

文章编号:1003-8701(2015)05-0090-03

# 外源钙及钙离子抑制剂对杏扁雌蕊抗寒性的影响

刘铁铮,王献革,索相敏,刘国胜\*

(河北省农林科学院石家庄果树研究所,石家庄 050064)

**摘要:**用杏扁优株‘07-3’作为研究材料,在花芽萌动期和膨大期进行树体喷钙和喷钙离子抑制剂处理,采集盛花期花枝进行室内模拟低温试验,调查低温下不同处理杏扁雌蕊冻害,通过测定不同处理雌蕊的可溶性糖含量、MDA含量、SOD活性和POD活性,研究外源钙与杏扁雌蕊抗寒性间的关系。结果表明:外源钙处理提高了雌蕊可溶性糖含量,降低了雌蕊MDA含量,增强了雌蕊SOD酶活性和POD酶活性,显著降低了雌蕊的冻害,提高了其抗寒能力;外源喷钙离子抑制剂处理则相反。

**关键词:**杏扁;雌蕊;外源钙;抗寒性

中图分类号:S662.2

文献标识码:A

## Effects of Extraneous Calcium and Calcium Ion Inhibitor on Cold Hardiness of Almond Pistil

LIU Tie-zheng, WANG Xian-ge, SUO Xiang-min, LIU Guo-sheng\*

(Shijiazhuang Fruit Institute, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050064, China)

**Abstract:** Almond strains ‘07-3’ was used as material and they were sprayed with calcium and calcium ion inhibitor in flower bud break and expands stage. Branches at full bloom were collected and indoor simulation test of low temperature carried out. Freezing rate of different processing almond pistil was investigated, by measuring soluble sugar content, MDA content, SOD activity and POD activity of pistils of different treatment. The relationship between almond pistil cold hardiness and exogenous calcium was studied. The results showed that exogenous calcium treatment improved the pistil soluble sugar content, reduced the pistil MDA content, enhanced SOD activity and POD activity, significantly reduced cold injury of the pistil, improved cold hardiness. Effect of exogenous calcium ion inhibitor treatment was on the contrary.

**Key words:** Almond; Pistil; Exogenous calcium; Cold hardiness

杏树是落叶果树中抗寒、抗旱、适应性强的树种之一。杏扁在植物分类学上属于蔷薇科,李亚科,杏属,是普通杏和西伯利亚杏的自然杂交种<sup>[1]</sup>。杏的花蕾期能抵抗-4~-1℃的低温,盛开的花朵能抗-2~-1℃<sup>[2]</sup>,在石家庄地区杏扁开花一般在3月中下旬,此时正是晚霜危害的高发期,给杏扁产量造成了致命的伤害,因此晚霜危害成为限制杏扁栽培的主要因素之一<sup>[3]</sup>。雌蕊是花器官中最不抗寒的<sup>[4]</sup>,孟庆瑞<sup>[5]</sup>、王晓燕<sup>[3]</sup>、郑元<sup>[6]</sup>等对杏扁花器官的抗寒性进行了研究,魏安智<sup>[7]</sup>等研究

了外源ABA与杏花抗寒性的关系,郭守华<sup>[8]</sup>等研究水杨酸与杏花抗寒性的关系。Ca<sup>2+</sup>作为植物细胞的第二信使在植物的生长发育和抗逆中起着重要的作用<sup>[9-11]</sup>,外源钙处理能增强植物的抗寒性<sup>[12-14]</sup>。但有关外源钙处理与杏扁雌蕊抗寒性的关系还未见报道,因此本文通过外源钙和钙离子抑制剂处理,于盛花期采集花枝进行室内低温模拟试验,调查不同处理的受冻率,并测定不同温度下生理指标的变化情况,旨在为生产上选育抗寒杏扁品种提供理论依据。

