

两种外源物在寒潮下对美花红千层的影响

Effects of Two Exogenous Substances on *Callistemon rigidus* Under Cold Wave

陆柔汕¹ 毕华松² 秦 俊³ 王 铖^{1*}
LU Roushan¹ BI Huasong² QIN Jun³ WANG Cheng^{1*}

(1.上海应用技术大学生态技术与工程学院, 上海 201418; 2.上海羽科园林绿化技术服务中心, 上海 201399; 3.上海辰山植物园, 上海 201620)

(1. School of Ecological Technology and Engineering, Shanghai Institute of Technology, Shanghai, China, 201418; 2. Shanghai Yuke Landscape and Greening Service Center, Shanghai, China, 201399; 3. Shanghai Chenshan Botanical Garden, Shanghai, China, 201620)

文章编号: 1000-0283(2024)12-0134-09
DOI: 10. 12193 / j. laing. 2024. 12. 0134. 016
中图分类号: TU986
文献标志码: A
收稿日期: 2024-07-23
修回日期: 2024-09-27

摘 要

寒潮引起的温度骤降是常见的低温胁迫之一。探明外源脯氨酸和褪黑素在寒潮下对美花红千层 (*Callistemon rigidus*) 适应能力的提升效果, 初步解释其气孔密度、长度与光合能力的相互关系。通过设置 500 ml 双蒸水对照组 (CK)、100 $\mu\text{mol/L}$ 褪黑素 (M)、100 mg/L 脯氨酸 (P)、100 mg/L 脯氨酸+100 $\mu\text{mol/L}$ 褪黑素 (MP) 4 个组, 在 2022 年第一次寒潮入侵时进行气孔结构和生理、光合指标的观测。研究结果为: (1) 寒潮使美花红千层气孔长度 (SL) 下降, 气孔密度 (SD) 上升, 叶片净光合速率 (Pn) 和 PS II 中最大光化学效率 (Fv/Fm) 降低, 丙二醛 (MDA) 含量和叶片伤害度 (II) 增加; (2) SD 与气孔导度 (Cond) 为显著负相关, 与叶绿素 (Chl) 含量有着显著正相关, SL 与光化学淬灭系数 (qP) 呈极显著正相关、与脯氨酸 (Pro) 含量呈正相关, SD 和 SL 呈极显著负相关; (3) 施加外源物可以维持气孔形态, 提高 Pn 和 Fv/Fm, 降低 MDA 含量和 II, 施加效果为 MP > P > M。施加褪黑素可以提升 Pn、Chl 含量, 施加脯氨酸提高叶片内 Pro 含量以维持细胞渗透压平衡。100 mg/L 脯氨酸+100 $\mu\text{mol/L}$ 褪黑素联合施加能够更全面地提高植物抗逆性, 维持气孔结构稳定, 减少细胞膜结构损伤, 提高光合作用。

关键词

外源褪黑素; 外源脯氨酸; 叶绿素荧光; 光合作用; 气孔结构

Abstract

The sudden drop in temperature caused by cold waves is a common form of low-temperature stress. This study aims to investigate the effect of exogenous proline and melatonin on enhancing the adaptive capacity of *Callistemon rigidus* under cold wave conditions and to preliminarily explain the relationship between stomatal density, length, and photosynthetic capacity. Four groups were set up with the application of 500 ml of double-distilled water control group (CK), 100 $\mu\text{mol/L}$ melatonin (M), 100 mg/L proline (P), and 100 mg/L proline + 100 $\mu\text{mol/L}$ melatonin (MP), and an open field experiment was conducted at the onset of the first cold spell in 2022. Results show that: (1) The cold wave caused a decrease in stomatal length (SL) and an increase in stomatal density (SD) of *Callistemon rigidus*, with a reduction in leaf net photosynthetic rate (Pn) and PS II maximum photochemical efficiency (Fv/Fm), and an increase in malondialdehyde (MDA) content and leaf damage degree (II). (2) SD was significantly negatively correlated with stomatal conductance (Cond) and significantly positively correlated with chlorophyll content, while SL was significantly positively correlated with photochemical quenching coefficient (qP) and proline content. There was a significant negative correlation between SD and SL. (3) The application of exogenous substances maintained stomatal morphology, increased Pn and Fv/Fm, and reduced MDA content and II, with the effectiveness ranked as MP > P > M. The application of proline and melatonin maintained the stomatal structure of *Callistemon rigidus*, increased the photosynthetic rate, reduced MDA accumulation, and enhanced plant stress resistance; among them, the combination of 100 mg/L proline + 100 $\mu\text{mol/L}$ had the optimal effect.

Keywords

exogenous melatonin; exogenous proline; chlorophyll fluorescence; photosynthesis; stomatal structure

陆柔汕

1998 年生 / 女 / 云南昆明人 / 在读硕士研究生 / 研究方向为园林植物引种与栽培

毕华松

1975 年生 / 男 / 江苏常州人 / 硕士 / 工程师 / 研究方向为植物保护

王 铖

1974 年生 / 男 / 四川雅安人 / 博士 / 高级工程师 / 研究方向为园林植物引种与栽培

*通信作者 (Author for correspondence)
E-mail: landscapeplant@163.com

基金项目:

上海市科技兴农项目“常绿观赏蕨类种质资源收集与高效繁育利用研究”(编号: 沪农科推字 (2022) 第1-13号); 上海市科委科技创新行动计划“乡土草本植物、苔藓蕨类等资源评价及其在公园绿地应用研究与示范”(编号: 22dz1202101)

美花红千层 (*Callistemon rigidus*) 为桃金娘科 (Myrtaceae) 红千层属 (*Callistemon*) 植物, 原产于澳大利亚温暖的亚热带地区, 一年两次开花, 花大色艳, 具有极高的观赏价值。美花红千层具有特殊的香气, 叶片中提取出的60种芳香成分具有驱蚊作用^[1]。在全球气候变暖的背景下, 极端天气事件发生日益频繁, 垂直降温对植物的危害日益严重, 尤其是对低温敏感亚热带植物危害更甚, 提高植物对寒潮的抵抗力, 缓解气温骤降对植物的危害变得愈发重要^[2-3]。

脯氨酸是一种可以调节植物液泡渗透压的物质, 在缓解盐分和干旱胁迫的危害中具有重要作用。但是, 关于外源脯氨酸对低温胁迫的影响研究较少, 仅有的研究表明, 脯氨酸的最佳外源施加浓度受到生长阶段和植株大小的影响^[4]。对于多年生体型较大的植物而言, 100 mg/L的脯氨酸适合施用^[4-5]。外源褪黑素已被证实可以提高植物幼苗的抗性, 但对于成年苗时期植物的效果需要更多试验验证^[6]。脯氨酸和褪黑素本身都是植物中良好的活性氧化物清除剂, 可以促进抗氧化酶的活性, 在提高植物抗寒能力方面具有潜在的应用前景^[7-8]。然而, 关于这两种物质对植物短期降温抗性的研究较少, 且缺乏对比试验来验证其施加效果。

