

短枝木麻黄幼苗对低温胁迫的生理响应

李楠, 李贺鹏, 江波, 叶碧欢, 陈友吾, 李海波

(浙江省林业科学研究院, 浙江 杭州 310023)

摘要: 以短枝木麻黄 *Casuarina equisetifolia* 耐寒无性系 ZS7 和不耐寒无性系 HN1 幼苗为供试材料, 在人工气候箱内采用基质栽培方式, 研究在-2, -5, -8, -11 °C 共 4 个温度梯度胁迫 2 h 以及-5 °C 持续胁迫 1, 2, 5, 8, 16, 24, 48, 72 h 后 2 种无性系幼苗相关生理指标的变化趋势以及耐寒性差异, 探讨短枝木麻黄适应低温环境的生理机制。结果表明: 在低温梯度胁迫下, 耐寒无性系的过氧化氢(H₂O₂)和丙二醛(MDA)质量摩尔浓度的增幅小于不耐寒无性系; 叶绿素、脯氨酸(Pro)和可溶性蛋白质质量分数, 超氧化物歧化酶(SOD), 过氧化物酶(POD), 过氧化氢酶(CAT), 抗坏血酸过氧化物酶(APX)和谷胱甘肽还原酶(GR)活性, 以及还原型谷胱甘肽(GSH)和氧化型谷胱甘肽(GSSG)质量摩尔浓度的降幅均小于不耐寒无性系。耐寒无性系的 GSH/GSSG 比值呈上升的趋势, 而不耐寒无性系的呈先下降后上升趋势。在-5 °C 持续胁迫下, 2 种无性系各生理指标呈现波动变化, 增幅(降幅)与到达峰值时间不同。无论是在低温梯度胁迫还是在低温持续胁迫处理过程中, 耐寒无性系的 SOD, POD, CAT, APX 和 GR 活性以及叶绿素、可溶性蛋白质和 Pro 质量分数、GSH 质量摩尔浓度都显著高于不耐寒无性系。耐寒性不同的 2 种短枝木麻黄无性系耐寒的生理机制明显不同, 耐寒性强的无性系通过在低温胁迫下保持较高的可溶性蛋白质和 Pro 等渗透调节物质质量分数, 增强抗氧化酶活性, 提高非酶抗氧化剂水平, 抑制叶绿素质量分数的下降及膜脂过氧化程度的加剧, 进而提高抗寒性来抵御低温。图 5 参 31

关键词: 植物生理学; 短枝木麻黄; 低温胁迫; 耐寒性; 生理响应

中图分类号: Q945.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2019)04-0678-09

Physiological response to low temperature stress in *Casuarina equisetifolia* seedlings

LI Nan, LI Hepeng, JIANG Bo, YE Bihuan, CHEN Youwu, LI Haibo

(Zhejiang Academy of Forestry, Hangzhou 310023, Zhejiang, China)

Abstract: This study was conducted to explore changes in relevant physiological indexes of cold-tolerant and cold-intolerant *Casuarina equisetifolia* as well as physiological mechanisms to adapt to a low-temperature environment, and to provide a basis for further study of cold resistance in *C. equisetifolia*. Using a substrate culture, the related physiological indexes of cold-tolerant (ZS7) and cold-intolerant (HN1) clones of *C. equisetifolia* seedlings with successive low temperature stresses at -2, -5, -8, and -11 °C for 2 h, as well as precise expression patterns with low temperature stresses of -5 °C for 1, 2, 5, 8, 16, 24, 48, and 72 h in climate chambers were studied. Results showed that for successive low temperature stresses, the rising amplitude of H₂O₂ and malondialdehyde (MDA) content in the cold-tolerant clones were significantly lower ($P < 0.05$) than in the cold-intolerant clones. Basically, the decreased amplitude of total chlorophyll, soluble protein, proline contents, the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), and catalase (CAT), and ascorbate peroxidase (APX), as well as contents of glutathione reductase (GR), glutathione (GSH), and oxidized glutathione (GSSG) in ZS7 were significantly lower ($P < 0.05$) than in HN1. The GSH/GSSG ratio in ZS7 increased grad-

收稿日期: 2018-08-30; 修回日期: 2018-12-12

基金项目: 浙江省农业(林木)新品种选育重大科技专项(2016C02056-9)

作者简介: 李楠, 从事林木遗传育种等研究。E-mail: linanly@126.com。通信作者: 李海波, 研究员, 从事林木遗传育种等研究。E-mail: lihaibo@126.com

ually; whereas, HN1 decreased first and then increased. For low temperature stress at $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$, the rising amplitude or decrease in amplitude of physiological indexes in the two clones were different as was the time to its peak for physiological indexes of SOD, POD, CAT, APX, and GR as well as contents of total chlorophyll, soluble protein, proline, and GSH with ZS7 being generally higher than HN1. Thus, different clones showed different physiological response mechanisms to low temperature stress with the cold-tolerant clone resisting low temperature and enhancing cold resistance by maintaining the content of soluble protein and proline, promoting antioxidant enzyme activities and antioxidant contents, decreasing the accumulation of H_2O_2 and MDA, and inhibiting chlorophyll deterioration. [Ch, 5 fig. 31 ref.]

Key words: plant physiology; *Casuarina equisetifolia*; low temperature stress; cold tolerance; physiological response

短枝木麻黄 *Casuarina equisetifolia* 作为木麻黄科 Casuarinaceae 木麻黄属 *Casuarina* 的代表树种, 是世界各国引种最早、人工栽培面积最大的木麻黄植物^[1], 也是中国东南沿海地区重要的防护林树种^[2], 发挥着巨大的生态效益和经济价值。木麻黄是典型的热带植物, 生长适温为 $22.1\sim 26.9\text{ }^{\circ}\text{C}$, 耐寒性较差^[3]。引种的木麻黄常遭受较严重冻害, 给沿海防护林建设造成较大损失。因此, 研究木麻黄对低温的响应机制, 开展耐寒品种的选育, 对于扩大木麻黄种植范围和推进沿海防护林建设尤为重要。在低温诱导下, 植物形成了其各自特有的生理生化特征, 研究植物的耐寒生理机制, 对于解析植物的耐寒性具有重要意义。目前, 国内外对木麻黄耐寒生理研究大多集中在抗性生理指标的测定分析上^[2, 4-6], 但从全面或更深入揭示木麻黄的低温适应的机制还远远不够。本研究针对木麻黄生产实践中存在的低温冻害问题, 在前期对短枝木麻黄耐寒性评价的基础上, 以短枝木麻黄耐寒无性系 ZS7 和不耐寒无性系 HN1 幼苗为材料, 通过测定这 2 种无性系幼苗在低温胁迫下的叶绿素、渗透调节物质、酶类和非酶类抗氧化剂等耐寒相关生理指标, 比较分析耐寒性不同无性系生理指标变化的趋势与差异, 为深入阐明短枝木麻黄耐寒机理, 促进木麻黄耐寒品种选育奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料与方法

