

低温胁迫对4个草莓品种生理指标的影响

程嘉惠¹, 张梅丽¹, 王超^{2,3}, 闫绍鹏^{1*}

(1. 东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨 150040; 2. 西藏农牧学院, 西藏 林芝 860000; 3. 吉林省农业科学院, 长春 130033)

摘要:为探讨不同草莓品种在低温胁迫下的生理变化规律和抗寒能力, 2018年以4个草莓品种为实验材料, 测定了低温胁迫下叶片相对电导率(REC)、可溶性蛋白(WSP)含量、脯氨酸(Pro)含量、丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性等生理指标。结果表明, 随着胁迫温度下降, 草莓叶片相对电导率上升、保护性物质可溶性蛋白、丙二醛、脯氨酸等含量升高; 保护性酶SOD活性降低。根据相对电导率计算半致死温度, 不同草莓品种抗寒性能排序为: 赛娃>四公主>宁玉>粉佳人。叶片在低温胁迫过程中细胞膜质过氧化加剧, 丙二醛累积, 电解质外渗, 脯氨酸、可溶性蛋白等渗透调节物质在胁迫的不同阶段起到不同程度的保护作用。

关键词:草莓; 低温胁迫; 生理指标; 抗寒性

中图分类号: S668.4

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2021)01-0085-04

Effect of Low Temperature Stress on Physiological Index of Four Strawberry Varieties

CHENG Jiahui¹, ZHANG Meili¹, WANG Chao^{2,3}, YAN Shaopeng^{1*}

(1. College of Life Science, Northeast Forestry University, Harbin 150040; 2. Tibet Agricultural and Animal Husbandry University, Linzhi 860000; 3. Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract: The physiological changes and cold resistance of different strawberry varieties under low temperature stress were investigated. In 2018, four strawberry varieties were used as experimental materials to determine the REC, WSP content, Pro content, MDA content and SOD activity under low temperature stress. The results showed that with the decrease of stress temperature, the REC of strawberry leaves, the content of WSP, MDA and Pro content all increased, while SOD decreased. According to the semi-lethal temperature, the cold resistance performance of different strawberry varieties was ranked as: Saiwa>Sigongzhu>Ningyu>Fenjiaren. In the process of low temperature stress, cell membrane peroxidation intensified, MDA accumulates, electrolyte extravasates, Pro, WSP and other osmotic adjustment substances played different degrees of protection in different stages of stress.

Key words: Strawberry; Low temperature stress; Physiological indexes; Cold resistant capability

草莓(*Fragaria ananassa* Duch.), 蔷薇科草莓属多年生草本植物, 具有多种生态型, 适应环境能力强, 在我国广泛栽培^[1]。黑龙江省位于我国东北高纬度地区, 具有早春低温、冬季严寒等气候特征, 早春低温易使草莓叶片、花器和幼果等发生冻害^[2-3], 影响草莓正常生长, 果实品质及产量下降; 冬季严寒期, 大地露天栽植草莓若没有

覆盖物或长时间厚积雪覆盖, 草莓越冬成活率明显下降^[4-5]。我国栽种草莓设施多为结构简单的日光温室和塑料大棚, 不具备保温能力, 低温气候条件限制草莓的生产。因此, 草莓低温胁迫研究及选育抗低温草莓品种对于北方地区草莓发展极为重要。在植物抗寒性研究中, 植物的低温半致死温度(LT₅₀)可应用电导率法配以 Logistic 方程求拐点温度估算出。LT₅₀将植物抗寒能力用数字化表示, 可以区别出品种之间的抗寒性大小, 在植物抗寒性理论研究和实践应用上都具有重要意义^[6]。植物抗寒性表现复杂, 研究过程中发现, 相对电导率、丙二醛、可溶性蛋白、脯氨酸、超氧化物歧化酶等生理指标都与植物抗寒能力相关, 通

收稿日期: 2019-01-21

基金项目: 东北林业大学大学生创新训练项目(201810225136); 国家自然科学基金项目(31760548)

