

高寒草场橐吾属植物幼苗对低温的应答*

朱 慧¹ 吴清韩¹ 马瑞君^{1**} 王桔红¹ 陈丹生¹ 孙 坤² 杜国桢³

(¹韩山师范学院生命科学与食品科技学院, 广东潮州 521041; ²西北师范大学生命科学学院, 兰州 730070; ³兰州大学生命科学学院, 兰州 730000)

摘 要 分别在适宜和模拟低温胁迫下,测定了青藏高原 3 种橐吾属植物幼苗生物量的分配模式、相对生长率(RGR)、可溶性糖含量及膜渗漏率,并计算半致死温度(LT50),旨在了解这 3 种植物幼苗的生长特性、对低温胁迫的忍耐力及其种间差异,探讨 3 种橐吾幼苗对高寒环境的适应能力。结果表明:3 种植物的萌发初期,子叶迅速伸展,而后根/冠比快速增加,相对生长率在萌发后 10~15 d 达到峰值,根/冠比与生物量的累积呈极显著正相关关系;经 4 ℃低温处理后,3 种植物幼苗的存活率均超过 70%,RGR 峰值降低且滞后出现,回归分析表明 RGR 降低量的 64%是由根部生物量的降低引起的;黄帚橐吾、箭叶橐吾及掌叶橐吾的 LT50 值分别为-8.24、-8.14、-7.28 ℃,表明 3 种植物幼苗均能够忍受苗期短暂的低温胁迫而实现种群更新;经-5 ℃低温处理,三者叶片中的可溶性糖含量分别增加 3.61、2.90、1.61 倍,而游离脯氨酸分别增加 2.57、4.40、37.68 倍,表明 3 种橐吾各自通过不同的代谢调节机制提高自身抗寒能力。总之,3 种橐吾属植物均具有良好的适应青藏高原高寒气候环境的生活史对策。

关键词 高寒草场; 橐吾属; 低温胁迫; 生活史策略; 种群更新

中图分类号 Q945.79 **文献标识码** A **文章编号** 1000-4890(2015)12-3319-08

Response of *Ligularia* seedlings to low temperature in alpine grassland. ZHU Hui¹, WU Qing-han¹, MA Rui-jun^{1**}, WANG Ju-hong¹, CHEN Dan-sheng¹, SUN Kun², DU Guo-zhen³ (¹*School of Life Science and Food Technology, Hanshan Normal University, Chaozhou 521041, Guangdong, China*; ²*School of Life Sciences, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China*; ³*School of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China*). *Chinese Journal of Ecology*, 2015, **34**(12): 3319–3326.

Abstract: Several growth and physiological indexes, such as biomass allocation pattern, relative growth rate (RGR), soluble sugar content, membrane leakage rate and semilethal temperature (LT50), of seedlings of three *Ligularia* species (*L. virgaurea*, *L. sagitta*, and *L. przewalskii*) from the eastern Qinghai-Tibet Plateau were determined under suitable and simulated low temperature conditions, in order to understand the growth traits, endurance to low temperature, interspecific difference of three seedlings, and their adaptability to alpine environment. The results showed that: (1) Cotyledons of three seedlings extended rapidly at the early stage of seed germination, after which root/shoot ratio increased rapidly, RGR reached the peak after 10–15 days of seed germination, and a significant positive correlation between the root/shoot ratio and biomass accumulation was evident. (2) Survival rates of the three seedlings were more than 70% under 4 ℃, but that of *L. przewalskii* was relatively lower than those of the other two species. RGR peak was significantly delayed and reduced, and 64% reduction of the RGR peak was caused by decreased root biomass ratio of seedlings. (3) LT50 values of the three seedlings were -8.24, -8.14 and -7.28 ℃, respectively, indicating that the three species could achieve the regeneration of their population via enduring short cold stress at the seedling stage. (4) After low temperature (-5 ℃) treatment, the soluble sugar content increased by 3.61, 2.90 and 1.61 folds and

* 国家自然科学基金项目(31270429,31470021)资助。

** 通讯作者 E-mail: marjhs@foxmail.com

收稿日期: 2015-02-15 接受日期: 2015-07-07

the free proline content increased by 2.57, 4.40 and 37.68 folds in leaves from the three species, respectively, suggesting that the three species can improve their abilities of cold resistance through utilizing different metabolic regulation mechanisms. In conclusion, our results suggest that all the three species of the genus *Ligularia* have good life history strategies to adapt to the alpine condition in the Qinghai-Tibet Plateau.

Key words: alpine grassland; *Ligularia* Cass.; low temperature stress; life history strategy; population regeneration.