温度骤降会对植物的生理环境和细胞结构造成损伤, 从而导致植物枯萎和更容易受到病害的侵袭^[9]。相对于0℃以下的冻害, 低温 (>0℃) 通常会导致植物气孔关闭和气孔长度变小^[10]。但气孔密度、长度和植物光合作用之间的关系受植物种类、胁迫程度、胁迫种类等多种因素干扰, 气孔结构与植物光合作用之间的作用机制需要更多试验验证^[11]。

荧光参数可以反映叶片光合作用中的能

量损耗, 从而展示植物受到的胁迫程度。通过反向神经网络对叶绿素荧光成像数据和叶片的冻害图像之间的关联性进行训练, 可以发现叶片中光合能力动力分配和叶片受冻害程度之间存在紧密关系; 在这方面, PS II 光化学能转化系数 $Y(II)$ 、PS II 非调节性能损耗系数 $Y(NO)$ 、PS II 调节性能损耗系数 $Y(NPQ)$ 、光化学淬灭系数 qP 、PS II 最大光化学效率 Fv/Fm 是最有效的评价指标^[12]。 $Y(II)$ 、 $Y(NO)$ 、 $Y(NPQ)$ 三者之间的比例系数可以更好地解释植物光合作用中能量的利用效率^[13]。

本试验旨在通过寒潮发生时气温骤降前后美花红千层叶片气孔和荧光参数变化的比较, 探明气孔密度和长度变化与叶片光合能力和所受胁迫程度间的关系, 比较外源脯氨酸和褪黑素对美花红千层的影响, 为提高亚热带植物抵御寒潮的能力提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料与场地

试验用美花红千层为2021年11月采购自浙江专业苗圃的容器苗, 为三年生的扦插苗。容器规格统一为标准5加仑, 植株平均株高为90 cm, 选择无病虫害、生长情况一致的苗木。试验前, 统一按露地容器栽培方式进行常规护理, 确保生长正常。本试验在位于上海奉贤区的上海应用技术大学植物园中进行 (121° 51' 80.8" E, 30° 84' 36.7" N)。

1.2 试验设计

试验于2022年11月29日-12月3日在上海第一次寒潮发生期间进行, 共设置4个处理: 双蒸水 (CK)、100 μ mol/L 褪黑素溶液 (M)、100 mg/L 脯氨酸溶液 (P)、100 mg/L 脯氨酸+100 μ mol/L 褪黑素溶液 (MP), 每组以

500 ml处理液均匀喷施植物表面。从11月29日-12月3日, 在每日8:00和20:00按试验处理各喷施一次。试验设三个重复, 以三盆为一个重复, 在每日8:30从上、中、下叶四周取样。

为了研究寒潮对美花红千层的影响和两种外源物提高美花红千层抗性的效果, 在寒潮来临前, 1 d和4 d进行指标测定, 具体做法如下: 在11月28日, 测定寒潮入侵前1 d美花红千层的初始生理指标; 在11月30日, 测定寒潮入侵1 d的生理指标和光合指标 (4个处理分别记作CK-1、M-1、P-1和MP-1); 在12月3日, 测定寒潮入侵4 d植物的生理指标、光合指标、叶绿素荧光动力学指标和气孔结构指标 (4个处理分别记作CK-4、M-4、P-4和MP-4)。

1.3 指标测定方法

1.3.1 气孔形态

在气温骤降的4 d, 从植株上、中、下叶片中用打孔器取出10片直径为10 mm的叶片, 用2.5%戊二醛进行固定24 h, 再用0.1 mol/L的磷酸缓冲液漂洗样品三次, 每次15 min; 用1%的钨酸溶液固定样品1~2 h; 再用上述磷酸缓冲液漂洗样品三次; 用30%、50%、70%、80%、90%和95%的乙醇溶液对样品进行脱水处理, 每一浓度处理15 min, 再用100%的乙醇处理两次, 每次20 min。用乙醇与醋酸异戊酯的混合液 (V/V=1/1) 处理样品30 min, 再用纯醋酸异戊酯处理样品1 h或放置过夜。使用临界点干燥仪 (德国莱卡 CPD300), 零点干燥后使用日立SU8010能谱: OXFORD X-MAX 80进行电镜拍摄。根据李贺敏等^[14]的方法取1 mm²区域计算气孔密度 (Stomatal Density, SD), 使用Image J计算气孔长轴长度 (Somatal Length, SL), 用于预估气孔的最大潜在开口大小。

1.3.2 生理指标

叶绿素 (Chlorophyl, Chl) 使用95%乙醇提取测定^[15], 丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 含量使用硫代巴比妥酸法测定^[16]、总蛋白 (Total Protein, TP) 和脯氨酸 (Proline, Pro) 含量使用南京建成生物试剂盒进行测定。手持电导度测定仪JENCO EC330测量相对电导度 (Relative Electrical Conductance, REC)。浸泡1 h得 S_1 ; 沸水浴1 h得 S_2 。相对电导度= S_1/S_2 ; 伤害度 (Injury Index, II) = (S_1 -初始电导度) / (1-初始电导度), S_1 为计算伤害度的处理所对应的相对电导度^[17]。

1.3.3 光合能力和叶绿素快速荧光

9:00进行试验。光合作用使用便携式光合作用仪Li-6400在PAR值为1 000 mol/m²·s下测定植物第二层叶片的净光合速率 (net photosynthetic rate, Pn)、胞间二氧化碳含量 (intercellular carbon dioxide concentration, Ci)、蒸腾速率 (transpiration rate, Tr)、气孔导度 (stomatal conductance, Cond)。

17:00进行1 h以上的暗处理。使用Pam-Win叶绿素荧光仪饱和脉冲光为12 000 mol/m²·s, 对植物的初始荧光 (Fo)、光适应后的最大荧光 (Fm)、Fv/Fm、qP、NPQ、Y (II)、Y (NO)、Y (NPQ) 进行测定。根据李凯等^[18]的方法PS I和PS II的激发能分配系数用 (α) 和 (β) 表示, 光系统之间的不平衡性用 $\beta/\alpha-1$ 。

1.4 数据处理

使用Excel2020处理数据, SPSS26进行数据分析, origin2021进行图片的绘制, Image J进行气孔形态的分析。隶属函数分析方法见公式 (1)–(3)。

$$CAI = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n A(X_{ij}) \quad (1)$$

$$A(X_{ij}) = (X_{ij} - X_{ijmin}) / (X_{ijmax} - X_{ijmin}) \quad (2)$$

$$A(X_{ij}) = 1 - (X_{ij} - X_{ijmin}) / (X_{ijmax} - X_{ijmin}) \quad (3)$$

式中, $A(X_{ij})$ 表示各个指标的隶属函数值, X_i 表示指标, j 表示处理组。指标与评价结果呈正相关时用公式 (2), 反之则是用公式 (3)。CAI为各指标隶属函数的平均值, 代表植物的抗寒能力未加权的数值。 max 和 min 分别指数据 X_{ij} 中的最大值和最小值。

