



不同地理种群羊草在聚乙二醇胁迫下含水量和游离脯氨酸含量的比较

任文伟, 钱吉, 马骏, 郑师章

(复旦大学环境与资源生物学系生物多样性研究所, 上海 200433)

摘要:将1994年从内蒙古不同地区和吉林采集到的羊草(*Leymus chinensis*)种子进行栽培试验, 分析了5个样点(阿旗、定位站、西乌旗、谢尔塔拉、吉林)的羊草在不同浓度聚乙二醇(PEG=0%、15%、30%)的胁迫下, 及不同胁迫时间(12h、24h、36h)条件下, 叶片游离脯氨酸和水分的含量。通过聚类分析表明: 不同地理种群的羊草按水分胁迫后游离脯氨酸含量和水分含量都可划分成3类, 而且所得的结果基本相似。结果还证明, 抗旱性强的样品游离脯氨酸积累时间长, 维持积累量大; 羊草的抗旱性与脯氨酸积累特性与其生境有相当的联系。

关键词: 羊草; 地理种群; 聚乙二醇; 游离脯氨酸; 含水量

Comparative study of *Leymus chinensis*'s water content and free proline of different geographic populations under the force of different consistency PEG

REN Wen-Wei, QIAN Ji, MA Jun, ZHENG Shi-Zhang (Department of Environment and Resource Biology, Institute of Biodiversity Science, Fudan University, Shanghai 200433, China)

Abstract: we studied different geographic population's *Leymus chinensis*, Which came from the seeds we got from different typical steppes of the Inner Mongolian Plateau. we selected the *Leymus chinensis* of five sampling point, analyses the free proline and water content of the leaf under the force of different consistency PEG (0%, 15% and 30%) and different force time (12 h, 24h and 36h) Using UPGMA analysis, we found that the five geographic population could be divided into three groups according to the changes of the free proline and water content of the leaf, which was consistent to their natural habitats. It was detected that the free proline of the strong drought resistance sample accumulated for a long time and maintained a large accumulation. The drought resistance of the *Leymus chinensis* was connected to a certain extent with the proline accumulation property and the habitat.

Key words: *Leymus chinensis*; different geographic population; PEG; free proline; water content

文章编号: 1000-0933(2000)02-0349-04 中图分类号: Q145.1 文献标识码: A

羊草(*Leymus chinensis*), 一种多年生根茎禾草, 是广幅旱生草原建群种, 盐生草甸的优势种^[1], 同时也是一种优良的牧草。广泛分布于我国东北, 内蒙古和新疆等地, 通过对内蒙古不同类型草原的实地调查和研究以及大量文献报道, 表明: 水因子是众多生态因子中影响羊草生长发育的一个关键因子和限制因子^[2~7]。

植物体内游离脯氨酸的积累现象最初是由 Kemble 和 Macpherson 在受水分胁迫的黑麦草的叶子中发现的。后来在许多植物中也观察到同样的情形^[8~10]; 并且有越来越多的实验证明, 水分胁迫下植物体内游离脯氨酸的积累是个普遍现象。脯氨酸积累主要发生在植株的叶片和茎内, 根部的脯氨酸是从叶和茎运输过去的。植物在水分胁迫下脯氨酸含量的变化十分敏感且变化幅度大; 而且在一定的外界渗透势或植物水

势范围内,随时间的延长脯氨酸含量可逐步稳定或有所下降,据推测可能与植物对逆境条件的适应及在适应后对脯氨酸的再利用有关^[11]。马宗仁等认为抗旱性强的品种维持积累量大,维持积累时间长;脯氨酸的积累进程有两个明显的临界值,即脯氨酸积累初始临界值和脯氨酸积累显著临界值。这两个值与气孔运动过程同步。所以脯氨酸积累速度和数量决定了植物对于干旱胁迫的调控适应性^[12,13]。但是,丁文江等则与上述观点有不同意见,认为抗旱性强的牧草其受胁迫后脯氨酸含量少,反之脯氨酸含量多^[14,15]。Hanson 等人也认为,抗旱能力弱的品种脯氨酸积累速度快于抗旱能力强的品种。

本实验通过不同浓度的聚乙二醇(PEG)浸泡羊草根部分,模拟不同程度的水分胁迫,测定羊草叶中游离脯氨酸含量及失水程度,以研究不同地理种群羊草抗旱能力的差异。

1 材料与方法

1.1 实验材料 不同种源的羊草采自于内蒙古和吉林的不同地区:阿旗/aq(阿巴嘎旗)、定位站/dwz(中国科学院草原定位站)、西乌旗/xwq(西乌珠穆沁旗)、谢尔塔拉/xetl(海拉尔市谢尔塔拉风景区)、吉林/jl(吉林省长岭县腰井子羊草草原自然保护区)(以下均用简称)。这些地区水分,温度及土壤等生态因子有明显差别。本实验所取的 5 个样点的生境资料见表 1。

