

文章编号: 1001-1498(2008)02-0235-04

低温胁迫对 *Guadua amplexifolia* 抗寒性生理指标的影响

马兰涛, 陈双林*, 李迎春

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400)

摘要:在自然环境条件下对国外引进的热带竹种 *Guadua amplexifolia* 7个日最低气温条件下的过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)等 7项抗寒性生理指标进行了测定,结果表明:各抗寒性生理指标与日最低气温具有良好的相关性;9 为轻微的低温逆境,自由水/束缚水比值呈下降趋势;3 时低温胁迫生理伤害较为严重,POD、CAT、可溶性蛋白和丙二醛(MDA)含量达峰值;0 时 SOD、游离脯氨酸含量达峰值;*G. amplexifolia* 生长的极限低温为 -2 左右。

关键词:低温胁迫; *Guadua amplexifolia*; 生理指标

中图分类号: S722.3⁺6

文献标识码: A

The Influence of Low Temperature Stress on the Cold-resistance Physiological Indexes of *Guadua amplexifolia*

MA Lan-tao, CHEN Shuang-lin, LI Ying-chun

(Research Institute of Subtropical Forestry, CAF, Fuyang 311400, Zhejiang, China)

Abstract: At the natural condition, 7 physiological indexes of *Guadua amplexifolia* such as peroxidases (POD), Superoxide Dismutase (SOD), catalase (CAT) and so on were measured at 7 different temperatures, which introduced from tropical region abroad. The result indicated: all indexes measured showed high relativity with low temperature stress. At 9 °C, the bamboo suffered slight low temperature stress and the ratio of free-water to bound-water decreased evidently; POD, CAT, Pr and malondialdehyde (MDA) reached the maximum at 3 °C and the physiological injury was serious; SOD and Pro reached the maximum at 0 °C; the lowest temperature *Guadua amplexifolia* could endure was about -2 °C.

Key words: low temperature stress; *Guadua amplexifolia*; physiological indexes

Guadua amplexifolia J. S. Presl 隶属竹属 (*Guadua*), 是南美洲主要栽培竹种之一, 为大型丛生优质材用竹种, 生物量大, 竹秆中下部实心, 具有很高的开发利用价值。2002年春季从厄瓜多尔引种 *G. amplexifolia* 至福建省华安竹类植物园, 经 4 a 多的引种栽培, 表现出良好的生长态势。影响 *G. amplexifolia* 生长的主要环境因子为温度、湿度, 其中低温是其生态适生区域的决定性因子。为确定该引进竹种在我国的适

生区域, 为引种栽培提供科学依据, 在自然环境条件下开展了低温胁迫对其生理指标的影响研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2006年10月从福建省华安竹类植物园选取立竹平均地径 0.3 cm, 平均高度 50 cm, 生长健壮的 *G. amplexifolia* 成丛竹苗, 引种至浙江富阳中国林科院

收稿日期: 2007-01-29

基金项目: 国家林业局“948 引进项目“优良速生竹种引进”(2000-04-16)

作者简介: 马兰涛(1982—), 女, 河北唐县人, 在读硕士生。

*通讯作者: 陈双林(1965—), 男, 浙江龙游人, 研究员, 从事竹林生态研究。E-mail: cslbamboo@126.com

亚热带林业研究所进行分丛基质盆栽(每盆丛立竹数 13 株左右,共 4 盆)。盆栽竹苗在温室中经 1 个月的生理恢复栽培后,于 11 月中旬置于自然环境条件下实施抗寒性试验。试验地属亚热带季风气候区,年平均气温 16.2,最热月平均气温 28.7,最冷月平均气温 3.6,极端最高气温 40.2,极端最低温度 -14.4,年均无霜期 196 d,年均降水量 1464 mm,蒸发量 1392 mm,平均相对湿度 76%。盆栽竹苗除浇水外,不进行施肥、间伐等管理措施。

1.2 试验方法

1.2.1 实验材料选取 因竹丛中 1 年生立竹较少且尚未完全抽枝展叶,故选取 2 年生立竹梢部竹叶进行各项生理指标的测定。每个指标 3 个重复,取平均值。

1.2.2 实验温度设置与日最低气温测定 11 月中旬开始,在自然降温过程中,以 2~3 为一个温度梯度,选择 12、9、7、5、3、0、-2 7 个温度。日最低气温用最高最低温度计逐日测量,当日最低气温达到所选择的试验温度时,于当日 8:00 时左右取样,使取样时气温和日最低气温的差值均在 0.5~1^[1-2],取样后立即进行 7 个生理指标的测定。

