

低温处理下不同禾本科牧草的生理变化 及其抗寒性比较

李轶冰^{1,2}, 杨顺强³, 任广鑫^{1,2,*}, 冯永忠^{1,2}, 张 强^{1,2}, 李 鹏^{1,2}

(1. 西北农林科技大学农学院, 2. 陕西省循环农业工程技术研究中心, 陕西杨凌 712100;

3. 昭通师范高等专科学校化学系, 云南昭通 657000)

摘要: 研究牧草根系抗寒性的动态变化, 对寒冷地区的牧草引种筛选意义重大。试验以美国引进的禾本科牧草高山早熟禾 (*Poa Aalpine*)、俄罗斯野麦 (*Elymus junceus*)、无芒冰草 (*Agropyron inerme*)、爱达荷冰草 (*Agropyron inerme*) (品种名 Secar) 和爱达荷冰草 (*Agropyron inerme*) (品种名 Goldar) 为研究材料, 人工控温进行低温抗寒锻炼、冷冻处理和解冻恢复生长, 测定每一阶段下根系中 MDA、可溶性蛋白质、可溶性糖和脯氨酸的含量及 SOD 活性。结果表明, MDA 含量在抗寒锻炼后略有增加, 随后维持基本稳定; SOD 活性在抗寒锻炼后升高, 冷冻处理后显著降低; 返青后又显著升高 ($P < 0.05$); 可溶性蛋白质、可溶性糖和脯氨酸含量在抗寒锻炼和冷冻处理后升高, 返青后降低; 其中, SOD 活性、可溶性糖和脯氨酸的含量随处理不同变幅较大, MDA 和可溶性蛋白质的含量随处理不同变幅较小。运用 Fuzzy 数学中隶属函数法进行抗寒性综合评判, 得出抗寒性强弱顺序为: 高山早熟禾 > 俄罗斯野麦 > 爱达荷冰草 (Secar) > 无芒冰草 > 爱达荷冰草 (Goldar)。

关键词: 禾本科牧草; 抗寒性; SOD 活性; 可溶性糖; 脯氨酸

文章编号: 1000-0933 (2009) 03-1341-07 中图分类号: Q945.79, S688.4 文献标识码: A

Changes analysis in physiological properties of several gramineous grass species and cold-resistance comparison on under cold stress

LI Yi-Bing^{1,2}, YANG Shun-Qiang³, REN Guang-Xin^{1,2,*}, FENG Yong-Zhong^{1,2}, ZHANG Qiang^{1,2}, LI Peng^{1,2}

1 College of Agronomy, Northwest A & F University, Yangling, Shanxi 712100, China

2 The Research Center for Recycling Agricultural Engineering Technology of Shaanxi Province,

3 Chemistry Department, Zhao-tong Techer's College, Zhaotong, Yunnan 657000, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(3): 1341 ~ 1347.

Abstract: Research on the dynamic variation of cold resistance in forage's root system has great importance for forage introduction and screening, especially in cold areas. Using *Poa Aalpine*, *Elymus junceus*, *Agropyron inerme*, *Agropyron inerme* (Secar) and *Agropyron inerme* (Goldar) as experimental materials, the dynamic variation of MDA, SOD, soluble sugar and protein in the of different grass species were investigated in different growth phases treatments of cold acclimation, freezing treatment, thawing and recovering growth under controlled temperature condition. The results indicated that for all the materials, the content of MDA increased a little in cold acclimation treatment and then maintained basically stable; The activity of SOD increased in cold acclimation treatment and decreased dramatically under freezing treatment, then after thawing, it increased again in recovering treatment and the increase was significant; The content of soluble sugar, protein and proline showed the same tendency of increasing in acclimation and freezing treatments, and decreasing in turning green treatments. Furthermore, unlike SOD activity, soluble sugar content and proline content, the variation of MDA content and soluble protein content are not significant under different treatments. At last, by using fuzzy mathematics method, the cold resistance ability of those gramineous grass species tested was evaluated as *Poa Aalpine* > *Elymus junceus* > *Agropyron inerme*

基金项目: 国家农业部 948 资助项目 (2005-Z38); 西北农林科技大学人才基金资助项目 (01140512); 国家林业局 948 资助项目 (2006-4-11)

