

323437

# 冷害对小粒种咖啡幼苗的影响

王剑文

郑丽屏

(中国科学院昆明生态研究所, 昆明 650223) (云南省生物技术研究所, 昆明 650223)

**摘要** 小粒种咖啡幼苗经 5.0℃ 人工模拟冷害, 其根系活力、叶片可溶性糖含量、束缚水含量、叶细胞生存力不断下降, 同时叶片自由水含量、脯氨酸含量、电解质渗出率增大, 叶片受害面积不断扩大。5.0℃ 为小粒咖啡的冷害低温, 而非致死低温。几种抗性指标如咖啡叶片电解质渗出率、自由水含量、束缚水含量、束缚水/自由水、总叶绿素含量、叶绿素 a 含量、可溶性糖含量与月平均气温变化高度相关。

**关键词** 冷害; 小粒种咖啡苗; 抗性指标

关于植物抗寒性研究, 自 Lyons(1973)<sup>(1)</sup> 把冷害原初反应结到生物膜结构功能上以来, 已经深入到冷害对植物体代谢、细胞内蛋白质、酶以及对叶绿体、线粒体等超微结构的影响上<sup>(2)</sup>。

我国华南亚热带、热带地区, 基本适应咖啡栽培, 但一些地区平流、幅射降温影响咖啡成活、生长。郭金铨(1979)<sup>(3)</sup> 报导了低温对离体咖啡叶片细胞膜透性的影响, 认为 5℃ 是小粒咖啡叶细胞的致死温度。蔡世英等(1989)<sup>(4)</sup> 比较了咖啡不同品种对低温的反应。本文以不离体小粒咖啡幼苗为材料, 在人工低温下处理, 以期了解零上低温对小粒咖啡的生理生态影响以及受害的可能原因。并对咖啡抗冷性指标进行选择比较, 为咖啡引种栽培提供理论依据与参考。

## 材料与方 法

**植物材料:** 选取生长良好的一龄小粒种咖啡(*Coffea arabica* L) 幼苗盆栽, 咖啡品种为 S<sub>288</sub>。盆栽土为多砾质粗砂土, PH 值为 6.05, 有机质含量为 2.05%, 总氮、总磷含量分别为 0.076%、0.031%。

**人工低温处理:** 以 30 株幼苗为一个处理组, 置冷库中进行低温(5℃)处理 5 天, 每日照光 10 小时, 光照强度为 4000Lx, 相对湿度 70%。每日取幼苗 5 株, 记录和计算受害面积及程度。冷害处理后, 置室温(20℃—25℃)下生长。

**生理指标测定:** 叶样采自从顶芽下数第四轮枝上生长稳定的叶, 田间每月进行采样测定(1988 年 12 月—1989 年 12 月), 实验地位于福建省厦门。每样品重复测定 3—4 次, 取平均值。

**根部活力测定:** 采用  $\alpha$ -萘胺法<sup>(5)</sup>。

**过氧化物酶活性测定:** 采用愈创水酚氧化法<sup>(5)</sup>。

**可溶性糖含量的测定:** 采用蒽酮比色法<sup>(5)</sup>。

**脯氨酸含量的测定:** 采用脯氨酸快速测定法<sup>(6)</sup>。

自由水、束缚水测定：采用折射仪法<sup>(5)</sup>。

组织电解质渗出率测定：采用电导法<sup>(7)</sup>。

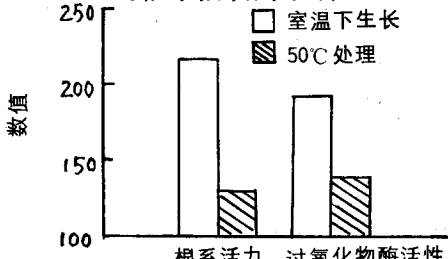
细胞生存力的测定：采用 Steponkus 和 Lanphear 的 TTC 还原法<sup>(8)</sup>。

叶绿素含量的测定：采用分光光度法，用 Arnon 公式计算<sup>(5)</sup>。

### 结果与讨论

#### (一)、零上低温对咖啡幼苗物质代谢的影响

##### 1、对根系活动的影响



图一 低温处理(48小时)对咖啡根系活性的影响

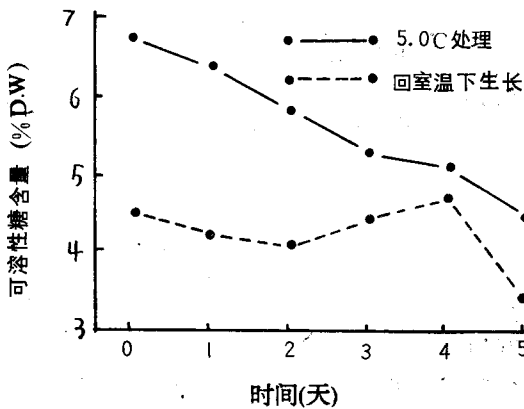
##### 根系活性的影响

根系活力— $\alpha$ -萘胺微克/克鲜重小时

过氧化物酶活性— $0.1 \times$  酶活( $\Delta$ D470/分

钟·克鲜重)