1.2.3 生理指标测定 过氧化物酶(POD)采用愈创木酚法测定,过氧化氢酶(CAT)采用紫外吸收法测定,超氧化物歧化酶(SOD)采用淡蓝四唑光化还原法测定,游离脯氨酸测定采用酸性茚三酮比色法,可溶性蛋白采用考马斯亮蓝法测定,详细方法以及丙二醛(MDA)、自由水/束缚水比值等生理指标测定参照文献[3]。

2 结果与分析

2.1 竹苗形态变化

日最低气温 3 以上,竹苗生长表现正常,有新叶和侧枝萌发,日最低气温 12 以上时有竹笋萌发,叶片无受冻褐变状;日最低气温 3 时,竹叶自叶尖始受冻褐变,褐变程度从立竹下部向上逐渐加重,以立竹梢部叶片受冻褐变最重。说明日最低气温 3 对 *G. amplexifolia* 已造成低温生理伤害;日最低气温 0 时,80% 以上叶片失水卷曲;至日最低气温 -2 时,立竹叶片全部卷曲。当第 1 次出现日最低气温 -2 后,波动的日最低气温 3 以下持续天数达到 6 d 左右,立竹地上部分的竹叶、枝条白化干枯,并逐渐脱落,仅部分立竹竹秆基部保持

绿色。

2.2 低温胁迫对 SOD、POD、CAT 酶活性的影响

2.2.1 SOD 活性 超氧化物歧化酶(SOD)是一种含金属的抗氧化酶,在活性氧清除反应中,处于核心地位,能将超氧化物阴离子自由基快速氧化为过氧化氢和分子氧。在逆境条件下,SOD 能被活性氧诱导产生,从而减轻对细胞膜的伤害^[4-5]。*G. amplexifolia* 在日最低气温 12 开始的降温过程中,SOD 活性逐渐提高,日最低气温 9 时,SOD 活性上升到一个较高水平(296.27 $u \cdot g^{-1}$),表明此温度对该竹种已形成低温的影响。0 时 SOD 活性上升到峰值(421.53 $u \cdot g^{-1}$) (图 1),说明日最低气温 0 已是严重的低温胁迫,SOD 的保护能力达到极限,竹子严重冻害。

2.2.2 POD 活性 过氧化物酶(POD)的主要作用是催化过氧化物分解,从而降低其对膜的伤害作用,提高植物的抗逆性。已有多项研究表明 POD 的活性和植物的抗寒性有着显著的相关性^[6-7]。在本试验中,*G. amplexifolia* 的 POD 活性和温度的相关系数为 0.8169,达到显著水平,具有随温度的下降呈现先升后降的变化规律,在日最低气温 3 时达到峰值(1219.23 $u \cdot mg^{-1} \cdot min^{-1}$) (图 1),表明该竹种在日最低气温 3 条件下已受到严重的低温伤害。

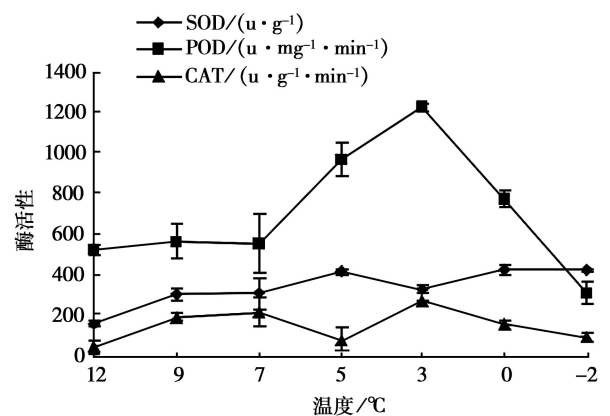


图 1 酶活性随温度的变化

2.2.3 CAT 活性 过氧化氢酶(CAT)是细胞膜逆境胁迫下的保护酶之一,可以催化过氧化氢分解为水和氧气而减轻逆境下对细胞膜的伤害。*G. amplexifolia* 的 CAT 活性在日最低气温 3 时达到峰值,继而下降,表现出和 POD 相同的变化规律(图 1),和温度的相关性达到显著水平($R=0.8777$)。

试验所测定的 3 种酶活性均随温度变化呈现较

强的规律性,可以作为 *G. amplexifolia* 抗寒性评价的生理指标,而 POD 和 CAT 对温度的灵敏性高于 SOD^[8]。因此,综合 3 种酶的试验测定结果,当日最低气温为 3 时,*G. amplexifolia* 表现出严重的低温胁迫。

