

复合外源物质对“陇油 9 号”白菜型油菜幼苗抗寒性的影响

吴海燕, 张继, 高清雅, 刘琴, 郭楠楠, 丁昊

(西北师范大学 生命科学学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要:以“陇油 9 号”白菜型油菜幼苗为试材, 利用低温培养箱模拟低温条件, 通过叶面喷施复合外源物质, 研究了复合外源物质对白菜型油菜幼苗抗寒性的影响。结果表明: 以抗寒性植物水提液为基液配置的复合外源物质处理可使油菜幼苗在低温(0 ± 1)℃胁迫下保持相对较高的超氧化物歧化酶(SOD)活性和葡萄糖、可溶性蛋白质、叶绿素、脯氨酸(Pro)含量, 减少丙二醛(MDA)含量的积累, 提高了“陇油 9 号”白菜型油菜幼苗的抗寒性; 复合外源物质可在一定程度上提高“陇油 9 号”白菜型油菜幼苗的抗寒能力, 有效降低“陇油 9 号”白菜型油菜幼苗的冻害。

关键词:“陇油 9 号”白菜型油菜; 复合外源物质; 抗寒性

中图分类号:S 634 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2015)06—0001—05

油菜是我国播种面积最大、地区分布最广的油料作物, 但每年由于“倒春寒”形成的低温会对油菜的生产产生很大的影响。有关统计表明, 全球因低温对农林作物造成了高达千亿元的损失^[1-2]。2008 年以来, 我国冬油菜的生产由于冬季低温冻害而受到了严重的影响^[3]。相关研究表明油菜遭受低温后, 生理生化上表现出生长基本停止、叶片含水量降低、细胞内保护物质增多, 电导率增加等^[3-5]。国内外学者在应用植物激素或生长调节剂提高抗寒性方面有一定的尝试, 马霓等^[6]的研究表明, 脱落酸、油菜素内酯在油菜始花期和冻害后叶面喷施可提高植株的耐寒性, 植物生长调节剂处理是促进油菜生长和缓解冻害的有效措施。它能有效地影响和控制植物的生长发育及对低温胁迫的适应性^[7]。尽管前人在施用外源物质提高油菜幼苗抗寒作用上做过大量的研究, 但一般均采用单一物质。而对以抗寒性植物水提液、黄腐酸、刺槐豆胶等为基质的复合生物制剂提高油菜幼苗抗寒性的研究较为少见。该试验研究了复合外源物质对“陇油 9 号”白菜型抗寒性的影响, 测定了超氧化物歧化酶(SOD)的活性、相对电导率、膜脂过氧化产物丙二醛、可溶性蛋白质、脯氨酸(Pro)、叶绿素的含量等

生理指标。通过这些抗寒性生理指标变化的研究明确复合外源物质对“陇油 9 号”白菜型油菜幼苗抗寒性的影响以及抗寒机理。

1 材料与方法

1.1 试验材料

油菜品种为“陇油 9 号”白菜型油菜, 复合外源物质主要由抗寒性植物水提液、成膜剂刺槐豆胶、生长调节剂黄腐酸、抗坏血酸、磷酸二氢钾组成。试验所用壤土均购于市场, 分装到塑料杯中, 用水浇透。挑选颗粒饱满、大小一致的供试油菜种子, 播种到塑料杯中, 每杯种植 4~5 粒, 放置于实验室中, 昼夜温度为 22℃/15℃, 光照强度 1 500 lx, 光照周期 12 h/d, 培养至真叶长出。

1.2 试验方法

从供试油菜品种长出 4 片真叶开始喷施复合外源物质, 对照组喷施清水, 9:00 和 18:00 各喷施 1 次, 叶面布满即可, 重复喷施 3 d, 然后放入 LRH250G 型低温光照培养箱进行 0℃冷胁迫处理, 光照强度 1 500 lx, 光照周期 12 h/d。共胁迫 5 d, 然后取出在常温下恢复生长 3 d。分别在冷胁迫前、冷胁迫发生 3、5 d、恢复生长 3 d 后测定各自叶片电导率、丙二醛、可溶性糖、脯氨酸、可溶性蛋白质、叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素含量及超氧化物歧化酶活性, 所有测定均重复 3 次。

