

低温胁迫下7个引种核桃品种幼苗的 抗寒生理生化特性研究*

文进¹, 陈少瑜¹, 李江¹, 熊新武¹, 张群¹, 朱宏涛²,
李俊南¹, 孟梦¹, 陈伟¹, 杨斌¹, 裴艳辉¹

(1. 云南省林业科学院, 云南 昆明 650201; 2. 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650201)

摘要: 2012年以7个引种的核桃品种1年生苗叶片为研究对象, 以云南地方品种漾濞泡核桃为对照, 通过测定分析自然低温变化胁迫下膜透性、丙二醛和脯氨酸含量及变化情况, 对8个核桃品种的抗寒性进行了初步研究。结果表明, 温度降低后, 3个生理指标皆呈上升趋势, 但不同指标上升的幅度不同, 同一指标中不同品种上升的幅度也各不相同。综合分析3个生理指标变化情况, 8个参试品种(含对照)的抗寒性, Buccaneer和Axel较强; Coenen, Parisienne, Hanson和漾濞泡核桃次之; Lara和Fernette较差。

关键词: 核桃; 引种; 幼苗; 抗寒性; 低温胁迫; 生理指标

中图分类号: S 664.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-8246(2013)05-0053-04

Study on Cold Tolerance of Introduced Walnut Seedlings under Natural Cold Stress

WEN Jin¹, CHEN Shao-yu¹, LI Jiang¹, XIONG Xin-wu¹, ZHANG Qun¹, ZHU Hong-tao²,
LI Jun-nan¹, MENG Meng¹, CHEN Wei¹, YANG Bin¹, PEI Yan-hui¹

(1. Yunnan Academy of Forestry, Kunming Yunnan 650201, P. R. China;

2. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming Yunnan 650201, P. R. China)

Abstract: Taking seedlings of 7 introduced walnut cultivars and 1 local cultivar as samples, preliminary assessment on their cold tolerance was conducted through analyzing 3 physiological and biochemical indexes under natural cold stress. The results showed that with the decrease of natural temperature, 3 indexes namely relative electrical conductivity, MDA and proline content tended to increase. However, the increase extents were different among the cultivars. Based on comprehensive analysis of all 3 indexes, 8 cultivars were divided into 3 groups according to their cold tolerance. The group I with 2 introduced cultivars Buccaneer and Axel showed high cold tolerance, next came group II with 4 cultivars Coenen, Parisienne, Hanson and *Juglans sigillata*, and group III with 2 introduced cultivars Lara and Fernette showed the lowest tolerance.

Key words: walnut; introduction; seedling; cold tolerance; cold stress; physiological indexes

核桃 (*Juglans regia*) 是世界著名的四大坚果之一^[1], 也是我国重要的经济林树种和木本油料树种, 具有很高的经济价值。云南是我国南方泡核

桃 (*J. sigillata*) 的原产地之一, 核桃栽培历史悠久, 种植面积广(遍布云南省124县、市), 产量居全国之首^[2]。近年来, 随着市场需求的不断加

* 收稿日期: 2013-07-10

基金项目: 国家林业局“948”项目“荷兰核桃良种及其培育技术引进”(2011-4-28)。

第一作者简介: 文进(1959-), 男, 云南昭通人, 副研究员, 主要从事林下资源开发方面的研究。

通讯作者简介: 裴艳辉(1975-), 女, 甘肃天水人, 工程师, 硕士, 主要从事森林生态方面的研究。

大,核桃的种植面积也日益扩大,产业发展也日益受到重视。但在核桃种植区域内,常常出现倒春寒和晚霜的危害,致使核桃花芽、新梢受冻,造成核桃产量下降,严重影响了核桃产业的发展。解决上述问题的主要途径就是抗寒和避晚霜核桃品种的选育,一方面可以从地方核桃种质资源中进行选育;另一方面就是引种和培育。因而开展低温胁迫下核桃抗寒生理响应及抗寒性评价等研究,对核桃优良品种选育具有重要的理论价值和生产指导意义。

