

低温胁迫对西番莲抗寒生理指标的影响

董万鹏¹, 罗充¹, 龙秀琴^{2,*}, 胡静¹, 李燕¹

¹贵州师范大学生命科学学院, 贵阳550000; ²贵州省山地资源研究所, 贵阳550001

摘要: 选取5个西番莲株系的一年生枝条进行不同梯度的低温胁迫处理, 观察受冻情况并测定质膜相对透性、抗氧化酶活性、渗透调节物质等指标, 分析其抗寒能力。结果表明: 相对电导率随处理温度的降低逐渐升高, 0℃以下呈对数上升趋势; 不同株系间MDA含量变化趋势不同, 差异显著($P<0.05$); SOD活性随处理温度降低呈“先降后升”或“降-升-降”的变化趋势; 平塘1号、版纳4号的CAT活性较低且变幅不大, 其他株系的CAT活性随处理温度降低呈逐渐下降趋势; 不同株系间POD活性不同且处理间的变化趋势不同, 抗寒株系其活性较高; 可溶性蛋白含量随处理温度降低迅速增加, 0℃含量达最大值, 温度继续降低则出现下降趋势; 可溶性糖与脯氨酸含量随处理温度降低呈现逐渐上升趋势。运用隶属函数法进行综合评价, 得出抗寒性强弱顺序为: 平塘1号>版纳9号>版纳4号>紫香1号>版纳10号。

关键词: 西番莲; 低温; 抗寒性; 枝条生理; 隶属函数法

Effects of Low Temperature Stress on Physiological Indexes of Cold Resistance of *Passiflora edulis*

DONG Wan-Peng¹, LUO Chong¹, LONG Xiu-Qin^{2,*}, HU Jing¹, LI Yan¹

¹College of Life Sciences, Guizhou Normal University, Guiyang 550000, China; ²Institute of Mountain Resources in Guizhou, Guiyang 550001, China

Abstract: This study selected one year-old branches from different *Passiflora edulis* cultivars to be tested for chilling stress in response to different temperature treatments. The cold tolerance was evaluated by determining the relative membrane permeability, antioxidant enzyme activity, concentration of osmotic solutes and other indicators. The results showed that the relative conductivity gradually increased while temperature dropped; the relative conductivity increased in a logarithmical manner when the temperature was below 0℃. Different trends of changes in MDA content among different cultivars were detected ($P<0.05$). SOD activity first decreased then increased as the temperature kept dropping, or showed a trend of “decrease-increase-decrease”. CAT activity in Pingtang No.1 and Banna No.4 was low and stayed unchanged. In contract, CAT activity decreased in other cultivars while temperature decreased. POD activity in different cultivars showed distinct trends of changes in response to different treatments; higher activity was detected in cultivars with higher cold tolerance. Soluble protein content increased rapidly as temperature decreased; the content reached maximum at 0℃. However, the content of soluble proteins started to decrease when the temperature dropped below 0℃. The content of soluble sugar and proline showed a gradual increase with dropping temperature. Comprehensive evaluation using the membership function indicated that the ranking of cold tolerance of the tested *Passiflora edulis* cultivars was as Pingtang No.1>Banna No.9>Banna No.4>Zixiang No.1>Banna No.10.

Key words: *Passiflora edulis*; low temperature; cold resistance; branches physiology; membership function

低温是植物生长发育的限制因素之一, 不同梯度的持续低温会对生理指标产生不同程度的影响(王小丽等2009; 何跃君等2008)。植物为了适应持续的低温会产生一些内在外在的变化, 逐渐形成独特的生理特性, 如质膜透性的变化、渗透调节物质含量的变化、抗氧化酶活性的变化。评判植物抗寒性强弱与这些生理指标的变化密切相关(何跃君等2008; 邵怡若等2013)。

西番莲(*Passiflora edulis*)一般在热带及亚热带地区栽培, 其生长要求年平均气温在18℃以

收稿 2015-03-09 修定 2015-03-30

资助 贵州省科技厅农业科技攻关项目(黔科合NY字[2012]3025号)、贵州省科技计划项目(黔科合SY字[2012] 3024号)、贵州省重大应用基础研究项目(黔科合JZ字[2014]200208)。