青藏高原东缘是青藏高原向黄土高原和盆地的过渡带,气候寒冷,生态价值显著的甘南草原分布于此(Ma *et al.*, 2006; 金樑等, 2014)。橐吾属(*Ligularia* Cass.)植物属菊科(Compositae),全世界共有129种,其中仅有黄帚橐吾[*L. virgaurea* (Maxim.) Matf.]、箭叶橐吾(*L. sagitta* Matf.)和掌叶橐吾[*L. przewalskii* (Maxim.) Diels.]等3种分布于甘南草原(曹昀等, 2008)。由于这3种植物体内均含有毒性乳汁,牛羊不食,加之近年来的过牧等因素引起草场退化,使其繁殖空间不断扩大(Ma *et al.*, 2006)。尤其是黄帚橐吾和箭叶橐吾,除有性生殖外,还可通过地下横向伸长的根状茎进行克隆繁殖,因此扩散速度很快,现已成为高寒草场的一类优势毒杂草,对草场的危害日趋加重(单保庆等, 2000; 刘左军等, 2002; 王力等, 2006)。植物在极端环境下生存和扩散的能力与其散布单位的数量、质量、散布能力和种子萌发机制等繁殖对策密切相关(方海东等, 2009; Wu *et al.*, 2014),植物只有具备与特殊环境相适应的繁殖对策,才能确保其在合适的时间与地点进行种子的萌发和幼苗建成(Kawano *et al.*, 1983; Marushia *et al.*, 2008; Deng *et al.*, 2009)。种群的更新依赖于其繁殖体,前期调查表明,黄帚橐吾和箭叶橐吾具有克隆繁殖能力,同时产生大量的种子,但在为期2年的野外观察中,除掌叶橐吾外,在黄帚橐吾和箭叶橐吾的居群中均少见实生苗(马瑞君等, 2002)。实生苗稀少的现象是许多克隆植物的共性,尤其是在极端环境下(Aspinwall *et al.*, 1992; Eriksson, 1992; 张玉芬等, 2006)。幼苗阶段是植物种群生活史中亏损最严重的时期之一,也是植物更新过程中的薄弱环节(彭闪江等, 2004)。由于幼苗自身生物量较小,对外界环境变化的忍耐、可塑性调节能力弱(Rosenthal *et al.*, 1994),易受到不利因子的伤害,导致幼苗生长缓慢,影响到未来的竞争能力(Yu *et al.*, 2003; 彭闪江等, 2004),甚至死亡,直接影响种群更新。温度是控制植物发育速率和生长的最重要的环境因子(Savitch *et al.*, 1997; Seo *et al.*,

2013),生长中的各种代谢作用高度依赖于温度(Li *et al.*, 2000)。青藏高原东部海拔高,气候寒冷,在春夏季幼苗建成期,气温波动幅度较大,5℃以下的低温经常出现(马瑞君等, 2002; Ma *et al.*, 2006),因此,低温是这一地区植物生长的主要限制因子。

在适宜条件和人工模拟不同的低温条件下,研究3种橐吾属植物幼苗生物量的分配模式及相对生长率(relative growth rate, RGR),测定叶片中可溶性糖、游离脯氨酸的含量和膜渗漏率(相对电导率),并利用相对电导率计算出半致死温度(semilethal temperature, LT50),旨在了解这3种植物幼苗的生长特性、对低温的忍耐力及其种间差异,探讨3种橐吾幼苗对高寒环境的适应能力,可为青藏高原东部高寒草场优势种群的生活史策略的研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 种子的收集及萌发

3种橐吾种子均采自甘南草原,甘南草原位于甘肃省西南部,地处青藏高原东北部边缘,以高寒阴湿的高寒草甸草原为主,海拔多在3000 m以上,年均降雨量600~810 mm,年平均气温4℃,其中夏季平均气温8~14℃,3种橐吾属植物从种子萌发到种子成熟的生长阶段大约在每年的5—10月中旬。仔细挑选出健康饱满的籽粒,经0.1%的升汞消毒后,移至培养皿中(直径15 cm),纸质(TP)发芽床,LRH-250-G型光照培养箱23℃下光照萌发(光强96 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光照12 h $\cdot \text{d}^{-1}$)。

1.2 低温实验及生物量的测定

基于在橐吾的生长季,甘南草原较大的气温变化幅度,因此,选择了20、8、4、0及-5℃等温度对幼苗进行了不同的处理。

种子于第4天开始萌发,第10天选取萌发相对一致的3种植物幼苗,按15株 \cdot 盘 $^{-1}$ (培养皿,直径15 cm,细沙覆滤纸)进行移栽培养,并进行下列(1)~(4)项实验:

(1)初始值。取5盘立即测量每株根、叶总鲜

重(FW);在 60 ℃下烘干 48 h 后,称其总的根、叶干重(DW),作为初始值;

(2)对照(CK)。取 15 盘作为对照,进行光照培养(设置温度 20 ℃,光强 $96\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,光照 $12\ \text{h}\cdot\text{d}^{-1}$);在第 5、10、15、20 天分别取出 3 盘测量(1)中;剩余 3 盘于第 21 天移栽装有原生境土壤的盆中,室温下培养,第 30 天(种子萌发后的第 40 天)统计存活率(%)。

(3)处理 1(T1)。各取 15 盘置于植物生长箱中,其箱内温度在 36 h 内由 20 ℃逐渐降温至 8 ℃(模拟轻度寒流),在 8 ℃下培养 84 h(光强 $96\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,光照 $12\ \text{h}\cdot\text{d}^{-1}$),然后每种植物取出 3 盘测量(1)中各项数据;其余 12 盘仍在生长箱中,24 h 内逐渐升温至 20 ℃,取出后与对照同时培养并在同一天测量各数据,移栽时间及方法与对照相同。

(4)处理 2(T2)。各取 15 盘置于植物生长箱中,其箱内温度在 36 h 内由 20 ℃逐渐降温至 4 ℃(模拟较强寒流),其他同(3)。

在培养过程中,适时加入 Hoagland 完全营养液,在测量中详细记录明显死亡的(植株完全萎蔫,根部变为褐色)幼苗数,移栽试验设 3 个重复,其余各项设 4 个重复。

将 5 次测量(初始 1 次,处理后测 4 次)所取得的干重代入公式计算相各收获阶段的相对生长率(RGR, $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$): $RGR = [\ln W_2 - \ln W_1] / (t_2 - t_1)$ (Crawley, 1986)。

