

杨 阳,王红丽,高 平. 低温胁迫对矮斗菜叶片形态和生理特性的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(23):151-153.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.23.038

低温胁迫对矮斗菜叶片形态和生理特性的影响

杨 阳,王红丽,高 平

(吕梁学院生命科学系,山西吕梁 033000)

摘要:以大花矮斗菜为研究对象,将其置于 0~4℃ 的低温下,采用徒手切片法和石蜡切片法,显微观察气孔、栅栏组织、海绵组织及维管束的叶片解剖结构在低温胁迫下的变化。通过测定叶绿素、可溶性蛋白、脯氨酸与丙二醛含量来分析矮斗菜叶片生理特性在低温胁迫下的变化特点。结果显示,低温胁迫下叶色由墨绿色变成黄色。随着低温胁迫时间的延长,矮斗菜叶片的下表皮气孔密度在 0~7 d 变化不显著,低温胁迫 21 d 气孔密度显著减小,从 30 个/mm² 降低到 12 个/mm²。气孔大小、气孔开度先增大后减小。叶片栅栏组织厚度随着胁迫时间的延长显著减小,从 14.20 μm 减小到 6.01 μm,而海绵组织厚度显著增大,从 8.51 μm 增大到 12.00 μm,栅海比则显著减小。维管束口径显著增大,从 1.20 μm 增长到 3.26 μm。叶片可溶性蛋白含量随着胁迫时间的延长,前 2 d 升高,而后逐渐下降 6 d 后又升高。脯氨酸含量在低温胁迫前 4 d 呈上升趋势,后逐渐下降,至胁迫 10 d 时有所回升。丙二醛含量在低温胁迫下呈现先升高后降低,6 d 后又逐渐升高的趋势。

关键词:低温胁迫;大花矮斗菜;叶片;解剖结构;生理特性

中图分类号: Q945.78;S184 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)23-0151-03

影响植物的气候因素很多,温度是影响植物地理分布的主导因素,植物栽培中经常遇到冷害冻害,低温影响植物的生长代谢,不仅引起植物的各项相关生理指标变化,导致植物生长受损,甚至会导致植株死亡^[1]。全面又深刻地认识到植物的低温伤害机理,有助于更好地找到解决低温伤害问题的方案^[2]。目前,国内外关于低温胁迫的研究越来越详细。国际上对于植物的抗寒性研究也已经十分成熟,无论是植株、器官、细胞还是基因层次都有涉及。我国关于低温胁迫对植物生理特性影响的研究最初主要集中于生理生化方面,目前逐步转向更加深入的分子水平研究层面^[2]。植株层次:植物的生长过程对温度很敏感,低温能影响植物的生长代谢,引起植物相关生理指标变化,导致植物的生长受损,严重时导致死亡。细胞层次:低温会使细胞的栅栏组织变薄,海绵组织则变厚,同时,植物的维管束口径增大^[3]。山西地处黄土高原,冬季气候寒冷而干燥,雨雪稀少,低温冻害易发,矮斗菜耐旱耐寒而且管理粗放,适宜在山西大面积种植以用于绿化建设。关于矮斗菜,无论是其在园林美化中的应用还是其生长过程中的生理特征,以及其药用价值等方面都有人涉及并深入研究,取得不少的研究成果。如陈菲等在对低温胁迫对矮斗菜脯氨酸和可溶性蛋白含量的影响的研究中发现,可溶性蛋白含量随低温胁迫程度的加深而增加^[4-5]。但国内在低温胁迫对矮斗菜叶片形态和生理特性方面的影响尚未报道。

1 材料与方法

收稿日期:2017-08-22

基金项目:吕梁学院青年科研基金(编号:ZRQN201513)。

作者简介:杨 阳(1983—),女,甘肃兰州人,博士研究生,讲师,主要从事观赏植物引种驯化及开花生理方面的研究。E-mail:147414658@qq.com。

1.1 试验材料与试剂

供试材料为大花矮斗菜(*Aquilegia glandulosa* Fisch.), 2016 年 10 月定植于吕梁学院,采用海尔立式冰柜进行 0~4℃ 低温处理。试验时间为 2016 年 10 月至 2017 年 7 月。