灰色关联度分析与加权后综合得分计算方法如公式 (4)–(8) 所示。

$$WCAI = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left[A(X_{ij}) \times \left(ri \div \sum_{i=1}^n ri \right) \right] \quad (4)$$

$$X'_i(K) = (X_i(K) - \bar{X}_i) \div S_i \quad (5)$$

$$\Delta_i(K) = |X_0(K) - X_i(K)| \quad (6)$$

$$\xi_i(K) = \frac{(\min \min \Delta_i(K) + \rho \max \max \Delta_i(K))}{(\Delta_i(K) + \rho \max \max \Delta_i(K))} \quad (7)$$

$$ri = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \xi_i(K) \quad (8)$$

式中, $X_i(K)$ 表示数据的原始值, $X'_i(K)$ 表示无量纲化的标准值, $\Delta_i(K)$ 表示标准值的绝对值。 ri 、 $\xi_i(K)$ 分别表示灰色关联度系数和灰色关联度、关联系数 ρ 本次试验取0.5。加权后综合得分WCAI为以 ri 加权后各指标的隶属函数值的平均值。

2 结果与分析

2.1 环境因素分析

寒潮来临前 (11月28日) 温度高于15℃, 在11月29日温度产生显著下降, 降幅超过10℃, 之后3天气温保持在低位, 12月3日气温稍有回升仍低于10℃。在寒潮来临前风向为南风, 在11月29日后风向为北风、西北风。试验期间环境空气湿润 (相对湿度>60%), 相对湿度先下降, 11月30日相对湿度最低为62%而后开始缓慢上升。寒潮开始后一天紫外线指数每天都是1 mW/m², 表明在试验期间紫外线强度较低, 日照强度比较弱。日照时长度变化较小, 日照时长差仅有10 min (表1)。

2.2 寒潮下外源褪黑素和脯氨酸对美花红千层光合作用的影响

施加褪黑素处理, 光合指标呈现出先抑制后增加的现象, 相对于对照组, 在第1天Pn、Cond、Tr分别下降了5.64%、22.32%、23.64%, 到第4天, Pn、Cond、Tr分别提高了221.87%、134.55%、141.18%。

施加脯氨酸的处理。光合指标呈现出持续增加的现象, 相对于对照组, Pn在两次测定中分别提高了47.56%、156.25%, Cond分别提高了16.44%、243.61%, Tr分别提高了7.37%、133.34%。

施加脯氨酸+褪黑素的处理。光合指标也呈现出持续增加的现象, Pn在两次测定中分别提高了76.99%、253.70%, Cond的两次测定值分别提高了36.59%、37.26%, Tr的两次测定值分别提高了38.12%、42.99%。

试验结果表明, 褪黑素初期会抑制美花红千层的光合作用, 脯氨

表1 上海奉贤区气候信息
Tab. 1 Climate information of Fengxian District, Shanghai

日期 Date	温度 /℃ Temperature	降水量 /mm Precipitation	风象指标 Wind index	相对湿度 /% Relative humidity	紫外线指数 / (mW/m ²) UV index	日照时长 /h Sunshine duration
2022 年 11 月 28 日	16 ~ 21	13.10	南风 3 级	84	1	10.37
2022 年 11 月 29 日	3 ~ 15	5.10	西北风 3 级	66	1	10.43
2022 年 11 月 30 日	2 ~ 6	1.00	北风 3	62	1	10.36
2022 年 12 月 1 日	2 ~ 6	27.80	西北风 4 级	78	1	10.36
2022 年 12 月 2 日	2 ~ 10	2.00	西北风 2 级	80	1	10.35
2022 年 12 月 3 日	6 ~ 10	12.25	西北风 3 级	91	1	10.33

酸和脯氨酸+褪黑素则有持续的促进作用。总体而言，在低温环境下持续施加上述三种施加物均可以提高美花红千层的光合作用，只是美花红千层对不同外源物质作用的响应存在时间差异(表2)。

2.3 寒潮下外源褪黑素和脯氨酸对美花红千层的生理指标的影响

在寒潮入侵后，美花红千层对照组的叶绿素a含量(Chl a)、叶绿素b含量(Chl b)、总叶绿素含量(Chl t)在第1天大幅下降，并且在第4天进一步下降，相对于对照组，M组抑制了Chl含量，而P组和MP组的处理有效缓解了Chl含量的降低，特别是MP组在第4天3个叶绿素指标均恢复到了初始水平。在寒潮入侵的第一天，叶片的相对REC上升，第4天仍保持在较高水平，施加外源物质均可以降低叶片的REC。Pro含量在寒潮入侵后急剧降低，直至第4天仍持续降低，在第一天只有MP组的Pro含量增加，在第4天三组处理Pro含量均高于对照组。TP含量在气温骤降后急剧下降，其中对照组的降幅最大，达到降温前的1/8，随低温持续，TP含量有所回升，施加外源物均可显著增加美花红千层TP含量。在低温胁迫后MDA含量急速上升并且保持较高水平，施加外源物质均可以显著降低MDA含量。施加外源物质可以

表2 外源物对美花红千层光合作用的影响
Tab. 2 Effect of exogenous substances on photosynthesis of *Callistemon rigidus*

处理 Treatment	Pn/($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	Ci/($\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$)	Cond/($\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	Tr/($\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
初始 origin	5.08±0.46a	366.57±38.78bc	0.03±0.00ab	0.58±0.07ab
CK-1	1.77±0.07d	349.88±15.29abc	0.02±0.01ab	0.55±0.06abc
CK-4	0.64±0.11e	394.67±7.41ab	0.01±0.00c	0.17±0.03e
MP-1	2.91±0.20b	333.31±6.56abc	0.04±0.01ab	0.76±0.04a
MP-4	1.80±0.05cd	428.17±1.15a	0.01±0.00ab	0.30±0.01de
M-1	1.67±0.09d	335.93±1.06abc	0.02±0.01c	0.42±0.02bcd
M-4	2.06±0.05cd	364.50±9.45abc	0.02±0.01ab	0.41±0.02bcd
P-1	2.61±0.25bc	291.95±5.88c	0.02±0.01ab	0.50±0.05bcd
P-4	1.64±0.02cde	303.70±1.85abc	0.02±0.01c	0.24±0.00cde

注：表中数值为“平均值±标准差”，不同小写字母表示差异显著($p<0.05$)。

降低低温对美花红千层的伤害度(II)。伤害度(II)可以直观显示植物的受害程度，施加外源物质可以减轻气温骤降对植物的伤害，施加外源物质后三个处理组M组、P组和MP组的伤害程度分别减少16.91%、9.09%、13.98%(图1)。

