

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

周瑞莲

张普金

(兰州大学生物系, 兰州, 730000) (甘肃农业大学草原系, 兰州, 730070)

A **摘要** 本文研究了高寒草地3种立地条件下垂穗披碱草(*Clinelymus nutans*)在春季萌动过程中根系碳水化合物和保护酶活性的变化, 结果表明: (1) 入冬时根系中碳水化合物贮量高, 保护酶活性强的牧草春季萌动早、生长快、抗寒性较强。(2) 当春季气温波动式回升时, 牧草根系中可溶性糖含量、SOD(超氧化物歧化酶)和POD(过氧化物酶)活性随气温上升而下降, 随气温下降而上升。其中火烧地牧草根中SOD和POD酶活性一直保持较高水平, 并对温度变化反应敏感, 而抗寒性也较强。因此春季高寒山区牧草根内的代谢改组(增加可溶性糖)和酶系统的调节(增加SOD、POD活性)是其对生态环境适应的重要生理反应。

关键词: 春季, 垂穗披碱草, 碳水化合物, 保护酶, 抗寒性。

THE CHANGE IN CARBOHYDRATE CONTENT AND PROTECTING ENZYME ACTIVITIES IN ROOT OF ALPINE FORAGE RELATED TO ITS ADAPTATION TO COLD IN SPRING

Zhou Ruilian

(Biology Department of Lanzhou University, Lanzhou, China, 730000)

Zhang Pujin

(Grassland Department of GS Agriculture University, Lanzhou, China, 730070)

Abstract The experiments were conducted to study changes in content of Carbohydrate and activities of protecting enzyme in root of *Clinelymus nutans* planted in differently treated soils during the germination in spring. The results showed: (1) The more the forage's root kept Carbohydrate the higher the activities of protecting enzyme were in winter, the earlier it germinated and the more hardy it was in spring.

(2) The contents of soluble sugar and activities of SOD, POD in root of Alpine forages were reduced with increasing of temperature and raised with decreasing of temperature. The forage planted in fired soil was more resistant to coldness because high level of SOD and POD activities in root were kept and quickly increased by temperature drop. So change in Carbo-

• 国家自然科学基金资助课题。

收稿日期: 1993 07 23, 修改稿收到日期: 1996 03 14。

hydrate metabolism and adjustment of enzyme system were an important physiological responses of forage to ecological environment.

Key words: spring, carbohydrate, protecting enzyme, hardiness, forage.

许多研究结果表明:多年生牧草根中贮藏的碳水化合物是植物越冬的重要能量和更新芽的萌动力,并与牧草抗寒性有关^[1]。植物的抗寒性还与植物体内细胞膜保护酶系统(SOD、POD、CAT(过氧化氢))的活性密切相关,抗寒性强的品种保护酶活性高,对环境反应快,抗氧化能力强^[2,3]。但这些实验结果多是在室内对不同材料进行短期人工处理条件下获得的。而短时间的低温处理所引起的植物抗寒性变化,可能不是由遗传特性上的机理决定的^[4]。因此对长期生活在高寒地区的植物进行保护酶系统和其它多项生理变化研究,这对揭示自然界抗寒植物在遗传特性上的生态适应机理显得十分必要。

多年生垂穗披碱草是高寒草地一种重要优良牧草,抗寒性强,幼苗可在大雪覆盖下生存。为了揭示在自然条件下抗寒植物对温度变化的适应机理,作者研究了在春季牧草萌动过程中该牧草根系内碳水化合物及保护酶活性的变化与温度的关系,以探讨植物抗寒的生理变化及其生态适应特性。

1 材料与方法

1.1 样地自然概况

试验在甘肃农业大学草原站进行。该站位于祁连山东段乌鞘岭脚下天祝县金强河河谷二级阶地上。海拔高度为 2960 m,年平均气温 -0.1°C , $\geq 0^{\circ}\text{C}$ 的年积温为 1300°C ,年降水量 416 mm,年蒸发量为 1592 mm,为降水量的 3.8 倍,生长季为 120 d。