数据处理:用 SPSS 软件单因素方差分析和 LSD 法对种内组间平均 RGR 和生长 30 d 的单株生物量进行了显著性检验;分别对 RGR 与根/茎比,生物量与根/茎比进行线型回归分析,检验其相关性。

1.3 相对电导率与低温半致死温度(LT50)的测定

选择饱满的籽粒直接播种于装有原生境土壤的花盆中,每盆 20~30 粒,待生长 50~60 d,出现 2~4 片真叶,叶长约在 10~15 cm 时,每个种选择 5 盆置于植物生长箱中,生长箱中的温度模拟 5—6 月份甘南草原的低温,48 h 内从 20 ℃逐渐降温至 4 ℃,4 ℃中生长 8 h 后,选取健康的叶片经自来水、蒸馏水和去离子水各冲洗 3 遍,用滤纸吸去材料表面水分,称 0.2 g,将材料剪成 0.5 cm 的小段,用去离子水浸 5 min,置于试管中,共 7 组。然后将每组试管分置于-21、-18、-15、-12、-9、-6、-3 和 0 ℃下处理(分 3 次进行)3 h 后取出,解冻,加入 5 mL 去离子水,室温下静置 5 h 后用 DDS-11A 型电导率仪测定电导率

Rt 值,然后在沸水中加热 15 min,冷却至室温后再测定电导率 K 值,5 次重复。另以 20℃下生长的材料作对照,测得的电导率 C 值作为本底,用所测得的电导率按公式计算出细胞膜伤害率(MIP): $MIP(\%) = (Rt - C) / (K - C) \times 100$ (Bajji *et al.*, 2002)。将处理温度和 MIP 进行非线性回归,按照 Logistic 方程 $Y = K / (1 + e^{-a \cdot X})$ 拟合,求出曲线出现拐点时的温度,以此作为该试验材料组织的低温半致死温度(LT50)。

1.4 可溶性糖和游离脯氨酸含量的测定

次生代谢产物可溶性糖和游离脯氨酸含量的变化是评价植物抗逆性的重要生理指标(徐智敏等, 2015)。按照 1.3 的方法得到植物幼苗,分别移入 20、0、-5 ℃光照培养箱(植物生长箱)中培养 2 d,采用蒽酮比色法和茚三酮比色法,UV-2450 分光光度计 600、520 nm 比色分别测定植物叶片中可溶性糖和游离脯氨酸的含量。通过 SPSS 对 3 组实验结果分别进行组内差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 适宜温度下幼苗生长特性

种子在 20 ℃条件下,约 4~6 d 开始萌发,3 种植物均为子叶出土幼苗,萌发后 14 d 左右第 1 片真叶抽出;子叶生长长度通常为 4~8 cm,在 3~4 片真叶期,子叶开始萎缩干枯;须根系,主根长度约 2 cm 时开始出现侧根和不定根。在整个观察期,种子露白后,子叶首先吸水膨大、突破种皮,迅速伸长,同时叶绿体形成,在第 1 次收获时,子叶长度通常为主根长度的 2 倍左右,干重占幼苗总干重 75%左右,根冠比为 0.25,随着生长,根系的生物量分配逐渐增多,根冠比增加,在观察期根冠比与生物量的增加呈明显正相关($R = 0.98$),其中黄帚橐吾增加最快(图 1)。

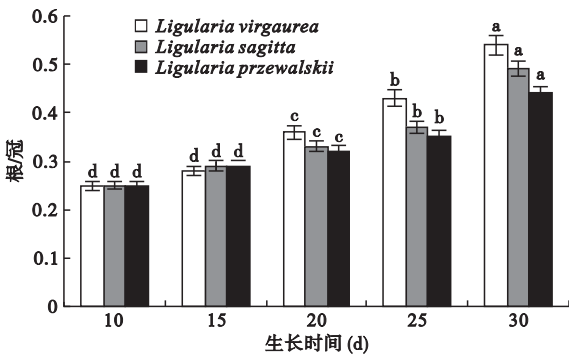


图 1 适宜温度下的根冠比
Fig.1 Root/shoot ratio under 23 ℃

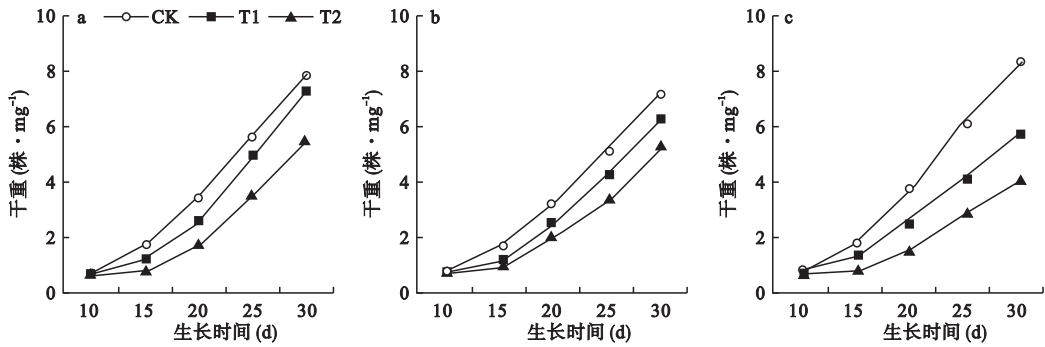


图 2 温度对幼苗干重的影响
Fig.2 Effect of temperature on seedling dry weight

a. *Ligularia virgaurea*; b. *Ligularia sagitta*; c. *Ligularia przewalskii*; CK, T1, T2 分别表示 23 ℃ 下生长, 8 ℃ 处理和 4 ℃ 处理。

