

外施脱落酸对低温胁迫下山茶花生理生化指标的影响

章锦涛¹, 王 华¹, 王 松¹, 江文渊¹, 谢宏斌², 王冬良^{1*}

(1. 安徽农业大学园艺学院, 合肥 230036; 2. 安徽无为县鼎兴园艺责任有限公司, 芜湖 238300)

摘 要: 为了探索外施不同浓度的脱落酸对山茶花抗寒性的影响, 以抗寒山茶花品种为材料, 对其叶面分别喷施 3 种浓度(5、10 和 20 mg·L⁻¹)的脱落酸, 然后放在 -5℃低温处理 24 h 后, 研究脱落酸对山茶花叶片的生理生化指标的影响。结果表明, 脱落酸可使抗寒山茶花叶片电导率降低, 提高山茶花对低温的适应能力; 当 ABA 浓度为 10 mg·L⁻¹ 时, 抗寒山茶花叶片的电导率、MDA 含量为最低, 同时其叶片的 SOD 活性、游离脯氨酸以及可溶性蛋白含量为最高。

关键词: 山茶; 低温胁迫; ABA; 生理指标

中图分类号: S685.14

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2017)01-0142-04

The effect of exogenous abscisic acid on physiological and biochemical indexes of *Camellia* leaves under chilling stress

ZHANG Jintao¹, WANG Hua¹, WANG Song¹, JIANG Wenyuan¹, XIE Hongbin², WANG Dongliang¹

(1. School of Horticulture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;

2. Dingxing Horticulture Co., Ltd. of Wuwei County, Anhui Province, Wuhu 238300)

Abstract: In order to study the effect of ABA on the physiological and biochemical indexes of *Camellia* leaves, different concentrations of exogenous ABA (5, 10 and 20 mg·L⁻¹) were sprayed on the cold-resistant *Camellia* leaves and then placed the leaves at -5℃ for 24 h. The results showed that ABA decreased the electrical conductivity of the cold-resistant *Camellia* leaves and improved the adaptability to low temperature. When the cold resistant *Camellia* leaves were treated with 10 mg·L⁻¹ ABA, the electrical conductivity and MDA content were the lowest and the SOD activity, free proline and soluble protein content were the highest.

Key words: *Camellia*; chilling stress; ABA; physiological indicators

山茶花是我国十大传统名花之一, 也是世界名花之一。其叶色浓绿, 常年不凋, 花型花色繁多, 经济价值高, 应用范围广泛, 但大多山茶花在我国北方地区不能安全越冬^[1]。因此如何提高茶花的抗寒性便具有很大的实际意义。

提高植物抗寒性的方法主要分为两类, 一类是基因工程改良植物抗寒性, 研究发现, 抗寒锻炼/冷锻炼能诱导和增强植物的一些基因的表达, 使多种基因表达发生改变。目前, 有关导入抗寒调控基因的研究主要围绕与抵抗寒冻所导致的渗透胁迫相关的低温诱导基因转录因子 *DREB* 展开^[2], 另一类是通过农林技术提高植物抗寒性, 农林技术对提高植物抗寒性有重大实用价值。迄今, 针对植物抗寒

性弱或导致寒冻灾害发生的原因, 相关国家和地区基本上都进行了不同程度和范围的试验研究, 初步探索出有一定成效的抗寒技术路线或方法体系, 主要有抗寒育种、抗砧嫁接、抗寒锻炼、水肥耦合及化学诱导五大技术^[3]。化学诱导增强植物抗寒性的作用机理主要是: 促进 ABA 生物合成, 诱导活性氧清除功能增强, 利于糖类、可溶性蛋白等渗透物质的积累, 调节植物生长发育^[4]。ABA 在逆境胁迫下作为一种信号传导物质协调植物体内的一系列生理反应, 外界条件包括干旱、寒冷和盐渍等环境干扰都能使植物体内脱落酸含量迅速增加, 从而提高植物的抗逆性^[4]。外源脱落酸 (ABA) 能够提高植物的抗逆性, 有研究表明, ABA 通过调节植物体内