收稿日期: 2007-10-16; **修订日期:** 2008-06-17

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: rengx@nwsuaf.edu.cn

(Secar) > *Agropyron inerme* > *Agropyron inerme* (Goldar)。

Key Words: forage grass; cold resistance; SOD activity; soluble sugar; proline

温度是影响植被分布的主要生态因子之一,区域植被类型和分布格局是长期对温度和热量环境适应的结果。植物种质资源的引进,需要考虑对引进地温度和热量因子的适应。我国北方地区和广大山区冬季严寒且持续时间长,引进筛选一些抗寒性强,适宜该区域种植的牧草种质资源,对该区域的畜牧业发展、产业结构调整和保护生态环境具有重要意义。

大量研究表明,低温胁迫下牧草可积累更多的可溶性糖、可溶性蛋白质^[1]、脯氨酸^[2]等。这些物质的大量积累可降低组织和细胞的冰点温度,使细胞水合度增大,保水能力增强,避免原生质在低温下的脱水伤害;也是越冬植物的重要能量和更新芽的萌动力,与牧草抗寒性密切相关^[3]。植物的抗寒性还与植物体内保护酶系统的活性和膜脂过氧化程度密切相关,保护酶活性高的植物品种对环境反应快,抗氧化能力强,抗寒性也强^[4,5]。大量抗寒性研究只是针对低温锻炼过程^[2,6]、冷冻过程^[7,8]或解冻过程^[1,9]中的某一过程进行研究,而在这三个过程的动态研究相对较少,而三者又是一个密切联系的过程,其中某一过程的抗寒与不抗寒不能完全真实代表植物的抗寒性,为此本试验以 5 个美国引进禾本科牧草为材料,以抗寒锻炼前为对照,对各温度处理阶段下各牧草根系中的 SOD 活性、MDA、可溶性蛋白质、可溶性糖和脯氨酸含量进行了研究,以期更加全面的鉴定各牧草的抗寒性,揭示植物在不同温度胁迫下的适应机制。

1 材料与方法

1.1 试验材料及处理

以美国引进的高山早熟禾(*Poa Aalpine*)、俄罗斯野麦(*Elymus junceus*)、无芒冰草(*Agropyron inerme*)、爱达荷冰草(*Agropyron inerme*) (品种名 Secar)、爱达荷冰草(*Agropyron inerme*) (品种名 Goldar) 5 种禾本科牧草为材料,于 2006 年 11 月 10 日将材料播种于西北农林科技大学北校区标本区试验地里(陕西,杨陵),2007 年 3 月 30 将苗移栽至高 15cm,口径 10cm 的营养钵内,每个草种移栽 12 钵,每钵 6 株,营养钵内装原试验地的表土和育苗基质至 4/5 高度处,其中 $V_{\text{表土}}:V_{\text{育苗基质}} = 3:1$ 。土壤基本理化性质为:pH = 7.175、有机质 6.487g/kg、全氮 0.621g/kg、全钾 22.431g/kg、全磷 1.216g/kg、速效钾 0.110mg/kg、速效磷 16.196mg/kg;育苗基质购于西北农林科技大学新天地设施农业开发有限公司,有机质 $\geq 50\%$ 、腐殖酸 $\geq 20\%$ 、pH = 5.5 ~ 6.5。将营养钵置于 ZPQ-280D 智能气候箱内进行前期培养(白天光照 12300lx,7:00 ~ 19:00,温度 25℃、湿度 60%;夜间无光照,温度 20℃,湿度 75%),从 2007 年 5 月 20 日开始进行抗寒锻炼,依次在 20℃/15℃(白天/夜间)、15℃/10℃、10℃/5℃、5℃/5℃、2℃/2℃ 五个温度梯度下锻炼 24h,此期间光照和湿度条件同前期培养,至此抗寒锻炼结束;随后转入 -10℃ 冰箱内冷冻处理 24h 后,按抗寒锻炼降温的相反顺序依次升温,光照和湿度同前期培养,然后在白天/夜间 25℃/20℃ 下培养 15d 后观察返青苗数。为防止干旱,整个实验过程营养钵中的土壤都保持在田间持水量的水平。分别在抗寒锻炼前(设为对照)、抗寒锻炼后、冷冻处理完 2℃ 解冻 24h 后和白天/夜间 25℃/20℃ 下培养 15d 后取样,每次随机选取 2 盆取样,为保证冷冻处理后所取的样为活体植株的根样,采用 TTC 法对各植株根系活力进行鉴定,以此筛选活植株取样。为便于叙述,将上述草种依次编号为 I、II、III、IV、V。

