

自然低温胁迫下腰果幼苗抗寒生理指标的研究

万 红, 刘惠民, 何承忠, 王连春, 缪福俊, 夏清柱

(西南林业大学 西南山地森林资源保育与利用省部共建教育部重点实验室 云南 昆明 650224)

摘 要:以腰果 FL30 幼苗为试材,测定在自然低温胁迫下相对电导率、丙二醛、可溶性糖、脯氨酸等生理指标,探索腰果在低温胁迫下的生理响应机制。结果表明:随着低温胁迫时间的延长,腰果叶片的脯氨酸含量持续上升;相对电导率、丙二醛和可溶性糖含量表现出先上升后下降又上升的变化规律,而下降所持续的时间不同。

关键词:腰果;自然低温;抗寒性;生理指标

中图分类号:S 667.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)12-0042-03

低温是影响植物生长发育和地理分布的关键环境因子,低温胁迫也是植物栽培中常常遇到的一种灾害,它不仅会导致植物的生长受到严重损害,甚至引起植株死亡,给生产带来严重的损失^[1-4]。因此,探索植物抗寒性的生理机制及其遗传因素,不仅在基础理论上具有重要意义,在解决生产实际问题上也具有广泛的应用价值^[5]。

腰果 (*Anacardium occidentale* L.) 属漆树科

(Anacardiaceae)腰果属热带常绿乔木果树,也是世界著名四大干果之一^[6]。腰果原产巴西东北部,16 世纪引入亚洲、非洲和南美洲的热带国家和地区^[7],我国主要引种栽培于海南省和云南省,约有 60 多年的引种栽培历史^[8]。近几年来,极端天气的发生对腰果产量造成了严重的损失,如 2008 年初云南省红河州金平县出现持续 7 d 的低温天气,使该县于 1995 年引种栽培的大部分腰果树体受到冻害而绝收,甚至死亡^[9]。然而,当前腰果研究主要集中在高产栽培、种质资源收集与保存、新品种培育等领域^[10],对腰果抗寒性的研究报道较少。现以云南省金平县早期引种栽培的腰果优良无性系 FL30 实生幼苗为试材,在自然低温胁迫下,测定幼苗叶片的相对电导率、丙二醛、可溶性糖及脯氨酸含量等抗寒性生理指标,揭示其变化规律,旨在探索腰果在低温胁迫下的生理响应机制,为进一步阐明腰果抗寒机理以及选育耐寒品种等提供科学依据。

第一作者简介:万红(1984),女,四川资阳人,在读硕士,现主要从事果树学方面的研究工作。

责任作者:刘惠民(1957),男,博士,教授,现主要从事经济林方面的教学与科研工作。

基金项目:云南省教育厅基金资助项目(2010J041);云南省高校西南山地森林培育重点实验室建设资助项目(000604);西南林业大学森林培育云南省重点学科联合资助项目(XKZ200906)。

收稿日期:2011-03-14

Nutrition of Stems in Basal Part of One-Year Old Shoots and Cold Hardiness of Plants

DANG Wei¹, WANG Zhong-yue², CHU Feng-jie³, YANG Li-li³, YU Xiang-yan², SHI Xiao-xin¹, DU Guo-qiang¹

(1. College of Horticulture, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001; 2. Institute of Plant Protection Chinese Academy of Agriculture, Beijing 100193; 3. Shijiazhuang Pomology Institute Hebei Academy of Agriculture and Forestry, Shijiazhuang Hebei 050051)

Abstract: The nutrition of stems in basal part of one-year old shoots of Kyoho grape, which were taken from vineyards located at both central Hebei and northeast Hebei province was studied by using anthrone method. The relationship of shoot nutrition level and plant cold hardiness was discussed according to the plant appearance of tolerating to low temperature over the winter. The results showed that the stems of the first to sixth nodes in the bottom of the one-year old shoots taken from Changli, northeast of Hebei had higher sugar content and starch content, and bigger diameter, but there was no significant difference in terms of the length of nodes. Under the condition of without burying the vines into soil practice during the winter, the percentage of plants with low temperature injury in Changli vineyard was significantly lower than that in Dingzhou vineyard. It suggested that the storage nutrition level in stems of the basal part of one-year old shoots was highly correlated with the plant cold hardiness. In one shoot for the six stems sampled, the diameter of the stems decreased and the length increased gradually from the bottom one, but there was no significant difference among them in the storage nutrition level.

