

低温对不同耐寒性橡胶树叶片抗氧化能力的影响

罗萍¹, 贺军军¹, 姚艳丽¹, 莫亿伟^{2*}

(1 中国热带农业科学院湛江实验站, 广东湛江 524013; 2 绍兴文理学院 生命科学学院, 浙江绍兴 312000)

摘要: 为了探讨低温胁迫对橡胶树耐寒新品种‘湛试 327-13’和不耐寒品种‘文昌 217’叶片抗氧化能力的影响, 以橡胶嫁接苗为材料, 模拟 8 °C/8 °C (昼/夜) 的低温胁迫, 在 4 d 内每天连续测定叶片抗氧化酶活性以及相关的生理参数, 再通过激光共聚焦显微镜观察气孔保卫细胞 H₂O₂ 荧光密度。结果发现: (1) 低温胁迫使‘湛试 327-13’和‘文昌 217’叶片超氧阴离子产生速率、SOD、CAT 和 POD 及 APX 活性均出现先升后降的趋势, 且在整个低温胁迫中, ‘湛试 327-13’的各抗氧化酶活性均高于‘文昌 217’; 低温胁迫使‘湛试 327-13’的 H₂O₂ 含量在处理第 1 天后就达到最大值, ‘文昌 217’则在第 3 天才达到最大值。 (2) 两个品种叶片的 H₂O₂ 含量和气孔保卫细胞的 H₂O₂ 荧光强度在低温胁迫后的表现规律与上述指标基本一致。研究表明, ‘湛试 327-13’叶片超氧阴离子和 H₂O₂ 快速积累, 可能起到能促进抗氧化酶活性的提高, 以及降低膜质氧化胁迫程度和 TBARS 含量的作用; 且同时保持了较高的相对含水量和较低的相对电导率, 从而提高了其对低温胁迫的耐性。

关键词: 橡胶树; 低温胁迫; 过氧化氢; 抗氧化酶活性; 相对电导率

中图分类号: Q948.75

文献标志码: A

Effect of Chilling Stress on Leaf Antioxidative Abilities of Rubber Trees with Different Chilling Tolerance

LUO Ping¹, HE Junjun¹, YAO Yanli¹, MO Yiwei^{2*}

(1 Zhanjiang Experimental Station, Chinese Academy of Tropical Agricultural Science, Zhanjiang, Guangdong 524013, China; 2 College of Life Science, Shaoxing University, Shaoxing, Zhejiang 312000, China)

Abstract: To explore the effect of chilling stress on antioxidant activities in the leaves of chilling tolerance rubber tree ‘Zhanshi 327-13’ and chilling sensitive variety ‘Wenchang 217’, we treated the seedlings of both varieties by chilling stress at 8 °C/8 °C (day/night). Antioxidant activities and the related physiological parameters were determined every day from the beginning of treatment. Then, the content of H₂O₂ in guard cells was measured by laser confocal microscope in different time after chilling stress. The results showed that: (1) The released rate of superoxide radical anion and the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD) and APX in the leaves of ‘Zhanshi 327-13’ and ‘Wenchang 217’ increased first and then decreased under chilling stress; And the activities of anti-oxidases in the leaves of ‘Zhanshi 327-13’ were constantly higher than those in ‘Wenchang 217’ during the whole experiment; The content of H₂O₂ maximized at the first day in the leaves of ‘Zhanshi 327-13’ but maximized at the third day for ‘Wenchang 217’ after chilling stress. (2) The content of H₂O₂ in the leaves was consistent with that in the guard cells. Our experimental results suggested that the quick accumulation of O₂⁻ and H₂O₂ in ‘Zhanshi 327-13’ probably played a role in molecular signaling pathways through which increased the antioxidant

收稿日期: 2013-11-23; 修改稿收到日期: 2013-12-28

基金项目: 国家天然橡胶产业技术体系湛江综合试验站项目(CARS-34-ZD2); 海南省自然科学基金(310077)

作者简介: 罗萍(1967—), 女, 副研究员, 主要从事橡胶生理与育种研究。E-mail: luoping428@163.com

* 通信作者: 莫亿伟, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事植物生理与分子生物学研究。E-mail: ywmo@163.com

activities, decreased oxidant stress and kept lower content of TBARS. Lower relative conductivity was maintained after chilling stress in the leaves of ‘Zhanshi 327-13’ so as to increase the tolerance to chilling.

