

doi:10.11937/bfyy.20174440

低温锻炼期光周期对笃斯越橘幼苗 生理特性的影响

乌凤章

(大连大学 现代农业研究院, 辽宁 大连 116622)

摘要:以3年生笃斯越橘苗为试材,将苗木分别置于4℃低温下短日照(10 h)和长日照(14 h)人工环境中,21 d后测定不同处理叶片生理指标。结果表明:低温锻炼期不同光周期对超氧化物歧化酶(SOD)活性影响较小;显著降低了过氧化物酶(POD)活性;显著提高了过氧化物酶(CAT)活性。低温锻炼明显提高蔗糖、葡萄糖、果糖和可溶性蛋白质含量,这种作用主要与低温诱导有关,而受光周期影响较小。低温锻炼期不同日照处理明显提高了赤霉素(GA₃)含量,其中短日照处理下提高幅度明显大于长日照;低温短日照处理下脱落酸(ABA)含量明显降低,而低温长日照处理下变化不明显;不同光周期处理对吲哚乙酸(IAA)含量无明显影响;短日照处理下玉米素核苷(ZR)含量无明显变化,而长日照处理下明显提高;低温短日照处理下ABA/GA₃和ABA/IAA下降程度明显大于低温长日照。表明笃斯越橘叶片对低温锻炼环境表现出较强的适应性。由于低温短光周期对笃斯越橘ABA、GA₃合成及激素平衡影响大于低温长光周期,从而对低温适应性也有一定影响。

关键词:笃斯越橘;低温锻炼;光周期;激素;冷适应性;生理响应

中图分类号:S 666.204⁺.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2018)15-0045-08

温带地区多年生木本植物能够安全越冬是由于它们具有在非低温锻炼状态下的抗寒性(抗寒性的组成性水平)和低温锻炼能力。低温锻炼通常是通过缩短的光周期(SD)和降低的温度(LT)所诱导,这个过程涉及几个生理和生物化学变化,借此忍受随后的冬季极端低温^[1]。光周期现象是由环境信号引起的对植物生长发育的季节性控制^[2]。非低温锻炼状态下的抗寒性以及对低温和短光周期的响应存在物种、生态类型的差异性^[3-4]。

叶片是树体接受光周期诱导抗冻性的主要部

位,也是光合作用的主要部位。在落叶果树低温锻炼过程中,叶片会发生相关的生理生化变化,如活性氧的积累与清除、相关抗氧化保护酶活性的变化^[5-6]、激素含量变化^[7-8]、渗透调节物质及亲水物质的积累等^[9-10],以调整各种代谢过程来适应环境变化,进而影响越冬器官如花芽、枝条的代谢,提高抗冻性。对北方落叶果树而言,落叶前叶片的抗冷性非常重要,这影响着叶片的光合同化物积累以及树体养分的回流量,影响越冬器官的抗冻性,进而影响翌年萌芽及开花坐果^[11]。但低温锻炼过程中不同的光周期对落叶果树叶片抗冷生理指标有何影响,与抗冷性有何关系等均少见报道。

笃斯越橘(*Vaccinium uliginosum* L.)主要分布在我国长白山及大小兴安岭。笃斯越橘果实比生产上栽培的高丛越橘含更高的抗氧化成分^[12],而且抗冻性极强,可达到-35℃。作为重

作者简介:乌凤章(1965-),男,辽宁凌源人,博士,副教授,硕士生导师,现主要从事果树抗逆生理及分子生物学等研究工作。E-mail:wfz1965@126.com.

基金项目:辽宁省自然科学基金资助项目(2015020785);大连市科技计划资助项目(2015B11NC084)。

收稿日期:2018-03-19

要的野生植物资源和越橘属植物遗传改良的亲本材料而日益受到重视,但对其抗冻的生理及分子机制缺乏了解。因此,该试验以3年生笃斯越橘为材料,通过对低温下不同光周期处理21 d后,对叶片伤害率、抗氧化酶活性、可溶性蛋白质含量、可溶性糖含量和激素含量的测定,分析叶片抗冷性强弱不同的原因,以期低温锻炼期抗冷性栽培及遗传改良提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试笃斯越橘试材来源于黑龙江省黑河市嫩江县多宝山镇,3年生扦插苗,苗平均高30 cm。

