

人工低温胁迫对腰果叶片抗寒生理生化指标的影响

夏清柱¹, 刘惠民¹, 何承忠¹, 王连春¹, 万红², 张晓敏¹

(1. 西南林业大学 西南山地森林保育与利用省部共建教育部重点实验室, 云南 昆明 650224; 2. 思茅师范高等专科学校, 云南 思茅 655000)

摘 要:以腰果 FL30 叶片为试材, 测定了不同人工低温胁迫下相对电导率、丙二醛、可溶性糖、脯氨酸和超氧化物歧化酶等生理生化指标, 研究了腰果在低温逆境下的抗寒生理生化响应机制。结果表明: 相同时间处理下, 相对电导率、丙二醛、可溶性糖、脯氨酸和超氧化物歧化酶都随胁迫温度从 20℃ 降低至 4℃ 呈现持续升高的变化规律; 相同温度处理下, 随低温胁迫时间的延长, 相对电导率表现出先升高后下降再升高的变化规律, 丙二醛、可溶性糖、脯氨酸含量和超氧化物歧化酶活性表现出先升高后下降的变化规律。

关键词:腰果叶片; 人工低温; 生理生化指标; 抗寒性

中图分类号:S 664.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)11-0024-04

温度是限制腰果地理分布的主要因子, 低温直接影响着植物的生长发育和地理分布, 常给植物栽培带来灾害, 使生产严重受损^[1-5]。目前认为低温必须低于最低临界点以下, 才产生寒害。当植物遭受低温侵害时, 首先危害膜系统, 引起膜的透性改变, 接着结构和功能改变, 进一步引起内部代谢的变化^[6]。大量研究表明, 低温对细胞膜体系的损伤是造成植物寒害的根本原因, 使细胞脱水导致膜的脂双层向六角形 II 相转变和膜的破裂^[7-8]。因此, 膜结构的冷稳定性决定着植物的抗寒能力^[9], 各种植物抗寒力的增强, 也是因为低温锻炼提高了膜的冷稳定性^[7, 10]。有关植物细胞膜的稳定性涉及到多种机制, 而目前报道最多的是改变脂质成分。

目前对腰果的研究主要集中在丰产栽培、种质资源的收集、保存和良种选育等领域^[11-13], 而对抗寒性生理生化指标测定的报道却较少。温度限制着腰果在我国的地理分布, 也是制约我国腰果产业发展的首要因素。在云南产区, 低温限制着腰果的发展, 如 2008 年初的低温天气使金平县于 1995 年建植的腰果园几乎全部损毁^[14]。为探讨腰果受低温限制等问题, 现从生理生化指标等方面研究分析腰果的抗寒机理, 以求培育腰果抗寒新品种, 为我国腰果产业的生产与发展提供科学依据。

第一作者简介:夏清柱(1985-), 男, 湖南龙山人, 在读硕士, 现主要从事果树学等研究工作。

责任作者:刘惠民(1957-), 男, 博士, 教授, 现主要从事经济林等教学与科研工作。

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资助项目(XKZ200906)。

收稿日期:2012-03-15

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地为云南金平县勐拉乡的腰果实生果园, 年平均温 22.6℃, 最热月均温 26.6℃, 最冷月均温 16.0℃, 绝对最低温度 6.2℃, 日照时数 1 763.1 h, 土壤为微酸性砖红壤, 适合腰果树的生长要求^[15]。

1.2 试验材料

1995 年从海南引种育苗, 定植于勐拉腰果园的实生腰果树, 在 2008 年初遭受低温侵害后, 分散存留部分受害程度极轻的 FL30 树体^[16]。于 2011 年 7 月 28 日, 采摘 15 株长势基本一致的 FL30 腰果树当年生成熟无病虫害带枝叶片为试验材料。

1.3 试验方法

将采集的带枝叶片先用自来水冲洗干净, 再用去离子水洗 3 次, 并用滤纸将水吸干。清理好的材料分成 6 组, 套好塑料袋, 放入人工气候培养箱中进行低温胁迫处理。处理温度梯度为 20、16、12、8、4℃, 时间梯度为 1、3、5、7 d, 以未进行人工低温处理的叶片为对照。每次取出经各低温胁迫处理后的材料, 立即测定其相对电导率; 剩余材料去主脉, 将其剪成小片, 混合均匀。每份称取 0.5 g, 装入小号自封袋中, 做好标记后用液氮速冻, 再放入 -80℃ 超低温冰箱保存待测。

