

研究简报

满江红和蕨状满江红的耐热性及耐寒性 与固氮的关系*

陈立明** 莫熙穆 程双奇

(华南师范大学生物系, 广州)

孙 谷 瞬

(中国科学院华南植物研究所, 广州)

RELATIONSHIP BETWEEN HEAT TOLERANCE, CHILLING TOLERANCE AND NITROGEN FIXATION OF AZOLLA IMBRICATA AND A. FILICULOIDES

Chen Liming, Mo Ximu and Cheng Shuangqi

(Department of Biology, South China Normal University, Guangzhou)

Sun Guchou

(South China Institute of Botany, Academia Sinica, Guangzhou)

关键词 满江红和蕨状满江红; 固氮; 放氢; 叶绿素 a 荧光; 耐热性; 耐寒性

Key words *Azolla imbricata* and *A. filiculoides*, Nitrogen fixation, Hydrogen evolution, Chlorophyll a fluorescence, Heat tolerance, Chilling tolerance

红萍是一种优良的稻田绿肥和农家饲料, 在我国及越南养殖和利用红萍有着悠久的历史。生产实践中观察到, 在我国南方地区, 蕨状满江红冬春繁殖快, 产量高, 但进入五月中旬以后生长锐减, 不耐热, 在晚稻田难以利用。施定基等^[1]曾观察到, 在室外水池中养殖, 如果覆盖一层塑料薄膜和一层厚草帘, 蕨状满江红能越冬, 但满江红则被冻死。利卓棠等^[2]把蕨状满江红和满江红放在-5℃下处理96小时, 满江红的芽全部死亡, 而蕨状满江红的芽能存活96.8%。由此可见, 蕨状满江红的耐热性较满江红低, 但有较强耐寒性。有关这两种红萍耐热性、耐寒性与固氮、放氢的关系及抗性机理的报道尚少。本文比较了满江红和

蕨状满江红的耐热性和耐寒性与固氮、放氢的关系, 并以叶绿素a荧光最大增高为指标测试其耐热性和耐寒性, 以供萍种选择和为阐明红萍的越冬和越夏及不同地区养殖提供理论上根据。

材料与方法

材料 满江红 (*A. imbricata*) 由广东省农科院土肥所提供。蕨状满江红 (*Azolla filiculoides*) 用浙江省温州地区提供的孢子果繁殖。

* 国家自然科学基金资助的课题。

** 现在工作单位广东省微生物研究所。
1988年2月4日收到。

处理 将满江红和蕨状满江红样品放在不同温度的水中浸 10 分钟测其耐热性。把上述两种样品置 4 800lx 光强下温度为 1 °C 的培养箱低温处理 24 和 48 小时(低温处理 24 小时者, 即将样品放在 4 800lx 光强下温度为 28 °C 的培养箱培养 24 小时, 然后置 1 °C 培养箱在相同光强下培养 24 小时。对照样品在 4 800lx 光强下 28 °C 的培养箱培养 48 小时)测其耐寒性。

乙炔还原和放氢测定 分别取少许样品放入 25 毫升的血清瓶中, 使其铺成一层瓶底, 加入原培养液, 保留 10 毫升空瓶体积, 在空气气相中加入 15% (v/v) C_2H_2 , 置于 4 500lx 光强下, 在 28 °C 孵育 30 分钟和 3 小时, 用气相层析法分别测定乙烯含量和氢的含量。

叶绿素 a 荧光 F_R 值测定 满江红和蕨状满江红萍体铺放在有湿润滤纸的铝板上, 盖上保鲜塑料膜以保持合适的空气湿度, 在暗处适应 1 小时后, 用 SF-10 型荧光计 (Richard Brancker Research, Ottawa, Canada) 测定, 所用光量子流通量为 $15 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 红光, 在暗室下测定叶绿素 a 荧光。 F_R 表示叶绿素 a 荧光上升最大值。

