

# 冬小麦叶片对低温胁迫的生理响应

衣莹<sup>1,2</sup> 张玉龙<sup>1</sup> 郭志富<sup>3</sup> 白丽萍<sup>3</sup> 乔雪<sup>3</sup> 侯立白<sup>4</sup>

(1. 辽宁省农业资源与环境重点实验室 沈阳农业大学 土地与环境学院 辽宁 沈阳 110866; 2. 沈阳农业大学 农学院 辽宁 沈阳 110866; 3. 沈阳农业大学 生物科学技术学院 辽宁 沈阳 110866; 4. 沈阳农业大学 科学技术学院 辽宁 抚顺 113122)

**摘要:** 以抗寒性不同的冬小麦品种(米808、冬引0801、小黑麦、冬麦9625、冬麦138)为试验材料,测定各材料在不同温度(13/4, -18, -21℃)下处理2h后叶片的相对电导率、叶片中丙二醛(MDA)、可溶性蛋白质、脯氨酸、可溶性糖含量和超氧化物歧化酶的活性(SOD)。结果表明,随着温度降低(4℃→-18℃→-21℃),小麦叶片中MDA、可溶性糖含量逐渐增加。小麦叶片SOD总活力随胁迫温度降低先升高后降低再升高。经低温胁迫后,小麦叶片可溶性蛋白质含量无明显变化。米808、冬引0801在-21℃胁迫下,相对电导率变化率最低。米808、冬引0801在-18℃→-21℃时,MDA含量增幅较大;米808 SOD总活力在-18、-21℃时变化率最低。冬引0801脯氨酸和可溶性糖的变化率均在21℃时最大。

**关键词:** 冬小麦; 低温胁迫; 生理生化特性

中图分类号: S512.01 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2013)01-0144-05

## Physiological Responses of Winter Wheat's Leaves to Low Temperature Stress

YI Ying<sup>1,2</sup> ZHANG Yu-long<sup>1</sup> GUO Zhi-fu<sup>3</sup> BAI Li-ping<sup>3</sup> QIAO Xue<sup>3</sup> HOU Li-bai<sup>4</sup>

(1. Key Laboratory of Agricultural Resource and Environment Liaoning Province, College of Land and Environmental Science, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China; 2. College of Agronomy, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China; 3. College of Biological Science and Technology, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China; 4. Shenyang Agricultural University, College of Science and Technology, Fushun 113122, China)

**Abstract:** Different cool-resistance varieties were used to experimental material to test relative conductivity, malondialdehyde, soluble protein, proline, soluble sugar content and the activities of superoxide dismutase after 2 hours treatment with 13/4, -18, -21℃. As the temperature was reduced, MDA and soluble sugar content of wheat leaf increase gradually, the activities of SOD trend is N-shaped wave. After low temperature stress, the soluble protein content of wheat leaves no significant change. The results indicated that M808 and Dongyin0801 have the minimum relative electric conductivity in 21℃. MDA content of M808 and Dongyin0801 increased considerably from -18℃ to -21℃. M808's activities of SOD has the lowest rate of change in -18℃ and -21℃. Proline and soluble sugar content of Dongyin0801 has the largest rate of change in -21℃.

**Key words:** Winter wheat; Low temperature stress; Physiological and biochemical characteristics

冬小麦冻害是农业生产中一种严重的自然灾害,中国从南到北,寒害和冻害都经常发生,造成小麦生产的巨大损失,成为农作物区域性和季节性的主要限制因素,且由于冬小麦种植界限的逐步向北向西推移,使冬小麦抗冻性的问题更为突出。许多

研究表明,脯氨酸含量、可溶性蛋白质含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、POD活性与小麦抗寒性有关<sup>[1-7]</sup>。本研究以冬麦北移冬小麦品种为材料,研究抗寒性不同的冬小麦品种叶片中可溶性蛋白含量、可溶性糖含量、脯氨酸含量、超氧化物歧化酶

