

早春地被植物紫花地丁对低温耐受性的研究

常立博, 贾凌云, 苏雪, 秦晶晶, 孙坤

(西北师范大学 生命科学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要:以紫花地丁组培苗为试材,研究了紫花地丁在不同温度(16、10、4℃)处理下的生理指标的变化,探讨了紫花地丁对早春低温环境的耐受性,为紫花地丁在城市早春绿化中的应用提供依据。结果表明:在16、10、4℃处理下,随着处理时间的增加,紫花地丁组培苗丙二醛(MDA)含量均表现出先上升后下降最后趋于稳定的趋势,超氧化物歧化酶(SOD)活性则表现出先下降后上升最后趋于稳定的趋势,表明在低温下膜系统受到了一定的伤害,但组培苗通过提高自身抗氧化能力,减轻了低温环境对自身的伤害。不同温度处理均影响组培苗叶绿素含量,4℃处理下影响更为明显,但紫花地丁可在一定程度上恢复其叶绿素含量。上述温度处理下, F_o 较未处理时均无明显变化, F_v/F_m 整体均呈下降趋势,但随着处理时间的延长, F_v/F_m 出现了波动和回升,表明低温对PSII反应中心产生了一定的损害,但这种损害可能是可逆的; qP 值较未处理时皆有所下降,但随着处理时间的延长 qP 值出现起伏波动和回升现象,而 qN 值较未处理时均有所升高,表明了紫花地丁在低温环境下可通过增强接收电子的能力和增加光合系统的热耗散来减轻低温环境对自身的伤害。上述生理指标变化表明紫花地丁对低温(4~16℃)具有较好的耐受性。

关键词:紫花地丁;组培苗;低温;生理学变化;耐受性

中图分类号:S 688.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)13-0065-05

温度作为一个重要的环境因子对于植物的生长发育起着至关重要的作用。植物在低温条件下会遭到不同程度的伤害,严重时甚至会导致植株死亡^[1]。早春时环境温度普遍较低,大多数绿化植物不能适应低温,故不能满足早春季城市绿化要求,因此有花植物对低温的耐受性制约着其在北方城市早春绿化中的应用。

紫花地丁(*Viola philippica*)属堇菜科堇菜属多年生草本植物,早春开花,花色艳丽,植株低矮,株丛紧密,养护管理简单,具有草坪所不具备的特殊价值,是重要的早春地被植物^[2]。紫花地丁还具有较强的抗逆境能力,在人为践踏后紫花地丁仍具有再生能力强和恢复生长快的特性^[2]。此外,石爱平等^[3]研究发现紫花地丁能抗 $8.78\text{ kg}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的土壤坚实度;轻度干旱、贫瘠以及水涝对紫花地丁的影响不大,土壤含水量在5%~8%仍能

生长,土壤含盐量0.3%时生长未受影响,并能耐5 d以上的水淹。紫花地丁还具有抗烟尘、抗污染、抗有毒害气体的特点^[4],且适应性强。因此,紫花地丁适于城市露地和城市园林绿化,是极好的地被植物。紫花地丁作为早春观赏性地被植物,低温可能是制约其园林栽培应用的关键,但目前有关低温对紫花地丁的生理影响及其耐受性仍缺乏了解,因此,现选取紫花地丁为试验材料,研究了不同低温胁迫下紫花地丁的相关酶活及叶绿素荧光等生理变化,探讨紫花地丁对低温环境的生理学响应,以期紫花地丁在北方城市早春绿化中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为22℃下培养的生长旺盛、长势较一致的紫花地丁组培苗。

1.2 试验方法

将紫花地丁组培苗,分别在16、10、4℃下培养,每处理重复3次。分别于处理的0(未经低温处理)、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 d后测定组培苗叶绿素含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量及叶绿

第一作者简介:常立博(1989-),男,硕士研究生,研究方向为植物分子生物学。E-mail:380331052@qq.com.