## 1 材料与方法

试验于2013年在河北省赞皇县南潘村杏扁中试园进行。供试品种为‘优株07-3’,树龄9年生,株行距2 m×4 m,树势中庸,长势良好。供试

收稿日期:2015-05-07

基金项目:河北省农林科学院青年基金项目(A2012100107)

作者简介:刘铁铮(1977-),男,副研究员,硕士,主要从事果树育种、栽培研究。

通讯作者:刘国胜,男,研究员,E-mail: gshliu@126.com

药剂有  $\text{CaCl}_2$  和 EGTA ( $\text{Ca}^{2+}$  抑制剂), 均为分析纯。试验药剂均用蒸馏水配制成质量浓度为 0.3% 的溶液。

试验设外源喷施  $\text{CaCl}_2$ 、EGTA ( $\text{Ca}^{2+}$  抑制剂) 和清水 (对照) 3 个处理。单株小区, 3 次重复。于花芽萌动期和大蕾期进行树体喷药。

花枝室内模拟试验于盛花期采集不同处理杏扁的一年生花枝 10 根 (30 cm/根), 放于可调变温冰箱中设  $0^\circ\text{C}$ 、 $-1^\circ\text{C}$ 、 $-2^\circ\text{C}$  和  $-3^\circ\text{C}$  4 个温度冷冻 3 h, 然后取出室温静置 3 h, 调查不同处理雌蕊的受冻情况, 肉眼观察雌蕊颜色变褐且不能恢复为受冻, 未变褐或变褐后能恢复为不受冻。雌蕊受冻率 = (雌蕊褐变数/调查雌蕊总数)  $\times 100\%$ 。

测定不同处理杏扁雌蕊的可溶性糖含量、可溶性蛋白含量 MDA 含量、SOD 活性和 POD 活性。可溶性糖含量测定采用蒽酮比色法<sup>[15]</sup>; 可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝法<sup>[16]</sup>; MDA 含量测定采用硫代巴比妥酸比色法<sup>[17]</sup>; 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性测定用氮蓝四唑 (NBT) 显色法<sup>[18-19]</sup>; 过氧化物酶 (POD) 活性测定用愈创木酚法<sup>[18-19]</sup>。利用 SPSS 软件进行数据分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 室内模拟低温对雌蕊冻害的影响

从表 1 可以看出,  $0^\circ\text{C}$  低温条件下, 不同处理杏扁雌蕊均没有冻害发生;  $-1^\circ\text{C}$  低温条件下, 外源喷钙处理没有冻害发生, 对照有轻微的冻害发生, 而喷钙离子抑制剂处理冻害发生率达到 11.8%; 在  $-2^\circ\text{C}$  低温条件下, 不同处理冻害均迅速上升, 喷钙处理达到 48.5%, 与其他两个处理差异显著。

| 表 1 室内模拟低温对雌蕊冻害的影响 % |                   |                    |                    |                    |
|----------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                      | 雌蕊受冻率             |                    |                    |                    |
|                      | $0^\circ\text{C}$ | $-1^\circ\text{C}$ | $-2^\circ\text{C}$ | $-3^\circ\text{C}$ |
| 对照                   | 0                 | 2.2                | 71.2a              | 98.6               |
| 钙处理                  | 0                 | 0                  | 48.5b              | 79.4               |
| 钙离子抑制剂               | 0                 | 11.8               | 78.5a              | 100.0              |

注: 不同字母表示 5% 显著性差异, 下同

### 2.2 杏扁雌蕊可溶性糖和可溶性蛋白含量

可溶性糖和可溶性蛋白是植物细胞内重要的渗透调节物质, 其含量与植物抗寒性有密切的关系。从表 2 可以看出, 低温胁迫下不同处理杏扁雌蕊可溶性糖含量随着温度的降低呈先升高后降低的趋势。外源钙处理杏扁雌蕊可溶性糖含量一直高于对照, 而外源钙离子抑制剂处理杏扁可溶

