

栀子叶片生理特性与抗寒性的关系

严寒静¹, 谈 锋²

(1. 广东药学院中药学院, 广东 广州 510240; 2. 西南师范大学生命科学学院, 重庆 400715)

摘要: 以低温半致死温度(LT₅₀)为评价指标, 研究自然降温过程中栀子(*Gardenia jasminoides* Ellis)叶片生理特性与抗寒性的关系。结果表明, 随气温的降低, 栀子叶片的LT₅₀不断降低, 由秋季9月中旬的-4.99℃降到冬季最冷1月中旬的-8.42℃, 同时叶片相对含水量、自由水和淀粉含量均不同程度下降, 束缚水、可溶性糖和可溶性蛋白质含量增加。这些渗透调节物含量的适应性变化导致LT₅₀的下降。栀子的抗寒性与气温密切相关。

关键词: 栀子; 低温半致死温度; 生理特性; 抗寒性

中图分类号: Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2005)04-0021-04

The relationship between physiological properties and cold resistance of *Gardenia jasminoides* leaf
YAN Han-jing¹, TAN Feng² (1. School of Chinese Tradition Medical, Guangdong University of Pharmacy, Guangzhou 510240, China; 2. School of Life Science, Southwest China Normal University, Chongqing 400715, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2005, 14(4): 21-24

Abstract: Using semilethal temperature (LT₅₀) as an index, the relationship between physiological properties and cold resistance of *Gardenia jasminoides* Ellis were studied during natural falling of temperature. The results showed that LT₅₀ of *G. jasminoides* leaf decreased with temperature falling, from -4.99°C (in mid September) to -8.42°C (in mid January), the contents of relative water, free water and starch decreased at different degree while the contents of bound water, soluble sugar, soluble protein increased. The adaptive changes of osmoregulatory substances led to the falling of the semilethal temperature. The cold resistance of *G. jasminoides* was closely relative with natural temperature falling.

Key words: *Gardenia jasminoides* Ellis; semilethal temperature; physiological property; cold resistance

低温半致死温度(LT₅₀)作为植物抗寒性的生态指标, 主要反映了温度和水分与抗寒性之间的数量关系。用排除本身的电导率后其电解质外渗率达到50%的低温点作为植物的LT₅₀, 能较直观且准确地反映植物的抗寒力和所能容忍的低温极限^[1]。

植物体内水分含量及存在状态、渗透调节物的含量都与抗寒适应性有关。自由水含量高, 代谢活跃, 生长迅速, 抗性弱; 束缚水含量高, 代谢降低, 生长下降, 抗性强。可溶性糖和脯氨酸的积累增加, 既可增加渗透调节能力、降低冰点、阻止细胞结冰时胞内水分移动, 又可防止细胞膜因结冰引起伤害; 脯氨酸还可保护蛋白质而在冷冻适应中起重要作用^[2], 游离脯氨酸可能通过保护酶的空间结构, 为生化反应提供足够的自由水及化学和生理活性物质^[3,4]。将自然降温过程中水分、渗透调节物的动态变化与抗寒性指标——LT₅₀的变化联系起来有助于考察植物的抗寒性的变化, 探讨抗寒性的形成机理。

栀子(*Gardenia jasminoides* Ellis)为茜草科(Rubiaceae)栀子属(*Gardenia* Ellis)常绿灌木, 原产于四川、湖北、福建等地, 主要分布于热带、亚热带地区。果实可入药; 花色洁白, 香气浓郁, 为美化庭院的优良树种, 也可盆栽或做为切花材料, 具有较高的药用价值和经济价值^[5]。对栀子花内源激素^[6]、膜保护系统^[7]与其LT₅₀的关系已有研究报道。本文通过测定在自然降温过程中水分、渗透调节物的变化, 了解这些物质的动态变化与LT₅₀间的关系, 进一步探索栀子的抗寒适应性机理, 以为热带、亚热带起源的经济植物的北移、防寒栽培提供科学的理论依据。

收稿日期: 2005-07-01

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目“植物种群生态适应机理”(39330050)

作者简介: 严寒静(1972-), 女, 重庆人, 硕士, 讲师, 研究方向为药用植物资源。

1 材料和方法

1.1 实验材料

以重庆缙云山北坡海拔750 m处的人工栽培的树龄30 a的栀子为实验材料。从1996年9月至1997年1月,逐月定株采取功能叶(第3、4位叶),部分叶片立即测定 LT_{50} ,其余叶片置于超低温冰箱(-40℃)中保存,用于其他生理指标的测定。以上测定均重复3次,取平均值。

