

# 西南地区野生马蹄金抗寒性研究

费 凌, 干友民, 王昆蕾, 陈 燕

(四川农业大学 草业科学系 四川 雅安 625014)

**摘 要:**以 10 份分别采自四川、云南、贵州的野生马蹄金为材料,美国引进品种普通马蹄金为对照,采用人工低温胁迫法(温度处理分别为 10℃、5℃、0℃、-5℃、-10℃)进行抗寒性试验,测定其叶片相对电导率、SOD 酶活性、MDA 含量、可溶性糖含量、游离脯氨酸含量等生理指标。结果表明:10 份材料对不同低温处理下表现出的抗寒能力差异明显,其中 SD200303、CK 的抗寒能力最强,SD200513、YD200503、YD200504、GD200503 抗寒力次之,SD200308、SD200310、GD200501、GD200502、YD200501 抗寒力最差。

**关键词:**野生马蹄金;抗寒性;生理指标  
**中图分类号:**S 662.2<sup>+</sup>64 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2008)02-0113-04

马蹄金 (*Dichondra repens* J. R. Forst. & G. Forst.)是旋花科(Convolvulaceae)马蹄金属(*Dichondra*)的一种多年生匍匐型草本植物<sup>[1]</sup>。其建坪容易,管理成本低廉,而且适应性广,用途多样,在长江以南地区得到了相当广泛的使用。由于马蹄金生长最适温度为 26~32℃,我国北方冬季寒冷,马蹄金越冬困难,降低了草坪的观赏和使用价值。因此,在目前实际应用中,低温一直是限制马蹄金在北方城市进一步推广种植的主要因素<sup>[2]</sup>。

试验对 10 份野生马蹄金进行低温处理后测定其生理生化指标在不同温度下的变化并对其进行动态分析,最后利用模糊隶属函数法对其抗寒性高低进行聚类分析,为以后在北方城市中广泛应用马蹄金作为草坪用草、选育马蹄金品种提供材料和理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试的马蹄金野生材料为 2003~2005 年采集于四川、云南、贵州境内不同生境条件。1 份对照材料系由美国进口的马蹄金品种,材料来源地见表 1。

### 1.2 方法与处理

采用盆栽试验,植物生长箱内温度设为 5 个水平(10℃、5℃、0℃、-5℃、-10℃),每个温度间隔时间为 3 d。把盆栽置于光照培养箱,光照强度均匀一致,为 1 800~2 000 lx,光照时间为 16 h/d。每个温度处理均测定 5 个指标:相对电导率、SOD 酶活性、MDA 含量、可溶

性糖含量、游离脯氨酸含量。测定时间:2006 年 10 月。

表 1 试验马蹄金来源

材料编号	来 源	生境	海拔/m
SD200303	成都市燎原公司提供	田坎(小叶)	530
SD200308	雅安名山县百丈王家村	机耕道旁	550
SD200513	中江郊区	田坎上	600
SD200310	纳溪棉花坡乡	渔塘边	404
GD200502	贵州平塘县 克度镇	山涧 小路边	848
GD200503	贵州三都县	路边	600
GD200501	贵州独山,打羊乡	公路边,大树下	954
YD200501	云南柯度镇	公路边 大树下及稻田边	1 820
YD200503	云南小哨乡	山坡林下	1 970
YD200504	云南石林县	小路边	1 800
CK	北京绿冠	美国进口	/

相对电导率用电导仪法测定(略有改动)<sup>[3]</sup>。将相对电导率曲线配以 Logistic 方程进行回归分析,求得拐点温度即为叶片组织的半致死温度<sup>[4]</sup>。

SOD 酶活性的测定方法:NBT 法测定<sup>[5]</sup>。丙二醛含量的测定方法:硫代巴比妥酸法<sup>[6]</sup>。可溶性糖含量用蒽酮比色法测定<sup>[5]</sup>。脯氨酸含量用茚三酮水杨酸法测定<sup>[6]</sup>。