1.2 试验方法

1.2.1 预处理

选取生长良好且规格相对一致的100株笃斯越橘苗,栽植在营养钵(高16 cm、上口口径16 cm,栽培基质为草炭土)中。2016年9月10日将苗木置于人工气候室(PQX-1000 C,宁波东南仪器制造厂)中进行预处理。处理温度为23℃,光照强度为 $180\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,光周期10 h/14 h(昼/夜),空气湿度为75%/65%(昼/夜)。预处理21 d后,分别取9株苗木的当年生枝条(不带花芽及叶片),每3株混合取样,3次重复,用于测定各项生理指标,所得数值作为对照。

1.2.2 低温下不同光周期处理

根据温带地区树木休眠诱导和低温锻炼对日照长度的需求,该研究设置低温下短日照长度10 h/14 h(昼/夜)作为处理,以长日照长度14 h/10 h(昼/夜)作为短日照长度的对照。将苗木分置于2个人工气候室中,温度为4℃,光照强度为 $180\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,空气湿度为75%/65%(昼/夜),日照长度如前所述。对于低温处理,从预处理的温度以每小时下降2℃的速率降至处理温度。处理期间适时浇水,使栽培基质保持湿润。在低温下不同光周期处理21 d后,取样(方法同上),每处理3次重复,用于测定各项生理指标。除叶片伤害率外,其它用于测定的样品经液氮迅速冷冻后,放入-80℃超低温冰箱中保存。

1.3 项目测定

1.3.1 叶片伤害率测定

叶片质膜透性情况用伤害率的大小来鉴定,采用电导率法测定伤害率。将所取样品先用自来水冲洗几次去除表面污染物,再用去离子水冲洗3次,吸干表面水分,然后参考高俊凤^[13]方法,测定相对电导率。伤害率(%)=(处理电导率-对照电导率)/(煮沸电导率-对照电导率)×100。

1.3.2 抗氧化保护酶活性测定

酶液粗提:将0.50 g叶片洗净后置于预冷的研钵中,加入2 mL的 $50\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 预冷磷酸缓冲液(pH 7.8)在冰浴上研磨成匀浆,转入离心管中,冲洗残渣,使磷酸缓冲液的总体积为5 mL,于4.0℃下 $11\ 200\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心20 min,上清液即为粗提酶液,此酶液可用来测定抗氧化保护酶活性。采用氮蓝四唑光化还原法测定SOD活性,愈创木酚法测定POD活性,双氧水法测定CAT活性。

1.3.3 可溶性糖含量测定

可溶性糖提取方法:称取叶片样品0.5 g,放入研钵中,加入1 mL预冷的提取液,冰浴匀浆后,转移至2 mL离心管中,冰浴超声15 min,4℃下 $9\ 100\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min,取上清,定容,用针头式过滤器过滤于带有内衬管的样品瓶内待测。

HPLC液相条件:Rigol L3000高效液相色谱仪,Kromasil C18反相色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)制流动相。进样量10 μL,流速 $0.6\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温80℃,走样时间为30 min。

蔗糖、葡萄糖和果糖标准品由美国Sigma公司提供。以标准品质量浓度为横坐标,标准品峰面积为纵坐标,绘制峰面积-质量浓度工作曲线。每个浓度3次重复。采用外标法,通过糖标准品的保留时间和标准曲线确定蔗糖、葡萄糖和果糖含量。该试验中总可溶性糖含量指以上几种糖总和。

1.3.4 可溶性蛋白质含量测定

采用考马斯亮蓝G 250染色法测定。

1.3.5 激素的提取与测定

称0.6 g样品,加2 mL样品提取液(80%甲醇+1 mmol·L⁻¹ BNT)在冰浴下研磨成匀浆,转入10 mL试管,再用2 mL提取液分次将研钵

冲洗干净,转入试管中,摇匀后放置在 4℃冰箱提取 4 h,然后用 $3\,200\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min,取上清液并记录体积。

激素的测定采用中国农业大学化学控制中心提供的激素 ELISA 试剂盒及测定方法,用酶联免疫检测仪测定脱落酸(ABA)、赤霉素(GA₃)、吲哚乙酸(IAA)和玉米素核苷(ZR)的含量,每个处理 3 次重复。

1.4 数据分析

应用 SPSS 22 统计软件对数据进行差异显著性分析与多重比较;应用 Excel 2010 软件绘制数据图表。

2 结果与分析

2.1 低温下光周期处理对叶片伤害率的影响

由表 1 可知,低温锻炼期在短日照和长日照处理下,笃斯越橘叶片的伤害率分别比对照明显增加了 82.31%和 67.16%,即低温下短光周期处理伤害率高于低温下长光周期处理,但二者差异不显著,这表明低温胁迫造成了叶片伤害,但光周期对叶片伤害的影响程度较小。

表 1 低温锻炼期光周期对叶片伤害率的影响

Table 1 Effects of photoperiod damage rate in leaves during cold acclimation

处理 Treatments	伤害率 Damage rate/%
对照 CK	12.21±0.57b
短日照 Short-day	22.26±0.55a
长日照 Long-day	20.41±0.60a

注:同列中不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: Different lowercase letters in the same line indicate the differences. The same as below.

