

文章编号: 1001-1498(2010)06-0862-04

贵州 4 种木兰科植物幼苗的抗寒性研究

方小平¹, 李昌艳², 胡光平¹

(1. 贵州师范大学生命科学学院, 贵州 贵阳 550001; 2. 贵州省黔东南州民族高级中学, 贵州 凯里 556000)

摘要: 对贵州 4 种木兰科植物经过不同低温胁迫后的半致死温度、MDA 含量及 SOD 酶活性变化进行研究, 以探讨该 4 种木兰科植物的抗寒性, 结果表明: 各树种的半致死温度各不相同, 乐东拟单性木兰最低(- 17.07), 观光木最高(- 6.38); 不同树种鲜叶中 MDA 含量出现的第 1 个峰值均在各自半致死温度之前, 且出现最早的是观光木, 最晚的是乐东拟单性木兰; 与 5 相比, 观光木 SOD 酶活性在 - 4 时出现了较大幅度的增加, 但在 - 4 之后 SOD 酶活性逐渐降低, 其余 3 个树种 SOD 酶活性变化幅度较小。根据上述指标 4 种木兰科植物的抗寒能力排序为: 乐东拟单性木兰 > 乐昌含笑 > 紫花含笑 > 观光木。

关键词: 木兰科植物; 半致死低温; MDA; SOD 酶活性; 抗寒能力

中图分类号: S722.3

文献标识码: A

Studies on the Cold Resistance of Four Magnoliaceae Species in Guizhou Province

FANG Xiao-ping¹, LI Chang-yan², HU Guang-ping¹

(1. Institute of Life Sciences, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, Guizhou, China;

2. High School of Qiandongnan Prefecture, Kaili 556000, Guizhou, China)

Abstract: The cold resistance of four Magnoliaceae species in Guizhou Province was studied by means of comparing the related physiological indices including TL_{50} , MDA content and SOD activity under cold stress caused by gradient of low-temperature treatment in order to provide theoretical reference for the landscaping application of these native species. The results showed that the TL_{50} of each species was different, the lowest TL_{50} was - 17.07 with *Parakmeria lotungensis*, while the highest TL_{50} was - 6.38 with *Tsoongiodron odorum*. The first MDA peak value of each species all appeared above the TL_{50} , and that of *Tsoongiodron odorum* appeared at the relatively highest temperature, whereas the first MDA peak value of *Parakmeria lotungensis* occurred at the relatively lowest temperature. The SOD activity of *Tsoongiodron odorum* substantially increased at the temperature between 5 and 4, but then decreased gradually after the temperature was lower than - 4; The SOD activity of the rest three tree species changed less with the temperature variation. The cold resistance of the four species was ranked in the order as *Parakmeria lotungensis* > *Michelia chapensis* > *Michelia crassipes* > *Tsoongiodron odorum* in the light of above indices.

Key words: Magnoliaceae; TL_{50} ; MDA; SOD activity; cold resistance

木兰科(Magnoliaceae)植物是被子植物中最原始的类群之一,全世界共有木兰科植物 16 属 300 余种,我国有 11 属,160 种,占其属数的 69%,种总数的 53%,是木兰科植物的现代分布中心^[1-2]。贵州省野生的分布比较普遍,在全省的 80 个县市中,57 个有木兰科的种类分布,但主要集中在黔东南

的雷公山保护区和月亮山保护区、黔南的茂兰保护区、黔东北的梵净山保护区、黔北的大沙河和桫欏保护区等。从总体分布看,东部多于西部,北部多于南部,多集中在黔东南、黔南和黔东北的原始天然林区^[3]。

关于对木兰科植物抗寒性的研究报道不

收稿日期: 2010-04-10

基金项目: 贵州省科技厅十一五攻关项目“木兰科植物培育研究与产业化技术示范”(黔科合 NY(2006)3034)

作者简介: (1963—),女,贵州安顺人,副教授,硕士研究生导师,从事资源植物及园林花卉研究。

多^[4-5]。木兰科植物因其花大芳香、树形优美常用于城市生态建设中,但由于地理和气候因素,在推广应用中有寒害发生,而对该地区木兰科植物抗寒性的研究尚未见报道。因此,通过对2年生留床苗进行抗寒性研究,以探讨乐昌含笑、紫花含笑、乐东拟单性木兰、观光木的抗寒性能,为其资源的培育和推广应用提供数据参考。