2.4 寒潮下外源褪黑素和脯氨酸对美花红千层的气孔密度长度和密度的影响

在第4天，CK组在SD和SL上均与初始组有显著差异，SD显著增加35.55%，SL显著减少31.80%。与初始组相比M组的气孔长度提高9.63%，SD显著降低15.05%；P组在SD上较初始组有显著增加19.88%，但SL没有显著

变化；MP组的SD增加不显著，SL显著减少14.31%(表3)。

2.5 寒潮下外源褪黑素和脯氨酸对美花红千层的光化学系统的影响

在第4天，植物的qP显著增加，而NPQ则显著减少，导致热量逸散的减少($p<0.05$)。同时， β 值降低， α 值升高，导致了PS I和PS II激发能分配的不平衡，进而导致过氧化物的过量累积。三组处理并没有显著影响平衡PS I和PS II的激发能分配($p<0.05$)。外源物质主要作用于PS II，M组、P组和MP组的植株Fv/Fm均显著提高(表4)。低温导致植物PS II光转化效率降低，Y(II)占比降

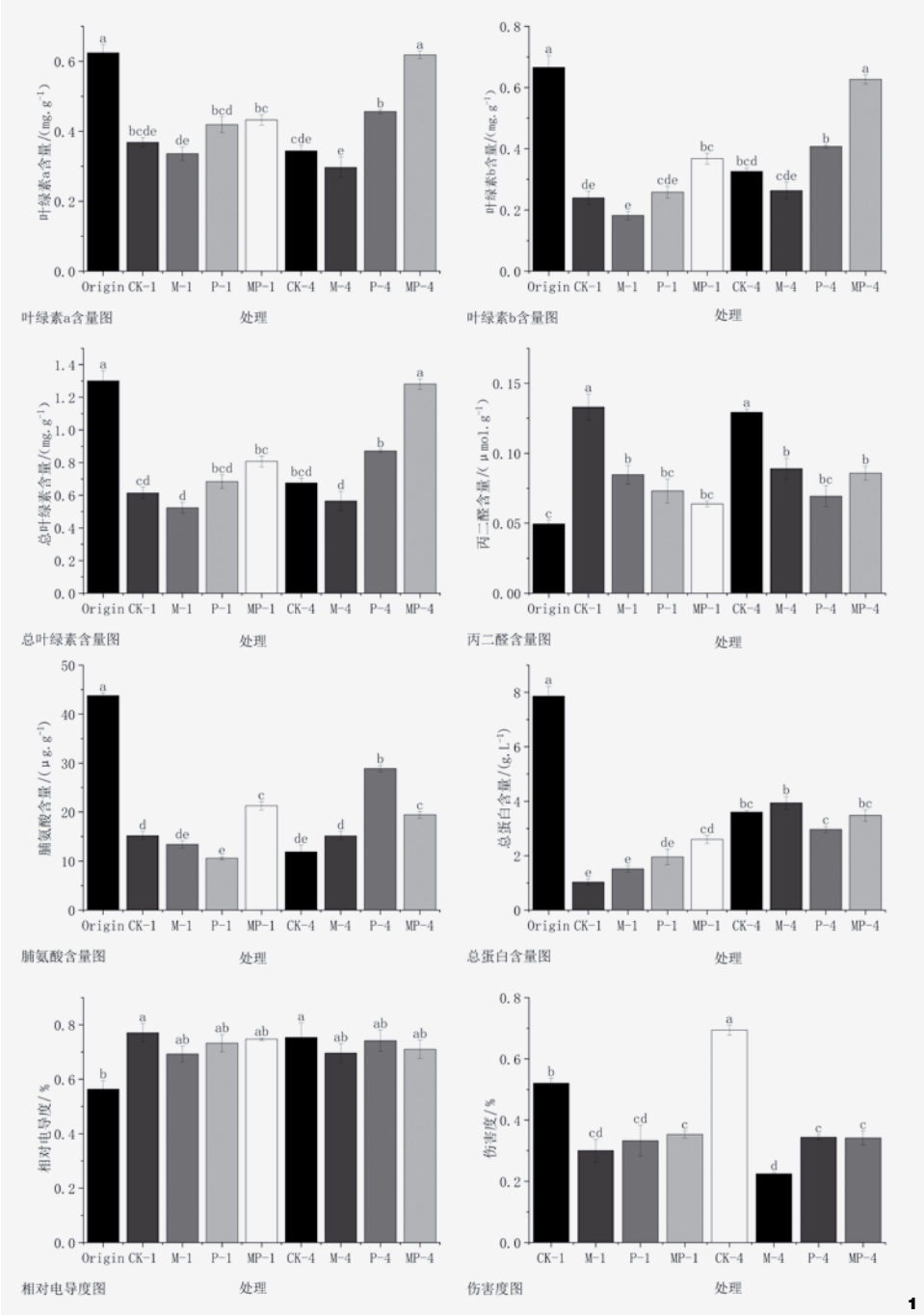


图1 外源物对美花红千层生理指标的影响
Fig. 1 Effect of exogenous substances on physiological indexes of *Callistemon rigidus*

低，而Y(NO)和Y(NPQ)占比升高。P组、M组、MP组均能提高叶片Y(II)占比，分别提高了9.5%、8.2%、10.2%(图2)。相关性分析

选择MDA和II反映植物胁迫程度，施加效果(WCAI)结果显示外源物质对植物抗寒能力提升效果为MP>P>M(表5)。

2.6 气孔和光合作用、叶绿素荧光动力的相关性分析

气孔结构与美花红千层的光合能力存在相关性。五对指标呈正相关，SL与Pro、SL与Fv/Fm、SD与II、Cond与Pro、Cond与Pn；三对指标呈负相关，SL与Chl、SD与qP、Cond与II($p \leq 0.05$)。SL与qP呈显著正相关、SD与Cond呈显著负相关($p \leq 0.01$)。SL与SD之间呈极显著负相关，说明两者在低温胁迫下的响应呈相反趋势($p \leq 0.001$)。综上所述，SL越长植物的冷害程度越低，植物的光合能力越强；反之SD越大说明植物的冷害程度越大，植物的光合能力越弱。Pro与Pn、NPQ、 $\beta/\alpha-1$ 呈极强正相关，和II呈极显著负相关($p \leq 0.001$)。Pro含量与叶绿素荧光动力、伤害度的关系密切，在植物光合作用和低温逆境生理响应中有着非常重要的作用(图3)。