1.4 项目测定

相对电导率的测定采用电导仪法^[17]; MDA 和可溶性糖的测定采用硫代巴比妥酸法^[18-19]; 游离脯氨酸的测定采用茚三酮法^[20-21]; SOD 活性的测定参照张治安的方法^[19]。

2 结果与分析

2.1 相对电导率的变化

由图 1 可知, 在同一温度胁迫处理下, 0~3 d 时, 腰

果叶片的相对电导率升高;低温胁迫 3~5 d,相对电导率有所下降,5~7 d,相对电导率再升高,呈现先升高后下降再升高的变化规律;在相同时间处理下,相对电导率随胁迫温度从 20℃降低至 4℃呈升高趋势。结果表明,在前 3 d 低温胁迫时,腰果还没有得到抗寒锻炼,低温使叶片质膜受损电解质外渗增多,导致相对电导率不断增大;经过 3~5 d 低温胁迫时,相对电导率有所下降,可能腰果叶片启动了抗寒机制,叶片的抗寒能力增强;但是在 4℃和 8℃长时间的持续低温下,可能超出了腰果叶片的自我保护和修复能力范围,因此,相对电导率在第 5~7 天时表现出继续上升趋势。

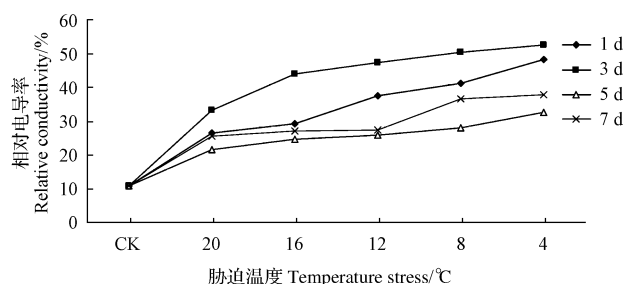


图 1 不同低温胁迫处理相对电导率的变化

Fig. 1 Changes of relative conductivity under different temperature stress

2.2 丙二醛含量的变化

丙二醛是膜脂氧化的最终产物,对质膜具毒害作用,其含量多少可以反映质膜遭受低温逆境胁迫伤害程度。由图 2 可知,在同一温度胁迫处理下,0~3 d,腰果叶片的 MDA 含量升高;3~7 d,MDA 含量持续下降,呈现出先升高后下降的变化规律。在相同时间处理下,MDA 含量随胁迫温度从 20℃降低至 4℃呈升高趋势。可能在低温胁迫前 3 d,腰果受低温影响,使 MDA 积累,经过 3 d 的低温胁迫锻炼,MDA 含量下降,可能是经历 3 d 的低温诱导了腰果叶片的抗寒机制,使叶片的抗寒能力增强。

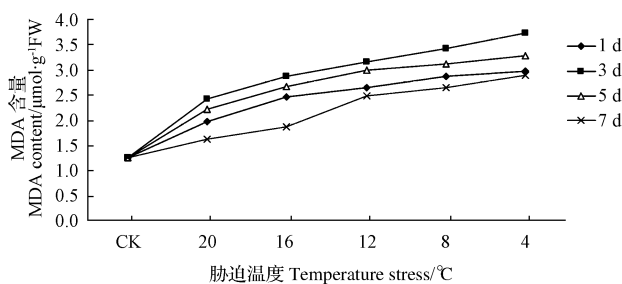


图 2 不同低温胁迫处理 MDA 含量的变化

Fig. 2 Changes of MDA content under different temperature stress

2.3 可溶性糖含量的变化

可溶性糖是植物体在抗寒锻炼中溶质浓度变化的主要因素,是植物体内重要的渗透调节和能量物质,可使细胞冰点降低,保护细胞质遇冷不凝固,植物的抗寒

性越强其可溶性糖含量越高。由图 3 可知,在相同时间处理下,可溶性糖含量随胁迫温度从 20℃降低至 4℃呈升高趋势;在同一温度胁迫处理下,0~3 d 腰果叶片的可溶性糖含量升高;3~7 d 时,可溶性糖含量持续下降,且第 5~7 天下降幅度减小。可溶性糖含量呈现出先升高后下降的变化规律,可能是在低温胁迫前期,需要消耗大量的可溶性糖抵御低温逆境,维持正常生命活动,且温度越低需要可溶性糖越多。