表 1 几个主要考察地点的生境资料

Table 1 The data of environment in the main investigated plot

样点 Sample	纬度(°N) Latitude	经度(°E) Longitude	海拔(m) Altitude	≥10℃的积温 Total temperature	年降水(ml) Annual per- cipitation	湿润系数 Moisture coefficient	土壤类型 Soil type
阿旗 Aqi	44.0	115.0	1100~1300	2000	200~250	0.13	栗钙土 ^①
定位站 Dingweizhan	43.6	116.7	1000~1300	2200	350	0.3	典型栗钙土 ^②
西乌旗 Xiwuqi	44.6	17.6	1000~1300	2000	300~350	0.3	暗栗钙土 ^③
谢尔塔拉 Xieertala	50.5	120.2	700~800	1700	350~400	0.6~0.9	黑钙土 ^④
吉林 Jilin	44.6	122	500	2545~3374	313—581	0.8	盐碱地 ^⑤

①Chestnut soil,②Typical chestnut soil,③Dark chestnut soil,④Chernozem,⑤Saline-Alkali soil.

1.2 实验方法

1.2.1 水分胁迫 取各个地理种群羊草植株,小心洗去根部土壤,尽量勿损伤根系。分成 3 份,分别置于 0%PEG、15%PEG 和 30%PEG(质量百分比)的烧杯内,室温,柔和光线下胁迫处理。

1.2.2 叶片含水量测定 分别胁迫 12h、24h、36h 后,每个样点均剪取 2~3 片叶,用分析天平精确称重,尔后于 60℃烘箱中烘干,取出再精确称重。之后进行含水量的计算(重复 3 次,取平均值)。

1.2.3 叶片脯氨酸含量测定 分别胁迫 12h、24h、36h 后,称取 3~5g 各样点羊草的叶片。进行脯氨酸含量测定(重复 3 次,取平均值),测定方法采用茆三酮染色法^[16],并参照欧仕益等的方法进行了改进^[17]。

1.3 数据处理 聚类分析采用胡嘉琪等开发的可在 IBM-PC 及其兼容机上使用的“数值分类软件”(NTS)^[18],用不加权的组平均方法(GROUP)对 5 个样点的羊草进行聚类分析(UPGMA)。

2 实验结果

通过以上测定得到不同地理种群羊草在 PEG 胁迫下含水量和游离脯氨酸含量的数据,并计算出含水量和游离脯氨酸随着 PEG 浓度及胁迫时间的增加而随之产生的增量(结果见表 2、3)。

对各样点间草在不同 PEG 浓度胁迫下,其叶片含水量和游离脯氨酸含量以及它们浓度、时间差量进行聚类分析。首先对数据进行中心化(Centralization),然后求出它们的欧氏距离(Euclidean)相似系数,最后用不加权组平均法(UPGMA)对数据进行聚类,得到羊草含水量及增量聚类树状图和羊草游离脯氨酸含量及增量聚类图(见图 1、图 2)。

3 讨论分析

从含水量聚类分析图和游离脯氨酸含量的聚类分析图中可以发现:这两组数据聚类的结果基本一致。即在水分胁迫情况下,随着胁迫浓度和胁迫时间的变化,羊草叶片的水分含量和游离脯氨酸含量的变化基本成正相关。万方数据

两者的聚类都可以把不同地理种群羊草分成 3 大类,即:定位站、西乌旗一类;谢尔塔拉为一类;剩下

的阿旗、吉林为一类。其中,在两张树状图上阿旗和吉林的位置稍有变动。结合这些羊草的各自生境进行分析,发现定位站和西乌旗同属于典型草原,经纬度、海拔高度、土壤湿润系数等都比较接近,且在考察样点中这两者的距离是最接近的,故聚类结果是在一起的,是属于比较抗旱的一类;而谢尔塔拉羊草的生境是在内蒙古最东面,与内蒙古的其它样点相比,其经度偏东,纬度偏北、年降水量、土壤湿润系数较大,特别是生长在一个四面环水的小岛上,故单独聚在一起,属于不耐旱的一类;至于吉林、阿旗的羊草就比较复杂,因为吉林羊草生长在吉林的盐碱地上,影响其的环境因子相对较多,其自身的结构生理较复杂,而阿旗羊草按理说是生长在干旱荒漠草原,但是在采集种子时,由于野外羊草普遍抽穗较少,难以采集,故是在阿旗牧民家的围栏里采集到的,但由于该羊草的各方面性状和阿旗野外羊草相比都比较特别,所以该羊草有可能是由牧民引种而来,不能代表阿旗野生种。该羊草的种源不明造成其原生境的各种环境因子不得而知。所以阿旗、吉林聚为一类,表明这两个地理种群的情况比较复杂,更具体的情况,有待于进一步研究。

