

持续低温胁迫下甜樱桃枝条电导率变化研究

张春山¹, 赵英^{1,2}, 张开春², 牛建新¹

(1. 石河子大学 农学院, 新疆 石河子 832003; 2. 北京市农林科学院 林业果树研究所, 北京 100093)

摘要:用电导法测定了5个甜樱桃和1个酸樱桃的枝条细胞在经历持续低温胁迫的过程中电解质渗出率(即电导率)的变化,研究了5个甜樱桃品种的抗寒性。结果表明:所有樱桃品系的枝条细胞在接受持续-20℃低温胁迫处理过程中,细胞电解质渗出率先升高后降低,即细胞在接受临界致死温度附近的低温胁迫过程中,在一定的较短时间内细胞的自身恢复能力会快速提高。比较各品种之间电解渗出率的相对大小与分析细胞自身恢复能力情况得出,酸樱桃CAB、红艳和龙冠的抗寒力相对较强,是抗寒性较强品系、品种,红蜜、红灯和茉莉抗寒力相对较弱,是抗寒性较弱品种。

关键词:甜樱桃;持续低温胁迫;细胞;电解质渗出率;自身恢复;抗寒性

中图分类号:S 662.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)03-0011-03

对植物产生伤害的环境称为逆境,又称为胁迫^[1]。温度逆境是造成植物地域分布的主要限制因子。农学家们力求找到标志植物温度抗逆性的生理指标和分子标记,用于农作物品种的抗性选育;植物生理与分子生物学家则追溯此温度逆境下植物的原初反应及其分子基础^[2]。人们在寒害产生的生理机制上已有大量的研究,已经明确冻害会直接作用于质膜,首先对质膜结构产生破坏,造成质膜通透性增大致使细胞内离子外渗,通过测定细胞电解质渗出率即可反映细胞受冻害的程度^[3-8]。但对于细胞质膜的冰冻伤害恢复机制研究甚少。甜樱桃(*Prunus avium* L.)原产欧洲大陆,相对中国樱桃是较抗寒的樱桃树种,研究甜樱桃枝条细胞质膜的冰冻伤害后的恢复现象,并比较不同甜樱桃品种的冻害恢复能力,以此来作为甜樱桃抗寒性强弱的鉴定依据,这不仅对甜樱桃的生产栽培与抗寒性选择育种有重要意义,而且还能为深入研究甜樱桃抗寒性的分子机制做引导和参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料选自北京市农林科学院林业果树研究所甜樱桃示范园6a生植株,管理水平较高,树体长势良好。品种为“龙冠”、“红蜜”、“红艳”、“红灯”、“茉莉”,以酸樱桃“CAB”为对照。以不同樱桃品系分别作为1个处

理,每处理1株树,3次重复,均选取长势相近的植株,于2011年1月1~15日在北京冬季最寒冷时期(树体已进入深休眠)截取树冠外围生长健壮、发育较一致的20~30 cm长1a生枝条若干,做好标记后装塑料袋带回实验室,用自来水冲洗干净,去离子水冲洗3遍,滤纸吸干,然后将枝条截为约5 cm长的小段,混合均匀后分装入自封袋中备用,根据每次试验的需要,分别采取足够的枝条及设置相应的组分。

1.2 试验方法

1.2.1 -20℃冰冻-化冻处理 将采回的枝条分成4组,其中1组作为对照,室温(18℃)下放置1 h测电导率,其余3组放入控温冰柜,0℃预处理1 h,逐步降温至-20℃(降温速度为4℃/h),恒定温度处理24 h后,取出1组材料室温下快速化冻后测电导率,剩下的3组,分别在0℃冰柜中缓慢化冰1、2、3 h后分别测电导率。

1.2.2 不同温度的持续胁迫处理 将采回的枝条分成6组,放入控温冰柜,0℃预处理1 h,逐步降温至-20℃(降温速度为4℃/h)恒定,之后每间隔8 h取出1组分别于4℃冰柜中化冰恢复3 h之后测定电导率。之后重复-25及-30℃恒定低温胁迫的过程。