1.3 项目测定

细胞膜相对透性用电导率法测定; 可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定; 可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝法测定; 超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑

第一作者简介:吴海燕(1979-), 女, 甘肃渭源人, 硕士研究生, 研究方向为植物资源开发与利用。E-mail:1285916629@qq.com。

责任作者:张继(1963-), 女, 博士, 研究员, 现主要从事植物资源开发与利用等研究工作。E-mail:1083455950@qq.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(3120255); 国家“十二五”科技支撑计划资助项目(2012BAD20B06)。

收稿日期:2014—11—17

(NBT)光还原方法测定;脯氨酸含量采用酸性茚三酮法测定;丙二醛含量采用硫代巴比妥酸法测定;叶绿素含量采用分光光度计比色法测定。各指标测定方法参照王学奎^[8]的方法。以上测定重复3次,取平均值。

1.4 数据分析

采用SPSS 17.0软件进行数据方差和差异显著性分析,采用CorelDraw进行图片处理,并使用Microsoft Excel 2003软件进行数据分析和作图。

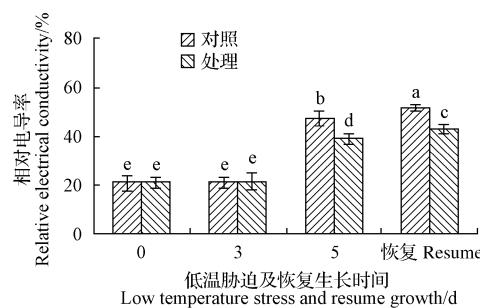
2 结果与分析

2.1 复合外源物质对油菜幼苗外部形态的影响

试验观察表明,低温胁迫导致处理与对照大多植株生长减缓,外部形态部分出现变化。处理3 d后,对照与处理的新生叶片均生长减缓,其它没有明显区别。恢复生长3 d后,对照出现了下部叶片坏死、中部叶片叶缘坏死、新生叶萎缩的现象,而处理组叶片基本正常,新生叶片生长有一定的减缓。综合来看,处理与对照外部形态上都受到一定程度的伤害,而处理组受伤害程度明显较轻,说明在低温下喷施复合外源物质对油菜幼苗有一定的保护作用。

2.2 复合外源物质对油菜幼苗叶片细胞膜系统的影响

由图1复合外源物质处理“陇油9号”油菜幼苗质膜相对透性的变化情况可知,在低温处理时间内,2组幼苗叶片的电导率均增加,并随着低温胁迫天数的增加,电导率均呈现上升趋势,特别是第3~5天上升最快,而且对照上升的幅度明显大于处理组。处理第5天,对照组与处理组产生了显著差异,恢复生长之后,2组电导率仍然上升,但处理比对照降低了16.4%,并且2组之间差异显著,说明复合外源物质能起到维持膜系统相对稳定和结构完整性的作用。



注:同一时间下不同字母表示差异显著($P<0.05$),下同。

Note: Different lowercase letters show significant difference ($P<0.05$), the same below.

