

低温对‘寒富’苹果花芽渗透调节物质含量和膜脂过氧化的影响

马怀宇, 吕德国, 刘国成, 秦嗣军

(沈阳农业大学 园艺学院, 北方果树育种与生理生态研究所, 辽宁 沈阳 110161)

摘要:以‘寒富’苹果的花芽为试材, 设置梯度低温(—25、—30、—35 和—40℃)处理, 研究顶花芽和腋花芽的渗透调节物质含量对低温的响应特点及对花芽低温适应性的影响。结果表明: 随着温度下降, 顶花芽和腋花芽的游离氨基酸含量变化趋势相似, 但顶花芽的游离氨基酸含量一直高于腋花芽。腋花芽的可溶性糖和可溶性蛋白含量均是在—35℃达到高峰后显著下降; 顶花芽的则是在—35℃达到最低点后显著升高。腋花芽的脯氨酸含量在—35℃达到高峰后保持在较高水平, 顶花芽的则是在—35℃达到最低点后显著升高。腋花芽的MDA含量在—35℃之前保持在较低水平, 此后迅速上升; 顶花芽的MDA含量总体上呈上升趋势, 且明显高于腋花芽。由此认为, 腋花芽的渗透调节物质对低温的响应能力强于顶花芽, 应是腋花芽低温适应性强于顶花芽的一个重要原因。

关键词:‘寒富’苹果; 花芽; 抗寒性; 渗透调节物质; 丙二醛

中图分类号: S 661.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001—0009(2010)21—0001—04

冬季低温是限制果树地理分布的一个重要环境因子。‘寒富’苹果是目前我国栽培界限最北的一个优质、抗寒大苹果品种, 具有较强的腋花芽结果能力, 在冷凉地区表现出优良的环境适应性和巨大的发展潜力。多年来在生产中发现, ‘寒富’苹果腋花芽的低温适应性明显强于顶花芽, 在出现异常低温的年份, ‘寒富’苹果顶花芽易遭受低温伤害, 但紧邻顶花芽的腋花芽几乎无冻害且能正常开花结果, 从而保证了当年的产量^[1-3]。许多研究表明, 在低温胁迫下, 植物细胞内的可溶性蛋白、游离氨基酸、可溶性糖等渗透调节物质含量变化与植物的低温适应性密切相关^[4-5], 可溶性蛋白等渗透调节物质的大量积累可提高细胞液浓度, 维持细胞膨压, 降低冰点, 防止原生质过度脱水, 同时对酶、蛋白质和生物膜的结构具有保护作用^[6]。

在‘寒富’苹果集中分布的冷凉栽培区域, 冬季温度具有变化幅度大、降温速度快等特点。该试验根据这一地区冬季温度的变化特点设计温度处理, 研究降温过程

中顶花芽和腋花芽渗透调节物质含量的变化特点和膜脂过氧化程度, 探讨渗透调节物质含量变化与两类花芽低温适应性形成的相关性。不仅有助于深入研究‘寒富’苹果的多抗性生理机制, 对果树的抗寒生理研究也具有理论意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以4 a生盆栽‘寒富’苹果为试材, 上冻前将试材摆放于冷棚中, 冷棚覆膜并加盖保温被, 冬季冷棚内温度维持在—8~—10℃。在试材进入休眠期以后, 剪取具有顶花芽和腋花芽的枝条, 带回试验室进行低温处理, 以未进行低温处理的盆栽树作为对照。

1.2 试验处理

用自来水冲洗掉枝条表面的尘垢, 擦干枝条, 用报纸包裹后放入低温冰箱中进行梯度低温处理。低温处理参考郑元、徐叶挺等人^[7-8]的方法, 处理温度设定为—25、—30、—35、—40℃。从—10℃开始以3℃/h的速度降温, 每个处理温度保持2 h, 处理后的材料用于各项生理指标的测定。

