

何访淋,包国章,陈薇薇,等. 醋酸钙镁盐环保融雪剂及冻融胁迫对高羊茅幼苗的生理影响[J]. 江苏农业科学,2019,47(5):125-128.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.05.031

醋酸钙镁盐环保融雪剂及冻融胁迫 对高羊茅幼苗的生理影响

何访淋,包国章,陈薇薇,孙佳星

(吉林大学环境与资源学院,吉林长春 130012)

摘要:为探讨醋酸钙镁盐(calcium magnesium acetate,简称 CMA)环保融雪剂及冻融胁迫对高羊茅(*Festuca elata* Keng ex E. Alexeev)生理的影响,以高羊茅为试验材料,通过施加 CMA 环保融雪剂和冻融胁迫,测定高羊茅叶片相对含水率、可溶性蛋白含量、过氧化氢酶(catalase,简称 CAT)活性、过氧化物酶(peroxidase,简称 POD)活性、净光合速率(P_n)和蒸腾速率(T_r)的变化规律。结果表明:在冻融胁迫下,高羊茅幼苗叶片中相对含水率、净光合速率和蒸腾速率呈先降低后缓慢升高的趋势,蛋白质含量呈先升高后缓慢降低然后又升高的趋势,CAT、POD 活性均呈先升高后降低再缓慢升高的趋势;胁迫伤害整体呈现出冻融组>复合组>不冻融组与 CMA 组>空白组的规律。研究结果显示,高羊茅在 CMA+冻融胁迫下可快速调节抗氧化酶活性、渗透调节物质及光合特性,以缓解单一冻融胁迫导致的伤害。

关键词:高羊茅;CMA 环保融雪剂;冻融胁迫;生理响应

中图分类号: Q945.78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)05-0125-04

醋酸钙镁盐(calcium magnesium acetate,简称 CMA)环保融雪剂可替代氯盐,用于机场、高速公路等道路除雪,是一种环保型融雪剂,与传统氯盐融雪剂相比,腐蚀性低,毒性低,融雪效率高^[1]。目前,国内外关于使用 CMA 融雪剂后渗透到土地中对花草树木影响的研究比较少。冻融不仅作用于土壤,各种植物也会不同程度地受到冻融损伤^[2]。

高羊茅(*Festuca elata* Keng ex E. Alexeev),又名苇状羊茅,为羊茅属(*Festuca*)多年生禾本科(Gramineae)牧草,是可用于放牧、刈割、青储等用途的草地优良牧草,是目前我国应用最广泛的冷季型草坪草之一^[3]。目前对高羊茅在盐胁迫^[4-6]、酸雨^[7]、低温胁迫^[8]、干旱胁迫^[9]下生理参数变化的研究报道较多,但对高羊茅在冻融及 CMA 环保融雪剂复合胁迫下的生理响应研究较少。本试验研究 CMA 环保融雪剂及冻融复合胁迫下高羊茅幼苗的主要生理参数变化,分析其在胁迫中的抗逆性机制。

1 材料与方法

1.1 试材培养

本试验于 2017 年 8—11 月在吉林大学环境与资源学院环境生态学实验室中进行。供试高羊茅品种法恩(FAWN),由北京克劳沃草业技术开发中心提供。

试验材料的培养:挑选颗粒饱满、大小相似的高羊茅种子(发芽率为 48.39%),用 0.1% 高锰酸钾(KMnO_4)溶液消毒

2 h,再用蒸馏水将种子冲洗干净,将种子按 40 粒 \times 100 粒整齐排放于铺有 2 层滤纸,大小为 18 cm \times 26 cm \times 3 cm 的托盘上,加适量蒸馏水。将托盘置于 MGC-450BP 光照培养箱中,培养箱设置为 08:00 至 20:00,温度设为 25℃,光照;20:00 至次日 08:00,温度设为 20℃,黑暗。每天早、中、晚 3 次察看幼苗水量,每盘添加 20 mL 蒸馏水保持滤纸湿润。