图1 低温处理下油菜幼苗相对电导率的变化

Fig. 1 Changes of electrical conductivity content in *Brassica napus* seedling under low temperature stress

MDA是植物膜脂过氧化降解的产物,是表示植物细胞膜受氧化伤害程度的指标。由图2复合外源物质处理“陇油9号”油菜幼苗MDA含量可知,低温胁迫前

处理与对照MDA含量差异不显著,随着胁迫时间的延长,2组MDA含量均上升。恢复生长之后,丙二醛含量仍然上升,但处理比对照的MDA含量降低了21.3%,差异显著,说明复合外源物质处理可以减少油菜幼苗叶片细胞内产生MDA。

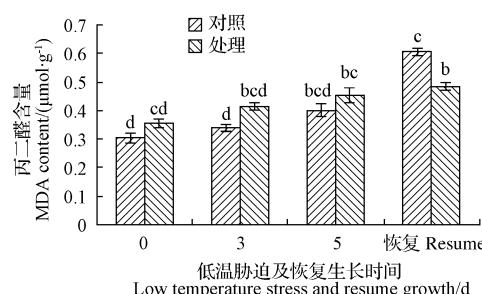


图2 低温处理下油菜幼苗丙二醛含量的变化

Fig. 2 Changes of MDA content in *Brassica napus* seedling under low temperature stress

2.3 复合外源物质对油菜幼苗叶片渗透调节系统的影响

研究表明,抗寒性较强的植物积累的可溶性糖较多,并且与细胞内相关蛋白质变性有一定关系,而且糖类的增多将影响冰晶的生长以减轻低温对植物的伤害^[9-10]。由图3可知,冷胁迫前,可溶性糖积累较多,冷胁迫3 d后,2组的可溶性糖含量均有所增加,但处理组可溶性糖的含量明显高于对照组,并且在冷胁迫的第5天达到最大值,处理与对照的差异比较显著,说明该复合外源物质的喷施能够增加可溶性糖的含量。在恢复生长的过程中,可溶性糖含量呈下降趋势,但处理比对照增加了41.3%,并且2组之间差异显著。植物在遇到逆境时,细胞内的脯氨酸含量会急剧增加,脯氨酸积累与植物抗逆性增强呈正相关。由图4可以看出,处理前对照与处理的脯氨酸含量差异并不显著,但在低温胁迫过程中,2组幼苗的脯氨酸含量均呈上升趋势,并且变化趋势与可溶性糖变化相似。从冷胁迫第5天到恢复生长,处理与对照的脯氨酸含量差异显著。在低温胁迫的

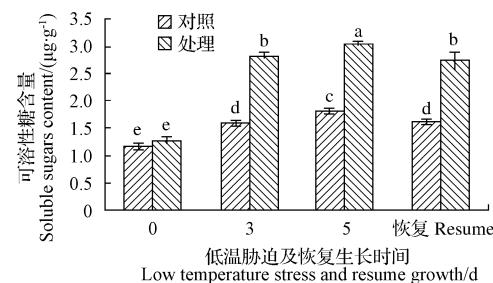


图3 低温处理下油菜幼苗可溶性糖含量的变化

Fig. 3 Changes of soluble sugars content in *Brassica napus* seedling under low temperature stress

第5天,脯氨酸含量均上升明显,并且差异达到最大。恢复生长后,2组脯氨酸含量差异显著,均比常温时的含量增加。由图5可以看出,随着低温胁迫时间的延长,2组可溶性蛋白质含量均上升,处理组明显高于对照组,处理5d后蛋白质含量达到最大。恢复生长后,2组可溶性蛋白质含量均有所下降且差异显著。

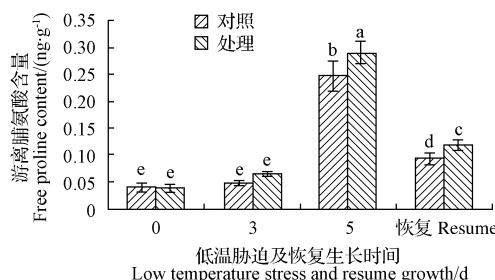


图4 低温处理下油菜幼苗游离脯氨酸含量的变化

Fig. 4 Changes of free proline content in *Brassica napus* seedling under low temperature stress

