

# 低温胁迫下草莓花半致死温度的研究

王 静, 赵密珍, 于红梅, 王壮伟, 孟宪凤

(江苏省农业科学院 园艺所, 江苏 南京 210014)

**摘要:** 为了确定草莓花的抗寒能力, 比较不同草莓品种的抗寒性, 以宁玉、红颜草莓花为试材, 研究不同低温胁迫下组织电解质外渗率( REC) 的变化, 配合 Logistic 方程, 测定其半致死温度(  $LT_{50}$ ); 在半致死温度下设置不同时间, 测定 REC 的变化。结果表明, 随着处理温度的降低和处理时间的延长, 宁玉、红颜草莓花的电解质外渗率呈 S 型曲线,  $LT_{50}$  分别为  $-3.41\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-2.78\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $1.5\sim 3.5\text{ h}$  为草莓花在  $LT_{50}$  下临界冷害时间。

**关键词:** 草莓花; 半致死温度; 抗寒性

中图分类号: S668.4 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2012)02-0255-04

## Semilethal Temperatures for Flowers of Two Strawberry Varieties under Low Temperature Stress

WANG Jing, ZHAO Mi-zhen, YU Hong-mei,  
WANG Zhuang-wei, MENG Xian-feng

( Horticulture Institute, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

**Abstract:** In order to determine the cold hardiness of flowers of two strawberry varieties, 'Ningyu' and 'Benihope', the semilethal temperatures(  $LT_{50}$ ) of them were calculated based on the changes in electrolyte leakage rates ( REC) under different low temperature stresses and with the Logistic equation, the semilethal temperatures were detected. The results showed that with the temperature decreased and the treatment time prolonged, the RECs of the flowers of the two varieties showed a S-shaped curve,  $LT_{50}$  for 'Ningyu' was  $-3.41\text{ }^{\circ}\text{C}$  while that of 'Benihope' was  $-2.78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . The treatment time from 1.5 h to 3.5 h was the threshold of chilling injury at  $LT_{50}$ .

**Key words:** strawberry flower; semilethal temperature; cold hardiness

草莓( *Fragaria ananassa* Duch.) 蔷薇科草莓属, 栽培形式丰富, 目前以日光温室和塑料大棚结构等设施栽培为主。但由于国内设施保温能力不强, 保温措施不严格, 同时栽培过程中草莓往往会受到偶发性的极端短时低温伤害, 给草莓生产带来巨大损失<sup>[1]</sup>。

大量研究证明, 低温发生时, 细胞膜遭到破坏, 膜透性增大, 细胞内的电解质大量外渗, 使植物细胞浸提液的电导率增大, 外渗量反映了膜的伤害程度<sup>[2]</sup>。通过测定植物电解质外渗率并结合 Logistic 方程求得植物半致死温度(  $LT_{50}$ ), 可以比较不同植物的抗寒<sup>[3-4]</sup>, 杨凤翔<sup>[5]</sup>通过半致死温度鉴定出草莓品种的抗寒性, 与多种生理生化指标主成分分析综合评价排序结果基本一致, 因此, 可以用  $LT_{50}$  代替多种生理指标来鉴定草莓品种的抗寒性。

收稿日期: 2011-08-04 修回日期: 2011-12-23

基金项目: 江苏省农业科技自主创新项目( CX(10)109、CX(11)4051)

