

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201703006

引文格式: 明萌, 何静雯, 卢丹, 等. 低温胁迫对“繁景”杜鹃生理特性及叶片超微结构的影响 [J]. 广西植物, 2017, 37(8):969-978
MING M, HE JW, LU D, et al. Effects of low temperature stress on physiological characteristics and ultrastructure of “Fanjing” *Rhododendron* leaves [J]. Guihaia, 2017, 37(8):969-978

低温胁迫对“繁景”杜鹃生理特性及叶片超微结构的影响

明 萌^{1,2}, 何静雯^{1,2}, 卢 丹², 谢晓鸿², 吴月燕^{2*}

(1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 浙江万里学院 生物与环境学院, 浙江 宁波 315100)

摘 要: “繁景”杜鹃为杂交后代优良新种, 研究其对低温的耐受能力, 为宁波及周边城市将其作为绿化植物提供参考。该研究以一年生杂交后代优良株系“繁景”为材料, 采用盆栽试验, 利用人工降温的方法, 研究不同低温(0 °C, -3 °C, -6 °C, -9 °C)对其生长状态、生理生化及叶片超微结构的影响。结果表明: 在-3 °C和0 °C的低温胁迫下, 叶绿素含量降低缓慢且与处理前变化不显著, 在-9 °C和-6 °C的低温胁迫下, 其叶绿素含量要显著低于处理前和对照组, 不同低温处理下, 叶片光合速率均呈下降趋势, 至试验结束时, 光合速率与温度成正比。在-9 °C和-6 °C低温胁迫下, 其叶片相对电导率和丙二醛(Malondialdehyde, MDA)的含量增长最快, 且过氧化氢酶(Catalase, CAT)、以及超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)、过氧化物酶(Peroxidase, POD)活性下降幅度最大, 在-3 °C和0 °C低温胁迫下, MDA的含量增长较明显, 但可溶性蛋白, CAT, POD及SOD活性变化不明显。温度降低对其叶片超微结构的影响较大, 在0 °C和-3 °C低温胁迫下, 其细胞结构正常; 在-6 °C低温胁迫下, 类囊体结构开始模糊, 淀粉粒和嗜银颗粒变大且增多; 在-9 °C低温胁迫下, 细胞膜开始解体, 叶绿体被膜破损缺失严重, 空洞化程度严重, 部分细胞甚至成为空细胞。综合各指标变化情况, 杜鹃优良株系能耐受的较低温度为-6 °C。因此, 杜鹃该优良株系为较耐寒品种, 可作为宁波及周边城市良好的杜鹃花绿化候选材料。

关键词: 低温胁迫, 杂交后代, 生理特性, 超微结构

中图分类号: Q945, S718.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2017)08-0969-10

Effects of low temperature stress on physiological characteristics and ultrastructure of “Fanjing” *Rhododendron* leaves

MING Meng^{1,2}, HE Jing-Wen^{1,2}, LU Dan², XIE Xiao-Hong², WU Yue-Yan^{2*}

(1. College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai, 201306, China; 2. College of Biological and Environmental Sciences, Zhejiang Wanli University, Ningbo 315100, Zhejiang, China)

收稿日期: 2017-03-06 修回日期: 2017-04-21

基金项目: 宁波市重大科技专项项目(2014C11002); 浙江省重中之重学科“生物工程”开放基金(KF2015008) [Supported by Ningbo Major Science and Technology Program (2014C11002); Top Priority of the Discipline “bioengineering” Open Fund of Zhejiang Province (KF2015008)]。

作者简介: 明萌(1991-), 男, 山东人, 硕士研究生, 主要从事园林植物耐寒生理生化特性的相关研究, (E-mail)550434535@qq.com。

*通信作者: 吴月燕, 硕士, 教授, 主要从事植物营养生理与品质调控、植物化学与分子生物学的相关研究, (E-mail)wyybn2009@163.com。

Abstract: As a new kind of hybrid offspring, “Fanjing” *Rhododendron* was studied for its tolerance to low temperature, and it was used as a green plant in Ningbo and surrounding cities. We used the excellent strains of “Fanjing” *Rhododendron* as the material with pot experiment, and the method of artificial cooling to study different low temperatures (0, -3, -6 and -9 °C), physiological and biochemical effects of growth state and leaf ultrastructure. The results showed that at the temperature -3 °C and 0 °C, the chlorophyll content decreased slowly and before treatment did not change significantly at the temperature -9 °C and -6 °C, the chlorophyll content was significantly lower than that before treatment and the control group, different low temperature treatments, photosynthetic rate of leaves decreased, until the end of the trial when the photosynthetic rate was directly proportional to the temperature. Under -9 °C and -6 °C low temperature stress, the relative conductivity and malondialdehyde in leaves (Malondialdehyde, MDA) content increased most rapidly, and catalase (Cata-lase, CAT), peroxidase (Peroxidase, POD) and superoxide dismutase (Superoxide Dismutase, SOD) activity decreased significantly; at -3 °C and 0 °C treatment, the content of MDA increased significantly, but soluble protein CAT, POD and SOD activity did not change significantly. Lower temperature had great effect on the ultrastructure of leaves of *Rhododendron*, when the temperature was at -3 °C and 0 °C, the cell structure was normal; under -6 °C treatment, fuzzy starting structure of thylakoid, starch grains and osmiophilic particles become larger and more; under the -9 °C treatment, the cell membrane began to disintegrate and chloroplast membrane a serious lack of damage severity, hollowing out, some cells even become empty cells. Comprehensive indicators of changes in the situation, excellent strains of *Rhododendron* can tolerate a lower temperature of -6 °C. Therefore, it can be used as a good candidate material for *Rhododendron* in Ningbo and surrounding cities.

