

工程绿化草种垂盆草对低温的生理响应

费永俊^{1,2}, 杨娟², 韩烈保¹

(1 北京林业大学 草坪研究所, 北京 100083; 2 长江大学 园艺园林学院, 湖北 荆州 434025)

摘要:对垂盆草 *Sedum sarmentosum* 对低温的生理响应进行了研究. 结果表明, 垂盆草的叶片经模拟低温 4、0、-4、-8、-12、-16、-20 °C 处理 2 h, 叶片的电解质渗透率和丙二醛含量增加; 随温度的降低, 叶片的过氧化物酶活性快速升高、游离脯氨酸大量累积、可溶性糖含量急剧增加; 采用电解质渗透法, 测定了垂盆草的半致死温度 (LT_{50}) 为 -8.64 °C. 即垂盆草具有较强的抗寒性, 能通过一系列保护性的生理生化反应来适应低温胁迫, 以减轻低温伤害.

关键词:工程绿化; 垂盆草; 抗寒生理; 半致死温度 (LT_{50})

中图分类号: Q945.78; S688.4

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2007)04-0065-04

Physiological Response of a Landscape Engineering Grass *Sedum sarmentosum* to Chilling Stress

FEI Yong-jun^{1,2}, YANG Juan², HAN Lie-bao¹

(1 Institute of Turfgrass Science, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;

2 College of Gardening and Horticulture, Yangtze University, Jingzhou 434025, China)

Abstract: Physiological response of a landscape engineering grass *Sedum sarmentosum* to chilling stress were studied. The leaves of *Sedum sarmentosum* were treated under 7 simulated chilling stress gradients (4, 0, -4, -8, -12, -16, -20 °C). The results showed that both the electrolytic leakage rate and malondialdehyde (MDA) content in leaves increased slowly when leaves are exposed to low temperature for 2 h. Meanwhile, the activity of peroxidase (POD), the content of free proline and soluble sugar significantly increased as the temperature dropped down. By the method of the electrolyte infiltration, the lethal temperature (LT_{50}) of *Sedum sarmentosum* was obtained on the basis of conductivity and Logistic equation to be -8.64 °C. This study indicated that the *Sedum sarmentosum* was of high cold resistance, and was able to adapt to low temperature stress through a series of physiological and biochemical reaction.

Key words: landscape engineering; *Sedum sarmentosum*; cold resistant physiology; lethal temperature (LT_{50})

垂盆草 *Sedum sarmentosum* 又称柔枝景天, 狗牙齿、半枝莲、三叶佛甲草, 原产于中国、朝鲜及日本, 是一种暖季型植物, 垂盆草是景天科 Crassulaceae 景天属 *Sedum* 多年生肉质、常绿草本, 种子细小, 再生能力强, 抗热、抗旱、耐荫、耐湿、耐贫瘠, 在绿化建设

中具有广泛利用前景^[1]. 在植被砵上种植试验研究表明, 其可以作为砵护坡生态工程的先锋植物进行种植. 垂盆草作为一种水土保持植物, 对其抗性研究鲜见报道, 在预试验中对种植在植被砵上的垂盆草为期 2 年的物候观察表明, 垂盆草适应性很强, 耐

收稿日期: 2006-11-06

作者简介: 费永俊 (1965—), 男, 教授, 博士研究生; 通讯作者: 韩烈保 (1965—), 男, 教授, 博士, E-mail: hanlb@tom.com

基金项目: 湖北省科技攻关项目 (2002AA3001C99); 湖北省教育厅重大科研项目 (2002Z0007); 湖北省涝渍灾害与湿地农业重点实验室开放基金 (HNKFJ2002C03); 湖北省教育厅优秀中青年科技创新团队资助项目 (鄂教科 [2003 年 7 号] 文 - 12); 国家教育部新世纪优秀人才支持计划 (2005—2007)

旱、耐寒,综合抗逆性较强,管理极为粗放.通过对不同处理条件下垂盆草的几个与抗寒性相关的生理指标的测定,初步探讨垂盆草受低温胁迫的伤害与对低温胁迫的适应等抗性生理变化,为进一步推广应用抗逆性更强的垂盆草观赏草坪、工程绿化及护坡先锋植物提供科学依据和参考.