1.3 试验方法

各项指标的检测参照邹琦^[9]的方法: 可溶性蛋白含量测定用考马斯亮蓝法; 游离氨基酸用茚三酮显色法; 脯氨酸用水合茚三酮法; 可溶性糖和淀粉用苯酚比色法; 丙二醛用硫代巴比妥酸比色法。

第一作者简介: 马怀宇(1978), 女, 博士, 讲师, 主要研究方向为果树栽培与生理生态。E-mail: mhyblackcurrent@163.com。
通讯作者: 吕德国(1967), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为果树栽培与生理生态。E-mail: lvdeguo@163.com。
基金项目: 沈阳农业大学校青年基金资助项目(2006-02-03); 辽宁省教育厅资助项目(01042608006); 国家苹果产业技术体系苹果专项资助项目(ny cytx-08-03-05)。
收稿日期: 2010-08-16

2 结果与分析

2.1 低温下花芽可溶性糖和淀粉含量的变化

可溶性糖既是细胞呼吸代谢底物, 还是蛋白质的热稳定剂。在温度持续下降的过程中, ‘寒富’ 苹果的顶花芽和腋花芽可溶性糖含量的变化趋势各异。在 -35°C 之前, 顶花芽的可溶性糖含量持续降低, 此后开始升高; 腋花芽则是在 -30°C 略有下降后急速上升, 在 -35°C 达到高峰, 是对照的 1.33 倍, 此后又迅速下降。在 $-25 \sim -35^{\circ}\text{C}$ 范围内, 腋花芽的可溶性糖含量一直高于顶花芽, 直到温度降到 -40°C 时, 顶花芽的可溶性糖含量才

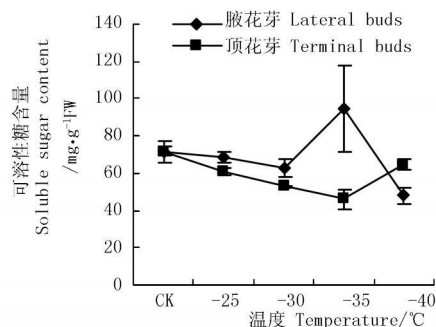


图1 低温对 ‘寒富’ 苹果顶花芽和腋花芽可溶性糖含量的影响

Fig.1 Effect of low temperature on soluble content of ‘Hanfu’ terminal flower buds and lateral flower buds

2.2 低温下 ‘寒富’ 苹果花芽可溶性蛋白含量的变化

可溶性蛋白的亲水胶体性较强, 可以增强细胞的持水力, 提高植物的抗寒能力。在相同低温胁迫条件下, 可溶性蛋白含量越高, 植物体的抗寒性也就越高^{[10][11]}。低温条件下, ‘寒富’ 顶花芽和腋花芽的可溶性蛋白含量变化趋势明显不同。与对照相比, 在 -25°C 时顶花芽和腋花芽的可溶性蛋白含量都呈下降趋势, 但顶花芽可溶性蛋白含量明显高于腋花芽, 是腋花芽的 1.34 倍。在 $-25 \sim -35^{\circ}\text{C}$ 之间, 顶花芽的可溶性蛋白含量急剧下降, 而腋花芽的则缓慢上升, 在 -35°C 腋花芽可溶性蛋白含量是顶花芽的 1.82 倍。在 -35°C 以后, 顶花芽可溶性蛋白含量急剧升高, 腋花芽则迅速下降, 顶花芽在 -40°C

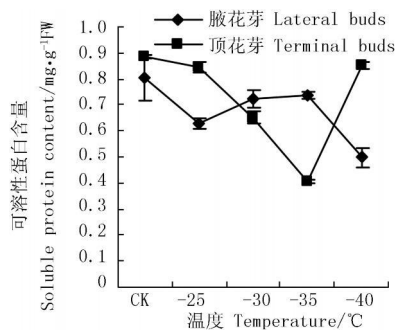


图3 低温对 ‘寒富’ 苹果顶花芽和腋花芽可溶性蛋白含量的影响

Fig.3 Effect of low temperature on soluble protein content of ‘Hanfu’ terminal flower buds and lateral flower buds