1.2.3 电导率的测定 樱桃枝条电导率的测定采用电导法。将枝条剪成0.3 cm的小段,避开芽眼,混合均匀,取15段置于25 mL具塞试管中(3次重复)加去离子水20 mL,用真空泵抽气30 min,室温下放置10 h后用DDSJ-380型电导仪测定初电导值(E_1),然后将试管的塞子拧紧,放入沸水中水浴煮沸30 min,取出冷却至室温,放置10 h再测定其终电导值(E_2),根据公式:电解质渗出率(枝条相对电导率) = $(E_1/E_2) \times 100\%$,计算出电解质渗出率。

第一作者简介:张春山(1987-),男,在读硕士,研究方向为果树学。

责任作者:赵英(1977-),女,博士,高级农艺师,现主要从事果树育种研究工作。

基金项目:北京市农林科学院博士后基金资助项目。

收稿日期:2011-11-21

2 结果与分析

2.1 -20°C 低温胁迫后化冻不同时间枝条细胞电解质渗出率的变化

由图 1 可知,甜樱桃与酸樱桃枝条细胞对低温非常敏感, -20°C 持续 24 h 处理后,再分别进行室温快速化冻与 0°C 环境中缓慢化冻不同时间的处理。在该过程中,快速化冻时所测定的电解质渗出率最高,但是经过 2~3 h 的 0°C 低温缓慢化冻过程后电解质渗出率即可恢复到一个稳定的较低水平。枝条细胞快速化冻后的电解质渗出率水平远远高于低温缓慢化冻后的,原因可能是在快速化冻过程中由于温度骤然回升,枝条细胞间隙的冰晶迅速融化,细胞壁易于恢复原状,而原生质却来不及吸水膨胀,细胞膜被撕裂损伤^[1]。

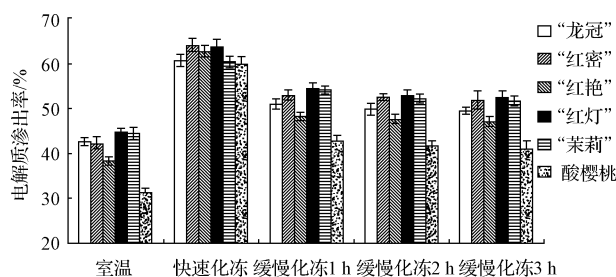


图 1 冰冻-化冻过程甜樱桃枝条细胞电解质渗出率变化

2.2 不同低温的持续胁迫条件下枝条细胞电解质渗出率的变化

-20°C 是甜樱桃发生冻害的临界温度(于绍夫, 1987),在此温度条件下,枝条会受到伤害。经持续 -20°C 低温胁迫处理结果见图 2。在持续胁迫的 8 h 过程中,所有大樱桃枝条的电解质渗出率迅速升高,平均升高 8.62%,16 h 达到最高水平 55.51%,之后开始降低,24 h 后便降低到一个较低的稳定水平,一直到 48 h,变化平稳。在总的低温处理的过程中并没有持续的升高,而是先升高然后恢复到较低的一个稳定水平,有明显的恢复现象,产生此现象的原因可能是由于大樱桃枝条在前 16 h 的低温胁迫环境下自身快速发生一系列的生理生化变化,能提高细胞膜自身的修复能力,并且在接下来的低温胁迫时间里保持甚至进一步提高了这种

