

低温胁迫对红花木莲幼苗生理特性的影响

於艳萍¹, 梁东丽², 刘昆成¹, 王凌晖¹, 黄荣芳¹, 韦强¹

(1. 广西大学 林学院, 广西 南宁 530005; 2. 广西国有六万林场, 广西 玉林 537800)

摘 要:以 1 a 生红花木莲苗木为试验材料, 研究了不同梯度低温(0、4、8、12、25℃(CK))对红花木莲幼苗生理特性的影响。结果表明:低温胁迫下, 其细胞膜透性增大、膜脂过氧化加剧, 丙二醛大量积累, 随着温度的降低, 过氧化物酶(POD)活性、游离脯氨酸和可溶性蛋白质含量都呈现先升后降的变化趋势; 红花木莲在 12~4℃时表现出一定的抗寒能力, 在 0℃时受到严重伤害。

关键词:红花木莲; 低温胁迫; 生理特性

中图分类号:S 685 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)16-0069-03

红花木莲属木兰科木莲属常绿乔木, 是木兰科的古老植物之一, 分布局限, 资源较少, 为国家Ⅱ级保护珍稀树种, 2011 年被列入广西珍贵树种名录。其株形挺拔, 叶色浓绿, 花色艳丽芳香, 为优良的庭园绿化观赏树种^[1], 在中国南方城市中得到广泛应用^[2]。近年来由于气候、人为等原因, 成年植株数量逐渐减少已到濒危的状况, 特别是近年来气候异常, 广西连续发生冰冻雨雪、干旱等自然灾害天气, 在自然保护区和城市绿化方面红花木莲的数量减少速度加快。该试验研究低温胁迫下红花木莲幼苗抗寒性生理指标的变化规律, 了解其抗寒机理, 以期对红花木莲资源的开发和保护提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为广西良凤江国家森林公园提供的 1 a 生优良红花木莲苗木。2011 年 4 月 3 日, 将长势良好、无病虫害且健壮均匀的苗木移至广西大学林学院苗圃试验地, 并栽植于口径为 20 cm、深 18 cm 的塑料花盆中(盆内为园土和细沙按照 4:1 的比例均匀混合的生长基质), 每盆栽植 1 株, 移植后并给以正常的养护管理, 供以后试验用。

1.2 试验方法

试验采用单因素完全随机试验设计, 2011 年 7 月 15

日, 选取生长良好的 1 a 生盆栽红花木莲, 然后放在预先设置好的温度为 25℃的人工气候箱中进行低温胁迫, 设置 5 个不同的温度梯度(0、4、8、12、25℃(CK)), 每个温度处理 6 次重复, 且温度以 $2^{\circ}\text{C} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 的速度降低, 当温度降至某一设定值后保持 24 h^[3], 并随机采取红花木莲叶片用去离子水洗净, 之后用滤纸吸干水分, 用于各项生理生化指标的测定, 然后继续降温。在整个试验中的光照条件为: 光照时间 8:00~20:00, 光照强度 $120 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 空气相对湿度保持在 80%左右。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫对红花木莲幼苗叶片细胞膜通透性的影响

细胞溶液的相对电导率大小可反映植物受到低温胁迫时细胞膜结构和功能的受损程度^[4]。由表 1 可以看出, 相对电导率随着温度的降低逐渐升高。其中, 当温度从 12℃降至 4℃时, 相对电导率缓慢增加, 为 31.02%、35.33%、40.25%, 分别是 CK 的 1.05、1.20、1.36 倍; 0℃时相对电导率增加迅速, 达 77.24%, 为 CK 的 2.61 倍。说明随着温度的降低, 相对电导率不断增大, 且增加的幅度也加大。说明细胞膜受低温胁迫的伤害随温度的降低而增大。方差分析结果表明, 不同温度的低温胁迫对红花木莲相对电导率含量的影响为极显著($P < 0.01$)。多重比较结果表明, CK 与 0、4、8℃胁迫的差异显著; 与 12℃胁迫的差异不显著。