Key words: low temperature stress, hybrid progeny, physiological characteristics, ultrastructure

杜鹃花(*Rhododendron*)是杜鹃花科(Ericaceae)杜鹃花属(*Rhododendron* L.)常绿或落叶灌木(吴福建等,2008),为浙江省宁波市重要的绿化植物,但能应用于园林绿化的品种较单一,花色较为单调,花期大多在4—5月中下旬,且大部分绿化品种存在单株花朵数量较少、抗逆性差等缺陷。因此,选育花期提早或延迟、花朵丰富、抗逆性强的杜鹃花品种是解决园林绿化品种单一的关键。2006年5月初,以毛鹃“春如意”为母本、毛鹃“繁景”为父本进行杂交育种,获得246株杂交后代,筛选后得到一优良株系,暂命名为“繁景”,其花期为4月上旬,略早于大部分宁波市绿化杜鹃品种,花4~6朵簇生于枝端,花朵丰富,花色为深粉红色,较为少见。由于在花色和花期方面表现优秀,因此该株系可作为宁波市良好的杜鹃花绿化候选材料。但是,宁波地区大多数年份的年极端低温为-2~-5 °C,部分品种杜鹃会出现冷害现象。

本研究通过分析不同低温胁迫对“繁景”杜鹃生长形态、理化特征以及叶片超微结构的影响,探讨不同低温下“繁景”杜鹃的胁迫反应,系统评价该优良株系的抗寒性,旨在为今后杜鹃杂交后代作为园艺和绿化材料在宁波及环境相似地区的筛选和

推广提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

材料来自于宁波市北仑区柴桥镇万景杜鹃园。试验于2016年9—12月在浙江万里学院实验室进行。随机选择90株生长健壮、形态大小基本一致的“繁景”杜鹃,定植于塑料花盆中,每盆种植1株。共设4个低温处理(T1、T2、T3和T4分别为0 °C、-3 °C、-6 °C和-9 °C),以25 °C处理为对照(CK),对照与每个处理均6株,共3次重复。2016年11月11日至12月8日,放入低温生化培养箱(宁波江南仪器厂),生化培养箱内各处理光照和水分状况保持一致,空气相对湿度为70%~80%(陶巧静等,2014),日光照周期为12 h/12 h,光照强度为216 $\mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。处理前第一次采样,作为初始值,在处理第3天、第6天和第9天分别采样。每次采样随机选取3株“繁景”杜鹃,测定叶绿素含量,丙二醛(MDA)含量,过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD),超氧化物歧化酶(SOD)活性和可溶性蛋白含量等生理指标,并观察其形态变化,于

第9天取不同处理植株的中部功能叶片观察其叶肉细胞的超微结构。

1.2 方法

1.2.1 “繁景”杜鹃叶片形态特征的观测 观测时随机选取3株,每株随机选择5根枝条,统计每根枝条的叶片数,重复3次,记录每个处理的叶片数平均值。根据记录的生长情况,采用如下分级标准进行综合评定(高俊凤,2006)。A级:生长旺盛,叶色正常;B级:生长一般,叶色基本正常,叶缘萎蔫;C级:生长一般,叶色变暗,部分萎蔫变软,新叶出现皱缩;D级:生长受到抑制,1/3左右的叶片萎蔫发黄,老叶枯萎脱落,新叶皱缩;E级:生长受到严重抑制,1/2左右的叶片萎蔫发黄,老叶枯萎脱落,新叶萎蔫干枯;F级:植株整体萎蔫,呈半致死状态;G级:死亡状态。

1.2.2 “繁景”杜鹃生理生化指标的测定 每一个处理随机取3株杜鹃,每株随机选取适量成熟叶片,测定以下生理生化指标:用SPAD502叶绿素仪,测定不同处理杜鹃叶片的叶绿素含量;选用CIRAS-3便携式光合仪(美国PP-SYSTEMS公司),测定杜鹃叶片的光合速率(P_n);可溶性蛋白测定采用考马斯亮蓝法(陈建勋和王晓峰,2002);相对电导率采用浸泡法(龚萍和王健,2011);丙二醛(MDA)采用硫代巴比法(王学奎,2006);超氧化物歧化酶(SOD)测定采用NBT光化还原法(Wu,2002);过氧化物酶(POD)活力测定采用愈创木酚法(孔祥生和易现峰,2008);过氧化氢酶(CAT)测定采用紫外吸收法(李学孚等,2015)。以上测定值,均取3次测定的平均值。

1.2.3 “繁景”杜鹃叶片细胞超微结构的观察 取杜鹃叶片主脉两侧(2 mm × 4 mm)为材料,以2.5%戊二醛固定,用0.1 mol · L⁻¹磷酸缓冲液(pH 7.2)冲洗,1%锇酸固定,乙醇梯度脱水,丙酮置换浸透,Epon-812环氧树脂包埋,在70℃下聚合24 h后,在LEICA EM UC7型超薄切片机中获得70~90 nm的切片,用醋酸双氧铀和柠檬酸铅双染色,采用HI-TACHI-7650型透射电镜观察,选取典型视野照相(吴月燕等,2011)。

1.3 数据统计与分析

所有原始数据的处理及绘图,均利用Excel和GraphPad Prism软件。

2 结果与分析

2.1 不同低温处理对“繁景”杜鹃生长的影响

如表1所示,T1叶片的生长状况良好,各指标均与对照变化不明显,随着温度降低,T2和T3叶片的生长状况一般,叶片出现少量黄斑,但仍能正常生长,各指标均与对照变化不明显,T4温度降至零下,处理3 d后,叶片开始出现泛黄、枯萎的情况,叶片数量明显少于对照,并且随时间增加而加重。直至试验结束,CK与T1生长最好,T4生长最差。对照与各处理随机选取两株杜鹃,观察对照与各处理在9 d时的形态特征变化,如图1所示。

2.2 低温胁迫对“繁景”杜鹃生理生化特性的影响

2.2.1 对“繁景”杜鹃叶绿素含量及光合作用的影响

在不同的低温处理下,“繁景”杜鹃叶片内的叶绿素含量产生变化。如图2所示,CK的叶绿素含量随胁迫时间的增加而增加;伴随着温度的降低,各处理的叶绿素含量均呈下降趋势。第9天时,CK的叶绿素含量最高,T1和T2次之,T3和T4为CK的64.3%和52.4%,与CK变化不显著($P>0.05$),说明叶绿素的合成与温度密切相关,叶绿素的合成在低温下会受阻,从而不利于杜鹃生长。