1.2 材料与方法

1.2.1 试验材料 以生长在甘肃农业大学草原站内的多年生垂穗披碱草为研究对象。材料取自成带状相间分布的 3 种不同土壤处理的人工栽培草地,即未火烧草地、火烧 3 a 和 4 a 草地(火烧:即将翻耕的草堡垒堆焚烧)。其中火烧 3 a 和 4 a 草地上牧草萌动期和上年枯黄期分别为 4 月 14 日和 10 月初,未火烧草地牧草萌动期和上年枯黄期则分别为 4 月 19 日和 9 月下旬。取样时间自 1993 年 4 月 25 日到 5 月 25 日,每隔 10 d 取样一次。取样点设在生长均匀且具代表性的地段上。取样时挖取一个正方形的草堡,用水缓缓冲洗直到根上无附着土粒,然后自茎基处将根系剪下并用吸水纸吸去根上附着的水分,随即装入塑料袋内放置于冰筒中带回实验室分析。

1.2.2 提取液的制备 分析时取各处理清洁鲜根 2 g,加 10 ml 预冷 0.5 ml 磷酸缓冲液(pH 为 7.8),在水浴中研磨成匀浆。匀浆液以 15000 g/min ,离心 30 min,上清液用于酶活性的测定。另取 10 g 鲜根在烘箱内以 105°C 烘 10 min 后,再用 60°C 烘至恒重,用于碳水化合物分析。

1.2.3 测定方法 按华东师范大学《植物生理学实习指导》中方法测定碳水化合物含量;用紫外吸收法测定可溶性蛋白质含量;用碘量法测定 CAT 活性^[5];用 Giannopolitis 和 Ries^[6] 光化学法测定 SOD 活性;按 Rochba 报道的方法以 H_2O_2 ——愈创木酚为底物测定 POD 活性。以上测定均重复 3 次,结果取平均值。

2 结果与分析

2.1 根系中碳水化合物含量变化

植物体内碳水化合物包括 3 个部分:可溶性糖、淀粉和纤维素。

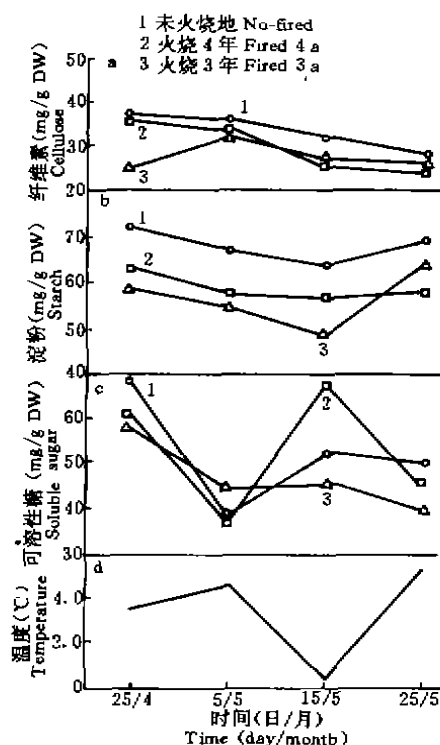


图 1 春季牧草根中碳水化合物含量的变化

Fig. 1 The changes of carbohydrate content of forage roots in Spring

随着春季温度波动式回升(图 1d),牧草根中可溶性糖含量变化与温度变化相反(图 1c),且明显受温度影响。春季气温上升牧草根中可溶性糖为牧草萌发提供能量和营养使其含量下降。气温下降根中可溶性糖含量增加,其原因可能有两个,一是牧草生长速度减慢,对可溶性糖消耗少,二是降温导致淀粉和纤维素的迅速分解(图 1b,a)。降温时根中可溶性糖含量的增加可提高牧草细胞液浓度,降低冰点,提高植物的耐寒性,因此可溶性糖与植物抗寒密切相关。