##### 2、对叶片可溶性糖含量的影响



图二 咖啡幼苗 5.0°C 处理与回升室温后叶片可溶性糖含量的比较

##### 3、对叶片脯氨酸含量的影响

小粒咖啡幼苗随 5°C 低温处理时的持续，叶片脯氨酸含量逐渐增加，略有波动(见表 1)。脯氨酸是水溶性最大的氨基酸，具有较强的水合能力，在低温下的急剧积累，与植物的抗冷能力有一定的关系<sup>(10)</sup>。另一方面，脯氨酸含量的积累也说明 5°C 低温胁迫强度不足，一定强度的低温胁迫(胁迫、胁迫)应抑制脯氨酸含量，降低其抗冷能力。

表一 5.0°C 低温对咖啡幼苗脯氨酸含量的影响

处理天数	0	1	2	3	4	5
脯氨酸含量% DW	0.0426	0.0463	0.0608	0.0572	0.0623	0.0556

5°C 低温处理 48 小时后，虽然地上部受害不明显，但根系活力却明显下降(见图 1)。同时过氧化物酶活性也下降 19.41%，该酶为呼吸酶，酶活性与根部呼吸强度有密切关联， $\alpha$ -萘胺的被氧化本质上就是过氧化物酶的催化作用<sup>(5)</sup>。

小粒种咖啡幼苗叶片可溶性糖含量随处理时间逐步下降，处理第 5 日下降至对照的 65.77%。回升室温后，可溶性糖含量持续下降第 5 日的 3.38%。Lidforss 的糖类保护作用的理论认为：糖和其他有机的非电解质能够消除冷害时盐类对蛋白质的盐析、凝结作用，稳定细胞结构。植物体内可溶性糖含量在低温冷害时持续下降现象，已被许多研究报道<sup>(9)</sup>。

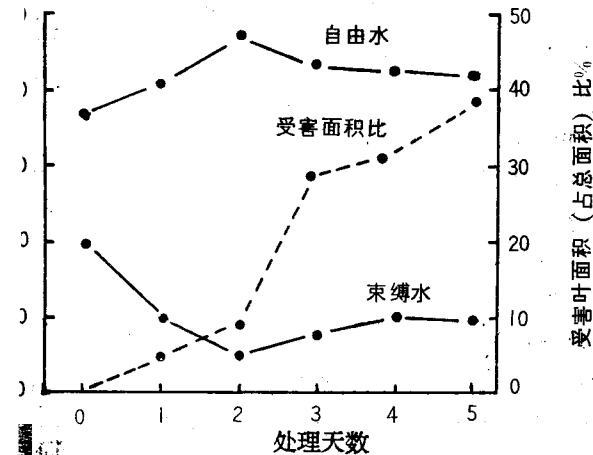


图3 5°C处理对咖啡幼苗叶片含水量与受害叶面积的影响

## (二)、零上低温对叶细胞的影响

### 1、对叶细胞质膜稳定性的影响

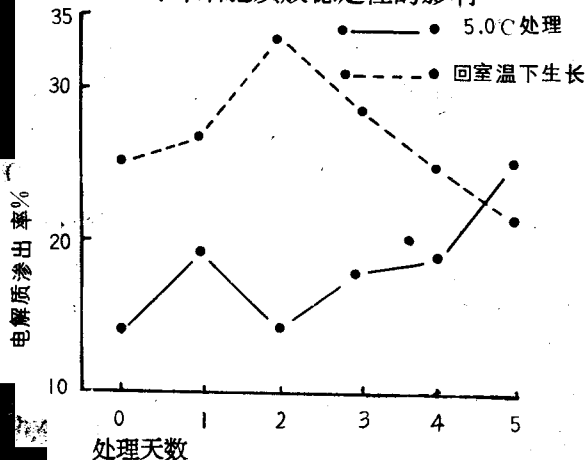


图4 5.0°C处理与回升室温后咖啡苗叶片电解质渗出率的比较

### 2、对叶细胞生存的影响

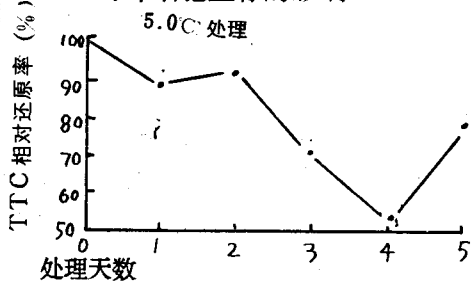


图5 5.0°C低温处理对咖啡叶细胞生存力的影响

根据 Steponkus<sup>(8)</sup> 和 Ketchie<sup>(12)</sup> 的研究, 植物遭受寒害时, 如果 TTC 相对还原率下降至 50% 以下, 被证明(无论茎或叶)是不能存活, Sukumaran 等<sup>(13)</sup> 也提出以电解质

