

西北黄芪和山野豌豆对低温胁迫的生理响应研究

马正华¹, 王柳英², 宋维秀¹

(1. 青海大学 农牧学院, 西宁 810003; 2. 青海大学 畜牧兽医科学院, 西宁 810003)

摘要:以两种野生豆科牧草(西北黄芪和山野豌豆)为试验材料,研究其对低温胁迫的生理响应。结果表明:在低温胁迫下,西北黄芪和山野豌豆的相对电导率、SOD活性、可溶性糖含量、脯氨酸含量均表现出上升的趋势,且随着低温胁迫程度的加剧而加深;就相对电导率、可溶性糖含量两项生理指标而言,西北黄芪5℃增幅显著小于山野豌豆,而-5℃对5℃增幅显著大于山野豌豆;就脯氨酸含量而言,西北黄芪5℃增幅大于山野豌豆,而-5℃对5℃增幅显著小于山野豌豆;就SOD活性而言,西北黄芪5℃增幅大于山野豌豆,而-5℃对5℃增幅显著大于山野豌豆。综合分析,认为西北黄芪比山野豌豆具更强的抗低温能力,同时说明,两种牧草对低温胁迫的生理响应规律不同,相对电导率和可溶性糖含量两项生理指标对低温的响应更加敏感。

关键词:豆科牧草; 低温胁迫; 生理指标;

中图分类号: Q945 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2009)04-0533-04

Physiological response of *Astragalus fenzelianus* and *Vicia amoena* to low temperature stress

MA Zheng-Hua¹, WANG Liu-Ying², SONG Wei-Xiu¹

(1. Agriculture and Animal Husbandry College, Qinghai University, Xining 810003, China; 2. Academy of Animal and Veterinary Sciences, Qinghai University, Xining 810003, China)

Abstract: Effects of low temperature stress on physiological characteristics of *A. fenzelianus* seedlings and *V. amoena* seedlings were studied. The results showed that the conductance rate, the soluble sugar content, the proline content and the SOD activity were increased. Taking the conductance rate and the content of soluble sugar as index, the increased degree in *A. fenzelianus* seedlings was significantly lower than that of *V. amoena* seedlings at 5℃ and significantly higher than that of *V. amoena* seedlings in -5℃ contracted with the 5℃; taking the proline content as index, the increased degree in *A. fenzelianus* seedlings is significantly higher than that of *V. amoena* seedlings at 5℃ and significantly lower than that of *V. amoena* seedlings in -5℃ contracted with the 5℃; taking the SOD activity as index, the increased degree of *A. fenzelianus* seedlings was significantly higher than that of *V. amoena* seedlings at 5℃ and in 5℃ contracted with the -5℃. Integrating the physiological characteristic indices, it was considered that *A. fenzelianus* seedlings showed stronger cold resistance ability to low temperature than *V. amoena* seedlings. It's therefore concluded that these two kinds of seedlings responds differently to low temperature in terms of physiological characteristics and the conductance rate, and the content of soluble sugar is more sensitive to low temperature.

Key words: legume; low temperature stress; physiological characteristic

在青海省的天然草地中豆科牧草资源少,可供人工栽培的豆科牧草品种极度匮乏。海拔3000m以上的地区,天然草地中豆科牧草种类少,数量小,

人工草地中几乎没有豆科牧草,致使牧草营养物质分配不平衡,成为制约域内畜牧业发展的瓶颈。因此对青海省广泛分布的野生豆科牧草进行调研,从

收稿日期: 2008-12-17 修回日期: 2009-04-10

作者简介: 马正华(1975-),女,江西永新人,硕士,讲师,主要从事农业资源与环境专业的教学与研究,(E-mail)helen7501@126.com.