作者简介: 程嘉惠(1997-), 女, 在读本科, 主要从事植物发育生物学方向研究。

通讯作者: 闫绍鹏, 男, 博士, 高级工程师, E-mail: ysp_4@126.com

常被用作检测抗寒性的生理指标^[7-9]。陈善娜等^[10]在分析云南高原水稻对低温的抗性或因低温胁迫所发生的伤害认为,不能以单一指标来判断水稻的抗寒性,应以多项综合指标为宜。牛锦凤等^[11]研究鲜食葡萄枝条抗寒性认为,若要精细比较抗寒性需要采用 REC、Pro 和 MDA 等指标综合测定。不同品种在抗寒性上存在差异,受胁迫条件、遗传背景、生长状态和植物抗寒性强度等多种因素影响,用单一指标不能客观地体现抗寒性的强弱。将植物半致死温度和抗寒性相关生理指标综合分析,比较品种间抗性差异具有重要意义^[12-13]。我国草莓栽培品种较多,优良新品种不断出现^[14-15],不同品种在抗寒性上存在差异,筛选出适合当地气候条件的栽培品种非常重要。本研究以草莓低温胁迫下生理指标的变化率为依据,结合不同品种草莓的半致死温度进行综合分析,获得不同草莓品种抗寒性强弱综合评价,为草莓抗寒性品种筛选提供理论依据和实践指导。

1 材料与方 法

1.1 材 料

本实验以四公主、赛娃、粉佳人、宁玉 4 个草莓品种为供试材料。选取长势良好、一致,水肥正常,5 片以上功能叶,无病虫害草莓幼苗。草莓苗来自黑龙江省农业科学院园艺分院草莓研究室。

1.2 方 法

1.2.1 实验设计

2018 年 4 月初取回后分为 6 批利用低温培养箱进行不同温度处理,处理温度分别为常温(20℃对照)、10℃、5℃、0℃、-5℃、-10℃,每个温度 3 次重复,处理时长均为 8 h。处理后立即取其叶片测

定相对电导率,同时采集叶片称量鲜重后用锡箔纸包装并标记作为试验样品,液氮速冻后保存于-80℃冰箱内,用于生理指标测定。

1.2.2 测定指标

相对电导率(REC)的测定,参考侯福林^[16]的电导率法;丙二醛(MDA)含量、可溶性蛋白质(WSP)含量、脯氨酸(Pro)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性测定参考陈建勋^[17]的测定方法,每个指标重复 3 次。以上试验方法均稍作改动。

1.3 数据 统计

采用 Microsoft Excel 2010 对数据进行处理和分析,采用 SPSS 15.0 统计分析软件对数据进行差异显著性分析及多重比较。

2 结 果 与 分 析

2.1 草莓不同品种的半致死温度

4 个品种草莓以电导率和处理温度拟合 Logistic 方程,得到植物组织低温半致死温度^[4]。通过电导率的测定,发现植物细胞受损越严重,细胞内容物流出越多,相对电导率越大,从而体现出低温对于植物细胞的损伤程度。

由表 1 可知,随温度的降低,4 个品种草莓叶片相对电导率均呈现出明显的增长,其中粉佳人和宁玉的相对电导率在低于 0℃后随温度降低而骤增,在-10℃时分别达到 65.24% 和 69.65%。四公主和赛娃两个品种随处理温度降低也有上升;0~20℃各品种草莓电导率出现缓慢增长趋势,此温度范围 4 个品种都具有很强的适应能力。-5℃后 4 个品种相对电导率增大趋势均突然变大,-10℃时草莓受害严重。

表 1 4 个草莓品种低温胁迫下相对电导率及半致死温度

品种	相对电导率(%)						半致死温度 LT ₅₀ (℃)	耐寒性顺序
	20℃	10℃	5℃	0℃	-5℃	-10℃		
四公主	13.63	22.02	23.16	24.24	30.87	42.57	-15.3	2
赛 娃	15.24	22.88	23.21	26.28	32.40	49.91	-16.4	1
粉佳人	16.35	26.78	29.82	33.34	45.93	65.24	-5.7	4
宁 玉	15.08	23.35	23.81	24.76	41.24	69.65	-7.3	3