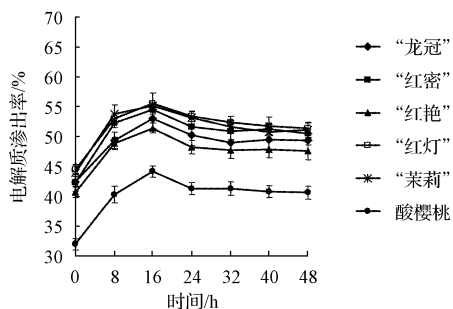


图 2 -20°C 持续低温胁迫甜樱桃枝条细胞电解质渗出率变化

自身修复能力,使电解质渗出率恢复到较低的水平。这一过程中发生的生理生化变化可能与抗寒锻炼现象产生过程中的相类似。

由图 3 可知, -25°C 持续低温胁迫处理 48 h 后,平均电解质渗出率均明显高于 -20°C 的低温胁迫,16~24 h 达到最大值,32 h 后开始降低恢复,整个过程的变化曲线相对平缓。其中酸樱桃“CAB”、“红艳”、“龙冠”恢复现象较明显,说明它们枝条细胞的致死温度还要低于 -25°C ,而“红灯”和“茉莉”只有微小的恢复现象,说明这 2 个品种的自身修复能力已经不能抵御 -25°C 的持续低温伤害,已经接近细胞质膜结构可以忍受的极限温度。 -25°C 左右是它们抗寒力水平的一个分水岭。

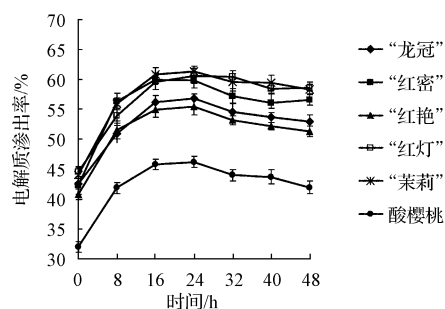


图 3 -25°C 持续低温胁迫甜樱桃枝条细胞电解质渗出率变化

由图 4 可知,在 -30°C 的持续冻害条件下,电解质渗出率从 8 h 的时间处理开始均随着冻害时间的延长持续升高,所有樱桃品系的电解质渗出率总体上升高,最高值为 70.02%,其中酸樱桃“CAB”的电解质渗出率仍比较低,而且只有微小的升高幅度。此结果明显不同于 -20 和 -25°C ,不再有恢复现象,说明 -30°C 的低温胁迫下大樱桃的细胞受伤害程度严重,自身修复能力已有限。

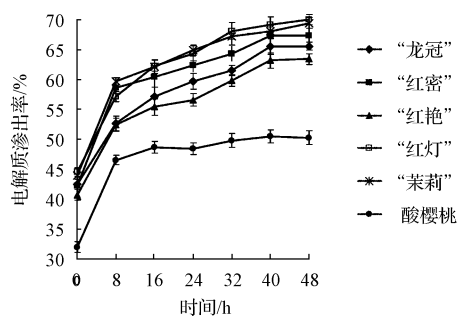


图 4 -30°C 持续低温胁迫甜樱桃枝条细胞电解质渗出率变化

3 讨论与结论

生物膜是植物组织中对于低温最为敏感的区域,低温首先破坏生物膜的结构,使生物膜透性变大,植物细胞内的电解质的外渗。细胞膜受伤害程度越高,细胞中电解质的外渗程度就越高,所测电解质渗出率值越大,反之越低,所以电解质渗出率的大小可以简单直接的反映细胞的受伤害程度及植物抗寒力的强弱。

Lyons^[4]认为,抗寒性较强的品种细胞受害程度轻,膜透性增大程度轻,且透性变化可逆转,易恢复正常;反之,抗寒性差的品种膜透性增加的大,不能恢复正常。该试验充分证明了此观点,并且得出在低于临界致死温度的持续低温胁迫过程中,随时间的延长大樱桃枝条细胞的恢复能力没有降低反而升高,在16~24 h的较短时间内有迅速的提升,类似于抗寒锻炼的过程,这种抗寒生理反应现象由该试验在甜樱桃的枝条细胞抗寒研究中第一次得出,但促使这一现象产生的微观生物学机理还不清楚,需要进行更深入的研究。