1.2 测定项目及方法

(1) 酶液的提取 称取 0.2000g 鲜样剪碎,加 0.05mol/L, pH 7.8 的磷酸缓冲液(内含 1% 的 PVP)3.0ml 及少量石英砂,于冰浴中研磨,冲洗定容至 10ml,10000g、4℃ 下离心 15min,上清液即为酶提取液。用于 SOD 活性及 MDA 和可溶性蛋白含量的测定。

(2) 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定 参照高俊凤方法^[10]。酶反应体系依次加入 50mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.8)1.5ml,130mmol/L 甲硫氨酸(Met)0.3ml,750μmol/L 氮蓝四唑(NBT)0.3ml,100μmol/L EDTA-

Na_2O 0.3ml, $100\mu\text{mol/L}$ 核黄素 (VB_2) 0.3ml, 酶液 0.1ml, 蒸馏水 0.5ml, 以缓冲液代替酶液做对照(2组)。混匀后将其中 1 组对照管罩上双层黑纸, 与其它各管同时置于光照培养箱内于 4000lx 日光灯下光化学反应 20min (要求各管照光一致, 反应温度控制在 30°C)。反应结束后黑暗终止反应, 迅速测定 OD_{560} 值。以反应抑制氮蓝四唑(NBT)光氧化还原 50% 的酶量为一个酶活力单位($\text{u}\cdot\text{gFW}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)。

(3) 可溶性蛋白质含量 采用考马斯亮蓝 G-205 染色法测定^[10], 第一步以牛血清蛋白制作标准曲线; 第二步样品测定: 吸取上述酶提取液 0.1ml, 加入 0.9ml 蒸馏水和 5ml 考马斯亮蓝 G-205 试剂, 充分混合, 放置 2min 后在 595nm 下比色, 通过标准曲线查得蛋白质含量。

(4) 丙二醛(MDA)含量和可溶性糖含量 采用硫代巴比妥酸(TBA)比色法测定, 采用双组分分光光度计法可同时测定出可溶性糖的含量^[11]。取上述酶提取液 1.5ml, 加入 2.5ml 0.6% 的 TBA 溶液, 混匀于沸水浴中反应 15min, 迅速冷却后 10000g 、 4°C 下离心 10min, 取上清液测定 450 、 532 和 600nm 下的吸光度。

(5) 脯氨酸含量 用 3% 的磺基水杨酸在沸水浴中提取 15min 后, 用酸性茚三酮法显色, 然后用甲醛萃取, 避光静置 4h 后, 吸取甲苯层在 520nm 波长下测定吸光度^[10]。

1.3 综合评价方法

应用 Fuzzy 数学中隶属函数法^[12,13]进行综合评判, 其计算公式如下:

(1) 与抗寒性呈正相关的参数 SOD、可溶性蛋白质、脯氨酸和可溶性糖采用公式:

$$U(X_{ijk}) = \frac{X_{ijk} - X_{\min}}{X_{\max} - X_{\min}} \quad (1)$$

(2) 与抗寒性呈负相关的参数 MDA 采用公式:

$$U(X_{ijk}) = 1 - \frac{X_{ijk} - X_{\min}}{X_{\max} - X_{\min}} \quad (2)$$

式中, $U(X_{ijk})$ 为第 i 个草种第 j 个温度阶段第 k 项指标的隶属度, 且 $U(X_{ijk}) \in [0, 1]$; X_{ijk} 表示第 i 个草种第 j 个温度阶段第 k 个指标测定值; $X_{\max}$ 、 $X_{\min}$ 为所有参试种中第 k 项指标的最大值和最小值。

1.4 数据处理

所得试验数据用 SAS 统计软件进行数学统计分析, 多重比较采用 Duncan 法^[14]。

2 结果与分析

2.1 返青情况

返青率是指解冻恢复生长 15d 后的返青苗数与冷冻处理时的总苗数的百分比, 它能在一定程度上直观反映各牧草的耐寒能力, 返青率越大, 抗寒性越强, 反之则弱。试验得出各牧草种返青率分别为: I (74.0a) > II (64.9a) > IV (55.6ab) > V (45.4b) > III (41.7b)。