Key words: ruble tree; chilling stress; H_2O_2 ; antioxidant activity; relative leakage rate

低温胁迫会导致植物多方面损伤,包括生物膜透性增大、活性氧(ROS)积累引起氧化胁迫等,植物可以通过调节抗氧化酶活性和积累渗透调节物质来增强抗逆性^[1]。 H_2O_2 是一种常见的活性氧(ROS),化学性质较为稳定,具有较高的跨膜通透性,并能在整个细胞中长距离移动,还能作为主要的ROS信号分子在植物对环境因子的胁迫反应中扮演着重要角色^[2],Luo等^[3]研究发现,低温胁迫下耐寒橡胶品种的抗氧化酶活性高于不耐寒品种,说明抗氧化能力的大小与橡胶耐寒能力密切相关。

巴西橡胶树(*Hevea brasiliensis*)原产于南美洲亚马逊河流域,为喜高温高湿的热带雨林植物,中国的植胶区主要在海南、云南、广东和广西南部(北纬 $18^{\circ}\sim 24^{\circ}$ 的热带北缘地区),但冬春季低温寒害依然是制约橡胶种植业的瓶颈问题,因为低温寒害严重影响橡胶单产及经济寿命,严重时就会遭受毁灭性的破坏^[4]。橡胶树生长的最适温度为年平均 $28^{\circ}C$ 左右,当月均温度低于 $18^{\circ}C$ 时生长减慢,低于 $15^{\circ}C$ 时生长基本停止,低于 $10^{\circ}C$ 时幼嫩组织开始出现受害症状。因此长期以来,选育抗寒高产无性系是中国橡胶科技工作者的主要任务之一^[5-6]。橡胶树新品种‘湛试327-13’亲本为93-114 \times PR107,是由中国热带农业科学院南亚热带作物研究所1973年经过人工授粉获得,经过近40年的观察,‘湛试327-13’在广东和广西表现出抗寒性好、产量高等优点。我们前期研究发现, $10^{\circ}C$ 低温胁迫后,‘湛试327-13’叶片可溶性总糖和可溶性蛋白含量比不耐寒冷的品种明显增加^[3]。但其耐寒机制仍未弄清。本试验以耐寒的‘湛试327-13’品系和不耐寒的‘文昌217’嫁接苗为研究材料,探讨低温胁迫对其叶片抗氧化能力及叶片细胞膜透性的影响,为其大面积推广提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试橡胶树(*Hevea brasiliensis*)品种‘湛试327-13’和‘文昌217’的芽条取自中国热带农业科学院湛江实验站橡胶树增殖圃,砧木是GT1胶园种子所种,2010年10月芽接,2010年11月装袋,装袋后进行常规的水肥管理,于2011年3月第二蓬稳定

叶老化后,选取长势一致的植株进行低温胁迫处理。

1.2 试验设计

在前期获得的试验结果基础上,设定昼/夜低温胁迫温度均为 $8^{\circ}C$,以处理前自然条件下生长植株为对照,每组处理选取生长良好、长势一致的‘湛试327-13’和‘文昌217’袋装苗各25株在人工气候室(CONVIR ONE8型)进行处理。人工气候箱光照设置为白天12 h,夜间12 h,光照强度为 $500\mu mol\cdot m^{-2}\cdot s^{-1}$,相对湿度维持在80%左右,从低温处理前的第0天开始(并以第0天为对照组),每天取第二蓬老化叶片进行相关生理指标测定,连续测定4 d,实验重复3次。

1.3 测定指标及方法

叶片超氧阴离子的产生速率参照Mo等^[7]的方法;叶片超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性、过氧化物酶(POD)活性,叶片丙二醛(MDA)含量、相对含水量和相对电导率均参照邹琦等^[8]的方法测定;抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性参照Nakano等^[9]的方法测定;叶片过氧化氢(H_2O_2)含量测定参照Wang等^[10]的方法,取各处理叶片0.2 g,各加入2 mL冷丙酮研磨提取20 min后,离心($8\ 000\ g, 15\ min$)吸取上清液1 mL,加入0.1 mL硫酸钛溶液(5%)和0.2 mL浓氨水,混匀后将反应所生成的过氧化物-钛复合物离心($8\ 000\ g, 15\ min$),沉淀用丙酮悬浮液洗涤2次以减少色素的干扰,然后将沉淀溶于3 mL 2 mol/L的硫酸中,用分光光度计测定415 nm处吸光度值,通过标准曲线计算结果 H_2O_2 含量。

另外,参考Desikan等方法用激光共聚焦分析气孔保卫细胞 H_2O_2 含量分析^[11],即采用 H_2O_2 特异染料二氯荧光素双乙酸盐(H2DCFDA)(Sigma, USA)荧光染色法进行测定。将直径1 cm的叶片在MES-KCl缓冲液(10 mmol/L MES, 5 mmol/L KCl, $50\mu mol/L\ CaCl_2$, pH 6.15)中光照培养2 h后,将表皮碎片分别放入 $50\mu mol/L\ H_2DCFDA$ 中15 min,再在MES-KCl缓冲液中清洗20 min,然后采用激光共聚焦扫描显微镜(Zeiss LSM 510 META)进行扫描观察。用488 nm蓝光激发,发射波长为505~530 nm,每个处理观察20~30个保卫细胞,拍摄有代表性的结果。