收稿日期: 2016-05-26

基金项目: 芜湖市科技计划项目 (2014hm03) 资助。

作者简介: 章锦涛, 硕士研究生。E-mail: 1553224394@qq.com

* 通信作者: 王冬良, 副教授。E-mail: wangdongliang@ahau.edu.cn

抗氧化酶系统和渗透调节物质的含量, 提高辣椒、茄子、番茄、黄瓜、小麦和甘蔗等作物的抗冷性^[5]。ABA 还能通过调节气孔关闭, 调整保卫细胞离子通道, 降低调素蛋白的转录水平, 改变其亚细胞分布, 诱导 ABA 反应途径, 从而改变相关抗寒基因的表达^[6]。但是 ABA 在提高茶花抗寒性方面的研究还鲜有报道, 因此, 研究外源脱落酸对低温条件下茶花叶片生理生化指标的影响, 可为寒冷地区露地栽培茶花提供一定的理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

试材来源于安徽农业大学园艺学院试验基地安徽无为县鼎兴园艺责任有限公司苗圃地, 树龄 3~4 a, 株高 50~60 cm, 当地能够室外越冬长势良好的茶花。选用耐寒性不同的 3 个茶花品种: 逸香茶花 (*C.sinensis*)、克里木茶花 (*C.crimea*) 以及六角大红茶花 (*C.japonica*) 品种。

1.2 试验处理

利用脱落酸对供试的茶花品种进行灌根处理, 浓度分别为 5、10 和 20 mg·L⁻¹, 以清水灌根为对照, 每个处理 3 次重复, 每 12 株为一处理, 每 7 d 喷施一次, 共喷施 4 次。

然后将喷施过 ABA 的茶花材料转入人工光照培养箱里进行低温处理, 光照强度 4 000 lx, 温度为 -5℃, 培养 24 h 后, 取茎尖向下第 3~6 片长势良好的叶片待测。

1.3 测定方法

相对电导率测定电导率采用电导法, 丙二醛 (MDA) 含量采用硫代巴比妥酸法, SOD 活性采用氮蓝四唑法, 可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 法, 游离脯氨酸含量采用茚三酮比色法进行测定^[7-9]。

1.4 数据处理

用 Excel2010 软件进行作图, 用 SPSS17.0 统计软件进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 外源脱落酸 (ABA) 对低温下茶花叶片相对电导率的影响

喷施不同浓度 ABA, 研究茶花低温胁迫下叶片电导率变化。结果发现, 脱落酸处理后测得的电导率均低于对照, 茶花品种在喷施 3 种不同浓度的脱落酸, 均明显降低了低温对其叶片造成的伤害 (图 1)。喷施浓度为 10 mg·L⁻¹ 左右的 ABA, 茶花叶片

的电导率为最低, 逸香、克里木和六角大红电导率分别降低 49.8%、44.7%和 45.7%。不同浓度处理后的茶花叶片电导率之间具有明显的相关性 ($P < 0.05$); 在相同浓度脱落酸的处理下, 克里木和六角大红电导率之间的相关性不显著 ($P > 0.05$), 但是逸香与克里木以及逸香与六角大红电导率之间具有明显的相关性 ($P < 0.05$)。

综合分析, 当温度降至 -5℃时, 3 种茶花品种叶片的电导率随着 ABA 喷施浓度增大呈先降低后上升的趋势, 因此其细胞膜透性随 ABA 喷施浓度的不断增大也是先降低后缓慢上升, 但是在相同浓度的 ABA 处理条件下, 六角大红以及克里木的电导率的始终大于逸香的电导率。从低温处理 24 h 后测得的茶花叶片电导率可知, ABA 作为触发植物对低温环境的信号传导物质, 参与了植物对低温胁迫的调控, 同时启动了抗寒机制, 明显提高了茶花植株的抗寒能力。

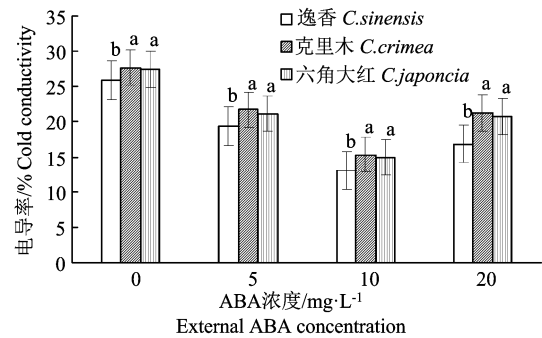


图 1 外施不同浓度 ABA 低温胁迫下茶花叶片电导率变化
Figure 1 Effects of exogenous abscisic acid on the cold conductivity of *Camellia* leaves under chilling stress