中选择抗寒性强,适口性好的优良野生豆科牧草进行驯化栽培,不仅可以补充天然草场中豆科牧草的种类,而且可以大幅度提高人工草地牧草资源品质,从而起到缓解草畜矛盾,实现畜牧业可持续发展的重要作用。

西北黄芪(*Astragalus fenzelianus*)是多年生豆科植物,生长于海拔1 800~4 300的山坡草地,林缘沟谷,属于良等饲料植物(陈山,1994);山野豌豆(*Vicia amoena*)为多年生草本植物,喜冷凉气候,耐寒性强,冬季气温降到-40℃时,如有雪覆盖,仍能安全越冬,属于优等饲料植物(苏加楷等,1993;全国牧草品种审定委员会,1994)。两种牧草在青海省都有广泛分布,具有很好的饲用价值,且表现出很好的抗寒能力,是建立人工割草地和放牧地的优良混播草种。因此具备很好的应用栽培潜在价值,本文对西北黄芪和山野豌豆两种野生豆科牧草进行了有关幼苗抗寒生理生化基础方面的研究,旨在为这两种

野生豆科牧草今后的栽培驯化提供基础资料。

1 材料与amp;方法

1.1 材料处理

种子破除硬实后进行常规浸种催芽,选择萌发均匀的种子点播于口径23 cm,深20 cm的塑料花盆中,置于室外常规管理。盆内生长基质由1:3的细沙、大田土构成。当苗龄75d时,选取长势整齐一致、无病无损伤的幼苗测定常温下的相关生理指标作为对照,然后分别将花盆置于人工气候箱和冰箱中。试验在黑暗条件下进行,分(5±0.5)℃和(-5±0.5)℃两种处理,处理24 h后,取幼苗叶片测定各项生理指标,每个处理重复3次。

1.2 试验方法

质膜透性采用电导法;可溶性糖含量采用蒽酮比色法;游离脯氨酸含量采用茚三酮显色法;SOD

表1 低温胁迫对幼苗叶片相对电导率和可溶性糖含量的影响

Table 1 Effect of low temperature stress on conductivity and soluble sugar of seedling leaves

牧草名称 Forage grasses	相对电导率 Relative conductivity (%)			可溶性糖含量 Content of the soluble sugar (mg/g)		
	20℃	5℃	-5℃	20℃	5℃	-5℃
西北黄芪 <i>Astragalus fenzelianus</i>	14.2±0.2cC	22.5±0.21bB	86.7±0.51aA	3.88±0.15cC	6.03±0.02bB	17.1±0.49aA
山野豌豆 <i>Vicia amoena</i>	20.7±0.26cC	36.5±0.74bB	100±0.00aA	3.1±0.17cC	16.4±0.54bB	21.6±0.54aA

注:行间不同小写字母表示P<0.05水平上差异显著,不同大写字母表示P<0.01水平上差异显著。下同。

Note: Different capital letters show significant difference at 0.01 level, the different small letters show significant difference at 0.05 level. The same below.

活性采用氮蓝四唑(NBT)显色法(邹琦,2000)。

2 结果与分析

2.1 不同低温处理对幼苗叶片质膜透性的影响

细胞膜系统是植物受低温伤害的初始部位(简令成,1992),原生质膜的功能受损或结构破坏使其透性增大,导致细胞内的各种水溶性物质包括电解质不同程度的外渗。因此可以用相对电导率为标准来衡量植物在低温逆境下的膜损伤程度。

由表1和表2可以看出,低温胁迫下两种牧草幼苗叶片的相对电导率明显提高,且随着胁迫程度的加深呈急剧上升趋势。方差分析表明,各温度处理与对照间差异均达到显著水平。山野豌豆的5℃增幅显著大于西北黄芪,说明5℃低温胁迫下,山野豌豆细胞膜受损程度相对较大,导致细胞膜透性增大,电解质外渗率相应增大。两种牧草的-5℃增幅

均有显著上升,尤其是山野豌豆,相对电导率已经达到100%,导致电解质完全外渗,说明两种牧草幼苗叶片的结构和功能已经严重受损趋于破坏。

2.2 不同低温处理对幼苗可溶性糖含量的影响

由表1和表2可以看出,低温胁迫下两种牧草幼苗叶片的可溶性糖含量明显提高,且随着胁迫程度的加深呈明显上升趋势。

方差分析表明,各温度处理与对照间差异均达到显著水平。在5℃低温时,山野豌豆体内可溶性糖含量积累程度显著大于西北黄芪,两种牧草间差异极显著。-5℃低温胁迫下,两种牧草的可溶性糖含量与对照相比有大幅度的上升,两种牧草间差异显著。西北黄芪的-5℃对5℃增幅显著大于山野豌豆。低温胁迫下,供试牧草幼苗叶片中可溶性糖含量均表现出快速上升的趋势,且增加幅度随着低温胁迫程度的加深而加大。但山野豌豆与西北黄芪在可溶性糖含量的积累方式上存在有一定差异,山