1.2 测定方法

1.2.1 LT_{50} 测定^[7] 用打孔器在功能叶上打取480个圆片,先用自来水冲洗0.5 h,后用去离子水漂洗3次,1 000 r·min⁻¹离心甩去表面水分。每个乳胶套内放60张叶圆片,扎紧并系上重物,分别置于用低温与常温95%酒精调配好的-2℃至-14℃系列温度梯度的保温桶内,进行各级低温处理1 h。处理完毕,取出各加4 mL去离子水,振荡,于30℃保温1 h后,用DS-2型数字电导率仪测电导率 C_1 ,然后沸水浴15 min,振荡,测其电导率 C_2 ,按公式 $Y = (C_1/C_2) \times 100\%$ 计算相对电导率。每处理重复3次。采用Logistic方程 $Y = A + B/(1 + Ce^{DT})$ 对处理温度和相对电导率之间关系进行拟合,求出该曲线拐点时的温度,作为试样的低温半致死温度(LT_{50})。式中 Y 为试样的相对电导率, T 为处理温度, A 、 B 、 C 、 D 均为常数。

1.2.1 生理指标测定 水分含量的测定按文献[8]的方法进行,测定自然含水量、自由水和束缚水含

量。可溶性糖和淀粉含量的测定参照文献[9,10]的方法进行。游离脯氨酸和可溶性蛋白质含量的测定分别采用磺基水杨酸法^[11]和考马斯亮兰比色法^[8]。

2 结果和分析

2.1 气温的变化

缙云山样地全年最低温度出现于1月2日至1月5日这4天,日最低温度为-2℃。

从1996年9月到11月,旬平均最低温度呈下降趋势,但是均高于10℃;从11月中旬至1月上旬平均最低温度继续下降,并在1月上旬达到最低值-0.3℃,此后又稍有回升。

2.2 LT_{50} 的变化

对1996年9月中旬至1997年1月中旬5次测定结果利用Microal Origin 5.0软件对相对电导率进行了非线性回归分析,用Logistic方程拟合,分别得到5次相对电导率对处理温度的方程,结果见表1。 R^2 均较高,表明方程拟合度较好。根据拟合曲线和拟合方程直接求得栀子叶片低温半致死温度分别为-4.99℃、-5.23℃、-5.38℃、-8.37℃和-8.42℃。

2.3 LT_{50} 与采样前1月平均最低温度的关系

由表1可知,随着冬季的来临,栀子叶片低温半致死温度也随之降低。以采样前1个月日平均最低温度为横坐标,低温半致死温度为纵坐标作图,可以看出二者有极好的线性关系(图1)。

表1 自然降温过程中栀子叶片相对电导率的非线性回归方程

Table 1 Nonlinear regression equation of relative conductivity of *Gardenia jasminoides* Ellis during the period of natural falling of temperature

日期 Date	日最低气温/℃ The daily lowest temperature	Logistic 方程 Logistic equation	R^2	$LT_{50}/℃$
1996-09-10	16	$Y = \frac{0.6120}{1 + 965.1495e^{1.3766t}} + 0.2181$	0.9362	-4.99
1996-10-18	12	$Y = \frac{0.4972}{1 + 260.2052e^{1.0640t}} + 0.1592$	0.9106	-5.23
1996-11-12	11	$Y = \frac{0.2610}{1 + 464.0876e^{1.1000t}} + 0.0430$	0.8723	-5.38
1996-12-14	4	$Y = \frac{0.4050}{1 + 71.8800e^{0.5110t}} + 0.0353$	0.9434	-8.37
1997-01-10	3	$Y = \frac{1.1490}{1 + 791.7580e^{0.7930t}} + 0.1710$	0.9525	-8.42

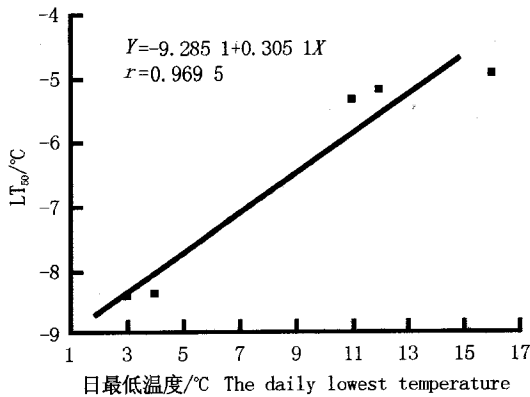


图1 梔子叶片 LT_{50} 与日平均最低温度的关系
Fig. 1 The relationship between the semilethal temperature of *Gardenia jasminoides* Ellis leaf and the daily lowest temperature