培养箱内CO₂日变化呈一定的规律,从早上7:00开始降低,15:00达最低,然后逐渐回升。在光合速率的测定中,选取当天的9:00,此时CO₂浓度为396 μmol · mol⁻¹。如图3所示,不同低温处理的“繁景”杜鹃叶片光合速率,在不同处理时期的表现不同。随着处理天数的增加,“繁景”杜鹃各处理的叶片光合速率均呈下降的趋势,T1和T2的叶片光合速率下降为CK的70.1%和66.0%,变化显著($P<0.05$),T3和T4的叶片光合速率下降为CK的37.1%和25.8%,变化极显著($P<0.001$)。

2.2.2 对“繁景”杜鹃相对电导率的影响

植物在受到环境胁迫或者其他外界条件损伤的情况下,容易造成细胞膜破损,使胞液外渗,从而导致相对电导率增大。如图4所示,T1的相对电导率随胁迫时间的增加上升的较为缓慢,在9 d时,为CK的127%($P<0.05$),T2的相对电导率随胁迫时间的增加上升的较T1快一些,在9 d时,为CK的150%($P<0.05$),T3和T4的相对电导率随胁迫时间的增加上

表 1 不同低温处理下杜鹃优良株系“繁景”叶片形态的变化

Table 1 Morphological characteristics change of *Rhododendron* hybrids of excellent strains “Fanjing” in different low temperature treatments

处理天数 Treating days (d)	处理 Treatment	叶片颜色 Leaf color	叶片形状 Leaf shape	叶片脱落情况 Leaf abscission	生长状况 Growth status	综合测定等级 Comprehensive grade
0	CK	绿色 Green	正常 Normal	无 Not have	良好 Well	A
	T1	绿色 Green	正常 Normal	无 Not have	良好 Well	A
	T2	绿色 Green	正常 Normal	无 Not have	良好 Well	A
	T3	绿色 Green	正常 Normal	无 Not have	良好 Well	A
	T4	绿色 Green	正常 Normal	无 Not have	良好 Well	A
3	CK	绿色 Green	正常 Normal	无 Not have	良好 Well	A
	T1	绿色 Green	正常 Normal	无 Not have	良好 Well	A
	T2	绿色 Green	正常 Normal	无 Not have	良好 Well	A
	T3	淡绿 Light green	少量叶缘萎蔫 A little of leaf edge wilting	无 Not have	中等 Medium	B
	T4	少部分泛黄 Partial yellowing	少量叶缘萎蔫 A little of leaf edge wilting	较少 Less	中等 Medium	B
6	CK	绿色 Green	正常 Normal	无 Not have	良好 Well	A
	T1	绿色 Green	正常 Normal	无 Not have	良好 Well	A
	T2	绿色 Green	正常 Normal	无 Not have	良好 Well	A
	T3	少部分泛黄 Partial yellowing	少量叶缘萎蔫 A little of leaf edge wilting	较少 Less	中等 Medium	B
	T4	部分泛黄 Partial yellowing	部分叶缘萎蔫 Part of leaf edge wilting	部分 Part of	一般 Common	C
9	CK	绿色 Green	正常 Normal	无 Not have	良好 Well	A
	T1	绿色 Green	正常 Normal	无 Not have	良好 Well	A
	T2	淡绿 Light green	极少量叶缘萎蔫 A little of leaf edge wilting	极少 Less	中等 Medium	B
	T3	部分泛黄 Partial yellowing	部分叶缘萎蔫 Part of leaf edge wilting	部分 Part of	一般 Common	C
	T4	叶缘变红 Partial yellowing	大部分叶缘萎蔫 Most of leaf edge wilting	较多 More	较差 Poor	D

升变化较明显且上升很快,在 9 d 时,分别为 CK 的 200% ($P < 0.01$) 和 250% ($P < 0.001$),与对照均存在极显著差异。

2.2.3 对“繁景”杜鹃 MDA 含量的影响 杜鹃叶片中 MDA 含量的增加与膜透性破坏有关(Del Rio &

Stewart, 2005), MDA 含量增加表明细胞受低温胁迫的影响越大。如图 5 所示,CK 的 MDA 含量随胁迫时间增加变化不大, T1 的叶片 MDA 含量随胁迫时间的变化略有增大但不明显,最后结果为 CK 的 114.3%, 差异不显著 ($P > 0.05$), 在 3 d 时, T2, T3 和



图 1 不同低温处理后杜鹃优良株系“繁景”杜鹃的外观形态

Fig. 1 Appearance in the *Rhododendron* hybrids of excellent strains “Fanjing” after different intensity treatments of low temperature

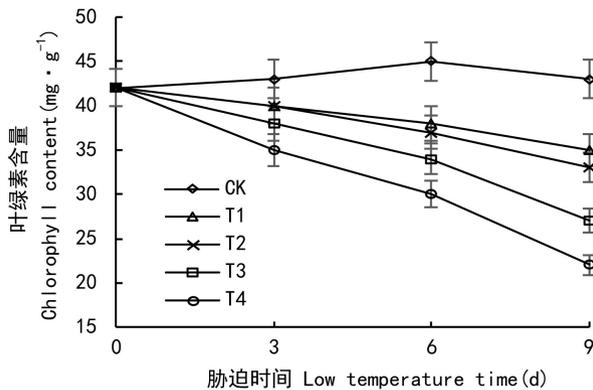


图 2 不同低温处理后杜鹃优良株系“繁景”杜鹃叶绿素含量的变化

Fig. 2 Change of chlorophyll content in the *Rhododendron* hybrids of excellent strains “Fanjing” after different intensity treatments of low temperature