1.2 母液配制

CMA 环保融雪剂的配制参考高效率 CMA 中钙镁比例,用醋酸钙和醋酸镁配制 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 物质的量的比例=3:7, CMA 环保融雪剂溶液浓度为 100 mmol/L。

1.3 试验处理和取样

1.3.1 模拟环保融雪剂试验 4 盘幼苗分别为空白组、CMA 环保融雪剂组、冻融组和 CMA+冻融复合胁迫组。待测幼苗培养至第 10 天,对 CMA 环保融雪剂组和 CMA+冻融复合胁迫组,每盘施加 10 mL CMA 环保融雪剂,其余 2 组加蒸馏水,处理 4 d。处理期间经常察看水量,适当补充蒸发的水分。

1.3.2 人工模拟冻融试验 幼苗培养第 14 天,将冻融组和 CMA+冻融复合胁迫组放入 BPHJ-120A 高低温交变试验箱中,设定温度变化曲线,进行模拟冻融试验。设置 7 个温度梯度,分别为 10、5、0、-5、0、5、10℃,每 2 h 变温 5℃。空白组和 CMA 环保融雪剂组在光照培养箱中培养。每 2 h 从 4 个处理组中随机剪取植株中上部叶片,混匀后用锡箔纸包裹并放入液氮中固定,然后放入 -80℃ 超低温冰箱中,用于蛋白质、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)指标测定,同时取部分新鲜叶片用于相对含水率、净光合速率、蒸腾速率的测定。

1.4 试验方法

1.4.1 叶片相对含水率(relative water content,简称 RWC) 用比重法测定相对含水率,每个温度梯度、每个处理组取外形良好的新鲜叶片,称质量并记录,加入去离子水至叶片质量恒定,放入烘箱烘至恒质量,则 $\text{RWC} = (\text{鲜质量} - \text{干质量}) / (\text{饱}$

收稿日期:2018-05-22

基金项目:国家自然科学基金(编号:31772669)。

作者简介:何访淋(1994—),女,江苏苏州人,硕士研究生,主要从事环境生态学研究。E-mail:493082049@qq.com。

通信作者:陈薇薇,博士,工程师,主要从事环境污染与控制化学研究。E-mail:chenvv@jlu.edu.cn。

和鲜质量-干质量) × 100%。

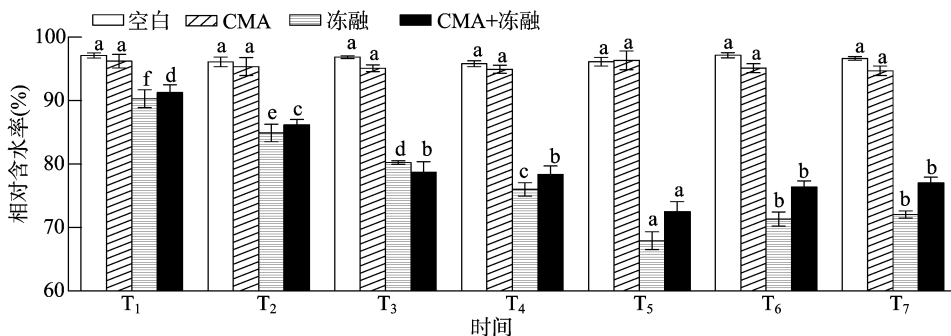
1.4.2 叶片可溶性蛋白的含量 测定叶片中的蛋白质时,将叶片研磨成组织匀浆离心后,用考马斯亮蓝法测定可溶性蛋白含量,以去离子水为空白对照,在波长 595 nm 下测定吸光度,计算叶片中可溶性蛋白的含量。

1.4.3 叶片中 CAT、POD 活性 用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定 CAT 和 POD 的活性,每个指标设 3 组平行样。

