

绿色植物生长调节剂(GGR)对高寒草甸矮嵩草抗氧化生理指标的影响

李以康¹, 冉 飞^{2,3}, 韩 发^{1*}, 周华坤¹, 张法伟¹, 林 丽¹

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810008; 2. 中国科学院成都生物研究所, 四川 成都 610041;

3. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要: 以青藏高原高寒草甸自然生长条件下的矮嵩草 (*Kobresia humilis* (C. A. Mey ex Trauv.) Serg.) 为对象, 研究绿色植物生长调节剂 (GGR) 对其生理过程的影响。结果表明: 抗氧化酶超氧化物歧化酶 (SOD) 活性在 6 月份和 8 月份显著高于对照样地的活性 ($P < 0.05$), 在 7 月差异不显著; 抗氧化剂谷胱甘肽 (GSH) 含量差异不显著; 处理样地可溶性糖含量随时间呈倒“S”形变化, 而对照样地的含量呈“V”字形变化, 处理样地显著高于对照样地 ($P < 0.05$); 在 7 月和 8 月可溶性蛋白含量显著高于对照 ($P < 0.05$); 施用 GGR 提高了矮嵩草叶片的叶绿素 a、b 和总叶绿素含量; 在生长初期和后期, 显著降低了矮嵩草叶片超氧阴离子自由基 (O_2^-) 的产生速率。施用 GGR 提高了矮嵩草叶的抗氧化能力和渗透调节能力, 促进植物的生长。

关键词: GGR; 矮嵩草; 抗氧化能力; 渗透调节物质

中图分类号: Q945.79; S143.8

文献标识码: A

文章编号: 1007-0435(2010)01-0056-05

Impact of GGR on the Antioxidant Physiological Indices of *Kobresia humilis* (C. A. Mey ex Trauv.) Serg. in Alpine Meadow

LI Yi-kang¹, RAN Fei^{2,3}, HAN Fa^{1*}, ZHOU Hua-kun¹, ZHANG Fa-wei¹, LIN Li¹

(1. Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining, Qinghai Province 810008, China;

2. Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu, Sichuan Province 610041,

China; 3. Graduated School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract: In order to provide scientific basis for the use of GGR on the plant growth, the physiology response perennial grass *Kobresia humilis* (C. A. Mey ex Trauv.) Serg was studied outdoors in Qinghai-Tibet Plateau in 2006 by spraying GGR on the alpine meadow. The results show that the activity of superoxide dismutase (SOD) was significantly higher than that in control in June and August ($P < 0.05$), but not significant in July. The content of glutathione (GSH) was not significantly influenced. The change of soluble sugar contents appeared as inversion 'S' shape in treatment while "V" shape in control during the grown season, and it was obviously higher in treatment plots than that of the control ($P < 0.05$). In July and August, the contents of soluble protein was higher than that of the control ($P < 0.05$). The treatment increased the contents of chlorophyll a, b, and total chlorophyll. In the early and late grown season, the generation velocity of O_2^- was significantly decreased than that in control. Plant height, coverage, and biomass were also higher than those in control. The application of GGR elevated the antioxidant capacity and osmotic regulation capacity of the leaves of *K. humilis* and promoted the its growth.

Key words: GGR; *Kobresia humilis* (C. A. Mey ex Trauv.) Serg.; Antioxidant capacity; Osmoregulation substance

矮嵩草 (*Kobresia humilis* (C. A. Mey ex Trauv.) Serg.) 为疏丛型牧草, 是高寒草甸的建群种及亚高山草甸的伴生种。它植株低矮, 茎叶柔软, 适口性好, 再生性强, 耐践踏, 为青藏高原高寒草甸

的重要牧草。近些年来, 由于该地区超载放牧等不合理的干扰^[1-3] 以及全球气候变化等的影响, 使高寒草甸不断退化, 草畜矛盾日益突出, 很多地方陷入了牛羊不断增多 草地不断退化 增多的牛羊使草

收稿日期: 2009-04-27; 修回日期: 2009-11-25

基金项目: 国家科技攻关计划项目 (2005BA901A20), 国家重点基础研究发展“973”计划 (2009CB421102), 中科院西部行动计划二期项目 (KZCX2-XB2-06-02) 资助