2.2 低温下光周期处理对叶片抗氧化酶活性的影响

作为植物体内重要的抗氧化保护酶系统, SOD、POD、CAT 活性的高低反映了其对活性氧的清除能力。表 2 显示,在低温下短日照和长日照处理后 SOD 活性与对照无明显差异; POD 活性分别比对照明显降低了 23.86%和 16.58%; CAT 活性分别比对照明显提高了 71.37%和 98.26%,但低温下 2 种光周期处理之间 3 种抗氧化酶活性均无明显差异。表明低温下光周期处理对抗氧化酶活性影响较小, POD 活性明显降低和 CAT 活性明显升高主要由低温所诱导。

表 2 低温锻炼期光周期对叶片抗氧化保护酶活性的影响

Table 2 Effects of photoperiod on antioxidant enzyme activities in leaves during cold acclimation

处理 Treatments	超氧化物歧化酶活性 SOD activity/(U·g ⁻¹ FW)	过氧化物酶活性 POD activity/(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹ FW)	过氧化氢酶活性 CAT activity/(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹ FW)
对照 CK	3 192.93±183.56a	866.74±23.49a	833.95±65.65b
短日照 Short-day	3 035.55±97.06a	659.97±34.13b	1 429.17±136.26a
长日照 Long-day	2 683.63±190.03a	723.05±33.73b	1 653.38±90.78a

2.3 低温下光周期处理对叶片可溶性糖含量的影响

从表 3 可以看出,在对照及 2 种光周期处理下,笃斯越橘叶片蔗糖含量明显高于其它 2 种糖含量。低温下短日照处理后蔗糖、葡萄糖和果糖以及总糖含量分别比对照显著增加了 1.65、

3.01、3.01、2.02 倍,长日照处理后分别比对照增加了 1.81、3.28、3.83、2.18 倍,即长日照处理增加幅度大于短日照处理,但 2 种光周期处理之间的可溶性糖含量差异不明显。这说明可溶性糖含量的提高主要由低温所诱导,受光周期影响较小,但长日照处理更有利于可溶性糖的积累。

表 3 低温锻炼期光周期对叶片可溶性糖含量的影响

Table 3 Effects of photoperiod on soluble sugars content in leaves during cold acclimation

mg·g⁻¹FW

处理 Treatments	蔗糖含量 Sucrose content	葡萄糖含量 Glucose content	果糖含量 Fructose content	总可溶性糖含量 Total soluble sugar content
对照 CK	18.74±1.35b	1.98±0.22b	2.98±0.21b	23.70±0.80b
短日照 Short-day	49.66±2.44a	7.94±0.47a	13.93±0.31a	71.53±0.87a
长日照 Long-day	52.56±2.08a	8.47±0.71a	14.38±0.65a	75.41±2.09a

2.4 低温和光周期处理对可溶性蛋白质含量的影响

由表4可知,低温下不同光周期处理后,可溶性蛋白质含量明显高于对照,长日照和短日照处理分别提高了40.48%和34.54%,即前者增幅大于后者。表明可溶性蛋白质含量的提高主要由低

表4 低温锻炼期光周期对叶片可溶性蛋白质含量的影响

Table 4 Effects of photoperiod on soluble protein in leaves during cold acclimation

处理 Treatments	可溶性蛋白质含量 Soluble protein content/(mg·g ⁻¹ FW)
对照 CK	198.75±10.74b
短日照 Short-day	267.39±17.18a
长日照 Long-day	279.20±13.47a

表5 低温锻炼期光周期对叶片激素含量的影响

Table 5 Effects of photoperiod on content of hormone in leaves during cold acclimation

ng·g⁻¹FW

处理 Treatments	赤霉素含量 GA ₃ content	脱落酸含量 ABA content	吲哚乙酸含量 IAA content	玉米素核苷含量 ZR content
对照 CK	4.11±0.21c	67.67±1.87a	44.60±2.68a	8.33±0.65b
短日照 Short-day	11.31±0.56a	53.82±1.99b	56.48±6.73a	9.94±0.44ab
长日照 Long-day	5.99±0.29b	68.94±2.34a	47.27±3.49a	10.53±0.31a