淀粉和纤维素是植物体内非溶状态的糖。随着春季气温上升,牧草开始萌发生长,根内淀粉和纤维素不断降解而含量呈下降趋势(图 1b,a)。但当气温下降(5月15日到25日,平均气温由4.7℃降至0.4℃)根内淀粉、纤维素含量仍不断减少。根内淀粉、纤维素含量与温度变化的关系不甚密切。但根中淀粉、纤维素的含量影响着根中可溶性糖的含量,因此它们在植物抗寒上起着输送能量的作用。至于气温回升时(5月15日到25日)根中淀粉含量的增加是与地上部光合系统已形成,营养开始向下转移有关。

如果把3种立地条件下冬季(1992年)和春季(1993年)牧草根中碳水化合物含量进行比较(表1),不难看出入冬时根系中碳水化合物含量

高的火烧地牧草春季萌动早,抗寒性较强。根中贮藏物与抗寒性相关。许多人研究也认为

表 1 冬、春季牧草根中碳水化合物含量比较 (mg/g 根DW)

Table 1 Comparison of carbohydrate content of forage's roots in winter 1992 and spring 1993

项 目 Item	未火烧地(萌动期 19/4)			火烧 3 a 地(萌动期 14/4)			火烧 4 a 地(萌动期 14/4)		
	Norfired	Germination periods		Fired 3 a	Germination periods		Fired 4 a	Germination periods	
	14/11	25/4	25/5	14/11	25/4	25/5	14/11	25/4	25/5
	Nov. 14	April 25	May 25	Nov. 14	April 25	May 25	Nov. 14	April 25	May 25
可溶性糖 Soluble sugar	173.0	72.5	51.8	198.0	58.2	40.0	181.0	59.3	46.0
淀粉 Starch	131.0	71.5	69.0	132.0	58.3	63.0	112.0	63.2	58.3
纤维素 Cellulose	198.0	37.5	27.3	215.0	25.6	26.0	234.0	36.2	25.0
合计 Total	502.0	181.5	148.1	545.0	142.1	129.0	527.0	158.7	129.3

[1] 多年生植物贮藏的碳水化合物是植物越冬、再生的能量。而春季火烧地牧草根中碳水化合物含量较低是其萌发早、营养消耗较多所致。

实验结果表明: 垂穗披碱草是在遗传控制下通过体内生理代谢变化适应环境低温和变温的。春季在温度降低时牧草的萌发生长减缓, 根内淀粉和纤维素迅速降解为可溶性糖。溶性糖的增加能降低组织冰点, 防止细胞结冰造成的膜机械损伤, 这一生理变化对植物抗寒起到了重要作用。

2.2 根中可溶性蛋白质含量的变化

Gerloff^[5]对 3 个不同抗寒力的苜蓿品种的研究结果表明: 植物体内可溶性蛋白质含量与抗寒性有着密切关系, 在低温下苜蓿可溶性蛋白质增多。本实验结果表明(表 2): 3 种立地牧草根中可溶性蛋白含量先呈上升趋势, 后又下降与温度的变化曲线不一致。可溶性蛋白质在牧草抗寒生理中的作用尚不清楚。

表 2 牧草根中可溶性蛋白质含量的变化 (mg/ml)

Table 2 Changes of soluble protein content in the root

时 间 Time	温度 (°C) Temperature	未火烧地 No-fired	火烧 3 a 地 Fired 3 a	火烧 4 a 地 Fired 4 a
4 月 25 日 April 25	3.6	0.3311	0.3011	0.3829
5 月 5 日 May 5	4.7	0.3655	0.5260	0.3775
5 月 15 日 May 15	0.4	0.4405	0.4346	0.5277
5 月 25 日 May 25	5.5	0.4036	0.2932	0.3048