1.2 试验设计

取 6~9 张叶长势一致的矮斗菜返青植株 90 株,30 株为一组,置于 0~4℃ 的立式冰柜中低温处理,分别在低温处理 0、7、14、21 d 时取样,以 0 d 的叶片形态和解剖结构为对照,观察低温胁迫下矮斗菜叶片解剖结构,记录变化数据,每组重复 3 次。

取 6~9 张叶长势一致的矮斗菜返青植株 90 株,30 株为一组。置于 0~4℃ 的立式冰柜中低温处理,分别在低温处理 0、2、4、6、8、10 d 时取样,以 0 d 的大花矮斗菜叶片的各项生理指标为对照,测定叶绿素、脯氨酸、丙二醛与可溶性蛋白的含量^[6],每组重复 3 次。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 叶片形态指标测定方法 矮斗菜叶片形态观察:直接观察叶片生长形态及颜色,用 RHS 植物比色卡进行比较,并做记录。矮斗菜叶片气孔密度和气孔开度的测定及计算:将做好的大花矮斗菜徒手切片,在生物显微镜下观察,低倍镜视野,再高倍镜观察,拍照记录气孔个数,显微测微尺测量气孔大小、开度,记录数据,计算气孔密度。计算公式:视野的面积 = $\pi \times \text{半径}^2$;气孔密度 = 视野中气孔的个数/视野的面积。

矮斗菜叶片栅栏组织厚度的测定及栅海比的计算:选取大花矮斗菜叶片横切石蜡切片^[7],在生物显微镜下,先低倍镜视野观察,再换高倍镜观察并拍照记录,利用显微测微尺测量栅栏、海绵组织的厚度,计算栅海比。栅海比 = 栅栏组织厚度/海绵组织厚度。

矮斗菜叶片维管束口径的测定:选取大花矮斗菜叶片靠近叶柄的部位做横切石蜡切片,在显微镜下观察,先用低倍镜

找到观察的视野并拍照记录,再换高倍镜观察并拍照记录,用显微测微尺测量维管束口径,并记录数据。气孔观察与测定:取大花楼斗菜基生叶下表皮的徒手切片,观察叶片气孔并测量有关数据(气孔密度、气孔大小、气孔开度)。

1.3.2 生理生化指标测定方法及计算 采用丙酮乙醇法测定叶绿素含量^[8];采用酸性茚三酮法测定脯氨酸含量^[9-10];采用硫代巴比妥酸法测定丙二醛含量^[11-13],采用考马斯亮蓝法测定可溶性蛋白含量^[10]。

1.4 数据统计及分析

采用 Excel 软件进行数据的录入和数据库的建立以及数据图表的制作,采用 SPSS 进行方差分析及显著性检测^[14-15]。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫对楼斗菜叶色的影响

对比 RHS 植物比色卡,低温处理 0 d 叶片呈墨绿色,低温处理 7 d 后叶片呈草绿色,低温处理 14 d 后叶片边缘干枯,叶肉细胞呈嫩绿色,叶脉呈草绿色,低温处理 21 d 后,叶片边缘卷曲,叶肉细胞呈黄色,叶脉仍呈草绿色。分析可得,低温胁迫影响楼斗菜叶色,使其从墨绿色逐渐变成黄色,且对叶肉颜色影响明显,叶片颜色呈现与叶肉和叶脉不同的色泽。

2.2 低温胁迫对楼斗菜叶片气孔密度和开度的影响

楼斗菜叶片上表皮几乎没有气孔分布。下表皮中,常温下的楼斗菜叶片气孔明显多于低温胁迫后的叶片。表 1 显示,随着低温胁迫时间的延长,气孔密度显著减小,其中气孔密度在低温胁迫 7 d 与正常环境下植株差异不显著,低温胁迫 14、21 d 气孔密度与正常环境下植株差异显著,从 30 个/mm² 降低到 12 个/mm²。低温胁迫对楼斗菜叶片气孔横径无显著影响,低温胁迫 14、21 d 气孔纵径有变化,但与常温下植株差异不显著。低温胁迫对楼斗菜叶片气孔开度有显著影响,低温胁迫 21 d 气孔开度与常温下植株相比显著降低。