2.6 低温下光周期处理对叶片 ABA 与 GA₃、IAA、ZT 比值的影响

由表6可知,与对照相比,低温下短日照和长日照处理下的 ABA/GA₃ 分别明显下降了71.13%和29.78%,即短日照处理降幅明显大于长日照处理;ABA/IAA 在低温短日照处理下比对照明显降低了35.95%,而在低温长日照处理

温所诱导,受光周期影响较小,但长日照处理更有利于可溶性蛋白质的积累。

2.5 低温下光周期处理对叶片激素含量的影响

由表5可知,低温下短日照处理后,与对照相比,GA₃ 含量明显增加175.18%;ABA 含量明显下降20.47%;IAA 和 ZR 含量增加不显著。低温下长日照处理后 GA₃ 含量明显提高了45.74%,增幅明显低于低温下短日照处理;ABA 和 IAA 含量与对照无明显差异;ZR 含量比对照明显增加了26.41%。说明低温下短日照处理对 GA₃ 合成的促进作用明显大于长日照处理,对 ABA 合成的抑制作用明显大于长日照处理;对 ZR 合成的促进作用与长日照处理无明显。低温下不同光周期处理对 IAA 合成没有明显影响。

下与对照相比变化不显著,即低温下短日照处理降幅明显大于长日照处理;ABA/ZT 在低温短日照和长日照处理下分别比对照明显降低了33.98%和20.22%,但2种处理差异不显著,这说明 ABA/GA₃ 和 ABA/IAA 比值受低温短日照的负影响显著大于低温长日照,而 ABA/ZT 只受低温影响而降低,而与光周期无关。

表6 低温锻炼期光周期对叶片 ABA/GA₃、ABA/IAA 和 ABA/ZT 的影响

Table 6 Effects of photoperiod on ABA/GA₃, ABA/IAA and ABA/ZR in leaves during cold acclimation

处理 Treatments	ABA/GA ₃	ABA/IAA	ABA/ZT
对照 CK	16.52±0.83a	1.53±0.09a	8.21±0.60a
短日照 Short-day	4.77±0.13c	0.98±0.11b	5.42±0.16b
长日照 Long-day	11.6±0.92b	1.48±0.15a	6.55±0.24b

3 结论与讨论

具有低温锻炼能力是温带落叶树木安全越冬的重要手段。树木的低温锻炼通常经历2个阶段,首先是短光周期诱导生长停止、驻芽、诱导芽的休眠和低温锻炼开始,其次是低温诱导最大抗

冻性的形成。在低温锻炼过程中,会发生各种生理、分子和代谢变化,说明植物的冷胁迫反应是一个复杂的过程。在杂种白杨中 PHYA 与光周期的觉察有关,其低温锻炼受 SD 和 LT 独立诱导^[14];在银桦树中低温和光周期对低温锻炼有累加效应,从而增加其冻抗性^[15],蔷薇科植物如苹

果、梨等植物的低温锻炼只受低温而不受光周期影响^[16],可见光周期在低温锻炼中具有重要作用。植物低温应答途径分为 ABA 非依赖型 CBF 信号途径和 ABA 依赖型的 CBF 信号途径。拟南芥响应 SD 条件(与 LD 条件相比)提高抗寒性,这个过程涉及到 CBF 途径的光周期调控。这种光周期调控需要光敏色素 B(PhyB)、bHLH 转录因子 PIF4 和 PIF7。LD 和 SD 条件下 CBF 的差异表达水平和稳定性可被 phyB 调节,以控制 CBF 基因表达介导的低温锻炼。笃斯越橘低温锻炼是否由 CBF 途径的光周期调控尚不清楚。低温锻炼期间光周期对笃斯越橘叶片生理影响主要表现在以下 3 个方面。

3.1 低温和光周期对抗氧化酶活性的影响

树体在逐渐进入休眠的过程中伴随着叶片本身的衰老,活性氧的大量累积是加速衰老的重要原因之一^[17]。酶促防御系统能够清除细胞内过多的过氧化物,延缓膜脂过氧化,提高抗寒性^[18]。该试验中低温下不同光周期处理 21 d 后,POD 活性明显降低,表明抗氧化系统的防御作用已受到低温影响。低温锻炼期间不同光周期处理叶片 CAT 活性明显升高是笃斯越橘幼苗细胞低温下防止活性氧伤害的一种保护反应,这与 ZHANG 等^[19]观察到冷胁迫下小麦(*Triticum aestivum* L.)质膜中较高的 CAT 活性一致。该研究中低温锻炼期笃斯越橘叶片中 SOD、POD 和 CAT 活性均不受光周期影响。但史莹华等^[20]认为不同休眠型紫花苜蓿叶片中 SOD、POD 活性受短日照调控而提高,可能与紫花苜蓿的休眠表现、低温驯化过程中的活性氧清除有关联。李冬梅等^[21]对油桃以及李海云对黄瓜(*Cucumis sativus* L.)的研究表明休眠诱导期长日照条件下 CAT 活性高于短日照^[22],这可能与试验材料生长发育时期、试验温度条件及处理时间不同有关。