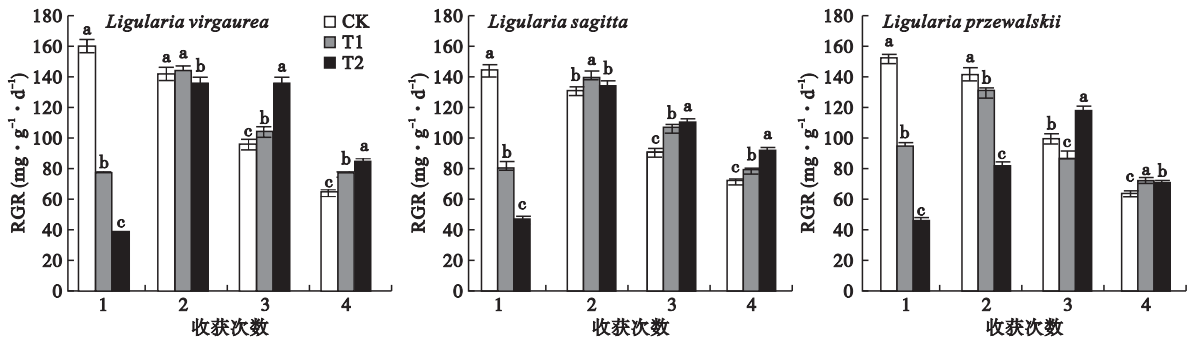


图 3 不同温度和不同生长阶段的 RGR
Fig.3 RGR of different growth time and treatment

表 1 种内不同处理间 RGR 的方差分析 (ANOVA) 和 LSD 法进行均值多重比较
Table 1 Results of one-way ANOVA and multiple comparisons of least-significant difference of relative growth rate (RGR) of three species among treatments

			<i>Ligularia virgaurea</i>			<i>Ligularia sagitta</i>			<i>Ligularia przewalskii</i>		
			CK	T1	T2	CK	T1	T2	CK	T1	T2
MRGR			115	100	84	108	101	95.9	114	91.5	79
RGR	CK			ns	*		ns	*		* *	* *
	T1				*			*			* *

CK、T1、T2 分别表示 23 ℃ 下生长、8 ℃ 处理和 4 ℃ 处理;MRGR 表示处理期间平均相对增长率;ns $P>0.05$, 组间无显著差异; * $P<0.05$, 表示组间有显著差异; * * $P<0.01$, 表示组间有极显著差异。

幼苗干物质积累呈指数增加 (图 2), 相对增长率 (RGR) 在萌发 10~15 d 时达到峰值 (图 3)。

2.2 低温对幼苗生长的影响

经 8 ℃ 和 4 ℃ 处理后, 种间 RGR 和生物量的变化不尽相同 (表 1), 与对照相比, 生物量总的趋势是随着温度的降低而降低 (图 2), RGR 的峰值滞后出现 (图 3)。从表 1 可知, 黄芩和箭叶橐吾的 RGR 处理 1 总体与对照无显著差异, 但在处理前后 5 d (第 1、2 次收获之间) 的 RGR 与对照相比明显降低, 而在温度逐渐升高后, 生长速率逐渐得以恢复 (图 3); 4 ℃ 处理也使第 1、2 次收获之间的 RGR 明显降低, 在温度升高后未能完全恢复, 最终与对照和

处理 1 间呈现显著性差异; 掌叶橐吾的 RGR 处理 1 和处理 2 与对照之间、处理 1 与处理 2 之间均存在显著差异。平均 RGR, 3 个种的对照组间数值相近, 但经低温处理后, 3 个种间差异逐渐明显, 处理 2 中, 箭叶橐吾平均 RGR 较高 (95.9), 而掌叶橐吾明显降低 (79) (表 1)。

根据观察期 RGR 的变化 (图 3), 幼苗在低温下生长变缓, 致使 RGR 峰值推迟出现, 在具显著性和极显著差异处理组间 RGR 总体降低; 经 RGR 与根冠比的回归分析, 相关系数 $R^2=0.80$, 判定系数 $R^2=0.64$, 说明低温处理后 RGR 降低中有 64% 是由根部生物量比例的降低引起的, 即在低温下, 橐吾将更多

表 2 种间生物量和根/冠比的方差分析 (ANOVA) 和 LSD 法进行均值多重比较
Table 2 Results of one-way ANOVA and multiple comparisons of least-significant difference of biomass and root/shoot ratio among three species

		DW						R/S					
		<i>Ligularia sagitta</i>			<i>Ligularia przewalskii</i>			<i>Ligularia sagitta</i>			<i>Ligularia przewalskii</i>		
		CK	T1	T2	CK	T1	T2	CK	T1	T2	CK	T1	T2
<i>Ligularia</i>	CK	ns			ns			*			*		
<i>virgaurea</i>	T1		* *			* *			ns			* *	
	T2			*			* *			*			* *
<i>Ligularia sagitta</i>	CK				*						ns		
	T1				ns							* *	
	T2						* *						* *

DW 表示观察期末的幼苗生物量;R/S 表示根/冠比;其余符号含意同表 1。

表 3 低温对三种橐吾幼苗细胞膜伤害率的非线性回归方程
Table 3 Nonlinear regression equation of MIP after low temperature handling of three plants

种名	Logistic 方程	拟合度 (R ²)	半致死温度 LT50 (℃)
黄帚橐吾 <i>Ligularia virgaurea</i>	$Y = 75 / (1 + e^{3.32 - 0.4X})$	0.986	-8.24
箭叶橐吾 <i>Ligularia sagitta</i>	$Y = 75.2 / (1 + e^{4.1 - 0.5X})$	0.977	-8.14
掌叶橐吾 <i>Ligularia przewalskii</i>	$Y = 86 / (1 + e^{2.33 - 0.31X})$	0.982	-7.28