根据前期试验结果, 选定 2 个耐寒性差异较大的短枝木麻黄无性系: 耐寒无性系 ZS7 和不耐寒无性系 HN1, 采用盆栽方式, 于 2016 年 10 月在浙江省林业科学研究院温室进行扦插繁殖。塑料盆尺寸为 $13\text{ cm(高)}\times 20\text{ cm(直径)}$ 。盆栽基质为泥炭和蛭石混合物(4:1), 装盆前进行灭菌处理。培养条件为光照 16 h/黑暗 8 h, 温度 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, 光合光子照度 $180\text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 相对湿度 60%~70%。在温室中培养 2 个月后, 扦插苗高度达到 15~20 cm 时, 选取生长良好、长势较一致的植株, 开始低温处理。低温梯度处理设计: 将 ZS7 和 HN1 无性系置于低温人工气候箱(PRXD-300, 上海乔跃)中, 从常温预冷至 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右, 之后逐步降温至 $-2, -5, -8, -11\text{ }^{\circ}\text{C}$, 在降至每个低温节点持续 2 h 后, 各取出 5 株幼嫩枝条用锡箔纸包裹后迅速放入液氮中, 置 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱中保存, 用于生理指标测定。以在常温 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下同步培养的 ZS7 和 HN1 无性系作为 2 种低温处理的对照(ck), 取样方法同上。每处理均设 3 次重复。连续低温处理设计: 将 ZS7 和 HN1 无性系各 40 株移入低温人工气候箱内, 在 $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下连续处理 1, 2, 5, 8, 16, 24, 48, 72 h, 并于每个时间点分别取 ZS7 和 HN1 的 5 株幼嫩枝条, 用锡箔纸包裹后迅速放入液氮中, 置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱中保存备用。

1.2 生理指标测定

叶绿素质量分数的测定采用分光光度计法^[7], 过氧化氢(H_2O_2)质量摩尔浓度测定按照高洪波等^[8]的方法, 丙二醛(MDA)质量摩尔浓度测定采用硫代巴比妥酸(TBA)法^[9], 可溶性蛋白质测定采用考马斯亮蓝法^[10], 脯氨酸(Pro)质量分数测定采用酸性茚三酮比色法^[11], 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用氮蓝四唑(NBT)光化还原法测定^[12], 过氧化氢酶(CAT)活性测定采用紫外吸收法^[13], 过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚显色法^[14], 抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性测定参照程玉静等^[15]的方法, 谷胱甘肽还原酶(GR)活性测定参照 PINHEIRO 等^[16]方法。还原型谷胱甘肽(GSH)和氧化型谷胱甘肽(GSSG)质量

摩尔浓度参照 JIANG 等^[17]的方法。

1.3 数据处理

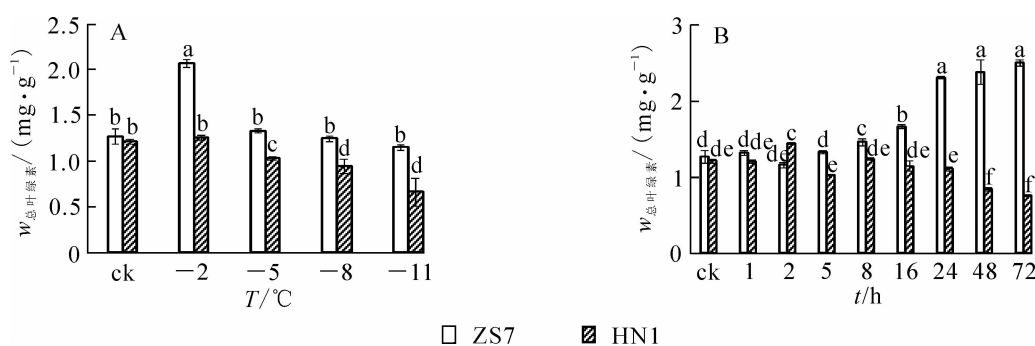
采用 Excel 2010 和 SPSS 18.0 对数据进行统计分析, 采用邓肯(Duncan)新复极差法进行 5% 水平的差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫对不同耐寒性短枝木麻黄幼苗叶绿素质量分数的影响

耐寒无性系 ZS7 幼苗在低温梯度胁迫下叶绿素质量分数随着胁迫的加剧, 先升高后下降并趋于平缓。在降至 $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时, ZS7 的叶绿素质量分数迅速升高并达到峰值, 升幅达 63.2%; 降至 $-11\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时, 虽有所下降, 但和对照相比差异不显著。不耐寒无性系 HN1 幼苗的叶绿素质量分数则呈显著下降趋势(图 1A), 至低温胁迫结束, 叶绿素质量分数降幅达 45.7%, 受到低温胁迫的伤害相对较重。在各胁迫温度下, ZS7 的叶绿素质量分数相对稳定, 始终显著高于 HN1。

在 $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 持续低温胁迫下, ZS7 和 HN1 的叶绿素质量分数变化趋势如图 1B 所示。ZS7 叶绿素质量分数在 1~5 h 内与常温对照没有明显差异, 8 h 后叶绿素质量分数开始显著升高。HN1 在 5~72 h 内, 叶绿素质量分数呈逐渐下降趋势, 且始终显著低于 ZS7, 说明 $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的持续低温胁迫对 HN1 的叶片产生了破坏作用, 而在短期内对耐寒无性系 ZS7 叶片的叶绿体结构破坏不明显。