1.4.4 叶片光合参数的测定 将高羊茅群体放入 CIRAS-3 便携式光合测定系统同化室中,仪器读数稳定后进行净光合速率(P_n)和蒸腾速率(T_r)的测定。

1.5 数据处理

用 Excel 2007 和 SPSS 19.0 进行数据处理分析,柱状图



T₁~T₇ 表示 2、4、6、8、10、14 h 冻融试验, 冻融试验组的对应冻融温度分别是 10、5、0、-5、0、5、10 ℃。不同小写字母表示不同温度之间有显著差异 ($P < 0.05$)。下图同

图1 CMA 及冻融胁迫对高羊茅幼苗叶片中相对含水率的影响

2.2 冻融及 CMA 胁迫对高羊茅体内可溶性蛋白的影响

从图 2 可以看出,空白组和 CMA 处理组叶片中蛋白质含量在常温培养下无显著差异,但高于冻融组和 CMA 及冻融复合胁迫组。在冻融处理阶段,CMA 及冻融复合组幼苗叶片中蛋白质含量呈先升高后降低的趋势,T₃~T₅ 阶段与其他组相

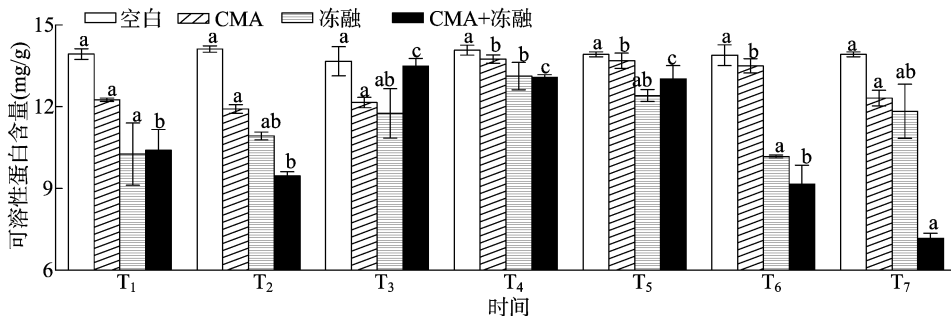


图2 CMA 及冻融胁迫对高羊茅幼苗体内可溶性蛋白含量的影响

2.3 冻融及 CMA 胁迫对高羊茅体内抗氧化酶活性的影响

由图 3 可见,叶片中 CAT 活性为冻融组 > CMA 组 > 空白组。CMA 组叶片中的 CAT 活性比空白组高 3.01% ~ 11.80%。在整个冻融循环中,CMA 及冻融复合胁迫的 CAT 活性呈现先降低后升高的趋势,在 T₄ 时达到最小值 9.80 U/mg,与 T₁ 相比降低了 31.94%,随着温度升高,CAT 活性逐渐升高,保护酶对膜脂过氧化的防御能力与植物的抗逆性有着非常密切的关系,这与陈少裕的研究结果^[13]一致。在 T₁~T₆ 阶段,CAT 活性趋势为 CMA 及冻融复合胁迫组 < 单一冻融组。

图 4 显示,冻融组和 CMA 及冻融复合胁迫组在整个冻融

用 Origin 8.0 绘制。

2 结果与分析

2.1 冻融及 CMA 胁迫对高羊茅体内 RWC 的影响

从图 1 可以看出,在常温(25 ℃)培养下,空白组和 CMA 组无显著差异,CMA 组与空白组相比 RWC 降低了 -0.55% ~ 2.29%,这与刘倩等的研究结果^[10]一致。冻融组、冻融及 CMA 复合胁迫组叶片中相对含水率呈现先下降再缓慢升高的趋势,在 T₅ 时分别达到最低值,与 T₁ 相比分别下降 24.29%、20.58%,在 T₆、T₇ 时,冻融组和 CMA 及冻融复合胁迫组中相对含水率逐渐上升但低于 T₁ 时,且无显著差异。除 T₃ 外,复合胁迫组叶片中相对含水率均高于冻融组,这与王学愿等的研究结果^[11]一致。