1 试验材料

试验于2008年10—12月份在贵州师范大学生命科学学院实验室内进行。本试验用的4种木兰科植物是2007年培育的2年生留床苗,健康无病虫。苗木种子采自贵州荔波、雷山、台江,分别为拟单性木兰属中的乐东拟单性木兰(*Parakmeria lotungensis* Law)、观光木属中的观光木(*Tsoongiodendron odorum* Chun)、含笑属中的乐昌含笑(*Michelia chapensis* Dandy)、紫花含笑(*M. crassipes* Law)。

2 试验方法

取植株上倒叶位第3~5片叶片,洗净擦干,置于冰箱内冰冻2h(设置的温度梯度为:5、-4、-8、-12、-16、-20),经冷冻处理后测定其半致死低温(TL₅₀)、抗氧化酶系。

2.1 半致死低温(TL₅₀)的测定

对经不同低温处理后的苗木叶片进行电导率测定,并将测量得出的相对电导率采用SPSS统计分析

软件^[7]进行Logistic曲线方程的拟合,求得各供试材料曲线方程、曲线拐点 $X = (-\ln 1/a) / b$,即半致死低温(TL₅₀)和拟合度(R^2),具体操作参考李刚等^[8]方法。

2.2 MDA(丙二醛)含量的测定

测定经不同低温处理后叶片MDA的含量,参考高俊凤^[9]的方法。

2.3 SOD(超氧化物歧化酶)酶活性的测定

2.3.1 SOD酶的提取 不同温度冷冻处理后的叶片各称取0.5g于预冷的研钵中,加2mL预冷的SOD酶提取介质(50mmol·L⁻¹磷酸缓冲液(pH值7.8)内含1%聚乙烯吡咯烷酮(PVP))在冰浴中研磨匀浆,转移至10mL量瓶中,用提取介质冲洗研钵2~3次(每次1~2mL),合并冲洗液于量瓶中,定容至10mL。取5mL提取液于4℃下10000r·min⁻¹离心15min,上清液即为SOD粗提取液。

2.3.2 SOD酶活性的测定 测定各叶片经不同低温处理后SOD酶活性,参考中国科学院上海植物生理研究所、上海市植物生理学会编《现代植物生理学实验指南》(1999-12-1)的测定方法。

3 结果与分析

3.1 4种常绿木兰科植物叶片半致死低温(TL₅₀)

4种常绿木兰科植物叶片经过不同低温(5、-4、-8、-12、-16、-20)处理后,用SPSS统计分析软件统计分析,其结果见表1。

表1 4种木兰科植物叶片电导率的Logistic方程参数及半致死温度

种名	Logistic方程	半致死温度(TL ₅₀) /	拟合度(R^2)
乐东拟单性木兰	$y = 130.420 / (1 + 23.138e^{0.184x})$	-17.07	0.977
乐昌含笑	$y = 114.357 / (1 + 65.619e^{0.292x})$	-14.33	0.926
紫花含笑	$y = 106.676 / (1 + 19.228e^{0.231x})$	-12.80	0.969
观光木	$y = 86.696 / (1 + 8.430e^{0.334x})$	-6.38	0.999

从表1可以看出:4种木兰科植物中,乐昌含笑的拟合度(R^2)为0.926,乐东拟单性木兰、紫花含笑的拟合度(R^2)分别为0.977、0.969,观光木的最高,达0.999。所供试的4种木兰科植物中,乐东拟单性木兰叶片的半致死温度(TL₅₀)最低,为-17.07,乐昌含笑叶片和紫花含笑叶片的半致死温度(TL₅₀)分别为-14.33、-12.80,观光木叶片的半致死温度(TL₅₀)最高,为-6.38,由此显示,细胞膜低温稳定性由强到弱的排列顺序为:乐东拟单性木兰>乐昌含笑>紫花含笑>观光木。

3.2 低温胁迫对叶片内MDA含量的影响

4种木兰科植物叶片经过不同低温(5、-4、-8、-12、-16、-20)处理后,测得MDA含量变化结果见图1。图1表明:在低温处理过程中,MDA含量随温度的降低而上升,但不同树种达到峰值的温度不同。乐东拟单性木兰、乐昌含笑、紫花含笑、观光木鲜叶中的MDA含量分别在-16、-8、-8、-4℃时达到最高峰,分别为2.045、4.237、3.216、2.619mmol·g⁻¹;与5℃相比,其相对增幅为53.25%、40.57%、35.08%、63.50%。