性糖含量则一直低于对照。

| 表 2 不同处理杏扁雌蕊可溶性糖含量 mg/g |       |                   |                    |                    |                    |
|-------------------------|-------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                         | 常温    | $0^\circ\text{C}$ | $-1^\circ\text{C}$ | $-2^\circ\text{C}$ | $-3^\circ\text{C}$ |
| 对照                      | 0.228 | 0.289             | 0.311              | 0.327b             | 0.295              |
| 钙处理                     | 0.230 | 0.301             | 0.323              | 0.341a             | 0.311              |
| 钙离子抑制剂                  | 0.2   | 0.281             | 0.301              | 0.308c             | 0.287              |

从表 3 可以看出, 低温胁迫下不同处理杏扁雌蕊可溶性蛋白含量随着温度的降低呈逐渐升高的趋势, 在  $-3^\circ\text{C}$  达到最高。其中外源钙处理可溶性蛋白含量在  $-3^\circ\text{C}$  最高为 18.66 mg/g, 并与其他两个处理差异显著。外源钙处理可溶性蛋白含量明显高于对照, 对照明显高于外源钙离子抑制剂处理。说明外源钙处理提高了杏扁雌蕊的可溶性蛋白含量, 而外源钙离子抑制剂处理则降低了其可溶性蛋白含量。

| 表 3 不同处理杏扁雌蕊可溶性蛋白含量 mg/g |      |                   |                    |                    |                    |
|--------------------------|------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                          | 常温   | $0^\circ\text{C}$ | $-1^\circ\text{C}$ | $-2^\circ\text{C}$ | $-3^\circ\text{C}$ |
| 对照                       | 2.26 | 5.31              | 7.82               | 12.48              | 14.55b             |
| 钙处理                      | 2.31 | 7.21              | 10.54              | 15.12              | 18.66a             |
| 钙离子抑制剂                   | 2.30 | 5.21              | 7.41               | 10.71              | 12.39c             |

### 2.3 杏扁雌蕊 MDA 含量

MDA 是膜脂过氧化作用的终产物, 是膜系统受害的重要标志之一。从表 4 可以看出, 对照和处理杏扁雌蕊 MDA 含量随温度降低呈升高的趋势。外源钙处理明显低于对照, 而外源喷钙离子抑制剂处理雌蕊 MDA 含量则明显高于对照。说明低温下外源钙处理能显著降低杏扁雌蕊的膜脂过氧化作用, 提高了其抗寒性, 而外源钙离子抑制剂则反之。

| 表 4 不同处理杏扁雌蕊 MDA 含量 nmol/g |      |                   |                    |                    |                    |
|----------------------------|------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                            | 常温   | $0^\circ\text{C}$ | $-1^\circ\text{C}$ | $-2^\circ\text{C}$ | $-3^\circ\text{C}$ |
| 对照                         | 9.35 | 23.17             | 30.72              | 39.22              | 55.93b             |
| 钙处理                        | 9.62 | 21.58             | 28.26              | 35.88              | 44.39c             |
| 钙离子抑制剂                     | 9.71 | 26.55             | 36.21              | 45.82              | 62.33a             |

### 2.4 杏扁雌蕊 SOD、POD 酶活性

SOD 和 POD 是重要的膜保护酶。从表 5 看出, 不同处理杏扁雌蕊 SOD 酶活性随着温度的降低呈先升高后降低的趋势。在整个低温胁迫过程中外源钙处理杏扁雌蕊的 SOD 酶活性一直高于对照; 而钙离子抑制剂处理则一直低于对照。外源钙离子抑制剂处理杏扁雌蕊, 在  $-1^\circ\text{C}$  后, SOD 酶活性迅速下降, 而外源钙处理在  $-2^\circ\text{C}$  后开始下降。