比有显著差异,到 T₇ 时,复合胁迫组中蛋白质含量降至最低值,与 T₁ 时相比下降了 31.11%。冻融组幼苗在 T₁~T₄ 时期,蛋白质含量随着温度的下降逐渐上升,在 T₄~T₆ 时期,蛋白质含量随着温度的回升逐渐降低,在 T₄ 时达到最大值,与空白组相比,降低了 6.77%,高媛等也得出过类似的结论^[12]。

循环中与空白组相比,其 POD 活性多数显示出上升趋势,且在 T₁、T₂、T₆、T₇ 时冻融复合胁迫组中 POD 活性的升高趋势更加明显,这与周希琴等的研究结果^[14]一致。在整个冻融循环中,冻融组和 CMA + 冻融复合胁迫组均显示出先升高后降低再升高并变得平稳的趋势,在 T₃ 时冻融组中 POD 活性达到最大值,与空白组相比升高了 27.92%,复合胁迫组在 T₂ 时达到最大值。

2.4 冻融及 CMA 胁迫对高羊茅幼苗光合参数的影响

由图 5 可见,单一 CMA 胁迫组高羊茅幼苗叶片中净光合速率低于空白对照组。在低温胁迫下,冻融组和复合胁迫组高羊茅幼苗叶片中净光合速率急剧下降,与复合组相比,冻融

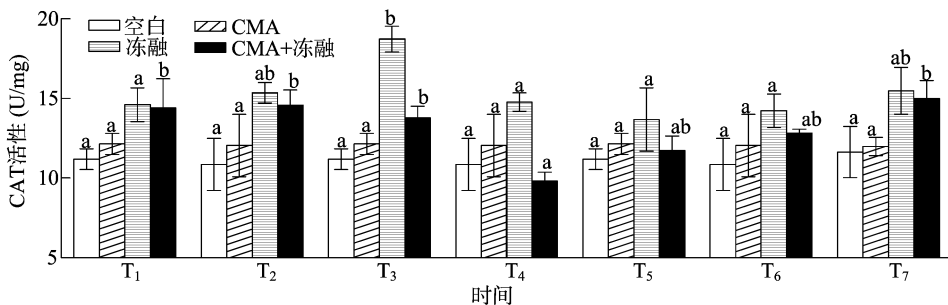


图3 CMA及冻融胁迫对高羊茅体内CAT活性的影响

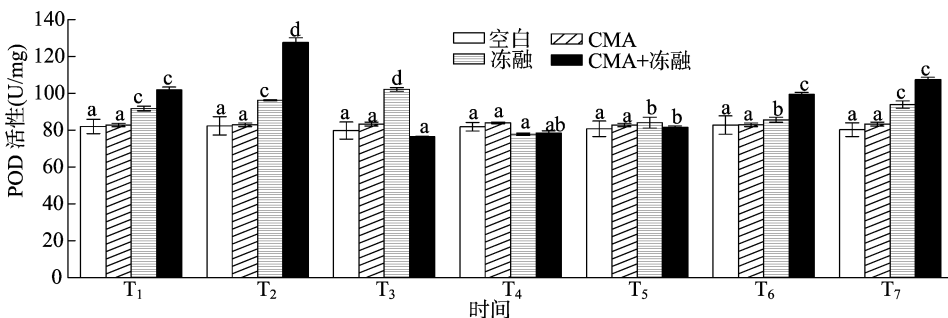
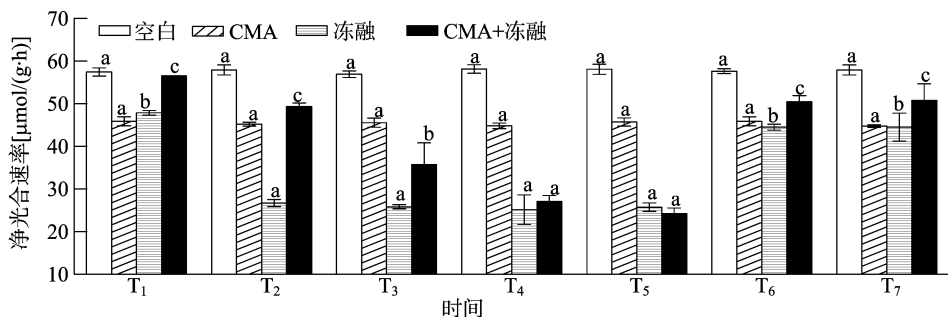