致谢 中国科学院西双版纳热带植物园任新军博士提供苗木。

* 通讯作者(E-mail: longxiuqin@163.com; Tel: 0851-88619261)。

上。在我国云贵高原地区栽植,常遇寒害、冻害问题(周婧等2008)。在对贵州省平塘县克度镇典型的喀斯特峰丛洼地进行野外调查时,发现有逸生西番莲分布,在冬季气温达到 $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下时几乎不受冻且能顺利越冬。为摸清西番莲在喀斯特石漠化区的适应性,尤其是抗寒性,从2012年开始,分别从广西、云南引进了10余个西番莲优株开展育苗实验,并对初步筛选出的抗寒性强的5个株系进行低温胁迫实验,旨在筛选出抗寒性强的西番莲繁殖材料,这对于喀斯特石漠化区的物种选择、模式配置乃至生态产业培育具有现实意义。

材料与方法

1 试验材料

从云南、广西、贵州等地引种10余种西番莲(*Passiflora edulis* Sims)材料,通过实生繁殖,从后代中选择5个较为抗寒的株系开展试验。

试验于2014年12月在贵州师范大学进行,材料采自贵州省平塘县克度镇西番莲引种基地。选取长势较好无病虫害的5个株系作为试验材料:引自云南西双版纳的版纳4号(紫黄杂交果系)、版纳9号(黄果系)、版纳10号(黄果系),引自广西的紫香1号(紫果系),引自平塘克度镇的平塘1号(紫果系逸生种)。每个株系选取多条当年生长健壮枝条,剪成30 cm的数条枝段分成6组,冲洗掉枝叶上的泥土,洗净后吸干水分,蜡封两端放入自封袋中。将分组的枝条置于智能温控生化培养箱(变温速度 $4\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$)进行梯度低温胁迫处理,设置的温度分别为 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $-16\text{ }^{\circ}\text{C}$,共6个温度梯度,达到预期温度后维持15 h,后逐渐升温至 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

2 测定方法

电导率测定时,将冷处理后的西番莲枝条进行枝叶分离,枝条剪成3 mm的薄片,叶片用打孔器打成 1 cm^2 的小片并放入三角瓶中混合均匀,各称取0.5 g,放入试管中,加入15 mL去离子水,浸提20 min。为了高效处理采用抽真空泵进行抽真空15 min,测定溶液煮沸前的电导率,试管用parafilm封口薄膜封住后于 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅中煮20 min,冷却至室温后,测定煮沸后的电导率。相对电导率的测定参考王文举等(2007)的方法,每个处理重复3次,公式如式1。

相对电导率(P)= $(R_1-R_0)/(R_2-R_0)$ (式1)。式中 R_1 :煮沸前的电导率; R_2 :煮沸后的电导率; R_0 :去离子水的电导率。

超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性及可溶性蛋白含量均采用南京建成试剂盒测定。丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法;可溶性糖含量采用蒽酮法;脯氨酸含量采用茚三酮法,上述各项测定参考植物生理生化实验书的方法(王学奎2006)。

3 西番莲抗寒性评价

应用Fuzzy数学中隶属函数法进行综合评判(韩瑞宏等2006),与抗寒性呈正相关的参数如可溶性糖、脯氨酸等采用式2,与抗寒性呈负相关的参数相对电导率、MDA等采用式3。

$R(X_{ijk})=(X_i-X_{\min})/(X_{\max}-X_{\min})$ (式2); $R(X_{ijk})=1-(X_i-X_{\min})/(X_{\max}-X_{\min})$ (式3)。式中, $R(X_{ijk})$ 为第*i*个材料第*j*个温度梯度第*k*项指标的隶属度,且 $R(X_{ijk})\in[0, 1]$; X_{ijk} 表示第*i*个材料第*j*个温度阶段第*k*个指标测定值; X_{\min} 、 X_{\max} :所有参试材料第*k*项指标的最小值、最大值。

4 数据处理

运用Microsoft Excel和IBM SPSS软件进行数据处理和统计分析,表中数值为平均值 \pm 标准差,用方差分析方法分析不同处理间的差异,多重比较采用LSD、Duncan法(李松岗和曲红2002)。

实验结果

1 低温胁迫对西番莲枝条质膜相对透性的影响

由图1可以看出,5个西番莲株系的相对电导率随处理温度的降低逐渐升高, $0\sim-16\text{ }^{\circ}\text{C}$ 近似呈对数曲线上升。 $4\sim 0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 处理16 h西番莲枝条相对电导率上升较缓,差异不显著($P>0.05$); $0\sim-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 之间各株系相对电导率上升幅度较大,其中版纳10号上升幅度最大,达242.2%,说明低温对其质膜造成了严重伤害; $-4\sim-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 之间版纳10号、版纳4号相对电导率变化不大,其他株系仍保持上升趋势; $-8\sim-16\text{ }^{\circ}\text{C}$ 之间相对电导率均变化不大,其中紫香1号、平塘1号仍呈上升态势,但上升较缓慢。