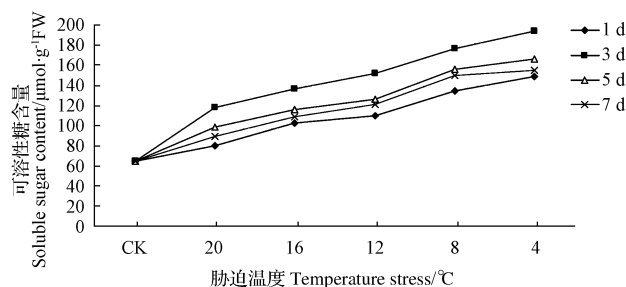


图 3 不同低温胁迫处理可溶性糖含量的变化

Fig. 3 Changes of soluble sugar content under different temperature stress

2.4 脯氨酸含量的变化

脯氨酸是重要的渗透调节物质,亲水能力较强,有助于细胞持水和生物大分子结构稳定,保护膜脂和蛋白,防止活性氧对其过氧化作用,植物脯氨酸含量的抗寒性越强其可溶性糖含量越高。由图 4 可知,在相同时间处理下,脯氨酸含量随胁迫温度从 20℃降低至 4℃呈升高趋势,温度越低脯氨酸含量越高;在同一温度胁迫处理下,0~3 d 腰果叶片的脯氨酸含量升高;低温胁迫 3~7 d 时,脯氨酸含量持续下降。脯氨酸含量呈现出先升高后下降的变化规律,可能是在低温胁迫前期,激活了脯氨酸的大量合成,抵御低温逆境,增强对自身的保护作用。

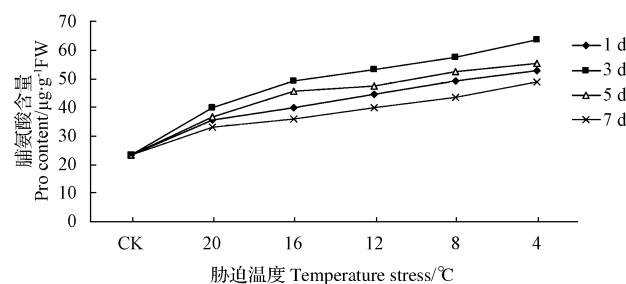


图 4 不同低温胁迫处理脯氨酸含量的变化

Fig. 4 Changes of Pro content under different temperature stress

2.5 超氧化物歧化酶(SOD)活性的变化

SOD 可消除活性氧和自由基的毒害,在低温逆境下对细胞膜系统具重要保护作用。由图 5 可知,在相同时间处理下,SOD 活性随胁迫温度从 20℃降低至 4℃呈升高趋势,温度越低 SOD 活性越高;在同一温度胁迫处理下,0~3 d 腰果叶片 SOD 活性呈升高趋势;3~7 d 时,

SOD 活性降低。SOD 活性呈现出先升高后下降的变化规律,可能是在低温胁迫前期,低温促进活性氧和自由基产生,需要更多的 SOD 来清除,以保护膜系统,增强自身的保护作用抵御低温逆境。

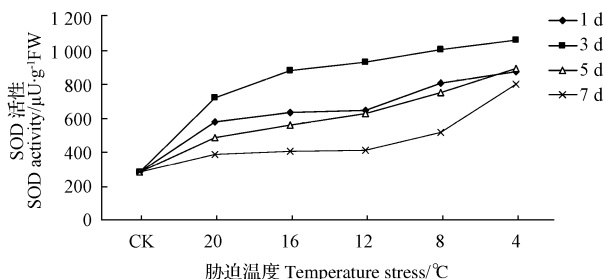


图5 不同低温胁迫处理 SOD 活性的变化

Fig. 5 Changes of SOD activity under different temperature stress

3 结论与讨论

该试验结果表明,叶片的相对电导率都高于对照,表明低温对膜系统结构的伤害不断加深,随着低温胁迫时间的延长,相对电导率 0~3 d 呈升高趋势,3~5 d 呈下降趋势,5~7 d 再升高,表明经历 3~5 d 的低温胁迫,腰果叶片被损伤的膜系统结构得到修复,但随时间继续延长,低温伤害超越了叶片的自身保护能力,在第 5~7 天又出现了相对电导率升高。