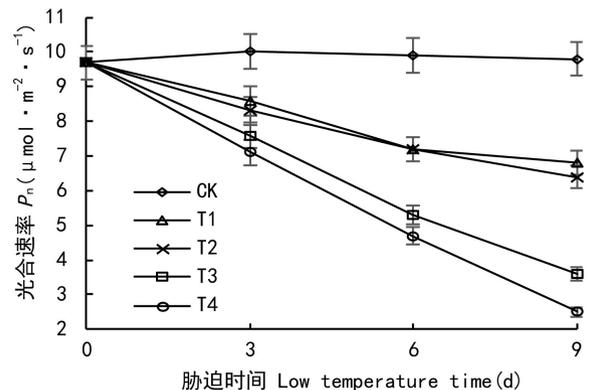


图 3 不同低温处理后杜鹃优良株系“繁景”杜鹃光合速率的变化

Fig. 3 Change of photosynthetic rate in the *Rhododendron* hybrids of excellent strains “Fanjing” after different intensity treatments of low temperature

T4 的“繁景”杜鹃叶片内 MDA 含量都明显增加,且随胁迫天数的增加变化明显增大,第 9 天时,这三个处理的 MDA 含量与温度呈反比,分别增长为 CK 的 157.1% ($P < 0.05$)、214.3% ($P < 0.01$) 和 257.1% ($P < 0.01$)。

2.2.4 对“繁景”杜鹃可溶性蛋白的影响 在一定的胁迫条件下,植物体内蛋白质含量的增加是植物对外界环境胁迫适应的一种表现,可作为植物相对抗性的一种指标(方志红和董宽虎,2010)。如图 6 所示,CK 的可溶性蛋白随胁迫时间的变化不大,趋

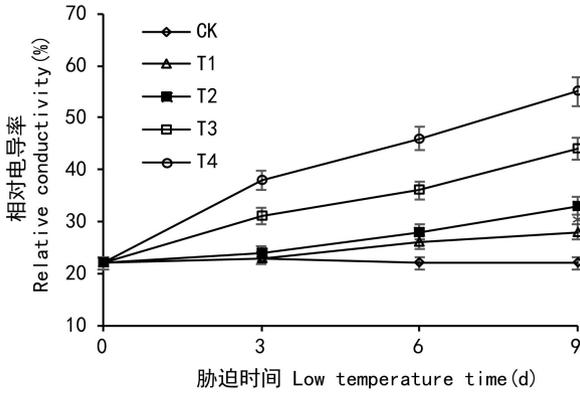


图 4 不同低温处理后杜鹃优良株系“繁景”杜鹃相对电导率的变化

Fig. 4 Change of relative conductivity in the *Rhododendron* hybrids of excellent strains “Fanjing” after different intensity treatments of low temperature

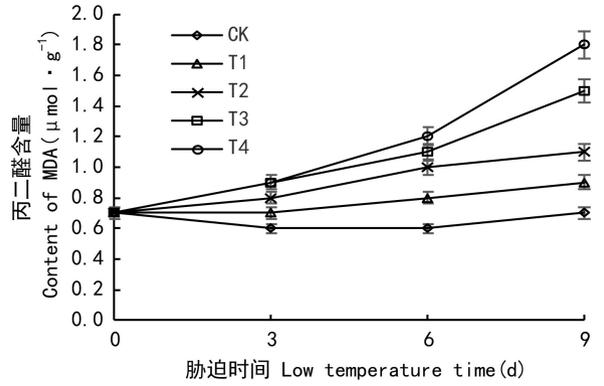


图 6 不同低温处理后杜鹃优良株系“繁景”杜鹃可溶性蛋白含量的变化

Fig. 6 Change of soluble protein content in the *Rhododendron* hybrids of excellent strains “Fanjing” after different intensity treatments of low temperature

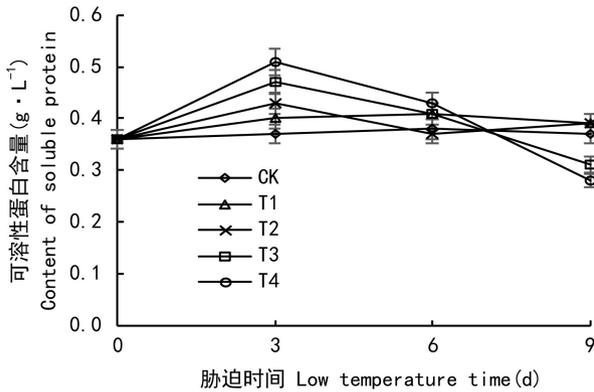


图 5 不同低温处理后杜鹃优良株系“繁景”杜鹃 MDA 含量的变化

Fig. 5 Change of MDA activity in the *Rhododendron* hybrids of excellent strains “Fanjing” after different intensity treatments of low temperature

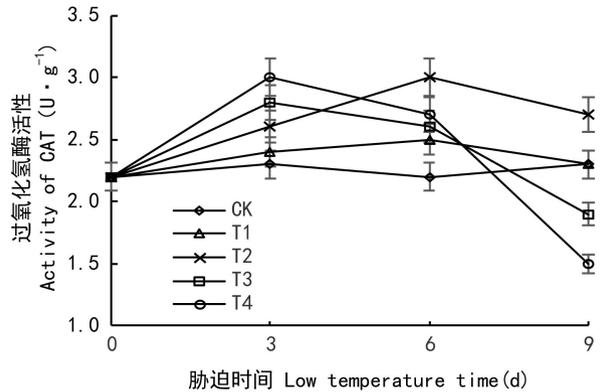


图 7 不同低温处理后杜鹃优良株系“繁景”杜鹃 CAT 活性的变化

Fig. 7 Change of CAT activity in the *Rhododendron* hybrids of excellent strains “Fanjing” after different intensity treatments of low temperature