Key words: grape; one-year old shoot; storage nutrition; cold hardiness

1 材料与方法

1.1 试验材料

金平县勐拉乡腰果实生树果园在 2008 年初遭受低温侵害后,分散存留有部分 FL30 树体表现出受害程度极轻。试验育苗腰果种子采集于这些存留树体,混合采种,于 2009 年 4 月播种育苗,幼苗盆栽于昆明市西南林业大学资源学院的智能温室内,低温胁迫试验时苗龄为 6 个月。

1.2 试验方法

1.2.1 材料处理 昆明市在 2009 年 11 月中下旬遭遇了低温侵袭,试验安排在低温发生阶段。从培育的腰果幼苗群体中选取生长势相近的 12 株幼苗,于 2009 年 11 月 18 日放置于室外,持续低温胁迫 4 d。每隔 1 d 任选 3 株采摘成熟叶片,采后的叶片立即用潮湿纱布包裹,装入密封的塑料袋中带回实验室,用自来水冲洗干净,再用去离子水漂洗 3 次后滤纸吸干,待用。留于温室内的 3 株幼苗为对照,温室温度为 20℃。低温胁迫试验期间的温度分别为:18 日为 3~13℃,19 日为 4~13℃,20 日为 1~5℃,21 日为 0~4℃,22 日为 3~12℃。

1.2.2 测定方法 电导率的测定:用电导仪法测定^[1];丙二醛和可溶性糖的测定:硫代巴比妥酸法^[12,13];游离脯氨酸的测定:磺基水杨酸法^[14]。

2 结果与分析

2.1 相对电导率的变化

相对电导率是植物组织受低温影响时质膜功能或结构受损程度的反映。由图 1 可见,在经历第 1 天低温胁迫后,腰果幼苗叶片的相对电导率升高;经历 2 d 的低温胁迫后,相对电导率有所降低,接近于对照水平;而在 3 d 及以上持续低温胁迫下,相对电导率又迅速增加。出现先升后降再升高的变化规律,可能是在第 1 天低温胁迫时,腰果还没有得到抗寒锻炼,突然遭遇低温,使质膜受损,外渗的电解质增多,导致相对电导率增大;而在第 2 天时,经过低温诱导,腰果幼苗植株体内启动了相应的应激机制,叶片的抗寒能力有所提高;但持续的低温或过低的温度,超越了腰果幼苗自身保护和修复能力,对其叶片造成了不可逆的伤害,因此,相对电导率在第 3 天和第 4 天时均表现出持续升高的趋势。

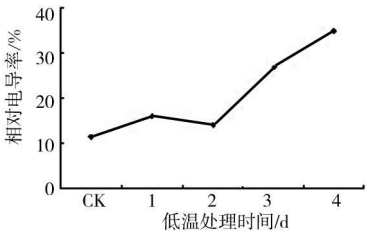


图 1 低温处理腰果叶片相对电导率的变化

2.2 丙二醛含量的变化

丙二醛(MDA)是膜脂过氧化作用的最终产物,是显示膜伤害的生理指标之一。从图 2 可知,与对照相比,腰果幼苗在低温胁迫处理 1 d 后,其叶片中的 MDA 含量升高,可能是细胞还未完全启动应激反应而

引起 MDA 累积;在低温胁迫处理 2~3 d 时,腰果幼苗叶片的 MDA 持续下降,表明此时的幼苗植株应激反应能力还能够与 MDA 含量的增长率相抗衡;但随着低温胁迫时间的延长(在第 4 天时),导致植物组织细胞的生化平衡系统紊乱,已对腰果幼苗造成了伤害,使 MDA 含量再次升高。

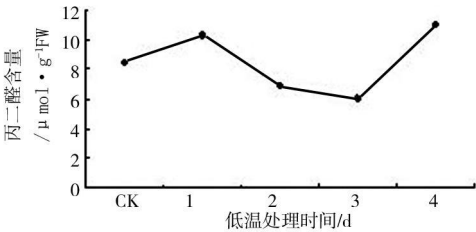


图 2 低温处理下腰果叶片丙二醛含量的变化

2.3 可溶性糖含量的变化

可溶性糖含量的变化是植物体在受到低温胁迫时调节细胞渗透压的一种反应,可以使细胞冰点下降,从而保护原生质体。从图 3 可看出,在腰果幼苗第 1 天受低温胁迫后,可溶性糖含量明显高于对照,但在第 2 天和第 3 天时,可溶性糖含量下降至与对照比较接近,在第 4 天时又快速升高。说明腰果幼苗能够通过自我调节机制抵抗短暂的低温胁迫。