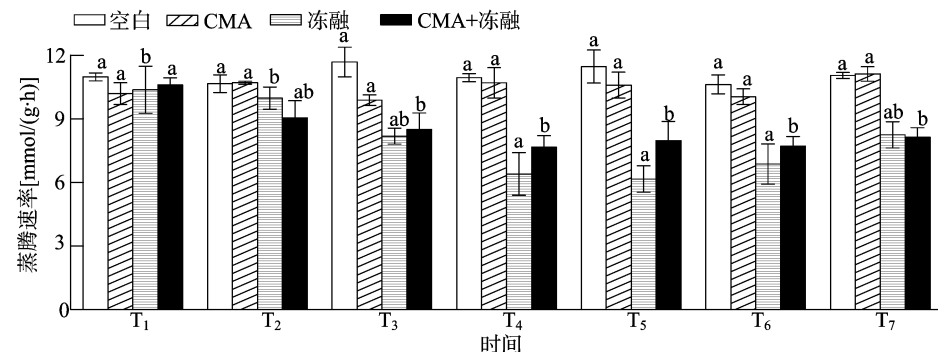
图4 CMA及冻融胁迫对高羊茅幼苗叶片中POD活性的影响

图5 CMA及冻融胁迫对高羊茅幼苗叶片净光合速率(P_n)的影响

组在 T₂ 时叶片中净光合速率下降显著,与 T₁ 时相比降低了 44.20%,且在 T₂ ~ T₅ 阶段都呈现较低水平,组间无显著差异,温度回升后,其净光合速率升高,但低于空白对照组。在整个冻融循环中,复合胁迫组呈现先降低后升高的趋势,且除 T₅ 外,呈现复合胁迫组 > 冻融组的趋势,温度在 0 和 -5 °C 时对叶片的净光合速率影响较大。

由图 6 可知,在整个冻融循环过程中,冻融组和复合胁迫

组高羊茅幼苗叶片的蒸腾速率(T_r)呈现先下降后缓慢升高的趋势,复合胁迫组在 T₄ 时达到最小值,与空白组相比下降了 29.89%,冻融组在 T₅ 时达到最小值,与空白组相比下降了 46.29%。在温度回升阶段,冻融组和复合胁迫组叶片中蒸腾速率恢复缓慢且趋于稳定,与 T₁ 时相比,分别下降了 22.56%、23.28%。空白组和 CMA 胁迫组间无显著差异,大体呈现出空白组 > CMA 组 > 复合胁迫组 > 冻融组的趋势。

图6 CMA及冻融胁迫对高羊茅幼苗叶片蒸腾速率(T_r)的影响

3 讨论

冻融胁迫组幼苗在冻融后期叶片加速衰老,并且出现失

水萎蔫症状,同时老叶逐渐开始变黄,胁迫后期叶片失水速度加快。与常温培养下的高羊茅相比,冻融组枯萎萎蔫叶片较早出现,相对含水率随着冻融温度的降低逐渐下降,这与朱义

等的研究结果^[15]一致。

冻融组和复合胁迫组在低温胁迫时,高羊茅体内蛋白质含量增加,可能是幼苗通过积累蛋白质增加其抗逆性,从而有效缓解细胞代谢以抵抗低温,Fleck 等也得出类似的结论^[16-17]。在 T₆、T₇ 时,冻融组和复合胁迫组的蛋白质含量下降,可能是由于长时间低温胁迫,幼苗中产生较多水解酶,加速了蛋白质分解或幼苗停止生长而使蛋白质合成受阻^[18]。