在低温胁迫初期 0~3 d,叶片的 MDA、可溶性糖和脯氨酸含量升高,随低温胁迫时间延长 3~7 d,出现下降趋势。表明在低温胁迫初期前 3 d,对叶片伤害随低温胁迫时间延长不断加深,MDA 含量呈升高趋势;经历 3 d 的低温胁迫,腰果启动了自身的保护机制,膜系统结构得到修复和保护,因而在 3~7 d 时又出现下降趋势。表明在经历 3 d 的低温胁迫处理初期,腰果需要大量可溶性糖调节细胞渗透压,防止细胞因过度脱水而受伤害,同时提供能量和底物,保护膜系统,以维持腰果的生命活动的进行;经历 3 d 的低温诱导,可能启动了腰果的抗寒机制,发挥调控作用,导致可溶性糖类的作用减弱,也可能由于长时间的低温胁迫使可溶性糖大量消耗,因而其含量在 3~7 d 不断下降。植物处于低温逆境时,糖可以提高细胞的渗透浓度、降低水势与增加保水能力,使冰点下降,还作为冰冻保护剂,对原生质体、线粒体及膜上敏感偶联因子均有保护作用^[22],对冰冻敏感的蛋白质也具保护作用^[23]。表明在经历前 3 d 初期低温胁迫处理,需要大量脯氨酸调节渗透作用,保护膜脂和膜蛋白,增强了腰果抗寒能力,大量研究表明,抗寒性强的植物体内脯氨酸含量保持较高水平^[24-27]。

在低温胁迫初期 0~3 d,叶片的 SOD 活性升高,随低温胁迫时间延长,3~7 d 出现下降趋势。表明在经历前 3 d 初期低温胁迫处理,需要大量的 SOD 清除低温逆境产生的活性氧和自由基,以保护膜系统,增强自身的保护作用,提高腰果抗寒能力。植物在低温逆境时,细

胞内自由基的产生和清除的平衡遭到破坏,首先伤害膜系统,造成膜脂过氧化。SOD 可消除活性氧和自由基的毒害,对细胞膜系统具重要保护作用,减轻低温逆境对植物体的伤害。

参考文献

- [1] 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,2000:186-187.
- [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] 和红军,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] Jan N, Hussain M, Andrabi K I. Cold resistance in plants: a mystery unresolved[J]. Electronic Journal of Biotechnology,2009,12(3):1-15.
- [6] 庞士铨. 植物逆境生理学基础[M]. 哈尔滨:东北林业大学出版社,1990:57-73.
- [7] 简令成. 生物膜与植物寒害和抗寒性的关系[J]. 植物学报,1983(1):17-23.
- [8] Peter L. Steponkus. The effects of low temperatures on biological systems[J]. Cryobiology,1989,26(1):100-102.
- [9] 邓江明,简令成. 植物抗冻机理研究新进展:抗冻基因表达及其功能[J]. 植物学通报,2001(5):10-19.
- [10] 简令成. 植物抗寒剂的使用方法与效果分析[J]. 植物学通报,1994(S2):172-175.
- [11] 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.
- [12] Samal S, Lenka P C, Nanda R M, et al. Genetic relatedness in cashew (*Anacardium occidentale* L.) germplasm collections as determined by randomly amplified polymorphic DNA [J]. Genetic Resources and Crop Evolution,2004,51:161-166.
- [13] 黄伟梁,梁林洲,梅新,等. 腰果无性系 FL30 和 GA63 相关生物学特性观察[J]. 华南热带农业大学学报,2005,11(4):5-7.
- [14] 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.
- [15] 石文革,乔光明,王永刚. 云南红河地区腰果引种栽培试验初报[J]. 热带农业科技,2007,30(1):15-19.
- [16] 万红,刘惠民,何承忠,等. 自然低温胁迫下腰果幼苗抗寒生理指标的研究[J]. 北方园艺,2011(12):42-45.
- [17] 孔祥生,易现峰. 植物生理学实验技术[M]. 北京:中国农业出版社,2008:248-250.
- [18] 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.
- [19] 张治安,陈展宇. 植物生理学实验技术[M]. 长春:吉林大学出版社,2008:192-193.
- [20] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社,2000:161-162.
- [21] 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.
- [22] Sakai A. Plant cold hardiness and freezing stress: mechanisms and crop implications [M]. Volum2 Academic Press, INC. New York,1982:35.
- [23] 刘祖祺,张石城. 植物抗性生理学[M]. 北京:中国农业出版社,1994:29.
- [24] Sagisaka S, Araki T. Amino acid pools in perennial plants at the wintering stage and at the beginning of growth[J]. Plant and Cell Physiol, 1983,24(3):479-494.