2.2 低温胁迫对草莓叶片丙二醛 MDA 含量影响

由表 2 可知,随着处理温度的降低,4 个品种草莓叶片中丙二醛的含量均呈上升趋势,其中,宁玉品种草莓上升幅度最大,尤其表现在 0℃以下,-10℃时,宁玉丙二醛含量达到 72.287 nmol/g,

为赛娃的 2 倍。其他 3 个品种四公主、赛娃、粉佳人草莓叶片中的丙二醛含量随温度降低上升幅度基本一致,且均在-5℃以下时上升幅度略大,粉佳人在-10℃时丙二醛含量达到 50.051 nmol/g。

表2 4个草莓品种不同温度处理下各指标平均值及多重比较

品种	温度(°C)	丙二醛(nmol/g)	可溶性蛋白质(mg/g)	脯氨酸(mg/g)	超氧化物歧化酶(U/g)
四公主	20	23.240±1.162c	1.423±0.071d	0.121±0.006d	721.720±36.086a
	10	24.340±1.217c	1.772±0.088d	0.757±0.037cd	553.402±27.670b
	5	28.781±1.439bc	2.052±0.103c	1.221±0.061c	440.440±22.022c
	0	29.151±1.458bc	2.609±0.131b	1.981±0.099bc	433.672±21.683c
	-5	31.268±1.563b	2.831±0.142ab	2.105±0.105b	391.389±19.569cd
	-10	42.902±2.145a	2.928±0.146a	3.241±0.162a	372.304±18.615d
赛娃	20	22.019±1.101c	2.183±0.109c	0.097±0.004d	736.010±36.800a
	10	23.815±1.190c	2.212±0.110c	0.375±0.018c	624.785±31.239b
	5	23.920±1.196c	2.372±0.118c	0.914±0.045bc	587.084±29.354c
	0	24.962±1.248c	2.932±0.146ab	1.355±0.067b	575.455±28.722c
	-5	30.735±1.536b	3.118±0.155a	1.738±0.086ab	461.049±23.052d
	-10	35.679±1.784a	3.125±0.156a	2.182±0.109a	453.091±22.654d
粉佳人	20	22.216±1.110d	1.322±0.066c	0.246±0.012d	1368.956±68.447a
	10	26.779±1.339cd	1.709±0.085bc	0.607±0.030c	1032.127±51.606b
	5	28.127±1.406c	2.047±0.102b	0.867±0.043bc	592.193±29.609c
	0	31.262±1.563bc	2.164±0.108b	0.879±0.044bc	563.314±28.165cd
	-5	39.200±1.960b	4.210±0.210a	0.962±0.048b	507.075±25.353d
	-10	50.051±2.502a	4.546±0.227a	2.110±0.105a	448.343±22.417e
宁玉	20	20.639±1.032d	1.826±0.091d	0.065±0.003c	1085.395±54.269a
	10	26.242±1.312cd	2.543±0.127c	0.995±0.049bc	916.252±45.812b
	5	33.191±1.659c	3.307±0.165b	1.039±0.052bc	877.822±43.891bc
	0	36.490±1.824c	3.856±0.192ab	1.082±0.054bc	796.226±39.811c
	-5	50.536±2.526b	3.947±0.197ab	1.395±0.069b	640.078±32.003d
	-10	72.287±3.614a	4.086±0.204a	2.778±0.138a	612.685±30.634d

2.3 低温胁迫对草莓叶片可溶性蛋白质含量影响

由表2可知,随着处理温度降低,草莓叶片中可溶性蛋白质含量增高。粉佳人品种草莓叶片可溶性蛋白质含量在0~20°C过程中影响不明显,温度达到0°C以下后,可溶性蛋白质含量迅速增加,-10°C时达到4.546 mg/g。四公主在-10°C时可溶性蛋白含量为2.928 mg/g。宁玉的可溶性蛋白质含量在0°C以上时含量迅速增大,0°C以下变化不明显;相较于宁玉、粉佳人,随着温度的降低,四公主和赛娃这两个品种草莓叶片中可溶性蛋白质含量增长趋势更加平缓。