不同小写字母表示不同无性系间差异显著 ($P < 0.05$)

图 1 低温梯度胁迫和连续低温胁迫对短枝木麻黄幼苗叶绿素质量分数的影响

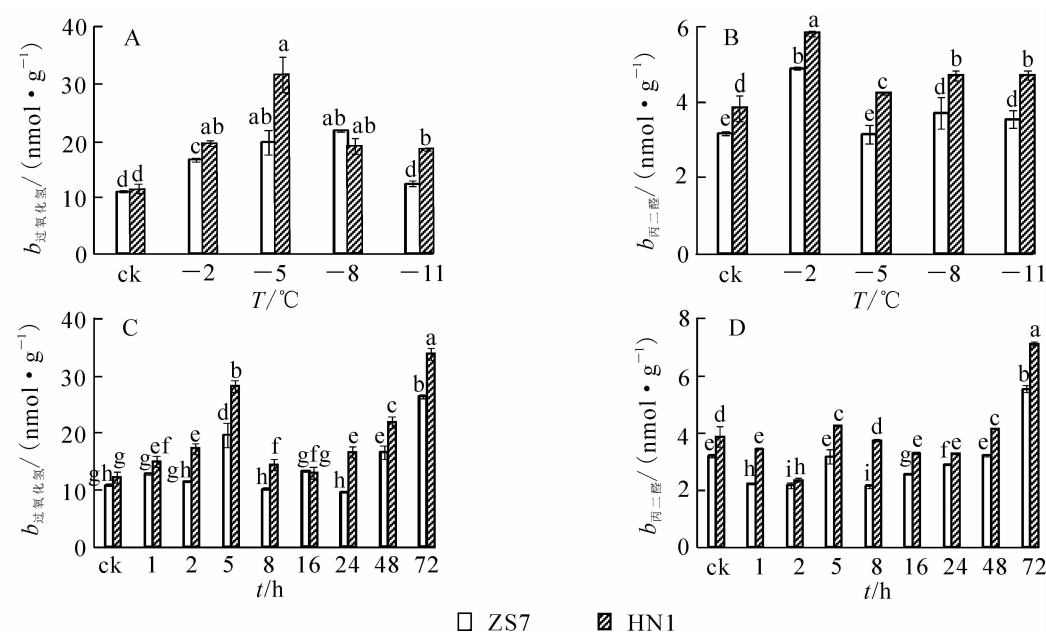
Figure 1 Effect of successive low temperatures and low temperature ($-5\text{ }^{\circ}\text{C}$) conditions for 1–72 h on chlorophyll content in *Casuarina equisetifolia*

2.2 低温胁迫对不同耐寒性短枝木麻黄幼苗活性氧水平及丙二醛质量摩尔浓度的影响

随着低温梯度胁迫的增强, ZS7 和 HN1 幼苗叶片的 H_2O_2 质量摩尔浓度都呈现先升高后降低的变化趋势(图 2A)。在降至 $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时, 2 种无性系的 H_2O_2 质量摩尔浓度均达到最高值, 其中 ZS7 的 H_2O_2 质量摩尔浓度升高 80.1%, HN1 升高 130.7%; 在 $-5\sim-11\text{ }^{\circ}\text{C}$, ZS7 和 HN1 的 H_2O_2 质量摩尔浓度呈下降趋势, 在低温梯度胁迫期间 HN1 的 H_2O_2 质量摩尔浓度一直较高。ZS7 和 HN1 的 MDA 质量摩尔浓度呈升降升的趋势变化(图 2B), ZS7 的 MDA 质量摩尔浓度在低温胁迫过程中始终显著低于 HN1。至胁迫结束, ZS7 的 MDA 质量摩尔浓度增幅为 11.2%, HN1 的增幅为 23%, 结果显示低温胁迫对耐寒性强的无性系 ZS7 的质膜损伤程度较低。在 $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 持续低温胁迫下, ZS7 和 HN1 的 H_2O_2 , MDA 质量摩尔浓度均随处理时间的延长呈现波动变化, 且在胁迫结束时达到最高值(图 2C 和 2D)。从低温胁迫处理开始至结束, ZS7 的 H_2O_2 和 MDA 质量摩尔浓度的增幅分别为 142.4% 和 73.2%, HN1 增幅分别为 176.9% 和 84.7%。与不耐寒无性系相比, 低温下耐寒无性系叶片中 MDA 质量摩尔浓度一直较低, 且差异显著。

2.3 低温胁迫对不同耐寒性短枝木麻黄幼苗可溶性蛋白质和脯氨酸质量分数影响

无论在常温条件下还是在低温梯度胁迫下, ZS7 中可溶性蛋白质质量分数一直维持较高水平, 并始终显著高于 HN1(图 3A 和 3B)。至低温胁迫结束, ZS7 和 HN1 的可溶性蛋白质质量分数的涨幅和降幅分别为 13.9% 和 12.8%, 和耐寒性强弱表现一致。在 $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 持续低温胁迫下, ZS7 和 HN1 的可溶性蛋白质质量分数总体先升后降。 $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 处理 24 h 后, ZS7 和 HN1 的可溶性蛋白质质量分数均达到最高, 增幅