1.4 数据分析

所有实验重复 3 次,用平均值±标准差表示,并利用 SPSS 13.0 软件对组间进行单因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫对橡胶树叶片超氧阴离子产生速率的影响

从图 1 可知,在 8℃ 低温处理条件下,‘湛试 327-13’在处理 1 d 后,超氧阴离子的产生速率就达到了峰值,然后开始下降;而‘文昌 217’超氧阴离子的产生速率则不断地增加,在处理的第 2 天后才达

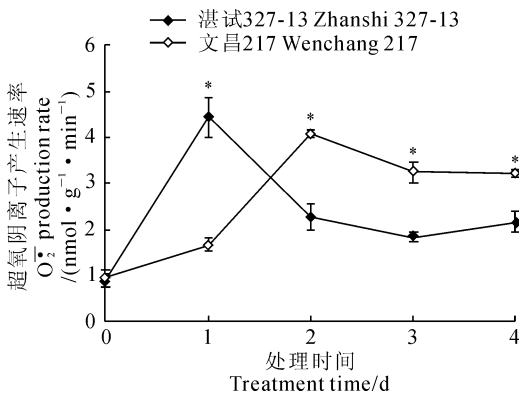
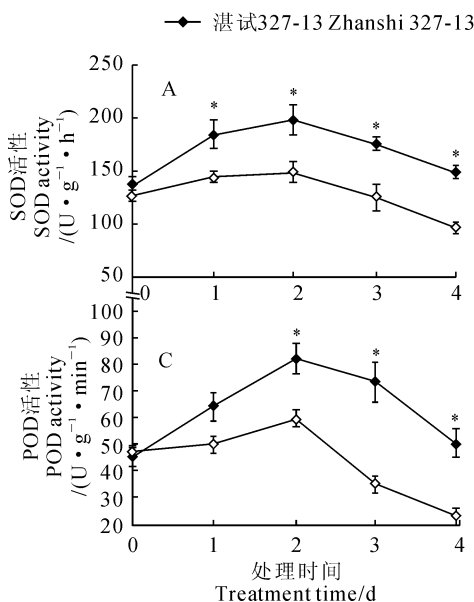


图 1 低温胁迫对两种橡胶树叶片 O_2^- 产生速度的影响

* 表示同期两品种间在 0.05 水平存在显著性差异;下同

Fig.1 Effect of chilling stress on super oxidate free radical production rate in leaves of two ruble trees

* indicates significant difference between two ruble trees; The same as below



到最大值,然后开始下降,但此后一直高于‘湛试 327-13’。在处理第 4 天时,‘文昌 217’的超氧阴离子的产生速率依然比‘湛试 327-13’高出 52.1%,且两者间差异显著($P<0.05$)。说明低温胁迫均能诱导两个橡胶品种叶片发生氧化胁迫,使超氧阴离子产生速率增加,但‘湛试 327-13’的超氧阴离子活性增加较快,然后又快速开始下降,而‘文昌 217’的超氧阴离子则一直保持着较高的产生速率,因此,‘文昌 217’可能会受到更严重的氧化胁迫。

2.2 低温胁迫对两种橡胶树叶片保护酶活性的影响

从图 2, A 可看出,在 8℃ 低温胁迫第 1 天和第 2 天,‘湛试 327-13’和‘文昌 217’的 SOD 活性都在增加,但‘湛试 327-13’的 SOD 活性增加幅度高于‘文昌 217’;低温处理 3 d 后两个品种的 SOD 活性均下降,但是‘文昌 217’下降较快;在处理第 4 天,‘湛试 327-13’的 SOD 活性要比‘文昌 217’显著高出 53.9% ($P<0.05$)。说明低温胁迫均能诱导两个橡胶品种叶片 SOD 活性增加,但耐寒的‘湛试 327-13’的 SOD 活性增加较快,而且保持高活性的时间也比‘文昌 217’长,更有利于其清除过多的超氧阴离子。

同时,从图 2, B 可知,初期的低温胁迫均能诱导两种橡胶叶片 CAT 活性增加,但‘湛试 327-13’的 CAT 活性达到峰值的时间要比‘文昌 217’晚 1 d;‘文昌 217’的 CAT 活性在低温处理 1 d 后就比处理前增加了 53.35%,并达到最大值,而‘湛试 327-13’在处理的第 2 天才达到峰值,并比处理前增