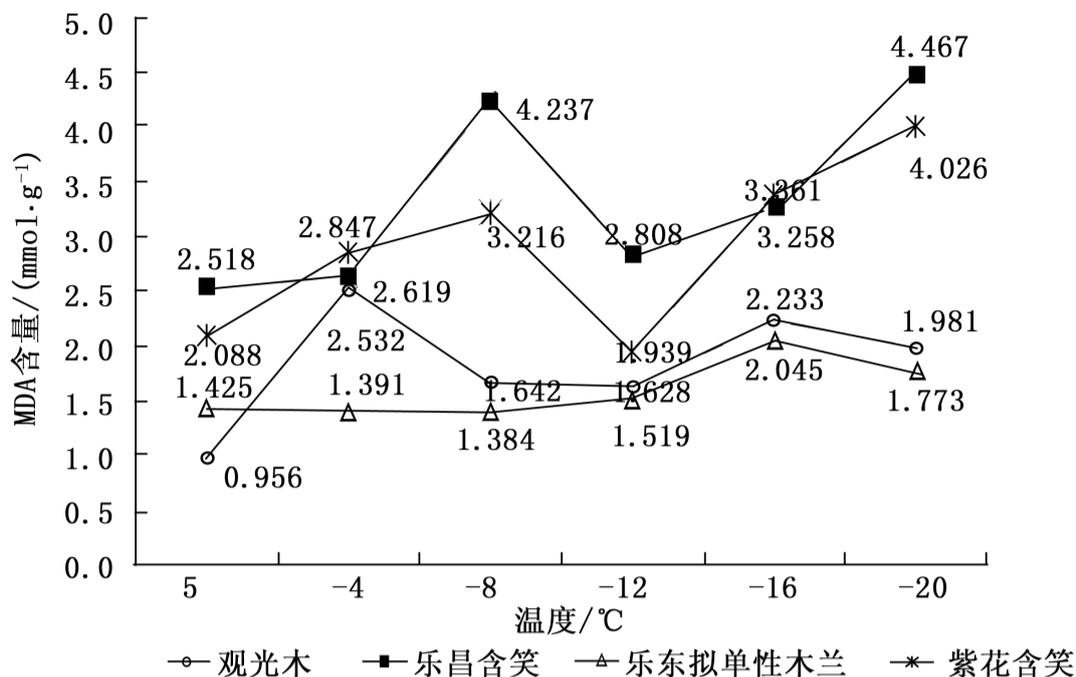


图 1 低温胁迫下 4 种木兰科植物鲜叶中 MDA 含量的变化

3.3 低温胁迫对叶片内 SOD 酶活性的影响

4 种木兰科植物叶片通过不同低温 (5、-4、-8、-12、-16、-20) 处理后, 对 SOD 酶活性进行了测定, 结果见图 2。由图 2 可以看出: 在 5 ~ -20 之间, 不同树种鲜叶中 SOD 酶活性变化趋势可分为 2 类, 乐东拟单性木兰、乐昌含笑和紫花含笑为 1 类, 它们的 SOD 酶活性变化呈双峰曲线, 即出现 2 个高峰, 它们都在 -8 出现第 1 个高峰, 在

-16 出现第 2 个高峰。其 SOD 酶活性与 5 相比都有相应的增加, 乐东拟单性木兰、乐昌含笑、紫花含笑的第 1 个峰值和第 2 个峰值分别增加了 1 332.17、324.239、20.000、87.500、56.624、42.782 $U \cdot g^{-1}$ 。观光木单独为一类, 变化情况为: 在 -4 时, SOD 酶活性急剧上升, 与 5 相比 SOD 酶活性增加了 2 599.649 $U \cdot g^{-1}$; 但在 -4 之后 SOD 酶活性呈逐渐降低趋势。