### 1.3 分析方法

试验数据均用 SPSS 与 DPS V6.55 统计分析软件处理。

## 2 试验结果与分析

### 2.1 相对电导率变化

根据各材料的相对电导率配合 Logistic 方程可知 SD200308、SD200310、YD200501、GD200501、GD200502 的相对电导率在-2℃~-3℃之间呈现拐点,即抗寒研究上的低温半致死温度 LT<sub>50</sub>,LT<sub>50</sub> 值越小,说明材料能耐更低的温度,即抗寒性越强。SD200513、YD200503、YD200504、GD200503 的 LT<sub>50</sub> 大致在-8℃左右,比前述材料提高了 5℃左右,差异极显著,SD200303、CK 的 LT<sub>50</sub> 分别为-12.54℃、-10.19℃,抗寒性在参试材料中最强(表 2)。

第一作者简介:费凌(1980-),女,在读硕士,研究方向为草坪培育。  
E-mail: ganyoumin1954 @163. com.  
通讯作者:干友民。 E-mail: ganyoumin1954@163. com.  
基金项目:四川省科技厅应用基础研究专项基金资助项目(01SY051-27)。  
收稿日期:2007-10-19

表 2 低温胁迫下马蹄金叶片相对电导率(%)与 LT<sub>50</sub>

材料编号	温度/℃					Logistic 方程	LT <sub>50</sub> /℃	拟合度 R <sup>2</sup>
	10℃	5℃	0℃	-5℃	-10℃			
SD200303	5.19	8.14	18.63	37.93	52.81	$y=135.8418/(1+6.3210e^{0.1470x})$	-12.54	0.9839
SD200308	6.30	12.52	31.44	61.04	70.55	$y=88.2829/(1+1.7401e^{0.2100x})$	-2.64	0.9851
SD200310	5.62	9.46	34.81	75.38	92.33	$y=119.1578/(1+2.4904e^{0.2295x})$	-3.98	0.9829
SD200513	9.90	3.31	28.26	55.19	60.32	$y=110.8212/(1+3.8215e^{0.1694x})$	-7.91	0.8838
YD200501	5.08	8.65	35.83	70.48	84.25	$y=98.1393/(1+1.8443e^{0.2539x})$	-2.41	0.9887
YD200503	5.91	11.18	23.96	40.38	63.32	$y=109.062/(1+3.6711e^{0.1602x})$	-8.12	0.9991
YD200504	5.95	7.80	19.45	38.03	46.53	$y=89.4058/(1+3.6605e^{0.1499x})$	-8.66	0.9683
GD200501	8.10	13.22	39.75	63.37	87.75	$y=109.2109/(1+1.9481e^{0.2035x})$	-3.28	0.9945
GD200502	5.81	8.41	35.82	70.21	86.61	$y=105.8368/(1+2.1303e^{0.2366x})$	-3.2	0.9866
GD200503	4.22	5.20	21.01	30.68	61.85	$y=100.7533/(1+4.6990e^{0.1855x})$	-8.34	0.9757
CK	4.65	5.57	21.33	31.37	68.11	$y=128.5711/(1+6.0500e^{0.1767x})$	-10.19	0.9733

2.2 低温胁迫对马蹄金 SOD 活性的影响

从表 3 可知,在 10℃时各个材料间 SOD 酶活性差别不大,随着温度下降则材料间差异显著。材料 YD200501 的 SOD 酶对低温特别敏感,5℃时即达到峰值,以后则随温度降低急速下降,SOD 酶功能已丧失;材料 SD200308、SD200310、GD200501、GD200502 的 SOD 活性在 0℃时达到峰值,然后随着温度降低 SOD 活性下降,-10℃时下降幅度较-5℃时不大;材料 SD200303、SD200513、YD200503、YD200504、GD200503 和 CK 的 SOD 活性从 10℃开始持续上升,一直到-5℃才达到峰值,-10℃时开始下降,说明其酶功能失活。

表 3 低温处理下 SOD 酶活性统计

材料	10℃	5℃	0℃	-5℃	-10℃
SD200303	314.86Ee	372.19Dd	492.83Bc	535.27Aa	429.48Cc
SD200308	241.86Dd	323.45Bb	412.15Aa	297.88Cc	208.42Ee
SD200310	321.80Cc	356.03Bb	474.77Aa	320.81Cc	256.73Dd
SD200513	266.49Ee	335.36Cc	410.47Bb	506.93Aa	294.06Dd
YD200501	335.97Cc	488.94Aa	384.36Bb	291.69Dd	201.45Ee
YD200503	357.08Dc	377.57Cc	409.51Bb	482.64Aa	267.68Ed
YD200504	292.00Dd	320.23Cc	384.41Bb	439.23Aa	284.05Dd
GD200501	320.51Cc	368.88Bb	464.46Aa	288.54Dd	230.52Ee
GD200502	308.74Cc	349.87Bb	466.05Aa	261.01Dd	214.36Ee
GD200503	329.75Dd	366.25Cc	423.13Bb	487.47Aa	316.18Dd
CK	305.13Ee	404.05Dd	517.89Bb	572.56Aa	444.21Cc