2.2 MDA 含量的变化

为了了解各牧草根系在不同温度处理下的细胞膜完整性, 测定了不同温度处理阶段下根中的 MDA 含量。结果表明(表 1): 仅 I 号草种随处理变化持续增加, 在返青后增加积累到最大含量, 且增幅达显著水平 ($P < 0.05$), 但其含量相对较低, 仅在返青后高于其它草种; 其余各草种 MDA 含量在整个处理过程中基本维持稳定, 变幅均不显著 ($P > 0.05$)。

2.3 SOD 活性的变化

对不同草种根系 SOD 活性测定结果表明(表 2): 抗寒锻炼前, 全部草种根系都有较高的 SOD 活性; 抗寒锻炼后, SOD 活性均有所提高, 其中 I、II、IV 增加显著, III、V 增加不显著; -10°C 冷冻处理后, 各草种根系中 SOD 活性均显著降低, 其中 V 号种仅 $163.366 \text{ u}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{h}^{-1}$, 降幅最大; $20 \sim 25^\circ\text{C}$ 培养 15d 后, SOD 活性除 III 增加不显著外, 其余增加均达显著水平 ($P < 0.05$)。

2.4 可溶性蛋白质含量变化

不同处理下各草种根系中可溶性蛋白质含量的变化因种而异(表 3)。抗寒锻炼前各草种根系中可溶性

蛋白质的含量大致相近;抗寒锻炼后, I、Ⅲ、V 略有增加,但增幅不显著, II、IV 增幅显著 ($P < 0.05$);冷冻处理后,仅 I 增幅显著, II、IV 降幅显著, Ⅲ、V 变化不显著;解冻恢复生长 15d 后,除Ⅲ略有增加外,其余均降低,但仅 I 降幅显著,其中Ⅲ、V 在整个过程中变化平缓,变化差异均不显著 ($P > 0.05$)。

表 1 不同处理对 MDA 含量的影响

Table 1 MDA content under different treatments

草种 Grass species	MDA (mmol·gFW ⁻¹)			
	对照 Control	抗寒锻炼 Cold hardening	冷冻处理 Cold treatment	返青 Turning green
I	2.575c ± 0.307	3.631bc ± 0.224	5.592b ± 0.608	8.654a ± 0.280
II	5.306a ± 0.107	6.938a ± 0.007	6.973a ± 0.625	6.661a ± 0.358
Ⅲ	5.592a ± 0.185	7.017a ± 0.199	6.525a ± 0.310	7.282a ± 0.205
IV	4.126a ± 0.185	5.988a ± 0.053	6.157a ± 0.199	6.100a ± 0.608
V	5.771a ± 0.254	6.306a ± 0.042	6.755a ± 0.211	6.325a ± 0.315

以上均表示平均值 ± 标准差;同一行数据间字母相同者表示差异不显著 ($P = 0.05$),表 2、3、4、5 与此相同 The data in the table are the average value ± standard division; Difference between data in each row followed by the same letter is not significant at $P = 0.05$ level, it was the same as in table 2, 3, 4 and 5

表 2 不同处理对 SOD 活性的影响

Table 2 SOD activity under different treatments

草种 Grass species	SOD 活性 (u·g ⁻¹ ·FW·h ⁻¹)			
	对照 Control	抗寒锻炼 Cold hardening	冷冻处理 Cold treatment	返青 Turning green
I	908.738b ± 52.175	1205.882a ± 54.073	495.283c ± 31.753	1214.789a ± 46.410
II	655.670c ± 16.766	1314.050a ± 34.479	511.364c ± 9.642	950.000b ± 35.355
Ⅲ	952.941ab ± 74.870	1132.858a ± 71.936	553.846c ± 27.196	765.957c ± 30.090
IV	980.769b ± 70.711	1235.294a ± 71.305	283.784c ± 29.049	755.245b ± 29.669
V	1018.868a ± 13.342	1063.107a ± 20.595	163.366b ± 36.405	1085.714a ± 40.406