本研究以云南漾濞泡核桃 (*J. sigillata*) 为对照,从荷兰引进的7个抗寒品种为对象,测定并比较分析了在自然低温胁迫下各品种的生理指标及

其变化,并对其抗寒性进行综合评价,旨在为抗寒核桃品种的引种和科学栽培提供理论依据。

1 研究方法

1.1 研究对象

供试的8个核桃品种材料均为1年生嫁接苗,苗木培育地点为大理漾濞核桃研究院。其中7个品种是2011年3月从荷兰引进的接穗嫁接而成,1个地方品种为漾濞泡核桃(对照),8个品种均采用1年生铁核桃砧木嫁接培育。具体的品种名称和生长状况见表1。

表1 测试核桃品种生长状况及特点

Tab. 1 Growth status and characteristics of tested walnut cultivars

编号	品种名称	平均苗高/cm	1年生嫁接枝直径/cm	品种特性
1	漾濞泡核桃(<i>J. sigillata</i>)	78.41	1.26	云南主栽品种之一,寿命长,产量高,出仁率高,种仁出油率高
2	Hansen	27.50	0.76	原产德国,抗寒性好
3	Buccaneer	37.21	1.01	荷兰主栽品种,芽萌动晚,抗寒性好,出仁率高,是好的授粉品种
4	Parisienne	28.60	0.55	法国传统品种,抗病性好
5	Coenen	31.70	1.01	原产德国,果实大,树型好
6	Lara	23.30	0.51	原产荷兰,实生选育品种
7	Axel	36.50	0.89	原产于荷兰,果实巨大
8	Fernette	25.20	0.61	法国传统品种,抗病性较好,晚熟

1.2 采样方法

自然降温胁迫下采集各品种(2~3单株)相对一致部位的叶片,每一品种各单株叶片混合,带回实验室,随后即进行生理指标测定。样品采集时间:第1次,2012年8月15日,日最低气温17℃,最高气温28℃;第2次,2012年10月15日,日最低气温12℃,最高气温21℃。

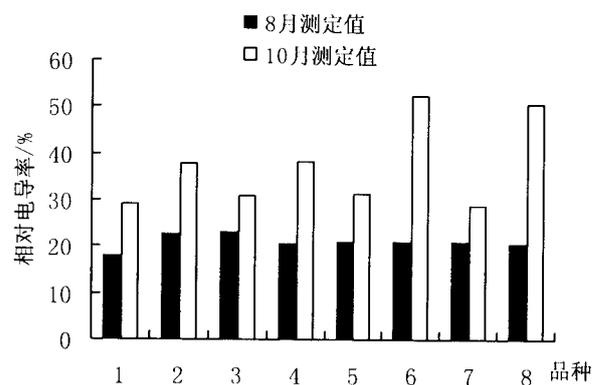
1.3 测定及分析方法

细胞膜透性采用电导法测定^[3];丙二醛含量测定采用硫代巴比妥酸法^[4];脯氨酸含量测定采用酸性茚酮法^[5]。每个指标3次重复测定。应用SPSS软件和Excel进行数据处理分析。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫下各品种细胞质膜透性的变化

低温胁迫下细胞膜结构会受到破坏,表现为透性变化,即电导率的改变。



8月和10月各品种相对电导率变化

图1 低温胁迫下各品种相对电导率的变化

Fig. 1 Changes of relative conductivity of each cultivar under cold stress

由图1可知,随着自然温度的降低(由8月的17~28℃降到10月的12~21℃),供试品种相对电导率皆有所上升,但上升的幅度各不相同。其中

上升幅度最大的是 Lara, 上升幅度达 148.02 %; 其次是 Fernette, 上升幅度为 142.77 %; 上升幅度最小的是 Buccaneer 和 Axel, 分别为 35.21 % 和 35.64 %, 说明相对电导率上升幅度大的 Lara 和 Fernette 2 个品种对于低温胁迫更为敏感, 低温胁迫后膜受损的程度较大, 也就是说它们的抗寒性较差。而 Buccaneer 和 Axel 2 个品种却相反, 二者膜损伤较小, 抗寒性较强。

2.2 低温胁迫下各品种丙二醛含量的变化

8 个参试核桃品种在自然低温胁迫下丙二醛含量及其变化的情况见图 2。由图 2 可知, 8 个参试品种 10 月自然温度降低后丙二醛都呈现上升的趋势, 但上升的幅度各不相同, 即各品种对低温的反应各不相同, 抗寒性存在差异。其中 Buccaneer 和 Axel 上升的幅度较小, 而且差异不大, 分别为 4.79 % 和 5.16 %, 说明二者抗寒性较强, 脂膜过氧化化的程度较低; 而 Lara 和 Fernette 则相反, 其上升的幅度最大, 达到了 27.14 % 和 23.95 %, 表明二者的抗寒性较弱。

