

低温对不同冷敏感型甘蔗品种根系
一些生理指标的影响

李素丽^{1,2}, 李志刚^{1,2}, 杨丽涛^{1,2}, 李杨瑞^{1,2,3}, 林丽吉¹, 何静丹¹

(1 广西大学 农学院, 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 广西 南宁 530005;

2 中国农业科学院 甘蔗研究中心, 广西甘蔗遗传改良重点实验室, 广西 南宁 530007;

3 广西作物遗传改良生物技术重点开放实验室, 广西农业科学院, 广西 南宁 530007)

摘要:为了探明低温对不同冷敏感型甘蔗品种根系一些生理指标的影响,本研究以不同冷敏感型甘蔗桂糖 28 号(抗冷型)和园林 6 号(冷敏感型)为供试材料,研究低温胁迫后根部的根系活力、Ca²⁺-ATP 酶活性、电导率以及丙二醛、脯氨酸含量等生理指标.结果表明:随低温胁迫时间的延长,2 个品种根系活力都呈现下降趋势,桂糖 28 号的根系活力均显著大于园林 6 号;低温胁迫后 2 个品种相对电导率都呈现上升趋势,但桂糖 28 号上升较平缓,而园林 6 号电导率上升速度较快,园林 6 号电导率均大于桂糖 28 号;低温胁迫后 2 个品种丙二醛含量都呈现上升趋势,园林 6 号丙二醛含量显著大于桂糖 28 号;低温胁迫后 2 个品种的脯氨酸含量都呈现上升趋势,桂糖 28 号脯氨酸含量均显著高于园林 6 号;低温胁迫后,桂糖 28 号 Ca²⁺-ATP 酶活性呈先上升再下降趋势,而园林 6 号 Ca²⁺-ATP 酶活性一直呈下降趋势,桂糖 28 号 Ca²⁺-ATP 酶活性均显著高于园林 6 号.可见,在低温胁迫下,具较高的根系活力、Ca²⁺-ATP 酶活性及脯氨酸含量可能是耐冷型甘蔗品种桂糖 28 号具有更强抵御低温胁迫能力的生理基础.

关键词:甘蔗; 根; 低温; 生理指标
中图分类号:Q945.78; S566.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-411X(2012)02-0178-05

Effect of Low Temperature on Some Physiological Indices of Root System
of Different Cold Sensitive Sugarcane Varieties

LI Su-li^{1,2}, LI Zhi-gang^{1,2}, YANG Li-tao^{1,2}, LI Yang-rui^{1,2,3},
LIN Li-ji¹, HE Jing-dan¹

(1 State Key Laboratory of Subtropical Agro-bioresources Conservation and Utilization, Agricultural College, Guangxi University, Nanning 530005, China; 2 Guangxi Key Laboratory of Sugarcane Genetic Improvement, Sugarcane Research Center, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China;

3 Guangxi Crop Genetic Improvements and Biotechnology Laboratory, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China)

Abstract:In order to study the effect of low temperature on some physiologic indices of sugarcane root system, two sugarcane varieties GT28(cold resistant) and YL6(cold sensitive) with 9 to 10 leaves were put into 0 ℃ biotron and the sugarcane root system samples were taken after 0, 2, 4 and 6 d respectively to determine the root activity, conductivity percentage, Ca²⁺-ATPase activity, MDA and proline content. The results were as follows: After low temperature stress, the root activity of two sugarcane varieties decreased with the extension of time, the root activity of GT28 was higher than that of YL6. After low temperature stress, the conductivity percentage of two sugarcane varieties increased with the extension of time, the conductivity percentage of YL6 was higher than that of GT28. Under low temperature stress, the proline content and MDA content of two sugarcane varieties increaed markedly with the extension of