2.2 低温胁迫对花木红莲幼苗叶片膜脂过氧化的影响

丙二醛(MDA)作为脂质过氧化作用的主要产物之一, 其含量的多少可以代表膜损伤程度的大小^[5]。由表 1 可以看出, 随着温度的降低, MDA 含量随着温度的减小而增大。其中, 当温度从 25℃降至 4℃时, MDA 为 15.90、22.84、24.49 $\mu\text{mol/g}$, 分别为对照的 1.31、1.88、

第一作者简介:於艳萍(1986-), 女, 硕士研究生, 研究方向为园林植物栽培及养护管理。

责任作者:王凌晖(1965-), 男, 博士, 教授, 现主要从事园林植物栽培及森林培育研究工作。E-mail: wanglinghui97@163.com

基金项目:广西林业厅科学基金资助项目(桂林科学[2009]第 22 号)。

收稿日期:2013-04-15

2.02 倍;当 0℃ 时 MDA 含量增加迅速,达 36.07 $\mu\text{mol/g}$,为对照的 2.97 倍,说明随着温度的降低,MDA 含量不断增大,且增加的幅度也加大,说明膜脂过氧化程度不断加强,细胞膜受伤害的程度增大。方差分析结果表

表 1 不同低温处理下红花木莲幼苗生理指标

Table 1 Multiple comparison on physiological index of *Manglietia insignis* seedlings under diverse low temperature treatment

低温处理 /℃	相对电导率 /%	MDA 含量 / $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$	POD 活性 / $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$	游离脯氨酸含量 / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$	可溶性蛋白质含量 / $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$
0	0.7724aA	36.07aA	2 326.40bB	441.21bAB	108.25cC
4	0.4025bB	24.49bB	3 204.80aA	444.73bAB	152.83aA
8	0.3533cBC	22.84bB	1 185.60cC	513.42aA	144.18abAB
12	0.3102dCD	15.90cC	1 094.40cC	405.09bB	138.03bAB
25	0.2955dD	12.14dC	659.20dD	403.41bB	134.25bB

注:不同字母表示差异的显著性,小写字母($P < 0.05$)、大写字母($P < 0.01$)。

2.3 低温胁迫对花木红莲幼苗叶片的过氧化物酶(POD)活性的影响

POD 是植物细胞膜保护酶的重要组成部分,POD 主要任务是清除叶绿体代谢过程中产生的 H_2O_2 ^[6]。由表 1 可以看出,POD 活性随着温度的降低呈现先增加后降低的变化趋势,在 4℃ 时浓度达到最大值,为 3 204.80 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,为 CK 的 3.99 倍。在整个渗透胁迫中 POD 的含量都大于 CK。表明红花木莲产生较多 POD 来抵抗低温胁迫,以维持红花木莲的正常生理过程。方差分析结果表明,不同温度的低温胁迫对红花木莲过氧化物酶活性的影响极显著($P < 0.01$)。多重比较结果表明,CK 与 0、4、8、12℃ 胁迫的差异极显著。

2.4 低温胁迫对花木红莲幼苗叶片的游离脯氨酸含量的影响

游离脯氨酸是植物细胞内重要的渗透调节物质之一,正常条件下含量很低,当受到低温等逆境时会大量积累,并且积累指数与植物的抗逆性有关^[7],当植物受到迫害时,游离脯氨酸含量增加,有利于细胞膨压的维持,同时使得保护酶和膜系统免受伤害,从而增强植物的抗逆性^[6]。由表 1 可以看出,随着温度的降低,脯氨酸含量呈先增加再减小的变化趋势,但脯氨酸含量总体比对照高。其中,脯氨酸在对照 CK、12℃ 时的含量分别为 403.41、405.09 $\mu\text{g/g}$ FW,二者相差不大;当温度在 8℃ 时,脯氨酸的含量达到最大值,为 513.42 $\mu\text{g/g}$ FW,与对照相比增加了 110.01 $\mu\text{g/g}$ FW;4℃ 降到 0℃ 时,脯氨酸含量开始下降,分别为 444.73、441.21 $\mu\text{g/g}$ FW,但总体比 CK 的高,分别比对照增加了 41.32、37.80 $\mu\text{g/g}$ FW。方差分析结果表明,不同温度的低温胁迫对红花木莲游离脯氨酸含量的影响差异显著($P < 0.05$)。多重比较结果表明,CK 与 8℃ 胁迫的差异极显著;与 0、4、12℃ 胁迫