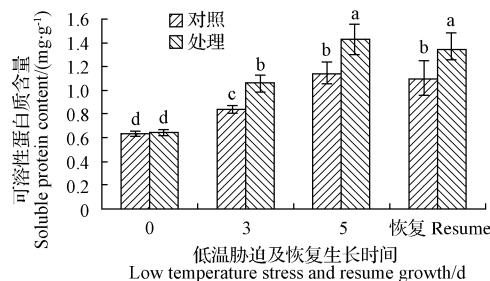


图5 低温处理下油菜幼苗可溶性蛋白质含量的变化

Fig. 5 Changes of soluble protein content in *Brassica napus* seedling under low temperature stress

2.4 复合外源物质对油菜幼苗叶片中SOD活性的影响

由图6可以看出,随着低温胁迫时间的延长,2组油菜幼苗SOD活性均逐渐下降。冷胁迫前,对照与处理

呈现出较高的SOD活性,处理3d后SOD活性呈现降低的趋势,但处理组降低较快,冷胁迫第5天时,SOD活性继续下降,而处理与对照之间的差异显著性达到最大。恢复生长后处理与对照的SOD活性均上升,然而与处理前SOD活性对比,处理的上升显著,说明复合外源物质处理能提高白菜型油菜的抗寒性。

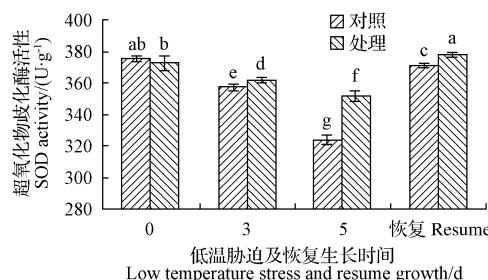


图6 低温处理下油菜幼苗SOD活性的变化

Fig. 6 Changes of SOD activity in *Brassica napus* seedling under low temperature stress

2.5 复合外源物质对油菜幼苗叶片中叶绿素a、叶绿素b、类胡萝卜素、叶绿素总量的影响

叶片叶绿素是与植物光合作用相关的色素,叶绿素含量越高说明叶片的光合速率越强。由表1复合外源物质对油菜幼苗叶片中叶绿素a、叶绿素b、类胡萝卜素、叶绿素总量的影响可知,“陇油9号”油菜幼苗在低温胁迫前处理与对照间各色素含量差异并不大。冷胁迫3d后,Chl a、Chl b和类胡萝卜素含量都大幅下降,特别是Chl a含量下降更为显著,说明Chl a对低温较为敏感。恢复生长3d后,叶绿素总含量均上升,但均比处理前含量少,说明低温胁迫导致油菜幼苗内色素部分分解,影响了油菜幼苗的生长,但处理组的含量高于对照组。说明复合外源物质的处理增加了低温胁迫下白菜型油菜幼苗叶绿素的含量,缓解了低温对油菜幼苗的伤害,恢复了正常生长。

表1

低温处理下叶绿素含量的变化

Table 1

Changes of chlorophyll content in *Brassica napus* seedling under low temperature stress

组别 Tranche	叶绿素 a 含量 Chl a content/(mg · g ⁻¹)	叶绿素 b 含量 Chl b content/(mg · g ⁻¹)	类胡萝卜素含量 Carotenoid content/(mg · g ⁻¹)	叶绿素总含量 Total content of chl/(mg · g ⁻¹)
	对照 CK	处理 Treatment		
处理前 Before processing	12.24±0.18a	12.19±0.02a	6.92±0.07a	19.06±0.03a
冷胁迫 3 d Cold stress 3 d	5.94±0.10d	7.08±0.08c	2.49±0.26e	8.43±0.02e
冷胁迫 5 d Cold stress 5 d	5.53±0.08e	5.79±0.02d	3.45±0.42d	10.53±0.04d
恢复生长 3 d Restore growth 3 d	11.29±0.19b	11.42±0.14b	2.25±0.39e	7.79±0.04f
			5.67±0.10c	8.31±0.01e
			5.55±0.15c	16.95±0.02c
			1.22±0.11ab	16.97±0.03c
			1.21±0.03ab	

注:表中数据为平均数±标准差,同一指标下不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: Values are mean±SE. Different letters in the same column show significant difference ($P<0.05$).