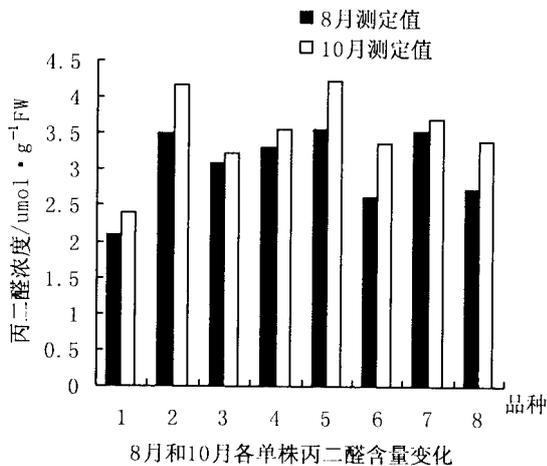


图 2 低温胁迫下各品种丙二醛的变化

Fig. 2 Changes of MDA of each cultivar under cold stress

2.3 低温胁迫下各品种脯氨酸含量的变化

低温胁迫下, 植物将增强脯氨酸的合成, 通过脯氨酸的积累保持原生质与环境间的渗透平衡, 进而提高抗寒性。低温胁迫后脯氨酸含量及变化情况见图 3。由图 3 可知, 低温胁迫下各参试品种脯氨酸含量都有所上升, 但上升的幅度较小, 而且各参试品种间上升幅度的差异也不是很大。比较而言, Buccaneer 上升的幅度较大, 达 12.63 %, 其他 7

个参试品种脯氨酸上升的幅度差异不大 (6.05 % ~ 7.69 %), 8 个参试品种中 Fernette 上升的幅度最小, 仅为 4.74 %。

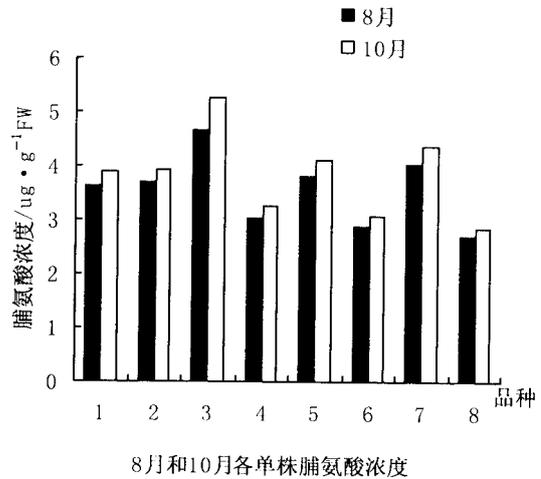


图 3 低温胁迫下各品种脯氨酸的变化

Fig. 3 Changes of proline of each cultivar under cold stress

3 结语

细胞膜不仅是细胞与环境发生物质交换的主要通道, 也是感受环境胁迫最敏感的细胞结构。植物受到低温胁迫时, 细胞膜受损, 表现为膜透性增大, 离子外渗^[6], 并最终导致细胞的死亡, 这种变化大多出现在形态变化之前。膜透性的变化可以通过测定溶液的电导率反映出来, 电导率的大小及变化幅度可以反映所测材料细胞膜的伤害程度, 进而判断植物抗寒性的大小。抗寒性较强的细胞膜透性变化幅度较小, 抗寒性较弱的细胞膜透性变化幅度较大^[7]。研究结果表明, 引种核桃品种幼苗叶片的相对电导率随温度的降低而升高, 只是不同品种其电导率升高的幅度不同。8 个参试品种相对抗寒性的初步排序: Buccaneer > Axel > Coenen > 漾潭泡核桃 > Hanson > Parisienne > Fernette > Lara。

植物在低温胁迫条件下往往发生脂膜过氧化作用, 丙二醛是质膜过氧化作用的产物之一, 其含量及变化幅度可以反映细胞膜过氧化程度及细胞受损的程度^[8]。在胁迫过程中其含量往往先呈下降趋势 (植株本身的应急反应能力与丙二醛的增长相抗衡, 即逆境初期植物生理上的一个适应过程), 随着胁迫加深, 膜受损严重, 丙二醛升高,