明,不同温度的低温胁迫对红花木莲丙二醛(MDA)含量的影响极显著($P < 0.01$)。多重比较结果表明,CK 与 0、4、8℃ 胁迫的差异极显著;与 12℃ 胁迫的差异显著。

的差异不显著。

2.5 低温胁迫对红花木莲苗木可溶性蛋白质含量的影响

可溶性蛋白质是细胞内的渗透调节物质之一,其含量维持在一定水平有利于抗寒性提高,可将其作为植物低温胁迫下的一个抗寒性指标^[3]。由表 1 可知,红花木莲幼苗叶片中细胞内的可溶性蛋白质在低温胁迫下,随着温度的降低呈先增加再减小的变化趋势。其中,可溶性蛋白质含量在 12、8℃ 时含量分别为 138.03、144.18 mg/mL ,4℃ 时达到最大值,为 152.83 mg/mL 。与 CK 相比,分别增加了 3.75、9.90、18.55 mg/mL ;当温度降到 0℃ 时,可溶性蛋白质含量下降到 108.25 mg/mL ,与对照相比减少了 26.03 mg/mL 。方差分析表明,不同温度的低温胁迫对红花木莲可溶性蛋白质含量的影响是极明显($P < 0.01$)。多重比较结果表明,CK 与 0、4℃ 胁迫的差异极显著,与 8、12℃ 胁迫的差异不显著。

3 结论与讨论

电导法被广泛应用于植物逆境生理的测定,人们常用来鉴定麻风树^[4]、青榨槭^[8]、杏花^[9]等植物的抗寒性。该试验中相对电导率随着温度的降低呈升高的变化趋势,温度由 25℃ 降至 4℃ 时相对电导率变化率均远低于 50%,而温度降至 0℃ 时相对电导率急速升高,且远大于 50%,已达到半致死温度^[10],说明红花木莲幼苗在 12℃ 到 4℃ 低温胁迫时受到伤害相对较小,在 0℃ 时细胞膜透性已经受到损害,细胞内溶质大量渗出,植株受到严重伤害。有报道称其能耐 -16℃ 低温^[1],而该试验中在 0℃ 时苗木已受到严重伤害,可能原因是试验中所用材料均为幼苗,抗寒能力较差。

植物在逆境条件下,细胞内 O_2^- 、 $\cdot\text{OH}$ 和 H_2O_2 等自由基的产生与清除的动态平衡会遭到破坏,产生过多的自由基,最终诱发膜脂过氧化,破坏细胞膜系统的结

构^[11]。MDA 是膜脂氧化的最终产物,能够抑制细胞保护酶活性和降低抗氧化物的含量,从而加剧了膜脂过氧化,其含量的高低是脂质过氧化作用水平高低的直接反应^[12-14]。膜脂过氧化作用发生时,植物体会通过调节保护酶系统(SOD、POD、CAT)活性等方式,形成一定的防护和保护机制。POD 可降解 H_2O_2 ,降低活性氧自由基的伤害。该试验中,随着温度的降低,POD 活性呈现出先增大后减小的变化规律,并在 4℃ 时达到峰值,说明在较高的低温时(12~4℃),随着温度的降低,红花木莲通过提升 POD 等保护性酶活性来避免其受伤害,同时也表明红花木莲幼苗具有一定抗寒性。当温度降至 0℃ 时,植物体内的生理代谢平衡遭到破坏,导致 POD 等保护活性酶活性降低。MDA 的含量随着温度的降低而上升,表明了胁迫温度越低,脂质过氧化作用水平越高,细胞受损越严重,当温度降至 0℃ 时,MDA 含量上升振幅明显增大,说明植物受到伤害较严重,与上述相对电导率所得结论相符。