作者简介: 李以康 (1973-), 男, 山东临沂人, 助理研究员, 硕士, 主要从事草地生态学研究, E-mail: liyikang501@163.com; * 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: hanfa@nwipb.ac.cn

地退化更严重的恶性循环,草甸的退化严重制约了当地社会经济的可持续发展,农牧民的生产和生活受到了严重威胁。

绿色植物生长调节剂(GGR)是一种水溶性、多功能高效、无公害和微肥型的生长调节剂。近些年来,GGR在农业^[4]、林业^[5]等方面得到广泛应用,效果明显。在牧草上的应用表明,GGR能够促进种子萌发,增加叶面积和叶绿素含量,并能促进根系和植株生长^[6]。对GGR研究多是集中在其对提高产量和品质等的效应方面,对植物生理方面的影响少见报道。本文以高寒草甸矮嵩草为研究对象,探讨GGR对矮嵩草生理的影响,试图揭示其促进生长的内在原因,同时期待为草甸植被的恢复生长提供有效的措施。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

矮嵩草为青藏高原高寒草甸的重要建群种,一般在4月底返青,返青后很快进入生殖生长,在5月中旬左右开花,6月结实,随后进入比较长的果后营养期,9月份随着气温降低进入黄枯期。研究区位于青海省果洛藏族自治州玛沁县境内军牧场地区(33°43' - 35°16' N, 98°48' - 100°55' E,海拔4000 m左右),属高寒半湿润气候,只有冷暖两季,没有四季之分。冷季持续时间长达7-8个月,寒冷干燥;暖季短暂湿润,长达4-5个月。年平均气温在0℃以下,温度日差较大,全年无绝对无霜期。草地类型主要以高寒草甸为主,土壤类型以高山草甸土为主。在矮嵩草生长期的前期和后期,经常有低温、霜冻和大风等不良环境条件出现,生长中期相对生长条件好,雨水充足。年降水量在420-560 mm之间,多集中在5-10月份。

1.2 实验设置

选择一块轻度退化的嵩草草甸作为试验样地^[7],群落优势种主要是矮嵩草和高山嵩草(*Kobresia pygmaea* C. B. Clarke)等,植被旺盛生长期的盖度在90%左右,其中优良牧草的比例在80%以上。在草甸上修建网围栏禁牧践踏,在围栏内地势平缓、肥力均匀的土地上划分出10 m × 15 m的区域作为样地,然后将该区域划分为6个5 m × 5 m的小区,每一小区为1个处理,3次重复,随机排列。于2006年5、6、7月下旬分别进行3次喷施GGR处理,使用20 mg · kg⁻¹浓度的GGR(由中国林业科

学研究院ABT研究开发中心研制,是调节植物生长发育非激素型的生理活性物质),每次喷施量为375 kg · hm⁻²。以与处理相同剂量的清水同步喷洒对照样地作为对照组(CK)。

6-9月下旬采样,剪取矮嵩草的地上部分,随机剪取40株左右剪碎,混合均匀,称鲜重后装在自封袋中,放在液氮罐中保存待分析。

1.3 植物材料的测定

酶液的提取:酶提取液为5 mL 0.15 mol · L⁻¹磷酸缓冲液(pH 7.0,含0.3% PVP),将矮嵩草叶子于冰浴中研磨至匀浆,滤液在15000 r · min⁻¹下离心10 min,取上清液用于酶活性的测定。超氧化物歧化酶(SOD)测定按Giannopoulitis和Ries^[8]方法;谷胱甘肽(GSH)测定参见Ellman^[9]方法;叶绿素含量的测定参照Arnon^[10]和朱光廉^[11]方法;可溶蛋白质含量的测定按照考马斯亮蓝G250染色法^[12];可溶糖含量的测定为蒽酮法^[13];超氧阴离子自由基的测定按照《现代植物生理学实验指南》^[14]方法测定。