3 讨论

3.1 寒潮下施加外源物美花红千层生理指标的变化

寒潮第1天，Chl a、Chl b、Chl t含量大幅下降，并在第4天进一步减少。这是由于温度下降抑制叶绿素酶的活性，导致Chl含量降解^[12]。光合作用受到抑制也会导致Chl含量降低^[19]。含量第1天减少，第4天上升，可能是植物对温度的即时应激反应和适应性响应。寒潮初期，蛋白合成效率降低，植物分解现有蛋白质提供氨基酸合成新的防寒蛋白质^[20]。随着植物适应低温条件，氮同化和蛋白质合成途径恢复，蛋白质含量上升^[21]。

Pro含量在寒潮中持续下降，M组和P组进一步抑制了Pro含量，而MP组Pro含量显著增加，表明褪黑素和脯氨酸组合能有效激活Pro合成途径。M组在第1天抑制了Chl、Tp

表3 寒潮下外源褪黑素和脯氨酸对美花红千层气孔形态的影响
Tab. 3 Effect of exogenous melatonin and proline on stomatal morphology of *Callistemon rigidus* at cold wave

处理 Treatment	气孔密度 / 个 Stomatal density	气孔长度 / μM Stomatal length
初始 origin	55.33 $\pm$ 7.51c	11.32 $\pm$ 3.49a
CK	75.00 $\pm$ 4.36a	7.72 $\pm$ 2.54b
P	66.33 $\pm$ 6.66ab	11.22 $\pm$ 1.55a
M	47.00 $\pm$ 4.36c	12.41 $\pm$ 1.54a
MP	64.67 $\pm$ 3.21b	9.7 $\pm$ 3.22b

注：表中数值为“平均值 $\pm$ 标准差”，不同小写字母表示差异显著 ($p < 0.05$)。

表4 外源褪黑素和脯氨酸对美花红千层叶绿素荧光的影响
Tab. 4 Effect of exogenous melatonin and proline on chlorophyll fluorescence of *Callistemon rigidus*

处理 Treatment	F ₀	Fv/Fm	α	β	$\beta/\alpha-1$	qP	NPQ
初始 origin	0.24 $\pm$ 0.01a	0.79 $\pm$ 0.03a	0.41 $\pm$ 0.03b	0.59 $\pm$ 0.03a	0.47 $\pm$ 0.22a	0.76 $\pm$ 0.12b	1.26 $\pm$ 0.89b
CK	0.19 $\pm$ 0.05a	0.74 $\pm$ 0.01b	0.45 $\pm$ 0.02a	0.55 $\pm$ 0.02b	0.19 $\pm$ 0.08b	0.83 $\pm$ 0.09a	0.60 $\pm$ 0.22a
P	0.29 $\pm$ 0.11a	0.78 $\pm$ 0.04a	0.45 $\pm$ 0.02ab	0.55 $\pm$ 0.02ab	0.21 $\pm$ 0.12b	0.86 $\pm$ 0.12a	0.51 $\pm$ 0.23a
M	0.23 $\pm$ 0.01a	0.79 $\pm$ 0.02a	0.46 $\pm$ 0.01ab	0.54 $\pm$ 0.01ab	0.18 $\pm$ 0.04b	0.85 $\pm$ 0.03a	0.63 $\pm$ 0.09a
MP	0.24 $\pm$ 0.04a	0.78 $\pm$ 0.02a	0.46 $\pm$ 0.01ab	0.54 $\pm$ 0.01ab	0.19 $\pm$ 0.03b	0.77 $\pm$ 0.11b	0.65 $\pm$ 0.19a

注：表中数值为“平均值 $\pm$ 标准差”，不同小写字母表示差异显著 ($p < 0.05$)。

表5 三组外源物质施加效果比较
Tab. 5 Comparison of the effect of exogenous substance imposition in three groups

	Pn	Cond	Chl t	SD	SL	MDA	Pro	II	Fv/Fm	CAI	WCAI
CK	0.50	0.45	0.42	0.63	0.22	0.40	0.36	0.35	0.43	0.42	0.29
P	0.53	0.58	0.40	0.36	0.59	0.54	0.49	0.45	0.54	0.50	0.34
M	0.55	0.40	0.27	0.63	0.44	0.51	0.40	0.57	0.52	0.48	0.33
MP	0.45	0.58	0.52	0.61	0.42	0.68	0.45	0.42	0.49	0.51	0.35
ri	0.72	0.78	0.61	0.60	0.81	0.83	0.70	0.63	0.64		

和Pro含量；P组在第1天抑制了Pro；MP组在寒潮初期和后期均展现出良好的调控作用。MP组效果较好的原因是，褪黑素可能通过调节激素信号通路，增强植物的防御反应^[12]；脯氨酸则可能通过调控渗透压调节基因，增强植物的抗逆能力^[20]；两者联合使用，能够多方面调控基因表达，协同增强植物的抗逆性。

3.2 寒潮下施加外源物美花红千层光合作用的变化

试验期间，紫外线指数和日照时长变化较小，温度和相对湿度是主要影响因素。寒潮持续的低温高湿会持续抑制美花红千层的Pn和Cond。研究发现，持续低温环境有效积温较低，Pn和Cond受到抑制^[22]。同时，湿度过低（<40%）或过高（>85%）都

会导致气孔功能失调，抑制植物的生长和光合作用^[23]。

第1天，温度和相对湿度下降，Tr无显著变化；第4天，湿度过高且Cond进一步下降，Tr受抑制。低温下叶片通过降低蒸腾作用保持温度，高湿度降低叶片与空气之间的水汽压差，气孔开放度下降，抑制Tr^[24-25]。第一天，MP组对光合作用调节效果最好，M组两次测定综合效果最好。寒潮初期外源褪黑素可能短暂抑制光合作用，但随后会诱导抗氧化防御系统和冷应激基因表达，逐步改善光合效率^[26-27]。

3.3 寒潮下施加外源物美花红千层气孔结构的变化

低温或高湿通常使SD和SL下降，因为气体交换和蒸腾作用需求下降，改变气孔结构可以优化水分利用效率^[24]。在本研究，SL下降，SD上升。SD上升可能是由于寒潮引起的低温和高湿环境下美花红千层的特异性反应。寒潮抑制光合作用，提高SD作为应对策略增强光合能力^[28]。SD上升也可能是因为寒潮对植株的胁迫程度相对较轻。研究表明，温度降低使SD上升，这种情况主要出现在胁迫的早期或胁迫较轻的情况下，而随着胁迫程度的深入，SD会先上升后下降^[29]。最后本研究中，SD与SL呈反比关系，因为叶片保卫细胞在低温时收缩，导致SL下降，间接使SD增加^[30]。

3.4 气孔结构对光合作用、叶绿素荧光的影响

在本试验中，SD和Cond之间存在强负相关性，且SD、SL与Ci有相关性。研究表明，SL下降会导致叶片Cond降低，胁迫条件下气孔关闭阻碍了CO₂交换，导致Pn下降^[31]。SD、SL与Chl有强相关性。气孔通过影响植物蒸腾作用调节叶片温度，协助维持Chl含量和光