虽然3种低温条件下的持续胁迫处理后所测得到的各个品系的电解质渗出率变化趋势均基本一致(均随处理温度的降低而升高),但各个品系之间的电解质渗出率水平和膜结构的恢复能力存在一定的差异,比较分析可明显看出,酸樱桃“CAB”、“红艳”和“龙冠”的电解质渗出率水平比“红蜜”、“红灯”和“茉莉”的相对要低,伤害恢复现象相对明显,依此即可以推测出酸樱桃“CAB”、“红艳”和“龙冠”的抗寒力相对较强,是抗寒性较强品系、品种,而“红蜜”、“红灯”和“茉莉”抗寒力相对较弱,是抗寒性较弱品种,这与前人的研究和生产实践观察的结果基本一致^[9-10]。

植物宏观上的生物学性状在微观上都会有明显的

反映,该试验主要利用电导法研究发现,在低于临界致死温度的持续低温条件下,随胁迫时间的延长植物细胞膜结构的伤害恢复能力具有积累提高这一微观现象。不同大樱桃品系的伤害恢复能力也不同,这从微观上反映出了它们的抗寒性强弱。

参考文献

- [1] 潘瑞炽,王小菁,李娘辉. 植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社,2004:282.
- [2] 苏维埃. 植物生理与分子生物学[M]. 北京:科学出版社,1998:721.
- [3] 简令成,董合铸. 小麦原生质体在冰冻-化冻中的稳定性与其品种抗寒力的关系[J]. 植物学报,1980,22(1):17-21.
- [4] Lyons J M. Chilling injury in plants[J]. Ann. Rev. Plant Physiol,1973,24:445-448.
- [5] 张凤琪. 零度低温对于温州蜜柑(宫川)抗寒锻炼的作用[J]. 园艺学报,1986,13(3):209-211.
- [6] 吴经柔. 果树抗寒性的鉴定[J]. 中国果树,1980(2):44-47.
- [7] 王善广,张华云,郭鄂,等. 生物膜与果树抗寒性[J]. 天津农业科学,2000,6(1):37-40.
- [8] 邱乾栋,吕晓贞,臧德奎,等. 植物抗寒生理研究进展[J]. 山东农业科学,2009(8):53-57.
- [9] 陈秋芳,王敏,田建保. 不同甜樱桃品种枝条电导率的测定[J]. 山西果树,2009(5):19-11.
- [10] 陈新华,郭宝林,赵静,等. 休眠期内甜樱桃不同品种枝条的抗寒性[J]. 河北农业大学学报,2009,32(6):37-40.

Changes in Cell Electrical Conductivity of Sweet Cherry Branches Under Continuous Low Temperature Stress

ZHANG Chun-shan¹, ZHAO Ying^{1,2}, ZHANG Kai-chun², NIU Jian-xin¹

(1. College of Agronomy, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003; 2. Institute of Forestry and Pomology, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100093)

Abstract: Using the methods of electrical conductivity to mensurate the changes in cell electrolyte leakage rate (ie electrical conductivity) of 5 sweet cherries and 1 sour cherry's branches after the process of continuous cold stress, the cold resistance of 5 varieties of sweet cherry were studied. The results showed that after the process of -20°C low temperature continuous cold stress, the cell electrolyte leakage rate of all the cherries' branches first increased and then decreased. When the cell undergo the cold stress with the temperature near the critical lethal, the cell's self-recovery capability would rapidly improve in a certain of short period of time. Compared the relative values of cell electrolyte leakage rate between species and analyzed the condition of cell self-derived capability, a conclusion was got, sour cherry 'CAB', cold resistance of 'Hongyan' and 'Longguan' was relatively strong, they were varieties with a stronger cold resistance, 'Hongmi', cold resistance of 'Hongdeng' and 'Moli' was relatively weak, they were varieties with a weaker cold resistance.

Key words: sweet cherry; continuous low temperature stress; cell; electrolyte leakage rate; self-recovery capability; cold resistance