2.4 低温胁迫对草莓叶片脯氨酸含量影响

由表2可以看出,处理温度越低,草莓叶片中Pro含量越高,且上升较快。赛娃、四公主叶片中脯氨酸的含量随温度降低而上升的幅度基本均匀,而粉佳人、宁玉这两个品种草莓由常温初步降温时,叶片中脯氨酸含量增大明显,随后的降温过程中增大缓慢,直至最后一次由-5°C降温至-10°C时,再一次明显看到其叶片中脯氨酸含量明显增大。

粉佳人由-5°C时0.962 mg/g迅速增长到2.110 mg/g,可以推断在此处理温度下,对植株伤害较大。

2.5 低温胁迫对草莓叶片超氧化物歧化酶活性影响

由表2可以看出,SOD活性迅速降低,10°C到5°C过程中下降最为显著。但从5°C再降温时,其SOD活性降低趋于平稳。其他3个品种在低温处理过程中,SOD活性下降平缓,没有大幅度波动。

2.6 低温胁迫过程中各项生理指标相关性分析

由表3可以看出,4个草莓品种处理温度与REC、MDA、WSP和Pro均呈极显著负相关,与SOD呈极显著正相关;REC与MDA、WSP和Pro呈极显著正相关,与SOD呈极显著负相关。说明在低温胁迫下,细胞膜质过氧化加剧,电解质外渗,MDA、WSP、Pro含量增加。

3 结论与讨论

低温是影响植物生长发育及限制植物产量的重要环境因素。植物电解质渗透率、丙二醛含量、可溶性蛋白含量、脯氨酸含量、超氧化物歧化

表3 4个草莓品种各项生理指标的相关性分析

品种	生理指标	温度	相对电导率(REC)	丙二醛(MDA)	可溶性蛋白(WSP)	脯氨酸(Pro)
四公主	REC	-0.970**				
	MDA	-0.859**	0.929**			
	WSP	-0.973**	0.910**	0.822**		
	Pro	-0.967**	0.969**	0.942**	0.958**	
	SOD	0.963**	-0.903**	-0.746**	-0.914**	-0.881**
赛娃	REC	-0.985**				
	MDA	-0.864**	0.815**			
	WSP	-0.906**	0.858**	0.837**		
	Pro	-0.973**	0.927**	0.909**	0.955**	
	SOD	0.978**	-0.953**	-0.892**	-0.886**	-0.952**
粉佳人	REC	-0.949**				
	MDA	-0.907**	0.965**			
	WSP	-0.883**	0.879**	0.958**		
	Pro	-0.861**	0.975**	0.949**	0.833**	
	SOD	0.946**	-0.844**	-0.755*	-0.742*	-0.746*
宁玉	REC	-0.941**				
	MDA	-0.901**	0.974**			
	WSP	-0.972**	0.841**	0.812**		
	Pro	-0.895**	0.980**	0.954**	0.786*	
	SOD	0.984**	-0.948**	-0.914**	-0.938**	-0.877**

注:*和**分别表示相关性呈显著($P<0.05$)和极显著($P<0.01$)水平

酶活性是反映植物对低温胁迫耐受能力的主要生理指标^[18]。低温胁迫下,植物细胞膜透性越大,细胞内容物外渗量越大,溶液相对电导率越大。因此,相对电导率越大,表明膜透性越大,即植物受低温损伤程度越大;逆境胁迫下植物体内自由基的产生与清除间的平衡遭到破坏,自由基的大量积累伤害膜系统,进而使植物过氧化程度加深。MDA为过氧化反应产物,可用来表现植物的损伤程度^[19-20]。WSP与植物的抗寒性具有密不可分的联系,低温状态下,植物大多会合成一些正常条件下不会合成的新蛋白质^[21]。这些蛋白质有助于植物组织抗寒性的提高,属于功能性蛋白质,主要体现在调节渗透方面,因此,低温胁迫下WSP含量升高。Pro的积累与细胞的脱水有关,由于低温引起脱水胁迫,它的积累除起到渗透调节作用外,更重要的是对膜脂和蛋白质起到保护作用,另外还证明可以清除自由基,防止膜脂过氧化的作用^[22]。SOD是植物体内清除自由基的关键酶,保护性酶类活性高,能够清除活性氧,维持氧代谢平衡的能力就强,活性氧所造成的伤害就会减少,耐寒性强的品种能保持更高的SOD等保护酶活性^[23]。在本研究中,随着温度的降低,各品种草莓叶片MDA含量逐渐升高,宁玉品种草莓叶片中