的能量和资源投向地上部分(叶片)。

2.3 幼苗生长的种间差异

种间生物量、根/茎比方差分析和多重比较结果(表 2)表明,在适宜温度下,3 种橐吾在生长 30 d 时幼苗生物量无显著性差异,而黄帚橐吾根/冠比较高,与其余 2 个种间有显著性差异;经低温处理后,除箭叶橐吾和掌叶橐吾和处理 1 间无显著性差异外,其余组间均出现极显著差异,根据实际数据判断,低温对黄帚橐吾生物量的影响较小,而对掌叶橐吾的影响较大;低温处理对根冠比的影响虽然不完全一致,但掌叶橐吾、黄帚橐吾与箭叶橐吾之间的差异均达到极显著程度。

低温处理后幼苗生长过程死亡率及移栽后的死亡率(图 4)总的趋势是随温度的降低而死亡率升高,且掌叶橐吾的死亡率最高;3 种橐吾总体移栽死亡率均大于生长过程的死亡率,移栽前观察到,部分幼苗虽然存活,但根尖已变为褐色。

2.4 电导率的变化

根据 3 种橐吾属植物相对电解质渗出率测定结果求得半致死温度见表 1,经不同温度处理的 3 种植物幼苗叶片质膜伤害率(Y)与处理温度(X)进行非线性回归分析(表 3),用 Logistic 方程拟合后,得到的 R²均较高,表明方程拟合度较好。箭叶橐吾的 LT50 最低,为-8.24 ℃,黄帚橐吾为-8.14 ℃,掌叶橐吾相对较高,为-7.28 ℃。

2.5 可溶性糖含量的变化

不同温度下,3 种橐吾可溶性糖的含量变化见图 5。在 20 ℃温度下,3 种橐吾可溶性糖的含量非常接近,分别为 2.43%、2.44%和 2.63%;经 0 ℃和-5 ℃下培养 2 d 后,黄帚橐吾叶片中可溶性糖的含量分别增加了 1.69 和 3.61 倍;掌叶橐吾仅增加了 1.09 倍和 1.61 倍;箭叶橐吾介于二者之间,分别增加了 1.21 倍和 2.9 倍。

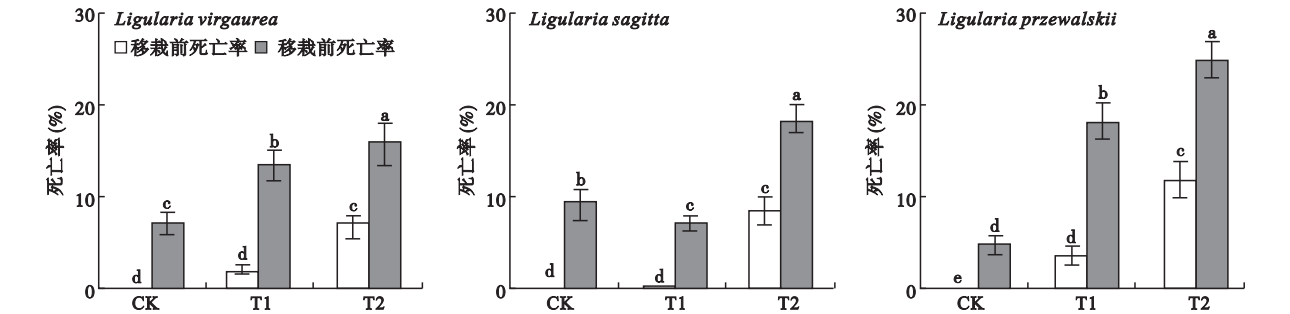


图 4 幼苗死亡率
Fig.4 Mortality of seedlings

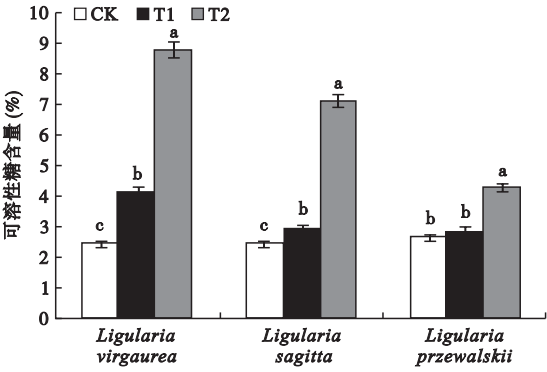


图 5 不同温度下的可溶性糖含量
Fig.5 Soluble sugar content in different temperature

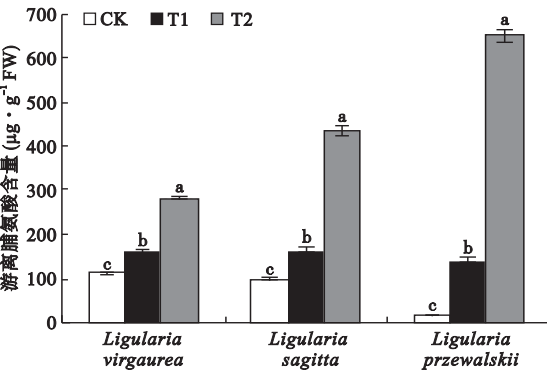


图 6 不同温度下的游离脯氨酸含量
Fig.6 Free proline content in different temperature

2.6 游离脯氨酸含量的变化

在适宜温度下,黄帚橐吾和箭叶橐吾游离脯氨酸的含量(图 6)分别为 110.2 和 99.2 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$,掌叶橐吾仅为 17.25 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$,与前两者差别较大;经 0 $^{\circ}\text{C}$ 和 -5 $^{\circ}\text{C}$ 低温处理后,黄帚橐吾分别增加了 1.46 倍和 2.57 倍;箭叶橐吾增加了 1.64 倍和 4.4 倍,而掌叶橐吾则分别增加了 8.15 倍和 37.68 倍。