作者简介: 王静(1980—)女, 助理研究员, 博士, 主要从事草莓种质资源与育种研究, E-mail: wangjing8375@yahoo.com.cn。

关于草莓抗寒性的研究主要集中在利用草莓叶片研究草莓品种抗寒性<sup>[5-6]</sup>。但草莓以盛花至结果期对温度要求最为严格,此时一旦花器官受害,花即褐化,变为黑心花,不能成果,丧失经济价值。笔者前期以 0℃、-4℃ 胁迫 1.5 h 处理草莓植株,测定电解质渗透率,发现花电解质渗透率显著高于叶,因此以草莓花器官为材料开展其抗寒性研究更具现实意义。关于花器官抗寒性已在杏<sup>[7-10]</sup>、油桃<sup>[11]</sup>、菊花<sup>[12]</sup>、早春开花植物<sup>[13]</sup>等上有相关研究,但在草莓上至今尚未有报道。本试验以江苏省农科院新育成的早熟抗病草莓品种“宁玉”和江苏南部地区主栽草莓品种“红颜”为试材,研究不同低温胁迫下草莓花组织电解质外渗率(REC)的变化,配合 Logistic 方程,测定其半致死温度(LT<sub>50</sub>),确定受害时间,分析不同草莓品种抗寒性,为新品种的推广应用提供理论依据,且在花器官极限低温来临之前做好保温措施,提高草莓经济价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料红颜、宁玉草莓,2010年9月盆栽,生长于塑料棚内,平均温度为20~35℃(昼)/12~20℃(夜),2010年12月取长势一致的盆栽苗在人工气候室进行预培养至盛花及抗寒锻炼。预培养温度为25℃/12℃,光照8h/d,光照强度200 μmol/(m<sup>2</sup>·s),相对湿度75%,定期浇水;盛花后将温度缓慢降至4℃进行低温锻炼6h。

### 1.2 低温处理

低温锻炼后取盆栽草莓,移入人工气候室,温度分别设为0,-2,-4,-6,-8,-10℃,处理3h,光照3h,相对湿度75%,胁迫处理完室温恢复12h,取完整花器官用于分析测定,每个处理3次重复,各2株植株(共30朵花)。

根据朱根海等<sup>[3]</sup>方法结合 Logistic 方程  $y = \frac{k}{1 + ae^{-bx}}$ ,  $LT_{50} = \frac{\ln a}{b}$ 。y 代表细胞伤害率, x 代表处理温度

K 为细胞伤害率  $k = \frac{y_2^2(y_1 + y_3) - 2y_1y_3}{y_2^2 - 2y_1y_3}$  (实际测量值中等距离的3点,分别为 y<sub>1</sub>y<sub>2</sub>y<sub>3</sub>) 的应用 SPSS PASW Statistics 18.0,计算出草莓花半致死温度(LT<sub>50</sub>)。在半致死温度(LT<sub>50</sub>)下设置处理0.5,1,1.5,2,2.5,3,3.5,4,4.5 h 取样,进行组织电解质外渗率(REC)。每个处理3次重复,各2株植株(30朵花)。

### 1.3 测定方法

电解质渗透率(REC)的测定参考李俊才<sup>[14]</sup>的方法。

## 2 结果

### 2.1 不同低温胁迫下草莓电解质渗透率的变化及半致死温度

低温处理3h、室温恢复12h后取样时发现,-4℃胁迫草莓活体盛花有50%左右褐化,变为黑心花,-6℃红颜100%花变为黑心花,宁玉花95%变为黑心花,叶片萎缩,-8℃、-10℃胁迫下花全部变为黑心花,花基部呈水渍状。

随着处理温度的降低,红颜、宁玉花电解质渗透率不断升高,在0℃和-2℃之间电解质渗透率缓慢上升,-2℃和-6℃之间电解质渗透率急速提高(图1),形态上观察的草莓花受冻情况与电解质渗透率变化趋势一致。两品种相比,相同条件下,宁玉花的电解质渗透率低于红颜花。经低温处理后测定电导率,以电导

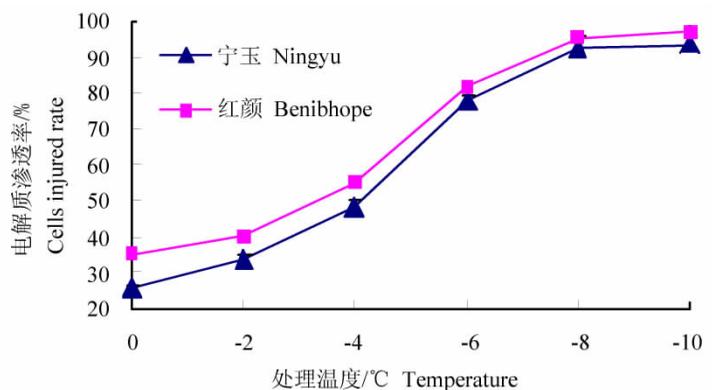


图1 不同低温处理3h后草莓花伤害率变化

Fig. 1 Cells injured rate of *Fragaria* flowers after exposure to different low temperatures for 3 h