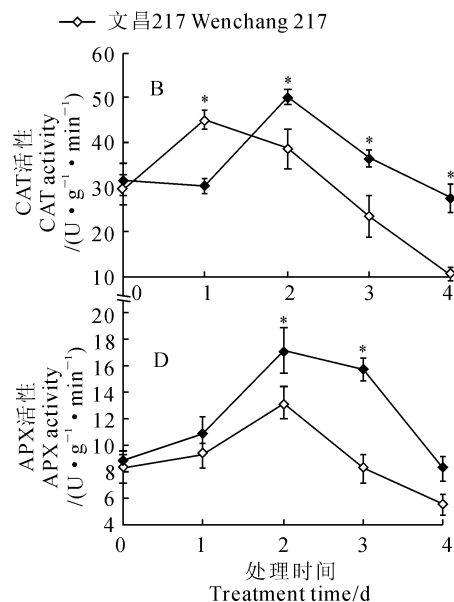


图 2 低温胁迫对两种橡胶树叶片 SOD、CAT、POD 和 APX 活性的影响

Fig.2 Effect of chilling stress on the SOD,CAT,POD and APX activities in leaves of two ruble trees

加了 58.40%,且在低温处理的第 2 天后均比‘文昌 217’的高;在低温处理的第 4 天时,‘湛试 327-13’的 CAT 活性比‘文昌 217’显著高出 160.89% ($P < 0.05$)。此结果说明低温能诱导 CAT 活性的增加,但是耐寒能力不同的橡胶品种的 CAT 高活性维持的时间并不一致,耐寒性强‘湛试 327-13’的 CAT 活性维持时间较长,而耐寒性弱的‘文昌 217’则在 CAT 快速增加后就急剧下降,即其叶片的 CAT 活性对低温胁迫较为敏感。

另外,低温处理均能诱导两种橡胶叶片的 POD 活性增加,其中‘湛试 327-13’的 POD 活性增加较快,而‘文昌 217’的 POD 活性增幅则较小。在低温处理的第 2 天,两个橡胶品种叶片的 POD 均达到最大值,且‘湛试 327-13’的 POD 活性比‘文昌 217’品种显著高出 37.56% ($P < 0.05$);随着处理时间的延长,‘湛试 327-13’的 POD 活性依然保持较高的水平,而‘文昌 217’的 POD 活性则明显下降,在处理的第 4 天时其 POD 活性比处理前低 51.75%(图 2,C)。

此外,低温处理均能诱导两种橡胶叶片的 APX 活性增加,其中‘湛试 327-13’的 POD 活性增加较快,而‘文昌 217’的 APX 活性增加幅度较小,整个低温处理过程中,‘湛试 327-13’的 APX 活性始终均比‘文昌 217’高。在低温处理的第 2 天,两个橡胶品种叶片的 APX 均达到了峰值,但‘湛试 327-13’品系 APX 活性比‘文昌 217’品种显著高出 341.32% ($P < 0.05$);随着低温处理时间的延长,‘湛试 327-13’的 APX 活性依然保持较高的水平,而‘文昌 217’的 APX 活性则明显下降(图 2,D)。

2.3 低温胁迫对两种橡胶树叶片 H_2O_2 和 TBARS 含量的影响

从图 3,A 可知,低温胁迫均能诱导两种橡胶叶

片 H_2O_2 含量增加,且‘湛试 327-13’的 H_2O_2 含量在处理后第 1 天就达到最大值,比处理前增加 361.2%,而‘文昌 217’的 H_2O_2 含量则增加缓慢,在处理第 3 天才达到最大值,然后保持较高的 H_2O_2 含量水平;在处理的第 4 天时,‘文昌 217’的 H_2O_2 含量显著高出‘湛试 327-13’的 163.39% ($P < 0.05$)。以上结果说明低温胁迫后在‘文昌 217’叶片内 H_2O_2 含量不断积累,而‘湛试 327-13’的则是先积累而后下降。

同时从图 3,B 可知,低温胁迫处理均能诱导两种橡胶叶片膜脂过氧化产物(TBARS)含量的增加,其中‘文昌 217’的 TBARS 含量为急剧增加,并且在整个低温胁迫处理过程中均高于‘湛试 327-13’;而‘湛试 327-13’的叶片 TBARS 含量在低温处理的第 1 天和第 2 天并没有明显增加,其在低温处理 2 d 后才急剧上升,并且整个低温胁迫过程中均低于‘文昌 217’。这说明低温胁迫使‘文昌 217’叶片受到氧化胁迫程度较重,造成大量膜脂过氧化产物 TBARS 的大量积累,引起更多的氧化伤害,而‘湛试 327-13’受低温胁迫后引起的氧化胁迫程度则较轻。

2.4 低温胁迫对两种橡胶树叶片气孔保卫细胞 H_2O_2 含量的影响

图 4 显示,两个橡胶叶片下表皮气孔保卫细胞的 H_2O_2 含量(荧光密度)在低温处理前并没有明显的差异。在低温处理后第 1 天,‘湛试 327-13’叶片的气孔保卫细胞 H_2O_2 荧光密度就达到最大的峰值,气孔开张程度也较大,但随着低温处理时间延长,其叶片气孔保卫细胞的 H_2O_2 荧光密度和气孔开张度则不断地下降;而‘文昌 217’叶片气孔保卫细胞 H_2O_2 荧光密度在处理的第 2 天才明显增强,并在处理的第 3 天时达到最强的亮度,而其气孔的