3 讨论与结论

当植物处于低温逆境中,植株的形态及生理指标会产生相应的变化,例如降解反应、细胞膜变性及蛋白质

变性等。低温胁迫会导致膜透性增强,细胞质外渗,电导率增加,因此电导率可以作为低温胁迫下材料抗逆性鉴定的指标。该研究中,可溶性含量增加与细胞浓度增

加有关,可溶性糖的增加对细胞有一定的保护作用,使油菜幼苗对低温适应力增强。这与前人研究结果相一致^[11-12]。另外低温导致油菜幼苗积累了大量的脯氨酸,而脯氨酸有较强的水合能力,增加了细胞液的浓度,对细胞起保护作用,增强了油菜幼苗对低温胁迫的抵抗力,这与前人的研究报道一致^[13-17]。另有研究表明,低温可以诱导植物体内合成新的蛋白,从而使细胞液浓度增大,降低植物细胞内溶液的凝固点^[18],增强了其抗寒性。在一4~1℃范围内白菜型油菜叶片中可溶性蛋白质含量会增加,因此可溶性蛋白可以作为抗寒性鉴定的可靠指标之一^[19]。该研究同样表明,在低温胁迫下可溶性蛋白质含量增加,增强了油菜幼苗的抗寒性。SOD 模型化合物(SODMC) 对油菜进行处理,一定范围内随着SODMC 处理浓度的增加,幼苗 SOD 活性随之增高,提高了油菜幼苗的抗寒性^[20]。在该研究中,与对照相比低温胁迫下处理组油菜幼苗 SOD 活性明显增加,MDA 含量降低,说明细胞膜系统在复合外源物质的影响下进行了调节,自由基的产生量减少,进而维持了细胞结构和功能的相对稳定,从而减少低温对植物细胞造成的伤害。

综合研究表明,由抗寒性植物水提液、黄腐酸、抗坏血酸、磷酸二氢钾等物质组成的复合外源物质能提高白菜型油菜幼苗的抗寒力。喷施复合外源物质可有效提高白菜型油菜幼苗的抗寒性,油菜叶片中色素降解减缓,细胞脂膜相对透性和 MDA 含量相对降低,提高了 SOD 活性及脯氨酸的含量。目前植物抗寒制剂主要由单一组分组成,往往不能得到较好的调节作用,而以后多组分的抗寒制剂研究应用会更加广泛,特别是绿色污染小的抗寒制剂的研究,而该抗寒制剂的应用期望减少气候异常对农作物造成的损失。