收稿日期:2010-12-01
作者简介:李素丽(1972—),女,讲师,博士研究生;通信作者:杨丽涛(1961—),女,教授,博士,E-mail: liyr@gxu.edu.cn
基金项目:国家科技支撑计划(2007BAD30B00,2008BADB8B00);广西科技攻关重点项目(桂科攻 0782004,桂科能 0815011);广西科学基金(桂科自 0991048)

time, the MDA content of YL6 was higher than that of GT28, and the proline content of GT28 was higher than that of YL6. The Ca^{2+} -ATPase activity of GT28 increased at first, then decreased, and the Ca^{2+} -ATPase activity of YL6 decreased gradually all the time, the Ca^{2+} -ATPase activity of GT28 was higher than that of YL6. It might be concluded that under the similar chilly stress, the chilly resistance cultivar could retain a higher root activity, Ca^{2+} -ATPase activity, and proline content.

Key words: sugarcane; root; low temperature; physiological index

低温是影响植物生长的重要原因之一,低温环境下植物根系活力、膜透性、丙二醛(MDA)、脯氨酸等生理代谢会发生一系列变化^[1-2].不同冷敏感型植物生理功能的变化不一样,如低温胁迫下,甘蔗叶片的电解质外渗量一般较抗寒力弱的品种低^[3-5],抗寒性强的甘蔗品种的脯氨酸含量高于抗寒性弱的品种^[6-7].膜质过氧化的重要产物是丙二醛,黄有总等^[8]发现甘蔗叶片MDA含量的高低可以作为品种抗寒性的指标,低温胁迫下,不耐寒的甘蔗品种MDA含量大于耐寒品种.植物根系对低温的响应比地上部位敏感,低温严重影响根系对物质、水分的吸收及激素的合成^[9].甘蔗是喜温作物,在低温条件下根系受害与否与温度回升后甘蔗恢复正常生长及来年宿根产量有极为密切的关系.目前,低温对甘蔗影响的研究主要集中在地上部分形态观察、生理生态等方面,而甘蔗根系生理指标与甘蔗耐冷性关系的研究鲜见报道.本研究以2个不同冷敏感型甘蔗品种为材料,研究了低温胁迫后甘蔗根系形态和生理变化规律,为甘蔗抗冷研究的深入提供品种和理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料及种植方法

桂糖28号(耐冷型)和园林6号(冷敏感型),由广西甘蔗研究所提供.试验在广西大学农业科学实验实习基地进行.将材料用浅盆进行沙土培盆栽,在盆底中央打洞,每盆种3株,等幼苗长到9~10叶龄,部分幼根伸出底部洞中时,每个品种选长相一致、根系生长良好、易取根部材料的12盆36株植株放入人工气候箱,放置时用硬物垫高花盆底部,保护露出的根系,用湿布垫底部保持根部湿润.低温胁迫条件:温度0℃,相对湿度60%~70%,光照度2500~3000 lx.另外12盆36株放于28℃室内作对照,湿度、光照与人工气候箱一致.每隔0.2、4和6 d把盆放倒切取根系,置于-20℃冰箱保存,用于生理指标测定.

1.2 测定项目及方法

1.2.1 根系活力测定 参照张宪政^[10]的方法,用TTC法(2,3,5-氯化三苯基四氮唑法)测定根系活力:称取洗净根样品0.2 g左右(用吸水纸小心地吸

干数次,勿伤根),放入刻度试管,加入 w 为0.4% TTC溶液和磷酸缓冲液($\text{pH} = 7$)的等量混合液10 mL,把根充分浸没在溶液中,37℃保温1~3 h,其后加入 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸2 mL以停止反应.将根取出,吸干后用5 mL乙酸乙酯研磨.在485 nm下比色,以空白试验(先加硫酸再加根样品,其他操作同上)作参比.以已知浓度的0.2 mL TTC(含TTC $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)标准液制作标准曲线,查标准曲线,计算出四氮唑还原强度.