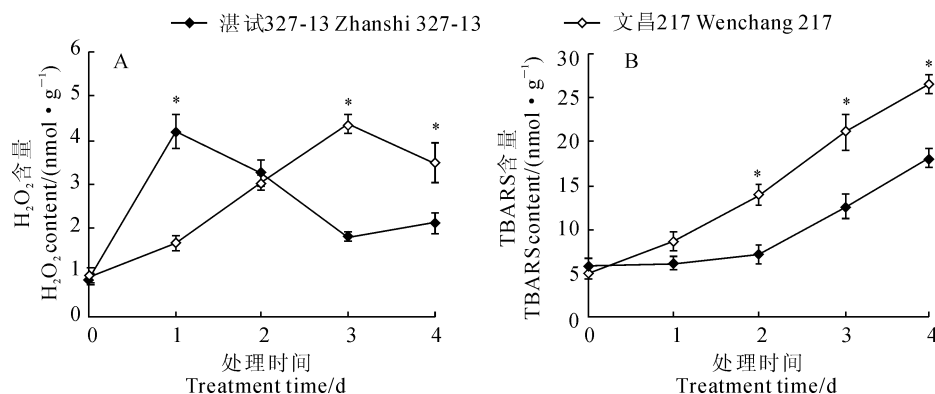


图 3 低温胁迫对两种橡胶树叶片 H_2O_2 和 TBARS 含量的影响

Fig. 3 Effect of chilling stress on the contents of H_2O_2 and TBARS in leaves of two rubber trees

开张度与‘湛试 327-13’叶片的没有明显区别。在低温处理处 4 天时,‘文昌 217’的气孔保卫细胞 H_2O_2 荧光密度和气孔开张度都比‘湛试 327-13’大,此时‘湛试 327-13’的气孔则大部分处于关闭状态。这说明在低温胁迫后,‘湛试 327-13’品系叶片内的气孔保卫细胞快速积累 H_2O_2 含量,然后再下降,而‘文昌 217’的 H_2O_2 含量则是不断增加,至处理第 4 天时才下降。同时,实验结果也发现,在低温胁迫处理的后期,‘文昌 217’的气孔开张程度大,可能使更多的水分从气孔散失,不利于叶片保持水分。

2.5 低温胁迫对两种橡胶树叶片相对含水量和相对电导率的影响

在低温胁迫处理前,‘文昌 217’叶片相对含水量略高于‘湛试 327-13’;当受到低温胁迫后,两个橡胶的叶片相对含水量均开始下降,而在整个低温

处理过程中,‘湛试 327-13’的叶片相对含水量始终高于‘文昌 217’;在低温处理的第 4 天,‘湛试 327-13’的叶片相对含水量比‘文昌 217’显著高出 9.05% ($P<0.05$)。可见,在相同的低温胁迫条件下,‘湛试 327-13’的叶片保水能力优于‘文昌 217’ (图 5,A)。

细胞膜系统是细胞感受低温胁迫最敏感的部位,也是植物受低温伤害和抵抗低温伤害的关键结构。从图 5,B 可知,低温胁迫处理均能诱导两品种橡胶叶片相对电导率增加,其中‘文昌 217’的叶片相对电导率急剧增加,并且在整个低温胁迫处理过程中均高于‘湛试 327-13’。说明‘文昌 217’的细胞膜的完整性在同样低温胁迫下受损更为严重,叶片细胞内的大量电解质外渗,导致相对电导率增加,而耐寒的‘湛试 327-13’则在低温胁迫下能维持较高