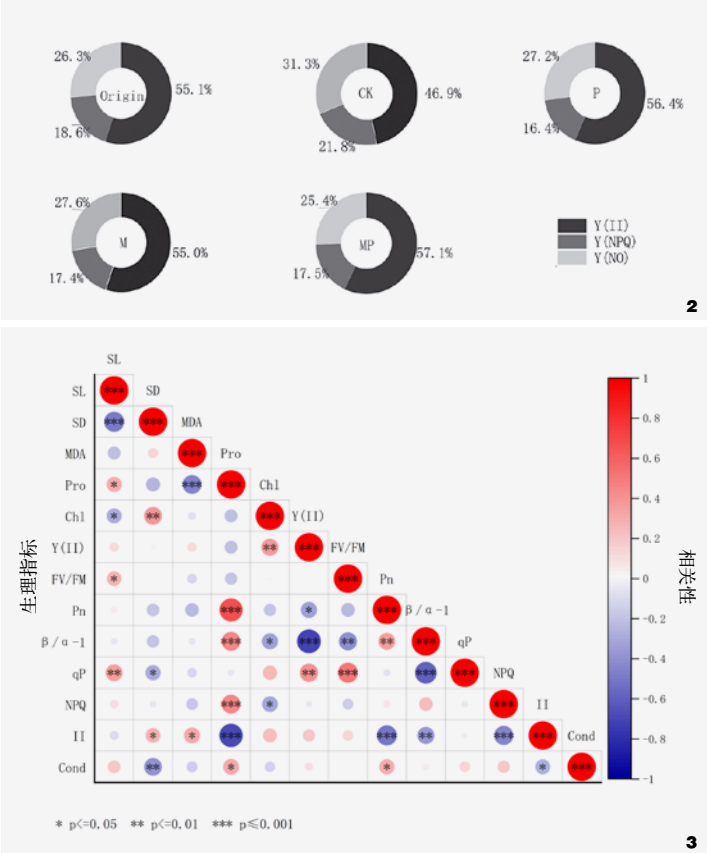


图2 外源褪黑素和脯氨酸对美花红千层PSII激发能分配的影响
Fig. 2 Effect of exogenous melatonin and proline on PSII excitation energy partitioning in *Callistemon rigidus*

图3 气孔和光合作用、叶绿素荧光动力的相关性分析
Fig. 3 Correlation analysis of stomata and the dynamics of photosynthesis and chlorophyll fluorescence

合酶活性^[32]。综上所述，气孔结构可能通过Cond和Chl调控光合作用。

对大豆 (*Glycine max*) 的研究表明，温度升高导致叶表面SD显著增加，但同时光合作用速率和叶绿素荧光参数受到抑制^[33]。对光果甘草 (*Glycyrrhiza glabra*) 的研究表明，在盐胁迫下SD下降，叶绿素荧光和光合参数也受到抑制^[34]。本研究中，寒潮使美花红千层SD上升，SL下降，Fv/Fm、qP、Pn等叶绿素荧光和光合参数受到抑制。这些研究表明，SD和SL的变化会抑制植物的光合作用和叶绿素荧光，但气孔结构变化与植物光合作用相关性可能因植物种类和胁迫类型而异。尽管气孔结构变化是植物自适应环境的表现，但气孔结构变化越小，说明其对气孔的调节能力越强^[35]。有研究通过施用外源硅、硒等矿物元素和γ-氨基丁酸 (GABA) 等代谢物维持气孔稳态，保护胁迫条件下的光合作用^[36-38]。这与本研究结果一致，维持气孔结构最佳的组合和光合作用效果最佳组合为同一组 (M组)。

3.5 外源物质对美花红千层叶绿素荧光的影响

为了适应非生物胁迫，植物采取了提高qP、降低NPQ的策略，以增强光能转化效率^[39]。本试验中，美花红千层叶片的qP升高，NPQ和Fv/Fm降低，表明寒潮刺激美花红千层对环境进行光适应但光化学转化效率仍受到了抑制。此外，逆境下Fv/Fm保持较高水平表示较强的抗性^[33]。虽然施加外源物对提升光化学转化效率效果不显著，但提高了美花红千层的Fv/Fm，增强了其抗性。非生物胁迫会破坏植物PS II中对光能的利用效率，在抗性较好的品种间表现出更高的Y (II) 和更低的Y (NO)^[40]。本试验中，施加外源物能够提高Y (II) 在PS II中的占比，降低了Y (NO) 的占比，改善了低温下PS II的荧光动力学分配比例，提高了美花红千层的抗性。

研究发现，Fv/Fm和光化学转化效率关系并不直接，外源物质提高PS II效率，在对寒潮的适应性响应中提高了Fv/Fm，但不一定会立即导致光化学转化效率的显著变化。即使Fv/Fm提高，Cond、二氧化碳供应或下游代谢过程等其他因素仍可能限制整体光化学转换效率^[41]。

3.6 三种施加方式效果比较

总体来看，P组和MP组在多个指标上表现出对寒潮胁迫的较好适应性。P组在提高Cond和Pro含量方面有突出效果，而MP组在生理指标、光合作用方面有着响应速度迅速、适应性调节综合能力强的特点。M组虽然在提高Pn上表现较好，但在施加后植物响应速度、Fv/Fm和MDA上表现均不如前两组。其中，第1天单独施加褪黑素对植物的Chl含量、Pn、Cond、Tr产生抑制作用。这种差异可能与植物在寒潮持续期间美花红千层生理状态的变化以及外源物质对植物的不同调节机制有关^[42]。外源褪黑素可能会短暂抑制光合作用，但随后会诱导植株的抗氧化防御系统和冷应激基因表达，从而在后续几天内逐步改善光合效率^[26-27]。而MP组，在第1天对各项生理指标展现出较好的调节作用，在维持气孔SD、SL和提高植物光合能力两个方面均表现较好，维持叶片中叶绿素荧光动力平衡能力方面突出，在施加效果 (WCAI) 排序中处于第一位。综上所述100 mg/L脯氨酸+100 μmol/L褪黑素在三组中效果最好。

4 结论

本研究系统分析了寒潮对美花红千层生理指标、光合作用及气孔结构的影响，并比较了三种外源物质施加方式的效果。结果表明，寒潮对美花红千层的生理和光合作用具有显著的抑制作用，特别是叶绿

素含量和光合速率。100 $\mu\text{mol/L}$ 褪黑素 (M组) 在调节光合作用与气孔结构方面表现优异, 尽管在寒潮初期可能暂时抑制光合作用, 但随后会激活抗氧化系统, 逐步改善光合效率。100 mg/L脯氨酸 (P组) 在本试验中显著提高叶片中脯氨酸的含量, 维持细胞内的渗透压平衡。100 mg/L脯氨酸+100 $\mu\text{mol/L}$ 褪黑素 (MP组) 在生理指标和光合参数上表现出显著优于M组和P组的效果。两者结合使用能在寒潮初期充分调动植株生理指标响应, 并在寒潮后期通过增强PS II转化效率和调节气孔结构, 显著提高了光合作用效率, 降低了伤害度和MDA的累积, 提高植株的抗性。LWJ