率和温度拟合 Logistic 方程,由表 1 可知,两品种方程拟合度约为 0.968,且拟合度都呈极显著水平,宁玉花  $LT_{50}$  为  $-3.41\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,红颊花  $LT_{50}$  为  $-2.78\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,宁玉花  $LT_{50}$  低于红颊花  $0.63\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,宁玉的抗寒性高于红颊。

表 1 2 个草莓品种花的回归方程和半致死温度( $LT_{50}$ )

Tab. 1 Logistic equation and semilethal temperature( $LT_{50}$ ) of two strawberry flowers

品种 Cultivar	处理温度/ $^{\circ}\text{C}$ Temperature	拟合方程 Logistic equation	拟合度 $R^2$ Correlation coefficient	半致死温度 $LT_{50}/^{\circ}\text{C}$ Semilethal temperature
宁玉 Ningyu	$-10\sim 0$	$y = \frac{99.20}{1 + 4.284 \times e^{0.427x}}$	0.968**	$-3.41$
红颊 Benihope	$-10\sim 0$	$y = \frac{99.0843}{1 + 3.326 \times e^{0.432x}}$	0.969**	$-2.78$

\*\* 表示拟合度达极显著水平( $P < 0.01$ )。

\*\* indicate the significance of rate level is 0.01.

## 2.2 半致死温度下处理时间对电解质渗出率的影响

从图 2 看出,在  $LT_{50}$  下,随着处理时间增加,电解质渗出率逐渐增加,呈 S 型曲线,0.5~1.5 h 时变化平缓,1.5~3.5 h 时变化显著,宁玉的渗出率从 26.1% 增加到 80.5%,增加了 3.08 倍,红颊的渗出率从 30.58% 增加到 85.2%,增加了 2.79 倍,表明 1.5~3.5 h 为  $LT_{50}$  下受害的临界时间。这正符合笔者监测的最低温发生时间大约为 3 h 左右。

## 3 讨论

实际生产中,草莓发芽、盛花期、未成熟果能被低温伤害。伤害临界温度依照几个因子,包括品种、发育时期、气候因子如温度、风速、不利情况的持续时间<sup>[1]</sup>。草莓花对低温伤害最敏感期在盛花过程中(前期预实验结果)。伤害的临界温度随着品种变化而变化。本实验固定了发育时期、风速,研究草莓花的受害情况。

电解质渗透率因其操作简单,且不因品种本身休眠差异影响被用于评价草莓基因型的耐寒性<sup>[5,15]</sup>。半致死温度通常用于比较品种间耐寒性的强弱<sup>[3-4]</sup>,但是一个短时间的冻害并不必然代替冬季低温逆境,实际低温通常持续一段时间,半致死温度下持续冻害作用时间同时被研究<sup>[16]</sup>。结果显示宁玉、红颊草莓花的  $LT_{50}$  分别为  $-3.41\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-2.78\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,1.5~3.5 h 为草莓花在  $LT_{50}$  下临界冷害时间。

笔者在江苏省农业科学院(南京)试验基地动态监控了 2010 年 12 月-2011 年 1 月塑料棚的温度,次低温主要发生在 01:00—04:30,最低温主要发生在 04:30—07:30,两者相差  $0.5\sim 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。2011 年初塑料棚的最低温度发生在 1 月 16 日 05:01 和 05:51,为  $-2.04\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,低于  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$  时间约 1 h,因此宁玉草莓花的半致死温度比红颊低  $0.63\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,不仅能降低黑心花的比率,保证草莓的经济价值。实际生产中,在江苏南部地区宁玉表现明显优于红颊的生长势及更强的抗寒性。半致死温度的确定为宁玉的推广范围可较红颊向北推移提供了理论依据,且提示生产者在  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$  低温来临前必须做好防寒措施,防止草莓冻花;临界冷害时间同时为未来研究草莓花耐低温分子机理提供了合适的处理时间。