于平衡状态;T1 的可溶性蛋白含量平缓上升,第 9 天为 CK 的 108.3%,但差异不显著 ($P>0.05$);T2 随胁迫时间增加先增后减,第 9 天为 CK 的 108.3%,差异不明显 ($P>0.05$);T3 和 T4 也随胁迫时间呈先上升后下降的趋势,第 9 天时分别为 CK 的 86.1% ($P<0.05$) 和 77.8% ($P<0.01$)。这表明低温胁迫使“繁景”杜鹃提高了可溶性蛋白含量从而增加了对低温的抗性,但是随着胁迫时间的增加,较长时间的低温抑制了叶片中蛋白质的合成。

2.2.5 对“繁景”杜鹃 CAT 活性的影响 不同低温处理下“繁景”杜鹃叶片中 CAT 活性整体变化趋势均为先上升后下降,且活性随处理天数增加变化增大。如图 7 所示,CK 随着时间的增加,变化不明显,T1,T2 和 T3 的 CAT 活性,在第 6 天达到最高,随后下降,在第 9 天,T1 和 T2 大于处理前,且高于 CK,而 T3 则低于 CK,T4 的 CAT 活性在第 3 天达到最高,随后下降,在第 6 天后又迅速下降,在第 9 天 T3 的 CAT 活性为 CK 的 86.4%,变化不显著 ($P>0.05$),

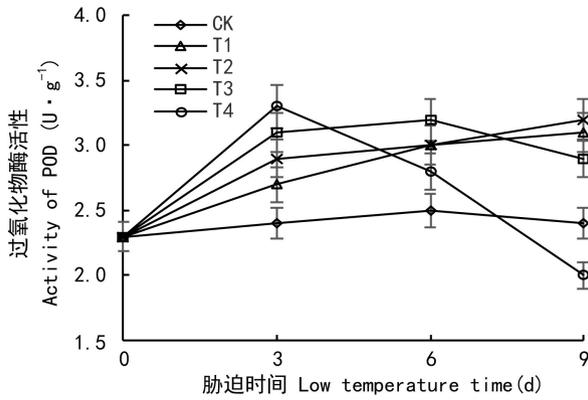


图8 不同低温处理后杜鹃优良株系“繁景”杜鹃 POD 活性的变化

Fig. 8 Change of POD activity in the *Rhododendron* hybrids of excellent strains “Fanjing” after different intensity treatments of low temperature

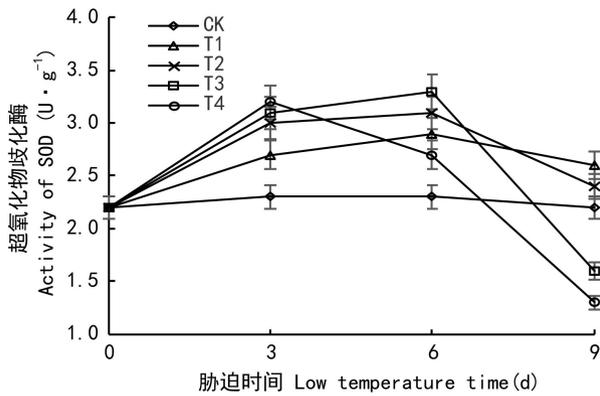


图9 不同低温处理后杜鹃优良株系“繁景”杜鹃 SOD 活性的变化

Fig. 9 Change of SOD activity in the *Rhododendron* hybrids of excellent strains “Fanjing” after different intensity treatments of low temperature

T4 的 CAT 活性为 CK 的 68.2%, 大于 CK 但不显著 ($P > 0.05$)。这表明在低温胁迫初期, “繁景”杜鹃通过 CAT 活性的增加而使抗性增加, 但随着胁迫时间增加, 其叶片细胞受到破坏, 致使 CAT 活性下降。

2.2.6 低温胁迫对“繁景”杜鹃 POD 活性的影响 在低温胁迫下, POD 的活性与 CAT 的活性变化规律有些相似, 但最终活性与最初有差异, 表明低温胁迫虽然也影响过氧化物酶的活性, 但其对低温的反应可能不一样。如图 8 所示, CK 的 POD 活性变化趋

于平缓, T1, T2 的 POD 活性逐渐升高, 且在第 9 天时分别为 CK 的 134.8% ($P < 0.05$) 和 139.1% ($P < 0.01$), T3 和 T4 的 POD 活性则先上升后下降, T3 在第 6 天达到峰值, 之后开始下降, 第 9 天时为 CK 的 130.4%, 变化较为显著 ($P < 0.05$), T4 在第 3 天达到峰值, 之后下降, 第 9 天时为 CK 的 87.0%, 变化较为显著 ($P < 0.05$)。

2.2.7 对“繁景”杜鹃 SOD 活性的影响 处理中 SOD 的活性变化与 CAT 的变化相似, 都呈先上升后下降的变化趋势。如图 9 所示, T1, T2, T3 的 SOD 活性都在处理第 6 天左右时达到最大值, 随后下降, CK 变化不明显, 在处理第 9 天时, T1 和 T2 分别为 CK 的 118.2% 和 109.1%, T3 为 CK 的 72.7%, 低于对照但不显著 ($P > 0.05$), T4 的 SOD 活性在第 3 天时就达到峰值, 之后降低, 第 9 天时, 达到最小值为 CK 的 59.1%, 低于 CK 但不显著 ($P > 0.05$)。经过比较发现, CK 的 SOD 活性变化不大, T1 和 T2 则高于处理前, 而 T3 和 T4 低于处理前但不显著 ($P > 0.05$), 这可能是由于在低温胁迫初期, 杜鹃通过提高 SOD 活性来增加对低温胁迫的抗性, 但是随着胁迫时间的增加, 植物细胞受到破坏, 导致其活性同样明显下降。