参考文献

- [1] Deng J M, Jian L C. Advances of studies on plant freezing-tolerance mechanism: freezing tolerance gene expression and its function[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2001, 18(5):521-530.
- [2] Lee D H, Lee C B. Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: in gelenzyme activity assays[J]. Plant Science, 2000, 159(1):75-85.
- [3] 徐正华,张晓红,陈秀斌,等.不同栽培措施对油菜抗寒性的影响[J].华中农业大学学报,2012,31(6):661-667.
- [4] 李世成,牛俊义,盖珊,等.零上低温处理对不同甘蓝型油菜品种抗寒性的影响[J].干旱地区农业研究,2007(6):40-44.
- [5] Morrison M J, Andrews C J. Variable increases in cold hardness induce in winter rape by plant growth regulators[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 1992, 11:113-117.
- [6] 马霓,刘丹,张春雷,等.植物生长调节剂对油菜生长及冻害后光合作用和产量的调控效应[J].作物学报,2009,35(7):1336-1343.
- [7] 徐呈祥.提高植物抗寒性的机理研究进展[J].生态学报,2012,32(24):7966-7980.
- [8] 王学奎.植物生理生化实验原理和技术[M].2 版.北京:高等教育出版社,2006.
- [9] 张琳,赵晓嫚,任君,等.外源ABA 对低温胁迫下青花菜植株生长及若干生理特性的影响[J].福建农业学报,2012,27(3):267-271.
- [10] Kerepesi I, Bányaistefanovitsé, Galiba G. Cold acclimation and abscisic acid induced alterations in carbohydrate content in call of wheat genotypes differing in frost tolerance [J]. Journal of Plant Physiology, 2004, 161(1): 131-133.
- [11] Zuther E, Büchel K, Hundertmark M, et al. The role of raffi nose in the cold acclimation response of *Arabidopsis thaliana* [J]. FEBS Letters, 2004, 576:169-173.
- [12] 骆爱玲,刘家尧,马德钦,等.转甜菜碱醛脱氢酶基因烟草叶片中抗氧化酶活性增高[J].科学通报,2000,45(18):1953-1956.
- [13] 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.
- [14] 黄翔.复合外源活性物质对几种作物抗寒性的影响及其机理研究[D].武汉:华中农业大学,2008.
- [15] Arbaoui M, Balko C, Link W. Study of faba bean (*Vicia faba* L.) winter-hardiness and development of screening methods[J]. Field Crops Research, 2008, 106:60-67.
- [16] 孙玉洁.植物动力 2003 抗寒机理的研究以及油菜抗寒剂的研制[D].长沙:湖南农业大学,2011.
- [17] 王敏,曲存民,刘晓兰,等.温度胁迫下甘蓝型油菜苗期生理生化指标的研究[J].作物杂志,2013(2):53-59.
- [18] 沈漫,王明麻,黄敏仁.植物抗寒机理研究进展[J].植物学通报,1997,14(2):1-8.
- [19] 朱惠霞,孙万仓.白菜型冬油菜的抗寒性及其生理生化特性[J].西北农业学报,2007,16(4):34-38.
- [20] 王煜,扶惠华,田廷亮,等.SOD 模型化合物对油菜幼苗抗寒性的影响[J].华中师范大学学报(自然科学版),1997,31(4):460-463.

Effect of Compound Biological Preparation on Cold Resistance of *Brassica campestris* (rape) ‘Longyou 9’ Seedling

WU Hai-yan,ZHANG Ji,GAO Qing-ya,LIU Qin,GUO Nan-nan,DING Hao

(College of Life Science,Northwest Normal University,Lanzhou,Gansu 730070)

Abstract: The *Brassica campestris* (rape) ‘Longyou 9’ seedling was selected as experimental material, and the low temperature conditions were stimulated with low temperature incubator. The *Brassica campestris* (rape) ‘Longyou 9’ seedling were treated with compound biological preparation as foliar application to study the effect of low temperature stress on it. The results showed that the composite exogenous substances of cold resistance of plant water solution for the

‘粉蓝’免眼蓝莓适宜授粉品种的筛选

杨 莹^{1,2}, 李 性 苑^{1,2}, 田 鑫^{1,2}, 吕 炜¹, 唐 露¹, 张 杰¹

(1. 凯里学院 环境与生命科学学院,贵州 凯里 556000;2. 凯里学院 蓝莓研究所,贵州 凯里 556000)

摘要:以蓝莓‘杰兔’、‘芭尔德温’和‘蒂芙蓝’为授粉品种,对‘粉蓝’进行异花授粉,以其自花授粉为对照,研究了不同授粉品种对‘粉蓝’坐果率和果实性状的影响,以期为其栽培中选择授粉品种提供参考依据。结果表明:‘粉蓝’免眼蓝莓虽然具有一定的自交亲和性,但自交后坐果率偏低且显著低于异花授粉,以‘杰兔’和‘芭尔德温’为授粉品种的坐果率显著高于用‘蒂芙蓝’作为授粉品种的坐果率。同时以‘杰兔’和‘芭尔德温’为授粉品种获得的果实单果重与可溶性固形物含量均显著高于用‘蒂芙蓝’授粉和‘粉蓝’自交获得的果实。这些结果表明‘杰兔’和‘芭尔德温’为‘粉蓝’较适宜的授粉品种。