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于2006年4月在长江大学“植物资源与环境”国家与地方共建基础实验室进行,取生长于植被砵(水泥9%,黄泥土67%,其他24%混合而成)上的垂盆草植株中上部当年新生叶片,各叶片在植株的朝向和部位上力求一致.

1.2 试验方法

将叶片用自来水冲洗干净,去离子水漂洗,吸干表面水分,剪成1~2 cm的小片放入大试管中,在控温冰箱内进行低温处理,在0~4℃左右适应一段时间,再进行低温处理,处理温度梯度为4、0、-4、-8、-12、-16、-20℃;并以常温19℃为对照(CK).参照朱根海等^[2]的方法,每个温度处理2 h后取出,立即测游离脯氨酸、可溶性糖、过氧化物酶(POD)、丙二醛(MDA)含量4个指标,游离脯氨酸含量测定参照李合生等^[3]的方法;可溶性糖、MDA含量测定参照邹琦^[4]的方法;POD活性测定参照文献^[5]的方法,以每分钟内每克鲜质量叶片引起 $D_{470\text{nm}}$ 变化0.01的酶量为1个酶活性单位($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$).在每个温度下分别经1、2、4、6 h处理,取出后加入20 mL去离子水,静置过夜,分次测定电解质渗透率.电解质渗透率测定采用DDS-11A型电导仪测其冰冻电导率(R_i),置沸水浴中10 min,冷却至室温后测其煮沸电导率(R_j),电解质渗透率=冰冻电导率/煮沸电导率 $\times 1\%$ ^[6];各指标均重复3次,数据用DPS分析系统进行分析,Duncan's新复极差测试.

2 结果与分析

2.1 低温胁迫对质膜电解质渗透率的影响

表1表明:垂盆草经4、0、-4、-8、-12、-16、-20℃低温处理1、2、4、6 h后,叶片的电解质渗透率随温度降低而升高,并且随胁迫时间的延长而不断上升,且都明显高于对照,表明4℃以下低温对垂盆草产生伤害.-8、-12℃2 h低温胁迫下垂盆草叶片的电解质渗透率分别比对照增加了1.48、11.64倍,且-12℃低温胁迫下电解质渗透率与对照有极

显著差异,在-8~-12℃,垂盆草叶片的电解质渗透率迅速增加,表明垂盆草在此低温范围内遭受的伤害很严重.尽管4~-8℃已明显偏离垂盆草的最适生长温度,但其叶片电解质渗透率仍处于缓慢增加阶段,表明垂盆草在此低温范围内,质膜还能耐受低温伤害.

表1 不同时间低温处理叶片的电解质渗透率¹⁾

Tab.1 The electrolytic leakage rate of leaves in low temperature during different treatment time %

$\theta/^\circ\text{C}$	1 h	2 h	4 h	6 h
-20	69.8F	96.1AB	97.5A	99.8A
-16	66.7F	93.0ABC	93.9ABC	99.4A
-12	58.1G	83.4DE	92.3ABC	99.1A
-8	13.5HIJ	16.4HI	89.8BCD	98.1A
-4	10.7IJ	11.5IJ	77.9E	87.5CD
0	8.4JK	8.7JK	14.6HIJ	19.4H
4	7.1K	8.1JK	9.5JK	12.2IJ
19	5.8K	6.6K	6.7K	8.3JK

1) 同列数据后具相同大写字母表示0.01水平差异不显著(DPS分析系统进行分析,Duncan's新复极差法)

朱根海等^[2]研究指出,低温胁迫下细胞的相对电导率与温度之间的关系呈S型曲线,与Logistic方程 $Y=K/(1+ae^{-bx})$ 具有很好的拟合度.求该Logistic方程的二阶导数,并令其等于零,即可获得曲线的拐点, $X=\ln(1/a)/b$,即为半致死温度(LT_{50}).根据莫惠栋^[7]的计算方法,将撤离温度及相对应的相对电导率配合Logistic方程,求得垂盆草的 LT_{50} 为-8.64℃,拟合度 $R^2=0.9536^*$.

