the cold was Camellia sinensis cv. Fuzao2> Camellia sinensis cv. Nongkangzao> Camellia sinensis cv. Fuding dabaicha.

Key words: low temperature stress; tea leaves; cold resistance index