收稿日期: 2012-11-20

基金项目: 国家自然科学基金项目: 强冬性新型抗冻基因 *TalRI3* 和 *TalRI4* 的克隆及功能研究(30900894); 总理基金: 冬麦北移试验示范开发项目(dmby96-93); 沈阳农业大学校内基金: 强冬性小麦抗寒性鉴定(413010101-110901-01025010005)

作者简介: 衣莹(1971-),女,内蒙古赤峰人,讲师,博士,主要从事小麦抗逆生理研究。

通讯作者: 张玉龙(1954-),男,辽宁建平人,教授,博士,主要从事土壤改良与农业节水研究。

郭志富(1980-),男,内蒙古赤峰人,讲师,博士,主要从事小麦族物种功能基因发掘与克隆研究。

(SOD) 活性、丙二醛含量(MDA)、外渗电导率等生理生化指标对低温条件的响应特点,旨在探讨抗寒性不同品种间生理生化差异及在抗寒性上的表现,以便为筛选、鉴定强抗寒性冬麦品种及冬小麦抗寒性的综合评价提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料与方法

沈阳农业大学冬麦北移试验田采集强抗寒性冬小麦品种:米 808、冬引 0801;中等抗寒性冬小麦品种:小黑麦、冬麦 9625;耐寒性较差的改良品种:冬麦 138 5 个品种幼苗为试材。试材采集当日(2010 年 4 月 20 日)气温为 5~14℃,幼苗全株置于冰箱中进行低温胁迫处理。试验设置 13、7、4、-18、-21℃ 这 5 个温度梯度,处理时间为 2 h。处理结束后于室温 13℃ 环境下采取冬小麦植株形态学上第一片完全展开叶片,用液氮迅速冷冻后,贮于 -70℃ 冰箱保存。

### 1.2 测定项目与方法

取低温处理后冬小麦叶片(每个品种叶片分为 3 份,即设置 3 次重复),进行相关生理生化指标的测定。细胞膜相对透性(相对电导率)采用电导仪法、可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝 G-250 比色法进行测定;脯氨酸(Pro)含量采用酸性茚三酮法测定、可溶性糖采用蒽酮法<sup>[8]</sup>;丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸提取法测定、超氧化物歧化酶(SOD)活性参照 NPT 光照化学还原法测定<sup>[9]</sup>。

### 1.3 统计方法

运用 Microsoft Excel 2003、SPSS 统计软件进行

数据处理和统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 低温胁迫对小麦叶片相对电导率的影响

低温胁迫会导致细胞损害,膜透性增大,因此,可以测定相对电导率来反映低温对植物组织伤害的程度。相同品种,不同处理温度方差分析结果表明,米 808 在 13℃ 时与其他处理差异显著;冬麦 138 在 4℃ 与其他 4 个温度差异极显著;冬麦 9625 在 4℃ 与 13℃ 温度差异显著;小黑麦 -21℃ 分别与 4、7℃ 温度差异显著;冬引 0801 比较复杂。

温度相同,不同品种方差分析结果表明,在 -21、-18、7、13℃ 时,不同品种小麦叶片相对电导率差异不显著,4℃ 差异极显著,说明不同品种的相对电导率对低温的反应集中体现在 4℃ 这个温度基点上。多重比较分析结果表明,冬麦 138 和小黑麦、冬引 0801、冬麦 9625、米 808 差异极显著;米 808 和小黑麦、冬引 0801、冬麦 9625 差异显著。

从表 1 中可以看出,以胁迫温度 4℃ 为节点分析,相对电导率随着温度从 4℃→7℃→13℃ 的变化,冬引 0801、冬麦 9625 及小黑麦的相对电导率呈上升趋势,米 808 的相对电导率先下降后上升,而冬麦 138 的相对电导率先明显上升后略微下降。随着温度的降低,从 4℃→-18℃→-21℃,冬麦 138、冬麦 9625 及小黑麦的相对电导率变化的总体增加,变化趋势一致;米 808、冬引 0801 变化趋势有所不同,米 808 一直呈下降趋势,冬引 0801 先上升后下降。-21℃ 时,米 808 的相对电导率最低。