3 讨论与结论

3.1 幼苗生长特性及其适应性意义

植物的生长方式与其生境密切相关。在高寒多风的环境中,橐吾的种子经风播落地,遇到适宜的环境条件萌发后,因种子个体较小,且无胚乳,幼小的子叶贮藏的养料十分有限(刘左军等,2002;马瑞君等,2002),因此,萌发后的首要问题是自养,其次是扎根定居,防止风逐位移。3 种植物在萌发初期以子叶伸长、叶绿体形成为主,待幼苗发育到自养阶段后,植株向根部的资源投入逐渐增加,使根系生长加快,这种生长方式可使根系尽快扎入比较温暖的土壤深处(张文纲等,2008;Achten *et al.*, 2010),相对

容易地吸收养料。植物对当前生长、生存的关键部位,往往投入更多的资源,这是植物生态对策产生的本质所在(Bonser *et al.*, 2009)。尽管一些对幼苗早期生长的研究认为在幼苗生长的早期根/茎比通常是随着幼苗生物量的增加而降低(Reich *et al.*, 1998;Pallardy, 2007),但 3 种橐吾种子萌发初期首先子叶伸展,10 d 以后生物量向根部投入不断增加(图 1),观察期内,根/茎比与生物量的积累呈极显著正相关,这种生物量的分配模式对于生长在青藏高原东部高寒、多风环境、种子生物量较小的 3 种橐吾的种子萌发和幼苗定居、生长十分有利。对于高原草场植物来说,除了低温多风的生境条件外,极强的紫外辐射也是其必须适应的重要生态因子(季国良等,1985),Pukacki 等(1998)研究表明,随着 UV-B 的增强和海拔高度的增加,植物的根/冠比逐渐增加,因此,3 种橐吾植物幼苗的生物量构件特征也可能是其对高原紫外辐射的一种可塑性适应。

3.2 温度对幼苗生长的影响

温度是植物生长的必要条件之一,也是植物自然地理分布的主要限制因素。植物对胁迫的生态反应是整体的(Ogwen *et al.*, 2009),低温胁迫可以影响植物的许多生理功能,如呼吸作用、光合作用等,会使各种生命活动减慢,能量供应减少,最终使生长发育迟缓(Skyba *et al.*, 2012)。根据幼苗生物量、RGR 和移栽后的死亡率可见黄帚橐吾和箭叶橐吾在 8 $^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫下,虽然 RGR 和生物量均有所降低(图 2,图 3),但升温培养后均能很快恢复,最终可达到与对照无显著差异的水平,说明这 2 种橐吾能够忍耐 8 $^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫。4 $^{\circ}\text{C}$ 低温处理对 3 种橐吾的生长均有比较明显影响,掌叶橐吾的生长几乎停止,黄帚橐吾和箭叶橐吾的 RGR 和生物量也有明显下降,但并未完全停止生长;移栽试验表明,3 个种仍有 70% 以上的个体能够忍耐低温胁迫而存活下来,说明分布在青藏高原东部的 3 种橐吾对低温已有了适应性。幼苗的相对生长率(RGR)和物种的入侵能力呈显著正相关,RGR 是区别入侵种和非入侵种最重要的生活史性状(Grotkopp *et al.*, 2002;Kleunen *et al.*, 2010)。3 个种的对照组间平均 RGR 值相近,但经低温处理后,3 个种间区别逐渐明显,处理 2 中,平均 RGR 箭叶橐吾>黄帚橐吾>掌叶橐吾,这一生活史性状表明了 3 个种在扩散能力方面的差异。

可溶性糖类和游离脯氨酸的含量与植物的抗寒性之间呈正相关是一种较普遍的现象(Ahmad

et al., 2014)。本研究中,低温处理后 2 类物质均随温度的降低而增加(图 5,图 6)。在黄帚橐吾中,以可溶性糖增加为主,箭叶橐吾中 2 种物质几乎同步增加;掌叶橐吾以游离脯氨酸增量较大,且在不同的胁迫下,增加量差异明显。可见,在低温的胁迫下,3 种植物均发展出了一定的保护能力,并随着胁迫的增强,保护能力也在增加。

温度对根/茎比的影响是一个复杂的生理过程(Caloin, 1994; Bai et al., 2010)。本项研究对幼苗进行低温处理时正是幼苗根部开始旺盛生长、根冠比增加的时期,从根/冠比与 RGR 和生物量的回归分析可见,植物遭受低温之后,在向根部分配逐渐增多的资源又转向地上部分(叶片),使根部原本增加的生物量积累很快变缓,导致了根/茎比的降低。在青藏高原东部的自然环境中,土壤的温度相对稳定而大气温度波动较大(马瑞君等, 2002; 张文纲等, 2008),长期自然生境可能已经使橐吾进化出低温胁迫时优先保护地上部分的生存对策。这一现象是否与自然条件下一致,有待进一步的研究证实。