结 果

1. 高温对固氮能力的影响

满江红和蕨状满江红分别经 25 °C、35 °C、40 °C、45 °C、50 °C 预处理 10 分钟后, 其乙炔还原和放氢活性变化如下: 在温度为 35 °C 时, 蕨状满江红的放氢活性相当于对照 25 °C 时的 78%, 乙炔还原活性并无变化, 而满江红的乙炔还原和放氢活性均未发生变化。当温度增高至 40 °C, 两种红萍的乙炔还原和放氢活性都有明显的下降, 其中以蕨状满江红为显著, 在 40 °C 仅保持原有活性的 15% 和 35%, 而满江红则维持活性的 68% 和 62%。当温度增高至 45 °C, 蕨状满江红仅保持原有乙炔还原和放氢活性的 4% 和 14%, 而满江红仍保持 9% 和 15%。当温度升至 50 °C, 两种红萍的固氮和放氢活性都接近零。

2. 高温对叶绿素 a 荧光 F_R 值的影响

经高温预处理后, 满江红和蕨状满江红的叶绿素 a 荧光 F_R 的变化如图 1。当温度从 27 °C 增高至 45 °C, 蕨状满江红的叶绿素 a 荧光下降至对照的 27%, 而满江红仍维持在对照的 40% 左右。若以保持 F_R 为对照的 50% 为标准, 满江红可以忍受 40 °C 以上的高温, 而蕨状满江红仅能忍

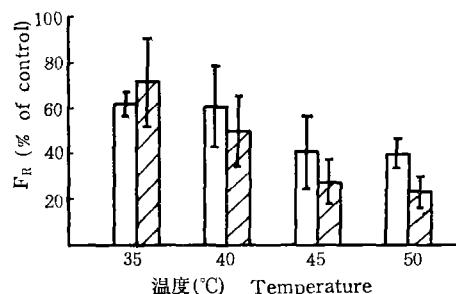


图 1 不同温度预处理 (10 分钟) 对满江红和蕨状满江红的叶绿素 a 荧光 F_R 的影响 (27 °C 时为对照)

Fig. 1 The effects of the pre-treatment (10 min) in different temperature on F_R of chlorophyll a fluorescence in *A. imbricata* and *A. filiculoides* (under 27 °C as control)

1. *A. imbricata* □
2. *A. filiculoides* ▨

受低于 40 °C 的温度, 满江红表现较强的耐热性。

3. 低温对固氮能力的影响

经不同时间的低温预处理, 满江红和蕨状满江红的乙炔还原和放氢活性均有明显变化。低温 (1 °C) 下预处理 24 小时, 满江红的乙炔还原和放

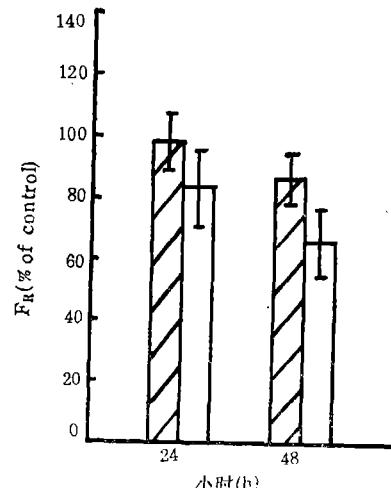


图 2 低温 (1 °C) 预处理满江红和蕨状满江红叶绿素 a 荧光 F_R 的变化 (28 °C 时为对照)

Fig. 2 The changes of the value of F_R of chlorophyll a fluorescence in *A. imbricata* and *A. filiculoides* treated with chilling temperature (1 °C) (under 28 °C as control)

1. *A. filiculoides* ▨
2. *A. imbricata* □

氢活性几乎完全丧失，而蕨状满江红仍能分别保持原有乙炔还原和放氢活性的 34.3% 和 51.6%。低温下预处理 48 小时，蕨状满江红仍保持原有乙炔还原活性的 1%。这些结果表明了蕨状满江红具有较强的耐寒性。