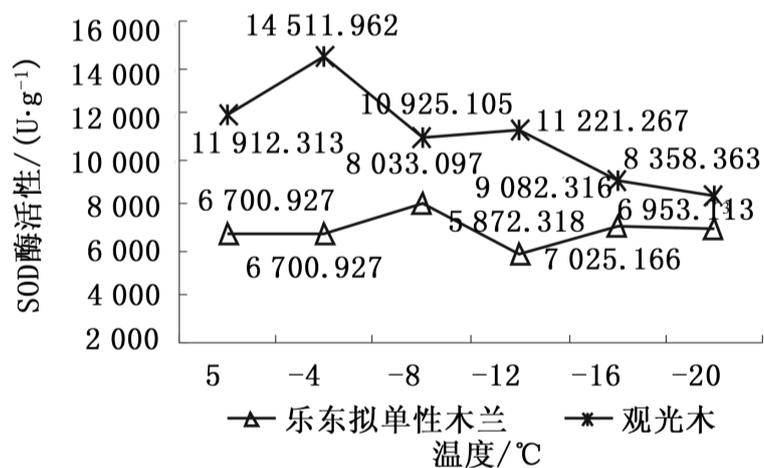
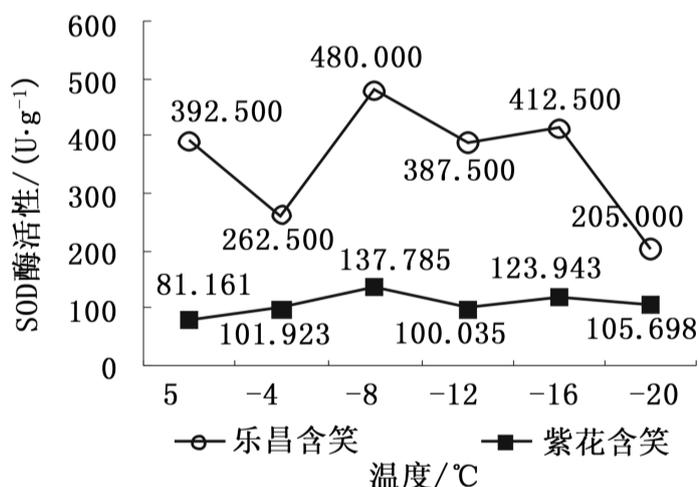


图 2 低温胁迫下 4 种木兰科植物 SOD 酶活性的变化

4 结论与讨论

4.1 不同低温胁迫下 4 种木兰科植物半致死温度的变化情况

植物抗寒性与生物膜透性的关系研究表明, 植物组织遭受低温胁迫时, 细胞膜结构和功能首先受到伤害, 主要表现为半透性的破坏, 电解质和非电解质溶质外渗, 并由此引起一系列代谢功能失调^[10], 可见, 叶片细胞膜透性是比较植物耐寒性强弱的有效生理生化指标。黄毅斌等^[11]对 2 种多年生花生

品种 (平托花生 (*Arachis pintoi* Krapov. & W. C. Gregory) 与蔓花生 (*A. duranensis* Krap. et Greg)) 经不同低温处理后研究膜透性结果发现, 2 个多年生花生品种随着温度的降低, 相对电导率越高, 且蔓花生比托花生的抗寒能力强。郭素枝等^[12]研究了低温胁迫下单、双瓣茉莉叶片细胞的膜透性, 结果表明, 单、双瓣茉莉栽培品种叶片浸提液的相对电导率随温度的逐渐降低而逐渐增大。本研究中, 各供试材料相对电导率经过 logistic 曲线方程拟合求得曲线拐点 $X = (-\ln 1/a) / b$, 即半致死低温 (TL_{50}), 在

此点, 低温对电解质的递增效应最大^[13]。本研究表明, 随着温度的降低相对电导率逐渐增大, 与黄毅斌、郭素枝等的试验结果一致。

4.2 不同低温胁迫下4种木兰科植物MDA含量的变化情况

大量研究表明, 植物随着温度的降低, MDA的含量逐渐升高。一般认为, 抗寒性强的材料MDA含量的变化值明显低于抗寒性弱的树种^[14]。如刘小序^[15]对葱兰(*Zephyranthes candida* Herb.)、石蒜(*Lycoris radiata* Traub.)、晚香玉(*Polianthes tuberosa* L.)、蜘蛛兰(*Hymenocallis Americana* Salisb.) 4种石蒜科植物叶片中丙二醛(MDA)含量的比较研究表明: MDA含量随温度降低而增加, 并发现抗寒性强的品种低温胁迫下MDA含量低于抗寒性弱的品种。这说明膜脂过氧化最主要的产物MDA的含量与抗寒性呈负相关。本试验研究发现, 在5~-20℃之间, 各供试材料MDA含量增加出现第1个峰值的时间各不相同, 发生最早的是观光木, 在-4℃, 最晚的是乐东拟单性木兰, 在-16℃, 这表明观光木最不耐低温的冰冻, 最耐低温冰冻的是乐东拟单性木兰。综合统计分析得到的半致死温度(TL₅₀)对各树种进行抗寒能力评价得出: 乐东拟单性木兰 > 乐昌含笑 > 紫花含笑 > 观光木。这与2007年发生凝冻灾害时田间观光木叶片出现了大面积冻死的田间表现相一致。