笔者在江苏省农业科学院(南京)试验基地动态监控了 2010 年 12 月-2011 年 1 月塑料棚的温度,次低温主要发生在 01:00—04:30,最低温主要发生在 04:30—07:30,两者相差  $0.5\sim 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。2011 年初塑料棚的最低温度发生在 1 月 16 日 05:01 和 05:51,为  $-2.04\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,低于  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$  时间约 1 h,因此宁玉草莓花的半致死温度比红颊低  $0.63\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,不仅能降低黑心花的比率,保证草莓的经济价值。实际生产中,在江苏南部地区宁玉表现明显优于红颊的生长势及更强的抗寒性。半致死温度的确定为宁玉的推广范围可较红颊向北推移提供了理论依据,且提示生产者在  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$  低温来临前必须做好防寒措施,防止草莓冻花;临界冷害时间同时为未来研究草莓花耐低温分子机理提供了合适的处理时间。

## 参考文献:

- [1] 赵密珍,钱亚明,王静. 草莓优质品种及配套栽培技术[M]. 中国农业出版社, 2010: 26-30.  
[2] 王宝山. 逆境植物生物学[M]. 高等教育出版社, 2010: 26-30.

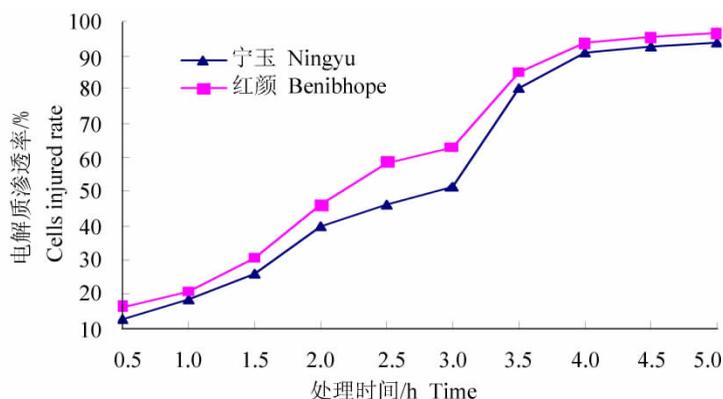


图 2 半致死温度下不同时间处理后草莓花伤害率变化

Fig. 2 Cells injured rate of *Fragaria* flowers after exposure to semilethal temperature for different hours

- [3]刘友良,朱根海,刘祖祺.植物抗冻性测定技术的原理和比较[J].植物生理学通讯,1985(1):40-43.
- [4]朱根海,刘祖祺,朱培仁.应用 Logistic 方程确定植物组织低温半致死温度研究[J].南京农业大学学报,1986(3):11-16.
- [5]杨凤翔,金芳,颜霞.不同草莓品种抗寒性综合评价[J].果树学报,2010,27(3):368-372.
- [6]罗娅,汤浩茹,张勇.低温胁迫对草莓叶片 SOD 和 AsA - GSH 循环酶系统的影响[J].园艺学报,2007,34(6):1405-1411.
- [7]王飞,李嘉瑞.用电导法配合 Logistic 方程确定杏花期的抗寒性[J].西北农业大学学报,1997,25(5):59-63.
- [8]杨建民,孟庆瑞,彭伟秀,等.冰核细菌对杏花器官抗寒性的影响[J].园艺学报,2002,29(1):20-24.
- [9]孟庆瑞,王文凤,梁隐泉,等.杏品种花器官过冷却点及结冰点的研究[J].中国农业科学,2008,41(4):1128-1133.
- [10]李捷,王有科.四个杏品种抗寒性的比较研究[J].甘肃农业大学学报,2010,45(1):37-40.
- [11]杨春祥,李宪利,高东升.低温胁迫对油桃花器官膜脂过氧化和保护酶活性的影响[J].果树学报,2005,22(1):69-71.
- [12]李娜,房伟民,陈发棣,等.切花寒菊小花对低温胁迫的生理响应及其抗寒性分析[J].西北植物学报,2010,30(4):645-651.
- [13]李盼华,石丽环,沙翠云,等.10种早春开花植物花器官抗寒临界温度比较研究[J].中国农学通报,2011,27(8):98-102.
- [14]李俊才,刘成,王家珍,等.洋梨枝条的低温半致死温度[J].果树学报,2007,24(4):529-532.
- [15]Harris R E. Relative hardiness of strawberry cultivars at three times of the winter[J]. Can J Plant Sci, 1973, 53: 147-152.
- [16]Waalén W M, Tanino K K, Olsen J E, et al. Freezing tolerance of winter canola cultivars is best revealed by a prolonged freeze test[J]. Crop Sci, 2011, 51: 1988-1996.