注:多重比较采用邓肯氏新复极差法(SSR法),表中同一行数据中不同大写字母表示差异极显著( $p=0.01$ ),不同小写字母表示差异显著( $p=0.05$ ),下同。

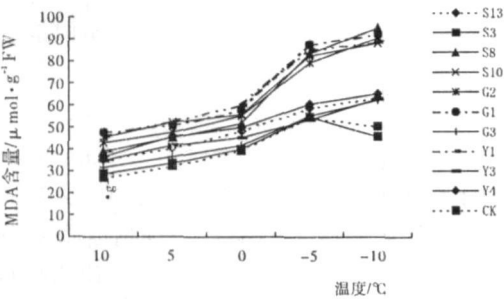


图 1 低温胁迫下 MDA 含量变化趋势

2.3 低温胁迫对马蹄金 MDA 含量的影响

在低温处理下,11 份供试材料叶片中 MDA 的含量随着温度的降低,总体是呈升高趋势,这说明膜脂过氧

化程度加剧,膜受伤害程度增大。材料 SD200308、SD200310、YD200501、GD200501、GD200502 在温度从 10℃降到 0℃时 MDA 含量逐渐上升,从 0℃继续降低到-5℃时又急速上升,到-10℃时增速减缓,呈现一个“S”形曲线。而 SD200513、YD200503、YD200504、GD200503 在温度从 10℃降到-10℃都是缓慢上升;SD200303 和 CK 在从-5℃降到-10℃时 MDA 含量还分别从 54.63  $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ 、54.56  $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$  下降到 45.66  $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ 、50.49  $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ ,说明 SD200303 和 CK 的膜保护系统比其它材料的膜保护系统对低温的抵抗能力更强(图 1)。

方差分析结果显示:各供试材料间的 MDA 含量随温度变化差异极显著( $P<0.01$ )(表 4),说明不同来源地的野生马蹄金材料对不同低温的敏感度不一致,且 SD200308、SD200310、YD200501、GD200501、GD200502 材料的 MDA 含量一直高于 SD200303、SD200513、YD200503、YD200504、GD200503 材料,说明在相同低温下的前者的膜保护系统比后者的膜保护系统活性要低。

表 4 不同低温处理下 MDA 含量方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
温度	10 727.7412	4	2 681.9353	75.7170	0.0001
材料	5 552.1806	10	555.2181	15.6750	0.0001
误差	1 416.8248	40	35.4206		
总变异	1 7696.7466	54			

2.4 低温胁迫对马蹄金可溶性糖含量的影响

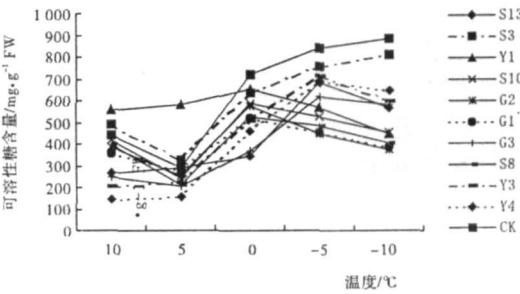


图 2 低温胁迫下可溶性糖含量变化趋势

随着处理温度的降低,叶片中的可溶性糖含量总体呈逐渐增加趋势(除 YD200501 外),SD200308、

SD200310、GD200501、GD200502 的可溶性糖含量变化较大,经历了“降—升—降”的过程,在 0℃时达到峰值;材料 SD200513、YD200503、YD200504、GD200503 至-5℃时达顶峰;SD200303、CK 则先降后升,至-10℃时达最大值后仍然没有下降的趋势,说明其还可能忍受更低温度 YD200501 在 10℃时可溶性糖含量在全部材料中最高,但其在 0℃时已达峰值,以后则迅速下降,成为全部材料中的特例(图 2)。