半致死温度直观地反应了植物抗寒能力和所能忍受的低温极限。本研究表明,3 种橐吾幼苗的 LT50 分别为-8.24、-8.14 和-7.28 °C,高于同区域的多年生高寒植物矮嵩草(*Kobresia humilis*)(-10.79 °C)、垂穗披碱草(*Elymus nutans*)(-11.78 °C)和黑褐苔草(*Carex atrofusca*)(-9.85 °C)反青期(5 月份)的 LT50,后 3 种植物是青藏高原高寒草甸的优势种和建群植物(滕中华等, 2001)。在青藏高原东部地区,禾草类及大部分双子叶植物通常在 4 月下旬至 5 月中旬返青,而这 3 种橐吾属植物幼苗则在 5 月下旬才开始出现(不同海拔高度有差异),9 月下旬种子成熟,整个生长期与无霜期同步,苗期的气温相对温暖(马瑞君等, 2002)。根据其物候特征,避开更为寒冷的气候可能也是这 3 种植物幼苗期适应对策之一。苗期的寒流虽可使温度降至 0 °C 以下,但只要持续时间不是过长,根据种子萌发的温度特性,低温胁迫的实验结果以及 LT50,这 3 种植物能够忍受苗期短暂的低温胁迫实现更新。这种避寒对策在高寒植物中是否具有普遍性还有待于更广泛的研究。施福成等(1993)用电导法追踪了 16 种自然生长的常绿木兰科植物在 4 个冬季中半致死温度的变化,结果发现,各种树种的半致死温度的最低值与它们分布区北缘的常年最低气温接近;梁莉等(1997)认为,以 LT50 确定生态分布的最低温度能

较准确地指示植物的最大抗寒力和推测可能的生态分布北缘。根据本实验和滕中华等(2001)对高寒植物的研究结果可推断,对分布在具寒冷冬季的温带和寒温带的草本植物来说,LT50 可能与其生长季的最低气温接近,根据生长季内的最低气温可推测植物分布的区域(海拔、纬度)。

3.3 三种橐吾幼苗耐寒性的种间差异

每种植物都有一定的生存环境界限(生态幅),在一定界限内,植物形成了适应环境界限的生理抗性,也形成了植物对环境胁迫的抗性差异(Rivero et al., 2001)。黄帚橐吾和箭叶橐吾分布海拔 2700~4000 m,可生活在河滩、沙地、山坡、湿地、林缘等多种生境(刘左军等, 2002)。长期的自然选择已使这两种植物的幼苗从生理机制、生长方式和物候特征中进化出适应高寒环境的生态对策,有性生殖所产生的幼苗应该对种群更新起着重要作用。掌叶橐吾主要分布在林下,生境相对稳定,且种子萌发所要求的温度较高,通常在 7 月份才能陆续见到实生苗(马瑞君等, 2002)。本研究表明,尽管掌叶橐吾幼苗对低温也有一定的耐受力,但与黄帚橐吾和箭叶橐吾相比,这种耐受力是有限的。当然,3 种橐吾属植物能演替成为青藏高原东缘草场的优势种群,除了对低温环境的良好适应性外,强的形态可塑性、克隆生长能力、化感作用以及较优的繁殖分配对策也在其中扮演了重要的角色(单保庆等, 2000; 刘左军等, 2002; 朱慧等, 2007)。

参考文献

- 曹 昀, 马瑞君, 王国祥. 2008. 青藏高原东部橐吾属三种植物的繁育系统. 广西植物, **28**(3): 302-306.
- 单保庆, 杜国祯, 刘振恒. 2000. 不同养分条件下和不同生境类型中根茎草本黄帚橐吾的克隆生长. 植物生态学报, **24**(1): 46-51.
- 方海东, 段昌群, 何 璐, 等. 2009. 极端环境条件下植物的资源配置对策. 国土与自然资源研究, **31**(1): 92.
- 季国良, 陈有虞. 1985. 青藏高原的紫外辐射. 高原气象, **4**(4): 112-121.
- 金 樑, 孙 莉, 崔慧君, 等. 2014. 青藏高原东缘高寒草原有毒植物分布与高原鼠兔、高原鼯鼠的相关性. 生态学报, **34**(9): 2208-2215.
- 梁 莉, 谈 锋. 1997. 四川大头茶低温半致死温度与对低温的适应性. 西南师范大学学报: 自然科学版, **22**(4): 463-465.
- 刘左军, 杜国祯, 陈家宽. 2002. 不同生境下黄帚橐吾(*Ligularia virgaurea*)个体大小依赖的繁殖分配. 植物生态学报, **26**(1): 44-50.
- 马瑞君, 杜国祯, 刘左军, 等. 2002. 青藏高原东部三种橐吾属植物更新对策的研究. I. 从开花到种子萌发. 草业学报, **11**(2): 29-36.