表 3 不同处理对可溶性蛋白质含量的影响

Table 3 Soluble protein content of under different treatments

草种 Grass species	可溶性蛋白 Soluble protein (mg/g·FW)			
	对照 Control	抗寒锻炼 Cold hardening	冷冻处理 Cold treatment	返青 Turning green
I	4.217c ± 0.384	5.504c ± 0.492	9.815a ± 0.707	7.305b ± 0.410
II	4.848b ± 0.108	8.157a ± 0.922	6.772b ± 0.307	4.109b ± 0.630
Ⅲ	4.809a ± 0.984	5.685a ± 0.307	5.358a ± 0.430	5.902a ± 0.553
IV	3.809b ± 0.799	7.587a ± 0.261	5.576b ± 0.738	4.326b ± 0.538
V	4.598a ± 0.369	5.113a ± 0.676	5.685a ± 0.523	4.435a ± 0.538

2.5 脯氨酸含量变化

各草种根系中脯氨酸含量随处理变化呈先升高后降低的变化趋势(表 4), I 在抗寒锻炼后积累到最大含量,而后持续降低;其余草种在冷冻处理后积累到最大含量,返青后降低,但所有草种在返青后根系中的脯氨酸含量仍显著高于抗寒锻炼前的含量 ($P < 0.05$)。随处理的不同,各草种根系中的脯氨酸含量均发生了显著变化 ($P < 0.05$),但变化因种而异,其中 II、Ⅲ、IV 变化幅度较大, I 和 V 变化幅度相对较小。

2.6 可溶性糖含量变化

牧草根系中可溶性糖含量变化因种而异(表 5),对照下, I、II 号草种根系中可溶性糖含量较高, Ⅲ、IV、V 号草种含量较低;抗寒锻炼后,除 I 外,其余草种可溶性糖含量均显著增加 ($P < 0.05$); -10℃ 冷冻处理 24h 后,仅Ⅲ号种可溶性糖含量显著降低,其余草种略有增加,但增幅不显著;20~25℃ 培养 15d 后,仅 I 的可溶性糖含量显著增加, V 几乎无变化,其余草种均降低,但仅 IV 降幅达显著水平 ($P < 0.05$)。

表 4 不同处理对脯氨酸含量的影响

Table 4 Proline content of under different treatments

草种 Grass species	脯氨酸 Proline ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)			
	对照 Control	抗寒锻炼 Cold hardening	冷冻处理 Cold treatment	返青 Turning green
I	0.069c $\pm$ 0.006	0.186a $\pm$ 0.010	0.135b $\pm$ 0.007	0.105b $\pm$ 0.010
II	0.109c $\pm$ 0.007	0.168b $\pm$ 0.014	0.455a $\pm$ 0.037	0.194b $\pm$ 0.013
III	0.053c $\pm$ 0.003	0.198b $\pm$ 0.011	0.284a $\pm$ 0.017	0.216b $\pm$ 0.013
IV	0.077c $\pm$ 0.006	0.172b $\pm$ 0.010	0.281a $\pm$ 0.013	0.119b $\pm$ 0.009
V	0.153b $\pm$ 0.007	0.169b $\pm$ 0.008	0.214a $\pm$ 0.007	0.209a $\pm$ 0.013

表 5 不同处理对可溶性糖含量的影响

Table 5 Soluble sugar content of under different treatments

草种 Grass species	可溶性糖 Soluble sugar (mmol/L)			
	对照 Control	抗寒锻炼 Cold hardening	冷冻处理 Cold treatment	返青 Turning green
I	0.410b $\pm$ 0.050	0.556b $\pm$ 0.070	0.562b $\pm$ 0.057	0.779a $\pm$ 0.025
II	0.199b $\pm$ 0.083	0.708a $\pm$ 0.091	0.720a $\pm$ 0.053	0.545a $\pm$ 0.016
III	0.035c $\pm$ 0.000	0.726a $\pm$ 0.066	0.562b $\pm$ 0.099	0.492b $\pm$ 0.033
IV	0.070c $\pm$ 0.050	0.562ab $\pm$ 0.033	0.726a $\pm$ 0.066	0.492b $\pm$ 0.000
V	0.047b $\pm$ 0.033	0.544a $\pm$ 0.059	0.621a $\pm$ 0.006	0.621a $\pm$ 0.057

2.7 抗寒性综合评价

牧草抗寒性是许多指标综合作用的结果,评价指标和方法的选取非常重要,本文采用隶属函数法,综合评价这些草种的抗寒性。运用上述公式(1)、(2)求出各草种各指标参数的隶属函数值,再将各草种各项指标的隶属函数值累加起来求其平均值得其综合评价值,综合评价值越大,抗寒性越强,反之则弱。表 6 为 5 个草种 5 项抗寒参数的综合评判结果,得出其抗寒性强弱顺序为: I > II > IV > III > V。