表 2 不同地理种群羊草在 PEG 胁迫下含水量及增量(%)
Table 2 The table of water content and its change of different geographic populations of *Leymus chinensis's* under force of different PEG

样点 Sample	PEG 浓度(%) Consistency of PEG	12h	浓度增量 Change with consistency	24h	浓度增量 Change with consistency	时间增量 Change with time	36h	浓度增量 Change with consistency	时间增量 Change with time
阿旗	0	67.1477		71.7237		4.57594	73.0535		1.32985
	15	65.7835	-1.3642	66.1593	-5.5643	0.37579	67.6681	-5.3854	1.50876
	30	35.488	-30.296	49.7222	-16.437	14.2343	37.8871	-29.781	-11.835
定位站	0	72.9957		76.3859		3.39025	78.0211		1.63518
	15	62.5671	-10.429	45.5976	30.788	-16.97	59.5894	-18.432	13.9919
	30	62.2544	-0.3128	46.9929	1.39536	-15.261	35.6596	-23.93	-11.333
西乌旗	0	73.3606		75.9868		2.62623	73.1228		-2.864
	15	62.2006	-11.16	55.849	-20.138	-6.3516	55.978	-17.145	0.12898
	30	63.5915	1.39092	59.8445	3.99547	-3.747	44.1063	-11.872	-15.738
谢尔塔拉	0	73.0631		76.6586		3.59554	71.633		-5.0256
	15	63.9173	-9.1458	65.5944	-11.064	1.67712	21.6974	-49.936	-43.897
	30	46.9066	-17.011	47.5304	-18.064	0.62377	27.8757	6.17839	-19.655
吉林	0	70.9545		75.0978		4.14332	70.1351		-4.9627
	15	68.5783	-2.3762	30.69	-44.408	-37.888	42.9656	-27.17	12.2756
	30	69.1346	0.55625	67.4395	36.7495	-1.6951	52.1745	9.20899	-15.265

表 3 不同地理种群羊草在 PEG 胁迫下脯氨酸含量及增量
Table 3 The table of free proline content and its change of different geographic populations of *Leymus chinensis's* under force of different PEG

样点 Sample	PEG 浓度(%) Consistency of PEG	12h	浓度增量 Change with consistency	24h	浓度增量 Change with consistency	时间增量 Change with time	36h	浓度增量 Change with consistency	时间增量 Change with time
阿旗	0	587.756		2897.9		2310.14	2631.05		-266.843
	15	1413.71	825.954	6201.88	3303.98	4788.17	8044.1	5413.05	1842.23
	30	961.285	-452.425	5428.87	-773.006	4467.59	5325.12	-2718.99	-103.753
定位站	0	198.825		4399.84		4201.02	4558.64		158.803
	15	596.018	397.194	1806.18	-2593.66	1210.16	2383.6	-2175.04	577.427
	30	1670.65	1074.63	5424.92	3618.75	3754.27	4795.74	2412.14	-629.179
西乌旗	0	442.125		909.225		467.1	303.301		-605.924
	15	235.463	-206.662	2002.35	1093.13	1766.89	1338.8	1035.5	-663.554
	30	1031.86	796.396	2401.36	399.007	1369.5	4236.89	2898.09	1835.53
谢尔塔拉	0	159.474		1178.24		1018.76	828.648		-349.588
	15	450.389	290.914	3739.33	2561.1	3288.95	2622.4	1793.75	-1116.93
	30	7816.11	7365.72	2093.7	-1645.63	-5722.41	5943.15	3320.75	3849.45
吉林	0	85.0604		867.433		782.373	741.257		-126.176
	15	955.641	870.58	2830.69	1963.26	1875.05	3258.46	2517.2	427.763
	30	1016.73	4103.08	7617.37	4786.65	2558.68	4404.59	1146.13	-3212.78