由表1可知, $0\sim 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 处理16 h内,西番莲叶片未见受冻症状,这表明植物自身具有一定耐寒调节能力。但在 $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 处理组,可观察到版纳4号、版纳

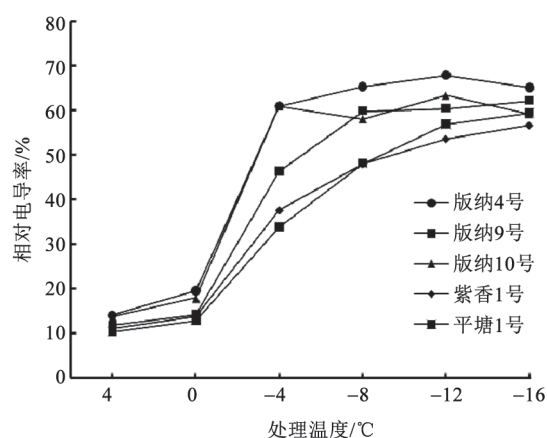


图1 不同温度处理对相对电导率的影响

Fig.1 Effects of different temperature on relative electrical conductivity of *P. edulis*

表1 不同温度处理对西番莲枝叶形态的影响

Table 1 Effects of different temperature on morphology of *P. edulis* branches and leaves

温度/°C	株系				
	版纳4号	版纳9号	版纳10号	紫香1号	平塘1号
4	正常	正常	正常	正常	正常
0	正常	正常	正常	正常	正常
-4	完全水渍	部分水渍	完全水渍	正常	正常
-8	完全水渍	完全水渍	完全水渍	部分水渍	正常
-12	完全水渍	完全水渍	完全水渍	完全水渍	部分水渍
-16	完全水渍	完全水渍	完全水渍	完全水渍	完全水渍

10号西番莲叶片受冻症状较重, 其质膜透性均达到61%左右, 版纳9号症状较轻, 紫香1号、平塘1号未见受冻症状。至-8 °C处理时, 只有平塘1号表现良好, 其他株系均表现出受冻症状, 而且症状更为严重, 大部分呈水渍状, 枝条软弱萎蔫, 这表明平塘1号西番莲有较强的抗寒特性, 这可能与在当地逸生驯化多年有关。在-12 °C时, 所有株系西番莲叶片均出现受冻症状, 且除平塘1号外都较重, 呈现完全水渍状。在-4 °C时相对电导率版纳10号>版纳4号>版纳9号>紫香1号>平塘1号, 说明版纳10号对低温较敏感, 平塘1号对低温较耐受。

为了解各株系的西番莲枝叶在不同温度处理下的细胞膜完整性, 测定了不同温度处理阶段下叶片中的MDA含量。结果(表2)表明: 不同株系间变化趋势不同, 差异显著($P<0.05$), 4 °C时除平塘1号MDA含量较低外, 其他株系MDA含量均较高。

表2 不同温度对西番莲MDA含量的影响

Table 2 Effects of different temperature on MDA content of *P. edulis*

温度/°C	MDA含量/nmol·mg ⁻¹ (蛋白)				
	版纳4号	版纳9号	版纳10号	紫香1号	平塘1号
4	4.92±0.10 ^a	3.56±0.30 ^{ab}	4.21±0.39 ^a	4.65±0.14 ^a	2.35±0.27 ^c
0	4.52±0.69 ^{ab}	3.78±0.60 ^b	4.09±0.54 ^{ab}	4.98±0.74 ^a	3.55±0.64 ^{ab}
-4	2.83±0.21 ^c	3.59±0.27 ^{ab}	3.74±0.18 ^b	3.84±0.38 ^b	3.93±0.43 ^a
-8	3.28±0.32 ^{bc}	3.30±0.18 ^{ab}	3.23±0.19 ^{bc}	2.92±0.26 ^c	3.78±0.38 ^a
-12	4.02±0.16 ^b	3.45±0.12 ^{ab}	2.59±0.19 ^c	4.07±0.26 ^{ab}	2.30±0.14 ^c
-16	3.89±0.19 ^b	2.94±0.13 ^b	3.04±0.04 ^{bc}	4.13±0.18 ^{ab}	2.67±0.15 ^{bc}

数据为平均值±标准差; 同一列数据旁不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 表3~8同。

版纳4号与紫香1号MDA含量随温度降低先下降再上升, 升降幅度达显著水平($P<0.05$); 平塘1号MDA含量随温度降低先上升再下降, 升降幅度达显著水平($P<0.05$); 版纳9号MDA含量在不同处理间变化不大; 版纳10号MDA含量随温度降低呈逐渐下降趋势, -12 °C时含量最低。