表 1 低温胁迫对小麦叶片相对电导率的影响

Tab. 1 Effects of low temperature stress on relative conductivity of wheat leaf

%

低温处理/℃ Low temperature stress	冬麦 138 Dongmai 138	小黑麦 Triticale	冬引 0801 Dongyin0801	冬麦 9625 Dongmai9625	米 808 M808
13	69.873(1.527) A	70.748(1.207) ab	71.062(1.205) Aab	71.527(1.237) ab	83.353(1.215) a
7	71.467(1.562) A	58.907(1.005) b	64.821(1.099) ABc	62.222(1.076) a	60.395(0.880) b
4	45.750(1.000) B	58.610(1.000) b	58.969(1.000) Bd	57.832(1.000) b	68.629(1.000) b
-18	69.750(1.525) A	62.392(1.065) ab	72.180(1.224) Aa	63.321(1.095) ab	64.380(0.938) b
-21	71.979(1.573) A	74.104(1.264) a	66.212(1.123) ABbc	69.051(1.194) ab	61.200(0.892) b

以胁迫温度 4℃ 为节点分析相对电导率的变化幅度(表 1),米 808 变化幅度相对最小,而在 -21℃ 胁迫下,米 808、冬引 0801 的变化率最低,说明在低温条件下 2 个品种的抗寒较强,这与品种的抗寒特性相符。

### 2.2 低温胁迫对小麦叶片 MDA 含量的影响

MDA 为膜脂过氧化的中间产物,会严重损伤生物膜,能强烈地与细胞内各种成分发生反应,导致膜的结构生理完整性及许多生物功能分子的破坏。抗

寒性弱的品种在低温下 MDA 含量较高。以 4℃ 为节点分析 MDA 的变化(表 2),随着胁迫温度的降低,供试小麦叶片的 MDA 含量总体上呈现出一种增加的趋势,胁迫温度为 -21℃ 时,小麦叶片 MDA 含量达到最大值;随着温度的升高,米 808、冬引 0801、冬麦 9625 呈现先上升后下降的趋势,冬麦 138 降低,小黑麦变化不大。-18℃ 时,米 808、冬引 0801 的 MDA 含量低,而在 -21℃ 急剧升高,其上升的幅度较大。

表 2 低温胁迫对小麦叶片 MDA 含量的影响

Tab.2 Effects of low temperature stress on MDA content of wheat leaf

 $\mu\text{mol/L}$ 

低温处理/ $^{\circ}\text{C}$ Low temperature stress	冬麦 138 Dongmai 138	小黑麦 Triticale	冬引 0801 Dongyin0801	冬麦 9625 Dongmai9625	米 808 M808
13	6.665(0.726)	7.074(1.011)	9.589(1.325)	4.472(0.619)	4.902(0.929)
7	6.536(0.712)	7.127(1.018)	10.041(1.388)	7.633(1.057)	6.472(1.226)
4	9.181(1.000)	6.998(1.000)	7.235(1.000)	7.224(1.000)	5.278(1.000)
-18	11.117(1.211)	10.213(1.459)	8.514(1.177)	9.686(1.341)	6.138(1.163)
-21	15.622(1.702)	12.803(1.830)	14.706(2.033)	10.428(1.444)	11.687(2.214)

## 2.3 低温胁迫对小麦叶片可溶性蛋白质含量的影响

可溶性蛋白亲水性强,可显著增加细胞亲水力、束缚水含量和原生质弹性,可降低原生质内结冰而致死的温度。以  $4^{\circ}\text{C}$  为节点分析可溶性蛋白质的变化(表 3) 随着温度的升高,小麦叶片可溶性蛋白质

含量(以鲜质量计)增加;随着温度的降低,冬引 0801、冬麦 9625、小黑麦可溶性蛋白质升高;米 808、冬麦 138 变化不大。温度为  $-21^{\circ}\text{C}$  时,叶片可溶性蛋白质含量最低。