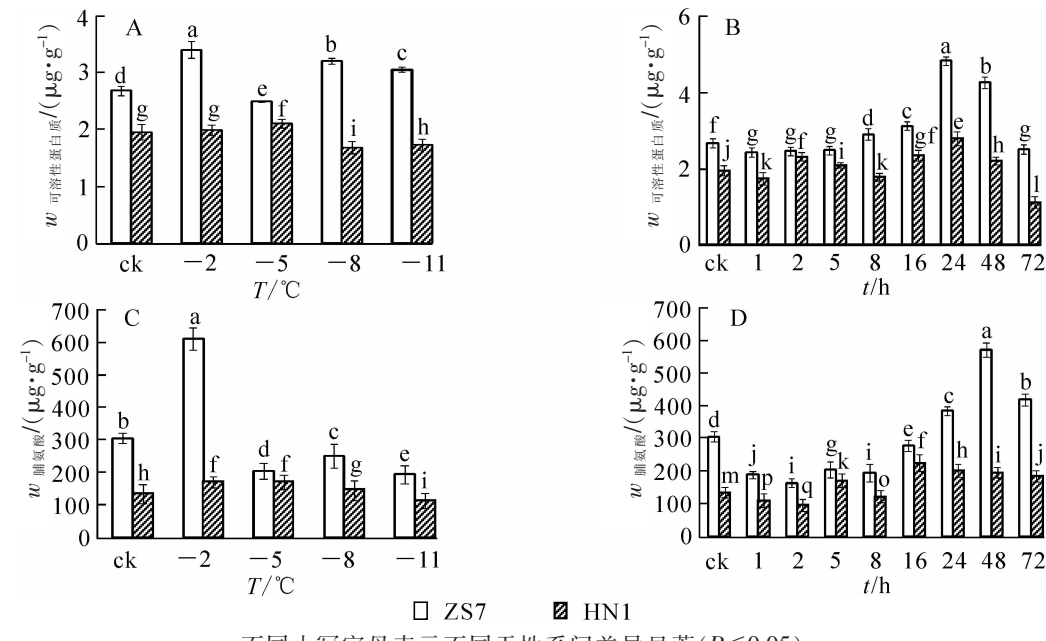
不同小写字母表示不同无性系间差异显著($P < 0.05$)

图 2 低温梯度胁迫和连续低温胁迫对短枝木麻黄幼苗 H_2O_2 和MDA质量摩尔浓度的影响

Figure 2 Effect of successive low temperatures and low temperature (-5 °C) conditions for 1-72 h on H_2O_2 and MDA contents in *Casuarina equisetifolia*

分别为 80.8%和 43.2%; 72 h 后, 都达到最低值, 降幅分别为 5.7%和 57.5%。

在低温梯度胁迫下, ZS7 和 HN1 中脯氨酸质量分数先上升后下降(图 3C)。处理结束后, 2 种无性系的脯氨酸质量分数均有所降低, 降幅分别为 36.3%和 16.5%。在-5 °C持续低温胁迫下, ZS7 和 HN1 的脯氨酸质量分数呈波动变化(图 3D)。低温处理 72 h 后, 2 种无性系中脯氨酸质量分数的涨幅分别为 37.1%和 37.3 %。ZS7 的脯氨酸质量分数在低温梯度胁迫和连续低温胁迫下始终显著高于 HN1。



不同小写字母表示不同无性系间差异显著($P < 0.05$)

图 3 低温梯度胁迫和连续低温胁迫对短枝木麻黄幼苗可溶性蛋白质和脯氨酸质量分数的影响

Figure 3 Effect of successive low temperatures and low temperature (-5 °C) conditions for 1-72 h on protein and proline content of in *C. equisetifolia*