统计分析结果显示:温度间变异达极显著水平( $P<0.01$ ),证明温度对可溶性糖含量贡献最大,即影响最大(表 5)。材料间差异也显著,证明不同来源地的野生材料其抗寒能力差异显著。

表 5 不同温度下可溶性糖含量方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
温度	924 368.8804	4	231 092.2201	18.4370	0.0001
材料	376 381.2184	10	37 638.1218	3.0030	0.0064
误差	501 374.1612	40	12 534.3540		
总变异	1 802 124.2599	54			

2.5 低温胁迫对马蹄金游离脯氨酸含量的影响

一般情况下,Pro 积累峰值越大、出现峰值时间越晚的植物抗寒性越强。结果表明:供试材料中大部分材料以 0℃为分界线,温度从 10℃降到 0℃,从 0℃降到-10℃之间叶片中脯氨酸积累量差异显著(表 6),在整个低温处理过程中,各材料脯氨酸积累峰值大小差别不是很大,变化范围在 7.243~10.440 mg/g FW,但峰值出现的时间不同,SD200308、SD200310、YD200501、GD200501、GD200502 峰值出现在 0℃,SD200513、YD200503、YD200504、GD200503 峰值出现在-5℃,SD200203、CK 峰值出现在-10℃,即它们出现峰值的温度差异极显著,说明 SD200303、CK 抗寒力最强,SD200513、YD200503、YD200504、GD200503 抗寒力次之,SD200308、SD200310、YD200501、GD200501、GD200502 抗寒力最差。由此说明,在低温胁迫下,马蹄金能产生相对较多的脯氨酸来增强抗寒能力,这与低温胁迫会造成植物体内游离脯氨酸积累这一结论相符。

表 6 在不同低温条件下 Pro 累积比较

材料	10℃	5℃	0℃	-5℃	-10℃
SD200303	6.502ABb	6.033Bb	5.837Bb	9.482ABa	10.440Aa
SD200308	2.714Cd	7.204ABab	8.714Aa	6.746ABbc	5.328Bc
SD200310	3.516Bb	5.599ABb	7.617Aa	4.934ABb	3.601Bb
SD200513	2.590Bb	3.822Bb	7.480Aa	8.621Aa	8.779Aa
YD200501	2.961Bb	7.007Aa	7.714Aa	4.241Bb	2.902Bb
YD200503	3.207Bc	4.184Bbc	5.727ABb	7.773Aa	8.482Aa
YD200504	2.961Cb	3.493BCb	4.282BCb	6.529ABa	8.231Aa
GD200501	3.331Bb	4.487Bb	8.670Aa	4.632Bb	3.790Bb
GD200502	3.824Bb	5.230ABab	7.243Aa	6.063ABa	5.817ABab
GD200503	3.207Bb	4.401Bb	5.009Bb	8.022Aa	8.583Aa
CK	7.525ABbc	6.664Bc	6.674Bc	9.488ABab	10.332Aa

2.6 抗寒性聚类分析

对 11 个参试材料与抗寒性相关的各指标(相对电导率、SOD 活性、MDA 含量、可溶性糖含量、脯氨酸含

量)用模糊数学隶属函数法计算平均值,结果见表 7。

表 7 马蹄金抗寒性指标值

材料	10℃	5℃	0℃	-5℃	-10℃
SD200303	0.6890	0.5635	0.5838	0.7572	0.7877
SD200308	0.2862	0.4927	0.5407	0.2979	0.1865
SD200310	0.3857	0.3259	0.6052	0.3366	0.3215
SD200513	0.4195	0.2235	0.3908	0.7229	0.4984
YD200501	0.4290	0.6972	0.4819	0.2726	0.2160
YD200503	0.4455	0.4073	0.3858	0.6571	0.4946
YD200504	0.2712	0.1623	0.1678	0.5161	0.4379
GD200501	0.4108	0.3839	0.6295	0.1804	0.2418
GD200502	0.3901	0.3320	0.5851	0.2934	0.2801
GD200503	0.3846	0.3286	0.3065	0.5635	0.5265
CK	0.6694	0.5795	0.7335	0.7962	0.8718