从图1可知, 梔子叶片的低温半致死温度的变化与气温是密切相关的。在自然降温过程中, 叶片抗寒力的变化可以反映气温的变化, 气温越高, 低温半致死温度越高, 抗寒力越低; 而随着气温的降低, 低温半致死温度降低, 植物抗寒力增加。

表2 不同月份梔子叶片水分、渗透调节物含量的变化
Table 2 The changes of contents of water and osmoregulatory substances in *Gardenia jasminoides* Ellis leaf at different months

日期 Date	T/°C ¹⁾	含水量/% Water content			含量/mg·g ⁻¹ Content			脯氨酸含量/ μg·g ⁻¹ (FW) Proline content
		相对含水量 Relative water	自由水 Free water	束缚水 Bond water	可溶性糖 (DW) Soluble sugar	淀粉 (DW) Starch	可溶性蛋白质 (FW) Soluble protein	
1996-09-15	19.9	73.84 ± 1.52	51.21 ± 1.83	23.29 ± 1.84	56.79 ± 2.22	22.36 ± 1.07	21.97 ± 0.22	13.72 ± 0.99
1996-10-15	12.7	62.11 ± 0.23	38.59 ± 6.61	23.72 ± 0.96	70.88 ± 3.75	40.93 ± 2.38	23.61 ± 0.18	15.25 ± 1.83
1996-11-15	7.3	62.29 ± 1.85	36.05 ± 1.63	26.49 ± 2.04	74.17 ± 0.35	30.75 ± 2.75	24.09 ± 0.26	27.93 ± 0.61
1996-12-15	1.1	62.32 ± 1.92	23.19 ± 2.13	26.25 ± 3.76	80.96 ± 1.93	24.43 ± 3.54	26.68 ± 0.11	18.13 ± 0.35
1997-01-10	0.3	54.03 ± 6.65	14.22 ± 1.43	39.81 ± 5.57	84.96 ± 2.46	19.97 ± 2.64	26.53 ± 0.15	17.12 ± 1.11

¹⁾ T: 旬平均最低温度为采样期的平均温度 The lowest temperature of the ten days is the mean value during the sampling period.

3 讨 论

细胞水分含量及存在状态是影响代谢强度、生长速度和抗性强弱的重要因素。Yoshida 等^[12]曾报道, 在冷适应过程中冬小麦抗寒力的提高与根细胞中的水分含量成明显负相关, 主要是自由水含量减少, 束缚水含量增加。在自然降温过程中, 梔子叶片的 LT_{50} 与自由水含量呈正相关 ($r=0.9213$)、与束缚水含量及束缚水与自由水的比值呈负相关 ($r=-0.9162$, $r=-0.9509$), 这与 Yoshida 等报道一致。因此梔子叶片水分含量及存在状态的代谢变化能适应气温变化, 从而增强其抗寒适应能力。

2.4 梔子叶片水分和渗透调节物的含量变化

不同月份梔子叶片水分、渗透调节物的含量变化见表2。随气温的下降, 梔子叶片相对含水量和自由水含量呈下降趋势, 束缚水含量增高, 说明组织中亲水化合物增多, 增加了细胞抗脱水能力。

梔子叶片中可溶性糖含量在1996年9月至1997年1月表现为逐月上升, 气温最低的1月可溶性糖含量为气温最高的9月的1.6倍。

越冬前梔子叶片中淀粉含量与可溶性糖含量同时明显增多, 淀粉含量在10月份达到最高值 $40.93 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 之后温度再降低, 其含量下降, 而同一时期可溶性糖含量继续提高。

从梔子叶片中脯氨酸含量变化的时间进程来看, 脯氨酸有其自身消长的规律, 含量不呈单向变化趋势, 最高含量出现在气温仍在下降的11月, 而与持续的低温无关。可溶性蛋白质的含量随着气温的下降而上升。

在自然降温过程中淀粉和可溶性糖含量的变化趋势说明抗寒锻炼初期积累的淀粉极可能是后期可溶性糖含量进一步增加的主要来源。低温能激活或提高淀粉酶的水解活性, 使淀粉水解成可溶性糖, 因此梔子的抗寒性可能与植株入冬前营养物质的积累有关。