表 6 不同牧草种抗寒性综合评判

Table 6 Synthetic evaluation of cold resistance character of different forage grasses

草种 Grass species	MDA 含量 MDA content	SOD 活性 SOD activity	可溶性蛋白质 Soluble protein	脯氨酸 Proline	可溶性糖 Soluble sugar	综合评判 Synthetic evaluation
I	0.596	0.689	0.483	0.176	0.728	0.486
II	0.380	0.603	0.36	0.443	0.683	0.447
III	0.358	0.598	0.271	0.335	0.563	0.391
IV	0.519	0.565	0.252	0.272	0.575	0.402
V	0.408	0.582	0.191	0.331	0.569	0.378

3 讨论和结论

研究表明,在冷冻胁迫条件下植物体内超常积累活性氧自由基,引起膜脂过氧化导致冷伤害^[15],这种伤害最明显的变化之一就是积累了大量的膜脂过氧化产物(MDA)。因而 MDA 的产生量成了鉴别和了解逆境胁迫对生物膜危害程度的重要指标之一^[16,17]。本试验中,各草种根系中 MDA 含量随温度胁迫变化增加不显著,在整个过程中维持相对稳定状态,这与抗寒锻炼和冷冻处理后,脯氨酸、可溶性蛋白质和可溶性糖含量的增加及返青后仍能维持较高含量有关,与 SOD 活性在抗寒锻炼后的显著升高,冷冻处理后显著降低和返青恢复生长后再次显著升高的动态变化有关。因为脯氨酸、可溶性蛋白质和可溶性糖等是重要的渗透调节物质和营养物质,它们的增加积累能提高细胞的保水能力、对细胞的生命物质及生物膜起保护作用,防止活性氧对膜脂和蛋白质的过氧化作用^[18,19]、也是植物越冬,再生的重要能量物质^[1,20];魏臻武等^[21]对苜蓿研究表明,SOD 活性与植物抗寒性密切相关,在植物的抗寒锻炼过程中起着重要的保护作用,周瑞莲^[22]等对高寒山区(海拔 2900m)4 种多年生草本植物研究表明:根系抗氧化酶系统及时清除氧自由基防止膜脂过氧化,是维持细胞膜

完整性,保证其安全越冬的重要生理反应。

一般认为,脯氨酸是具有低温保护效应的物质^[23,24],但脯氨酸在植物抗寒性中的作用还存在分歧,在对 *esk1* 拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* L.) 的研究中表明,高浓度的脯氨酸是抗冻性提高的重要原因之一^[25],但 Wanner 等^[26]却提出脯氨酸在冷锻炼期间含量的上升可能对抗冻性的提高没有什么直接作用,它的提高可能是植物在低温锻炼下代谢上的被动表现,而非适应性反应。本试验中,各牧草根系中脯氨酸含量在抗寒锻炼后和冷冻处理后显著增加,解冻恢复生长后有所降低,但仍显著高于对照,表明脯氨酸含量受温度胁迫反应敏感,对牧草的抗寒性具有重要的调节作用。

植物的抗寒性是受其生理生化特征综合作用的遗传表现,因此,单一抗寒指标难于判断植物对寒冷的综合适应能力。张文辉等^[12]和黎燕琼等^[13]运用 Fuzzy 数学隶属函数综合评判法对不同种源栓皮栎幼苗叶片和岷江上游干旱河谷四种灌木的抗旱性进行了综合评判,得到了满意的结果。本研究运用同样的方法,对 MDA、SOD、可溶性糖、可溶性蛋白质及脯氨酸 5 个生理生化参数进行综合分析,得出其抗寒性顺序为: I > II > IV > III > V。此结果与返青率结果几乎一致,达到了预期效果,表明这种方法在植物的抗寒性评价中也是适用的。

综上所述,植物抗寒性是受保护酶活性、营养物质和渗透调节物质等共同调节的,牧草根系中 SOD 活性、脯氨酸、可溶性蛋白质和可溶性糖含量随温度胁迫的动态变化,有效防止(减轻)了根细胞的膜脂过氧化程度,维持了细胞膜的完整性,避免(减轻)了低温对根系的伤害,是各牧草根系对低温胁迫的适应性反应和越冬生存的重要调节机制。