略高于腋花芽(图1)。

淀粉是植物体内主要的贮藏物质, 低温会诱导淀粉水解为可溶性糖, 为植物体适应低温提供能量和结构物质。该试验中, 在 $-25 \sim -35^{\circ}\text{C}$ 之间, 顶花芽和腋花芽淀粉含量都随着温度的降低而下降, 但腋花芽淀粉含量略高于顶花芽。此后, 两类花芽的淀粉含量呈上升趋势, 而且顶花芽淀粉含量增加的幅度明显大于腋花芽。在 -40°C , 腋花芽淀粉含量仍低于对照, 为对照的 70.68%; 顶花芽的淀粉含量与对照相近, 此时顶花芽淀粉含量是腋花芽的 1.73 倍(图2)。

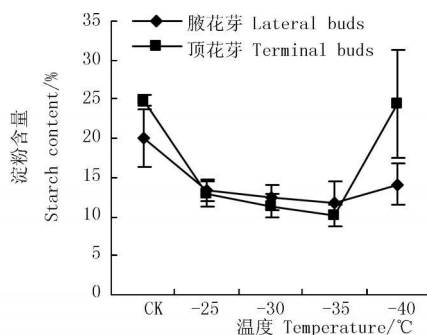


图2 低温对 ‘寒富’ 苹果顶花芽和腋花芽淀粉含量的影响

Fig.2 Effect of low temperature on starch content of ‘Hanfu’ terminal flower buds and lateral flower buds

时的可溶性蛋白含量是腋花芽的 1.71 倍(图3)。

2.3 低温下 ‘寒富’ 苹果花芽游离氨基酸含量的变化

研究认为, 胁迫条件下产生的游离氨基酸可能起着维持细胞水势、消除物质毒害和储存氮素的功能^[12]。在低温条件下, 顶花芽和腋花芽的游离氨基酸含量变化趋势相似, 但顶花芽的游离氨基酸含量一直高于腋花芽的。在 -25°C , 顶花芽和腋花芽的游离氨基酸含量与对照相比均略有下降。从 $-25 \sim -35^{\circ}\text{C}$ 之间, 顶花芽和腋花芽的游离氨基酸都不断积累, 顶花芽从 $-30 \sim -35^{\circ}\text{C}$ 急剧升高, 在 -35°C 顶花芽游离氨基酸含量是腋花芽的 1.65 倍。 -35°C 以后, 二类花芽的游离氨基酸含量均呈下降趋势。在低温处理过程中, 顶花芽游离氨基酸含量

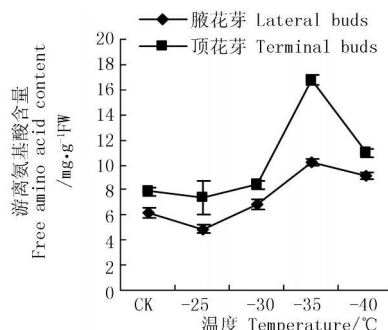


图4 低温对 ‘寒富’ 苹果顶花芽和腋花芽游离氨基酸含量的影响

Fig.4 Effect of low temperature on free amino acid content of ‘Hanfu’ terminal flower buds and lateral flower buds

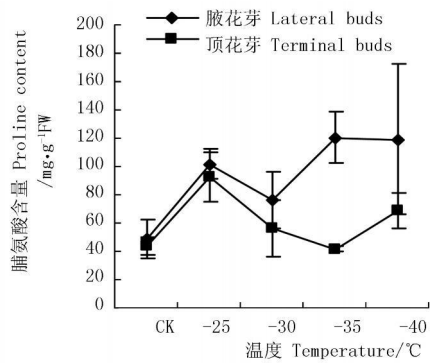


图5 低温对寒富苹果顶花芽和腋花芽脯氨酸含量的影响

Fig. 5 Effect of low temperature on proline content of 'Hanfu' terminal flower buds and lateral flower buds