2.2 低温胁迫后叶片POD、游离脯氨酸和可溶性糖含量的变化

植物在低温胁迫下,可通过低温诱导蛋白质的合成,膜脂的组分变化,一些酶活性、构像及其同工酶谱的变化,以及一些保护性物质含量的增加等生理生化机制来提高其抗寒性^[7].目前,过氧化物酶活性、游离脯氨酸和可溶性糖等均为植物抗寒性指标,在植物的抗寒研究中得到了广泛的应用^[8].脯氨酸在植物抗冻中具有重要作用,低温胁迫往往伴随着脯氨酸含量的增加,其含量高与植物抗寒性密切相关,抗寒性强的品种增加的倍数越高.表2表明:随着温度的下降,POD活性升高,-4、-8和-12℃分别比对照增加了212.08%、360.03%、855.47%,而-12℃时,POD活性有一明显跃升,比对照上升了855.47%,表明:适当的低温能诱导POD活性极显著升高.同时叶片的游离脯氨酸含量随温度降低而急剧增加,-4、-8和-12℃分别比对照

增加了 51.86%、191.50%、450.80%，表明低温胁迫可诱导垂盆草叶片游离脯氨酸的大量累积。由此说明，在低温胁迫下，垂盆草能产生相对较多的 POD 和脯氨酸来增强抗冻能力。

表 2 低温处理叶片电解质渗透率、POD 活性和 MDA、游离脯氨酸及可溶性糖的含量¹⁾

Tab. 2 The electrolytic leakage, POD activity, and contents of MDA, free proline and soluble sugar in leaves after cold treatment

$\theta/^\circ\text{C}$	电解质渗透率 electrolyte leakage rate/%	POD 活性 POD activity $/(\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1})$	$b(\text{MDA})$ $/(\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1})$	$b(\text{游离脯氨酸})$ free proline) $/(\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1})$	$b(\text{可溶性糖})$ soluble sugar) $/(\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1})$
-20	96.1A	33.34A	5.68A	55.56A	0.583a
-16	93.0AB	28.67B	5.37B	53.69A	0.522ab
-12	83.4B	25.32B	5.28B	51.83A	0.489ab
-8	16.4C	12.19C	3.94C	27.43B	0.456ab
-4	11.5CD	8.27CD	3.89C	14.29C	0.417b
0	8.7D	4.92D	3.34D	12.89C	0.187c
4	8.1D	3.43D	2.85E	11.97C	0.126cd
19	6.6DE	2.65D	2.59F	9.41CD	0.089d

1) 同列数据后具相同大写(或小写)字母表示 0.01(或 0.05)水平差异不显著(DPS 分析系统进行分析, Duncan's 新复极差法)

可溶性糖可增加原生质浓度,从而起到抗脱水作用及减少细胞内结冰的机会^[9]。叶片的可溶性糖含量也随着温度的降低而急剧增加, -4 和 0 °C 均比对照显著增加,分别增加了 368.54% 和 110.11%。表 2 表明:垂盆草可通过一系列的生理生化代谢的调整来提高本身的抗寒性,降低低温胁迫的伤害,由此可见垂盆草的抗寒性较强。