责任作者:孙坤(1965-),男,博士,教授,研究方向为植物系统进化和生物多样性。E-mail:kunsun@nwnu.edu.cn.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31260054)。

收稿日期:2016-02-22

素荧光参数。

1.3 项目测定

叶绿素含量采用丙酮法^[5]测定。超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑(NBT)法^[5]测定。丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法^[6]测定。

采用便携调制式荧光测定仪 PAM-2500 测定叶绿素荧光参数指标,包括初始荧光(F_0)、最大荧光(F_m)、最大量子产量(Yield)、PSII最大光化学效率(F_v/F_m)、光化学淬灭系数(qP)及非光化学淬灭系数(qN)。测定前各叶片暗适应 20 min。所有参数均重复 3 次测量。

1.4 数据分析

采用 Microsoft Excel 进行数据分析和作图;采用 SPSS 17.0 软件对试验数据进行单因素方差分析(ANOVA),采用最小显著差法(LSD)检验差异显著性。

2 结果与分析

2.1 不同温度处理对紫花地丁组培苗叶绿素含量的影响

从图 1~3 可以看出,不同温度处理均影响组培苗叶绿素含量,其中 16 °C 和 10 °C 处理下叶绿素 a、b、a+b 含量均呈现先下降后上升的趋势,约在处理 4.0 d 后逐渐趋于稳定,且稳定后的叶绿素含量均低于未处理时的含量。在 16 °C 下培养 1.0 d 时叶绿素 a、b、a+b 含量降至最低,较未处理时分别下降了 57.4%、48.4% 和 55.1%,但此后开始逐渐上升,最后趋于稳定。10 °C 下培养 3.0 d 时叶绿素 a、b、a+b 含量达到最低值,较未处理时分别下降了 48.1%、46.9%、47.8%,但在第 4 天开始上升,最后趋于稳定。4 °C 处理下叶绿素 a、b、a+b 含量总体呈逐渐下降的趋势,并在培养第 6 天时最低,较未处理时分别下降了 35.4%、37.8% 和 36.4%。与 16 °C 和 10 °C 相比,4 °C 处理第 6 天时叶绿素 a、a+b 含量明显较低。上述结果说明低温对紫花地丁组培苗叶片叶绿素含量有一定的影响,但在 16 °C 和 10 °C 处理下紫花地丁可通过自身调节在一定程度上恢复其叶绿素含量。

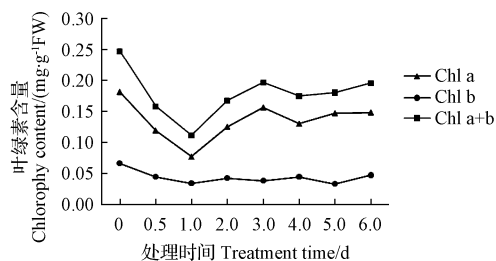


图 1 16 °C 处理下紫花地丁组培苗叶绿素含量的变化

Fig. 1 Change of *V. philippica* somaclone chlorophyll content disposed by 16 °C

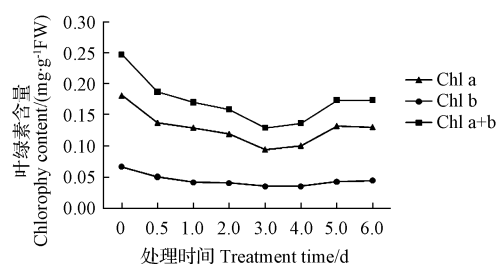


图 2 10 °C 处理下紫花地丁组培苗叶绿素含量的变化

Fig. 2 Change of *V. philippica* somaclone chlorophyll content disposed by 10 °C

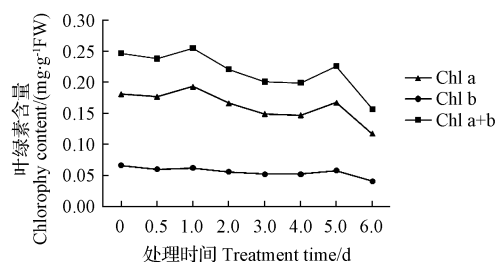


图 3 4 °C 处理下紫花地丁组培苗叶绿素含量的变化

Fig. 3 Change of *V. philippica* somaclone chlorophyll content disposed by 4 °C

2.2 不同温度处理对紫花地丁组培苗超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

由图 4 可知,在 16 °C 和 10 °C 处理下,12 h 时 SOD 活性降低,较未处理时分别下降了 7.4% 和 11.1%,此后 SOD 活性可逐渐恢复到未处理时的水平。但在 4 °C 处理下 SOD 活性明显下降,处理 2.0 d 时 SOD 活性最低,较未处理时降低了 30.8%,在处理 3.0 d 后 SOD 活性开始上升并在处理 4.0 d 后恢复到未处理时的水平。表明 16、10 °C 处理对 SOD 活性影响不大,但 4 °C 低温对组培苗造成了一定伤害。