MDA含量升高更为显著;在低温胁迫过程中,4种草莓WSP含量和Pro含量都有一定程度的积累,参与草莓渗透调节过程,防止草莓低温胁迫失水,一定程度上可以提高草莓的抗寒性。草莓品种抗寒能力差异可能是由于遗传因素所致,即宁玉的母本和父本分别为幸香和章姬,均为“亚系草莓品种”,导致其较具有“欧美系”遗传背景的赛娃耐寒性差。

根据4个品种草莓的半致死温度分析及各项生理指标变化情况,抗寒能力为:赛娃>四公主>宁玉>粉佳人,宁玉和粉佳人抗寒能力相差不大。在低温胁迫条件下,电导率体现膜系统损伤情况,MDA为过氧化反应产物,含量升高,体现出植物的损伤程度,植物渗透性、保护性物质(WSP、Pro)含量上升,SOD保护性酶活性变化不可直接用于植物对寒冷应答的分析,应结合实际情况进行分析。

参考文献:

- [1] Lei J J, Xue L, Dai H P, et al. The taxonomy of Chinese Fragaria species[J]. Acta Horticulturae, 2014, 1049: 289-294.
- [2] 罗 娅, 汤浩茹, 张 勇. 低温胁迫对草莓叶片SOD和AsA-GSH循环酶系统的影响[J]. 园艺学报, 2007, 34(6): 1405-1411. (下转第113页)

[6] 郭 锈. 浅析3S技术在精准农业中的应用及发展前景[J]. 农业与技术, 2020, 40(18): 41-43.

[7] 周 勇, 江 帆. 旋翼无人机的农业低空高光谱遥感技术分析[J]. 农业开发与装备, 2020(11): 20-21.

[8] Huang Y, Reddy K N, Fletcher R S, et al. UAV Low-Altitude Remote Sensing for Precision Weed Management [J]. Weed Technology, 2018, 32(1): 2-6.

[9] Collier R H. Pest and Disease Prediction Models [J]. Encyclopedia of Applied Plant Sciences, 2017, 3: 120-123.

[10] 胡春华, 李萍萍, 金成磊, 等. 基于自适应差分进化算法拟合圆的树干胸径测量方法[J]. 农业机械学报, 2018, 49(9): 183-188.

[11] 张 屹, 胡 盘, 刘成恒. 基于GPS定位的太阳能板自动追光系统设计[J]. 计算机测量与控制, 2020, 28(1): 214-218.

[12] 刘国忠, 范忠瑶, 牟 娟, 等. 不同安装倾角对光伏电站发电量的影响研究[J]. 太阳能学报, 2015, 36(12): 2973-2978.

[13] 石绍玲, 许晓明, 郭婧芝. 农作物病虫害气象环境影响因子分析[J]. 农业与技术, 2016, 36(19): 124-126.

[14] 李 卓, 金恭玺, 郎 宁, 等. 温湿度与光照对葡萄霜霉病菌孢子囊萌发及存活的影响[J]. 新疆农业科学, 2016, 53(11): 2090-2097.

[15] 赵鹏程, 张福全, 杨绪兵, 等. 基于可视化的森林火灾监测节点优化部署策略[J]. 山东大学学报(工学版), 2019, 49(1): 30-35.

[16] Current weather and forecast. OpenWeatherMap, OpenWeather API[EB/OL]. [2018-10-01]. <http://openweathermap.org/>.

[17] 王士涛, 沈 毅, 李彩霞, 等. 基于人工智能的太阳跟踪系统架构[J]. 太阳能学报, 2020, 41(6): 299-304.

[18] 孙金圳, 郭 涛. 蜗轮蜗杆减速机的应用与维护探讨[J]. 南方农机, 2019, 50(3): 48.

[19] 陈茂添, 王文华, 吴伟娜. 步进电机智能控制系统的设计与实现[J]. 机电工程技术, 2020, 49(8): 112-114.

[20] 葛海浪, 臧 勇, 唐友亮, 等. 太阳能自动跟踪系统研究[J]. 计算机测量与控制, 2019, 27(6): 222-225.