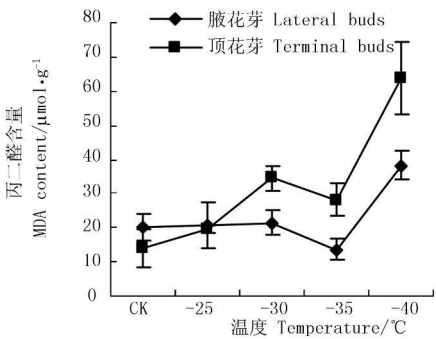


图6 低温对寒富苹果顶花芽和腋花芽丙二醛含量的影响

Fig. 6 Effect of low temperature on MDA content of 'Hanfu' terminal flower buds and lateral flower buds

的变化幅度明显大于腋花芽(图4)。

2.4 低温下‘寒富’苹果花芽脯氨酸含量的变化

脯氨酸作为细胞内的一种渗透调解物质,可以提高渗透压,增强保水力,提高体内抗氧化酶的活性和维持生物大分子的结构和功能^[13-15]。该试验中,顶花芽和腋花芽的脯氨酸含量在-30℃之前变化趋势相似,均是先升高后下降。-30℃以后,腋花芽的脯氨酸含量明显升高,到-35℃达到最高点,一直到-40℃均保持在一个较高的水平上。顶花芽的脯氨酸含量在-30℃后持续下降,在-35℃降到最低点,且略低于对照,此后才逐渐升高。在整个降温过程中,腋花芽的脯氨酸含量一直高于顶花芽。

2.5 低温下‘寒富’苹果花芽丙二醛(MDA)含量的变化

逆境胁迫往往引起膜脂过氧化,MDA是植物细胞膜不饱和脂肪酸发生过氧化作用的最终产物,其含量可以反映植物遭受逆境伤害的程度^[16]。正常情况下,植物MDA积累较少,含量比较稳定。该试验中,-30℃之前顶花芽和腋花芽MDA含量变化幅度明显不同,顶花芽的MDA含量随着温度的下降不断增加,与对照相比增加了150.89%;但腋花芽的MDA含量与对照相比仅增加了7%,表明低温下顶花芽生物膜的伤害程度。在-30~-40℃之间,两类花芽MDA含量均为先降后升,但顶花芽MDA含量总体上仍呈上升趋势,且明显高于腋花芽;腋花芽的MDA含量在-35℃降到最低点,甚至低于对照。在-40℃时,顶花芽的MDA含量是腋花芽的1.67倍,表明此时顶花芽受低温伤害的程度明显高于腋花芽。

3 结论与讨论

低温等逆境胁迫能够诱导植物体内活性氧大量积累,进而引发膜脂过氧化。丙二醛是膜脂氧化的产物,是判断植物逆境伤害的一个重要指标。该试验中,顶花芽的丙二醛含量在-30℃时是对照的150.89%,而腋花芽仅比对照增加了7%,腋花芽的丙二醛含量在-35℃

时甚至略低于对照,在-40℃时,顶花芽的丙二醛含量是腋花芽的1.67倍。由此来看,顶花芽的低温适应性明显弱于腋花芽。-35℃是腋花芽低温适应性的一个转折点,在此之前腋花芽能把低温伤害保持在较低的水平。