2.3 低温胁迫下叶片的电解质渗出率、POD 活性与 MDA 含量变化的相关性

试验(表 2)表明,垂盆草叶片的 MDA 含量随温度下降而逐渐增加, -12 °C 以下的处理显著高于对照,此时 MDA 含量和电解质渗出率显著增加,表明此时的低温对垂盆草已产生了普遍的伤害。将每一测定温度的 MDA 含量与电解质渗透率作相关性分析,发现二者之间呈显著性正相关($Y' = 2.123 + 3.785X, r = 0.954 1^*$),由于 MDA 是一种膜脂过氧化的终产物,是膜系统受伤害的重要指标^[10-11]。因此低温胁迫导致膜脂过氧化作用加剧是造成垂盆草伤害的重要原因之一。POD 是植物对膜脂过氧化作用酶促防御体系的保护酶之一^[11-12]。通常,POD 活性增加的趋势与 MDA 含量增加的趋势呈负相关,但是本试验结果正好相反(表 2),出现此现象的原因一方面垂盆草在 -20 ~ 4 °C 低温胁迫下活性氧累积加剧了膜脂过氧化作用,导致体内 MDA 积累,而 MDA 积累量还未达到反馈抑制 POD 等保护酶活性的程度,即活性氧的积累水平还处在垂盆草膜脂过氧化作用酶促和非酶促防御体系所能调控的阈值范围内^[13-14];另一方面与垂盆草叶片 POD 在低温胁迫

中反应的复杂性和作用的非专一性有关。据林植芳^[15]报道,POD 活性因植物器官的不同发育时期和衰老程度而表现不同的变化方式与植物种类有关。王代军等^[16]也指出,POD 在植物体内的作用具有非专一性,它既与膜质中过氧化有关,又是细胞防御活性氧毒害酶系统的成员之一,POD 活性差异性与其在植物体内功能的多样性有关。

3 讨论

在逆境条件下,植物体内各种渗透调节物质大量积累,赋予多种植物渗透调节的能力。渗透调节的关键是在胁迫条件下细胞内溶质的主动积累和由此导致的细胞渗透势的下降^[17-18]。试验中发现,随着处理温度的降低,可溶性糖含量逐渐增加,但在 0 °C 处理下,可溶性糖含量与对照相比变化较小;而随后,可溶性糖含量急剧增加;但自 -4 °C 左右开始,可溶性糖含量变化曲线趋于平缓,即变化趋势呈“S”形。抗性强的植物可溶性糖含量增加量多,增加的幅度大。本试验的材料为离体叶片,生长在地上的垂盆草相比之下则抗寒性更强。POD 是细胞中清除 H_2O_2 的一类酶,其活性变化也可反映植物抗寒性的高低。在整个降温过程中,POD 活力的变化趋势为升高,在降温初期垂盆草能够忍受的低温条件下,体内会产生过多的超氧化物阴离子自由基(O_2^-),为维持体内自由基的产生与清除的平衡状态,需要高活力的 POD 酶,在后期的活力出现增加,抗性强的植物酶活力提高的幅度大,该结论与杨春祥等^[19]在桃枝叶中的测定结果一致。低温造成膜伤害的结果是膜半透

性的改变和丧失,细胞内物质大量向外渗透,并最终引起细胞死亡.本试验中,垂盆草电解质渗透率的变化总体趋势,随着处理温度的降低,电解质渗透率变大,且在某一温度时剧烈增加,该温度点为 $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$.