表5 不同处理杏扁雌蕊 SOD 酶活性 U/g

|        | 常温   | 0℃    | -1℃   | -2℃    | -3℃   |
|--------|------|-------|-------|--------|-------|
| 对照     | 6.23 | 13.33 | 16.32 | 22.38b | 19.55 |
| 钙处理    | 6.28 | 15.29 | 17.88 | 25.49a | 20.38 |
| 钙离子抑制剂 | 6.33 | 10.21 | 15.87 | 9.12b  | 7.62  |

从表6可以看出,对照和外源钙处理杏扁雌蕊 POD 酶活性随着温度的降低呈逐渐升高的趋势。而外源钙离子抑制剂处理在-1℃后,POD 酶活性迅速下降。通过 SOD 和 POD 酶活性的变化规律说明,外源钙处理维持了杏扁雌蕊细胞膜的稳定性,提高了其抗寒性;而外源钙离子抑制剂处理破坏了细胞膜的稳定性,从而降低了其抗寒性。

表6 不同处理杏扁雌蕊 POD 酶活性 U/g

|        | 常温    | 0℃    | -1℃   | -2℃     | -3℃     |
|--------|-------|-------|-------|---------|---------|
| 对照     | 29.98 | 53.32 | 73.92 | 91.92b  | 137.85b |
| 钙处理    | 30.08 | 57.29 | 75.92 | 100.87a | 145.23a |
| 钙离子抑制剂 | 30.12 | 53.58 | 72.85 | 61.63c  | 48.54c  |

### 3 结论与讨论

花芽萌动期和大蕾期进行田间喷钙和钙离子抑制剂处理,于盛花期采集不同处理一年生花枝进行室内低温模拟试验,调查不同处理低温胁迫下杏扁雌蕊的受冻情况,并测定不同低温胁迫下雌蕊可溶性糖含量、可溶性蛋白含量、MDA 含量、SOD 酶活性和 POD 酶活性。研究表明,外源钙处理降低了雌蕊的受冻率,降低了雌蕊 MDA 含量,提高了雌蕊可溶性糖含量和可溶性蛋白含量,增强了雌蕊 SOD 酶活性和 POD 酶活性;外源喷钙离子抑制剂处理则反之。

可溶性糖和可溶性蛋白是植物细胞内重要的渗透调节物质,在一定低温范围内,其含量可以降低细胞溶液的结冰点,减少原生质因结冰而导致的坏死<sup>[11,6,18]</sup>。王晓燕等<sup>[3]</sup>研究随着温度的降低,植物体内可溶性糖含量先升高然后降低;刘铁铮<sup>[4]</sup>等研究随着温度的降低,不同品种杏扁雌蕊可溶性蛋白含量均呈升高的趋势,且抗寒品种升高的幅度大。何峰江等<sup>[20]</sup>研究认为杏枝条可溶性糖含量与抗寒性之间关系不显著。

MDA 是膜脂氧化的最终产物。刘铁铮<sup>[4]</sup>等研究认为在低温胁迫下抗寒性好的品种 MDA 含量低,抗寒性差的品种 MDA 含量高。何峰江<sup>[20]</sup>认为杏枝条丙二醛含量与抗寒性之间可能存在密切相关。

SOD、POD 称为植物细胞防御系统的保护酶,能清除低温逆境下体内产生的有害物质,保护植物细胞膜和生物大分子,它们活性的强弱直接关系到抵御低温伤害的能力<sup>[21-22]</sup>。孟庆瑞<sup>[5]</sup>、王华<sup>[23]</sup>、王飞<sup>[24]</sup>研究认为保护酶活性与植物抗寒性呈正相关。