(上接第254页)

- [8]张德双,徐家炳,张凤兰.不同球色大白菜主要营养成分分析[J].中国蔬菜,2004(3):37.
- [9]余阳俊,陈广,徐家炳,等.早中熟桔红心大白菜新品种“北京桔红2号”[J].园艺学报,2005,32(2):372.
- [10]鹿英杰,史庆馨.彩色大白菜“龙园红1号”的选育[J].北方园艺,2005(6):31.
- [11]张鲁刚,惠麦侠,张明科.彩色大白菜新品种“金冠2号”的选育[J].西北农业学报,2007,16(1):204-206.
- [12]吴新杰,陈凤祥,胡宝成,等.甘蓝型油菜形态标记性状研究进展[J].中国农学通报,2005,21(12):28-31.
- [13]张德双,张凤兰,徐家炳.大白菜花色和球色遗传规律的研究[J].华北农学报,2003,18(2):81-84.
- [14]冯辉,姜楠.橘红心大白菜核基因雄性不育系转育方法研究[J].中国蔬菜,2009(12):48-52.
- [15]侯华.大白菜根肿病抗性与橘红心性状遗传关系研究及其与雄性不育性转育分析[D].沈阳:沈阳农业大学,2011.
- [16]余阳俊,陈广,段建雄.大白菜球色的遗传[J].北京农业科学,1993,11(5):18-19.
- [17]Zhongyun Piao, Nirala Ramchiary, Yong Pyo Lim. Genetics of Clubroot Resistance in *Brassica* Species [J]. Plant Growth Regulation, 2009, 28(3): 252-264.
- [18]于拴合,于仁波,戚佳妮,等.大白菜桔红心 or 基因的定位研究[C]//中国遗传学会植物遗传和基因组学专业委员会 2007 年学术研讨会摘要集.北京:中国遗传学会,2007:28.
- [19]Feng H, Wei P, Piao Z Y, et al. SSR and SCAR mapping of a multiple - allele male - sterile gene in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2009, 119(2): 326-333.
- [20]孙保亚,沈向群,周永红,等.大白菜抗根肿病与核基因雄性不育性的遗传关系[J].中国蔬菜,2007(1):13-15.
- [21]孙保亚,沈向群,郭海风,等.大白菜抗根肿病遗传规律初探[J].中国蔬菜,2005(6):15-17.
- [22]冯辉,魏毓棠,许明.大白菜核基因雄性不育系遗传假说及其验证[C]//中国科协第二届青年学术年会园艺学论文集.北京:北京农业大学出版社,1995:32-34.
- [23]Yasuhisa Kuginuki, Hiroaki Yoshikawa, Masashi Hirai. Variation in virulence of *Plasmiodiophora brassicae* in Japan tested with clubroot - resistant cultivars of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) [J]. European Journal of Plant Pathology, 1999, 105(4): 458-466.
- [24]沈向群,聂凯,吴琼,等.大白菜根肿病主要生理小种群分化鉴定初报[J].中国蔬菜,2009(8):59-62.