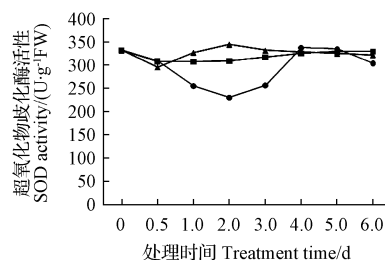


图 4 不同温度处理对紫花地丁组培苗超氧化物歧化酶活性的影响

Fig. 4 Change of *V. philippica* somaclone SOD activity disposed by different temperatures

2.3 不同温度处理对紫花地丁组培苗丙二醛(MDA)含量的影响

图 5 表明,16、10、4 °C 处理下紫花地丁组培苗 MDA

含量均表现出先上升后下降然后趋于稳定的趋势。表明在低温处理初期,低温对组培苗造成了明显影响,MDA 积累,随着处理时间的延长,MDA 含量下降,在 16、10 °C 处理 4.0 d 后紫花地丁组培苗 MDA 含量趋于稳定,且仍高于未处理时的水平,表明组培苗虽然逐渐适应了低温环境,但仍受到膜质过氧化的影响。而 4 °C 处理 6.0 d 时,MDA 含量却较未处理时下降了 31.2%。

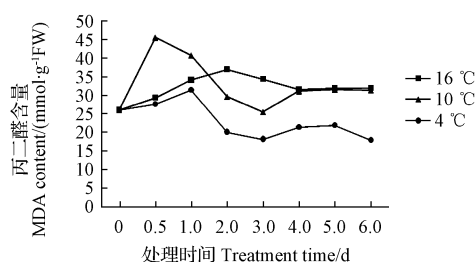


图5 不同温度处理对紫花地丁组培苗丙二醛含量的影响

Fig. 5 Change of *V. philippica* somaclone MDA content disposed by different temperatures

2.4 不同温度处理对紫花地丁组培苗叶绿素荧光特性的影响

2.4.1 不同温度处理对初始荧光(F_0)的影响 初始荧光(F_0)也称基础荧光,是 PSII 反应中心处于完全开放时的荧光产量^[7],PSII 反应中心的破坏或可逆失活都会引起 F_0 的升高。该试验中,不同低温处理和不同处理时期 F_0 值均出现起伏变化,但较未处理时均无明显变化(图 6)。

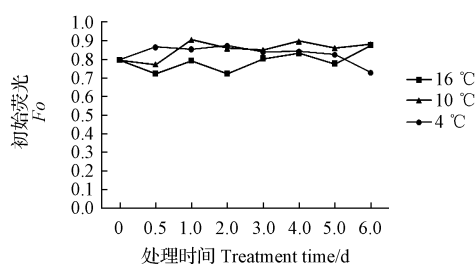


图6 不同温度处理下紫花地丁组培苗初始荧光的变化

Fig. 6 Change of *V. philippica* somaclone F_0 disposed by different temperatures

2.4.2 不同温度处理对 PSII 最大光化学效率(F_v/F_m)的影响 从图 7 可以看出,在 16、10、4 °C 处理下, F_v/F_m 出现了不同程度的波动,但整体均呈现出下降的趋势,且在第 6 天出现了一定的回升。随低温处理时间的延长, F_v/F_m 下降表明低温对 PSII 反应中心产生了一定损害,但 F_v/F_m 的起伏波动和回升表明组培苗自身有一定的调节适应能力。

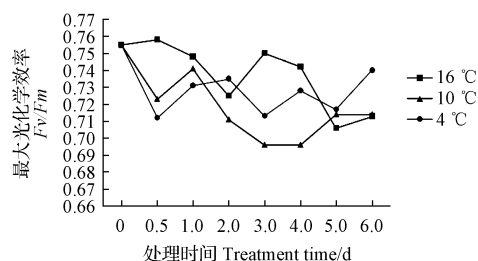


图7 不同温度处理下紫花地丁组培苗最大光化学效率的变化

Fig. 7 Change of *V. philippica* somaclone F_v/F_m disposed by different temperatures