本研究结果表明外源钙处理提高了杏扁雌蕊可溶性糖和可溶性蛋白的含量,提高了酶的活性,减少了 MDA 的累积,从而提高了杏扁雌蕊的抗寒性。

#### 参考文献:

- [1] 陈 钰,郭爱华,姚月俊,等.不同杏树品种的抗寒性比较[J].西部林业科学,2007,36(2):71-74.
- [2] 赵习平.杏优良品种及无公害栽培技术[M].北京:中国农业出版社,2009.
- [3] 王晓燕,宁 超,宋庆丰,等.4个仁用杏优良抗寒性比较研究[J].安徽农业科学,2010,38(9):4481-4485.
- [4] 刘铁铮,付雅丽,刘京绵,等.低温胁迫对杏扁花器官抗寒性的影响[J].河北农业科学,2013,17(1):39-41.
- [5] 孟庆瑞,徐秀英,杨建民,等.杏花器官抗寒性初步研究[J].河北农业大学学报,2006,29(3):22-25.
- [6] 郑 元,杨途熙,魏安智,等.低温胁迫对仁用杏几个抗寒生理指标的影响[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2008,36(1):163-167.
- [7] 魏安智,杨途熙,张 睿,等.外源 ABA 对仁用杏花期抗寒力及相关生理指标的影响[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2008,36(5):79-84.
- [8] 郭守华,杨 晴,杨晓玲,等.水杨酸对杏树花期抗寒性及坐果率的影响[J].经济林研究,2007,25(4):24-27.
- [9] 简令成,王 红.钙在植物抗寒中的作用[J].细胞生物学杂志,2002,24(3):166-171.
- [10] S M Cunningham, J J Volenec, L R Teuber. Plant survival and root and bud composition of alfalfa populations selected for contrasting fall dormancy[J]. Crop Science, 1998, 38(4): 962-969.
- [11] Kauss H. Some aspects of calcium-dependent regulation in plant metabolism[J]. Ann Rev Plant Physiol, 1988(38): 47-72.
- [12] 冀乙萌,惠杜娟,李瑞梅,等.钙对低温胁迫下木薯抗寒相关生理指标的影响[J].热带作物学报,2012,33(5):894-898.
- [13] 李天来,张艳玲,赵康龙.钙处理对夜间亚低温胁迫下薄皮甜瓜生长的影响[J].沈阳农业大学学报,2011,42(2):152-156.
- [14] 李胜林,贾锡云,李永鹏,等.硝酸钙处理对低温下紫花苜蓿耐寒性及幼苗生长的影响[J].黑龙江八一农垦大学学报,2009,21(3):9-11.
- [15] 河北农业大学农学院主编.植物生理学试验指导[M].保定:河北农业大学出版社,1998.
- [16] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Ana Biochem, 1976(72): 248-254.
- [17] 刘永军,郭守华,杨晓玲.植物生理生化实验[M].北京:中国农业科技出版社,2002.
- [18] 朱广廉,钟海文,张爱琴.植物生理学实验[M].北京:北京大学出版社,1990.

(下转第101页)



进,高浓度( $75 \sim 100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )盐碱胁迫抑制,且 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐碱抑制作用明显, $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐碱胁迫只对根系干重的增加有促进作用,对其他指标表现为抑制。对于甜瓜幼苗根体积、叶面积以及根系和地上部干物质比值研究表明:盐碱胁迫抑制了根系体积和叶面积的增加且具有浓度和时间依赖性,同时盐碱胁迫增加了根系干物质分配比率。

#### 参考文献:

- [1] Zhang J F, Jiang J M, Shah Q H, et al. Soil salinization and ecological remediation by planting trees in China[A]. In the international conference on mechanic automation and control engineering(MACE)[C]. 2010: 1349-1352.
- [2] 李晓燕,宋占午,董志贤.植物的盐胁迫生理[J].西北师范大学学报(自然科学版),2004,40(3):106-111.
- [3] 谢德意,王惠萍,王付欣,等.盐胁迫对棉花种子萌发及幼苗生长的影响[J].种子,2000(3):10-11.
- [4] 魏国强,朱祝军,方学智,等.NaCl胁迫对不同品种黄瓜幼苗生长、叶绿素荧光特性和活性氧代谢的影响[J].中国农业科学,2004,37(11):1754-1759.
- [5] 孟长军.盐胁迫对樱桃番茄幼苗形态指标的影响[J].吉林农业科学,2012,37(3):45-48.
- [6] 吴旭红,董雪芹.碱胁迫对甜瓜幼苗生长及光合色素含量

和抗氧化作用的影响[J].种子,2011,8(30):62-64.