2.4 低温胁迫对不同耐寒性短枝木麻黄幼苗无性系抗氧化酶活性的影响

由图 4 可以看出: 耐寒无性系 ZS7 和不耐寒无性系 HN1 幼苗在低温梯度处理下 SOD, POD, CAT,

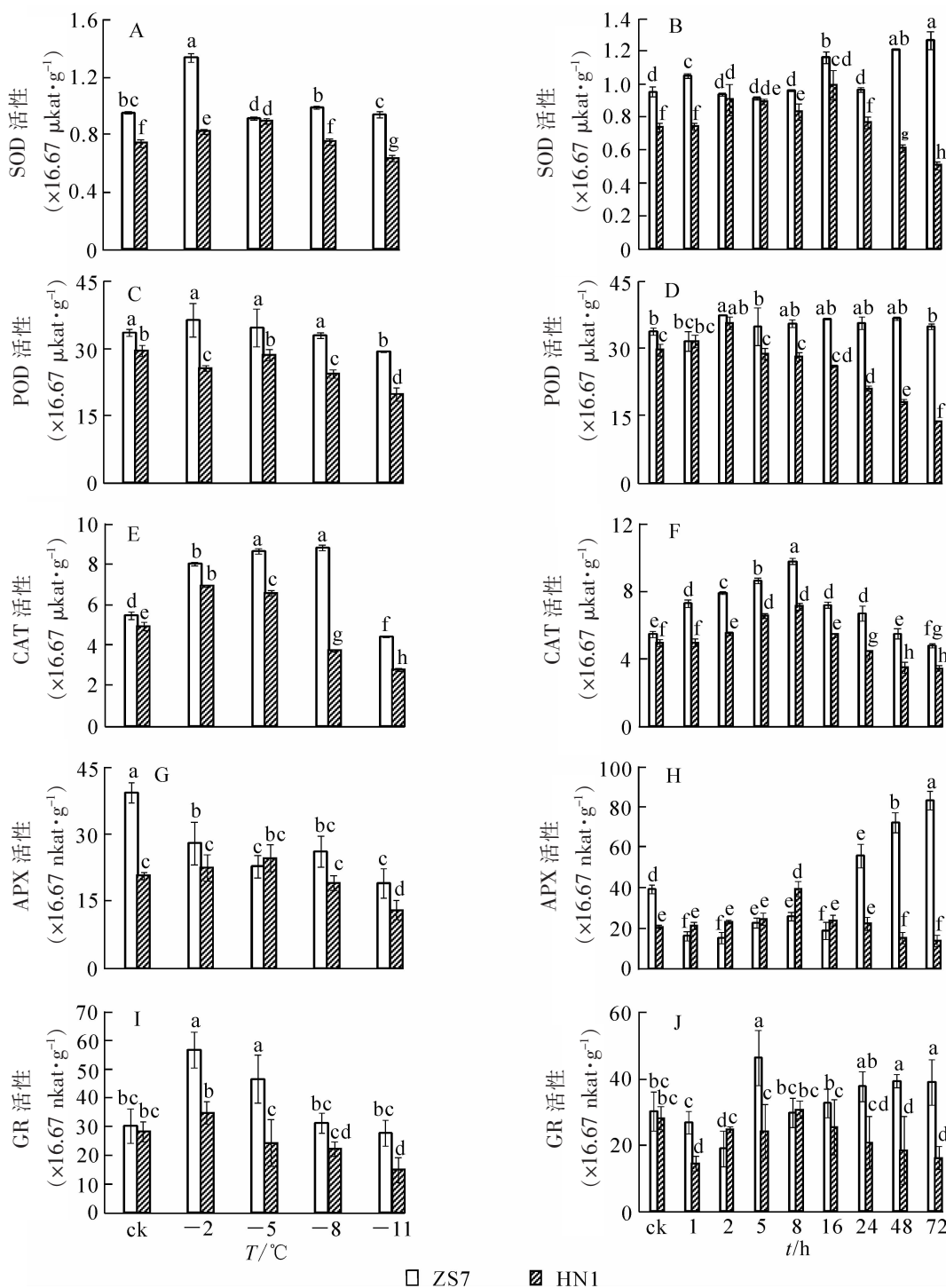


图4 低温梯度胁迫和连续低温胁迫对短枝木麻黄幼苗抗氧化酶活性的影响

Figure 4 Effect of successive low temperatures and low temperature (-5 °C) conditions for 1–72 h on antioxidant enzyme activity in *Casuarina equisetifolia*

GR 活性变化规律基本一致, 呈先上升后下降的变化趋势; ZS7 的 APX 活性呈下降趋势, HN1 的 APX 活性则先上升后下降。在常温条件下, 除 ZS7 和 HN1 的 GR 活性没有显著差异外, ZS7 的 SOD, POD, CAT, APX 活性均显著高于 HN1, 且在整个低温胁迫过程中 ZS7 的保护酶活性始终高于 HN1, 说明耐寒无性系 ZS7 对过氧化伤害有较高忍耐能力。低温梯度处理结束后, ZS7 和 HN1 的 SOD, POD, CAT, APX, GR 活性的降幅分别为 1.3%, 12.6%, 18.9%, 51.5%, 8.6% 和 14.3%, 33.2%, 43.5%, 36.9%, 47.4%。

在 -5 °C 持续低温胁迫下, 与 HN1 相比, ZS7 叶片中的保护酶活性在整个低温胁迫过程中始终较高,

且两者达到了显著性差异(图 4)。ZS7 中 SOD 活性的最高值集中在低温胁迫 48~72 h, 且达到常温对照的 32.7%; HN1 的最高值集中在 2~16 h, 并在第 72 小时降至对照的 33.9%。ZS7 中 POD 活性在整个胁迫期间始终维持较高水平; HN1 的 POD 活性在第 72 小时达到最低, 并降至对照的 53.7%。ZS7 和 HN1 的 CAT 活性的最高值都出现在第 8 小时, 至胁迫结束, 与常温对照相比, 降幅分别为 12.1% 和 30.9%。ZS7 的 APX 活性在低温胁迫 24~72 h 时显著上升, 并升至常温对照的 110%; HN1 的 APX 活性一直较低, 在胁迫结束时降至对照的 32.6%。此时, ZS7 的 APX 活性是 HN1 的 6 倍。至胁迫结束, ZS7 的 GR 活性与对照相比涨幅为 28.9%, HN1 的降幅为 42.7%。说明耐寒无性系 ZS7 从保护酶活性水平增强了其低温下的适应能力。

2.5 低温胁迫对不同耐寒性短枝木麻黄幼苗谷胱甘肽循环的影响

低温梯度胁迫下, 2 种无性系幼苗的 GSH 质量摩尔浓度均呈先升后降的趋势(图 5A), 且都在 -5°C 时达到最高值, 涨幅分别为 23.6% 和 12.3%, 说明 GSH 在 2 种无性系中均大量累积。胁迫结束时, ZS7 和 HN1 的 GSH 质量摩尔浓度均达到各自最低值, 降幅分别为 19.8% 和 20.7%。在 -5°C 持续低温胁迫下, 2 种无性系的 GSH 质量摩尔浓度也都呈现先升后降的趋势(图 5B), 但达到峰值的时间不同。ZS7 的 GSH 质量摩尔浓度在第 24 小时达到最大值, HN1 的 GSH 质量摩尔浓度在第 8 小时达到最高, 涨幅分别为 52.7% 和 32.5%。ZS7 中的 GSH 质量摩尔浓度从第 8 小时开始一直显著高于对照, 而 HN1 仅在第 5 和第 8 小时显著高于对照。72 h 后, ZS7 和 HN1 的 GSH 质量摩尔浓度分别上升 9.4% 和下降 4.5%。低温处理下, 耐寒无性系 ZS7 的 GSH 质量摩尔浓度始终显著高于不耐寒无性系 HN1。由图 5C 可知: ZS7 和 HN1 幼苗中的 GSSG 质量摩尔浓度都在 -2°C 时达到最高值, 分别为对照水平的 1.4 倍和 1.9 倍; 至低温胁迫结束, GSSG 质量摩尔浓度比对照分别降低 64.2% 和 57.1%。在 -5°C 低温持续胁迫下, 2 种无性系中的 GSSG 质量摩尔浓度总体呈现先上升后下降的趋势, 且 HN1 中的 GSSG 质量摩尔浓度在整个胁迫过程中始终显著高于 ZS7。ZS7 和 HN1 中的 GSSG 质量摩尔浓度, 分别于第 2 小时和第 16 小时达