UV-B 辐射增强对油桃光合特性和抗氧化酶活性的影响

张良英, 刘林, 牛歆雨

(西藏农牧学院 植物科学技术学院, 西藏 林芝 860000)

摘要:以油桃品种“中油桃 8 号”为试材, 设置 0 (CK)、15 (T1)、30 (T2) $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 3 个辐射强度, 在露地和盆栽条件下研究了 UV-B 增强下油桃叶片光合特性和抗氧化酶活性的变化。结果表明: 2 个处理叶片的净光合速率显著降低, 但低辐射处理 T1 的叶绿素含量显著提高。各处理的 SOD 活性较对照显著提高, 分别增加 22.71%、23.80%; CAT 活性随 UV-B 辐射强度的增强, 表现出先上升后降低的趋势; T2 处理的 POD 活性显著高于对照。2 个处理的 MDA 含量均显著增加。

关键词:UV-B 辐射; 油桃; 光合作用; 抗氧化酶

中图分类号:S 662.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)11-0027-03

光环境是影响植物生长发育的重要外界条件。由于近地面紫外线辐射不断增强, 光环境中 UV-B 辐射

(波长 280~320 nm) 对植物生理生态的影响已被广泛关注^[1-2]。UV-B 辐射可影响植物发育的各个方面, 涉及到从种子萌发到开花结实的整个生命过程^[3]。

第一作者简介:张良英(1981-), 女, 硕士, 讲师, 现主要从事园艺植物生理生态研究工作。E-mail: zhangliangying_123@163.com。

责任作者:刘林(1980-), 男, 博士, 副教授, 现主要从事果树生理研究工作。E-mail: Liuxlin54@sina.com。

收稿日期:2012-03-07

光合作用是作物产量的决定因素。大量研究认为, UV-B 辐射增强会破坏作物的光合作用, 从而导致生产力下降^[4]。西藏是我国紫外辐射的高值区^[5], 因此, 研究当地自然光环境中 UV-B 辐射增强对果树生产的影响

[25] 王吉庆, 孙治强. 低温胁迫对嫁接黄瓜生理生化特性的影响[J]. 农业工程学报, 1997(12): 69-73.

[26] 姜卫兵, 王业遵. 渗透保护物质在无花果抗寒性发育中的作用[J]. 园

艺学报, 1992, 19(4): 71-72.

[27] 孙德岭, 方文惠. 温度变化对番茄幼苗抗寒性的影响[J]. 华北农业学报, 1999, 14(3): 75-78.

Effects of Artificial Low Temperature Stress on Physiological and Biochemical Indexes of Cold Resistance in Cashew Blade

XIA Qing-zhu¹, LIU Hui-min¹, HE Cheng-zhong¹, WANG Lian-chun¹, WAN Hong², ZHANG Xiao-min¹

(1. Key Laboratory for Forest Resources Conservation and Use in the Southwest Mountains of China, Ministry of Education, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224; 2. Simao Teachers' College, Simao, Yunnan 655000)

Abstract: Cashew clone of FL30 blade was used as material in this experiment, physiological and biochemical indexes of cold resistance of the relative conductivity rate, the content of MDA, soluble sugar, proline and the activity of SOD were tested during different artificial cryogenic stress, to explore the change rule of cashew cold physiological and biochemical response mechanism in low temperature conditions. The results showed that the relative electrical conductivity rate, MDA, soluble sugar, proline and SOD with the stress from 20°C temperature reduced to 4°C continue to rise in the same time processing; With the extension of time in the same low temperature stress treatment, the relative conductivity rate increased firstly, then decreased and increased again, the content of MDA, soluble sugar, proline and SOD activity increased firstly and then decreased.

Key words: cashew blade; artificially low temperature; physiological and biochemical indices; cold resistance