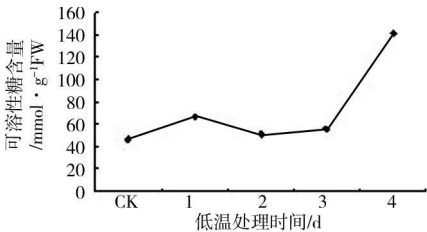


图 3 低温处理下腰果叶片可溶性糖含量的变化

2.4 脯氨酸含量的变化

脯氨酸作为渗透调节物质,具有水溶性和水势高的特点,能保持原生质与环境之间的渗透平衡,其含量与植物忍受逆境胁迫的能力有一定正相关关系。由图 4 可看出,随着低温胁迫时间的延长,腰果幼苗叶片的脯氨酸含量呈现出持续上升的趋势。表明在低温胁迫时,激活了腰果脯氨酸的合成机制,从而导致脯氨酸含量的大量积累,提高其抗寒能力。

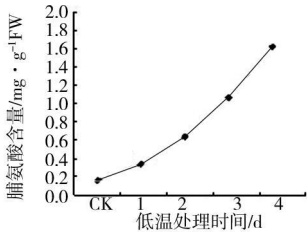


图 4 低温处理下腰果叶片脯氨酸含量的变化

3 结论与讨论

细胞膜是与外界环境发生物质交换的主要通道,是细胞感受环境胁迫最敏感的部位,也是受冻害和冷

害而损伤的原初部位^[15]。当植物组织遇到环境低温影响时,由于质膜的功能受损或结构破坏而使其透性增大,细胞内各种可溶性物质包括电解质将有不同程度的外渗,伤害愈重,外渗愈多,电导值的增加也越大,可用电导仪测定外渗液的电导度增加值从而得知质膜受伤害的程度^[16]。因此,相对电导率上升越快,植物耐寒能力越弱。在试验中,随着低温胁迫时间的延长,腰果幼苗叶片的相对电导率与对照相比逐渐升高,表明细胞膜及原生质体的伤害程度不断加深。

丙二醛(MDA)是膜脂过氧化的产物,其含量的多少是膜脂过氧化作用强弱的一个重要指标,能反映植物细胞膜受伤害的程度。MDA可以扩散到细胞内的其它部位,破坏体内多种反应的正常进行,膜脂过氧化使膜结构和功能受到损伤,使电解质渗出率增加和细胞代谢失调,严重时导致细胞死亡^[17]。试验结果表明,在受到低温胁迫初期,腰果幼苗叶片的MDA含量升高,随胁迫时间延长,又出现下降,这可能是初期低温使腰果幼苗得到了一定的锻炼作用,从而启动了自身保护机制,但随着时间的延长,低温伤害作用已超越腰果的自我保护能力,在第4天又出现了MDA含量升高。

糖类物质的积累与植物的抗寒性呈正相关,细胞内可溶性糖含量多时,可使细胞渗透压增大,保水能力增强,使冰点下降。此外,糖还能提供碳源和底物,诱导其它与抗寒性相关的生理生化过程的进行,如蛋白质的合成等,有助于抗寒性的增强。同时,糖类还具有保护蛋白质避免低温所引起的凝固作用^[18]。该试验结果表明,腰果幼苗在突然遭受低温时,可溶性糖含量升高,之后下降至接近对照水平并保持,随低温作用时间的延长,又出现快速上升。说明低温胁迫初始,腰果幼苗需要较多可溶性糖调节细胞渗透压,防止细胞过度脱水而受伤害。在经历初始低温后,腰果抗寒性应激机制启动并发挥综合调控作用,此时可溶性糖类的作用减弱,含量也随之降低。

游离脯氨酸是植物细胞内重要的渗透调节物质,也是植物在逆境胁迫下的产物,其含量的增加有助于细胞持水和生物大分子结构的稳定^[19]。当植物受到低温胁迫时,游离脯氨酸的积累不仅发挥渗透调节作用,更重要的是对膜脂和蛋白起到保护作用,防止活性氧对膜脂和蛋白的过氧化作用^[20]。作为逆境胁迫产物,在正常生长条件下的植物体内游离脯氨酸含量并