表 3 低温胁迫对小麦叶片可溶性蛋白含量的影响

Tab.3 Effects of low temperature stress on soluble protein content of wheat leaf

 $\text{mg/g}$ 

低温处理/ $^{\circ}\text{C}$ Low temperature stress	冬麦 138 Dongmai138	小黑麦 Triticale	冬引 0801 Dongyin0801	冬麦 9625 Dongmai9625	米 808 M808
13	3.352(1.070)	3.676(1.278)	3.495(1.222)	3.490(1.070)	3.355(1.129)
7	3.235(1.032)	3.345(1.163)	3.460(1.210)	3.390(1.040)	3.327(1.119)
4	3.134(1.000)	2.877(1.000)	2.860(1.000)	3.261(1.000)	2.972(1.000)
-18	3.117(0.995)	3.173(1.103)	3.085(1.079)	3.271(1.003)	2.973(1.000)
-21	3.113(0.993)	2.813(0.978)	3.071(1.074)	3.090(0.948)	2.952(0.993)

## 2.4 低温胁迫对小麦叶片可溶性糖含量的影响

可溶性糖是细胞质中渗透调节的有机溶剂,是逆境条件下植物抗逆形成的重要物质基础,在外界环境因子产生胁迫时,如干旱、低温等逆境条件下可溶性糖含量都会提高并在许多植物器官内积累<sup>[10-11]</sup>。试验结果表明,低温胁迫下,抗寒性强的 小麦品种能积累较多的可溶性糖,大幅度降低细胞水势,增强细胞渗透调节能力,提高细胞抗脱水能

力,具有较强忍受低温伤害的能力。

从表 4 可以看出,在  $4, 7, 13^{\circ}\text{C}$  时,小黑麦、冬引 801、冬麦 9625 的可溶性糖含量随温度的上升而升高,而冬麦 138 和米 808 可溶性糖含量先升高后降低。在  $4, -18, -21^{\circ}\text{C}$  时,随胁迫温度的降低,各供试小麦叶片可溶性糖含量呈上升趋势, $-21^{\circ}\text{C}$  时,可溶性糖含量和变化幅度达到最大值。

表 4 低温胁迫对小麦叶片可溶性糖含量的影响

Tab.4 Effects of low temperature stress on of wheat leaf

 $\text{g}/100\text{g}$ 

低温处理/ $^{\circ}\text{C}$ Low temperature stress	冬麦 138 Dongmai138	小黑麦 Triticale	冬引 0801 Dongyin0801	冬麦 9625 Dongmai9625	米 808 M808
13	1.144(1.222)	1.875(1.481)	1.835(1.532)	1.927(1.609)	0.652(0.976)
7	1.649(1.762)	1.664(1.314)	1.696(1.416)	1.593(1.330)	1.389(2.079)
4	0.936(1.000)	1.266(1.000)	1.198(1.000)	1.198(1.000)	0.668(1.000)
-18	1.275(1.362)	1.412(1.115)	1.404(1.172)	1.456(1.215)	0.681(1.019)
-21	1.577(1.685)	1.848(1.460)	2.119(1.769)	1.874(1.564)	0.970(1.452)

表 5 低温胁迫对小麦叶片脯氨酸含量的影响

Tab.5 Effects of low temperature stress on of wheat leaf

 $\mu\text{g/g}$ 

低温处理/ $^{\circ}\text{C}$ Low temperature stress	冬麦 138 Dongmai 138	小黑麦 Triticale	冬引 0801 Dongyin 0801	冬麦 9625 Dongmai9625	米 808 M808
13	212.53(0.392)	360.40(0.665)	593.940(1.243)	285.86(0.648)	326.87(1.037)
7	329.29(0.608)	597.17(1.102)	469.090(0.981)	375.76(0.852)	412.93(1.310)
4	541.82(1.000)	541.82(1.000)	477.980(1.000)	440.81(1.000)	315.15(1.000)
-18	717.58(1.324)	689.70(1.273)	780.339(1.633)	630.50(1.430)	625.86(1.986)
-21	564.44(1.042)	576.48(1.064)	776.97(1.626)	594.75(1.349)	506.67(1.608)