表 1 低温胁迫下下表皮气孔比较

胁迫时间 (d)	气孔密度 (个/mm ²)	气孔大小 (μm × μm)	气孔开度 (μm × μm)
0	30 ± 5a	(30 ± 5)ab × (20 ± 5)a	(20 ± 2)a × (4 ± 1)a
7	28 ± 4a	(40 ± 5)a × (10 ± 3)a	(25 ± 5)a × (5 ± 1)a
14	16 ± 1b	(25 ± 5)b × (20 ± 5)a	(20 ± 3)a(× 2 ± 1)b
21	12 ± 3b	(20 ± 5)b × (15 ± 1)a	(10 ± 2)b × (1 ± 0)b

注:同列数值后不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。下表同。

2.3 低温胁迫对楼斗菜叶片栅栏组织、海绵组织厚度的影响

从表 2 可以看出,低温胁迫对楼斗菜叶片解剖结构影响显著。随着胁迫时间的延长,大花楼斗菜叶片栅栏组织厚度显著减小,从 14.20 μm 减小到 6.01 μm,而海绵组织厚度显著增大,从 8.51 μm 增大到 12.00 μm,栅海比则显著减小。

2.4 低温胁迫对楼斗菜叶片维管束口径的影响

维管束在植物体中承担着运输水分和营养的作用。从表 3 中可以看出,在低温胁迫下,随着胁迫时间的延长,楼斗菜叶片维管束口径显著增大,从 1.20 μm 增长到 3.26 μm。低温处理 0 d 的维管束口径显著小于低温处理 7、14、21 d 的维

表 2 低温胁迫对楼斗菜叶片栅海组织的影响

时间	栅栏组织厚度 (μm)	海绵组织厚度 (μm)	栅海比
0	14.20 ± 0.30a	8.51 ± 0.57a	1.67 ± 0.08a
7	9.05 ± 0.51b	10.43 ± 0.15b	0.87 ± 0.04b
14	7.00 ± 0.61c	11.20 ± 0.24c	0.63 ± 0.07c
21	6.01 ± 0.18d	12.00 ± 0.18d	0.50 ± 0.01d

表 3 低温胁迫对维管束口径的影响

胁迫时间 (d)	维管束口径 (μm)
0	1.20 ± 0.30c
7	2.19 ± 0.11b
14	2.84 ± 0.35b
21	3.26 ± 0.26a

管束口径。低温胁迫处理 21 d,维管束口径最大,达到(3.26 ± 0.26) μm。

2.5 低温胁迫对楼斗菜叶片叶绿素含量的影响

从图 1 可看出,低温胁迫下植株叶片的叶绿素含量低于常温下植株的叶绿素含量,并且随着低温胁迫时间的延长,叶绿素含量逐渐下降。而胁迫 8 d 后,叶绿素含量又逐渐上升。

2.6 低温胁迫对楼斗菜叶片可溶性蛋白含量的影响

从图 2 可看出,随着胁迫时间的延长,可溶性蛋白含量呈现先升高后下降再升高的趋势。低温胁迫 2 d 后,楼斗菜叶片可溶性蛋白含量略高于常温下处理的叶片,低温胁迫 4 d 后,可溶性蛋白含量逐渐降低,至胁迫 6 d 达到最低,胁迫 8 d 可溶性蛋白含量有所增加,但仍低于常温下处理的楼斗菜叶片。

2.7 低温胁迫对楼斗菜叶片脯氨酸含量的影响

从图 3 可看出,随着胁迫时间的延长,楼斗菜叶片脯氨酸含量呈现先升高后下降再升高的趋势。低温胁迫前 4 d,楼斗菜叶片脯氨酸含量升高,且高于常温下叶片,低温胁迫 4 d 后,脯氨酸含量逐渐降低,至胁迫 10 d 时有所回升,且脯氨酸含量略高于常温下的处理。

2.8 低温胁迫对楼斗菜叶片丙二醛含量的影响

从图 4 可看出,随着低温胁迫时间的延长,丙二醛含量呈现波动,先升高后降低再升高。低温处理前 4 d,丙二醛含量逐渐升高,4~6 d 丙二醛含量降低,6 d 后又逐渐升高^[14]。