1.4 数据处理

数据处理使用SPSS 13.0统计分析软件分析,用SigmaPlot 10.0软件进行作图。

2 结果与分析

2.1 GGR对矮嵩草叶片SOD活性和GSH含量的影响

处理和对照样地矮嵩草叶中SOD活性从7月份开始表现出了相似的趋势(图1A),都表现出倒“U”形变化,在生长前期(6月份)和后期(9月份)的活性低,生长旺盛期(7、8月份)活性高,生长前期的活性低与矮嵩草发育不完善有关,而后期的活性低可能与矮嵩草的衰老枯黄有关。6、8月份处理样地矮嵩草叶中SOD活性显著高于对照样地的($P < 0.05$),7月份差异不显著,9月份处理样地的显著低于对照样地矮嵩草叶中的SOD活性($P < 0.05$)。

处理和对照矮嵩草叶中GSH的含量随生长进程表现出相同的变化趋势:除了7月份的含量相对较低外($P < 0.05$),其他3个月份含量相近,都比较高(图1B)。8月份处理样地矮嵩草叶中GSH含量显著低于对照($P < 0.05$),其他3个月份含量相近。

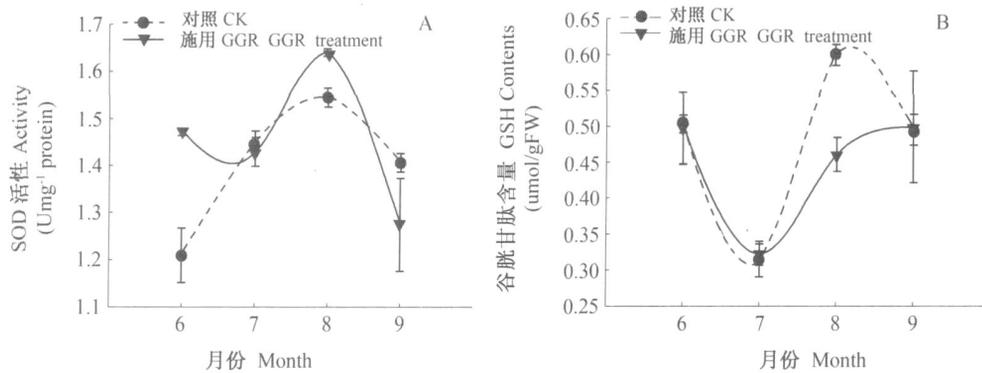


图1 GGR对矮蒿草叶片SOD活性和GSH含量的影响

Fig. 1 Effect of GGR on the activity of SOD and contents of GSH in the leaves of *K. humilis*

使用GGR对矮蒿草叶中GSH含量影响不大。

稍微低于对照样地外,其他月份普遍显著高于对照样地矮蒿草叶中的可溶性糖含量($P < 0.05$)。

2.2 GGR对矮蒿草叶片可溶性糖和可溶性蛋白含量的影响

处理样地矮蒿草叶片可溶性糖含量随生长进程表现出的低-高-低-高的倒“S”型变化,而对照样地的变化趋势呈“V”字形变化(图2A)。生长初期和生长后期的含量高,其中黄枯期的9月份含量最高。施用GGR对矮蒿草叶片的可溶性糖含量影响明显,除在8月份处理样地矮蒿草叶中可溶性糖含量

可溶性蛋白的含量随着生长进程处理和对照样地表现出的变化趋势正好相反(见图2B),对照样地表现出“V”字形变化,处理样地为倒“V”字形变化。在6月份处理的和对照之间可溶性蛋白含量差异不显著,7、8月份处理样地矮蒿草叶中可溶性蛋白含量显著高于对照($P < 0.05$),9月份显著低于对照样地矮蒿草叶中的可溶性蛋白含量($P < 0.05$)。

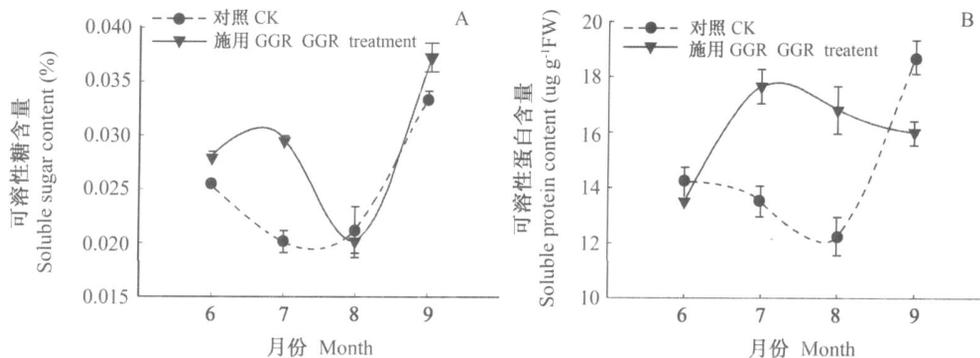


图2 GGR对矮蒿草叶片可溶性糖和可溶性蛋白含量的影响

Fig. 2 Effect of GGR on the contents of soluble sugar and protein in the leaves of *K. humilis*