2.4.3 不同温度处理对光化学淬灭系数(q_P)和非光化学淬灭系数(q_N)的影响 随处理时间的延长,16、10 °C 处理下紫花地丁组培苗光化学淬灭系数(q_P)总体上呈现降低的趋势(图 8),在处理 6.0 d 时较未处理时分别下降了 44.0%和 20.6%,而在 4 °C 处理 6.0 d 时 q_P 值较未处理时上升了 30.2%。非光化学淬灭系数(q_N)的变化如图 9 所示,在 16、10、4 °C 下处理 6.0 d 时较未处理时分别增加了 37.3%、63.8%和 45.3%。表明低温胁迫对紫花地丁叶片光合电子传递途径产生了影响,使得光合电子传递能力降低,激发能堆积,但紫花地丁组培苗可以通过增加热耗散以消耗过剩的激发能,从而适应低温环境。

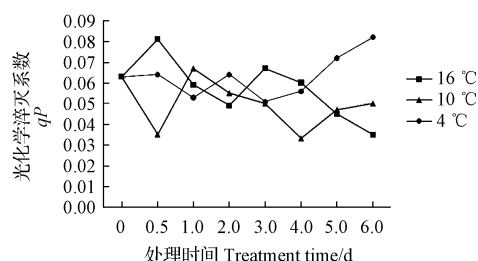


图8 不同温度处理下紫花地丁组培苗光化学淬灭系数的变化

Fig. 8 Change of *V. philippica* somaclone q_P disposed by different temperatures

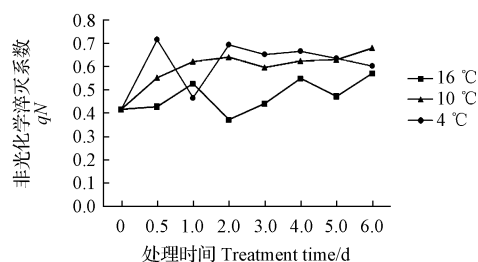


图9 不同温度处理下紫花地丁组培苗非光化学淬灭系数的变化

Fig. 9 Change of *V. philippica* somaclone q_N disposed by different temperatures

3 讨论

温度是影响植物生长、发育,甚至导致植物死亡的关键性的环境因子之一^[8]。低温引起膜系统受损是植物低温伤害的一个重要原因,植物在低温胁迫下会导致体内活性氧代谢的失调和自由基的积累,并进一步导致细胞结构的损伤和生理代谢的紊乱^[9]。氧自由基堆积会对植物细胞造成很大的伤害,并进一步影响植物的光合作用,而超氧化物歧化酶(SOD)是植物对膜质过氧化的酶促防御系统中重要的保护酶,因此,植物体内保护酶 SOD 活性的强弱直接关系到抵御低温伤害的能力^[10],而利用非损伤的叶绿素荧光技术可快速地筛选不同草坪草的耐低温能力^[11]。

对紫花地丁低温耐受性相关生理特性的研究表明,在低温胁迫初期,紫花地丁组培苗体内 MDA 含量都有所上升,表明低温会导致紫花地丁组培苗的膜系统受损。MDA 含量增加的同时 SOD 活性都有不同程度的下降,但随着胁迫时间的延长 SOD 活性又明显升高,这表明此时紫花地丁体内自身产生了抗氧化保护能力,而 SOD 活性又有随底物 O_2^- 浓度增加而上升的特性^[12],因此清除活性氧能力提高,阻止紫花地丁组培苗在低温胁迫下所造成的自由基积累和膜质过氧化,相应的 MDA 含量下降,最后二者的含量均趋于稳定。由此可见,低温对紫花地丁组培苗造成了一定的伤害,但组培苗可以通过自身的调节适应低温(4~16℃)环境。植物体内的叶绿素处于不断的合成和分解中。刘慧英等^[13]认为低温能加剧叶绿体的降解和抑制其合成,因此叶绿素含量的变化也能反映低温对植物的伤害程度。该试验中,16℃和10℃处理下,随着处理时间的延长,紫花地丁组培苗叶绿素含量都呈现出先下降后上升最后趋于稳定的趋势,且稳定后的叶绿素含量均低于未处理时的含量。4℃处理下,叶绿素含量呈总体下降的趋势,并于处理6.0d时达到最低点,其叶绿素含量低于16℃和10℃处理6.0d时的水平。稳定的叶绿素含量可以避免或减少低温下光抑制的发生,减轻对苗木的伤害^[14]。由此可见,低温对紫花地丁造成了一定程度的伤害,但紫花地丁可以通过自身调节适应16℃和10℃的低温环境,并对4℃的低温环境有一定的耐受性。