渗透调节是植物在逆境条件下通过代谢活动增加细胞内溶质浓度,降低其渗透势,以维持正常代谢的过程,故渗透调节是植物适应一些不利环境条件的重要机制。在正常的生长条件下,植物的蛋白质合成与降解处于一种动态平衡,逆境胁迫能改变基因的表达,表现出正常蛋白合成受阻,诱导一些与适应环境有关的特异蛋白(逆境蛋白)合成。蛋白质代谢平衡的改变必然导致游离氨基酸含量的变化。在低温引起的渗透胁迫下,‘寒富’苹果顶花芽和腋花芽的可溶性蛋白含量变化明显不同。-35℃之前,顶花芽的可溶性蛋白含量一直呈下降的趋势,与此同时,顶花芽的游离氨基酸含量一直在升高。说明低温导致顶花芽的蛋白合成明显受阻,因而导致游离氨基酸大量积累。在此阶段,腋花芽的可溶性蛋白含量则是先降后升,在-35℃时达到高峰,其氨基酸含量与蛋白含量变化同步。由此看来,腋花芽的蛋白代谢的低温适应性好于顶花芽。但在低温处理过程中,顶花芽的游离氨基酸含量一直高于腋花芽,其原因有待于进一步研究。

脯氨酸是游离氨基酸中影响植物抗逆性最为突出的一个。其不仅作为渗透调节剂,而且能保护膜结构,防止膜脂过氧化^[18]。许多研究表明,游离脯氨酸的含量与植物的抗寒性呈正相关^[21]。该试验中,腋花芽的脯氨酸含量一直高于顶花芽。在-35℃时,腋花芽的脯氨酸含量达到高峰,是对照的2.46倍;顶花芽的脯氨酸含量则降到最低点,比对照低了4.5%。结合丙二醛含量变化特点可知,花芽的脯氨酸含量的增加与提高花芽的低温适应性具有一定的正相关性,而且对减少花芽的膜脂过氧化也应有一定的积极作用。

许多研究表明, 逆境条件下, 以脯氨酸为代表的渗透调节物质的积累对活性氧的产生及清除、保护蛋白质分子等有一定的作用^[19,20]。由此看来, 细胞中各种渗透调节物质含量的变化具有一定的协同性。腋花芽的可溶性蛋白、游离氨基酸、脯氨酸和可溶性糖含量均随着温度的降低呈升高的趋势, 并在 -35°C 达到高峰, 这种变化应与其丙二醛含量在 -35°C 低于对照密切相关。而顶花芽的可溶性蛋白、脯氨酸和可溶性糖含量在低温下呈下降的趋势, 使其渗透调节能力和抗氧化能力下降, 应是导致其丙二醛含量逐渐升高的一个重要原因。顶花芽丙二醛含量在 -35°C 略有降低或许与此阶段游离氨基酸含量大量积累有关。

