

白菜型冬油菜生理生化指标与抗寒特性

赵彩霞*

(西藏自治区农牧科学院农业研究所·西藏拉萨·850000)

摘要:本文通过测定四个不同白菜型冬油菜品种叶绿素含量、气孔特性、叶片结构、过氧化物歧化酶(SOD)活性等一些生理生化指标,研究不同抗寒品种与这些生理生化特性的关系,并从中挑选出能够作为冬油菜抗寒品种的鉴定依据。结果表明:叶绿素含量的大小只能作为不同品种光合速率大小划分依据;SOD活性、气孔密度、单位面积气孔总长度、叶片组织结构的栅/海比和SR可作为油菜抗寒性鉴定指标,并且抗寒性较强的品种,气孔密度、单位面积气孔总长度较小,栅/海比值较小,SR较大。

关键词:冬油菜 生理生化指标 抗寒性

Physiological and Biochemical Indexes and Cold Resistance of Winter Rapeseed

Zhao Cai-xia*

(Agricultural Research Institute, TAAAS, Lhasa, China 850000)

Abstract: By measuring chlorophyll content, stomatal characteristics, leaf structure, super -oxide dismutase (SOD) activity of winter rapeseed to research the relations with different cul -tivars, and picking out them can be used as identification basis of the cold winter rape varieties. The results showed that the size of the chlorophyll content can be only as the divided size of different species of photosynthetic rate; SOD activity, stomatal density, the total length of stomata per unit area, the gate leaf / sea ratio of the organizational structure and SR can be as identification of rapeseed cold resistance. And cold and strong varieties showed smaller stomatal density, total length of stomata per unit area and the gate / sea ratio, and larger SR.

Keywords: Winter rapeseed; Physiological and biochemical indices; Cold resistance

抗寒性是植物长期在低温寒冷环境下通过自身的遗传变异和自然选择获得的一种能力。一直以来植物的冻害问题在国内外深受众多专家学者的关注。近几年,前人已在抗寒机制、抗寒性鉴定、抗寒生理、抗寒性遗传育种及抗寒资源评价等方面做了很多研究,并取得了巨大的成功。西藏冬油菜主要种植于较低海拔地区,油菜冻害、死苗严重且保苗率低,产量较不稳定,在冬末春初,气温回升时,土壤解冻,油菜抗冻性逐渐减弱时,若遇到春雪或春寒的侵袭,处于恢复状态的油菜则会受到严重冻害,特别是蕾薹期损失更大。在这种自然条件下,改进栽培措施和实行有效防控对防治寒害虽有一定效果,但不能从本质上解决寒害问题。引进和培育抗寒性强的冬油菜品种是抵御寒害以及稳产、高产的有效途径,因此鉴定冬油菜品种的抗寒性指标具有重要的现实意义,不仅为冬油菜

抗寒育种提供基础材料和理论依据,而且为扩大冬油菜种植面积提供一定的品种资源。

植物的抗寒性不仅与外界环境条件有关,还取决于内部形态结构特征和生理生化特性的表现。叶片栅栏组织细胞的大小、细胞的层数与植物抗寒性有关。黄义鸿等研究结果显示叶片组织结构紧密度可以作为不同种类植物抗寒性的鉴定指标。低温可以直接或间接的影响植物体内酶活性,利用酶活性作为植物抗寒性鉴定指标推测出植物在低温条件下代谢动能的变化情况,探知植物抗寒性的一些实质问题(Bolduce, 1980)。本试验通过测定不同白菜型冬油菜品种叶片特性和生理生化指标的大小,研究其与抗寒性的关系,并从中找到与抗寒性相关的一些指标,为抗寒育种提供一定的理论基础。

1 材料与方法

* 作者简介:赵彩霞(1987-),女,助理研究员。主要从事油菜栽培与育种。Email:zhcx3694@163.com

项目基金:国家农业产业技术体系(CARS-13)

1.1 试验材料及测量指标

试验材料由甘肃农业大学提供,为抗寒性较强的白菜型冬油菜品种陇油6号、陇油7号,抗寒性较弱的品种天油2号和天油4号,在西藏区农业所基地进行种植。测量指标:叶绿素含量、超氧化物歧化酶冬前5叶期和冬后5叶期各取样测量一次;叶片气孔特性和叶面积结构特性在冬后5叶期取样测量一次,试验设三次重复。