4. 低温对叶绿素 a 荧光 F_R 的影响

图 2 表明低温对叶绿素 a 荧光 F_R 的影响。在低温下预处理 24 小时，满江红的叶绿素 a 荧光 F_R 下降比蕨状满江红快，预处理时间延长至 48 小时，满江红的 F_R 降低更为明显。

讨 论

从实验结果可知，耐热性较强的满江红，较高的温度对其固氮能力及叶绿素 a 荧光的影响较耐热性较弱的蕨状满江红小。低温对耐寒性较强的蕨状满江红的固氮能力和叶绿素 a 荧光的影响较耐寒性较弱的满江红的小。这说明了满江红和蕨状满江红的耐热性和耐寒性与固氮能力之间存在一定的关系。萍体的耐热性较强，较高温度对其固氮能力的影响就较小；萍体的耐寒性较强，低温对固氮能力的影响也就较小。红萍是一种蕨和鱼腥藻的共生体，萍体的固氮和氢代谢的活性可能与蕨体和鱼腥藻的光合作用有关。叶绿素 a 荧光 F_R 反映光系统光化活性和电子在 PSII 上传递的能力^[5]，高温或低温处理后，叶绿素 a 荧光 F_R 下降，就说明高温或低温引起光系统的光活性降低，可能这种变化将使光合作用过程降低，减少光合产物的积累，从而间接地影响共生体中鱼腥藻的固氮和放氢作用。当 35℃ 预处理 10 分钟后，两种红萍的叶绿素 a 荧光 F_R 明显下降，可能表明红萍的蕨体或鱼腥藻的光系统对于较高温度的反应较为敏感，但乙炔还原活性则没有明显变化，可能表明在短期内，共生体内鱼腥藻仍能利用体内积存的还原势和 ATP。当温度超过 35℃，如

40℃、45℃、50℃ 预处理 10 分钟，可能由于温度比较高，蕨体和鱼腥藻光系统的完整性受破坏，固氮和放氢的酶系统也受影响，因而固氮和放氢活性就随着迅速下降。至于在 35℃ 预处理 10 分钟后，蕨状满江红的乙炔还原活性没有影响而放氢活性却明显下降，尚有待进一步的研究。Smillie 等^[5, 6] 和 Hetherington 等^[4] 通过对马铃薯和玉米等进行试验，认为利用叶绿素 a 荧光测定植物的耐热性和耐寒性， F_R 下降越大，植物的抗逆性就越小。孙谷畴^[1] 曾经利用叶绿素 a 荧光测定了满江红鱼腥藻的相对耐热性。本实验在红萍中证实叶绿素 a 荧光 F_R 的变化可作为红萍耐热性和耐寒性的指标。

参 考 文 献

- [1] 孙谷畴, 1987. 满江红鱼腥藻的相对耐热性。武汉植物学研究, 5(3): 253—256。
- [2] 利卓桑、祖守先、毛美飞、Lumpkin, T. A., 1982。八个绿萍种在农业上的利用研究 I. 八个绿萍种的农业利用性质的研究。中国农业科学, (1): 19—27。
- [3] 施定基、汤佩松, 1984。光合、固氮和氢代谢在满江红——鱼腥藻共生体中的整合。光合作用研究进展, 第三集: 273—293。科学出版社。
- [4] Hetherington, S. E., Smillie, R. M., Malagamba, P. and Huaman, Z., 1983. Heat tolerance and cold tolerance of cultivated potatoes measured by the chlorophyll-fluorescence method. *Planta*, 159: 119—124.
- [5] Smillie, R. M., and Gibbons, G. C., 1981. Heat tolerance and heat hardening in crop plants measured by chlorophyll fluorescence. *Carlsberg Res. Commun.*, 46: 395—405.
- [6] Smillie, R. M., Hetherington, S. E. Ochoa, C. and Malagamba, P., 1983. Tolerances of wild potato species from different altitudes to cold and heat. *Planta*, 159: 279—289.