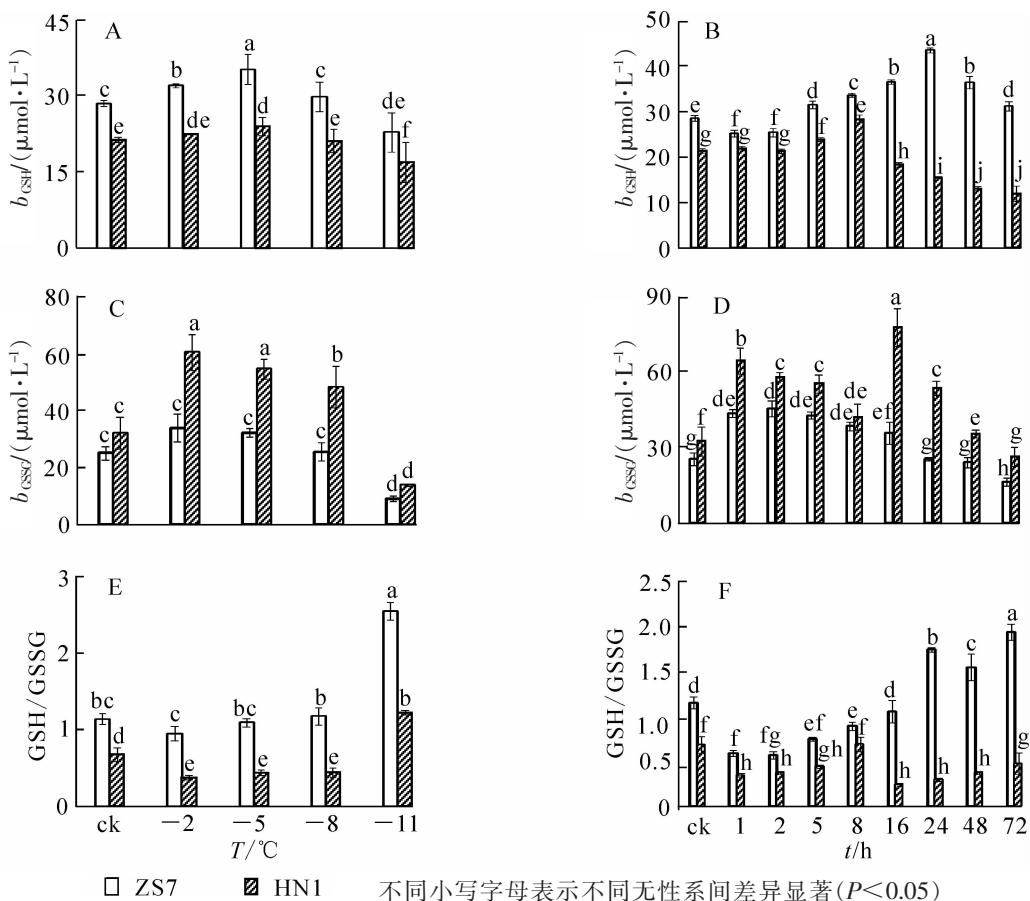


图 5 低温梯度胁迫和连续低温胁迫对短枝木麻黄幼苗谷胱甘肽循环的影响

Figure 5 Effect of successive low temperatures and low temperature (-5°C) conditions for 1–72 h on glutathione cycle in *Casuarina equisetifolia*

到最高值,涨幅分别为79.0%和139.0%;至胁迫结束时,分别比对照下降20.1%和19.2%(图5D)。低温梯度胁迫下,ZS7的GSH/GSSG比值呈上升的趋势,HN1则先下降后上升,至胁迫结束时,都显著高于常温对照(图5E)。在-5℃持续低温胁迫下,ZS7的GSH/GSSG比值总体呈上升趋势,HN1则呈下降趋势(图5F)。

3 结论与讨论

随着低温胁迫程度的增强,叶绿素质量分数下降的幅度和速度也加大,可作为植物耐受低温的重要生理指标^[18]。本研究,低温梯度胁迫下,不耐寒短枝木麻黄无性系幼苗的叶绿素质量分数呈下降趋势。在低温梯度胁迫和-5℃持续低温胁迫下,耐寒无性系的叶绿素质量分数分别表现出先升高后降低和逐渐上升的趋势,这说明一定程度的低温对耐寒植物叶绿素的合成有一定程度的刺激作用,而耐寒植物较强的耐寒性减缓了叶绿素质量分数的下降,增强了适应低温环境的能力,使叶绿素始终维持较高水平。这在杨树 *Populus* spp., 金叶女贞 *Ligustrum vicaryi*, 紫薇 *Lagerstroemia indica*, 福禄考属 *Phlox* 等植物对于干旱、低温等胁迫的生理响应研究中得到相似的结果^[19-21]。

H₂O₂ 水平升高是低温下氧化胁迫的标志。它一方面可引起脂质过氧化,对膜造成伤害,另一方面可引起光合系统各种酶的失活^[22]。MDA 作为膜脂过氧化产物,其质量摩尔浓度的高低与细胞膜受伤害的程度直接相关,与植物的抗寒性呈负相关,是鉴别低温胁迫对植物膜危害程度的重要指标之一^[23]。本研究中,耐寒无性系和不耐寒无性系幼苗的 H₂O₂ 和 MDA 质量摩尔浓度都显著升高,说明低温胁迫下,植物体内产生大量的活性氧(ROS),细胞膜的结构受到损伤,膜脂过氧化作用加强。但耐寒无性系的 MDA 和 H₂O₂ 质量摩尔浓度都显著低于不耐寒无性系,说明耐寒性较强的无性系能保持细胞内的氧化还原平衡,降低了脂质过氧化程度。

逆境胁迫下,植物细胞能通过主动积累脯氨酸等渗透调节物质来调节渗透势,阻止细胞脱水,从而维持植物组织内各种酶活性和正常的细胞膜结构^[24]。研究发现,脯氨酸在杠柳 *Peroploca sepium* 生境适应性上有重要作用,且脯氨酸代谢对植物维持组织细胞内 ROS 水平密切相关^[25]。抗寒性强的油橄榄 *Olea europaea* 品种在低温胁迫下,累积的渗透调节物质含量,如脯氨酸和可溶性蛋白质,逐渐增加且显著高于其他不耐寒品种^[26]。本研究中,耐寒无性系 ZS7 幼苗在常温下的脯氨酸和可溶性蛋白质质量分数就显著高于 HN1,且随温度的降低或低温胁迫时间的延长,脯氨酸和可溶性蛋白质质量分数也始终显著高于 HN1。说明在低温处理下,耐寒无性系通过增强渗透调节能力和降低膜脂过氧化作用,提高对外界环境变化的适应力。