1.2.2 膜透性的测定 参照《植物生理生化实验原理和技术》^[11],取根系,抹干净后剪成碎片,准确称取1.00 g(3个重复)装入干净的烧杯,加30 mL蒸馏水,然后抽气20 min,静置20 min之后摇匀测其抽气后的电导率.再把所有的烧杯在电炉上煮沸10 min,冷却之后加水至原质量,测定其煮后的电导率,空白为蒸馏水.

$$\text{电解质相对外渗率} = \frac{\text{处理外渗电导率}}{\text{煮沸后电导率}} \times 100\%.$$

1.2.3 丙二醛(MDA)含量测定 参照赵世杰等^[12]方法.取冰箱中保存的新鲜甘蔗根系各0.5 g,放入研钵中加入石英砂和 w 为10%的三氯乙酸2 mL研磨成膏状,然后加 w 为10%的三氯乙酸3 mL继续研磨,4000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心15 min,取3 mL上清液转移至试管加入 w 为0.6%硫代巴比妥酸3 mL,沸水浴15 min,冷却至室温之后在4000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下离心10 min,然后测其 $D_{532 \text{ nm}}$ 、 $D_{600 \text{ nm}}$ 和 $D_{450 \text{ nm}}$.

1.2.4 脯氨酸含量的测定 参照张宪政^[10]方法.取冰箱中保存的新鲜甘蔗根系,剪碎,各称取0.5 g,放入试管中,加入 w 为3%磺基水杨酸5 mL,在沸水浴中提取10 min,取提取液2 mL于试管,加入2 mL冰醋酸和2 mL酸性茚三酮,摇匀后在沸水浴中加热显色60 min左右,取出冷却至室温,加入4 mL甲苯,充分震荡后静置,分层后吸取甲苯层,以甲苯为对照,测 $D_{520 \text{ nm}}$,从曲线中查得脯氨酸质量($\text{m}/\mu\text{g}$).

根据回归方程计算出2 mL测定液中脯氨酸的质量浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),然后计算样品中脯氨酸质量分数.计算公式如下:

$$w(\text{脯氨酸}) = \frac{\frac{5}{2}m}{\text{样品质量} \times 10^6} \times 100\%.$$

1.2.5 Ca^{2+} -ATPase 活性测定 参照 Lin 等^[13]方法.

1.3 数据处理

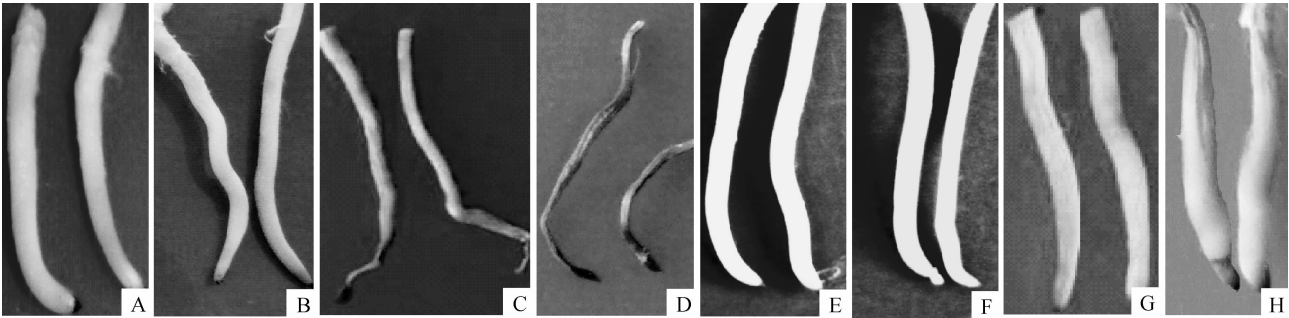
用 Excel 2007 软件进行结果计算,用 DPS 2000 软件进行显著性分析.