不多,经低温胁迫后,其含量迅速增加^[21]。该研究结果表明,在低温胁迫下,腰果幼苗叶片中的脯氨酸含量持续上升。脯氨酸含量的不断积累,增强了腰果的耐寒能力,也说明低温处理能够在一定程度上提高腰果的耐寒性。

参考文献

- [1] Jan N, Hussain M, Andrabi K I. Cold resistance in plants: a mystery unresolved[J]. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2009, 12(3): 1-15.
- [2] 曹慧明, 史作民, 周晓波, 等. 植物对低温环境的响应及其抗寒性研究综述[J]. *中国农业气象*, 2010, 31(2): 310-314.
- [3] 于凤玲, 支庆祥. 低温对植物的危害以及植物的抗寒性[J]. *畜牧与饲料科学*, 2009, 30(9): 190.
- [4] 和红云, 田丽萍, 薛琳. 植物抗寒性生理生化研究进展[J]. *天津农业科学*, 2007, 13(2): 10-13.
- [5] 周德宝, 张二红. 植物抗寒性与抗寒基因的表达和调控[J]. *生物技术通报*, 2006(增刊): 14-16.
- [6] 农业部发展南亚热带作物办公室. 中国热带南亚热带果树[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 217-218.
- [7] 王健, 杨毅敏. 世界腰果研究综述[J]. *经济林研究*, 2002, 20(2): 87-91.
- [8] 中国热带作物学会热带园艺专业委员会. 中国热带农业科学院南亚热带作物研究所. 南方优稀果树栽培技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 180-181.
- [9] 胡国强, 刘惠民, 李贤忠. 云南省金平县腰果冷害状况调查初报[J]. *西南林学院学报*, 2008, 28(3): 36-38.
- [10] 许俊华, 何和明, 王教. 腰果生物学特性和高产生境的分析[J]. *中国野生植物资源*, 1997, 16(3): 1-5.
- [11] 李合生, 孙群, 赵世杰, 等. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 7.
- [12] 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 305-306.
- [13] 熊庆娥. 植物生理学实验教程[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2003: 124-126.
- [14] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 228-231.
- [15] 钟泰林, 李根有, 石柏林. 低温胁迫对四种野生常绿藤本植物抗寒生理指标的影响[J]. *北方园艺*, 2009(9): 161-164.
- [16] 刘冰, 王有科. 应用 Logistic 方程确定花椒枝条低温半致死温度[J]. *甘肃农业大学学报*, 2005, 40(4): 475-479.
- [17] 王华, 王飞, 陈登文, 等. 低温胁迫对杏花 SOD 活性和膜脂过氧化物的影响[J]. *果树学报*, 2000, 17(3): 197-201.
- [18] 王连琴. 临沂地区引进不同茶树品种的抗寒性研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2007.
- [19] 汤章城. 逆境条件下植物脯氨酸的积累及可能的意义[J]. *植物生理学通讯*, 1984(1): 15-21.
- [20] 王翼川, 李志军, 徐雅丽, 等. 低温胁迫对海岛棉幼苗生理生化特性的影响[J]. *中国棉花*, 2001, 28(5): 13-14.
- [21] 龚明, 刘友良, 朱培仁. 低温下稻苗叶片中蛋白质及游离脯氨酸的变化[J]. *植物生理学通讯*, 1989(4): 18-22.

Study of Natural Low Temperature Stress on Physiological Index of Cold Resistance in Cashew

WAN Hong, LIU Hui-min, HE Cheng-zhong, WANG Lian-chun, MIU Fu-jun, XIA Qing-zhu

(Key Laboratory for Forest Resources Conservation and Use in the Southwest Mountains of China, Ministry of Education, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224)

Abstract: Cashew clone of FL30 was used as material in this experiment, physiological indices of cold resistance of the relative electrical conductivity rate, the content of MDA, soluble sugar and proline were tested during the natural low temperature. The results showed that, with the time increasing of low temperature stress, the proline content of cashew young leaves was durative increasing; the relative electrical conductivity rate, MDA content and soluble sugar content of cashew young leaves increased firstly, then decreased and increased again, but the decreased duration was different among the three index.

Key words: cashew; natural low temperature; cold resistance; physiological index