SOD, POD, CAT, APX 和 GR 是植物体内活性氧自由基清除系统的保护酶^[27-29],通过协同作用抑制膜脂过氧化,防御活性氧自由基对细胞膜的损伤,缓解低温胁迫对膜系统的伤害^[30]。GR 活性和 GSH 质量分数大小被认为是有机体抗氧化状态的重要标志。在低温梯度胁迫下,耐寒无性系和不耐寒无性系的 SOD, POD, CAT, GR 活性以及 GSH 质量摩尔浓度均呈先上升后下降的趋势,表明植物通过调节酶和非酶类活性的高低来适应低温。GSH/GSSG 的比值与蛋白质的生物合成有关,维持较高的比值可以增强植物对低温的抵抗力。在低温胁迫下,耐寒无性系中的 GSH/GSSG 比值呈上升趋势,不耐寒无性系中则呈下降趋势,说明 GSH 和 GSSG 对于短枝木麻黄耐寒性的提高具有重要作用。耐寒无性系中的 APX 活性在低温梯度胁迫下逐渐下降,但在-5℃持续低温胁迫下,表现出了强烈的诱导作用。这可能与适应低温的过程中,植物在代谢补偿性调节上发挥作用有关,某些代谢过程的增强抑制或降低了另外的代谢途径,暗示植物在适应低温环境时发生了积极的代谢调节^[31]。低温胁迫处理下,耐寒无性系的酶类和非酶类抗氧化剂含量高,且始终显著高于不耐寒无性系,更有利于维持其细胞结构的稳定性。

本研究结果反映了耐寒性强的短枝木麻黄无性系通过在低温胁迫下保持较高的脯氨酸和可溶性蛋白质质量分数,增强 SOD, CAT, POD, APX 和 GR 等抗氧化酶的活性以及提高非酶抗氧化剂质量摩尔浓度,抑制植物细胞中叶绿素质量分数的下降及膜脂过氧化程度的加剧,进而适应和抵御低温。

4 参考文献

- [1] 仲崇禄,白嘉雨,张勇.我国木麻黄种质资源引种与保存[J].林业科学研究,2005,18(3):345-350.

- ZHONG Chonglu, BAI Jiayu, ZHANG Yong. Introduction and conservation of *Casuarina* trees in China [J]. *For Res*, 2005, **18**(3): 345 – 350.
- [2] 何贵平, 卓仁英, 陈雨春, 等. 低温处理对耐寒粗枝木麻黄无性系生理指标的影响[J]. 林业科学研究, 2011, **24**(4): 523 – 526.
- HE Guiping, ZHUO Renying, CHEN Yuchun, *et al.* Effect of low temperature physiological index of cold-tolerant *Casuarina glauca* clones [J]. *For Res*, 2011, **24**(4): 523 – 526.
- [3] DUKE J A. *Casuarina equisetifolia* J.R. and G. Forst. [D]. West Lafayette: Purdue University, 1983.
- [4] 王泳, 高智慧, 彭华正, 等. 几种桉树、木麻黄苗期耐寒性研究初报[J]. 防护林科技, 2005(增刊 1): 1 – 3.
- WANG Yong, GAO Zhihui, PENG Huazheng, *et al.* Preliminary report on cold resistance of several species of *Eucalyptus* and *Casuarina equisetifolia* in their seedling stages [J]. *Prot For Sci Tech*, 2005(suppl 1): 1 – 3.
- [5] 郭金, 温国胜, 王电杰, 等. 低温胁迫下 7 种木麻黄变异类型抗寒性的比较[J]. 福建林学院学报, 2013, **33**(1): 34 – 37.
- WU Jin, WEN Guosheng, WANG Dianjie, *et al.* Comparison of cold resistance characteristics in 7 variation of *Casuarina equisetifolia* [J]. *J Fujian Coll For*, 2013, **33**(1): 34 – 37.
- [6] 武冲, 张勇, 马妮, 等. 接种菌根菌短枝木麻黄对低温胁迫的响应特征[J]. 西北植物学报, 2012, **32**(10): 2068 – 2074.
- WU Chong, ZHANG Yong, MA Ni, *et al.* Response characteristics of *Casuarina equisetifolia* inoculated with mycorrhizal fungi under low temperature stress [J]. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, 2012, **32**(10): 2068 – 2074.
- [7] 王晓峰, 陈建勋. 植物生理学实验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2002.
- [8] 高洪波, 郭世荣. 外源 Γ -氨基丁酸对营养液低氧胁迫下网纹甜瓜幼苗抗氧化酶活性和活性氧含量的影响[J]. 植物生理与分子生物学报, 2004, **30**(6): 651 – 659.
- GAO Hongbo, GUO Shirong. Effects of exogenous γ -aminobutyric acid on antioxidant enzyme activity and reactive oxygen content in muskmelon seedlings under nutrient solution hypoxia stress [J]. *Plant Physiol J*, 2004, **30**(6): 651 – 659.
- [9] XU Sheng, LI Jianlong, ZHANG Xinquan, *et al.* Effects of heat acclimation pretreatment on changes of membrane lipid peroxidation, antioxidant metabolites, and ultrastructure of chloroplasts in two cool-season turfgrass species under heat stress [J]. *Environ Exp Bot*, 2006, **56**(3): 274 – 285.
- [10] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 142 – 143.
- [11] 张殿忠, 汪沛洪, 赵会贤. 测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法[J]. 植物生理学, 1990(4): 62 – 65.
- ZHANG Dianzhong, WANG Peihong, ZHAO Huixian. Determination of the content of free proline in wheat leaves [J]. *Plant Physiol Commum*, 1990(4): 62 – 65.
- [12] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [13] 李学孚, 倪智敏, 吴月燕, 等. 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, 2015, **35**(13): 4436 – 4444.
- LI Xuefu, NI Zhimin, WU Yueyan, *et al.* Effects of salt stress on photosynthetic characteristics and leaf cell structure of ‘Yinhong’ grape seedlings [J]. *Acta Ecol Sin*, 2015, **35**(13): 4436 – 4444.
- [14] 曾韶西, 王以柔, 李美如. 不同胁迫预处理提高水稻幼苗抗寒性期间膜保护系统的变化比较[J]. 植物学报, 1997, **39**(4): 308 – 314.
- ZENG Shaoxi, WANG Yirou, LI Meiru. Comparison of the changes of membrane protective system in rice seedlings during enhancement of chilling resistance by different stress pretreatment [J]. *Acta Bot Sin*, 1997, **39**(4): 308 – 314.
- [15] 程玉静, 郭世荣, 刘书仁, 等. 外源硝酸钙对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片抗氧化系统及膜质子泵活性的影响[J]. 生态学报, 2010, **29**(5): 892 – 898.
- CHENG Yujing, GUO Shirong, LIU Shuren, *et al.* Effects of exogenous Ca on leaf antioxidant system and membrane proton pump activity of cucumber seedlings under salt stress [J]. *Chin J Ecol*, 2010, **29**(5): 892 – 898.
- [16] PINHEIRO H A, DAMATTA F M, CHAVES A R M, *et al.* Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought [J]. *Plant Sci*, 2004, **167**(6): 1307 – 1314.
- [17] JIANG Mingyi, ZHANG Jianmin. Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings [J]. *Plant Cell Physiol*, 2001, **42**(11): 1265 – 1273.