脯氨酸往往被认为是最有效的渗透调节物质之一, 但在本实验中脯氨酸含量与梔子抗寒性无明显效应关系。梔子在越冬期间抗寒性较强, 但在此期间积累的脯氨酸量并不高, 最高仅达 $27.93 \text{ μg} \cdot \text{g}^{-1}$, 低浓度的脯氨酸对细胞的渗透调节或冰冻保护作用并不明显, 并且脯氨酸含量在低温下也不恒定, 其消长变化不与冬季气温的变化相平行。因

而椴子的抗寒性与叶片中游离脯氨酸的含量无密切关系($r=0.0626$)。

在自然降温过程中,椴子叶片中可溶性蛋白质含量随气温下降而明显增加,这与对草珊瑚 [*Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai]^[13]和曼地红豆杉(*Taxus media* 'Hicksii')^[14]叶片的研究结果一致。可溶性蛋白质的亲水性很强,其含量的增加可显著加强细胞的保水力,有助于提高细胞内的束缚水含量和原生质弹性,降低冰点,并可能导致细胞液过冷却的形成^[15],从而成为防止细胞内结冰的原因之一。可溶性蛋白质含量的增加,可能是由于合成的加强和降解速率的下降所致。

实验结果表明,椴子叶片 LT_{50} 与气温密切相关,能准确直观地反映椴子抗寒适应性随温度的变化。在自然降温过程中,椴子叶片抗寒力的形成与水分含量及存在状态、渗透调节物的积累密切相关,这些物质的积累维持了细胞内水分、降低了冰点、稳定了生物膜结构,从而提高了抗寒适应性。但椴子叶片抗寒性的增强与脯氨酸含量变化的相关性并不明显。

参考文献:

- [1] 刘祖祺,王洪春. 植物耐寒性与防寒技术[M]. 北京: 学术学刊出版社, 1990. 193-197.
- [2] Dorffling K, Dorffling H, Less L D. *In vitro*-selection and re-generation of hydroxyproline-resistant lines of winter wheat with increased proline content and increased frost tolerance [J]. *Journal of Plant Physiology*, 1993, 142(2): 222-225.
- [3] 孙清鹏,许焯灿,张方秋,等. 低温胁迫对大叶相思和马相思某些生理特性的影响[J]. *林业科学研究*, 2002, 15(1): 34-40.
- [4] 王淑杰. 果树抗寒生理研究进展[J]. *北方园艺*, 1998, 28(5): 28-29.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2000版)一部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.
- [6] 严寒静,谈 锋. 自然降温过程中椴子叶片脱落酸、赤霉素与低温半致死温度的关系[J]. *西南师范大学学报(自然科学版)*, 2001, 26(2): 195-199.
- [7] 严寒静,谈 锋. 自然降温过程中椴子叶片膜保护系统的变化与低温半致死温度的关系[J]. *植物生态学报*, 2000, 24(1): 91-95.
- [8] 张志良. 植物生理学实验指导(第二版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990. 160-162.
- [9] 上海植物生理学会. 植物生理学实验手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985. 134-136.
- [10] 白宝章,汤学军. 植物生理学测试技术[M]. 北京: 科学出版社, 1994. 75-77.
- [11] 张殿忠,汪沛洪,赵会贤. 测定小麦叶片游离脯氨酸的方法[J]. *植物生理学通讯*, 1990, 26(4): 62-65.
- [12] Yoshida M, Abe J, Moriyama M, et al. Seasonal changes in the physical state of crown water associated with freezing tolerance in winter wheat [J]. *Physiologia Plantarum*, 1997, 101: 363-370.
- [13] 黄小云,向邓云,谈 锋. 自然降温过程中草珊瑚抗寒性研究——水分、渗透调节物的动态变化与低温半致死温度的关系[J]. *重庆师范学院学报(自然科学版)*, 2002, 19(1): 66-69.
- [14] 芦站根,周文杰,赵昌琼,等. 曼地红豆杉对自然降温的适应性研究[J]. *植物生态学报*, 2004, 28(1): 73-77.
- [15] 郑国辑,翟中和. 植物抗寒性的细胞及分子生物学研究进展[A]. 简令成. *细胞生物学进展(第二卷)*[M]. 北京: 高等教育出版社, 1991. 296-320.

(责任编辑:张垂胜)