注: 文中图表均由作者绘制。

参考文献

- [1] DY P, EC O, NE N. Larvicidal and Phytochemical Properties of *Callistemon rigidus* R. Br. (Myrtaceae) Leaf Solvent Extracts Against Three Vector Mosquitoes[J]. Journal of Vector Borne Diseases, 2014, 51(3): 216-223.
- [2] RATIVA A G S, NAVARRO B B, GASTMANN R, et al. Decreased Night Temperature Affects Development and Grain Yield only in Cold-susceptible Rice (*Oryza sativa*) Plants[J]. Crop and Pasture Science, 2021, 72: 782-788.
- [3] Abd-ELMABOD S K, MUÑOZ-ROJAS M, JORDÁN A, et al. Climate Change Impacts on Agricultural Suitability and Yield Reduction in a Mediterranean Region[J]. Geoderma, 2020, 374: 114453.
- [4] HOSSEINIFARD M, STEFANIAK S, GHORBANI J M, et al. Contribution of Exogenous Proline to Abiotic Stresses Tolerance in Plants: A Review[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(9): 5186.
- [5] KHALID M, REHMAN H M, AHMED N, et al. Using Exogenous Melatonin, Glutathione, Proline, and Glycine Betaine Treatments to Combat Abiotic Stresses in Crops[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(21): 12913.
- [6] ARNAO M B, HERNÁNDEZ-RUIZ J. Melatonin as a Plant Biostimulant in Crops and During Post-harvest: A New Approach is Needed[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2021, 101(13): 5297-5304.
- [7] HAYAT S, HAYAT Q, ALYEMENI M N, et al. Role of Proline Under Changing Environments[J]. Plant Signaling & Behavior, 2012, 7(11): 1456-1466.
- [8] AGATHOKLEOUS E, ZHOU B, XU J, et al. Exogenous Application of Melatonin to Plants, Algae, and Harvested Products to Sustain Agricultural Productivity and Enhance Nutritional and Nutraceutical Value: A Meta-analysis[J]. Environmental Research, 2021, 200: 111746.
- [9] KIM K H, KIM G H, SON K I, et al. Outbreaks of Yuzu Dieback in Goheung Area: Possible Causes Deduced from Weather Extremes[J]. Plant Pathol J, 2015, 31(3): 290-298.
- [10] DING D, LI J, XIE J, et al. Exogenous Zeaxanthin Alleviates Low Temperature Combined with Low Light Induced Photosynthesis Inhibition and Oxidative Stress in Pepper (*Capsicum annuum* L.) Plants[J]. Current Issues in Molecular Biology, 2022, 44(6): 2453-2471.
- [11] YANG J, LI C, KONG D, et al. Light-mediated Signaling and Metabolic Changes Coordinate Stomatal Opening and Closure[J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 601478.
- [12] MISHRA A, MISHRA K B, HÖRMILLER, et al. Chlorophyll Fluorescence Emission as a Reporter on Cold Tolerance in Arabidopsis Thaliana Accessions[J]. Plant Signal & Behavior, 2011, 6(2): 301-310.
- [13] CAFFARRI S, TIBILETTI T, JENNINGS R C, et al. A Comparison Between Plant Photosystem I and Photosystem II Architecture and Functioning[J]. Current Protein & Peptide Science, 2014, 15(4): 296-331.
- [14] 李贺敏, 王森, 张红瑞, 等. 基于叶表皮特征对25科40种药用植物显微鉴别的研究[J]. 中草药, 2021, 52(23): 7331-7338.
- [15] SPILLER S, TERRY N. Limiting Factors in Photosynthesis: II. Iron Stress Diminishes Photochemical Capacity by Reducing the Number of Photosynthetic Units[J]. Plant Physiol, 1980, 65(1): 121-125.
- [16] 赵世杰, 许长成, 邹琦, 等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进[J]. 植物生理学通讯, 1994(03): 207-210.
- [17] 郑龙, 王陆军, 傅松玲, 等. 不同板栗品种的耐热性和抗旱性比较[J]. 安徽农业大学学报, 2015, 42(03): 372-374.
- [18] 李恺, 张丽丽, 邵长勇, 等. 亚高温下冷等离子体处理番茄种子对幼苗生长和光能利用的影响[J]. 园艺学报, 2021, 48(11): 2286-2298.
- [19] LYSENKO E A, KOZULEVA M A, KLAUS A A, et al. Lower Air Humidity Reduced Both the Plant Growth and Activities of Photosystems I and II Under Prolonged Heat Stress[J]. Plant Physiol Biochem, 2023, 194: 246-262.
- [20] CHEN Y, LIU Z, DAI Y, et al. Low Temperature Decreased Insecticidal Protein Contents of Cotton and Its Physiological Mechanism[J]. Frontiers in Plant Science, 2023, 13: 1082926.
- [21] SHERUDILO E G, SHIBAEVA T G, IKKONEN E N, et al. Comparative Study of Plant Physiological Responses to Long-Term and Short-Term Daily Exposures to Low Temperature in the Presence of Protein-Synthesis Inhibitors[J]. Biology Bulletin Reviews, 2020, 10(1): 71-80.
- [22] KANG M, WANG S, XU Z, et al. Simulating the Effects of Low-temperature Stress During Flowering Stage on Leaf-level Photosynthesis with Current Rice Models[J]. Agricultural and Forest Meteorology, 2024, 354: 110087.
- [23] CHOWDHURY M, KIRAGA S, ISLAM M N, et al. Effects of Temperature, Relative Humidity, and Carbon Dioxide Concentration on Growth and Glucosinolate Content of Kale Grown in a Plant Factory[J]. Foods, 2021, 10(7): 1524.
- [24] DRIESEN E, VAN DEN ENDE W, DE P M, et al. Influence of Environmental Factors Light, CO₂, Temperature, and Relative Humidity on Stomatal Opening and Development: A Review[J]. Agronomy, 2020, 10(12): 1975.
- [25] 余道, 李开萍, 刘子琦, 等. 黄金梨土壤—植物—大气连续体系面水分特征[J]. 森林与环境学报, 2021, 41(02): 113-123.
- [26] ZENG W, MOSTAFA S, LU Z, et al. Melatonin-Mediated Abiotic Stress Tolerance in Plants[J]. Front Plant Sci, 2022, 13: 847175.
- [27] MUHAMMAD I, YANG L, AHMAD S, et al. Melatonin Application Alleviates Stress-Induced Photosynthetic Inhibition and Oxidative Damage by Regulating Antioxidant Defense System of Maize: A Meta-Analysis[J]. Antioxidants (Basel), 2022, 11(3): 512.
- [28] TANAKA Y, SUGANO S S, SHIMADA T, et al. Enhancement of Leaf Photosynthetic Capacity Through Increased Stomatal Density in Arabidopsis[J]. New Phytol, 2013, 198(3): 757-764.
- [29] VERMA K K, SONG X P, ZENG Y, et al. Characteristics of Leaf Stomata and Their Relationship with Photosynthesis in Saccharum officinarum Under Drought and Silicon Application[J]. ACS Omega, 2020, 5(37): 24145-24153.
- [30] 任昱, 魏春光, 郭小宇. 6种荒漠植物叶片气孔性状比较分析[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 2021, 42(02): 21-26.