- [18] 张静, 朱为民. 低温胁迫对番茄幼苗叶绿素和丙二醛的影响[J]. 上海农业学报, 2012, **28**(3): 74 – 77.
ZHANG Jin, ZHU Weimin. Effects of chilling stress on contents of chlorophyll and malondialdehyde in tomato seedlings [J]. *Acta Agric Shanghai*, 2012, **28**(3): 74 – 77.
- [19] 江锡兵, 宋跃朋, 马开峰, 等. 低温胁迫下美洲黑杨与大青杨杂种无性系若干生理指标变化研究[J]. 北京林业大学学报, 2012, **34**(1): 58 – 63.
JIANG Xibing, SONG Yuepeng, MA Kaifeng, *et al.* Changes of several physiological indices in hybrid clones of *Populus deltoides* Bartr. × *P. ussuriensis* Kom. under low temperature stress [J]. *J Beijing For Univ*, 2012, **34**(1): 58 – 63.
- [20] 曲彦婷, 熊燕, 韩辉, 等. 不同福禄考品种对低温胁迫的生理响应及抗寒性综合评价[J]. 植物生理学报, 2016, **52**(4): 487 – 496.
QU Yanting, XIONG Yan, HAN Hui, *et al.* Physiological response to low temperature stress and comprehensive evaluation of cold resistance on different *Phlox* varieties [J]. *Plant Physiol J*, 2016, **52**(4): 487 – 496.
- [21] 张文婷, 谢福春, 王华田, 等. 3种园林灌木幼苗对干旱胁迫的生理响应[J]. 浙江林学院学报, 2009, **26**(2): 182 – 187.
ZHANG Wenting, XIE Fuchun, WANG Huatian, *et al.* Physiological response of three garden plants to drought stress [J]. *J Zhejiang For Coll*, 2009, **26**(2): 182 – 187.
- [22] TJUS S E, MØLLER B L, SCHELLER H V. Photosystem I is an early target of photoinhibition in barley illuminated at chilling temperatures [J]. *Plant Physiol*, 1998, **116**(2): 755 – 764.
- [23] 邓仁菊, 范建新, 王永清, 等. 火龙果幼苗对低温胁迫的生理响应及其抗寒性综合评价[J]. 植物生理学报, 2014, **50**(10): 1529 – 1534.
DENG Renju, FAN Jianxin, WANG Yongqing, *et al.* Physiological responses of pitaya (*Hylocereus* spp.) seedlings to chilling stress and comprehensive evaluation of their cold resistance [J]. *Plant Physiol J*, 2014, **50**(10): 1529 – 1534.
- [24] WU Songwei, HU Chengxiao, TAN Qan, *et al.* Drought stress tolerance mediated by zinc-induced antioxidative defense and osmotic adjustment in cotton (*Gossypium hirsutum*) [J]. *Acta Physiol Plant*, 2015, **37**(8): 167 – 175.
- [25] AN Yuyan, LIANG Zongsuo. Drought tolerance of *Periploca sepium* during seed germination: antioxidant defense and compatible solutes accumulation [J]. *Acta Physiol Plant*, 2013, **35**(3): 959 – 967.
- [26] 令凡, 焦健, 李朝周, 等. 不同油橄榄品种对低温胁迫的生理响应及抗寒性综合评价[J]. 西北植物学报, 2015, **35**(3): 508 – 515.
LING Fan, JIAO Jian, LI Chaozhou, *et al.* Physiological response and comprehensive evaluation of cold resistance under cold stress for different varieties of *Olea europaea* [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 2015, **35**(3): 508 – 515.
- [27] 李凯龙, 王艺潼, 韩晓雪, 等. 低钾胁迫对番茄叶片活性氧及抗氧化酶系的影响[J]. 西北植物学报, 2013, **33**(1): 66 – 73.
LI Kailong, WANG Yitong, HAN Xiaoxue, *et al.* Changes in reactive oxygen species and antioxidative defense mechanism in tomato leaves under low potassium stress [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 2013, **33**(1): 66 – 73.
- [28] 杨美森, 王雅芳, 干秀霞, 等. 外源一氧化氮对冷害胁迫下棉花幼苗生长、抗氧化系统和光合特性的影响[J]. 中国农业科学, 2012, **45**(15): 3058 – 3067.
YANG Meisen, WANG Yafang, GAN Xiuxia, *et al.* Effects of exogenous nitric oxide on growth, antioxidant system and photosynthetic characteristics in seedling of cotton cultivar under chilling injury stress [J]. *Sci Agric Sin*, 2012, **45**(15): 3058 – 3067.
- [29] 李高志, 朱亚军, 周生财, 等. 2种叶型桢楠对低温胁迫的生理响应及耐寒性分析[J]. 浙江农林大学学报, 2017, **34**(2): 310 – 318.
LI Gaozhi, ZHU Yajun, ZHOU Shengcai, *et al.* Physiological indices at low temperature stress for two types of *Phoebe zhennan* [J]. *J Zhejiang A&F Univ*, 2017, **34**(2): 310 – 318.
- [30] LIMÓN-PACHECO J, GONSEBATT M E. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress [J]. *Environ Mutagen*, 2009, **674**: 137 – 147.
- [31] 罗军武, 唐和平, 黄意欢, 等. 茶树不同抗寒性品种间保护酶类活性的差异[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2001, **27**(2): 94 – 96.
LUO Junwu, TANG Heping, HUANG Yihuan, *et al.* Differences of activities of protective enzymes of tea plant varieties with different cold resistant abilities [J]. *J Hunan Agri Univ Nat Sci*, 2001, **27**(2): 94 – 96.