2.2 外源脱落酸 (ABA) 对低温下茶花叶片 MDA 含量的影响

当 ABA 浓度为 10 mg·L⁻¹ 时, 茶花品种的 MDA 含量 (鲜重) 最低, 分别为 5.68、6.39 和 6.51 μmol·g⁻¹, 比对照低 35.0%、33.0% 以及 32.0% (图 2), 这也与茶花叶片的电导率变化相对应的; 当 ABA 浓度为 5 mg·L⁻¹ 时, 3 种抗寒茶花含量 (鲜重) 分别为 6.64、7.73 和 8.13 μmol·g⁻¹, 比喷清水低 24.0%、19.0% 以及 15.0%, 当 ABA 浓度为 20 mg·L⁻¹ 时, 茶花叶片的 MDA 含量最接近喷施清水时, 但还是略低于对照组。在对茶花叶片丙二醛含量测定的结果进行相关数据分析之后, 发现不同浓度 ABA 处理后茶花叶片的 MDA 含量之间具有很明显的相关性 ($P < 0.05$), 同时在相同浓度 ABA 下的不同茶花品种之间也具有明显的相关性 ($P < 0.05$), 可见低温处理下不同品种

的茶花叶片 MDA 含量不同,同时低温处理下不同浓度 ABA 处理后的 MDA 含量不同。MDA 作为膜酯过氧化产物与植物的抗寒性有很大的相关性。研究表明,随着 ABA 喷施浓度的增加,MDA 含量呈现先降低然后升高的趋势,这与茶花叶片电导率的变化规律一致。

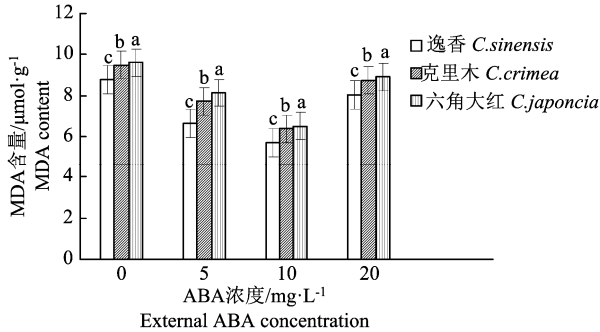


图 2 外施不同浓度 ABA 低温胁迫下茶花叶片 MDA 含量
Figure 2 Effects of exogenous abscisic acid on the MDA content in *Camellia* leaves under chilling stress

综合分析外施不同浓度 ABA 低温处理 24 h, 茶花叶片 MDA 含量测定结果可以发现,逸香的 MDA 含量明显低于克里木和六角大红,且喷施 10 mg·L⁻¹ 的 ABA 时茶花叶片的 MDA 含量最低,说明此浓度能更有效地消除低温产生的膜脂过氧化产物 MDA,为该 3 种茶花抗寒的最适浓度。

2.3 外源脱落酸 (ABA) 对低温下茶花叶片 SOD 活性的影响

喷施不同浓度的 ABA 后经低温处理的茶花叶片 SOD 活性随着外源 ABA 浓度的增加呈现先上升后下降的趋势,峰值依旧出现在喷施 10 mg·L⁻¹ 的 ABA 时,其 SOD 活性分别为 89.28、86.87 和 85.27 U·min⁻¹·g⁻¹ (鲜重),比对照提高 4%、4%和 6%;当喷施的 ABA 浓度为 20 mg·L⁻¹ 左右时,其叶片的 SOD 活性在各个 ABA 处理中是最低的 (图 3)。

综合分析相同浓度的 ABA 处理下,逸香的 SOD 酶活性始终高于克里木以及六角大红。无论是不同茶花品种之间还是不同浓度的 ABA 处理后 SOD 酶活性均具有明显的相关性 ($P < 0.05$)。总之,喷施不同浓度的脱落酸后进行低温处理,茶花内 SOD 活性均有所增加,只是增加的幅度不一样。

2.4 外源脱落酸 (ABA) 对低温下茶花叶片可溶性蛋白含量的影响

与对照组相比,喷施不同浓度的 ABA 后经低温处理 24 h 的 3 份茶花叶片中的可溶性蛋白含量显著增加 ($P < 0.05$);同时茶花叶片的可溶性蛋白的

含量与品种也有很大的相关性 ($P < 0.05$)。通过对供试茶花的 3 个不同浓度的 ABA 处理发现,随着 ABA 浓度的增大,3 份茶花叶片的可溶性蛋白含量均呈现先升高后降低的趋势,峰值均出现在 10 mg·L⁻¹,其值分别为 9.56、8.73 和 9.03 mg·g⁻¹,与对照相比分别提高 4.7%、3.3%及 3.4%;喷施 20 mg·L⁻¹ 的 ABA 时茶花叶片的可溶性蛋白含量接近对照组 (图 4)。