2 结果与分析

2.1 低温胁迫前后不同冷敏感型甘蔗品种根尖形态的变化

低温胁迫前园林 6 号、桂糖 28 号根尖外形都有

共同特点:外表乳白鲜亮,各个区域细胞饱满,根冠细胞完好,由于甘蔗根毛较细,肉眼观察不到太明显的根毛(图 1A、1E);低温胁迫 2 d 后,园林 6 号、桂糖 28 号根尖外型与低温胁迫前差异不大,但园林 6 号根毛区开始有轻微的脱水变黄现象(图 1B、1F);低温胁迫 4 d 后,园林 6 号根尖各区严重脱水变黄,而桂糖 28 号根尖依然亮白饱满,可见根冠(图 1C、1G);低温胁迫 6 d 后,园林 6 号根尖严重干瘪褐变,接近死亡边缘,而桂糖 28 号根尖虽开始有脱水变黄现象,但根冠仍可见,分生区饱满(图 1D、1H).



A、B、C、D 分别为园林 6 号低温胁迫 0、2、4、6 d; E、F、G、H 分别为桂糖 28 号低温胁迫 0、2、4、6 d.

图 1 低温胁迫后不同冷敏感型甘蔗品种根尖形态变化图

Fig. 1 Root morphology of two sugarcane varieties under low temperature stress

2.2 低温胁迫前、后不同冷敏感型甘蔗品种根系活力的变化

由图 2A 可以看到,低温处理前,2 个品种的根系活力无太大差异,低温胁迫后,2 个品种根系活力都呈现下降趋势,但不同冷敏感型品种下降的幅度不同.在冷处理各个时期,园林 6 号的根系活力均显著低于桂糖 28 号,下降幅度也均显著大于桂糖 28 号,低温胁迫 6 d 后,桂糖 28 号仍保持较高的根系活力,而园林 6 号已下降至 0.冷处理 6 d 后 2 个品种的根系活力都极显著地低于未处理前.

2.3 低温胁迫前、后不同冷敏感型甘蔗品种根系相对电导率的变化

由图 2B 可以看到,低温处理前,2 个品种的相对电导率差异不显著,低温胁迫后 2 个品种相对电导

率都呈现上升趋势,桂糖 28 号上升较平缓,低温胁迫 2、4 d 时,其电导率和低温处理前差异均不显著,但园林 6 号电导率上升速度较快,低温胁迫 4 d 后有骤然上升的现象,低温胁迫第 6 天时,电导率已经是低温处理前的 3 倍左右.说明园林 6 号根系组织细胞受伤害比桂糖 28 号严重,2 个品种冷处理 6 d 后的相对电导率都极显著地高于未处理前.

2.4 低温胁迫前、后不同冷敏感型甘蔗品种根系丙二醛含量的变化

由图 3A 可以看到,低温处理前,2 个品种的丙二醛含量差异显著,低温胁迫后 2 个品种丙二醛含量都呈现上升趋势,桂糖 28 号上升较平缓,低温胁迫 2 d 时,其丙二醛含量和低温处理前差异均不显著,低温胁迫 6 d 时,丙二醛含量已是低温处理前的 2 倍.园林 6 号丙二醛含量上升速度较快,低温胁迫第 6 天时,丙二醛含量已经是低温处理前的 5 倍左右.

2.5 低温胁迫前、后不同冷敏感型甘蔗品种根系脯氨酸含量的变化

由图 3B 可知,低温处理前,园林 6 号脯氨酸含量低于桂糖 28 号,低温胁迫后 2 个品种的脯氨酸含量都呈现上升趋势,低温胁迫 6 d 后,2 个品种脯氨酸含量均是低温胁迫前的 1.8 倍左右,但无论哪个低温胁迫时期,桂糖 28 号脯氨酸含量均显著高于园林 6 号.