- 彭闪江, 黄忠良, 彭少麟, 等. 2004. 植物天然更新过程中种子和幼苗死亡的影响因素. 广西植物, **24**(2): 113–121.
- 施福成, 李量冈, 徐连根, 等. 1993. 常绿木兰科植物的抗寒性研究. 生态学报, **13**(3): 197–204.
- 滕中华, 周党卫, 师生波, 等. 2001. 青藏高原三种高寒植物的质膜透性变化与抗寒性的关系. 中国草地, **23**(4): 37–40, 47.
- 王力, 高杉, 周俗, 等. 2006. 青藏高原东南部天然草地主要有毒植物调查研究. 西北植物学报, **26**(7): 1428–1435.
- 徐智敏, 何宝燕, 李取生, 等. 2015. 盐分胁迫下两个苋菜品种对镉及主要渗透调节物质积累的差异. 生态学杂志, **34**(2): 483–490.
- 张文纲, 李述训, 庞强强. 2008. 近45年青藏高原土壤温度的变化特征分析. 地理学报, **63**(11): 1151–1159.
- 张玉芬, 张大勇. 2006. 克隆植物的无性与有性繁殖对策. 植物生态学报, **30**(1): 174–183.
- 朱慧, 马瑞君, 陈树思, 等. 2007. 高寒草场主要牧草对黄芩素水浸液化感胁迫的生理响应. 草业学报, **16**(5): 102–106.
- Achten WMJ, Maes WH, Reubensa B, et al. 2010. Biomass production and allocation in *Jatropha curcas* L. seedlings under different levels of drought stress. *Biomass and Bioenergy*, **34**: 667–676.
- Ahmad P, Rasool S. 2014. Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance; Volume 1: Biological Techniques. Waltham, Massachusetts: Academic Press.
- Aspinwall N, Terry C. 1992. Clonal structure, genotypic diversity and seed production in population of *Filipendula rubra* (Rosaceae) from the Northcentral United States. *American Journal of Botany*, **79**: 294–299.
- Bai YY, Zhang WP, Jia X, et al. 2010. Variation in root: Shoot ratios induced the differences between above and below-ground mass-density relationships along an aridity gradient. *Acta Oecologica*, **36**: 393–395.
- Bajji M, Kinet JM, Lutts S. 2002. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regulation*, **36**: 61–70.
- Bonser SP, Aarssen LW. 2009. Interpreting reproductive allometry: Individual strategies of allocation explain size-dependent reproduction in plant populations. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, **11**: 31–40.
- Caloin M. 1994. Analysis of dry matter partitioning in *Dactylis glomerata* during vegetative growth using a carbon budget model. *Annals of Botany*, **73**: 665–669.
- Crawley MJ. 1986. Plant Ecology. London: Blackwell Scientific Publication.
- Deng ZF, Deng ZW, An SQ, et al. 2009. Habitat choice and seed-seedling conflict of *Spartina alterniflora* on the coast of China. *Hydrobiologia*, **630**: 287–297.
- Eriksson O. 1992. Evolution of seed dispersal and recruitment in clonal plants. *Oikos*, **63**: 439–448.
- Grotkopp E, Rejmánek M, Rost TL. 2002. Toward a causal explanation of plant invasiveness: Seedling growth and life-history strategies of 29 pine (*Pinus*) species. *The American Naturalist*, **159**: 396–419.
- Kawano S, Miyake S. 1983. The productive and reproductive biology of flowering plants. X. Reproductive energy allocation and propagule output of five congeners of the genus *Setaria* (Gramineae). *Oecologia*, **57**: 6–13.
- Kleunen MV, Weber E, Fischer M. 2010. A meta-analysis of trait differences between invasive and non-invasive plant species. *Ecology Letters*, **13**: 235–245.
- Li B, Shibuya T, Yogo Y, et al. 2000. Effects of temperature on bud-sprouting and early growth of *Cyperus esculentus* in the dark. *Journal of Plant Research*, **113**: 19–27.
- Ma RJ, Du GZ, Lu BR, et al. 2006. Reproductive modes of three *Ligularia* weeds (Asteraceae) in grasslands and their implications for weed management. *Ecological Research*, **21**: 246–254.
- Marushia RG, Holt JS. 2008. Reproductive strategy of an invasive thistle: Effects of adults on seedling survival. *Biological Invasions*, **10**: 913–924.
- Ogwen JO, Song XS, Hu WH, et al. 2009. Detached leaves of tomato differ in their photosynthetic physiological response to moderate high and low temperature stress. *Scientia Horticulturae*, **123**: 17–22.
- Pallardy SG. 2007. Physiology of Woody Plants (Third Edition). San Diego: Academic Press.
- Pukacki PM, Modrzyński J. 1998. The influence of ultraviolet-B radiation on the growth, pigment production and chlorophyll fluorescence of Norway spruce seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, **20**: 245–250.
- Reich PB, Tjoelker MG, Walters MB, et al. 1998. Close association of RGR, leaf and root morphology, seed mass and shade tolerance in seedlings of nine boreal tree species grown in high and low light. *Functional Ecology*, **12**: 327–333.
- Rivero RM, Ruiz JM, Garcia PC, et al. 2001. Resistance to cold and heat stress: Accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. *Plant Science*, **160**: 315–321.
- Rosenthal JP, Kotanen PM. 1994. Terrestrial plant tolerance to herbivory. *Trends in Ecology and Evolution*, **9**: 145–148.
- Savitch LV, Gray GR, Huner NPA. 1997. Feedback-limited photosynthesis and regulation of sucrose-starch accumulation during cold acclimation and low-temperature stress in a spring and winter wheat. *Planta*, **201**: 18–26.
- Seo PJ, Park MJ, Park CM. 2013. Alternative splicing of transcription factors in plant responses to low temperature stress: Mechanisms and functions. *Planta*, **237**: 1415–1424.
- Skyba M, Petijová L, Košutha J, et al. 2012. Oxidative stress and antioxidant response in *Hypericum perforatum* L. plants subjected to low temperature treatment. *Journal of Plant Physiology*, **169**: 955–964.
- Wu XX, He J, Zhu ZW, et al. 2014. Protection of photosynthesis and antioxidative system by 24-epibrassinolide in *Solanum melongena* under cold stress. *Biologia Plantarum*, **58**: 185–188.
- Yu F, Wang DX, Shi XX, et al. 2013. Effects of environmental factors on tree seedling regeneration in a pine-oak mixed forest in the Qinling Mountains, China. *Journal of Mountain Science*, **10**: 845–853.