## 2.5 低温胁迫对小麦叶片脯氨酸含量的影响

脯氨酸在植物体内作为渗透物质,对细胞起着渗透调节的作用。试验结果表明(表5)在13℃→7℃→4℃的温度变化过程中,冬引0801脯氨酸含量先下降后升高,小黑麦和米808脯氨酸含量先增加后减少,冬麦9625和138脯氨酸含量呈增加趋势。在4,-18,-21℃时,随着胁迫温度降低,各供试小麦叶片脯氨酸含量呈先增加后减少的变化趋势。胁迫温度为-18℃时,叶片脯氨酸含量达到最大值。从脯氨酸的变化幅度看,在-21℃时冬引0801的变化幅度最大,是否是对低温条件的一种适

应性反应,需要进一步研究。

## 2.6 低温胁迫对小麦叶片 SOD 总活力的影响

植物遭遇低温逆境时,自由基的产生和清除的平衡遭到破坏,自由基的增加会导致细胞的伤害,SOD可专一清除超氧化物阴离子。从表6可以看出,各供试小麦品种叶片SOD总活力随胁迫温度降低的变化趋势大体一致,均为先增加后降低再升高,且可以看出抗寒性较强的小麦品种在13,7,4℃的SOD活性较高,7℃变化率较高;米808在-18,-21℃时变化率最低。

表6 低温胁迫对小麦叶片 SOD 总活力的影响

Tab. 6 Effects of low temperature stress on SOD total activity of wheat leaf

U/g

低温处理/℃ Low temperature stress	冬麦 138 Dongmai138	小黑麦 Triticale	冬引 0801 Dongyin0801	冬麦 9625 Dongmai9625	米 808 M808
13	26.878(0.625)	24.854(0.495)	57.049(0.984)	25.070(0.498)	53.325(0.932)
7	31.871(0.741)	49.924(0.994)	65.657(1.133)	53.028(1.052)	54.275(0.949)
4	42.989(1.000)	50.248(1.000)	57.968(1.000)	50.383(1.000)	57.211(1.000)
-18	17.676(0.411)	34.057(0.678)	34.839(0.601)	40.128(0.796)	23.208(0.406)
-21	25.961(0.604)	31.629(0.629)	36.269(0.626)	42.372(0.841)	31.439(0.550)

## 3 讨论与结论

小麦抗寒性机制复杂,不仅与小麦品种基因型、生长环境有关,还受冻害发生时期、强度及持续时间等影响。小麦的抗寒性是受其生理生化特征综合作用的遗传表现,单一抗寒指标难以判断小麦对寒冷的综合适应能力,研究小麦抗寒性时应综合抗寒生理生化指标进行分析。

### 3.1 相对电解率的变化

低温对膜的伤害主要表现在膜透性的改变,导致细胞内物质大量向外渗透,相对电导率发生变化。通过其变化,可反映所测材料的细胞膜伤害程度,用来衡量小麦抗寒性的强弱。本试验中,在4℃时,不同品种相对电导率呈现极显著或显著差异,反映了品种自身对低温的反应,可以作为低温胁迫研究的温度基点。

以胁迫温度4℃为节点分析相对电导率的变化幅度,米808变化幅度相对最小,而在-21℃胁迫下,米808、冬引0801的变化率最低,透性的变化可以逆转,易于恢复正常。说明在低温条件下,2个品种的抗寒较强,这与品种的抗寒特性相符。

Lyons<sup>[10]</sup>认为,植物受到低温影响是细胞的质膜透性发生不同程度的外渗,以至于电导率会有不同程度的加大。但在本试验研究中,尽管在受到低温胁迫时,米808、冬引0801都有下降的趋势,但是各个温度间没有明显的差异,所以与Lyons的结论

并未冲突。相对电导率作为小麦抗寒的理化指标,一直有以相对电导率的绝对值和相对值2种指标体系,在本研究中,相对值(例如变化幅度)更好地反映了品种的抗寒特性。

### 3.2 MDA 含量和 SOD 活性的变化

抗寒性较强的小麦品种低温胁迫下MDA积累少、膜质过氧化程度低,抗寒性较弱的小麦品种低温胁迫下MDA积累多、膜质过氧化程度高。降低膜脂过氧化作用,能够较好地维护质膜的完整性,减轻低温对质膜的伤害,使小麦具有更强的抵抗低温伤害的能力。