2.3 低温胁迫对“繁景”杜鹃叶片超微结构的影响

如图 10 所示, 在正常情况下, 栅栏组织细胞液泡膜完整, 叶绿体呈扁平状, 被液泡挤在细胞的边缘, 叶绿体基粒片层和基质片层与叶绿体长轴几近平行, 基粒片层多, 类囊体排列紧密且整齐, 基质浓厚, 内含嗜银颗粒与淀粉粒, 但小且少 (图 10:A)。T1 叶肉细胞超微结构基本正常, 叶绿体呈梭形或椭圆形, 被膜和类囊体正常, 结构清楚, 淀粉粒比对照组增大 (图 10:B)。T2 细胞膜维持基本正常, 叶绿体能基本维持其膜和结构的完整性, 但类囊体结构开始模糊, 叶绿体肿胀, 内含嗜银颗粒和淀粉粒开始增多且变大 (图 10:C)。T3 叶绿体被膜部分破损缺失, 结构松散, 基质稀薄, 嗜银颗粒和淀粉粒显著增多且变大 (图 10:D)。T4 部分细胞膜解体, 叶绿体被膜破损严重, 基粒片层解体, 严重空洞化, 细胞器结构破坏严重, 部分细胞甚至成为空细胞。

3 讨论与结论

温度是植物生长的重要条件, 不同的植物所需

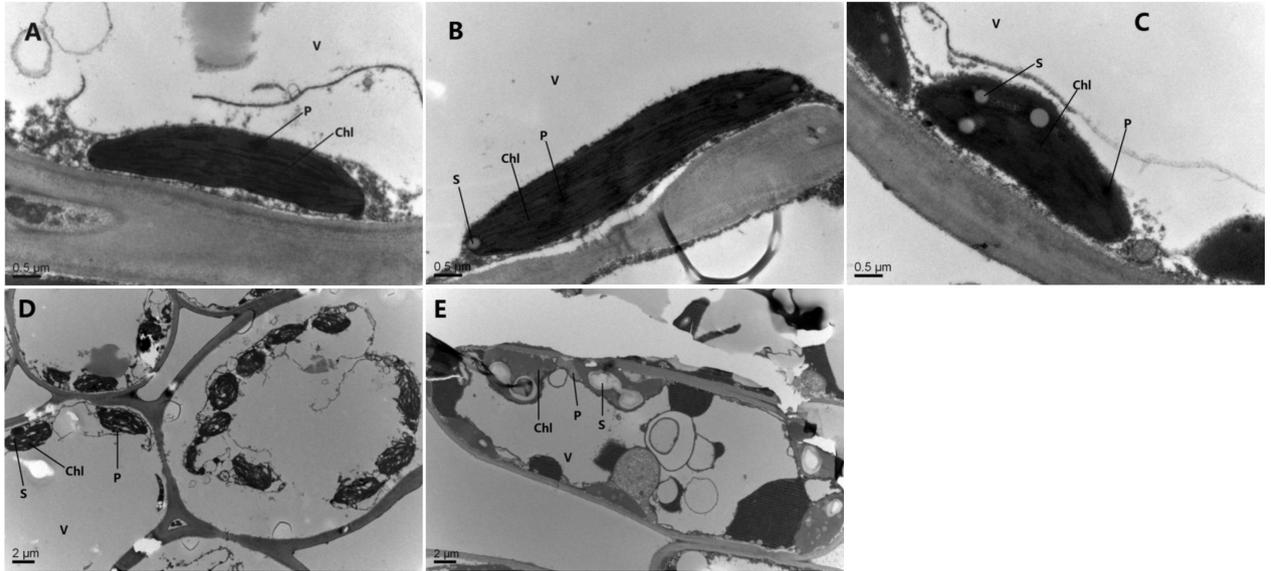


图 10 不同低温处理下杜鹃优良株系“繁景”杜鹃叶片超微结构 A. CK; B. T1; C. T2; D. T3; E. T4. Chl. 叶绿体; V. 液泡; S. 淀粉体; P. 嗜银颗粒。

Fig. 10 Ultrastructure of in the *Rhododendron* hybrids of excellent strains “Fanjing” leaves under different intensity treatments of low temperature A. CK; B. T1; C. T2; D. T3; E. T4.

Chl. Chloroplast; V. Vacuole; S. Starch body; P. Osmiophilic globules.

的温度都不同,高温或低温都会影响植物的生长。低温胁迫下,“繁景”杜鹃的形态特征产生了相应的变化,表明其生长发育受到了低温胁迫的影响。

3.1 “繁景”杜鹃叶绿素含量对低温胁迫的响应

在低温胁迫下,植物能通过改变生理特性来适应环境的变化(Ben-asher et al,2006)。试验中“繁景”杜鹃叶绿素含量的减少,可能是低温胁迫下合成叶绿素的相关酶活性降低,阻碍了叶绿素的合成;也可能是低温胁迫导致叶绿体功能受损,使叶绿素分解和叶绿体结构损伤,因此,“繁景”杜鹃的叶绿素含量降低。前人的研究表明,低温胁迫会减弱棉花幼苗的光合作用,且胁迫程度越强,胁迫时间越长,光合作用降低地越快(武辉等,2014)。低温会降低玉米幼苗的光合作用,且低温胁迫程度越强,时间越长,光合作用降低地越快(徐田军等,2012)。低温胁迫下盐肤木、假连翘等四种幼苗叶片的叶绿素含量处于不断降低的趋势,同时光合速率降低,且光合作用随着胁迫时间的增加,持续减弱(邵怡若等,2013)。以上结论均适用于低温胁迫下引起的“繁景”杜鹃光合作用强度的减弱。试验中发现,T2叶绿素含量无显著变化,表明“繁景”杜

鹃在 -3°C 低温胁迫下,能进行正常的光合作用;T3叶绿素含量下降较为明显,可能是因为叶绿体结构受到破坏,表明表明“繁景”杜鹃在 -6°C 低温胁迫下,光合作用受到一定影响。