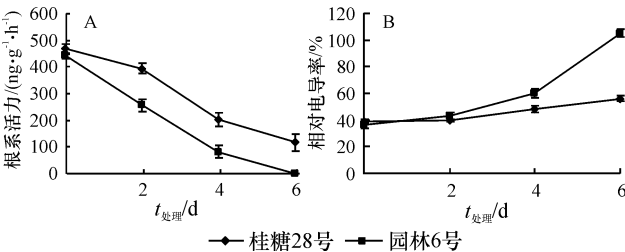


图 2 低温胁迫前、后甘蔗根系活力和相对电导率的变化
Fig. 2 The changes of root activity and relative conductivity of two sugarcane varieties under cold stress

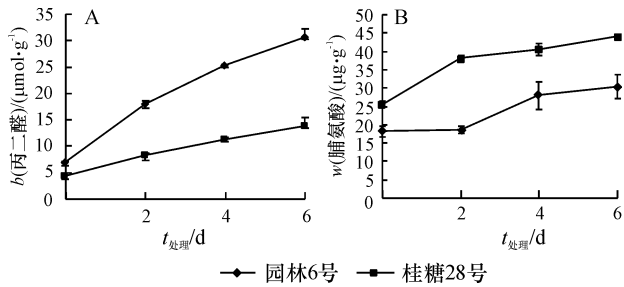
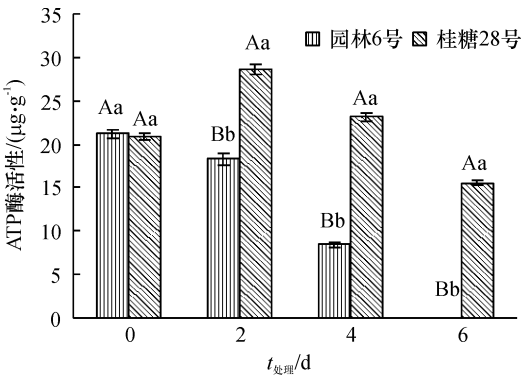


图3 低温胁迫前、后甘蔗根系丙二醛和脯氨酸含量的变化
Fig. 3 The changes of root MAD and proline contents of two sugarcane varieties under cold stress

2.6 低温胁迫前、后不同冷敏感型甘蔗品种根系Ca²⁺-ATP酶活性的变化

低温胁迫前2个甘蔗品种Ca²⁺-ATP酶活性差异不显著,低温胁迫后,桂糖28号Ca²⁺-ATP酶活性呈先上升再下降趋势,低温胁迫2d后,Ca²⁺-ATP酶活性最高,低温胁迫4d后Ca²⁺-ATP酶活性仍比低温胁迫前高10.5%,胁迫6d后Ca²⁺-ATP酶活性有所降低;园林6号的表现与桂糖28号不一样,低温胁迫2d后Ca²⁺-ATP酶活性呈下降趋势,而且降幅很大,当低温胁迫6d后,酶活性测不出. 总之,低温胁迫后各时间段桂糖28号Ca²⁺-ATP酶活性均显著高于园林6号(图4).



同一处理时间柱子上凡是有一个相同大、小写字母者,分别表示在0.01、0.05水平差异不显著(Duncan's法).

图4 低温胁迫前、后不同冷敏感型甘蔗品种根系Ca²⁺-ATP酶活性的变化

Fig. 4 The changes of root Ca²⁺-ATP activity of two sugarcane varieties under cold stress

3 讨论与结论

低温胁迫能诱导细胞发生凋亡,使植物根系生长发育缓慢,甚至死亡,根系细胞的损伤程度与植物抗寒能力关系密切^[14-16]. 本研究发现低温胁迫后,桂糖28号和园林6号根尖颜色发暗、干瘪,根毛脱落,但桂糖28号根尖的损伤程度明显低于园林6号,表明桂糖28号根尖比园林6号耐低温.

低温胁迫使作物的根系活力减弱,降低根系的吸收能力^[17-19]. 本研究表明,随着低温胁迫时间的延长,甘蔗的根系活力呈不断下降的趋势,但耐冷型桂糖28号根系活力下降幅度显著低于冷敏感型园林6号,说明低温造成的根系活力下降可能是不同甘蔗品种在低温下表现不同的抗低温能力的生理基础之一.