野豌豆在就可溶性糖含量的变化而言,山野豌豆抵御低温的能力低于西北黄芪。

2.3 不同低温处理对幼苗脯氨酸含量的影响

脯氨酸在植物渗透调节中起着重要的作用,脯氨酸的积累可调节组织的渗透势,可以增加细胞液的浓度,降低冰点,对原生质具有保护作用,对维持膜的完整性及提高植物的抗逆性具有重要的意义(Nichoi 等,1989;汤章城,1984;王娟,2001)。

由表 3 和表 4 可以看出,低温胁迫下,两种牧草幼苗叶片脯氨酸含量明显提高,且随低温胁迫程度

的加深,脯氨酸含量逐渐升高。方差分析表明,各温度处理与对照间差异均达到显著水平。说明 5℃低温胁迫下,山野豌豆体内生理变化明显,脯氨酸含量大量增加来增加细胞液浓度,降低冰点,抵御低温对它们的伤害。而西北黄芪体内的生理变化则相对较小。表明就脯氨酸含量的变化而言,二者对于低温的生理反应存在一定差异。由此可见,低温胁迫期间脯氨酸含量在供试牧草体内有一定的积累,且随着低温胁迫程度的加深,脯氨酸含量迅速升高。就脯氨酸含量的变化而言,山野豌豆抵御低温的能力

表 2 电导率百分率变化与可溶性糖含量的差异显著性比较

Table 2 Comparison of significant difference on conductivity change and soluble sugar content of seedling leaves

牧草名称 Forage grasses	相对电导率 Relative conductivity (%)			可溶性糖含量 Soluble sugar content (mg/g)		
	5℃增幅	-5℃增幅	-5℃对5℃增幅	5℃增幅	-5℃增幅	-5对5℃增幅
西北黄芪 <i>Astragalus fenzelianus</i>	58.5±4.27bB	510.5±10.20aA	285.3±5.10aA	55.4±2.06aA	340.7±9.66bB	183.6±8.40aA
山野豌豆 <i>Vicia amoena</i>	76.3±2.52aA	383.1±5.00aA	180.0±4.04bA	429.0±13.2bB	596.7±11.43aA	31.7±1.51bB

表 3 低温胁迫下幼苗叶片脯氨酸含量和 SOD 活性的变化

Table 3 Effect of low temperature stress on proline content and SOD activity of seedling leaves

牧草名称 Forage grasses	脯氨酸含量 Proline content (μg/g)			SOD 活性 SOD activity (μg/g)		
	20℃	5℃	-5℃	20℃	5℃	-5℃
西北黄芪 <i>Astragalus fenzelianus</i>	32.4±3.8cC	107±5.30bB	177.2±9.63aA	24.30±3.30cC	35.60±3.27bB	50.41±3.67aA
山野豌豆 <i>Vicia amoena</i>	56.4±5.13cC	127.7±8.74bB	361.3±10.6aA	46.48±2.25cC	54.06±2.02bB	58.73±2.50aA

表 4 两种牧草幼苗叶片脯氨酸含量和 SOD 活性的差异显著性比较

Table 4 Comparison of significant difference on proline content and SOD activity of seedling leaves

牧草名称 Forage grasses	Proline content 脯氨酸含量 (μg/g)			SOD 活性 SOD activity (μg/g)		
	5℃增幅	-5℃增幅	-5℃对5℃增幅	5℃增幅	-5℃增幅	-5对5℃增幅
西北黄芪 <i>Astragalus fenzelianus</i>	230.2±8.40aA	446.9±11.92bB	65.6±2.14bB	46.50±0.01aA	107.45±0.01aA	41.60±0.01aA
山野豌豆 <i>Vicia amoena</i>	126.4±5.21bB	540.6±10.58aA	182.9±4.63aA	16.31±0.01bB	26.36±0.02bB	8.63±0.01bB