结合MDA含量与相对电导率的测定结果分析, 版纳4号、平塘1号和紫香1号的2个测定结果的变化趋势存在部分相关性, 其中平塘1号的2个指标在4~8 °C均呈上升趋势, 版纳4号与紫香1号在-4~-16 °C均呈上升趋势。但版纳9号和版纳10号的2个测定结果并不完全相关。以上数据说明MDA含量与相对电导率之间有一定联系, 但两者并非完全相关。

2 低温胁迫对西番莲枝条抗氧化酶活性的影响

如表3所示, 4 °C时全部西番莲枝条都有较高的SOD活性, 随着处理温度的降低, 紫香1号枝条SOD活性呈现“先降后升”的变化趋势, 其他株系呈现“降—升—降”的变化趋势。除紫香1号SOD活性在4 °C时最大, 其余株系SOD活性最大值出现在-12 °C。各株系间SOD活性差异显著($P<0.05$)。

由表4可以看出, 各株系西番莲在不同处理温度间POD活性变化各不相同。酶活性最大值, 平塘1号出现在0~4 °C, 紫香1号出现在-8 °C, 版纳9号出现在-4 °C; 版纳4号、版纳10号随处理温度降低呈逐渐上升趋势, 且上升逐渐趋于缓慢, 其中版纳10号酶活性保持在较低水平。不同株系间的POD活性差异显著($P<0.05$), 抗寒株系其活性较高。

由表5可知, 不同株系西番莲枝条CAT活性的

表3 不同温度对西番莲SOD活性的影响

Table 3 Effects of different temperature on SOD activity of *P. edulis*

温度/°C	SOD活性/U·mg ⁻¹ (蛋白)				
	版纳4号	版纳9号	版纳10号	紫香1号	平塘1号
4	94.41±5.17 ^b	85.06±2.05 ^a	77.72±7.35 ^a	87.53±1.63 ^a	86.27±2.11 ^{bc}
0	71.23±3.64 ^c	73.22±6.29 ^b	69.59±5.72 ^{ab}	77.14±4.78 ^b	79.04±5.04 ^c
-4	80.43±6.41 ^{bc}	78.34±6.74 ^{ab}	56.28±5.98 ^c	64.97±4.73 ^c	83.74±7.24 ^{bc}
-8	100.07±6.40 ^{ab}	71.32±3.85 ^b	70.64±8.21 ^{ab}	70.02±3.38 ^{bc}	90.59±6.80 ^b
-12	105.56±3.23 ^a	86.50±5.91 ^a	75.83±5.29 ^a	75.79±3.78 ^b	100.60±7.15 ^a
-16	98.22±4.35 ^b	80.96±0.59 ^{ab}	73.81±7.42 ^a	82.70±4.90 ^{ab}	78.58±4.25 ^c

表4 不同温度对西番莲POD活性的影响

Table 4 Effects of different temperature on POD activity of *P. edulis*

温度/°C	POD活性/U·mg ⁻¹ (蛋白)				
	版纳4号	版纳9号	版纳10号	紫香1号	平塘1号
4	31.37±1.03 ^c	38.19±2.41 ^b	21.74±1.59 ^c	38.41±0.95 ^{bc}	33.30±1.52 ^c
0	34.19±2.07 ^b	37.22±1.16 ^b	25.96±2.20 ^{bc}	40.33±0.70 ^b	48.41±2.38 ^a
-4	35.00±2.87 ^{abc}	44.44±2.55 ^a	30.67±2.26 ^{ab}	37.59±2.69 ^{bc}	48.37±3.31 ^a
-8	38.11±1.62 ^{ab}	37.33±0.61 ^b	32.00±1.91 ^a	43.41±2.22 ^a	42.07±1.45 ^b
-12	39.30±0.77 ^a	36.11±2.02 ^b	33.67±3.31 ^a	39.41±3.02 ^b	35.22±2.75 ^c
-16	39.44±3.64 ^a	37.52±3.62 ^b	34.63±1.87 ^a	36.93±2.21 ^c	35.04±1.51 ^c