2.3 根系中过氧化物酶(POD)活性变化

3 种立地条件下牧草根中 POD 活性均随着温度上升而下锦, 随着温度下降而上升(表 3)。根中 POD 酶活性大小顺序为: 火烧 3 a 地 > 火烧 4 a 地 > 未火烧地, 变化幅度也是火烧 3 a 地 > 火烧 4 a 地 > 未火烧地。

POD 是植物体内 H_2O_2 的分解酶, 其活性受 H_2O_2 诱导^[6]。火烧地牧草根中 POD 活性一直维持较高, 在温度降低时植物体内 POD 活性迅速增强。这不仅表明低温使植物体中积累了 H_2O_2 , 而且也说明植物体具有分解 H_2O_2 , 抗氧化而保护膜免受 H_2O_2 伤害的能力。植物体内 POD 对变温反应愈快体内积累的 H_2O_2 愈少, 细胞膜受损愈轻, 这是火烧地牧草抗寒性较强于未火烧地的一个重要生理原因。植物体内 POD 是植物抵御寒冷, 保护细胞膜的重要酶之一。

表 3 春季牧草根中 POD 活性的变化 ($OD \cdot mg^{-1} \text{pro} \cdot \text{min}^{-1}$)

Table 3 Changes of activities of peroxidase in root of the forage

时 间 Time	温度 (°C) Temperature	未火烧地 No-fired	火烧 3 a 地 Fired 3a	火烧 4 a 地 Fired 4 a
4 月 25 日 April 25	3.6	0.115	0.370	0.263
5 月 5 日 May 5	4.7	0.045	0.198	0.098
5 月 15 日 May 15	0.4	0.058	0.305	0.083
5 月 25 日 May 25	5.5	0.038	0.164	0.073

2.4 根系中超氧化物歧化酶(SOD)活性变化

春季牧草根系中 SOD 活性随温度变化的趋势(表 4)与 POD 完全相同。温度上升牧草根中 SOD 活性下降,温度下降(5 月 5 日到 15 日)平均气温由 4.7℃降至 0.4℃,牧草根 SOD 活性增强,其中抗寒性强,萌发早的火烧地牧草根中 SOD 活性一直较高,降温对 SOD 活性增加幅度也较大。这表明高寒山区牧草一直处于低温胁迫环境中,植物体内积累有氧自由基,尤其当温度下降时体内氧自由基大量积累。同时也说明高寒山区牧草在适应环境的过程中体内已形成了清除氧自由基的酶——SOD。温度下降时植物体内 SOD 活性迅速增强,及时分解氧自由基使植物能较快地适应环境,植物抗寒性增强。可见牧草抗寒性不仅与体内 SOD 活性有关,而且与其对环境的反应速度有关,反应愈快,受损愈小,抗寒性也愈强。

表 4 春季牧草根中 SOD 活性的变化(%)

Table 3 Changes of activities of superoxide dismutase in root of the forage

时 间 Time	温度(℃) Temperature	未火烧地 No-fired	火烧 3 a 地 Fired 3 a	火烧 4 a 地 Fired 4 a
4 月 25 日 April 25	3.6	23.63	47.60	35.27
5 月 5 日 May 5	4.7	17.18	36.77	30.58
5 月 15 日 May 15	0.4	18.95	62.10	31.05
5 月 25 日 May 25	5.5	12.40	33.32	27.91

2.5 根系中过氧化氢酶(CAT)活性变化

CAT 和 POD 在生物体内均参与 H_2O_2 的分解过程,但在本实验中两种酶活性随温度变化的反应趋势不同。3 种立地条件下牧草根中 CAT 活性均在萌动初期有所升高,然后逐步下降(表 5)。但对比 3 种立地牧草根中 CAT 活性,可发现萌发早、抗寒性强的火烧地牧草根中 CAT 活性较高。可见,植物体内 CAT 仍参与了 H_2O_2 的解毒活动并与抗寒性有关。因为 CAT 活性的下降不一定意味着 H_2O_2 伤害水平的增加,生物体内还有其它反应分解 H_2O_2 [2]。高寒山区牧草根中 POD 可能是分解 H_2O_2 的主要酶。据报道 [5],植物体内还存在有另一状态的 CAT,它可在细胞质中出现清除代谢过程中非酶反应形成的过氧化物。关于 CAT 和 POD 在分解 H_2O_2 及其与牧草抗寒性的关系,有待进一步研究。