游离脯氨酸和可溶性蛋白质是植物体内重要的渗透调节物质,其积累大小可以作为植物抗寒性指标。大量研究表明,植物在低温锻炼期间,细胞内可溶性蛋白与抗寒性之间呈正相关的关系^[14-16]。该试验中,随着温度的降低,其游离脯氨酸含量、可溶性蛋白质表现出先增大后减小的变化趋势。说明在 12~8℃ 胁迫过程中,游离脯氨酸发挥着一定渗透调节作用;可溶性蛋白质在 12~4℃ 时起到一定的渗透调节作用;结果表明红花木莲幼苗具有一定的抗寒能力。

参考文献

- [1] 红花木莲. 百度百科 [EB/OL]. <http://baike.baidu.com/view/129316.htm>.
- [2] 陈有民. 园林树木学[M]. 北京:中国农林出版社,2002:97-99.
- [3] 李远发. 低温胁迫对四个不同种源麻风树幼苗生理特性的影响[D]. 南宁:广西大学,2010.
- [4] 王永红,李纪元,田敏,等. 低温胁迫对山茶物种 2 个抗寒性生理指标的影响[J]. 林业科学研究,2006,19(1):121-124.
- [5] 龚吉蕊,张立新,赵爱芬,等. 油蒿抗旱生理生化特性研究初报[J]. 中国沙漠,2002,22(4):387-392.
- [6] 蒋明义,郭邵川,张学明. 氧化胁迫下稻苗体内积累的脯氨酸的抗氧化作用[J]. 植物生理学报,1997,23(4):347-352.
- [7] 汤章城. 逆境条件下植物脯氨酸的累积及其可能的意义[J]. 植物生理学通讯,1984(1):15-21.
- [8] 缴丽莉,倪志云,路丙社,等. 低温胁迫对青榨槭幼树抗寒指标的影响[J]. 河北农业大学学报,2006,29(4):44-47.
- [9] 王华,王飞,陈登文,等. 低温胁迫对杏花 SOD 活性和膜脂氧化的影响[J]. 果树科学,2000,17(3):197-201.
- [10] 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(2):59-63.
- [11] 杨春祥,李宪利,高东升. 钙对低温胁迫下油桃花果膜脂过氧化和保护酶活性的影响[J]. 落叶果树,2004(6):1-3.
- [12] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J]. 植物生理学通讯,1991,27(2):84-90.
- [13] 王建华,刘鸿先,徐同. 超氧化物歧化酶(SOD)在植物逆境和衰老生理中的作用[J]. 植物生理学通讯,1989(1):1-7.
- [14] Gug C L, Hummel R L, Haskell. Induction of freezing tolerance in spinach during cold acclimation[J]. Plant Physiol,1987,84:868-871.
- [15] Mohapatra S S, Poole R J, Dhindsa S S. Changes in protein patterns and translatable messenger RNA populations during cold acclimation of alfalfa [J]. Plant Physiol,1987,84:1172-1176.
- [16] Kazuoka T, Ceda K. Heat-stable COR (cold regulated) proteins associated with freezing tolerance in spinach[J]. Plant Cell Physiol,1992,33(8):1107-1114.

Effects of Chilling Stress on the Physiological Characteristics of *Manglietia insignis* Seedlings

YU Yan-ping¹, LIANG Dong-li², LIU Kun-cheng¹, WANG Ling-hui¹, HUANG Rong-fang¹, WEI Qiang¹

(1. College of Forestry, Guangxi University, Nanning, Guangxi 530005; 2. National Liuwan Forest Farm of Guangxi, Yulin, Guangxi 537800)

Abstract: Taking one-year-old *Manglietia insignis* seedlings as material, the effects of different gradient low temperatures (0, 4, 8, 12, 25℃ (CK)) on physiological characteristics of *Manglietia insignis* seedling were studied. The results showed that under low temperature stress, the cell membrane penetrability increased, MDA pricked up, malondialdehyde accumulated massively, POD activity, free proline and the soluble sugar increased first and then decreased. *Manglietia insignis* had the ability of resisting low temperature stress when they were in the temperature between 12℃ and 4℃. And they would be hurt when temperature decreased to 0℃.

Key words: *Manglietia insignis*; low temperature stress; physiological characteristics