1.2 试验方法

1.2.1 叶绿素含量的测定

用丙酮法计算叶绿素的含量^[1],用80%丙酮:95%乙醇=2:1的混合液浸泡提取叶绿素;用756PC型紫外可见分光光度计,分别测定663nm和645nm处吸光度;叶绿素的总含量(mg/g)=[8.02A₆₆₃+20.2A₆₄₅]×提取液的体积/(1000×叶片鲜重)。

1.2.2 超氧化物歧化酶(SOD)的测定

超氧化物歧化酶活性的测定参照邹奇主编的《植物生理学实验指导》,采用核黄素NBT法^[2]。

1.2.3 叶片气孔特性的测定

随机选取健康植株顶端完整的叶片,清水冲洗干净,在叶片主脉两侧用镊子撕取下表皮,放在

滴有1%I-IK的载玻片上,盖上盖玻片压片,在显微镜下观察拍照。每个品种制片30张,用Motic Images Advanced图象分析处理器测定单位面积的气孔数、气孔器、气孔裂隙纵径和横径,并计算气孔裂隙的面积和气孔器的面积^[3]。

气孔面积=0.25×3.14×气孔器长×气孔器宽;气孔裂隙面积=0.25×3.14×气孔裂隙长×气孔裂隙宽;单位面积气孔总长度/um=气孔长度×气孔密度;气孔密度=一个图片上气孔总个数/图片面积。

1.2.4 叶片结构的测定

叶片结构剪取叶片中部叶脉两侧大约0.5 cm×0.5 cm的小块,FAA固定,常规石蜡切片法切片^[4],厚度为8-10μm,番红和固绿对染,在显微镜下观察并照相;然后测量上表皮厚和下表皮厚、栅栏组织厚度、海绵组织厚度、叶片厚度。并分别计算叶片组织细胞结构疏松度(SR)和栅栏组织与海绵组织的比例。

叶片组织细胞结构疏松度(SR)%=海绵组织厚度/叶片厚度×100;栅/海=栅栏组织厚度/海绵组织厚度。

2 结果与分析

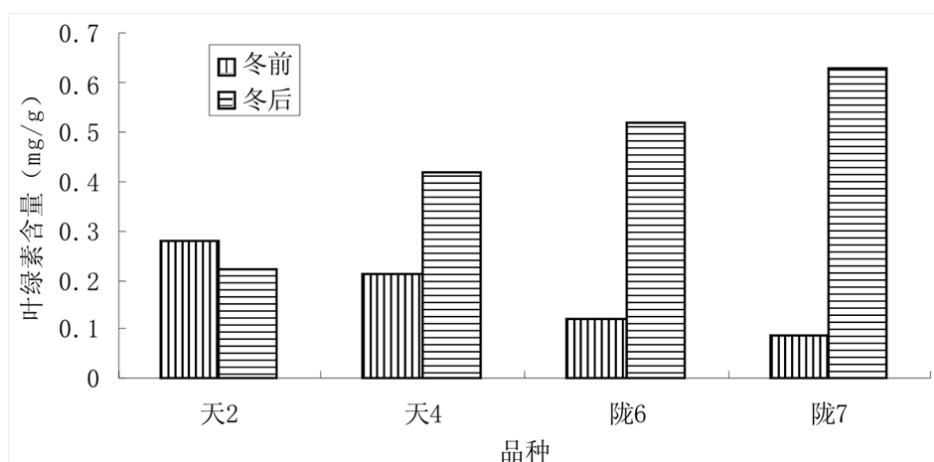


图1 不同品种在不同时期叶绿素含量的变化

2.1 不同时期不同品种油菜叶片叶绿素含量的比较

叶片中叶绿素的含量在一定程度上反映叶片的光合能力^[5],大部份品种冬前叶绿素含量低于冬后叶绿素含量,与天2、天4相比,陇6、陇7的叶绿素含量明显下降,这可能是随着越冬期的到来,抗寒性较强的品种较早的进入枯叶期,减少光和消耗,储存能量和物质,有益于越冬,这与大田里

出现落黄现象相一致。冬后叶绿素含量逐渐上升,陇6、陇7的叶绿素含量明显高于天2、天4,叶绿素含量的大小可以作为品种光合速率强弱的标志,与不同品种的抗寒性并无显著关系。(图1)