表 5 春季牧草根中 CAT 活性的变化($mgH_2O_2 \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$)

Table 3 Changes of activities of catalase in root of the forage

时 间 Time	温度(℃) Temperature	未火烧地 No-fired	火烧 3 a 地 Fired 3 a	火烧 4 a 地 Fired 4 a
4 月 25 日 April 25	3.6	0.1068	0.1544	0.1102
5 月 5 日 May 5	4.7	0.1244	0.2088	0.1768
5 月 15 日 May 15	0.4	0.0659	0.1326	0.1074
5 月 25 日 May 25	5.5	0.0598	0.0918	0.0782

通过对自然环境条件下生长的牧草体内保护酶的分析,发现植物保护酶与抗寒性密切相关。火烧地牧草根中 SOD、POD、CAT 活性高,气温下降时 POD 和 SOD 活性大幅度增加,而抗寒性较强,萌发较早。这是由于保护酶为诱导酶。当植物处于低温胁迫时体内则积累氧自由基,导致膜脂过氧化 [25]。但当细胞中氧自由基水平增加时又诱导保护酶活性增

强, 这些酶能将氧自由基歧化为水使生物膜不受损伤^[9]。因此低温条件下火烧地牧草根中 SOD 和 POD 酶在植物呼吸代谢过程中保护着细胞膜, 防止氧自由基和过氧化物形成, 提高了牧草的耐寒能力。在变温过程中牧草根中 SOD 和 POD 活性迅速增强, 抑制了氧自由基的积累, 使牧草很快适应环境。在低温、变温过程中牧草体内保护酶对环境的快速反应可能是其适应环境的又一重要生理反应。

3 结论

通过以上分析, 可以得出以下结论:

(1) 植物细胞膜是低温胁迫伤害的主要部位, 而牧草在适应低温、防止膜变损的方面其生理调控是多途径的。

(2) 春季气温波动式回升过程中, 牧草体内代谢改组(即气温下降根中可溶性糖增加), 防止细胞内结冰, 保护细胞膜免受机械损伤是植物组织对生态环境适应的重要生理反应之一。

(3) 春季气温波动式回升过程中, 牧草体内保护酶系统的调节(即气温下降时, SOD 和 POD 活性迅速上升), 抑制氧自由基积累, 保护细胞膜免受过氧化作用是植物组织对生态环境适应的重要生理反应之一。

参 考 文 献

- 1 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
- 2 Kendall E J and Mckerrie B D. Free radical and freezing injury to cell membranes of winter wheat. *Physiologia plantarum*, 1989, **76**: 86~94
- 3 Shonosuke sagisaka, *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
- 4 刘鸿先等. 植物抗寒性与酶系统多态性的关系. 植物生理学通讯, 1981, (4): 6~11
- 5 Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase: purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedling. *Plant physiol.* 1977, **59**: 315~319
- 6 Gerloff E D. Soluble proteins in alfalfa roots as related to cold hardiness. *Plant physiology*, 1967, **42**: 895~899
- 7 MacRae e A and Ferguson I B. Changes in Catalase activity and Hydrogen peroxide concentration in plants in response to low temperature. *Physiol Plant.*, 1985, **65**: 51~56
- 8 王宝山. 生物自由基与植物膜伤害. 植物生理学通讯, 1988, (2): 12~16
- 9 王文杰. 超氧自由基和 SOD. 生理科学进展, 1985, (3): 21~24