关键词:蓝莓;自交不亲和;坐果率;果实性状;花粉直感

中图分类号:S 663.205⁺.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)06-0005-03

‘粉蓝’蓝莓属杜鹃花科(Ericaceous)越橘属(*Vaccinium* L.),系免眼蓝莓,是1978年美国北卡罗来纳州审定的品种,是由Menditoo×Tifblue杂交育成,晚熟种、树势强、直立型^[1]。其果实中等大小,比‘蒂芙蓝’的果粒略小,肉质极硬。甜度BX 15.2%,酸度pH 3.4,有香味。果皮亮蓝色,果粉多。果蒂痕小且干,裂果少,贮藏性好,产量高,是目前世界上栽植较多的品种之一^[2]。众所周知,蓝莓多为异花授粉植物,矮丛蓝莓和免眼蓝莓多数品种自花结实率极低或不结实,这是其生产栽培急需解决的难题^[3]。异花授粉是解决这一生产难题的有效途径之一^[4]。因此,长期以来,种植者以花期相近为主要依据,选择授粉品种,在同园内进行多品种混栽以提高产量和品质^[5]。

第一作者简介:杨莹(1983-),男,博士,副教授,现主要从事果树育种与优质高产栽培技术等研究工作。E-mail: yangqin1028518@126.com.

基金项目:贵州省教育厅“125计划”重大科技专项资助项目(黔教合重大专项字[2013]028);贵州省科技厅自然科学资助项目(黔科合J字[2012]2300号);凯里学院院级规划资助项目(Z1302);贵州省科技厅联合基金资助项目(黔科合J字LKK[2013]10号)。

收稿日期:2014-11-17

base configuration treatment could make the rape seedlings under the stress of low temperature (0 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ maintain a relatively high superoxide dismutase (SOD) activity and the contents of glucose, soluble protein, chlorophyll and proline (Pro), reduce the malondialdehyde (MDA) accumulation, improve the cold resistance of *Brassica campestris* (rape) ‘Longyou 9’. Composite exogenous substances could increase the *Brassica campestris* (rape) ‘Longyou 9’ seedlings fight cold ability, effectively reduce *Brassica campestris* (rape) ‘Longyou 9’ seedling frost damage.

Keywords: *Brassica campestris* (rape) ‘Longyou 9’; composite exogenous substances; cold resistance

目前关于蓝莓授粉受精相关的研究尚鲜见报道,仅凭花期相近配置授粉品种未充分考虑品种间的亲和性,以及花粉直感对果实品质的影响。因此,目前的主栽蓝莓品种中,哪些品种作为‘粉蓝’授粉树坐果率高且果实品质优仍未知;授粉品种的选择还没有科学合理的依据。该研究正是基于上述背景,拟采用‘杰兔’、‘芭尔德温’和‘蒂芙蓝’作为授粉品种,对‘粉蓝’进行异花授粉,以其自花授粉为对照,研究不同授粉组合对坐果率和果实性状的影响,以期为生产实践选择适宜的授粉品种,提高生产中‘粉蓝’的坐果率和果实品质,为实现其优质高产栽培提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以种植于贵州省麻江县宣威镇光明村引种试验基地内土壤肥力一致,长势一致,生长健壮且无病虫害的60株12年生‘粉蓝’植株为试材并挂牌,选取‘杰兔’、‘蒂芙蓝’、‘芭尔德温’各10株作为授粉品种花粉采集材料。于盛花期晴天中午,用2.0 mL的离心管分别放置于‘杰兔’、‘蒂芙蓝’、‘芭尔德温’和‘粉蓝’盛开花的正下方,用镊子碰撞花冠,使花粉落入管内进行花粉收集。