3.2 低温下光周期对渗透物质的影响

在低温锻炼期间各种生理学和生物化学变化中,膜稳定性也与渗透平衡有关。为保持渗透平衡,降低凝固点,结合和保护特定分子,植物积聚各种抗冷冻保护剂,如可溶性糖、可溶性蛋白质等^[23-24]。该试验中,蔗糖、葡萄糖、果糖、可溶性糖总量和可溶性蛋白质含量均受低温诱导明显提

高,提高细胞内可溶性物质等的含量,增强抗寒能力,这与邓仁菊等^[25]对火龙果幼苗低温短日照下可溶性糖和可溶性蛋白质含量明显提高一致。这与油桃和黄瓜(*Cucumis sativus* L.)休眠诱导期长日照条件下 CAT 活性高于短日照的结果不同^[21-22]。

3.3 低温下光周期对激素含量的影响

低温胁迫直接影响植物的生长发育,诱导多种生理、代谢和遗传机制。不同的试验证据表明,所有这些过程都与植物激素控制的不同信号网络调整有关。在植物光形态建成中,光受体基因接受光周期信号通过改变植物内源激素(ABA、GA₃ 和 IAA)含量进而调控靶基因发挥作用^[26-28]。不同光周期条件下,光敏色素和植物内源激素可能参与了苜蓿(*Medicago sativa*)的光形态建成,PHYA 和 PHYB 直接或间接调控植物内源激素 ABA、GA₃、IAA、ZR 的合成,进而调控了苜蓿的休眠和抗寒性^[29]。研究表明,ABA 是与脱水相关的非生物胁迫反应(干旱、盐胁迫和冷胁迫)的关键植物激素。在低温下,ABA 水平迅速增加,以确保水分关系的调整^[30]。许多植物耐寒性的提高通常伴随着内源性 ABA 水平提高^[31]。该研究表明,在低温锻炼期间,笃斯越橘叶片 ABA 含量受低温和短光周期共同作用而明显降低。这与在低温和短日照条件下沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)叶出现较强的 ABA 含量瞬时升高现象,但低温锻炼 14 d 后 ABA 含量明显低于低温锻炼开始前的结果基本一致^[32]。但笃斯越橘叶片 ABA 含量在低温锻炼早期是否出现瞬时升高现象尚需进一步研究确认。

植物激素如 GAs、生长素和细胞分裂素在控制植物从胚胎发生到衰老过程的生长发育以及冷胁迫响应中具有重要功能。通常认为在冷胁迫响应开始时生长率的下降与 GAs、生长素、细胞分裂素代谢下调有关^[33]。GA₃ 能够明显影响植物体内自由水和束缚水的含量,从而对植物抗寒性产生影响,但也能促进 IAA 和 ZR 的生物合成^[34],其活性水平降低是生长停止的先决条件^[35]。而生长素和细胞分裂素可调控低温胁迫下植物的衰老过程^[36],此外,细胞分裂素还可提高 SOD 等膜保护酶的活性,直接或间接地清除自

由基,减少脂质过氧化及膜脂肪酸组成的比例从而保护细胞膜^[37]。该试验中,2种低温锻炼条件下笃斯越橘叶片 GA_3 含量受低温和光周期诱导均明显升高,IAA 含量未受低温锻炼影响,这表明虽未见低温锻炼条件下笃斯越橘可视生长但受 GA_3 和 IAA 调控,其叶片还继续合成根系所需碳水化合物等物质。该试验结果与低温锻炼期间楸树(*Catalpa bungei*)叶片 GA_3 含量上升结果基本一致^[38]。该研究中,低温锻炼期间长日照处理诱导大量 ZR 合成。说明 ZR 可作为一个信号在低温胁迫下调整代谢反应,有利于膜保护酶活性的提高,保护细胞膜不受伤害,提高笃斯越橘叶片低温适应性^[30]。