用每个马蹄金材料各项指标隶属函数平均值作为最后野生马蹄金抗寒能力综合鉴定标准进行聚类分析,结果见图 3。

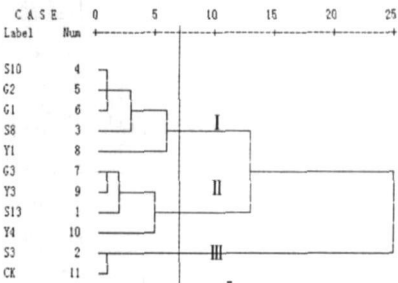


图 3 抗寒性聚类图

11 个材料明显地分为 3 类:第 1 类有 5 个材料:SD200308、SD200310、YD200501、GD200501、GD200502;第 2 类有 4 个材料:SD200513、YD200503、YD200504、GD200503;第 3 类有 2 个材料:SD200303、CK。综合 5 个生理指标的平均隶属函数值判定,第 1 类的抗寒性较差,第 2 类抗寒性较强,第 3 类抗寒性最强。

3 讨论与小结

低温条件下相对电导率的大小是检验膜质受损程度和抗寒性的重要指标。试验结果表明:在不同低温处理条件下,各马蹄金材料的相对电导率随着温度的降低而不断增加(表 2),说明低温胁迫下叶片原生质膜受到伤害,稳定性降低,电解质外渗,膜半透性功能逐渐丧失。SD200303、SD200513、YD200503、YD200504、GD200503、CK 等材料半致死温度在-7.91℃~-12.54℃范围内,雅安最冷月均温仍在 0℃以上,但上述材料仍然枯黄严重,推测可能是试验中低温处理时间仅为 3 d,马蹄金还能调动自身抵御机制忍受低温,在自然条件下却是长时间的遭受霜冻,严重破坏了马蹄金的生理活动,包括膜透性丧失,SOD 失活无法逆转,导致代谢崩溃,叶片死亡。不同的膜质透性变化模式,很可能与不同材料自身的抗逆保护性策略有关。

研究表明(表 3),低温胁迫下马蹄金的 SOD 酶活性都有不同程度的增加,随着胁迫的加强,SOD 酶活性增加到一定值后又逐渐下降,其变化趋势与 MDA 含量一

致,说明当酶活性较强时,植物体内的自由基和保护酶基本处于平衡状态,膜脂过氧化水平较低,因而过氧化产物MDA的积累较少;反之,MDA积累则加剧。SOD活性下降是因为随着温度的降低,马蹄金受害程度的加重,高浓度的自由基超过伤害“阈值”,必将导致酶蛋白分子的破坏,从而降低了SOD酶活力<sup>[79]</sup>,导致MDA含量增加。

可溶性糖是冷害条件下的细胞内保护物质,其含量与植物的抗寒性之间呈正相关<sup>[10]</sup>。可溶性糖含量随着温度下降YD200501外经历了“下降—上升—下降”的过程,与前人研究认为可溶性糖含量随着逆境胁迫加剧逐渐上升结论不符,这可能是马蹄金作为C<sub>3</sub>草坪草但同时兼具C<sub>4</sub>植物的某些生理特征,储存的果聚糖靠近生长点,外界温度降低时,它能够通过分解果聚糖仍然进行正常的生理活动,直到温度下降到一定的阈值,才开始继续储存果聚糖抵御低温胁迫。当温度继续降到0℃以下时,可溶性糖开始下降,这可能是由于细胞结构被破坏,生理功能丧失,果聚糖合成途径中断。

不少研究表明,抗寒性较强的品种游离脯氨酸积累的敏感性差于抗寒性较弱的品种,其最大积累量高于抗寒性弱的品种,而且持续积累的时间长于抗寒性较弱的品种<sup>[11-14]</sup>。试验研究表明,随着温度的降低,马蹄金除SD200303、CK外其余材料游离脯氨酸含量表现出不断升高的趋势,当温度达到一定阈值后又迅速下降(表6),这可能是由于体内酶受到伤害而失去活性,阻碍了Pro的合成过程。说明SD200303和CK抗寒性高于其它材料,与最后结论相同。低温胁迫下,游离脯氨酸积累随胁迫强度和材料抗寒性的不同表现出一定的规律性,而且通过游离脯氨酸含量来评价的各马蹄金材料的抗寒等级与其它抗寒指标得出的结论大体一致。因此可以认为,低温胁迫下游离脯氨酸积累可以作为马蹄金抗寒性的鉴定指标;但仅用低温胁迫几天时间的游离脯氨酸积累量与植物品种抗寒性呈正相关或负相关的单一标准来判定各马蹄金材料的抗寒性是不全面的。