表5 不同温度对西番莲CAT活性的影响

Table 5 Effects of different temperature on CAT activity of *P. edulis*

温度/°C	CAT活性/U·mg ⁻¹ (蛋白)				
	版纳4号	版纳9号	版纳10号	紫香1号	平塘1号
4	58.48±4.71 ^a	97.17±2.75 ^a	103.76±5.03 ^a	107.53±4.66 ^{ab}	46.61±3.90 ^{ab}
0	35.29±2.09 ^d	84.10±4.99 ^{bc}	111.35±2.72 ^a	116.41±1.12 ^a	30.53±1.85 ^b
-4	49.98±3.85 ^b	81.03±2.99 ^c	109.82±3.85 ^a	100.68±6.28 ^b	46.19±2.13 ^{ab}
-8	37.40±2.58 ^d	88.47±4.66 ^b	89.16±3.40 ^b	95.87±3.19 ^b	49.44±3.44 ^a
-12	39.90±3.76 ^c	82.90±1.72 ^c	89.97±1.87 ^b	89.23±4.69 ^{bc}	32.43±3.29 ^b
-16	45.20±3.03 ^{bc}	70.70±2.53 ^d	65.44±6.01 ^c	55.53±3.28 ^d	49.35±2.75 ^a

变化趋势不同。4 °C时,所有株系的西番莲枝条均有较高的CAT活性;随着处理温度的降低,紫香1号与版纳10号在0 °C时CAT活性略上升,随后逐渐降低,降低达显著水平($P<0.05$);版纳9号的酶活性降幅较小,保持在较高的水平。平塘1号与版纳4号的酶活性保持在较低水平,变化幅度不大;各系号间差异显著($P<0.05$)。

3 低温胁迫对西番莲枝条渗透调节物质含量的影响

由表6可看出,所有株系的西番莲枝条可溶性蛋白含量的变化趋势大致相同,在4~0 °C增加且增幅较大,0 °C时达最大值,随后出现下降趋势;平塘

1号的蛋白质含量在整个处理期间都高于其他株系,其最高含量比相对较低的版纳10号高14.67%。比较5个株系的可溶性蛋白含量平均值可得:平塘1号>紫香1号>版纳9号>版纳10号>版纳4号。

由表7可知,各西番莲的可溶性糖含量变化因株系而异,平塘1号可溶性糖在-12 °C达最高值,版纳9号、版纳10号可溶性糖含量在-4 °C时达到最高值。平塘1号与紫香1号可溶性糖含量稳定上升,变幅不大;版纳4号、版纳9号、版纳10号可溶性糖含量在0~-4 °C处理间出现显著增加($P>0.05$)。

表6 不同温度对西番莲可溶性蛋白含量的影响

Table 6 Effects of different temperature on soluble protein content of *P. edulis*

温度/°C	可溶性蛋白/mg·mL ⁻¹				
	版纳4号	版纳9号	版纳10号	紫香1号	平塘1号
4	2.89±0.11 ^{bc}	3.48±0.13 ^{bc}	3.56±0.09 ^b	3.08±0.14 ^c	3.76±0.10 ^{bc}
0	4.16±0.23 ^a	4.24±0.14 ^a	3.94±0.23 ^a	4.11±0.11 ^a	4.51±0.18 ^a
-4	3.13±0.13 ^b	3.71±0.51 ^b	3.51±0.07 ^b	3.81±0.23 ^{ab}	3.95±0.12 ^b
-8	2.52±0.16 ^c	3.26±0.24 ^c	3.27±0.27 ^{bc}	3.53±0.09 ^b	3.62±0.30 ^{bc}
-12	2.68±0.11 ^c	3.12±0.25 ^c	2.89±0.15 ^c	3.31±0.28 ^{bc}	3.31±0.13 ^c
-16	2.64±0.08 ^c	3.18±0.09 ^c	2.83±0.08 ^c	3.18±0.35 ^c	3.27±0.12 ^c

表7 不同温度对西番莲可溶性糖含量的影响

Table 7 Effects of different temperature on soluble sugar content of *P. edulis*

温度/°C	可溶性糖/%				
	版纳4号	版纳9号	版纳10号	紫香1号	平塘1号
4	2.28±0.74 ^c	1.84±0.27 ^{bc}	1.81±0.30 ^{bc}	1.52±0.42 ^{bc}	2.63±0.88 ^c
0	2.26±0.60 ^c	1.72±0.13 ^c	1.54±0.32 ^c	1.42±0.49 ^c	2.93±0.70 ^b
-4	3.24±0.24 ^{ab}	2.49±0.18 ^a	2.31±0.36 ^a	1.80±0.50 ^b	3.02±0.46 ^b
-8	3.43±0.32 ^a	2.00±0.26 ^b	2.02±0.24 ^{ab}	2.18±0.22 ^{ab}	3.45±0.14 ^{ab}
-12	3.52±0.46 ^a	2.16±0.21 ^{ab}	2.16±0.21 ^{ab}	2.24±0.16 ^a	3.95±0.53 ^a
-16	3.56±0.47 ^a	2.17±0.18 ^{ab}	2.12±0.01 ^{ab}	2.31±0.11 ^a	3.66±0.45 ^{ab}