冻融组和复合胁迫组中 CAT 活性与 CMA 组和空白组相比比较高,这可能是由于在逆境条件下,植物体内氧代谢失调^[19],CAT 活性的提高可以缓解逆境胁迫对植物的伤害,保护细胞的完整性^[20]。CMA 组和空白组相比,CAT 活性无显著差异,说明 CMA 对高羊茅幼苗体内酶活性基本无影响。在温度回升阶段,冻融组和 CMA 及冻融复合胁迫组中的 POD 活性随着温度升高而缓慢升高,低温可能提高 POD 的活性,增加植物的抗逆性,这与冯昌军的研究结果^[21]一致。在 T₃、T₅ 处理下,复合胁迫组的 POD 活性低于冻融组,这可能因为施加环保型 CMA 融雪剂可以有效缓解冻融对植物的伤害。

低温对植物光合作用的影响是多方面的,光合作用是物质和能量代谢最基本的途径,也是反映植物生长状况的指标^[22]。高羊茅叶片的光合作用系统在遭遇低温胁迫的早期反应较为敏感,净光合速率参数下降较快。低温对植物膜系统造成损害,使叶绿体吸收、同化 CO₂ 的能力受限,使光合速率降低,从而影响植物的正常发育^[23]。经过冻融胁迫后,其净光合速率呈明显下降趋势,且随着低温胁迫程度加剧,净光合速率进一步下降,当温度恢复后,高羊茅的净光合速率有所恢复但仍低于对照组,表明冻融对高羊茅幼苗光合机制造成部分不可逆的破坏^[24]。温度降低对叶片蒸腾速率有抑制作用,长时间的低温处理严重抑制高羊茅幼苗的生长发育,影响细胞吸水速率,使植物缺水程度加剧。高羊茅幼苗叶片遭遇冻融胁迫时,对光能的吸收转换效率降低,蒸腾速率的降低导致叶片净光合速率降低,由于叶片抗氧化系统酶活性降低,可能导致幼苗膜脂过氧化程度增加,对叶片光合系统产生了不可逆的损伤^[25-26]。

4 结论

综上,在冻融胁迫下,抗氧化酶活性的稳定或增加,减轻了高羊茅幼苗叶片细胞的膜脂过氧化程度,维持了细胞膜的完整性,是幼苗对低温胁迫适应性反应的重要调节机制,高羊茅受到持续水分胁迫,幼苗叶片中的相对含水量降低以维持植株生理功能的正常进行。低温胁迫下光合作用羧化酶活性下降,使光合速率降低,影响植物正常生长发育。

以上各生理参数在一定温度范围内与温度呈负相关,表明 CMA 环保型融雪剂能在一定范围内缓解冻融对植物的伤害且对植物生长的损害较小。

参考文献:

- [1] 许英梅,刘倩,仇春华,等. CMA 类环保型融雪剂的应用研究进展[J]. 化学世界,2010,51(7):435-437,442.
- [2] Du Z Y, Cai Y J, Wang X D, et al. Research progress on the effects of soil freeze - thaw on plant physiology and ecology [J]. Chinese Journal of Eco - Agriculture, 2014, 22(1): 1-9.