植物激素不是孤立地作用,而是通过协同或拮抗的交叉相互联系,从而调节彼此的生物合成或反应^[39]。因此,每个生物过程都会受到多种激素的影响。黄涛等^[40]研究发现,ABA/GA 在抗寒性中的作用比 ABA 或 GA 的绝对含量更重要,抗性强的水稻(*Oryza sativa*)品种 ABA/GA 比抗性弱的品种升高幅度大,且变化时间早。该研究表明,笃斯越橘叶片 ABA/GA 受低温短光周期影响降低程度明显大于低温长日照;ABA/IAA 比值受低温短日照影响而降低,但没有受低温长日照影响。低温锻炼显著降低抑制型激素与促进型激素的比例,促进型激素 GA_3 含量上调以及 IAA 和 ZR 含量相对稳定,有助于降低自由水的含量,延缓叶片枯黄衰老和维持细胞膜的稳定性,对低温环境表现出较强的适应性^[41]。尽管低温锻炼后叶片受害率明显高于对照,但仍保持绿色,未出现明显的衰老特征,这也支持了上述结论。

综上所述,低温锻炼期间笃斯越橘叶片 CAT 活性、蔗糖、葡萄糖、果糖和可溶性蛋白质含量显著提高,POD 活性显著降低,这主要受低温诱导而受光周期影响较小。低温锻炼显著提高 GA_3 含量显著提高,维持 IAA 和 ZR 含量相对稳定,低温短日照下 ABA/ GA_3 和 ABA/IAA 比值明显低于低温长日照。这表明笃斯越橘叶片对低温锻炼环境表现出较强的适应性,低温短光周期对 ABA、 GA_3 合成及激素平衡影响大于低温长日照,从而对低温适应性也有一定影响。

参考文献

- [1] LI C, JUNTILA O, PALVA E T. Environmental regulation and physiological basis of freezing tolerance in woody plants[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2004, 26(2): 213-222.
- [2] JACKSON S D. Plant responses to photoperiod[J]. *New Phytologist*, 2009, 181(3): 517-531.
- [3] LI C, PUHAKAINEN T, WELLING A, et al. Cold acclimation in silver birch (*Betula pendula*). Development of freezing tolerance in different tissues and climatic ecotypes[J]. *Physiologia Plantarum*, 2002, 116(4): 478-488.
- [4] REYES-DÍAZ M, ALBERDI M, PIPER F, et al. Low temperature responses of *Nothofagus dombeyi* and *Nothofagus nitida*, two evergreen species from south central Chile[J]. *Tree Physiology*, 2005, 25(11): 1389-1398.
- [5] MARTINEZ-REYES I, CUEZVA J M. The H^+ ATP synthase: A gate to ROS-mediated cell death or cell survival[J]. *Biochimica et Biophysica Acta Bioenergetics*, 2014, 1837(7): 1099-1112.
- [6] 王飞, 陈登文, 王卿, 等. 杏品种的需寒量与抗寒性的相关研究[J]. *中国农业科学*, 2001, 34(5): 465-468.
- [7] 邸葆, 孟昱, 张钢, 等. 抗寒锻炼期间三种楸树叶片激素含量变化[J]. *北方园艺*, 2012(3): 89-91.
- [8] 严寒静, 谈锋. 自然降温过程中梔子叶片脱落酸、赤霉素与低温半致死温度的关系[J]. *西南师范大学学报(自然科学版)*, 2001, 26(2): 195-198.
- [9] 刘慧英, 朱祝军, 吕国华, 等. 低温胁迫下西瓜嫁接苗的生理变化与耐冷性关系的研究[J]. *中国农业科学*, 2003, 36(11): 1325-1329.
- [10] 董爱玲, 颜建明, 李杰, 等. 低温驯化对低温胁迫下茄子幼苗生理活性的影响[J]. *甘肃农业大学学报*, 2017, 52(1): 74-79.
- [11] GHARAB M, MIMOUN M B, MASMOUDI M M, et al. Chilling trends in a warm production area and their impact on flowering and fruiting of peach trees[J]. *Scientia Horticulturae*, 2014, 178: 87-94.
- [12] KRAUJALYTE V, VENSKUTONIS P R, PUKALSKAS A, et al. Antioxidant properties, phenolic composition and potentiometric sensor array evaluation of commercial and new blueberry (*Vaccinium corymbosum*) and bog blueberry (*Vaccinium uliginosum*) genotypes[J]. *Food Chemistry*, 2015, 188: 583-590.
- [13] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 91-92.
- [14] WELLING A, MORITZ T, PALVA E T, et al. Independent activation of cold acclimation by low temperature and short photoperiod in hybrid aspen[J]. *Plant Physiology*, 2002, 129: 1633-1641.
- [15] LI C, PUHAKAINEN T, WELLING A, et al. Cold acclimation in silver birch (*Betula pendula*). Development of freezing tolerance in different tissues and climatic ecotypes[J]. *Physiologia Plantarum*, 2002, 116(4): 478-488.