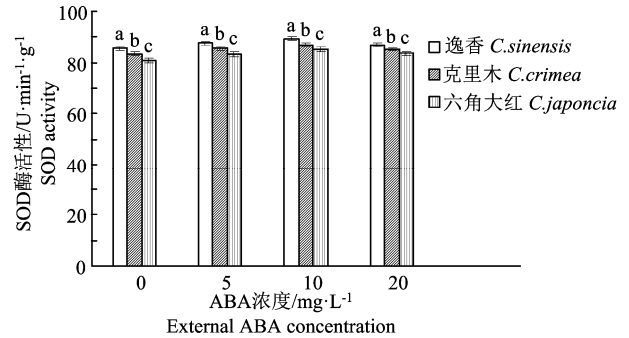


图 3 外施不同浓度 ABA 低温胁迫下茶花叶片 SOD 活性变化
Figure 3 Effects of exogenous abscisic acid on the SOD activity in *Camellia* leaves under chilling stress

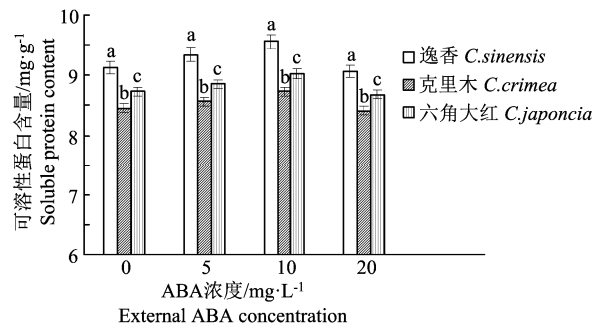


图 4 外施不同浓度 ABA 低温胁迫下茶花叶片可溶性蛋白含量
Figure 4 Effects of exogenous abscisic acid on the soluble protein content in *Camellia* leaves under chilling stress

综合分析发现,逸香叶片的可溶性蛋白的含量明显高于克里木以及六角大红,六角大红的可溶性蛋白含量略高于克里木,喷施一定浓度的脱落酸可使低温处理的茶花可溶性蛋白含量显著增加。

2.5 外源脱落酸 (ABA) 对低温下茶花叶片游离脯氨酸含量的影响

低温 (-5℃) 低温处理 24 h, 茶花叶片的脯氨酸含量随着外源 ABA 浓度的增加呈现先上升后下降的趋势,其变化规律与测得的其他生理指标一致,峰值同样出现在 10 mg·L⁻¹ 的 ABA 时 (图 5)。喷施不同浓度的脱落酸后进行低温处理,逸香体内脯氨酸含量增加的量远大于六角大红以及克里木,不同

茶花叶片的脯氨酸含量显著增加, 但是增加的幅度是不一样的, 这也可能是不同茶花品种抗寒性不一样的原因。相同浓度 ABA 处理下克里木和六角大红之间的游离脯氨酸含量的差异性并不显著 ($P > 0.05$), 但是逸香和克里木之间以及逸香和六角大红之间脯氨酸含量具有很大的差异性 ($P < 0.05$)。

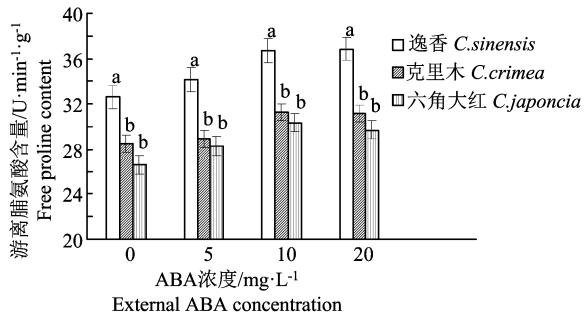


图 5 外施不同浓度 ABA 低温胁迫下茶花叶片游离脯氨酸含量

Figure 5 Effects of exogenous abscisic acid on the free proline content in *Camellia* leaves under chilling stress

3 讨论与结论

ABA 作为触发植物对低温环境的信号传导物质, 参与了植物对低温胁迫的调控, 同时启动了抗寒机制^[10]。研究表明 ABA 可以调节渗透保护性物质, 从而增强植物的渗透调节能力^[11]。有研究表明, 低温下外源 ABA 对西瓜幼苗和香樟树细胞膜透性随着浓度的增大表现出先降低后升高的趋势^[12-13]。