4.3 不同低温胁迫下4种木兰科植物SOD酶活性的变化情况

SOD酶是生物体内普遍存在参与氧代谢的一种含金属酶, 被称为植物细胞防御系统的保护酶。该酶与植物抗逆性密切相关, 是植物体内重要的保护酶之一, 研究表明, 该酶能清除低温逆境下体内产生的有害物质, 保护植物细胞膜和生物大分子, 以使植物本身尽快适应逆境而生存下来^[16]; 因此, SOD酶活性的测定在研究植物抗逆机制中有着重要的意义。

经研究证明, 植物进行低温处理后SOD酶活性变化与植物抗寒能力的强弱有很大关系^[17]。SOD作为植物细胞中最主要的抗氧化酶, 是通过催化O^{2·-}的歧化反应: $2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$, 将O^{2·-}歧化为过氧化氢(H₂O₂)和氧气(O₂), 而H₂O₂又被抗坏血酸和过氧化氢酶(前者是主要的)分解为H₂O和O₂, 从而解除O^{2·-}所造成的氧化胁迫。

刘从霞等^[18]通过对红叶李(*Prunus cerasifera*

Ehrh.)、紫叶矮樱(*Prunus × cistena* 'Purpleleaf and Chevy')、黑杆樱李(*Prunus wrasifers* 'nigra')、美人梅(*Prunus × bliriana* 'Meiren')、紫叶李(*Prunus cerasifera* cv. *Pissardii*) 5种李属彩叶树木抗寒性研究表明, 各树种低温处理过程中, SOD酶活性均出现2个明显高峰, 树种之间差异不明显。本研究中, 除观光木之外, 其余3个树种呈双峰曲线变化, 这与刘从霞等的研究结果基本一致。同样, 本研究结果中, 树种抗寒能力越强, SOD酶活性越高, 与杨建民等^[19]实验结果基本一致。

参考文献:

- [1] 梁宁, 石雷, 杨杨. 8种植物木兰科植物种子的发芽、成苗试验[J]. 西部林业科学, 2006, 35(3): 72 - 75
- [2] 刘东明, 董祖林, 伍有声, 等. 木兰科植物主要病虫害及其防治研究[J]. 江苏林业科技, 2004, 31(3): 22 - 25
- [3] 杨成华, 方小平. 贵州原生木兰科植物资源与园林利用前景[J]. 贵州林业科技, 2002, 30(1): 20 - 25
- [4] 何开跃, 李晓储, 黄利斌, 等. 3种含笑耐寒生理机制研究[J]. 南京林业大学学报, 2004, 28(4): 62 - 64
- [5] 刘兴宇, 周广柱, 王新颖. 日本厚朴抗寒生理研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2006, 37(6): 845 - 848
- [6] 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, 1999-12-1
- [7] 张力. SPSS在生物统计中的应用[M]. 厦门: 厦门大学出版社, 2008
- [8] 李刚. 几种木兰科常绿树种幼苗的抗寒性及在冬春季节光合生理生态特征的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2006
- [9] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 210 - 211
- [10] 刘祖祺, 张石城. 植物抗性生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 8 - 42
- [11] 黄毅斌, 应朝阳, 柯碧南, 等. 两种多年生花生品种低温胁迫下的质膜透性研究[J]. 四川草原, 2005(10): 4 - 6
- [12] 郭素枝, 邓传远, 张国军, 等. 低温对单、双瓣茉莉叶片细胞膜透性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2006, 14(1): 42 - 44
- [13] 莫惠栋. Logistic方程及其应用[J]. 江苏农学院学报, 1983, 4(2): 53 - 57
- [14] 聂庆娟, 孟朝, 梁海永, 等. 低温胁迫对4种常绿阔叶植物膜脂过氧化及保护酶活性的影响[J]. 植物研究, 2007, 27(5): 578 - 581
- [15] 刘小序. 四种石蒜科植物的抗寒性比较[J]. 现代农业科技, 2007(16): 12 - 13
- [16] Loyons J.M. Chilling injury in plants[J]. Plant Physical, 1973, 24: 445 - 446
- [17] 覃鹏, 刘飞虎, 梁雪妮. 超氧化物歧化酶与植物抗逆性[J]. 黑龙江农业科学, 2002(1): 31 - 34
- [18] 刘从霞, 邓明净, 王文凤, 等. 5种李属彩叶树木抗寒性研究[J]. 河北农业大学学报, 2007, 30(5): 36 - 39
- [19] 杨建民, 李艳华, 杨敏生, 等. 几个仁用杏品种抗寒性比较研究[J]. 中国农业科学, 1999, 32(1): 46 - 50