- [3] 罗天琼,莫本田,罗绍薇,等. 苇状羊茅生产特性品比试验[J]. 草业科学,2008,25(11):60-64.
- [4] 樊瑞苹,周琴,周波,等. 盐胁迫对高羊茅生长及抗氧化系统的影响[J]. 草业学报,2012,21(1):112-117.
- [5] 宋锐,林丽果,王康英,等. 不同盐生境下硅对高羊茅生物量及生理生化特征的影响[J]. 草业学报,2016,25(8):91-97.
- [6] 朱义,谭贵娥,何池全,等. 盐胁迫对高羊茅 (*Festuca arundinacea*) 幼苗生长和离子分布的影响[J]. 生态学报,2007,27(12):5447-5454.
- [7] 常青山,张利霞,万涛,等. 模拟酸雨胁迫下钙离子对高羊茅种子发芽的影响[J]. 草业科学,2012,29(12):1903-1909.
- [8] 鲁剑巍,邹娟,周世利,等. 施磷对越冬期高羊茅生长、养分吸收及抗寒性的影响[J]. 草地学报,2008,16(5):436-441.
- [9] 唐晓梅,王艳,马东伟,等. 干旱胁迫下高羊茅基因组甲基化分析[J]. 草业学报,2015,24(4):164-173.
- [10] 刘倩,许英梅,王维,等. CMA 环保型融雪剂对植物生长生理特性的影响[J]. 化学世界,2012,53(9):521-525.
- [11] 王学愿,张永亮. 藓草幼苗对盐胁迫的生理与生长响应[J]. 内蒙古民族大学学报(自然科学版),2013,28(6):669-673.
- [12] 高媛,齐晓花,杨景华,等. 高等植物对低温胁迫的响应研究[J]. 北方园艺,2007,31(10):58-61.
- [13] 陈少裕. 膜脂过氧化与植物逆境胁迫[J]. 植物学通报,1989,7(4):211-217.
- [14] 周希琴,吉前华. 铬胁迫下不同品种玉米种子和幼苗的反应及铬积累的关系[J]. 生态学杂志,2005,24(9):1048-1052.
- [15] 朱义,何池全,杜玮,等. 盐胁迫下外源钙对高羊茅种子萌发和幼苗离子分布的影响[J]. 农业工程学报,2007,23(11):133-137.
- [16] Fleck R A, Day J G, Clarke K J, et al. Elucidation of the metabolic and structural basis for the cryopreservation recalcitrance of *Vaucheria sessilis* [J]. Cryo Letters, 1999, 20(5):271-282.
- [17] Guy C L. Freezing tolerance of plants: current understanding and selected emerging concepts [J]. Canadian Journal of Botany - Revue Canadienne De Botanique, 2003, 81(12):1216-1223.
- [18] 安莹,陈雅君,赵伟,等. 低温对白三叶膜质过氧化及保护酶活性的影响[J]. 草原与草坪,2009,29(3):8-11.
- [19] Bao G Z, Ao Q, Li Q Q, et al. Physiological characteristics of *Medicago sativa* L. in response to acid deposition and freeze - thaw stress [J]. Water, Air, & Soil Pollution, 2017, 228(9):376-386.
- [20] 周莲莲,赵梅,张萍,等. 白三叶和红三叶对人工融冻胁迫的生理响应差异[J]. 生态学杂志,2012,31(6):1334-1340.
- [21] 冯昌军,罗新义,沙伟,等. 低温胁迫对苜蓿品种幼苗 SOD、POD 活性和脯氨酸含量的影响[J]. 草业科学,2005,22(6):29-32.
- [22] 邵怡若,许建新,薛立,等. 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,2013,33(14):4237-4247.
- [23] 邵毅,叶文文,徐凯. 温度胁迫对杨梅光合作用的影响[J]. 中国农业通报,2009,25(16):161-166.
- [24] 吴雪霞,朱宗文,张爱冬,等. 外源褪黑素对低温胁迫下茄子幼苗生长及其光合作用和抗氧化系统的影响[J]. 西北植物学报,2017,37(12):2427-2434.
- [25] 王亚男,范思静. 低温胁迫对水稻幼苗叶片生理生化特性的影响[J]. 安徽农业科学,2017,45(5):8-9,13.
- [26] 陈剑成,徐雯,祁潇勇,等. 低温胁迫对凹叶厚朴光合特性和相关生理指标的影响[J]. 北方园艺,2017,41(16):147-153.