与西北黄芪相似。

2.4 低温胁迫下内源保护酶系的变化

低温逆境下,细胞内自由基产生和清除的平衡遭到破坏。SOD 是植物对膜脂过氧化的酶促防御系统中重要的保护酶,SOD 在细胞保护酶系统中的作用是清除超氧自由基 O_2^- ,同时产生歧化性产物 H_2O_2 ,从而使植物抵抗在逆境胁迫下代谢过程产生的有害物质对细胞的伤害(Prasad,1996;曾韶西等,1997)。因此,抗氧化酶 SOD 活性可以反映植物抵抗和适应逆境胁迫的能力。

由表 3 可以看出,低温胁迫下,两种牧草幼苗叶片中 SOD 活性明显提高,且随低温胁迫程度的加

深,SOD 活性逐渐升高。方差分析表明,各温度处理与对照间差异均达到显著水平。随着低温胁迫程度的加深,SOD 活性缓慢升高。

由表 4 可以看出,在 5℃和-5℃低温胁迫下,两种牧草的 SOD 活性与对照相比均有一定程度的上升,-5℃低温与 5℃低温处理相比也有一定幅度的上升,两种牧草间差异显著,说明低温胁迫下,西北黄芪体内 SOD 活性升高程度明显大于山野豌豆。

由此可见,低温胁迫下,供试牧草幼苗叶片中 SOD 活性均表现出逐渐上升的趋势,且随着低温胁迫程度的加深,SOD 活性缓慢升高。就 SOD 活性的变化而言,山野豌豆抵御低温的能力与西北黄芪

相似。

3 讨论

本试验结果表明,在5℃低温胁迫下,山野豌豆和西北黄芪幼苗生长均表现正常。牧草没有发生叶黄,叶片溃水等现象,生长态势良好,表明二者对于5℃低温均有良好的适应能力,说明5℃低温并没有影响到植物的外部形态变化。但从各项生理指标的变化可以看出,植物组织内部已经发生了一系列的变化。-5℃低温胁迫时,两种牧草叶片冻害明显,山野豌豆已经无法正常生长,西北黄芪生长能力弱,此时,植物组织内部生理变化更加显著。

两种牧草的细胞膜系统与对照相比有一定程度的破坏,5℃低温时,山野豌豆膜结构受损,电解质已经大量渗出,-5℃时受到胁迫,膜结构受损程度加剧,虽然电解质继续外渗,但由于体内电解质存留已经不多,所以在完全渗出的情况下,-5℃对5℃增幅也不是很大。西北黄芪5℃时,膜结构受损较轻,电解质部分渗出,体内还有大量电解质存留,-5℃时受到胁迫,膜结构受损严重,电解质大量外渗,所以在大量渗出的情况下,-5℃对5℃增幅很大。因此就质膜透性而言,山野豌豆对低温的抵御能力低于西北黄芪。

根据试验可溶性糖含量的测定结果,在5℃低温胁迫下,山野豌豆体内可溶性糖含量积累程度极显著的大于西北黄芪,说明山野豌豆体内生理变化明显,需要迅速积累大量可溶性糖来增加细胞液浓度,减缓电解质的大量外渗。降低冰点,抵御低温对它们的伤害。可能与此时细胞膜已经受到一定损伤有关。而西北黄芪体内的生理变化则相对较小。可能是细胞膜受损程度远远小于山野豌豆,故无需调用大量渗透物质。-5℃低温胁迫下,西北黄芪体内可溶性糖含量上升幅度极显著的大于山野豌豆,说明西北黄芪在较低温度下体内仍能迅速的大量积累可溶性糖来增加细胞液浓度,降低冰点,抵御低温对它们的伤害。而山野豌豆则相对表现出缓慢积累可溶性糖的趋势,说明-5℃低温胁迫下,山野豌豆体内已不能迅速大量的积累可溶性糖来增加细胞液浓度,增加抗寒能力,说明其对-5℃低温的适应抵御能力明显不如西北黄芪。可以看出,山野豌豆对低温的敏感程度大于西北黄芪,易受低温影响,对低温的适应能力相对较低。说明二者在抗寒生理上有一