特别到一定阈值,其增加趋势非常明显。其中变化趋势平缓的品种,表明其质膜过氧化产物清除能力较强,抗性也较强。随着温度的下降,8个参试品种丙二醛含量皆呈上升趋势,但上升的幅度各不相同。由上升的幅度进行抗寒性初步排序: Buccaneer > Axel > Parisienne > 漾濞泡核桃 > Hanson > Coenen > Fernette > Lara。

脯氨酸作为细胞的渗透调节物质在低温胁迫下可以增强细胞的持水力,起到保护植物组织的作用^[9]。当植物受到低温胁迫时,脯氨酸的积累不仅发挥渗透调节作用,保持原生质与环境间的渗透平衡,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^[10]。在通常情况下,低温胁迫后植物脯氨酸含量呈现先上升后下降的趋势,一方面表明温度变化激活了脯氨酸的合成机制,从而导致其大量积累,提高其抗逆能力;另一方面植物对寒冷的承受能力有一定范围,达到极限值后脯氨酸含量不再增加,反而会稍减弱。脯氨酸升高的幅度与品种的抗性有一定的关系,升高的幅度越大品种抗性越强。本项研究结果表明,温度降低后,各核桃品种脯氨酸含量皆有所上升,但上升的幅度较小,而且各品种间上升幅度的差异也不是很大。根据脯氨酸升高幅度对8个参试品种排序: Buccaneer > Axel > Coenen > Parisienne > 漾濞泡核桃 > Hanson > Lara > Fernette。

植物的抗寒性与其细胞膜结构、生理活性物质及其酶防御系统的活性密切相关^[11],植物通过一系列生理生化和分子生物学变化等调节机制来适应低温环境,也就是说抗寒性是植物自身生理生化综合作用的遗传表现^[12],植物对于低温的综合适应能力的判断往往需要多种指标的结合。本项研究通过自然低温变化下膜透性、丙二醛及脯氨酸3个生理指标变化情况的综合分析,初步将7个引种的核桃品种幼苗及1个本地核桃品种的抗寒性划分为3个级别: I级(2个品种): Buccaneer和Axel; II级(4个品种): Coenen, Parisienne, Hanson和漾濞泡核桃; III级(2个品种): Lara和Fernette。该

划分结果有待进一步作聚类分析验证。

由于条件和时间的限制,引进的接穗嫁接培育的苗木株数有限和苗木生长量较小,供测试用的叶片有限,至11月几乎已经采不到叶子,未能完成11月中旬气温继续降低,落叶前的再一次生理指标测定。因此本研究仅对8个核桃品种1年生幼苗进行了自然低温变化下的抗寒性初步研究。另外,核桃是落叶树种,难以完成自然低温进一步下降的生理测定,其抗寒机理研究尚需结合室内人工低温胁迫处理、采用不同组织器官、综合其他生理指标等方法进行综合研究。

参考文献:

- [1] 郝荣庭,张毅萍. 中国果树志·核桃卷[M]. 北京: 中国林业出版社, 1996.
- [2] 张雨,董润泉,习学良. 云南核桃种质资源现状及开发利用[J]. 西北林学院学报, 2004, 19(2): 38-40.
- [3] 赵世杰,史国安. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2002.
- [4] 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.
- [5] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000.
- [6] 沈漫,王明麻. 植物抗寒机理研究进展[J]. 植物学通报, 1997, 14(2): 1-8.
- [7] 张露,张俊红,温忠辉,等. 引种桉树苗期的抗寒性分析[J]. 江西农业大学学报, 2011, 33(1): 47-51.
- [8] 张保青,杨丽涛,李杨瑞. 自然条件下甘蔗品种抗寒生理生化特性的比较[J]. 作物学报, 2011, 37(3): 496-505.
- [9] 刘慧英,朱祝军,吕国华,等. 低温胁迫下西瓜幼苗生理变化与抗寒相关性研究[J]. 中国农业科学, 2003, 36(11): 1325-1329.
- [10] 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.
- [11] 杨建民,周怀军,王文凤. 果树霜冻害研究进展[J]. 河北农业大学学报, 2000, 23(3): 54-58.
- [12] 李轶冰,杨顺强,任广鑫,等. 低温处理下不同禾本科牧草的生理变化及其抗寒性比较[J]. 生态学报, 2009, 29(3): 1341-1347.