- [31] 袁家梁, 蔡明蕾, 李秧秧. 玉米叶气孔特征对氮素和水分的响应及其与叶气体交换的关系[J]. 干旱地区农业研究, 2022, 40(01): 155-162.
- [32] PÉREZ-BUENO M L, ILLESCAS-MIRANDA J, MARTÍN-FORERO A F, et al. An Extremely Low Stomatal Density Mutant Overcomes Cooling Limitations at Supra-optimal Temperature by Adjusting Stomatal Size and Leaf Thickness[J]. Front Plant Sci, 2022, 13: 919299.
- [33] JUMRANIK, BHATIA V S, PANDEY G P. Impact of Elevated Temperatures on Specific Leaf Weight, Stomatal Density, Photosynthesis and Chlorophyll Fluorescence in Soybean[J]. Photosynth Research, 2017, 131(3): 333-350.
- [34] MOUSAVI S S, KARAMI A, MAGGI F. Photosynthesis and Chlorophyll Fluorescence of Iranian Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) Accessions Under Salinity Stress[J]. Front Plant Sci, 2022, 13: 984944.
- [35] 王芳, 陆志民, 王君, 等. 低温胁迫下红松与西伯利亚红松光合与气孔特性[J]. 植物研究, 2021, 41(02): 205-212.
- [36] ZHANG Y, LIANG Y S, ZHAO X, et al. Silicon Compensates Phosphorus Deficit-Induced Growth Inhibition by Improving Photosynthetic Capacity, Antioxidant Potential, and Nutrient Homeostasis in Tomato[J]. Agronomy, 2019, 9(11): 733.
- [37] ZHANG W, HE X, CHEN X, et al. Exogenous Selenium Promotes the Growth of Salt-stressed Tomato Seedlings by Regulating Ionic Homeostasis, Activation Energy Allocation and CO₂ Assimilation[J]. Front Plant Sci, 2023, 14: 1206246.
- [38] AKHTER N, AQEEL M, SHAHNAZ M M, et al. Physiological Homeostasis for Ecological Success of Typha (*Typha domingensis* Pers.) Populations in Saline Soils[J]. Physiol Mol Biol Plants, 2021, 27(4): 687-701.
- [39] MUHAMMAD I, SHALMANI A, ALI M, et al. Mechanisms Regulating the Dynamics of Photosynthesis Under Abiotic Stresses[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 11: 615942.
- [40] 黄鸿, 屈燕, 侯祯丹, 等. 低温胁迫对3种绿绒蒿幼苗叶绿素荧光特性的影响[J]. 西南农业学报, 2020, 33(07): 1474-1479.
- [41] XIA Q, TANG H, FU L, et al. Determination of F(v)/F(m) from Chlorophyll a Fluorescence without Dark Adaptation by an LSSVM Model[J]. Plant Phenomics, 2023, 5: 0034.
- [42] WANG Y, SAMARINA L, MALLANO A I, et al. Recent Progress and Perspectives on Physiological and Molecular Mechanisms Underlying Cold Tolerance of Tea Plants[J]. Front Plant Sci, 2023, 14: 1145609.



园林史书推荐

《中国近现代园林史》

古典园林是中国传统文化的重要遗产之一，在延续千余年后因辛亥革命推翻封建帝制而进入近现代时期。百余年来陆续引入的西方园林理论与中国传统园林交流、碰撞，衍生出丰富多彩的景观实践，尤其是在改革开放以来，中国经济进入快速发展的轨道，城市建设、城市公共园林建设都取得了令世人瞩目的成就，因此，对于这段时期园林发展历史的回顾极为必要。然而，现代园林发展历程的研究只是散见于一些零星的文献中，缺少系统的整理与阐述，《中国近现代园林史》的出版填补了这一空白。

《中国近现代园林史》于2022年由中国林业出版社出版。全书近70万字，按照民国时期、中华人民共和国成立初期、20世纪五六十年代、20世纪80年代、世纪之交这几个重要的历史发展阶段，展示了中国近现代园林史的清晰脉络。分列8章：第一章，简述中国城市发展及古典园林历史；第二章，着重阐述民国时期的庭园和城市公园，列举主要造园家及其作品；第三章，讲述中华人民共和国成立初期江南私家园林修复，园林的重要事件及影响；第四、五章，主要叙述不同年代主要园林学家及重要作品；第六章，展示改革开放后园林设计进入多元化时代的情景；第七章，总结世纪之交园林景观设计理论与实践；第八章，主要记述植物园和园林植物配置设计等。书中对《园冶》研究的回顾，对中国古典园林史学重要著作的评述，以及对园林学科争论等都有独到的见解，使读者能较为全面地了解我国近现代园林发展的全过程。刘滨谊和俞孔坚两位园林学家为该书作序，刘教授称“这是对中国近现代园林发展回顾的一部巨著……，通读全书以史为鉴，对于今天还在苦苦思索中国风景园林事业的我，恰有‘众里寻他千百度，蓦然回首……’之感”；俞教授指出“他把中国的园林史延展到了当代，填补了中国奇缺的当代园林评论的空白……除了为学科本身的发展梳理历史总结理论以外，对园林学科的普及推广必有裨益……”。

作者吴泽民为安徽农业大学林学与园林学院教授、博士生导师，获国务院特殊津贴，主要从事树木学、城市林业、景观生态及园林史教学与研究。主编全国高等农林院校“十一五”规划教材《园林树木栽培学》，著《城市景观中的树木与森林—结构、格局与生态功能》《欧美经典园林景观艺术（近现代史纲）》等。吴教授用了6年多的时间，在大量梳理文献资料和相关记录的基础上，甄选出我国近百年以来具有重要影响的园林作品、园林理论、园林著作，以及设计师和园林学家，结合我国园林事业发展进程中的重大事件，客观、真实地反映中国近现代园林的发展历史。吴教授文笔简明，以讲故事的形式将人和事结合起来，不仅展示园林作品，更书写其背后的故事，还着力挖掘几近遗忘的陈年旧事，既不失专业性、学术性，又通俗易懂、雅俗共赏，可为专业人士、学生和广大园林爱好者阅读和参考。