本研究在入冬前对 3 种茶花同时喷施不同浓度的 ABA, 发现在低温条件下 3 种茶花品种的细胞膜透性呈现相同的规律。随着 ABA 喷施浓度的增加, MDA 含量呈现先降低然后升高的趋势, 茶花叶片 SOD 活性有所增加, 茶花叶片可溶性蛋白含量以及游离脯氨酸的含量显著增加。

研究表明, 当喷施 ABA 浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 抗寒茶花叶片电导率、MDA 含量为最低, SOD 酶活性、游离脯氨酸含量以及可溶性蛋白含量最高。以此大致可以说明在低温 (-5°C) 的条件下, 逸香、克里木以及六角大红抗寒的喷施 ABA 最适浓度在 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 并且可以得出逸香的抗寒性高于六角大红以及克里木的茶花品种。当外源 ABA 浓度为 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右时, 茶花叶片的电导率、MDA 含量有所升高, 且 SOD 酶活性、可溶性蛋白以及脯氨酸含量有所降低。可能是因为低温条件下, 抗寒性强的茶花植物体内 ABA 含量始终高于抗寒性弱的品种, 而外源的脱落酸促进内源 ABA 对逆境信号产生响应, 浓度太高的外源脱落酸反而抑制了 ABA 含量

低的响应^[14-15]。

经过方差分析表明, 无论是哪种茶花品种, 外施不同浓度的 ABA 各生理指标均具有显著的差异性, 也就是说低温胁迫下茶花的生理生化指标与外施脱落酸的浓度有很大的相关性; 同时在相同浓度的 ABA 处理下, 茶花叶片的 MDA 含量、SOD 活性以及可溶性蛋白含量与其茶花品种具有很大的相关性, 但是茶花叶片的电导率以及游离脯氨酸的含量在六角大红和克里木之间却并没有表现出明显的差异性。

参考文献:

- [1] 王兴, 于晶, 杨阳, 等. 低温条件下不同抗寒性冬小麦内源激素的变化[J]. 麦类作物学报, 2009, 29(5): 827-831.
- [2] SAVITCH L V, ALLARD G, SEKI M, et al. The effect of overexpression of two Brassica CBF/DREB1-like transcription factors on photosynthetic capacity and freezing tolerance in Brassica napus[J]. Plant Cell Physiol, 2005, 46(9): 1525-1539.
- [3] 徐呈祥. 提高植物抗寒性的机理研究进展[J]. 生态学报, 2012, 32(24): 7966-7980.
- [4] XIONG L, SCHUMAKER K S, ZHU J K. Cell signaling during cold, drought, and salt stress[J]. Plant Cell, 2002, 14(suppl 1): S165-S183.
- [5] 徐珊珊, 史星雲, 李强. 外源 ABA 对辣椒幼苗抗冷性的影响[J]. 长江蔬菜, 2015 (24): 55-58.
- [6] FINKELSTEIN R R, GAMPALA S S L, ROCK C D. Abscisic acid signaling in seeds and seedlings[J]. Plant Cell, 2002, 14(suppl 1): S15-S45.
- [7] 孙宗玖, 阿不来提·齐曼, 李培英, 等. 冷害胁迫下 3 个狗牙根品种抗寒性比较研究[J]. 草业科学, 2004, 21(1): 39-42.
- [8] 邹琦. 植物生理生化实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [9] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [10] 童超. ABA 生理功能与信号转导相关综述[J]. 科技资讯, 2008(10): 44-45.
- [11] 吴锡冬, 李子芳, 张乃华, 等. 外源脱落酸对盐胁迫玉米激发能分配和渗透调节的影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(2): 312-316.
- [12] 蒲高斌, 张凯, 张陆阳, 等. 外源 ABA 对西瓜幼苗抗冷性和某些生理指标的影响[J]. 西北农业学报, 2011, 20(1): 133-136.
- [13] 尤扬, 袁志良, 张晓云, 等. 叶面喷施 ABA 对香樟幼树抗寒性的影响[J]. 河南科学, 2008, 26(11): 1351-1354.
- [14] 罗立津, 徐福乐, 翁华钦, 等. 脱落酸对甜椒幼苗抗寒性的诱导效应及其机理研究[J]. 西北植物学报, 2011, 31(1): 94-100.
- [15] 曲凌慧, 车永梅, 刘新, 等. ABA 和 JA 等激素参与葡萄对低温胁迫的应答[J]. 青岛农业大学学报 (自然科学版), 2010, 27(1): 36-41.