以4℃为节点分析MDA的变化,随着胁迫温度的降低,供试小麦叶片的MDA含量总体上呈现出一种增加的趋势,胁迫温度为-21℃时,小麦叶片MDA含量达到最大值;随着温度的升高,米808、冬引0801、冬麦9625呈现先升后降的趋势,冬麦138降低,小黑麦变化不大。-18℃时,米808、冬引0801的MDA含量低,而在-21℃急剧升高,其上升的幅度较大,其原因尚需进一步分析。

植物遭遇低温逆境时,自由基的产生和清除的平衡遭到破坏,自由基的增加会导致细胞的伤害,SOD可专一清除超氧化物阴离子。各供试小麦品种叶片SOD总活力随胁迫温度降低的变化趋势大体一致,均为先升高后降低再升高,米808在-18,-21℃时变化率最低。叶亚新等<sup>[11]</sup>研究认为,小麦幼苗在4℃时酶活达到最大值,和本研究结果基

本相似,但是冬引 0801 最高值是在 7℃,其原因尚需进一步分析研究。

### 3.3 可溶性蛋白、可溶性糖、脯氨酸的变化

许多研究表明,植物低温处理过程中有许多新蛋白质合成及可溶性蛋白质含量增加,但也有研究结果显示,低温处理后可溶性蛋白含量变化不大<sup>[1]</sup>。本试验中各个供试小麦品种经低温胁迫后,其叶片可溶性蛋白含量无明显变化,说明以可溶性蛋白含量来衡量小麦抗寒性强弱具有不确定性,此结论与薛香等的研究结果相似<sup>[3]</sup>。

小麦在低温胁迫下能维持含量较高的脯氨酸和可溶性糖对于抵御低温、增强抗冷性有十分重要意义。所以可用脯氨酸及可溶性糖含量来衡量小麦抗寒性的强弱。各供试小麦品种低温胁迫温度为 4℃ 之后,随温度降低,叶片可溶性糖含量呈上升趋势。抗寒性强的冬引 0801,低温胁迫下,抗寒性强的品种能积累更多的游离脯氨酸,增加细胞液浓度,大幅度降低水势,增强细胞渗透调节能力,具有较强的抵抗低温伤害的能力;脯氨酸和可溶性糖含量和变化幅度均较高;而抗寒性强的米 808 却表现不同。同样都是抗寒性强的品种,但是其生理生化指标的变化却有差异,其原因尚需继续深入研究。

#### 参考文献:

[1] 陈 贵,康宗利,张立军. 低温胁迫对小麦生理生化特

性的影响[J]. 麦类作物, 1998, 18(3): 42-43, 64.

- [2] 徐思静,闫小燕,王志学,等. 低温处理对小麦几丁质酶活性的影响[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(22): 13324-13325.
- [3] 薛 香,吴玉娥,郝庆炉. 不同类型小麦品种的主要抗寒性生理指标[J]. 贵州农业科学, 2011, 39(7): 68-70.
- [4] 赵俊杰,荆树科,欧行厅,等. 低温处理对不同品种小麦叶 POD 活动的影响[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(34): 19268, 19274.
- [5] 高志强,张国红,张爱芝,等. 不同小麦品种对低温的生理反应研究[J]. 山西农业大学学报, 2002, 22(2): 109-112.
- [6] 张志伟,王法宏,李东升,等. 不同类型小麦品种孕穗期低温生理反应及其抗寒性分析[J]. 麦类作物学报, 2012, 32(5): 900-906.
- [7] 李 淦,董 娜,胡海燕,等. 小麦苗期根系抗低温能力研究[J]. 河南农业科学, 2012, 41(3): 21-25.
- [8] 李合生. 植物生理生化实验原理和测定技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003.
- [9] 张宪政. 植物生理学实验技术[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1994.
- [10] Lyons J M. Chilling injury in plants[J]. Ann Rev Plant Physiol, 1973, 24: 445-446.
- [11] 叶亚新,金 进,秦粉菊,等. 低温胁迫对小麦、玉米、萝卜幼苗超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 中国农学通报, 2009, 25(23): 244-248.