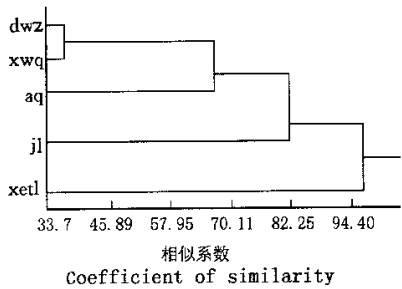
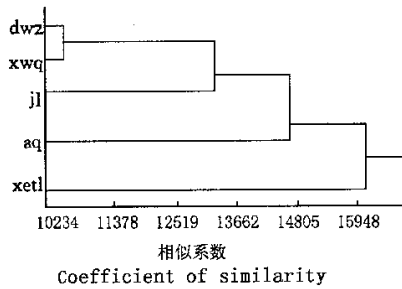


图1 羊草含水量及增量聚类树状图

Fig. 1 The map of group agglomerative classification of water content and its change of *Leymus chinensis*



羊草游离脯氨酸含量及增量聚类树状图

Fig. 2 The map of group agglomerative classification of free proline and its change of *Leymus chinensis*

总之,含水量聚类分析和游离脯氨酸含量的聚类分析得出的结果基本一致,和马宗仁等的观点比较一致。近年来通过提高植物体内游离脯氨酸含量以增强植物抗逆性以及改变营养品质的研究已有许多报道。中国科学院植物所陈晖等在离体培养条件下,用脯氨酸类似物羟脯氨酸(HYP)作选择压力,筛选出羊草抗HYP细胞变异系,其体内游离脯氨酸含量比供体提高6.6倍,且抗NaCl、PEG及低温的能力也较供体增强^[19]。这与本文的观点较为一致。

参考文献

[1] 刘书润,等. 内蒙古锡林河流域植物区纲要. 草原生态系统研究,1988,(3):261.

[2] 任文伟,郑师章. 内蒙古高原不同生境下羊草性状的比较研究. 生态学杂志,1996,15(2):60~63.

[3] 白永飞,等. 羊草草原群落生物量季节动态研究. 中国草地,1994,(3):1~5.

[4] 李月树. 羊草群落地上部生产量的动态与降水、气温的关系. 东北师范大学学报(自然科学版),1983,(4):19~22.

[5] 赵喜印,等. 气象因素对羊草草场生产力的影响. 中国草地,1993,(6):26~29.

[6] 刘庚长. 试论羊草草原的生态积累. 东北师范大学学报(自然科学版),1982,(4):87~93.

[7] 游直方. 降水量与牧草产量的关系. 内蒙古气象,1981,(5).

[8] Barker D J Sullivan C Y & Moser L E. Water deficit effects on osmotic potential, cell wall elasticity, and proline in five forage grasses. *Agronomy Journal*, 1993, 85: 270~275.

[9] Handa S, Handa A K Hasegawa, P M. *et al.*, Proline accumulation and the adaptation of cultured plant cells to water stress. *Plant physiology*, 1986, 80: 938~945.

[10] Stewart C R & Hanson A D. Proline accumulation as a metabolic response to water stress. In: N. C. Tumer & P. J. Kramer (eds). *Adaption of Plants to Water and High Temperature Stress*. John Wiley & Sons, Inc, 1980, 173~189.

[11] 章 城,等. 逆境条件下植物脯氨酸的积累及其可能的意义. 植物生理学通讯, 1984(1):15~21.

[12] 马宗仁,等. 短芒披碱草和老芒披碱草在水分胁迫下游离脯氨酸积累的研究 I. 中国草地, 1991,(4):12~16.

[13] 马宗仁,等. 短芒披碱草和老芒披碱草在水分胁迫下游离脯氨酸积累的研究 II. 中国草地, 1992,(2):23~28.

[14] 丁文江,海淑珍,徐 柱,等. 牧草种质资源抗旱性鉴定方法的初步研究. 草业科学, 1991,(2):57~60.

[15] 丁文江,海淑珍,蒋尤泉. 七种禾本科牧草耐旱性状的研究. 草业科学, 1991,(5):41~43.

[16] 朱广廉,邓兴旺,左卫能. 植物生理学通讯, 1983,(1):35.

[17] 欧仕益,董任瑞,孙福增. 植物生理学通讯, 1988,(4):45.

[18] 胡嘉琪,等. 一个微机通用的数值分类(聚类 and 排序)系统及其应用. 植物生态学与地植物学学报, 1989, 1(2):180~193.

[19] 陈 晖. 羊草抗脯氨酸细胞变异系的筛选及其特性分析. 植物学报, 1995, 37(2):103~108.