研究通过实验室盆栽试验,综合相对电导率、SOD酶活性、MDA含量、可溶性糖含量和游离脯氨酸含量等指标,采用模糊隶属函数法求其平均值聚类后将11份马蹄金材料归为3类:SD200303的抗寒能力最强,SD200513、YD200503、YD200504、GD200503抗寒力次之,SD200308、SD200310、GD200501、GD200502、YD200501抗寒力最差。从各指标在不同低温下的不同变化分析发现,野生马蹄金的抗寒性差异明显,各自的抗寒机理也存在差异,其中有5份材料的半致死温度达到-5℃以上,可从中选育出抗寒性强的材料进行下一步的研究工作。

### 参考文献

- [1] 方瑞征, 黄素华. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1979.
- [2] 王义彰. 马蹄金与匍茎剪股颖光合生理生态的比较研究[J]. 草业学报, 1994(12): 1-6.
- [3] 李合生, 孙群, 赵世杰, 等. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 7.
- [4] 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 7.
- [5] 熊庆娥. 植物生理学实验教程[M]. 四川: 科学技术出版社, 2003: 124-126.
- [6] 张宪政. 作物生理研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1992: 148-149, 215-216.
- [7] 张泽煌, 黄碧琦. 低温胁迫对茄子的伤害及茄子的抗寒机理[P]. 福建农业报, 2000-15(1): 40-42.
- [8] 彭昌操, 孙中海. 低温锻炼期间柑桔原生质体SOD和CAT酶活性的变化[J]. 华中农业大学学报, 2000, 19(4): 384-387.
- [9] 张木清, 陈如凯, 吕建林, 等. 甘蔗叶绿素荧光参数、MDA含量及膜透性与耐旱性的影响[J]. 福建农业大学学报, 1999, 28(1): 1-7.
- [10] 吴娜, 周怀军, 肖芳. 3种常绿阔叶植物越冬期间叶片水分及可溶性糖的动态变化[J]. 西北林学院学报, 2006, 21(4): 36-38.
- [11] Jones M M, Tuner N C. Osmotic adjustment in leaves of sorghum in response to water deficits[J]. Plant Physiol, 1978, 61: 122-128.
- [12] 陈杰忠, 徐春香, 梁立峰. 低温对香蕉叶片中蛋白质及脯氨酸的影响[J]. 华南农业大学学报, 1999, 20(3): 54-58.
- [13] 龚明, 刘友良, 朱培仁. 低温下稻苗叶片中蛋白质及游离氨基酸的变化[J]. 植物生理学通讯, 1989, 25(4): 18-22.
- [14] 彭艳华, 刘成运, 卢大炎, 等. 低温胁迫下凤眼莲叶片的适应[J]. 武汉植物研究, 1992, 10(2): 123-127.

## Study on Cold Resistance of Native *Dichondra repens* in the Southwest of China

FEI Ling, GAN You-min, WANG Kun-lei, CHEN Yan

(Department of Grassland Science of Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan, 625014, China)

**Abstract:** The *Dichondra* imported from the U.S was used as CK, through tested 10 wild samples of *Dichondra repens* collected from different areas in Sichuan, Guizhou and Yunnan province, by artificial low temperature stress (the temperature treatment were 10℃, 5℃, 0℃, -5℃, -10℃), mensurating the relative electrical conductivity rate, the activities of SOD, the content of MDA, soluble sugar and proline, which all showed that: 10 wild samples have significant differences on cold resistance at different low temperature treatment. The sample SD200303 and CK showed the strongest cold resistance; the sample SD200513, YD200503, YD200504 and GD200503 showed medium cold resistance; the sample SD200308, SD200310, YD200501, GD200501 and GD200502 showed the worst cold resistance.

**Key words:** *Dichondra repens*; Cold resistance; Physiological