2.2 超氧化物歧化酶(SOD)的活性

超氧化物歧化酶是细胞膜的保护酶,活性越高,消除氧自由基的能力越强,植物的抗逆性越强

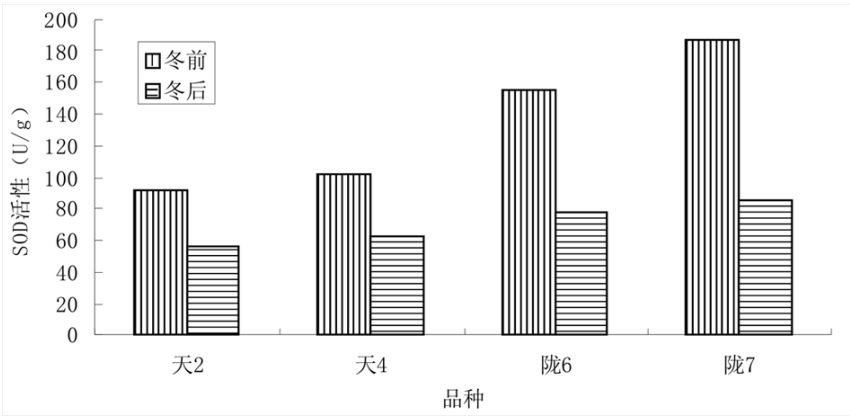


图 2 不同品种在不同时期 SOD 活性的变化

[6-7]。4 个品种冬前的 SOD 活性明显的高于冬后的，并且抗寒性较强的品种陇 6、陇 7 的 SOD 活性明显高于抗寒性较弱的品种天 2、天 4，冬后的变化类似于冬前的，由于气温上升，品种间的差异不显著，这与朱惠霞、孙万仓^[8]等人在油菜品种抗寒性指标的研究结果相一致。可见，SOD 作为防御细胞膜系统受活性氧伤害的保护酶之一，与品种的抗寒性密切相关，SOD 酶活性的高低能够反映了品种抗寒性的强弱(图 2)。

2.3 叶片气孔形态分析

叶片的气孔性状随植株发育而变化，不同生育期内叶片气孔大小和密度均不同，幼嫩的叶片具有较高的气孔密度和气孔指数，在植株发育过程中，叶片的叶面积变化明显，与气孔密度显著负

相关。本文研究发现，气孔在叶片的下表皮基本分布均匀，气孔呈卵圆形，2 个保卫细胞，对称排列，呈肾形，气孔大小和排列方式基本稳定；从表中分析得出叶片气孔器长宽、气孔面积、裂隙面积的无显著规律，叶片气孔密度、单位面积气孔数表现出一定的规律性。气孔密度，陇 6、陇 7 分别为 524.76 个/mm²、484.39 个/mm²，天 2、天 4 分别为 620.82 个/mm²、533.41 个/mm²，抗寒性较强的品种陇 6、陇 7 气孔密度明显少于抗寒性较弱的品种天 2、天 4 的气孔密度，单位面积气孔总长度变化规律类似于气孔密度，以上两个指标可以作为抗寒性划分的依据。(表 1)

3 讨论与结论

3.1 结论

| 品种 | 气孔器长 (um) | 气孔器宽 (um) | 气孔面积 (um ²) | 裂隙面积 (um ²) | 气孔密度 (个/mm ²) | 单位面积 气孔总长 度 (um) |
|--------|--------------|--------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|------------------------|
| 天油 2 号 | 9.86 | 4.97 | 132.20 | 38.19 | 620.82 | 6121.3 |
| 天油 4 号 | 9.85 | 4.90 | 153.15 | 38.79 | 533.41 | 5854.1 |
| 陇油 6 号 | 8.76 | 4.06 | 124.99 | 32.21 | 504.76 | 4596.9 |
| 陇油 7 号 | 7.90 | 5.19 | 137.11 | 40.31 | 484.39 | 3826.7 |

表 1 叶片气孔形态分析

2.4 叶片结构分析

石蜡切片观察发现：白菜型冬油菜不同品种

的横切面基本结构是一致的，由上表皮细胞、栅栏组织、海绵组织和下表皮细胞组成。上下表皮均有

单层细胞构成,上表皮细胞一层,排列紧密,大多为长方形,厚度为 32.51um~41.87um;下表皮细胞一层,长方形或者方形,厚度为 27.44um~32.33 um;叶肉组织中的栅栏组织由多层细胞组成,排列紧密,多为长方形,约占叶肉组织的 2/3~1/2,厚度为 333.33um~581.29um;海绵组织细胞较大,排列疏松,细胞间隙较大,约占叶肉的 1/3~1/2,厚度为 208.90um~319.09um。不同品种的叶片厚、上下表皮厚、海绵组织厚、栅栏组织厚差异明显,无明显