2.3 可溶性蛋白和游离脯氨酸含量的变化

可溶性蛋白和游离脯氨酸都是细胞渗透调节物质,可以调节细胞的渗透势,降低细胞结冰的温度,提高植物的抗寒性。

2.3.1 可溶性蛋白含量 可溶性蛋白的亲水胶体性较强,可以明显增加细胞的持水力,增强植物的抗寒能力,在相同低温胁迫条件下,可溶性蛋白含量越高,植物体的抗寒性也就越高^[9-10]。*G. amplexifolia* 叶片可溶性蛋白含量虽在日最低气温 5 之前出现了一定的波动,但总体呈随着温度的下降表现出先升后降的趋势,并在 3 时达到峰值(324.63 mg·g⁻¹) (图 2),说明 3 以下的低温能造成该竹种严重的低温胁迫,已超出可溶性蛋白的调节能力。

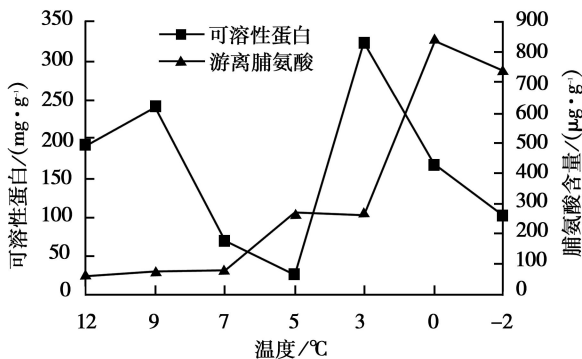


图 2 可溶性蛋白和脯氨酸含量随温度的变化

2.3.2 游离脯氨酸含量 游离脯氨酸作为渗透调节物质,大多数研究证明其含量和植物抗寒性有很大的相关性,其含量在植物可忍受的低温胁迫下,呈现出上升的趋势^[11],也有研究认为其与抗寒性关系不大^[12]。*G. amplexifolia* 叶片游离脯氨酸含量随着温度的下降呈现明显的先升后降趋势,表明适当的低温诱导可以使该竹种游离脯氨酸积累而提高抗低温胁迫能力。当日最低温度为 0 时游离脯氨酸含量达峰值(846.81 μg·g⁻¹) (图 2),可见 0 以下的低温胁迫已超出了游离脯氨酸的调节范围。

2.4 自由水/束缚水比值的变化

自由水/束缚水比值反映植物体的代谢活力,比值越高植物代谢越旺盛,抗寒性就越弱,反之代谢活性越低,抗寒性越强^[3]。从 *G. amplexifolia* 叶片自

由水/束缚水的比值分析,日最低气温 12 时较高(19.29),9 时急剧下降至 2.12,其后随温度的降低呈波动式的下降趋势,并维持在一个较低的水平(图 3),可见,该竹种在日最低气温 9 时植物体代谢活动开始下降,也即说明,日最低气温 9 时已经是轻微的逆境,竹子生长策略开始发生转变,从生长为主转向以抵御不良环境为主。

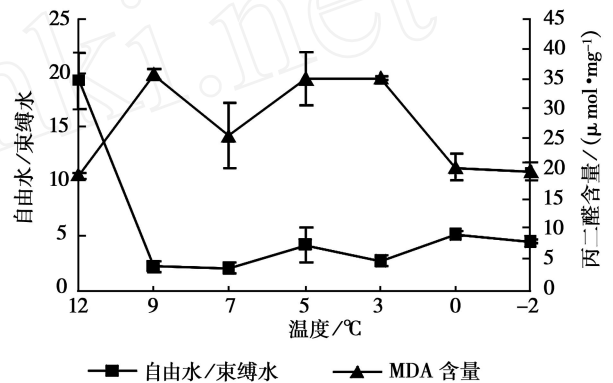


图 3 丙二醛含量和自由水/束缚水比值随温度的变化

2.5 MDA 含量的变化

丙二醛(MDA)是膜脂氧化的主要产物之一,可以与蛋白质、核酸发生反应,还可以使纤维素分子间的桥键松弛或抑制蛋白质的合成,MDA 的积累可以对膜和细胞造成一定伤害^[13]。日最低气温 9 时 *G. amplexifolia* 叶片 MDA 的含量升高,表明 9 的轻微低温胁迫已经造成 MDA 的积累,随后低温诱导细胞保护酶活性提高,对影响植物生长的膜脂过氧化有一定的抑制作用,使 MDA 含量在日最低气温 7 时有一定幅度的下降(28.3%),随着温度的继续下降,膜脂过氧化作用进一步加强,MDA 积累量回升,在日最低气温 3 时,MDA 含量达到峰值(35.22 μmol·mg⁻¹),此时 POD 和 CAT 等保护酶的活性也达到峰值,这和冯建灿等^[14]的研究结果一致。分析认为,在一定低温条件下膜脂过氧化作用最强时植物体自身的保护系统活性也最强,这可能是植物在逆境条件下的一种适应反应^[15]。MDA 含量在 3 后呈急剧下降趋势(图 3),说明日最低气温降到 3 以下时,细胞膜结构已受到严重破坏。