3 讨论

本研究以大花楼斗菜为试验材料,研究结果发现低温胁迫下叶片从墨绿色变为黄色,气孔变小,栅栏组织厚度减小,海绵组织厚度和维管束口径增大,各项生理指标发生变化,充分说明了楼斗菜对低温的适应性,也符合大部分植物对低温的适应性。之前的报道表明,具有较强抗寒性的植物的叶解剖结构均呈现栅栏组织增厚且排列紧密的现象,而本试验中栅栏组织厚度虽呈现减小的趋势,但细胞排列比常温下紧密。气孔密度、气孔大小、气孔开度是植物调节自身蒸腾作用的反应。气孔减少在一定程度上会导致植物光合作用降低,气孔开度减小使植物蒸腾作用降低,从而使植物生理机能降低,达到保护自我的目的,也充分证明了楼斗菜有抗寒能力。但由于没有继续加长跟踪测定大花楼斗菜气孔密度、气孔大小及

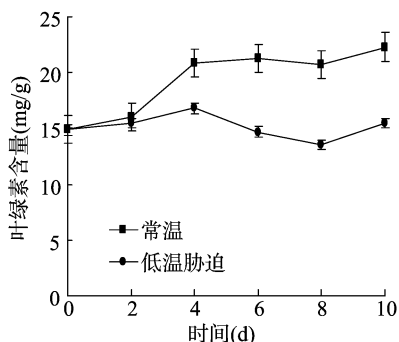


图1 低温胁迫对矮斗菜叶绿素含量的影响

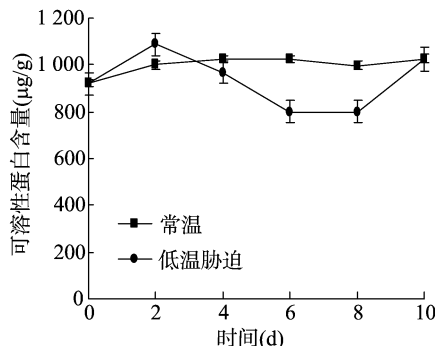


图2 低温胁迫对矮斗菜可溶性蛋白含量的影响

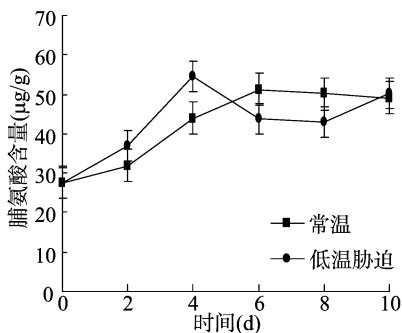


图3 低温胁迫对矮斗菜脯氨酸含量的影响

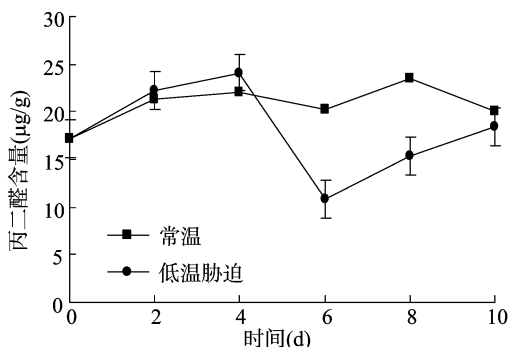


图4 低温胁迫对矮斗菜丙二醛含量的影响

气孔开度的处理时间,故无法判断大花矮斗菜植株的耐寒范围。

植物的生命活动离不开光合作用,植物为了抵御低温,各项生命活动速率都会在一定程度上降低,从而导致植物叶绿素含量降低。大花矮斗菜叶绿素含量呈现先升高后降低再升高的趋势,但上升趋势并不显著,这一趋势与文献结果相一致。但由于没有继续加长处理时间跟踪测定,故无法判断大花矮斗菜植株的耐寒范围。