小粒种咖啡苗经 5°C 低温处理, 叶片自由水含量不断上升, 束缚水含量降低。低温冷害破坏了植物体内束缚水与大分子亲水键的结合<sup>(11)</sup>, 降低了原生质胶体的稳定性。在低温处理 48 小时内, 自由水和束缚水都有较大幅度变化。同时, 自第 2 日起受害叶面积才较为显著(见图 3)。随时间持续, 受害叶面积增加, 到第 5 日为 38%, 此时顶芽和茎杆仍呈绿色, 回室温后可正常生长。

植物组织浸出液的电导率即电解质渗出率, 反映了膜系的透过性能, 已成为检验植物受害程度和抗冷能力的指标<sup>(1)</sup>。随低温处理时间的持续, 叶片电解质渗出率变化较剧烈, 呈上升趋势(见图 4), 特别是恢复室温下生长的第 2 日, 外渗率达 32.66%, 而未处理前其外渗率只达 13.46%。说明低温处理后突然恢复到室温, 植物细胞膜渗漏严重, 变温伤害较持续低温冷害更为严重。

TTC 还原法是利用细胞中的脱氢酶将氯化三苯四氮唑(TTC)还原为红色的三苯甲腈, 以还原力代表细胞生存力, 近年来普遍用于抗寒性指标<sup>(8)</sup>。随 5°C 低温处理时间的持续, 自第 2 日后 TTC 相对还原率急剧下降, 第 4 日达最低点 51.54%(见图 5)。

渗出率出现 50% 的临界低温作为不可逆致死的临界低温。我们的实验(见图 3、图 4)表明: 根据电解质外渗率及 TTC 相对还原率变化, 5℃ 低温只接近小粒咖啡的临界致死温度。低温处理后, 置常温下生长, 咖啡苗都能存活。

### (三)、小粒种咖啡苗抗冷性指标的选择

利用各种抗寒性指标在多种作物的抗冷鉴定上, 都有成功的应用<sup>[13]</sup>。通过比较本研究采用的几种抗冷性指标与实验期各月平均气温的关系(见表 2), 我们发现咖啡叶片电解质渗出率、自由水含量、束缚水含量、总叶绿素含量、叶绿素 a 含量与月平均气温相关极显著, 叶片束缚水与自由水之比、可溶性糖含量和月平均气温有显著的相关性, 上述指标都能敏感地反映出温度变化。利用这种敏感性, 就可以在一定程度上比较咖啡的抗冷能力。

表 2 小粒咖啡抗冷性指标与月平均气温关系(df = 11, 1988 年 12 月 - 1989 年 12 月)

抗冷指标(Y)	月平均气温(X)	相关系数 r	
		0.01 < P < 0.05	P < 0.01
电解质渗出率%	$Y = 30.46 - 0.458X$	-0.8412	-0.8412
自由水含量%	$Y = 27.73 + 0.802X$	0.8016	0.8016
束缚水含量%	$Y = 50.31 - 1.288X$	-0.7390	-0.7390
束缚水 / 自由水	$Y = 1.69 - 0.0515X$	-0.6724	-0.6724
总叶绿素含量 mg / g(DW)	$Y = 2.69 + 0.0857X$	0.7077	0.7077
叶绿素 a 含量 mg / g(DW)	$Y = 1.30 + 0.0663X$	0.8563	0.8563
可溶性糖含量 %(DW)	$Y = 8.35 - 0.158X$	-0.6526	-0.6526

## 结 论

小粒咖啡苗遭受 5℃ 低温冷害时, 其根系活力、叶片可溶性糖含量、束缚水含量、叶细胞生存力相继下降, 同时叶片脯氨酸含量、电解质渗出率增加。零上低温作用于小粒咖啡细胞膜系统, 使生物膜发生膜脂相变, 膜的流动性减缓, 电解质渗出率增大。膜结合酶活性下降, 游离酶与结合酶系统间平衡被破坏, 根部过氧化物酶活性下降, 呼吸受阻。叶细胞脱氢酶活性减弱, 细胞生存力减小。植物体内大分子物质如可溶性糖的减少, 导致与其结合的束缚水含量下降, 破坏了原生质胶体的稳定性。

叶片电解质渗出率与叶细胞生存力指标说明 5℃ 低温不是非离体咖啡苗的致死低温, 叶片脯氨酸含量在处理时的上升, 也说明胁迫强度的不足。

植物的生理过程是错综复杂的, 孤立地用某一指标表示复杂的抗冷性生理过程, 是不能全面揭示植物的抗冷性实质。对小粒咖啡的抗冷性鉴定, 要结合自然越冬过程及人工模拟冷害, 采用不离体鉴定。综合利用各类敏感性指标, 根据当地的实际栽培条件, 筛选出抗性强的高产品种。

(下转 25 页)