参考文献

- [1] 李怀玉, 李家福. 寒富苹果试栽表现及应注意的问题[J]. 中国果树, 1997(4): 40.
- [2] 王德生. 抗寒优质苹果新品种—寒富及其生产栽培技术[J]. 烟台果树, 2000(1): 32.
- [3] 李怀玉, 刘国成, 吕德国. 寒富苹果的冻害调查[J]. 北方果树, 2001(6): 21-22.
- [4] 赖志华, 朱小龙, 李振基等. 低温胁迫对长苞铁杉幼苗的生理影响[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2008, 47(1): 122-126.
- [5] 张蜀宁, 张振超, 张红亮等. 低温胁迫对不同倍性不结球白菜生长及生理生化特征的影响[J]. 西北植物学报, 2008, 28(1): 109-112.
- [6] 魏安智, 杨途熙, 张睿等. 抗寒剂诱导仁用杏花期抗寒力研究[J]. 西北植物学报, 2008, 28(3): 535-541.
- [7] 郑元, 杨途熙, 魏安智等. 低温胁迫对仁用杏几个抗寒生理指标的影响[J]. 西北农林科技大学学报, 2008, 36(1): 163-167.
- [8] 徐叶挺, 李疆, 罗淑萍等. 低温胁迫下野生巴旦杏抗寒生理指标的测定[J]. 新疆农业大学学报, 2008, 31(4): 1-4.
- [9] 邹琦. 植物生理学试验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [10] 陈禅友, 汪汇东, 丁毅. 低温胁迫下长豇豆幼苗可溶性蛋白质和保护酶活性的变化[J]. 园艺学报, 2005, 32(5): 911-913.
- [11] 余文琴. 低温胁迫下番荔枝叶片若干生理生化指标的变化[J]. 福建农林大学学报, 2006, 35(2): 161-164.
- [12] Shen L M, David M, Joyce G F. Influence of drought on the concentration and distribution of 2,4-diamino-butyric acid and other free amino acids in tissues of flat pea (*Lathyrus sylvestris* L.) [J]. Environ. Expt. Bot., 1990, 30: 497-504.
- [13] Vranov E, Inz D, Breusegem F V. Signal transduction during oxidative stress[J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53(372): 1227-1236.
- [14] 张圣平, 顾兴芳, 王焱等. 低温胁迫对以野生黄爪(棘瓜)为砧木的黄瓜嫁接苗生理生化指标的影响[J]. 西北植物学报, 2005, 25(7): 1428-1432.
- [15] Dorffling K H, Dorffling D, Lesselich. In vitro 2 selection and regeneration of hydroxyproline resistant lines of winter wheat with increased proline content and increased frost tolerance [J]. Journal of Plant Physiology, 1993, 142: 222-225.
- [16] 武维华. 植物生理学[M]. 北京: 科学出版社, 2003: 426-462.
- [17] 李春香, 王玮, 李德全. 长期水分胁迫对小麦生育中后期根叶渗透调节能力、渗透调节物质的影响[J]. 西北植物学报, 2001, 21(5): 924-930.
- [18] Yoshida Y, Kiyosue T, Nakashima K et al. Regulation of levels of proline as an osmolyte in plant under water stress [J]. Plant Cell Physiol, 1997(38): 1095-1102.
- [19] 杨晓泉, 姜孝成, 傅家瑞. 花生种子耐脱水力的形成与可溶性糖累积的关系[J]. 植物生理学报, 1998, 24(2): 165-170.
- [20] 王娟, 李德全. 逆境条件下植物体内渗透调节物质的积累与活性氧代谢[J]. 植物学通报, 2001, 18(4): 459-465.

Effect of Low Temperature on ‘Hanfu’ Apple Buds Osmoticum Content and Membrane Lipid Peroxidation

MA Huai-yu, LV De-guo, LIU Guo-cheng, QIN Si-jun

(Horticultural College Shenyang Agricultural University, Research Institute for Breeding and Physiology-Ecology of Northern Fruit, Shenyang, Liaoning 110161)

Abstract: In order to research the response characteristic of osmoticum in terminal flower buds and lateral flower buds under low temperature treatment ($-25, -30, -35, -40^{\circ}\text{C}$), ‘Hanfu’ apple flower buds were used as materials in this experiment. The results showed that the variation of free amino acid content in two kinds of flower buds was in the similar tendency with the temperature decreasing, while free amino acid content in terminal flower buds was higher than that of lateral flower buds all along. Soluble sugar and soluble protein content in lateral flower buds reached to the highest point at -35°C and then dropped significantly, which reached to the lowest points at -35°C and then rose obviously in the terminal flower buds. Proline content of lateral flower buds reached to the highest point at -35°C and kept at a relatively higher level after -35°C , which reached to the lowest point at -35°C and then increased significantly in terminal flower buds. MDA content of lateral flower buds kept in a lower level before -35°C , which presented an upward tendency in apical flower buds as a whole and was apparently higher than that of lateral flower buds. It could be seen that the respond capability of osmoticum in lateral flower buds was stronger than that of in terminal flower buds, which would be one of important reasons for higher low temperature suitability of lateral flower buds.

Key words: ‘Han fu’ apple; flower buds; cold tolerance; osmoticum; MDA