3.2 “繁景”杜鹃可溶性蛋白含量对低温胁迫的响应

可溶性蛋白质参与植物细胞内渗透势的调控,为细胞活动提供能量并传递相关信息,在植物抵抗逆境胁迫的过程中起到关键作用。在逆境胁迫下,植物通过增加体内的蛋白质的含量来适应外界环境(Iriti & Faoro,2009)。低温胁迫下蛋白质的变化可能跟时间和营养状况等因素有关,因此其抗寒性也是处于变化的状态(Annicchiarico et al,2012)。试验结果表明,低温胁迫开始时,可溶性蛋白含量逐渐升高,随着低温胁迫程度和时间的增加,其含量开始下降。一开始可溶性蛋白含量的增加,可能是由于低温下促进了相关保护酶的合成,保护酶的增加使得杜鹃对低温的抗性增加。刚开始可溶性蛋白含量的增加也可能是某些大分子蛋白的分解所导致的,但是,由于低温胁迫程度和时间的增加,蛋白质遭到破坏,并以氨基酸的形式而存在,在不断地低温胁迫下,蛋白质的相关合成酶系统受损,

也可能导致可溶性蛋白含量的下降。综上所述,可溶性蛋白的含量与“繁景”杜鹃的抗寒性之间是有必然联系的。

3.3 “繁景”杜鹃抗氧化酶系统对低温胁迫的响应

CAT、SOD 和 POD 等酶,是组成植物细胞保护酶系统的重要成分,它们的功能是负责消除过氧化氢和各类自由基等(李品明等,2011)。MDA 的大量积累会使植物细胞的生物膜受损,对细胞具有毒害作用,其含量是判断脂质过氧化作用强弱的重要参数(徐海成等,2013)。CAT 与 SOD 的变化相似,都是先上升后下降,且 T3 酶活性明显降低,而 T2 酶活性与处理前差异不大,原因可能是在低温胁迫下,导致植物体内活性氧等物质含量短暂性的增加,促进了 SOD 和 CAT 的合成,避免大量的活性氧等物质的积累,从而提高抗寒性,但是随着胁迫时间的增加和胁迫程度的加强,可能使得合成相关酶的系统受到损坏,因此 SOD 和 CAT 的活性又开始下降。POD 活性升高后下降的趋势没有 CAT 和 SOD 明显,可能是因为 POD 在参与消除羟基自由基的同时,也参与活性氧的生成,并产生膜脂过氧化的现象(柯世省和杨敏文,2007;谭健晖,2013)。本研究结果与前人的研究结果基本一致,在低温胁迫下,“繁景”杜鹃通过提高保护酶的活性来增加对低温的抗性,但随着低温胁迫时间的增加,“繁景”杜鹃无法保持提高保护酶活性与增加对低温的抗性之间的平衡,植物细胞受损可能需要长时间的恢复或者不能进行恢复(余丽玲等,2014;黄承玲等,2011)。

从以上研究结果可以发现,在低温胁迫下“繁景”杜鹃的生长发育、理化特性以及超微结构的变化较为统一。T2 生长良好,各项理化指标正常,细胞超微结构无变化,且叶绿体完整。T3 生长状态下,各项理化指标产生较大变化,细胞超微结构出现轻微的损坏,但是可以保持其基本生长的要求。T4 生长状态非常差,其各项理化指标明显非正常,保护酶活性降到最低,细胞超微结构出现明显的缺失情况,细胞器受到毁灭性破坏。

综上所述,“繁景”杜鹃这一品种较耐寒,在-3℃低温胁迫下,能完成正常的生理活动和保持正常的生长状态,能够对低温胁迫产生相应的抗性。在-6℃低温胁迫下,也能基本维持其生长并完成基本

的生理活动,对低温胁迫产生一定的抗性。但是在-9℃低温胁迫下,会导致叶绿体和保护酶系统被破坏,植物细胞受到损伤,不能进行正常的生理活动,无法正常生长甚至死亡。本研究表明“繁景”杜鹃能耐受的低温为-6℃。本研究中“繁景”杜鹃作为城市园林绿化植物,在花色、花期和抗寒性方面表现较为出色,因此该株系可作为宁波市良好的杜鹃花绿化候选材料,由于其抗寒机制较复杂,因此有待下一步的深入研究。

参考文献:

- ANNICCHIARICO P, PECETTI L, TAVA A, 2012. Physiological and morphological traits associated with adaptation of lucerne (*Medicago sativa*) to severely drought-stressed and to irrigated environments [J]. *Ann Appl Biol*, 162(1): 27-40.
- BEN-ASHER J, TSUYUKI I, BRAVDO BA, et al, 2006. Irrigation of grapevines with saline water: I. Leaf area index, stomatal conductance, transpiration and photosynthesis [J]. *Agric Water Manag*, 83(1/2): 13-21.
- CHEN JX, WANG XF, 2002. Guideline of experiments in plant Physiology [M]. Guangzhou: South China University of Technology Press: 31-32, 117-120. [陈建勋, 王晓峰, 2002. 植物生理学实验指导方针 [M]. 广州: 华南理工大学出版社: 31-32, 117-120.]
- DEL RD, STEWART AJ, 2005. Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress [J]. *Nutr Metab Card Dis*, 15(4): 316-328.
- FANG ZH, DONG KH, 2010. Effects of Na Cl stress on soluble protein contents and soluble carbohydrate contents of *Artemisia cnehtifolia* [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 26(16): 147-149. [方志红, 董宽虎, 2010. NaCl 胁迫对碱蒿可溶性糖和可溶性蛋白含量的影响 [J]. *中国农学通报*, 26(16): 147-149.]
- GAO JF, 2006. Guideline of experiments in plant physiology [M]. Beijing: Higher Education Press: 142-143. [高俊凤, 2006. 植物生理学实验指南 [M]. 北京: 高等教育出版社: 142-143.]
- GONG P, WANG J, 2011. Measurement of thermal resistance of six aromatic plants with electrical conductivity method [J]. *Hubei Agric Sci*, 50(10): 2038-2040. [龚萍, 王健, 2011. 利用电导率法测定六种芳香植物的耐热性 [J]. *湖北农业科学*, 50(10): 2038-2040.]
- HUANG CL, CHEN X, GAO GL, et al, 2011. Physiological response of seedlings of three *Azalea* species of drought stress and evaluation of drought resistance [J]. *Sci Sil Sin*, 47(6): 48-55. [黄承玲, 陈训, 高贵龙, 等, 2011. 3 种高山杜鹃对持续干旱的生理响应及抗旱性评价 [J]. *林业*