References:

- [1] Zhou R L, Zhang P J. The change in carbohydrate content and protecting enzyme activities in root of alpine forage related to its adaptation to cold in spring. *Acta Ecologica Sinica*, 1996, 16(4):402—407.
- [2] Chen Y Y, Chen Y Z. Cold Acclimation-Induced Changes in Freezing Resistance, the Contents of Soluble Protein and Proline and Antioxidant Enzyme Activities in *Populus euphratica* Calli. *Shandong Agricultural Sciences*, 2007, 3:46—49.
- [3] Wassilyeves' s works, translated by He Y J, *et al.* Plants overwintering. Beijing: Science Press, 1978. 68—71.
- [4] Kendall E J, McKersie B D. Free radical and freezing injury to cell membranes of winter wheat. *Physiologia Plantarum*, 1989, 76:86—94.
- [5] Shonosuke sagisake, *et al.* Comparative studies of the changes in enzymatic activities in hardy and less hardy cultivars of winter wheat in late fall and in winter under snow. *Soil. Sci. Plant Nutr.*, 1991, 37:543—550.
- [6] Wang S Z, Cai Q S, Sun J H, *et al.* Changes in freezing tolerance and their relations to carbohydrates and proline concentrations during cold acclimation in tall fescue. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2003, 26(3):10—13.
- [7] Deng X K, Qiao D R, Li L, *et al.* The effect of chilling stress on physiological characters of *Medicago sativa*. *Journal of Sichuan University (Natural Science Edition)*, 2005, 42(1):190—194.
- [8] Chi C Y, Lian Y Q, Li W J, *et al.* Chilling Resistance Change of Three Turfgrass Varieties under Low Temperature Stress. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2007, 13(7):41—43.
- [9] Zhou R L, Zhao H L. Cryo-protectant changes in roots of perennial grasses habituated in alpine area in spring related to dehardening. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2004, 24(2):199—204.
- [10] Gao J F. The Experimental Technique in plant physiology. Guangzhou: Word Book Press, 2000. 137—202.
- [11] Hao Z B, Cang J, Xu Z. Plant physiology experiment. Harbin: Harbin Institute of Technology Press, 2004. 106—108.
- [12] Zhang W H, Duan B L, Zhou J Y, *et al.* Water relations and activity of cell defense enzymes to water stress in seedling leaves of different provenances of *quercus variabilis*. *Acta Phytocologica Sinica*, 2004, 28(4):483—490.
- [13] Li Y Q, Liu X L, Zheng S W, *et al.* Drought resistant physiological characteristics of 4 shrub species in arid valley of MinJiang River. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(3):870—878.
- [14] Li S G. Practical biological statistic. Beijing: Beijing University Press, 2002. 134—139.
- [15] WISE R R, NAYLOR A W. Chilling-enhanced photooxidation. Evidence for the role of singlet oxygen and super-oxide in the breakdown of pigments and endogenous antioxidants. *Plant Physiol*, 1987, 83:278—282.
- [16] Pan X Y, Cao Q D, Wang G X. Evaluation of Lipid Peroxidation for Use in Selection of Cold Hardiness Cultivars of Almond. *Acta Ecologica Sinica*,

2002,22(11):1902—1911.

- [17] Zhou R L, Zhao H L. Protecting enzyme system of herbage and its functions in the cold growing process in alpine and cold region. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2002, 22(3): 566—573.
- [18] Jian L C, Sun L H, Shi G S. A cytochemical study on the glycoproteins at cellular membranes in different cold resistant winter wheat cultivars during cold acclimation. *Acta Biologiae Experimentalis Sinica*, 1991, 24(3): 249—257.
- [19] Jiang M Y, Guo S C, Zhang X M. Proline Accumulation in Rice Seedlings Exposed to Oxidative Stress in Relation to Antioxidation. *Acta Phytophysiological Sinica*, 1997, 23(4): 347—352.
- [20] Zhou R L, Zhao H L. The autumnal changes of nutrient contents and enzyme activities in forage root and their relations to cold resistance of forage. *Acta Phytocologica Sinica*, 1995, 18(4): 345—351.
- [21] Wei Z W, Wang D X, He L C. Effect of superoxide dismutase on cold acclimation of alfalfa. *Pratactural Science*, 2006, 23(7): 15—18.
- [22] Zhou R L, Zhao H L, Chen G D. Seasonal changes in enzymatic antioxidant system in roots of aine perennial forage grasses related to freezing tolerance. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(6): 885—870.
- [23] Krnuc J, Glofcheski D J. Protective effects of aminoacids against freeze thaw damage in mammalian cells. *Cryobiology*, 1992, 29: 291—295.
- [24] Dorffling K, Dorffling H, Lesslich G. In vitro selection and regeneration of hydroxyproline resistant lines of winter wheat with increased proline content and increased frost resistance. *Plant Physiol*, 1993, 142: 222—225.
- [25] Xin Z, Browse J. Eskimol mutants of *Arabidopsis* are constitutively freezing-tolerant. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(7): 7799—7804.
- [26] Wanner L A, Junttila O. Cold-induced freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 1999, 120(7): 391—399.