3 结论

目前关于植物抗寒的研究很多,而就竹类植物的抗寒性研究较少,而且主要集中于表征现象的观察,通过抗寒性生理指标的测定来研究竹子的抗寒能力少有涉及^[16]。从样品处理方法看,一是在人工

气候室利用盆栽苗进行各指标的变化规律研究^[15], 另外就是对离体器官进行低温处理^[12, 17]。本实验利用完全自然的降温过程, 并且取样时气温和日最低气温的差值均在 0.5~1, 研究结果也表明各抗寒性生理指标均表现出较强的规律性和温度之间较高的相关性, 具有一定的可靠性, 研究结论对 *G. amplexifolia* 的引种栽培具有一定的指导意义。

从试验结果综合分析, 日最低气温 9 以上, *G. amplexifolia* 代谢旺盛, 未受到低温胁迫, 9 时自由水/束缚水比值明显减小, 代谢活性开始下降; 3 时出现轻微的叶尖褐变, 测定的各项指标也达到峰值, *G. amplexifolia* 开始受到较为严重的低温伤害; -2 时叶片全部干枯卷曲, 各项生理指标均下降到试验最低水平, 经历 -2 低温伤害后, 持续 2 以下低温 6 d 左右, 竹子所有枝条和竹秆上部白化干枯, 可以认为 -2 已是 *G. amplexifolia* 的极限低温。

参考文献:

- [1] 段若溪, 姜会飞. 农业气象学 [M]. 北京: 气象出版社, 2005: 3
- [2] 张德山, 龚以文, 白 钢, 等. 日较差分级的北京地面逐时气温预报 [J]. 气象, 1999, 25 (5): 54 - 57
- [3] 郝再彬, 苍 晶, 徐 仲. 植物生理实验技术 B 册 [M]. 哈尔滨: 哈尔滨出版社, 2002
- [4] 谢岩黎, 李元瑞, 张广彬, 等. 大蒜细胞溶质中超氧化物歧化酶的性质研究 [J]. 食品科学, 2003, 24 (4): 140 - 142
- [5] 姜慧芳, 任小平. 干旱胁迫对花生叶片 SOD 活性和蛋白质的影响 [J]. 作物学报, 2004, 30 (2): 169 - 174
- [6] Janda T, K Óa E, Szalai G, *et al*. Investigation of antioxidant activity in maize during low temperature stress [J]. Acta Biologica Szegediensis, 2005, 49 (1 - 2): 53 - 54
- [7] 杨向娜, 魏安智, 杨途熙, 等. 仁用杏 3 个生理指标与抗寒性的关系研究 [J]. 西北林学院学报, 2006, 21 (3): 30 - 33
- [8] 彭立新, 木怀瑞, 李德全. 水分胁迫对苹果属植物抗氧化酶活性的影响研究 [J]. 中国生态农业学报, 2004, 12 (3): 44 - 46
- [9] 陈禅友, 汪汇东, 丁 毅. 低温胁迫下长豇豆幼苗可溶性蛋白质和细胞保护酶活性的变化 [J]. 园艺学报, 2005, 32 (5): 911 - 913
- [10] 余文琴. 低温胁迫下番荔枝叶片若干生理生化指标的变化 [J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2006, 35 (2): 161 - 164
- [11] 丁 灿, 杨清辉, 李富生, 等. 低温胁迫等对割手密和斑茅叶片游离脯氨酸含量的影响 [J]. 热带作物学报, 2005, 26 (4): 52 - 56
- [12] 邓雪柯, 乔代蓉, 李 良, 等. 低温胁迫对紫花苜蓿生理特性影响的研究 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2005, 42 (1): 190 - 194
- [13] 武维华. 植物生理学 [M]. 北京: 科学出版社, 2003: 426 - 462
- [14] 冯建灿, 张玉洁, 杨天柱. 低温胁迫对喜树幼苗 SOD 活性、MDA 和脯氨酸含量的影响 [J]. 林业科学研究, 2002, 15 (2): 197 - 202
- [15] 李 晶, 阎秀峰, 祖元刚. 低温胁迫下红松幼苗活性氧的产生及保护酶的变化 [J]. 植物学报, 2000, 42 (2): 148 - 152
- [16] 刘国华, 栾以玲, 张彦华. 自然状态下竹子的抗寒性研究 [J]. 竹子研究汇刊, 2006, 25 (2): 10 - 14
- [17] 周 龙, 廖 康, 王 磊, 等. 低温胁迫对新疆野生樱桃李电解质渗出率和丙二醛含量的影响 [J]. 新疆农业大学学报, 2006, 29 (1): 47 - 50