- [16] HEIDE O M, PRESTRUD A K. Low temperature, but not photoperiod, controls growth cessation and dormancy induction and release in apple and pear[J]. *Tree Physiology*, 2005, 25: 109-114.
- [17] OTT M, GOGVADZE V, ORRENIUS S, et al. Mitochondria, oxidative stress and cell death[J]. *Apoptosis*, 2007, 12(5): 913-922.
- [18] PRASAD T K. Mechanisms of chilling-induced oxidative stress injury and tolerance in developing maize seedlings: Changes in antioxidant system, oxidation of proteins and lipids, and protease activities[J]. *Plant Journal*, 1996, 10(6): 1017-1026.
- [19] ZHANG X Y, LIANG C, WANG G P, et al. The protection of wheat plasma membrane under cold stress by glycine betaine overproduction[J]. *Biologia Plantarum*, 2010, 54(54): 83-88.
- [20] 史莹华, 王成章, 张伟毅, 等. 光周期对秋眠型苜蓿 Vernal SOD, POD 活性的影响[J]. *中国草地学报*, 2009, 31(4): 107-110.
- [21] 李冬梅, 张海森, 谭秋平, 等. 桃叶片抗冷性对光周期诱导休眠的响应[J]. *应用生态学报*, 2016, 27(6): 1837-1844.
- [22] 李海云, 杨玉杰. 不同光周期对黄瓜幼苗抗冷性的影响[J]. *中国农学通报*, 2012, 28(4): 115-119.
- [23] QIN F, SHINOZAKI K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K. Achievements and challenges in understanding plant abiotic stress responses and tolerance[J]. *Plant Cell Physiology*, 2011, 52(9): 1569-1582.
- [24] 陈杰忠, 徐春香, 梁立峰. 低温对香蕉叶片中蛋白质及脯氨酸的影响[J]. *华南农业大学学报*, 1999, 20(3): 54-57.
- [25] 邓仁菊, 范建新, 王永清, 等. 火龙果幼苗对低温胁迫的生理响应及其抗寒性综合评价[J]. *植物生理学报*, 2014(10): 1529-1534.
- [26] FRANKLIN K A. Light and temperature signal crosstalk in plant development[J]. *Science Direct*, 2009, 12(1): 63-68.
- [27] HESCHEL M S, SELBY J, BUTLER C, et al. A new role for phytochromes in temperature-dependent germination[J]. *New Phytologist*, 2007, 174: 735-41.
- [28] HORVATH D. Common mechanisms regulate flowering and dormancy[J]. *Plant Science*, 2009, 177: 523-531.
- [29] 樊文娜, 孙晓格, 倪俊霞, 等. 光周期对不同秋眠型苜蓿光敏色素和内源激素的影响[J]. *草业学报*, 2014, 23(1): 177-184.
- [30] VANKOVÁ R, KOSOVÁ K, DOBREV P, et al. Dynamics of cold acclimation and complex phytohormone responses in *Triticum monococcum* lines G3116 and DV92 differing in vernalization and frost tolerance level[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2014, 101: 12-25.
- [31] 曲凌慧, 车永梅, 刘新, 等. ABA 和 JA 等激素参与葡萄对低温胁迫的应答[J]. *青岛农业大学学报(自然科学版)*, 2010, 27(1): 36-41.
- [32] LI C, YANG Y, JUNTILA O, et al. Sexual differences in cold acclimation and freezing tolerance development in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) ecotypes[J]. *Plant Science*, 2005, 168(5): 1365-1370.
- [33] RAHMAN A. Auxin: A regulator of cold stress response[J]. *Physiologia Plantarum*, 2013, 147(1): 28-35.
- [34] 段成国, 刘焕芳, 李宪利. 内源激素对落叶果树芽休眠的调控[J]. *河北果树*, 2005(2): 27-40.
- [35] HOFFMAN D E. Changes in the transcriptome and metabolome during the initiation of growth cessation in hybrid aspens[M]. Umeå: Acta Universitatis Agriculturae Sueciae, 2011.
- [36] HARE P D, CRESS W A, STADEN J V, et al. The involvement of cytokinins in plant responses to environmental stress[J]. *Plant Growth Regulation*, 1997(23): 79-103.
- [37] WANG S G. Roles of cytokinin on stress resistance and delaying senescence in plants[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2000, 17(2): 121-126.
- [38] 邸葆, 孟昱, 张钢, 等. 抗寒锻炼期间三种楸树叶片激素含量变化[J]. *北方园艺*, 2012(13): 89-91.
- [39] PELEG Z, BLUMWALD E. Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2011(14): 290-295.
- [40] 黄涛, 陈大洲, 夏凯, 等. 抗冷与不抗冷水稻在低温期间叶片 ABA 与 GA₁ 水平变化的差异[J]. *华北农学报*, 1998, 13(4): 56-60.
- [41] 杨勇, 姜燕宏, 杨知建, 等. 低温胁迫对狗牙根激素和碳水化合物代谢的影响[J]. *草业学报*, 2016, 25(2): 205-215.