各株系最大含量分别为: 平塘1号>版纳4号>版纳9号>版纳10号>紫香1号。

由表8可知, 各株系西番莲叶片中脯氨酸含量随处理变化呈逐渐升高的变化趋势, 各株系在4~-4 °C处理间上升幅度较大, -12 °C达到最大含量。随处理的不同, 各西番莲株系叶片中的脯氨酸含量均发生了显著变化($P<0.05$), 其中版纳4号、紫香1号、平塘1号变化幅度较大, 版纳9号、版纳10号变化幅度相对较小。各株系最大含量分别为: 平塘1号>版纳4号>版纳9号>紫香1号>版纳10号。

4 西番莲抗寒性综合评价

运用隶属函数法对各生理指标进行综合评判, 其中相对电导率、MDA的隶属函数值由反隶属函数公式求得。由表9可得, 5个株系的西番莲的平均隶属度在0.37~0.63之间, 以姜丽娜等(2014)的研究方法再结合培育基地实际情况, 按照平均隶属度将抗寒性分为4个级别。I级: 抗寒性 ≥ 0.55 , 为高抗寒品系; II级: $0.45 \leq$ 抗寒性 < 0.55 , 为中抗寒品系; III级: $0.35 \leq$ 抗寒性 < 0.45 , 为低抗寒品系; IV级: 抗寒性 < 0.35 , 为不抗寒品系。由表9可知, 5个株系中, 平塘1号为高抗寒株系; 版纳9号、版纳4号为

表8 不同温度对西番莲脯氨酸含量的影响

Table 8 Effects of different temperature on proline content of *P. edulis*

温度/°C	脯氨酸/mg·g ⁻¹ (FW)				
	版纳4号	版纳9号	版纳10号	紫香1号	平塘1号
4	0.30±0.02 ^c	0.54±0.05 ^c	0.42±0.03 ^b	0.25±0.10 ^c	0.39±0.01 ^c
0	0.68±0.02 ^{bc}	0.86±0.04 ^b	0.60±0.02 ^{ab}	0.56±0.05 ^b	0.78±0.03 ^b
-4	1.12±0.09 ^{ab}	0.92±0.06 ^b	0.72±0.06 ^a	0.87±0.05 ^a	1.41±0.06 ^{ab}
-8	1.18±0.11 ^{ab}	1.12±0.09 ^a	0.76±0.03 ^a	0.92±0.04 ^a	1.46±0.07 ^{ab}
-12	1.19±0.01 ^{ab}	1.18±0.05 ^a	0.71±0.03 ^a	0.89±0.07 ^a	1.61±0.08 ^a
-16	1.26±0.08 ^a	1.22±0.03 ^a	0.66±0.02 ^{ab}	0.97±0.09 ^a	1.48±0.08 ^{ab}

表9 不同西番莲株系隶属函数值

Table 9 The membership function of different *P. edulis* cultivars

株系	相对电导率	CAT	POD	脯氨酸	可溶性糖	SOD	MDA	可溶性蛋白	平均隶属度	耐寒性
版纳4号	0.331	0.434	0.544	0.521	0.644	0.718	0.398	0.241	0.479	II
版纳9号	0.441	0.489	0.627	0.534	0.253	0.466	0.574	0.490	0.484	II
版纳10号	0.388	0.502	0.301	0.293	0.226	0.291	0.557	0.406	0.371	III
紫香1号	0.541	0.470	0.660	0.363	0.193	0.407	0.327	0.492	0.432	III
平塘1号	0.538	0.519	0.700	0.690	0.731	0.613	0.701	0.610	0.638	I

中抗寒株系;紫香1号、版纳10号为低抗寒株系。以上结果与西番莲枝叶受冻症状表现相对应,表现较好的是平塘1号,表现最差的是版纳10号,这均与它们的生理指标测定结果相吻合,说明隶属函数法能较好的评价西番莲的抗寒性。

讨 论

1 质膜透性与抗寒性的关系

植物细胞膜对维持稳定的细胞内环境起着重要作用(Polle等1994)。植物体对低温胁迫的反应部位主要表现在细胞膜系统上(江福英等2002)。低温胁迫时,MDA含量激增,植物体内不断积累活性氧自由基,引起膜脂过氧化(Wise和Naylor 1987),导致质膜透性增大,胞内电解质外渗,引起相对电导率升高(杨雪梅等2014)。相对电导率的高低表明了细胞膜受损伤的程度,与耐寒性呈负相关(徐康等2005)。试验中在不同处理温度间版纳4号、版纳9号和版纳10号西番莲相对电导率均较紫香1号和平塘1号高,结合MDA含量的综合分析,表明紫香1号和平塘1号的质膜破坏程度较小,抗寒性优于其他株系。