参考文献:

- [1] 周瑞莲, 张普金. 春季高寒草地牧草根中营养物质含量和保护酶活性的变化及其生态适应性研究. *生态学报*, 1996, 16(4): 402~407.
- [2] 陈奕吟, 陈玉珍. 低温锻炼对胡杨愈伤组织抗寒性、可溶性蛋白、脯氨酸含量及抗氧化酶活性的影响. *山东农业科学*, 2007, 3: 46~49.
- [3] 瓦西里耶夫著. 何永集等译. 植物的越冬. 北京: 科学出版社, 1978. 68~71.
- [4] 王世珍, 蔡庆生, 孙菊华, 等. 冷锻炼下高羊茅抗冻性的变化与碳水化合物和脯氨酸含量的关系. *南京农业大学学报*, 2003, 26(3): 10~13.
- [5] 邓雪柯, 乔代蓉, 李良, 等. 低温胁迫对紫花苜蓿生理特性影响的研究. *四川大学学报(自然科学版)*, 2005, 42(1): 190~194.
- [6] 池春玉, 连永权, 李文君, 等. 低温胁迫下三种冷季型草坪草的抗寒性变化. *安徽农学通报*, 2007, 13(7): 41~43.
- [7] 周瑞莲, 赵哈林. 春季高寒山区牧草低温保护物质变化与其脱冻适应间关系. *西北植物学报*, 2004, 24(2): 199~204.
- [8] 高俊凤. 植物生理学实验技术. 广州: 世界图书出版公司, 2000. 137~202.
- [9] 郝再彬, 苍晶, 徐仲. 植物生理实验. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2004. 106~108.
- [10] 张文辉, 段宝利, 周建云, 等. 不同种源栓皮栎幼苗叶片水分关系和保护酶活性对干旱胁迫的响应. *植物生态学报*, 2004, 28(4): 483~490.
- [11] 黎燕琼, 刘兴良, 郑绍伟, 等. 岷江上游干旱河谷四种灌木的抗旱生理动态变化. *生态学报*, 2007, 27(3): 870~878.
- [12] 李松岗. 实用生物统计. 北京: 北京大学出版社, 2002. 134~139.
- [13] 潘晓云, 曹琴东, 王根轩. 膜脂过氧化作为扁桃品种抗寒性鉴定指标研究. *生态学报*, 2002, 22(11): 1902~1911.
- [14] 周瑞莲, 赵哈林. 高寒山区草本植物的保护酶系统及其在低温生长中的作用. *西北植物学报*, 2002, 22(3): 566~573.
- [15] 简令成, 孙龙华, 史国顺. 抗寒锻炼中不同抗寒性小麦细胞膜糖蛋白的细胞化学研究. *实验生物学报*, 1991, 24(3): 249~257.
- [16] 蒋明义, 郭绍川, 张学明. 氧化胁迫下稻苗体内积累的脯氨酸的抗氧化作用. *植物生理学报*, 1997, 23(4): 347~352.
- [17] 周瑞莲, 赵哈林. 秋季牧草根系中营养含量和酶活性变化及其抗寒性研究. *植物生态学报*, 1995, 18(4): 345~351.
- [18] 魏臻武, 王德贤, 贺连昌. 超氧化物歧化酶在苜蓿抗寒锻炼过程中的作用. *草业科学*, 2006, 23(7): 15~18.
- [19] 周瑞莲, 赵哈林, 程国栋. 高寒山区植物根抗氧化酶系统的季节变化与抗冷冻关系. *生态学报*, 2001, 21(6): 885~870.