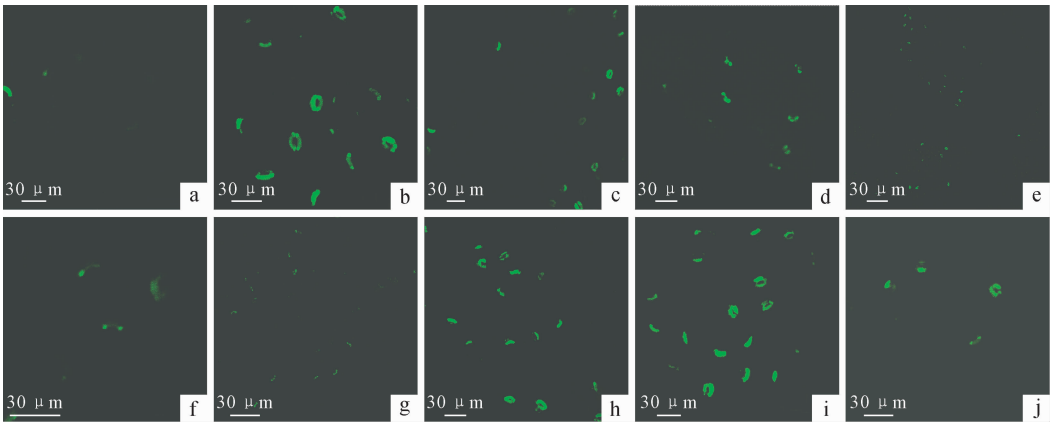


图 4 低温胁迫对两种橡胶幼苗叶片保卫细胞 H_2O_2 含量的影响
a~e 分别为‘湛试 327-13’处理 0、1、2、3、4 d; f~j 分别为‘文昌 217’处理 0、1、2、3、4 d
Fig. 4 Effect of chilling stress on the content of H_2O_2 in guard cells of two ruble trees
a~e is ‘Zhanshi 327-13’ chilling treated for 0,1,2,3 and 4 days;
f~j is ‘Wenchang 217’ chilling treated for 0,1,2,3 and 4 days, respectively

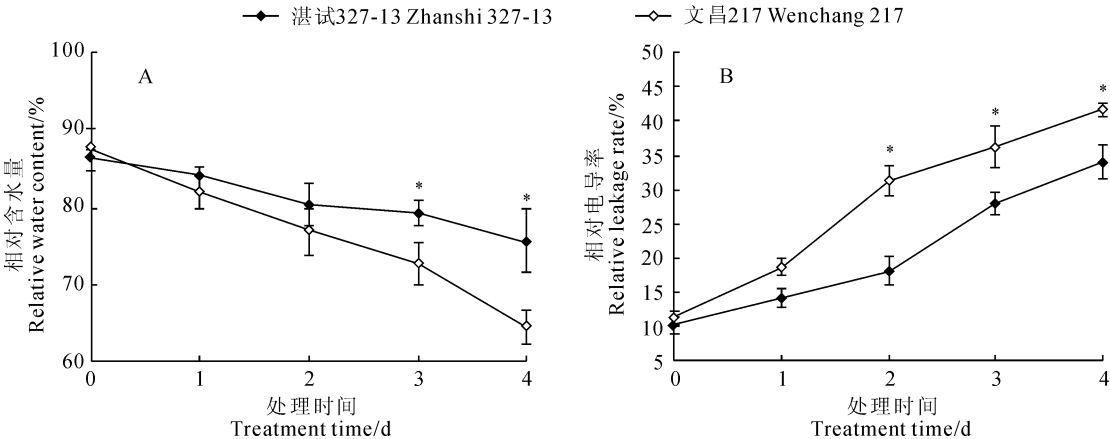


图 5 低温胁迫对两种橡胶树叶片相对含水量和相对电导率的影响

Fig. 5 Effect of chilling stress on the relative water content and relative electrolytic leakage rate in leaves of two ruble trees

细胞膜完整性,相对电导率较低,从而表现出细胞膜耐低温胁迫能力要优于‘文昌 217’。

3 讨 论

3.1 ‘湛试 327-13’叶片 O_2^- 快速爆发和 H_2O_2 积累可能是诱导抗氧化能力提高的原因

从本研究结果可知,低温胁迫均能诱导两个橡胶品种叶片内的 O_2^- 产生速率的增加,从而引起氧化胁迫,而过多的 O_2^- 产生,就会破坏原来细胞内活性氧的代谢平衡,植物为了清除过多的活性氧物质,诱导 SOD、CAT、POD 和 APX 等多种抗氧化酶活性的提高,这可能是橡胶叶片对低温胁迫的一种应激性保护方式,相类似的结果也表现在其他植物对低温胁迫后的应激反应中^[12-13]。

但是耐寒性不同橡胶品种的叶片抗氧化酶活性变化特征在时间上是有差异的。如‘湛试 327-13’的 O_2^- 产生速率和 H_2O_2 含量在处理低温处理后第 1 天就达到最大值,然后开始下降,而‘文昌 217’则在低温处理后第 3 天才达到最大值。低温胁迫下‘湛试 327-13’叶片的 H_2O_2 快速增加可能起到一种重要的逆境信号作用并能及时诱导抗氧化酶活性的提高,这与陈军文等^[14]在三叶橡胶树苗的研究结果一致。通过促进 SOD 和 APX 活性的增加就能加速 H_2O_2 分解,这与前人在石竹(*Dianthus chinensis*)幼苗上的研究结果一致^[15]。有研究表明, H_2O_2 信号调节着多种抗逆境的代谢方式,如外源 ABA 处理会诱导细胞 H_2O_2 合成,可以提高多种抗氧化酶的活性,若当 H_2O_2 快速积累受到抑制时,抗氧化酶的活性则相应降低^[16]。前人研究还发现,叶片的 H_2O_2 信号不但能及时诱导抗氧化酶活性的增加,并能调节叶片气孔的关闭^[14],这与本研究通过激光共聚焦对气孔 H_2O_2 荧光强度变化观察的结果是一致的。