本试验对垂盆草采用电导率法鉴定其抗寒性,确定了垂盆草的半致死温度 $-8.64\text{ }^{\circ}\text{C}$,并为垂盆草抗寒性研究提供了可行的研究方法.在宣继萍等^[20]的研究中,假俭草各种源的半致死温度变化范围为 $-5.9\sim 13.0\text{ }^{\circ}\text{C}$,半致死温度的平均值为 $-9.0\text{ }^{\circ}\text{C}$,假俭草的半致死温度与经度、纬度的一元和二元回归均无线性关系,即北方和西部种源的抗寒性并不一定就比南方、东方种源的抗寒性强,而在郑玉红等^[21]的研究中,狗牙根各种源的半致死温度与其所在的经纬度呈显著的线性关系,即狗牙根种质资源的半致死温度随纬度的增加而降低,随经度的降低而降低,具有明显的地域性变化规律,而本试验测出的垂盆草的半致死温度未与经度、纬度进行分析,对于本试验得出的结果还需要进行进一步的验证,有关垂盆草的抗寒性,尤其是新方法的探索和抗寒机理也有待进一步的研究,这对提高垂盆草的抗寒性、延长绿色期,加大推广应用范围,均有重要的理论价值和实践意义.总之,垂盆草再生能力强,抗热抗旱抗寒、耐荫耐湿耐贫瘠,适应性强,可作为工程绿化及砧护坡生态工程的先锋植物,不仅可作为管理粗放或精细的常年绿化美化的封闭草坪草,也可以作为较耐寒草种往北方较冷地区发展.

参考文献:

- [1] 倪同良. 楼房屋顶绿化的首选植物——垂盆草[J]. 绿化与生活, 1997(4): 45-47.
- [2] 朱根海, 朱培仁. 小麦抗冻性的季节性变化规律对脱锻炼的效应[J]. 南京农业学报, 1984, 7(2): 9-16.
- [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: 134-165.
- [4] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 110-112.
- [5] 上海植物生理学会. 植物生理研究手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1995.
- [6] 宣继萍, 高鹤, 刘建秀. 结缕草品种(系)的抗寒性鉴定[J]. 江苏农业学报, 2004, 20(1): 44-46.
- [7] 莫惠栋. Logistic 方程及其应用[J]. 江苏农学院学报, 1983, 4(2): 53-57.
- [8] 王洪春. 植物对温度逆境的适应[M]//余叔文. 植物生理与分子生理学. 北京: 科学出版社, 1992: 395.
- [9] 刘祖棋, 张石诚. 植物抗性生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 8-29, 35-45.
- [10] 王宝山. 生物自由基与植物膜的伤害[J]. 植物生理学通讯, 1998(2): 12-16.
- [11] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J]. 植物生理学通讯, 1999, 27(2): 84-90.
- [12] 杜峰. 低温胁迫下草坪草 *Perennial ryegrass* (cv. Taya) 和 *Meadow bluegrass* (cv. Compact) 各抗性生理指标的变化[J]. 四川草原, 1998(3): 41-48.
- [13] 郑小林, 胡木林, 罗晓莹, 等. 假俭草低温胁迫的伤害与适应[J]. 草业科学, 2002, 19(7): 55-57.
- [14] QIAN Y L, BALL S, TAN Z, et al. Low temperature tolerance of six cultivars of buffalograss[J]. Crop Sci, 2001 (41): 1174-1178.
- [15] 林植芳. 采后荔枝果实中氧化和过氧化作用的变化[J]. 植物学报, 1998, 30(4): 382-387.
- [16] 王代军, 温洋. 温度胁迫下几种冷季型草坪草抗性机制的研究[J]. 草业学报, 1998, 7(1): 75-80.
- [17] JONES M M, TUNER N C. Osmotic adjustment in leaves of sorghum in response to water deficits[J]. Plant Physiol, 1978, 61: 122-128.
- [18] MORGAN J M. Osmoregulation and water stress in higher plants[J]. Ann Rev Plant Physiol, 1984, 35: 299-319.
- [19] 杨春祥, 李宪利, 高东升. 低温胁迫对油桃花器官膜脂氧化和保护酶活性的影响[J]. 果树学报, 2005, 22(10): 69-71.
- [20] 宣继萍, 郭海林, 刘建秀, 等. 中国假俭草种质资源抗寒性初步鉴定[J]. 草业学报, 2003, 12(6): 110-114.
- [21] 郑玉红, 刘建秀, 陈树元. 中国狗牙根 [*Cynodon dactylon* (L.) Pers.] 耐寒性及其变化规律[J]. 植物资源与环境学报, 2002, 11(12): 48-52.

【责任编辑 李晓卉】