2 抗氧化酶活性与抗寒性的关系

植物体内普遍存在着多种抗氧化酶保护机制,它们可以清除活性氧自由基,从而降低细胞膜受损伤的程度(李春燕等2011; Allen 1995),但当这种逆境继续存在时,产生大量的氧自由基,而自由基被清除的速率远小于其生成的速率时,该保护机制就会被打破,这将导致细胞膜的膜脂过氧化和蛋白质破坏,损伤细胞(孟庆瑞等2002)。本研究表明,不同处理条件下,西番莲叶片SOD活性呈现“先升后降”或“降-升-降”的变化趋势,POD活性呈现缓慢上升并在温度进一步降低时活性被抑制,SOD和POD活性的增加可以减轻低温对生物膜的伤害,说

明植株对低温产生了一定的响应。不同西番莲株系之间变化不同,-8℃以上抗寒性强的株系SOD和POD活性较高,-12~-16℃时株系间POD活性差别不大,这可能如Zhang和Kirkham (1994)所说,POD就像一把“双刃剑”,在低温胁迫初期表现为保护效应,亦可在低温胁迫后期表现为伤害效应,参与活性氧的生成、叶绿素的降解等。CAT能专一的清除过氧化氢(Polle等1994),分析实验结果,抗寒性弱的株系CAT活性随着处理温度下降而持续降低,低温对其活性产生了抑制,抗寒性强的株系CAT活性基本上保持稳定,上下波动说明低温对其活性产生了影响,但影响不大。

3 渗透调节物质与耐寒性的关系

有研究表明植物体在低温胁迫下可诱导蛋白质合成可溶性蛋白质,促使淀粉转化成可溶性糖(Monroy等1998),可溶性糖与可溶性蛋白作为植物细胞内重要的渗透调节物质,前者能增加细胞内溶质浓度,从而降低冰点(张钢2005),后者可转化合成一些小分子有机物质,增加可束缚的水分,减少胞内结冰失水(杨德浩等2004),使抗寒性得到提高,两者含量均与植物的抗寒性呈正相关(潘晓云等2002)。在本试验中,随处理温度的降低,各西番莲株系可溶性糖的含量逐渐升高,升高较快含量较高的抗寒性较强;可溶性蛋白含量是先升后降,含量较高的抗寒性强,降低的原因可能是活性氧对蛋白质的过氧化作用或是其转化合成其他小分子物质。可溶性糖含量在处理至-12℃时达到峰值,表明在4~-12℃的温度处理时,西番莲枝叶对低温有一定适应过程,体内的淀粉转化成可溶性糖并逐渐积累,达到一个峰值。脯氨酸作为渗透调节物质之一,可以提高渗透压,增强保水力(岳海等2010),降低质膜受低温胁迫损伤的程度(何兵等2004)。本研究中,通过不同低温胁迫处理后的西

番莲枝条,脯氨酸含量均显著增加,同时,抗寒性强的株系平塘1号的脯氨酸积累较多,而敏感株系版纳10号的脯氨酸积累相对较少。研究结果表明脯氨酸的累积与西番莲抗寒性呈正相关,可作为西番莲抗寒性评判的重要指标。

西番莲的抗寒机制是极为复杂的生理变化过程,其中涉及诸多物质相互作用协同变化,单一抗寒指标不足以判断植物对逆境的适应能力(张文辉等2004)。隶属函数法作为一种可靠的数学统计方法,可以将多个抗性指标综合起来,通过平均隶属度来评价品种间的抗性,目前运用此方法评价葡萄、蓝莓、樱桃、核桃等物种已经取得了满意的结果(相昆等2011)。本研究亦运用此方法,对不同株系西番莲的抗寒性进行综合评判,对西番莲的POD、SOD、MDA等8个生理指标进行综合分析,得出其抗寒性强弱顺序为:平塘1号>版纳9号>版纳4号>紫香1号>版纳10号。西番莲枝条的受冻症状表现与此结果几乎一致,表明该方法适用于对西番莲进行抗寒性评价。此外,试验设计降温处理的温度梯度为4℃,结合当地实际天气情况选择15 h持续时间,以后可以缩小温度梯度并调整不同持续时间以求更加精确的生理指标变化情况,进而能够探索西番莲的LT₅₀(半致死温度),为西番莲抗寒育种以及冬季管理提供科学依据。