Effects of Photoperiod on the Physiological Characteristics of *Vaccinium uliginosum* L. Seedlings During Cold Acclimation

WU Fengzhang

(Institute of Modern Agricultural Research, Dalian University, Dalian, Liaoning 116622)

Abstract: The three-year-old seedlings of *Vaccinium uliginosum* L. were selected as testing materials. The seedlings were exposed to short day (10 hours) and 4 °C as well as long day (14 hours) and 4 °C in controlled conditions for 21 days respectively. The physiological indexes in leave were measured after 21 days of treatment. The results showed that compared with the control, photoperiod had no

doi:10.11937/bfyy.20173651

“永丰 1 号”板栗雌花分化组织形态学研究

严 蕾¹, 张 荣², 石卓功¹

(1. 西南林业大学 西南地区生物多样性保育国家林业局重点实验室, 云南 昆明 650000;

2. 重庆市林业科学研究院, 重庆 400036)

摘 要:板栗在云南省栽培范围较广,但单位面积产量一直不高。该试验以云南当地具有代表性的板栗品种“永丰 1 号”为试材,利用石蜡切片研究了板栗雌花分化组织形态学特性以及相对应的外部形态特征。结果表明:3 月上旬出现两性花序原基,雌花簇原基 5 月中旬形成胚珠原基,5 月底形成四分体大孢子,6 月上旬形成八核胚囊;胚珠倒生,厚珠心,双珠被,四分体呈直线形。雌花内部发育与外部形态特征有一定的相关性。

关键词:板栗;“永丰 1 号”;雌花分化;组织形态学

中图分类号:S 664.201 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2018)15-0052-06

板栗(*Castanea mollissima* Blume)属壳斗科栗属植物,是我国特有的优良坚果类树种,而且营

养、经济、生态价值高,有“铁杆庄稼”和“干果之王”的美称^[1]。板栗坚果中含有多种易被人体吸收利用的营养物质,例如淀粉、蛋白质、脂质、维生素以及胡萝卜素等。与其它果树不同,板栗树体可用作绿化荒山、涵养水源树种,在山区推广种植有明显的经济效益和生态效益^[2]。板栗种植区域分布较广,北至辽宁省、南抵海南岛,东西约跨 25 个经度,包括云南省在内共计 24 个省(自治区、直辖市)^[3]。

第一作者简介:严蕾(1992-),女,四川成都人,硕士研究生,研究方向为经济林栽培及利用理论与技术。E-mail:646171178@qq.com.

责任作者:石卓功(1957-),男,博士,教授,博士生导师,长期从事经济林(果树)方面的教学与科研等工作。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30860231)。

收稿日期:2018-03-15

significant effect on SOD activity; the POD activity was significantly decreased; the CAT activity was significantly increased. Cold acclimation significantly increased the sucrose, glucose, fructose and soluble protein content, which was related to low temperature induction, independent of photoperiod. Compared with the control, cold acclimation significantly increased GA₃ content the range of increasing at short day treatment was higher than that at long day treatment; the ABA content at short day treatment was significantly decreased, but had no obvious change at long day treatment; photoperiod had no significant effect on the IAA content during cold acclimation; the ZR content did not increase significantly at short day treatment, while significantly increased at the long day treatment. The ABA/GA₃ and ABA/IAA ratios was significantly less at short day treatment than that at long day. The results showed that the leaves of *Vaccinium uliginosum* L. showed strong cold adaptability during cold acclimation. The effect of low temperature and short photoperiod on synthesis of ABA and GA₃ and hormone balance was greater than that of low temperature and long photoperiod, therefore, it also had certain influence on the cold adaptability.

Keywords: *Vaccinium uliginosum* L.; cold acclimation; photoperiod; hormone; cold adaptability; physiological response