规律,不宜作为油菜抗寒性鉴定指标(表 2)。
栅/海与叶片组织细胞结构疏松度(SR)的数据表现出明显的规律,栅/海:天 4>天 2>陇 6>陇 7;SR 值:天 4<天 2<陇 6<陇 7,抗寒性较强陇 6、陇 7 的栅/海比值低于抗寒性较弱的天 4、天 2,而 SR 的表现刚好与此相反。因此可判断出叶片的栅/海和 SR 可作为油菜抗寒性鉴定指标之一,并且栅/海比值越小,SR 越大,品种的抗寒性越强(表 2)。

| 品种 | 叶片厚 | 上表皮厚 | 下表皮厚 | 栅栏组织厚 | 海绵组织厚 | 栅/海 | SR/% |
|--------|--------|-------|-------|--------|--------|------|-------|
| 天油 2 号 | 992.59 | 36.73 | 32.33 | 581.29 | 319.09 | 1.80 | 33.34 |
| 天油 4 号 | 803.80 | 41.87 | 30.04 | 488.77 | 250.31 | 1.60 | 33.86 |
| 陇油 6 号 | 906.74 | 39.61 | 29.58 | 543.53 | 302.34 | 1.82 | 32.15 |
| 陇油 7 号 | 616.95 | 32.51 | 27.44 | 333.33 | 208.90 | 1.95 | 31.14 |

表 2 不同品种叶面结构特性(单位:um)

从大田生产可知,陇 6、陇 7 的抗寒性比天 2、天 4 的抗寒性强,可以根据这些不同品种的抗寒性特性,判断出可以作为抗寒性品种的鉴定指标。经过试验研究,可以判断出叶绿素含量不能作为抗寒品种的鉴定指标,而过氧化物歧化酶活性,叶片气孔密度、单位面积气孔总长度、叶片组织结构的栅/海比和 SR 可作为油菜抗寒性鉴定指标。

3.2 讨论

对于植物来说,抗寒性是一种遗传特性,它是对低温长期适应的结果。在抗寒性方面,遗传特性与形态结构特征的表现有着紧密的联系。叶片作为主要器官的光合器官,对果实产量和品质有重要影响,叶绿素含量在一定程度上反应了植株的光合速率。对不同植物在不同时期进行低温处理,SOD 的活性普遍上升,而且抗寒性越强升幅越大。叶片解剖结构和气孔特性是抗寒性的评价指标^[9],抗寒性好的作物,气孔密度和单位面积的气孔总长度小于抗寒性较差的作物;叶片结构,吴林^[10]对橘树叶片研究报道,叶片结构疏松度(SR)和栅栏组织/海绵组织常用于指示植物抗寒性的强弱,研究认为栅栏组织、海绵组织的大小与抗寒性呈正相关,SR 与抗寒性呈负相关。

参考文献

[1] 张志良,翟伟菁.植物生理学指导[M].第三版.北京:高等教育出版社, 2003.
[2] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
[3] 高俊凤.植物生理学实验指导[M].第一版.北京:高等教育出版社, 2006,5.
[4] 李峰.植物石蜡切片制作的试验流程探讨[J].科技信息, 2012 年 05 期.
[5] 彭红丽,苏智先.低温胁迫对珙桐幼苗的抗寒性生理生化指标的影响[J].汉中学院师范学报(自然科学), 2004,12.
[6] 王爱国,罗广华. 大豆种子超氧化物歧化酶的研究[J]. 植物生理学报, 1983, 9(1):77~83.
[7] 岳寿松,于振文.小麦旗叶与根系衰老的研究[J].作物学报, 1996, 22(1):55~58.
[8] 朱惠霞,孙万仓.白菜型冬油菜品种的抗寒性及其生理生化特性[J].西北农业学报, 2007, 16 (4): 36~38.
[9] 张斌斌,俞明亮,蔡志翔,等.窄叶桃与普通叶片桃杂交子代 F1 叶片性状的变异[J].江苏农学报,2011,27 (4):848-852.
[10] 吴林,刘海广.越橘叶片组织结构及其与抗寒性的关系 [J].吉林农业大学学报,2005, 27(1):48-54.