参考文献

- 韩瑞宏,卢欣石,高桂娟,杨秀娟(2006). 紫花苜蓿抗旱性主成分及隶属函数分析. 草地学报, 14 (2): 142~146
- 何兵,陈其兵,潘远智,刘应高(2004). 几个一品红品种低温胁迫的生理特性研究. 四川农业大学学报, 22 (4): 332~334
- 何跃君,薛立,任向荣,曹鹤,梁丽丽,徐燕(2008). 低温胁迫对六种苗木生理特性的影响. 生态学杂志, 27 (4): 524~531
- 江福英,李延,翁伯琦(2002). 植物低温胁迫及其抗性生理. 福建农业学报, 17 (3): 70~71
- 姜丽娜,张黛静,宋飞,刘佩,樊婷婷,余海波,李春喜(2014). 不同品种小麦叶片对拔节期低温的生理响应及抗寒性评价. 生态学报, 34 (15): 4251~4261
- 李春燕,陈思思,徐雯,李东升,顾骁,朱新开,郭文善,封超年(2011). 苗期低温胁迫对扬麦16叶片抗氧化酶和渗透调节物质的影响. 作物学报, 37 (12): 2293~2298
- 李松岗,曲红(2002). 实用生物统计(第2版). 北京: 北京大学出版社, 134~139
- 孟庆瑞,杨建民,樊英利(2002). 果树抗寒机制研究进展. 河北农业大学学报, 25 (增刊): 87~91
- 潘晓云,曹琴东,王根轩(2002). 膜脂过氧化作为扁桃品种抗寒性鉴定指标研究. 生态学报, 22 (11): 1902~1911
- 邵怡若,许建新,薛立,张柔,吴彩琼,卢广超(2013). 低温胁迫时间对4种幼苗生理生化及光合特性的影响. 生态学报, 33 (14): 4237~4247
- 王文举,张亚红,牛锦凤,王振平(2007). 电导法测定鲜食葡萄的抗寒性. 果树学报, 24 (1): 34~37
- 王小丽,裴玉贺,郭新梅,张恩盈,宋希云(2009). 低温胁迫下玉米幼苗的几种生理生化指标的变化. 植物生理学通讯, (5): 487~490
- 王学奎(2006). 植物生理生化实验原理和技术(第2版). 北京: 高等教育出版社
- 相昆,张美勇,徐颖,王晓芳,岳林旭(2011). 不同核桃品种耐寒特性综合评价. 应用生态学报, 22 (9): 2325~2330
- 徐康,夏宜平,徐碧玉,林田,杨霞(2005). 以电导法配合logistic方程确定茶梅‘小玫瑰’的抗寒性. 园艺学报, 32 (1): 148~150
- 杨德浩,杨敏生,王进茂,王世兰,李帅英,叶振魁, Naujoks G (2004). 欧洲白桦苗期低温胁迫时膜系统的变化. 东北林业大学学报, 32 (6): 13~15
- 杨雪梅,苑兆和,尹燕雷,冯立娟,招雪晴(2014). 不同石榴品种抗寒性综合评价. 山东农业科学, 46 (2): 46~51
- 岳海,李国华,李国伟,陈丽兰,孔广红,梁国平(2010). 澳洲坚果不同品种耐寒特性的研究. 园艺学报, 37 (1): 31~38
- 张钢(2005). 国外木本植物抗寒性测定方法综述. 世界林业研究, 18 (5): 14~20
- 张文辉,段宝利,周建云,刘祥君(2004). 不同种源栓皮栎幼苗叶片水分关系和保护酶活性对干旱胁迫的响应. 植物生态学报, 28 (4): 483~490
- 周婧,蓝庆江,唐君海,卢艳春(2008). 广西热带亚热带植物种质资源寒害调查. 广西热带农业, (4): 25~29
- Allen RD (1995). Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. Plant Physiol, 107 (4): 1049~1054
- Monroy AF, Sangwan V, Dhindsa RS (1998). Low temperature signal transduction during cold acclimation: protein phosphatase 2A as an early target for cold-inactivation. Plant J, 13 (5): 653~660
- Polle A, Otter T, Seifert F (1994). Apoplastic peroxidases and lignification in needles of Norway spruce (*Picea abies* L.). Plant Physiol, 106 (1): 53~60
- Wise RR, Naylor AW (1987). Chilling-enhanced photooxidation: evidence for the role of singlet oxygen and superoxide in the breakdown of pigments and endogenous antioxidants. Plant Physiol, 83 (2): 278~282
- Zhang J, Kirkham MB (1994). Drought-stress-induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat species. Plant Cell Physiol, 35 (5): 785~791