- [7] 杨春武,李长有,尹红娟.小冰麦(*Triticum aestivum*-*Agropyron intermedium*)对盐胁迫和碱胁迫的生理响应[J].作物学报,2007,33(8):1255-1261.
- [8] 麻莹,曲冰冰,郭立泉.盐碱混合胁迫下抗碱盐生植物碱地肤的生长及其茎叶中溶质积累特点[J].草业学报,2007,16(4):25-33.
- [9] 盖志佳,王玉波,王志农.定量施肥对甜菜干物质积累与分配的影响[J].作物杂志,2012(1):72-75.
- [10] 许兴,李树华,惠红霞,等.NaCl胁迫对小麦幼苗生长、叶绿素含量及 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 吸收的影响[J].西北植物学报,2002,22(2):278-284.
- [11] 赵可夫.植物抗盐生理[M].北京:中国科学技术出版社,1993.
- [12] 李伟.NaCl盐胁迫对番茄生长发育及蔗糖代谢的影响[D].哈尔滨:东北农业大学,2006.
- [13] Taleisnik E, Rodriguez A A, Bustos D, et al. Leaf expansion in grasses under salt stress[J]. Plant Physiol, 2009(166): 1123-1140.
- [14] 陈年来,马国军,张玉鑫,等.甜瓜种子萌发和幼苗生长对NaCl胁迫的响应[J].中国沙漠,2006,5(26):814-819.
- [15] 童辉,孙锦,郭世荣,等.等渗 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 和NaCl胁迫对黄瓜幼苗根系形态及活力的影响[J].南京农业大学学报,2012,35(3):37-41.

(责任编辑:王昱)

(上接第92页)

- [19] 高俊凤.植物生理学实验技术[M].西安:世界图书出版社,2000.
- [20] 何峰江,谢军,耿文娟,等.不同杏品种抗旱生理研究[J].现代农业科技,2012(16):86,90.
- [21] 赵习平,刘铁铮,付雅丽.杏树花期霜冻危害及其抗寒性研究进展[J].江西农业学报,2007,19(11):33-35.
- [22] Bowler C, Van Montagu M, Inze D. Superoxide dismutase and

stress tolerance[J]. Ann Rev Plant Physiol Plant Molbiol, 1990(41): 187-223.

- [23] 王华,王飞,陈登文,等.低温胁迫对杏花SOD活性和膜脂过氧化的影响[J].果树科学,2000,17(3):197-201.
- [24] 王飞,陈登文,高爱琴,等.杏品种一年生休眠枝、花、幼果抗寒的相关分析[J].西北植物学报,1999,19(4):618-622.

(责任编辑:范杰英)

(上接第96页)拟康氏木霉和黑根霉的抑制作用明显高于常用的化学药剂,而且对环境友好,能否在生产上代替化学药剂有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 刘安敏,孙家栋,陶秀珍,等.番茄灰叶斑病的发生规律与综合防治技术[J].中国植保导刊,2004(4):23-24.

[2] 陈随举.番茄灰叶斑病的为害症状及防治[J].现代农业科技,2011(1):29.

- [3] 李宝聚,周艳芳,赵彦杰,等.番茄灰叶斑病的发生与防治[J].中国蔬菜,2009(17):24-26.
- [4] 张丽荣,康萍芝,沈瑞清.木霉对土传病害病原真菌的拮抗作用[J].内蒙古农业科技,2007(5):48-50.

(责任编辑:范杰英)