可溶性蛋白是重要的渗透调节物质和营养物质,可以以小分子状态溶于水或其他溶剂,其增加和积累能提高细胞的保水能力,从而使植物能够更好地抵抗低温胁迫对自身造成的不良影响^[6,8,10,16-17]。在低温胁迫 2 d 时,大花矮斗菜植株可溶性蛋白含量升高,2 d 后开始下降,6 d 后又逐渐上升,与查阅文献结果一致。游离脯氨酸是构成植物蛋白质的一种重要氨基酸。低温胁迫 0~4 d 时,脯氨酸含量逐渐升高,4 d 后逐渐降低,至胁迫 10 d 时又有所回升,且略高于常温处理。丙二醛是植物膜脂受活性氧作用产生的物质,是过氧化物的最终分解产物,丙二醛的大量积累会破坏植物细胞膜,对植物的生理活性造成毒害,其含量越多,细胞膜脂过氧化的程度就越大,植物受伤越严重^[6,8,18-20]。在低温胁迫 2~4 d 时,大花矮斗菜植株丙二醛含量一直呈现上升趋势,4 d 后开始下降,6 d 后又呈现上升趋势。

另外,试验中各项生理指标均呈现出先升高后降低再升高的趋势,推测可能是试验中所取材料的差异导致,最后 2 次取材时所选材料是长出的新叶,而前面取材时选用的叶片是老叶,从而使最后 2 d 所测得的生理指标均呈现上升趋势。

参考文献:

[1] 郭晓红,汪德新. 园林花卉抗寒性研究进展[J]. 内蒙古林业科

技,2013,39(3):50-53.

[2] 王会良,何华平,龚林忠,等. 植物抗寒性研究进展[J]. 湖北农业科学,2011,50(6):1091-1094,1100.

[3] 李 宁,王 萍,李 焱,等. 外源化学物质对低温胁迫下茄子细胞膜系统的影响[J]. 长江蔬菜,2012(6):20-22.

[4] 陈 菲,曲彦婷,李 黎,等. 低温胁迫对 5 种矮斗菜质膜透性的影响[J]. 黑龙江科学,2013,4(5):44-46.

[5] 陈 菲. 低温胁迫对矮斗菜脯氨酸和可溶性蛋白含量的影响[J]. 北方园艺,2011(5):29-31.

[6] 田丹青,葛亚英,潘刚敏,等. 低温胁迫对 3 个红掌品种叶片形态和生理特性的影响[J]. 园艺学报,2011,38(6):1173-1179.

[7] 赵 云,李 涛,陈增洁. 含羞草石蜡切片的制作[J]. 宁夏农林科技,2011(4):45-46,95.

[8] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2000:62-70.

[9] 林 宁,谢安德,王凌晖,等. 低温胁迫对观光木幼苗离体叶片生理特性的影响[J]. 湖北农业科学,2012,51(16):3524-3527,3533.

[10] 张保青. 低温胁迫下甘蔗后期生理特性及差异蛋白质组学研究[D]. 南宁:广西大学,2013:26-29.

[11] 陈 亭. 青藏高原东缘三种风毛菊属植物对低温胁迫的生理响应[D]. 兰州:西北师范大学,2015:14-20.

[12] 宋吉仁. 冬小麦越冬期生理指标的比较及蔗糖代谢酶基因的表达[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2014:13-14.

[13] 徐 娜. 低温胁迫对锦熟黄杨生理特性的影响[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2007:33-35.

[14] 郭爱华,杨 阳,史晓霞. 光照强度对华北矮斗菜叶片解剖结构的影响[J]. 农业与技术,2016(20):252.

[15] 杨 阳,亢秀萍. 矮斗菜花芽分化及发育的初步研究[J]. 山西农业大学学报(自然科学版),2015(5):474-477,513.

[16] 王 辉,孙耀清,杨 乐,等. 3 种茶花叶片可溶性糖与可溶性蛋白含量的年变化[J]. 江苏农业科学,2017,45(11):105-107.

[17] 李 艰,周广柱. 低温胁迫下 3 种竹柳品系的抗寒性[J]. 江苏农业科学,2016,44(6):307-310.

[18] 刘会超,贾文庆,常亚丽. 低温胁迫对十大功劳叶片生理特性的影响[J]. 湖北农业科学,2010,49(5):1140-1142,1149.

[19] 李叶云,庞 磊,陈启文,等. 低温胁迫对茶树叶片生理特性的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2012(4):134-138,145.

[20] 徐冬梅. AMF 和外源 SA 对养心菜耐寒性的影响[D]. 雅安:四川农业大学,2015:22-24.