低温胁迫对植物光合作用的影响是多方面的,叶绿

素荧光特性可以反映出低温胁迫对植物光合的伤害机理。该试验中,不同低温处理和不同处理时期 F_o 值较未处理时无明显变化,而 F_v/F_m 皆呈现出整体下降的趋势,表明低温对 PSII 反应中心产生了一定损害,但 F_v/F_m 的起伏波动和回升表明紫花地丁组培苗自身有一定的调节适应能力。低温胁迫初期,16、10、4℃处理下的 qP 值均变化明显,但随着处理时间的增加, qP 值出现起伏波动,且10℃和4℃处理下, qP 值出现回升趋势,而在不同低温处理下 qN 值均随处理时间延长而上升。这些结果表明紫花地丁组培苗可以通过增强 PSII 反应中心接受电子的能力和增加热耗散以消耗 PSII 反应中心中过剩的激发能来减轻低温对自身的伤害,因而增强了其对低温环境的耐受性。

参考文献

- [1] 潘瑞炽,董愚德.植物生理学[M].北京:高等教育出版社,1995.
- [2] 陈启洁,吴妹菊,李君霞,等.紫花地丁的开发利用与栽培技术研究[J].国土与自然资源研究,2004(1):95-96.
- [3] 石爱平,王红利.紫花地丁的几种抗逆指标研究初探[J].北京农学院学报,1997,12(1):48-53.
- [4] 付印东,孙晓梅,杨宏光,等.紫花地丁组培快繁技术研究[J].北方园艺,2008(5):200-201.
- [5] 王学奎.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2006.
- [6] 郝建军,康宗利,于洋.植物生理学实验技术[M].北京:化学工业出版社,2006.
- [7] 陈建明,俞晓平,程家安.叶绿素荧光动力学及其在植物抗逆生理研究中的应用[J].浙江农业学报,2006,18(1):51-55.
- [8] 计淑霞,戴绍军,刘炜.植物应答低温胁迫机制的研究进展[J].生命科学,2010(10):1013-1019.
- [9] 陈亚华,沈振国.低温,高 pH 胁迫对水稻幼苗根系质膜,液泡膜 ATP 酶活性的影响[J].植物生理学报,2000,26(5):407-412.
- [10] 张学财,周文钊,李俊峰.低温胁迫下4个剑麻品种的 SOD, POD, CAT 变化[J].中国热带农业,2009(4):47-50.
- [11] 马博英,金松恒,徐礼根,等.低温对三种暖季型草坪草叶绿素荧光特性的影响[J].中国草地学报,2006,28(1):58-62.
- [12] 田长恩,梁承鄯.多胺对水稻 CMS 系及其保持系幼穗蛋白质,核酸和活性氧代谢的影响[J].植物生理学报,1999,25(3):222-228.
- [13] 刘慧英,朱祝军,吕国华.低温胁迫对嫁接西瓜耐冷性和活性氧清除系统的影响[J].应用生态学报,2004,15(4):659-662.
- [14] 薛立,任向荣,曹鹤,等.低温胁迫对六种苗木生理特性的影响[J].生态学杂志,2008,27(4):524-531.