然而,过多的活性氧积累对植物却起到伤害作用,如植物过氧化伤害导致了膜脂流动性降低和其通透性增加^[17]。本实验中,低温胁迫诱导‘湛试 327-13’的 SOD 活性增加,降低了这种氧化自由基的伤害。在处理第 1 天, H_2O_2 的积累有助于提高抗氧化酶的活性,清除过多活性氧伤害;随后抗氧化酶活性则随着低温处理时间的延长而下降,但是抗寒性强的‘湛试 327-13’抗氧化酶活性依然保持较高的水平,这与张腾国等^[18]在对两种抗寒性不同的油菜(*Brassica napus*)幼苗上研究结果一致。在低温处理后期,若不能及时清除活性氧等自由基的累积,会导致膜脂过氧化作用加剧,TBARS 含量增

加,因此橡胶叶片对低温胁迫的反应中, H_2O_2 含量在胁迫初期快速积累有利于增加对低温胁迫的抗性。对‘文昌 217’来说,虽然在处理第 3 天 H_2O_2 也出现了大量积累,但是由于低温胁迫时间太长,叶片已受到一定的伤害,无法再诱导抗氧化酶活性的增加,而且过量的 H_2O_2 对细胞也有着毒害作用^[12],加速低温胁迫对‘文昌 217’的氧化胁迫,导致膜脂过氧化加剧,从而使细胞膜的完整性受到了破坏,这与我们对叶片相对电导率测定的结果相符。

3.2 ‘湛试 327-13’耐寒能力提高可能是多种因素综合作用的结果

前人研究表明,单个或者是几个因素的改变是无法完成植物耐寒性提高的^[19]。从本试验结果可知,‘湛试 327-13’在遭受低温胁迫后,其叶片抗氧化酶活性提高可能是除了 H_2O_2 的快速积累作为一种抗逆境的信号刺激抗氧化能力的提高外,还应该有其他多种能抗低温胁迫防御机制的参与,是需要多种生理生化代谢协同作用的过程。因此,‘湛试 327-13’耐寒能力的提高可能是多种因素综合作用的结果,一方面通过叶片感受到低温逆境刺激后,快速积累 H_2O_2 达到诱导抗氧化能力提高的目的,有利于清除更多的活性氧;另一方面可能通过促进可溶性总糖和脯氨酸的合成能力,在低温胁迫诱导了这些渗透物质相关合成酶基因表达量增加^[20],我们前期研究也表明,低温耐性越强的橡胶品种,其可溶性总糖、脯氨酸和可溶性蛋白质的合成能力越大^[8],因此可溶性总糖等渗透物质含量的增加,有利于降低细胞水势,增加了橡胶叶片细胞的保水能力。

在低温胁迫条件下,与不耐寒的‘文昌 217’相比,‘湛试 327-13’通过提高抗氧化酶活性,及时地清除了过多活性氧物质对叶片细胞的伤害,降低了膜脂过氧化产物 TBARS 含量,保持了细胞膜完整性,使细胞处于一个良好的环境,更有利于促进渗透物质的合成,提高叶片渗透物质的含量,增加保水能力。在整个低温胁迫处理过程中,‘湛试 327-13’的相对含水量要高于‘文昌 217’叶片的相对含水量,在一定程度上提高叶片细胞水分的可利用能力,使低温胁迫引起的水分胁迫伤害降低。

‘湛试 327-13’抗寒性的提高除了抗氧化能力和细胞保水能力优于‘文昌 217’外,同时降低了低温胁迫对细胞膜的损害,防止了细胞内物质的外渗,保证细胞内各项生理生化活动正常进行,而细胞完整性则保证了细胞的防御能力的完成。因此,‘湛试 327-13’可能通过多种防御因素提高了对低温胁迫

的抗性,这可能是‘湛试 327-13’自从育成后几十年来在广东、广西、云南等省区表现出优良抗寒性的一个原因之一。当然,单一或者某几个因素的变化也

是不可能提高橡胶树对低温耐性的^[21],今后将从生理代谢及分子水平对橡胶树新品系‘湛试 327-13’的抗寒机制作进一步的研究。

参考文献:

- [1] NAYYAR H, BAINS T S, KUMAR S. Chilling stressed chickpea seedlings; effect of cold acclimation, calcium and abscisic acid on cryoprotective solutes and oxidative damage[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2005, 54: 275—285.
- [2] HANCOCK J T, DESIKAN R, CLARKE R, et al. Cell signalling following plant/pathogen interactions involves the generation of reactive oxygen and reactive nitrogen species[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2002, 40: 611—617.
- [3] LUO P, HE J J, YAO Y L, et al. Differential responses of two rubber tree clones to chilling stress[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2012, 11(70): 13 466—13 471.
- [4] LI T R(李土荣), ZHANG J ZH(张健珍), WU Q S(吴青松), et al. Investigation and suggestion on chilling injury of *Hevea brasiliensis* medium and little seedlings in Guangdong in 2008[J]. *Guangdong Agricultural Science* (广东农业科学), 2008, (12): 25—27 (in Chinese).
- [5] CHEN Y P(陈燕萍), WU ZH L(吴兆录). Ecological issues and loss risk of cold-resistant rubber germplasm resource in Xishuangbanna[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2009, 20(7): 1 613—1 616 (in Chinese).
- [6] LUO P(罗 萍), HE J J(贺建军), DAI X H(戴小红), et al. Development status and problems of natural rubber industry in reclamation areas of Guangdong Province[J]. *Guangdong Agricultural Sciences* (广东农业科学), 2011, (21): 25—27 (in Chinese).
- [7] MO Y W, GONG D Q, LIANG G B, et al. Enhanced preservation effects of sugar apple fruits by salicylic acid treatment during post harvest storage[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2008, 88(15): 2 663—2 669.
- [8] 邹 琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2010.
- [9] NAKANO Y, ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1981, 22: 867—880.
- [10] WANG L, YANG L, YANG F, et al. 2010. Involvements of H₂O₂ and metallothionein in NO-mediated tomato tolerance to copper toxicity[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2012, 167: 1 298—1 306.
- [11] DESKIN R, CHEUNG M K, CLARKE A, et al. Hydrogen peroxide is a common signal for darkness- and ABA-induced stomatal closure in *Pisum sativum*[J]. *Functional Plant Biology*, 2004, 31: 913—920.
- [12] CHEN Y(陈 颖), CHEN X(陈 昕), WANG N N(汪南阳), et al. Physiological response to cold stress and cell ultrastructure changes in *Passiflora edulis* leaves[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2012, 32(3): 532—539 (in Chinese).
- [13] LIU SH H(刘世红), TIAN Y H(田耀华), WEI L P(魏丽萍), et al. Semi-lethal low temperatures and impact of low temperature on antioxidant system of 30 varieties of rubber trees in Xishuangbanna[J]. *Plant Physiology Journal* (植物生理学报), 2011, 47(5): 505—511 (in Chinese).
- [14] CHEN J W(陈军文), CAO K F(曹坤芳). Responses of photosynthetic capacities, antioxidant activities and monoterpene biosynthesis in leaves of *Hevea brasiliensis* tree to jasmonic acid[J]. *Bulletin of Botanical Research* (植物研究), 2008, 28(1): 47—53 (in Chinese).
- [15] DING J J(丁继军), PAN Y ZH(潘远智), LI L(李 丽), et al. Mitigation effects of exogenous glutathione on the growth of *Dianthus chinensis* seedlings under Cd stress[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology* (植物生态学报), 2013, 37(10): 950—960 (in Chinese).
- [16] ZHANG A, ZHANG J, YE N, et al. ZmMPK5 is required for the NADPH oxidase-mediated self-propagation of apoplastic H₂O₂ in brassinosteroid-induced antioxidant defence in leaves of maize[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2010, 61(15): 4 399—4 411.
- [17] WANG J F(王俊峰), KONG W G(孔维国), ZHANG Y(张 煜), et al. Advance in expression and regulation of cold-resistant genes of plants[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2012, 32(4): 852—858 (in Chinese).
- [18] ZHANG T G(张腾国), ZHANG Y(张 艳), XIA X H(夏小慧), et al. Effects of MAPKK inhibitors on photosynthesis and antioxidant enzyme activities of *Brassica napus* seedlings under low temperature stress[J]. *Journal of Lanzhou University* (Nat. Sci. Edi.) (兰州大学学报·自然科学版), 2013, 49(1): 92—99 (in Chinese).
- [19] WANG X J(王祥军), LI W G(李维国), GAO X SH(高新生), et al. Physiological characteristics of *Hevea brasiliensis* in response to low temperature stress and its regulation mechanisms[J]. *Plant Physiology Journal* (植物生理学报), 2012, 48(4): 318—324 (in Chinese).
- [20] MO Y W, LIANG G B, SHI W Q, et al. Metabolic responses of alfalfa (*Medicago sativa* L.) leaves to low and high temperature induced stresses[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2011, 10(7): 1 117—1 124.
- [21] AN Z W(安泽伟), CHEN G H(陈根辉), CHENG H(程 汉), et al. cDNA-AFLP analysis on transcriptomics of *Hevea brasiliensis* induced by cold stress[J]. *Scientia Silvae Sinicae* (林业科学), 2010, 46(3): 61—67 (in Chinese).