MDA是膜脂过氧化的产物,它的含量与膜脂过氧化程度呈正相关^[4]. 经低温胁迫后,2个甘蔗品种根系MDA含量均随低温处理时间的延长而逐步上升,但耐冷型桂糖28号根系MDA升高幅度明显低于冷敏感型园林6号,推测在低温条件下,耐冷型甘蔗品种根系具有较强的抗氧化保护酶系统,能及时清除氧自由基,其膜的损伤率较低.

游离脯氨酸具有维持细胞结构、细胞运输和调节渗透压等作用,在低温胁迫下,脯氨酸含量的增加有利于提高其抗寒性,耐寒性强的品种脯氨酸含量提高的幅度高于耐寒性弱的品种^[20-21],本研究发现,耐冷型桂糖28号根系脯氨酸含量显著高于冷敏感型园林6号,推测在低温胁迫过程中,根系脯氨酸含量的提高可能是甘蔗耐低温的生理学基础之一.

电导率与植物的耐寒力成反比,通过检测低温处理后的植物细胞浸出液的电导率,可以对植物的抗寒能力进行判断,电导率越大,耐寒力越小^[1,2,22]. 本研究表明,甘蔗根系电导率随着低温胁迫时间的延长而升高,但耐冷型桂糖28号根系电导率升高幅度明显低于冷敏感型园林6号,推测耐冷型甘蔗品种具较高的抗氧化酶活性,能够及时清除体内产生的自由基,从而降低MDA的生成,膜结构得以保护,细胞不致受损,电导率维持在较低的水平.

质膜Ca²⁺-ATP酶是Ca²⁺泵的主要组分,是控制胞质内游离Ca²⁺浓度的主要调节者^[23-24]. 在低温环境下不抗寒小麦、水稻、桉树、核桃、茉莉、杜仲等植物细胞的质膜和核膜中Ca²⁺-ATP酶失活,胞质内和核内Ca²⁺的增加不能被泵回胞外或钙库,细胞死亡,而耐冷植物在低温处理时Ca²⁺-ATP酶活性升高,胞质内和核内Ca²⁺的增加能及时被泵回胞外或钙库中,所以细胞的存活率高^[22,25-26]. 本研究表明,耐冷性强的桂糖28号在低温胁迫前后Ca²⁺-ATP酶活性变化不大,一直都维持较高活性,这可能有利于将因低温刺激所升高的过量胞质Ca²⁺及时运到胞外而使胞质Ca²⁺迅速回落到较低水平以保护细胞及植株;而园林6号在低温胁迫后Ca²⁺-ATP酶活性呈下降趋势,随着低温胁迫时间的延长Ca²⁺-ATP酶活性变

弱,不能有效地将因低温刺激所升高的过量胞质 Ca^{2+} 及时运到胞外而导致胞质 Ca^{2+} 中毒,细胞死亡,根系受伤。推测在低温条件下,根系较高的 Ca^{2+} -ATP 酶活性,将有利于维持胞内 Ca^{2+} 稳态平衡,这可能是耐冷型甘蔗品种抗寒性较强的生理学基础之一。

在低温胁迫下,甘蔗根系活力、 Ca^{2+} -ATP 酶活性均有不同程度下降,最终使电导率以及丙二醛、脯氨酸含量提高,这些变化是甘蔗根系对低温适应的一种生理学机制;在低温胁迫过程中,耐冷型甘蔗品种桂糖 28 号具较高的根系活力、脯氨酸含量及 Ca^{2+} -ATP 酶活性,这可能是耐冷型甘蔗品种具有更强抵御低温胁迫的生理基础。

参考文献:

- [1] 艾琳,张萍,胡成志. 低温胁迫对葡萄根系膜系统和可溶性糖及脯氨酸含量的影响[J]. 新疆农业大学学报, 2004, 27(4): 47-50.
- [2] 马艳青,戴雄泽. 低温胁迫对辣椒抗寒性相关生理指标的影响[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版, 2000, 26(6): 461-462.
- [3] 陈能武,杨荣仲,吴才文. 甘蔗品种抗寒性鉴定技术研究[J]. 甘蔗糖业, 1996(4): 1-9.
- [4] 李茂技. 浅谈甘蔗抗寒性及防寒措施[J]. 中国糖料, 1998(2): 42-45.
- [5] 朱秋珍. 甘蔗抗寒性鉴定方法研究[J]. 广西农业科学, 1995(6): 264-265.
- [6] 陈能武. 电导法在甘蔗抗寒性鉴定中的应用[J]. 甘蔗糖业, 1990(6): 14-20.
- [7] 陈香玲. 低温胁迫下甘蔗生理生化变化及基因差异表达研究[D]. 南宁:广西大学, 2010.
- [8] 黄有总,徐建云,陈超君,等. 几个甘蔗新品种的抗旱性和抗寒性比较研究[J]. 广西农业科学, 2002(2): 103-104.
- [9] 肖桂芝,马晓明,莫冀香. 不同低温对大蒜根尖分生区细胞的同步化作用[J]. 承德医学院学报, 1995, 2(12): 107-110.
- [10] 张宪政. 作物生理研究法[M]. 北京:中国农业出版社, 1992: 142, 205.
- [11] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2006: 282.
- [12] 赵世杰,许长成. 植物组织中丙二醛测定方法的改进[J]. 植物生理学通讯, 1994(3): 207-210.
- [13] LIN T L, MORALES M F. Application of a one-step procedure for measuring inorganic phosphate in the presence of protein: The actomyosin ATPase system[J]. Anal Biochem, 1977(77): 10-17.
- [14] KOUKALOVÁ B, KOVARÍK A, FAJKUS J, et al. Chromatin fragmentation associated with apoptotic changes in tobacco cells exposed to cold stress[J]. FEBS Letts, 1997, 414: 289-292.
- [15] 龚明,刘友良,贺子义,等. 植物 Na^{+} - K^{+} -ATP 酶的组织 and 细胞定位[J]. 上海农业学报, 1988, 4(1): 47-54.
- [16] 任旭琴,缪旻珉,陈晓明,等. 低温逆境下辣椒根系生长及生理特性的响应[J]. 中国蔬菜, 2007(3): 12-14.
- [17] 和红云,薛琳,田丽萍,等. 低温胁迫对甜瓜幼苗叶绿素含量及荧光参数的影响[J]. 北方园艺, 2008(4): 13-16.
- [18] 韩悟祖,陈修斌,杨彬,等. 低温逆境下温室茄子专用品种的筛选[J]. 北方园艺, 2009(3): 141-143.
- [19] 周晓丽,张荣,王泽. 低温弱光胁迫对西葫芦幼苗生长及生理特性的影响[J]. 甘肃农业科技, 2009(3): 14-16.
- [20] 王荣富. 植物抗寒指标的种类及其应用[J]. 植物生理学通讯, 1987(3): 49-55.
- [21] 周玉萍,王正询,田长恩. 多胺与香蕉抗寒性的关系的研究[J]. 广西植物, 2007, 23(4): 352-356.
- [22] 刘建. 两种桉树对低温胁迫的响应机制研究[D]. 南京:南京林业大学, 2008.
- [23] BUSH D S. Calcium regulation in plant cells and its role in signaling[J]. Annu Rev Plant Physiol and Plant Mol Biol, 1995, 46: 95-122.
- [24] JIAN L C, LI J H, CHEN W P, et al. Cytochemical localization of calcium and Ca^{2+} -ATPase activity in plant cells under chilling stress: A comparative study between the chilling-sensitive maize and the chilling-insensitive winter wheat[J]. Plant Cell Physiol, 1999, 40(10): 1061-1071.
- [25] 陈由强,叶冰莹,高一平,等. 低温胁迫下枇杷幼叶细胞内 Ca^{2+} 水平及细胞超微结构变化的研究[J]. 武汉植物学研究, 2000, 18(2): 138-142.
- [26] 田景花. 核桃低温胁迫下的生理反应及系统的适应性变化[D]. 保定:河北农业大学, 2008.

【责任编辑 周志红】