[21] 高迎娟, 崔金平, 吕春雷, 等. 通化玉米黏虫发生程度气象等级预报方法[J]. 东北农业科学, 2018, 43(3): 35-38.

[22] 杨菲菲, 李世娟, 刘升平, 等. 作物环境胁迫高光谱遥感监测研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2020, 22(4): 85-93.

[23] 徐春阳, 高玉军. 气候变化对农作物病虫害发生发展趋势的影响[J]. 农业与技术, 2018, 38(1): 136-137.

[24] 陈 悦, 赵 莹, 孙于森. 北苍术立枯病原鉴定及药剂优选[J]. 东北农业科学, 2020, 45(6): 89-94, 105.

(责任编辑:刘洪霞)

(上接第88页)

[3] 王 静, 赵密珍, 于红梅, 等. 低温胁迫下草莓花半致死温度的研究[J]. 江西农业大学学报, 2012, 34(2): 255-258.

[4] 万清林. 草莓抗寒特性分析[J]. 北方园艺, 1990(8): 4-7.

[5] 金昌叶, 郑亚杰. 草莓安全越冬试验报告[J]. 吉林农业科学, 1991, 16(3): 68-70.

[6] 朱根海, 刘祖祺, 朱培仁. 应用Logistic方程确定植物组织低温半致死温度的研究[J]. 南京农业大学学报, 1986(3): 11-16.

[7] 张 敏, 蔡瑞国, 贾秀领, 等. 小麦抗寒机制的研究进展[J]. 东北农业科学, 2016, 41(4): 37-42.

[8] 张 勇, 汤浩茹, 罗 娅, 等. 低温锻炼对草莓组培苗抗寒性及抗氧化酶活性的影响[J]. 中国农学通报, 2008, 24(1): 325-329.

[9] 杨凤翔, 金 芳, 颜 霞. 不同草莓品种抗寒性综合评价[J]. 果树学报, 2010, 27(3): 368-372.

[10] 陈善娜, 梁 斌, 张蜀君, 等. 云南高原水稻幼苗的抗冷性与其活性氧清除系统的关系[J]. 云南植物研究, 1995, 17(4): 452-458.

[11] 牛锦凤, 王振平, 李 国, 等. 几种方法测定鲜食葡萄枝条抗寒性的比较[J]. 果树学报, 2006, 23(1): 31-34.

[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.

[13] 张 耿, 高洪文, 王 赞, 等. 偃麦草属植物苗期耐盐性指标筛选及综合评价[J]. 草业学报, 2007, 16(4): 55-61.

[14] 常琳琳, 董 静, 钟传飞, 等. 中国育成草莓品种的谱系分析[J]. 果树学报, 2018, 35(2): 158-167.

[15] 雷家军, 代汉萍, 谭昌华, 等. 中国草莓属(*Fragaria*)植物的分类研究[J]. 园艺学报, 2006, 33(1): 1-5.

[16] 侯福林. 植物生理学实验教程(第二版)[M]. 北京: 科学出版社, 2015: 33-34.

[17] 陈建勋. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 117-127.

[18] 魏秀清, 许 玲, 章希娟, 等. 莲雾对低温胁迫的生理响应及抗寒性分析[J]. 果树学报, 2016, 33(1): 73-80.

[19] 张晓旭, 叶景学, 侯 杰, 等. 夜间低温对樱桃番茄叶片氧化活性的影响[J]. 东北农业科学, 2017, 42(2): 39-43.

[20] Smiroff N. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation[J]. New Phytologist, 1993, 125(1): 27-58.

[21] 何西凤, 杨途熙, 魏安智, 等. 自然越冬过程中花椒抗寒性生理指标的变化[J]. 东北林业大学学报, 2009, 37(5): 67-69.

[22] 蒋明义, 郭绍川, 张学明. 氧化胁迫下稻苗体内积累的脯氨酸的抗氧化作用[J]. 植物生理学报, 1997(4): 347-352.

[23] 罗军武, 唐和平, 黄意欢, 等. 茶树不同抗寒性品种间保护酶类活性的差异[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2001, 27(2): 94-96.

(责任编辑:王 昱)