Study of Tolerance to Low Temperature in *Viola philippica*, an Early Spring Cover Plant

CHANG Libo, JIA Lingyun, SU Xue, QIN Jingjing, SUN Kun

(College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou, Gansu 730070)

十一个苜蓿品种种子萌发期的耐盐性研究

秦楚¹, 张喜斌¹, 倪星², 平玲², 麻冬梅²

(1. 宁夏大学 生命科学学院, 宁夏 银川 750021; 2. 宁夏大学 农学院, 宁夏 银川 750021)

摘要:以 11 个国内外苜蓿品种为试验材料,通过采用不同浓度 NaCl 处理,探讨了在盐胁迫下种子的发芽势、发芽率和叶绿素含量等指标的变化。结果表明:随着盐浓度的升高,发芽势、发芽率、根长、株高、鲜样质量和叶绿素含量均呈下降趋势。11 个品种的苜蓿种子对盐胁迫的响应程度有差异。对 6 个耐盐品种发芽性状进行聚类分析综合评价,“皇后 2000”耐盐性最强,耐盐性最弱的是“杰克林”。

关键词:苜蓿品种;发芽性状;盐胁迫

中图分类号:S 551⁺.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)13-0069-06

土壤盐渍化是影响农业生产和生态环境的一个重要的非生物胁迫因素,已成为当今世界农业发展亟待解决的重要问题^[1]。为了提高盐碱化土地的有效利用,一方面,可以对盐碱化土壤进行治理,通常的改良措施有工程改良、化学改良和物理改良;另一方面,可以通过种植耐盐碱植物对盐碱化土壤进行生物改良,培育耐盐品种是对盐碱地进行改良和利用的重要措施^[2]。苜蓿作为重要的优良栽培牧草^[3]广泛分布于世界各国,有适应

性强、适口性好、草质优良等优点,在国内外素有“牧草之王”的美称^[4],目前已经成为我国西部生态环境建设和畜牧业生产的重要牧草^[5-7]。在植物的生长发育过程中,种子的萌发过程至关重要,此过程也是抵挡外界环境影响的主要时期^[8]。因此,苜蓿种子萌发期的耐盐性鉴定对于筛选耐盐苜蓿品种、改良盐渍化土壤具有非常重要的实际意义与应用价值。由于苜蓿本身有一定的耐盐性,因而可以在低浓度的盐碱地中良好生长^[9]。在农业结构调整中,牧草生产越来越受到人们的重视,利用盐渍土资源进行牧草生产,将盐渍土改良和利用与畜牧业生产结合起来,可以发挥巨大的生态效益和经济效益^[10]。

关于苜蓿的耐盐性评价,前人已经做了很多的研究。王征宏等^[11]研究了不同地区苜蓿耐盐性,品种之间存在较为显著的差异。王瑞峰等^[12]对 11 个苜蓿品种萌

第一作者简介:秦楚(1992-),女,黑龙江齐齐哈尔人,硕士研究生,研究方向为植物基因工程。E-mail:932505357@qq.com.

责任作者:麻冬梅(1978-),女,宁夏银川人,博士,副教授,现主要从事植物抗逆生理等研究工作。E-mail:576494584@qq.com.

基金项目:宁夏回族自治区农业育种专项资助项目(2014NYYZ040102)。

收稿日期:2016-02-14

Abstract: The physiological changes of *Viola philippica* (an early spring covered plant) were detected to study its tolerance to low temperature environment. The results showed that with the increase of treatment time, the content of MDA increased at first and decreased subsequently going stable finally at 16 °C, 10 °C and 4 °C, respectively. However, the activity of SOD showed the opposite trend, indicating that the tissue cultured seedling of *V. philippica* had capacity to improve the harmfulness of cold environment although the membrane system was injured to some extent. The chlorophyll content of tissue cultured seedlings was affected at different temperatures especially at 4 °C, but could be recovered to some extent. Under the treatment low temperature at 16 °C, 10 °C and 4 °C, respectively, *Fo* showed no significant change compared with different temperature treatment while *Fv/Fm* decreased. With the extension of treatment time, the increasing of *Fv/Fm* indicated that low temperature had a reversible harm to PSII reaction center. The *qP* value firstly decreased then recovered to some extent and *qN* value increased indicating that *V. philippica* improved the capacity of receiving electron and its photosynthetic system of heat dissipation to improve the injury of low temperature. All of the physiological changes under low temperature (4 ~ 16 °C) implied the tissue cultured seedlings of *V. philippica* had tolerance to low temperature.

Keywords: *Viola philippica* tissue cultured seedling; low temperature; physiological changes; tolerance