- 科学, 47(6): 48-55.]
- IRITI M, FAORO F, 2009. Chemical diversity and defence metabolism; how plants cope with pathogens and ozone pollution [J]. Intern J Mol Sci, 10(8): 3371-3399.
- KONG XS, YI XF, 2008. Plant physiology test technique [M]. Beijing: China Agriculture Press: 160-162. [孔祥生, 易现峰, 2008. 植物生理学试验技术 [M]. 北京: 中国农业出版社: 160-162.]
- KE SS, YANG MW, 2007. Effects of water stress on antioxidant system and lipid peroxidation in *Rhododendron fortunei* [J]. Acta Horti Sin, 34(5): 1217-1222. [柯世省, 杨敏文, 2007. 水分胁迫对云锦杜鹃抗氧化系统和脂类过氧化的影响 [J]. 园艺学报, 34(5): 1217-1222.]
- LI XF, NI ZM, WU YY, et al, 2015. Effects of salt stress on photosynthetic characteristics and leaf cell structure of 'Yinhong' grapes seedlings [J]. Acta Ecol Sin, 2015, 35(13): 4436-4444. [李学孚, 倪智敏, 吴月燕, 等, 2015. 盐胁迫对'鄞红'葡萄光合特性及叶片细胞结构的影响 [J]. 生态学报, 35(13): 4436-4444.]
- LI PM, SUN YF, YANG BX, et al, 2011. The effect of low temperature stress on lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes of *Coptis chinensis* Franch [J]. Chin Agric Sci Bull, 27(15): 117-120. [李品明, 孙玉芳, 杨丙贤, 等, 2011. 低温胁迫对黄连膜脂过氧化作用和抗氧化酶活性的影响 [J]. 中国农学通报, 27(15): 117-120.]
- SHAO YR, XU JX, XUE L, et al, 2013. Effects of low temperature stress on physiological-biochemical indexes and photosynthetic characteristics of seedlings of four plant species [J]. Acta Ecol Sin, 33(14): 4237-4247. [邵怡若, 许建新, 薛立, 等, 2013. 低温胁迫时间对4种幼苗生理生化及光合特性的影响 [J]. 生态学报, 33(14): 4237-4247.]
- TAO QJ, FU T, XIANG XN, et al, 2014. Effects of simulated acid rain on the physiological and ecological characteristics of *Rhododendron hybridum* [J]. Acta Ecol Sin, 34(8): 2020-2027. [陶巧静, 付涛, 项锡娜, 等, 2014. 模拟酸雨对西洋杜鹃生理生态特性的影响 [J]. 生态学报, 34(8): 2020-2027.]
- TAN JH, 2013. Physiological and biochemical responses of *Pinus massoniana* superior provenance seedlings under artificial low temperature stress [J]. Sci Sil Sin, 49(3): 51-55. [谭健晖, 2013. 马尾松优良种源苗木对人工低温胁迫的生理生化反应 [J]. 林业科学, 49(3): 51-55.]
- WU FJ, LI FL, HUANG FL, et al, 2008. Research progress on *Rhododendron* [J]. J NE Agric Univ, 39(1): 139-144. [吴福建, 李凤兰, 黄凤兰, 等, 2008. 杜鹃花研究进展 [J]. 东北农业大学学报, 39(1): 139-144.]
- WANG XK, 2006. Principle and technology of plant physiology and biochemistry experiment [M]. Beijing: Higher Education Press. [王学奎, 2006. 植物生理生化试验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社.]
- WU YX, 2002. Von Tiedemann A. Impact of fungicides on active oxygen species and antioxidant enzymes in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) exposed to ozone [J]. Environ Poll, 116: 37-47.
- WU YY, LI B, ZHANG YZ, et al, 2011. Effects of salt stress on physiological-biochemical characteristics and chloroplast submicroscopic structure of *Rhododendron indicum* [J]. J Zhejiang Univ (Agric Life Sci Ed), 37(6): 642-648. [吴月燕, 李波, 张燕忠, 等, 2011. 盐胁迫对杜鹃生理生化与叶绿体亚显微结构的影响 [J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 37(6): 642-648.]
- WU H, DAI HF, ZHANG JS, et al, 2014. Responses of photosynthetic characteristics to low temperature stress and recovery treatment in cotton seedling leaves [J]. Chin J Plant Ecol, 38(10): 1124-1134. [武辉, 戴海芳, 张巨松, 等, 2014. 棉花幼苗叶片光合特性对低温胁迫及恢复处理的响应 [J]. 植物生态学报, 38(10): 1124-1134.]
- XU TJ, DONG ZQ, LAN HL, et al, 2012. Effects of PASP-KT-NAA on photosynthesis and antioxidant enzyme activities of maize seedlings under low temperature stress [J]. Acta Agron Sin, 38(2): 352-359. [徐田军, 董志强, 兰宏亮, 等, 2012. 低温胁迫下聚糠萘合剂对玉米幼苗光合作用和抗氧化酶活性的影响 [J]. 作物学报, 38(2): 352-359.]
- XU HC, YIN YP, CAI T, et al, 2013. Responses of winter wheat tillers at different positions to low temperature stress at stem elongation stage and their freezing resistance evaluation [J]. Chin J Appl Ecol, 24(8): 2197-2204. [徐海成, 尹燕桦, 蔡铁, 等, 2013. 冬小麦拔节期不同茎蘖对低温胁迫的反应及抗冻性评价 [J]. 应用生态学报, 24(8): 2197-2204.]
- YU LL, HE TY, ZHENG YS, et al, 2014. Changes of physiological and biochemical indexes of *Rhododendron hybridum* under artificial low temperature stress [J]. J Agric, 4(1): 48-53. [余丽玲, 何天友, 郑郁善, 等, 2014. 人工低温胁迫下西洋杜鹃生理生化指标的变化 [J]. 农学报, 4(1): 48-53.]