定差异。就可溶性糖含量的变化而言,山野豌豆抵御低温的能力低于西北黄芪。

脯氨酸在植物渗透调节中起着重要的作用,脯氨酸的积累可调节组织的渗透势,降低冰点,对维持膜的完整性及提高植物的抗逆性具有重要的意义。低温胁迫下,脯氨酸含量的显著提高可能是植物对低温胁迫的一种适应性反应,也可能是植物抗寒力提高的表现(方芳等,2000)。从本试验结果可知,山野豌豆在-5℃低温胁迫下,叶面溃水严重,出现冻害,但脯氨酸含量增加却十分显著,证明了山野豌豆体内脯氨酸的积累具有滞后性。从而也从侧面说明了脯氨酸含量的显著提高更可能是植物对低温胁迫的一种适应性反应,而不是植物抗寒力提高的表现。总之,从脯氨酸对低温的敏感程度上看,山野豌豆大于西北黄芪,易受低温影响,对低温的适应能力相对较低。因此,西北黄芪耐低温能力强于山野豌豆。低温对脯氨酸含量的影响在两种牧草中表现不一,在西北黄芪中,脯氨酸含量积累的滞后性表现不是很明显,其原因有待于进一步研究。

在低温胁迫条件下,供试牧草可诱导SOD活性氧清除剂含量的提高,避免对植物组织的伤害;在不同低温胁迫程度下,山野豌豆诱发SOD活性能力均显著低于西北黄芪,这可以从两个方面解释。一是山野豌豆自身抗寒能力强于西北黄芪,不需要诱导相对多的SOD即可适应低温环境,完成正常生理功能;一是说明山野豌豆自身抗寒能力弱于西北黄芪,必须诱导相对多的SOD活性方能抵御低温环境,完成正常的生理功能。不论哪一种解释,都说明SOD活性与低温胁迫程度有一定的相关性。但是综合电导率与可溶性糖含量以及植物的外观形态变化,可以判断供试材料必须通过诱导SOD活性才能抵御低温不良环境。而具体诱导SOD活性的多与少则与两种供试牧草自身的抗寒能力有关。因此,认为SOD活性升高是植物的抗寒能力提高的一种表现。就SOD活性而言,西北黄芪抗寒能力大于山野豌豆。

本试验中,低温胁迫下,两种牧草的相对电导率、可溶性糖含量和脯氨酸含量和SOD活性均呈现上升趋势,且随着低温胁迫程度的加剧而加剧。说明低温胁迫下上述生理指标均与植物抗寒性密切相关。两种牧草对低温胁迫的生理响应机制不同,主要体现在低温胁迫过程中各项生理指标的变化幅度差异性上。质膜透性和可溶性糖含量两项指标对低(下转第475页 Continue on page 475)

地区被认为与热带亚洲在植物地理学上有亲密关系(刘仲健等,2007;Liu等,2008)。因此,麻栗坡发现双褶贝母兰这一附生兰,为它作为向其东面和北面的中国—日本森林植物亚区的过渡区提供了一个依据。另一方面,高黎贡山的许多与热带有关的兰科植物种类往往可以在麻栗坡找到,而热带亚洲至大洋洲的属,如毛兰属(*Eria*),石斛兰属(*Dendrobium*),万代兰属(*Vanda*),鸟舌兰属(*Ascocentrum*),蜘蛛兰属(*Arachnis*),指甲兰属(*Aerides*)等,在麻栗坡都有代表(曾建飞等,2003;陈利君等,2008),更加证实了这一看法。亦即在植物地理学上,它显示了与中国—日本森林亚区的密切亲缘性,不仅是热带的北缘,也是亚热带的南缘,是南北交汇的过渡区。正因为该地区为热带与亚热带的过渡区,其多变的环境因子为双褶贝母兰花的多个表型性状的产生提供了可能。麻栗坡发现双褶贝母兰和它的花的表型性状多样性,为该物种的系统学、繁殖生态学和遗传多样性的研究提供了依据。

参考文献:

刘仲健,陈利君,雷嗣鹏,等. 2007. 疣花三角兰(*Trias verrucosa*)

sa)的生殖策略[J]. 生态学报,27(11):4 460—4 468

吴征镒. 1979. 论中国植物区系的分区问题[J]. 云南植物研究,1:1—22

吴征镒,路安民,汤彦承,等. 2003. 中国被子植物科属综论[M]. 北京:科学出版社

陈心启. 1999. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,18:360—361

曾建飞,霍春雁. 2003. 云南植物志[M]. 北京:科学出版社,14:100—819

Chen LJ(陈利君),Liu ZJ(刘仲健). 2008. *Dendrobium moniliforme* var. *malipoense* A new variety of orchidaceae from, China (麻栗坡石斛,中国兰科一新变种)[J]. *J Wuhan Bot Res*(武汉植物学研究),26(4):357—360

Dingle EJ. 2007. Arcross China on foot [M]. Plain Label Books

Liu ZJ,Chen LJ,Liu KW, et al. 2008. *Chenorchis*, a orchid genus and its eco-strategy of ant pollination[J]. *Acta Ecologica sinica*,28(6):2 433—2 444

Liu ZJ(刘仲健),Chen LJ(陈利君),Rao WH(饶文辉), et al. 2008. Correlation between numerical dynamics and reproductive behavior in *Cypripedium lentiginosum* (长瓣杓兰种群数量动态与生殖行为的相关性)[J]. *Acta Ecol Sin*(生态学报),28:111—121

Rolfe RA. 1903. Orchidaceae. In: Forbes F B & W B Hemsley, Enumeration of all the plants known from China proper, Formosa, Hainan, the Corea. The Luchu Archipelago and the Island of Hongkong[J]. *J Linn Soc Bot*,36:5—67

(上接第 536 页 Continue from page 536)

温十分敏感,且与植物抗寒能力呈显著正相关关系,脯氨酸含量和 SOD 活性两项指标对低温具有一定敏感性,但与植物抗寒能力的关系有待于进一步研究。

参考文献:

全国牧草品种审定委员会. 1994. 中国牧草登记品种集(修订版)[M]. 第 1 版. 北京:中国农业大学出版社,178—179

苏加楷,张文淑,李敏. 1993. 牧草高产栽培[M]. 第 1 版. 北京:金盾出版社,50—51

陈山. 1994. 中国草地饲用植物资源[M]. 第 1 版. 沈阳:辽宁民族出版社,600

汤章城. 1984. 逆境条件下植物脯氨酸的积累及其可能的意义[J]. 植物生理学通讯,(1):15—21

皱琦. 2000. 《植物生理学》实验指导[M]. 第 1 版. 北京:中国农业出版社,8

Fang F(方芳),Guo SL(郭水良). 2000. Concentration changes of free proline of two exotic weeds(*Veronica*) under different conditions and their biological significance(不同环境条件下 *Veronica* 两种外来杂草叶片游离脯氨酸含量变化及其生物学意义)[J]. *J Zhejiang Norm Univ (Nat Sci Edi)*(浙江师大学报·自然科学版),23(2):190—192

Jian LC(简令成). 1992. Advances of the studies on the mecha-

nism of plant cold hardiness(植物抗寒机理研究的新进展)[J]. *Chin Bull Bot*(植物学通报),9(3):17—22

Nichoi ASS,Quinton JC. 1989. Hydroxyly radical scavenging activity of compatible solutes[J]. *Phytochemistry*,28(4):1 057—1 060

Prasad TK. 1996. Mechanism of chilling induce doxidative stress injury and tolerances. changesinanti oxidant system,oxidation of proteins and lipids and protease activities[J]. *Plant*,(10):1 017—1 026

Wang HX(王红星),Gu HM(古红梅),Zhou L(周琳), et al. 2003. Relation between the frost resistance and the carbohydrate content of leaves growing in different period(不同生长时期叶片中可溶性糖含量与抗寒性关系)[J]. *J Zhoukou Teachers Coll*(周口师范学院学报),20(5):51—52

Wang J(王娟),Li DQ(李德全). 2001. The accumulation of plant osmoticum and activated oxygen metabolism under stress(逆境条件下植物体内渗透调节物质的积累与活性氧代谢)[J]. *Chin Bull Bot*(植物学通报),18(4):459—465

Zeng SX(曾韶西),Wang YR(王以柔),Li MR(李美茹). 1997. Comparison of the changes of membrane protective system in rice seedlings during enhancement of chilling resistance by different stress pretreatment(不同胁迫预处理提高水稻幼苗抗冷期间膜保护系统的变化比较)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报),39:308—314