2.3 GGR对矮蒿草叶片叶绿素含量的影响

施用GGR对矮蒿草叶片叶绿素的影响效果明显(图3),在整个生长过程中叶绿素a、b和总的叶绿素含量处理样地都高于对照,并且在生长进程中都呈现出倒的“U”字形变化,在生长初期(6月份)和生长末期(9月份)的含量低,生长旺盛期的7、8月份含量高。在生长初期的6月份,矮蒿草处于旺盛生长期,光合结构发育还不很完善,细胞内的叶绿体含量相对较低;7、8月份植物处于旺盛生长阶段,外界的水热条件处于相对较好的时期,叶片也得到

充分发育,所以叶绿素的含量这一时期最高;在黄枯期的9月份,外界生长条件恶劣,气温降低,部分叶绿素遭到破坏,叶绿素的含量逐渐降低。

2.4 GGR对矮蒿草叶片超氧阴离子产生速率(O_2^-)的影响

施用GGR后,处理和对照之间 O_2^- 的产生速率随生长进程表现出的变化趋势不一致(图4)。处理样地矮蒿草叶片 O_2^- 产生速率在6月份和9月份显著低于对照($P < 0.05$),而在7月份和8月份则显著高于对照($P < 0.05$)。

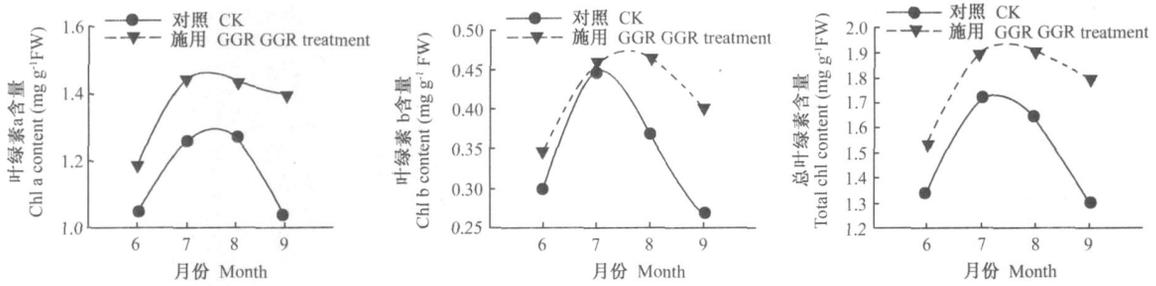
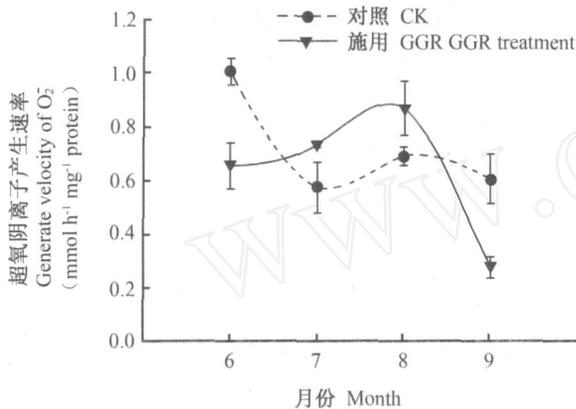


图 3 GGR对矮蒿草叶片叶绿素含量的影响

Fig. 3 Effect of GGR on the contents of chlorophyll in the leaves of *K. humilis*图 4 GGR对矮蒿草叶片O₂⁻产生速率的影响Fig. 4 Effect of GGR on the generate velocity of O₂⁻ in the leaves of *K. humilis*

3 讨论

青藏高原低氧,紫外线辐射强,昼夜温差大,植物生长期短,基本上没有真正的无霜期^[7]。高原植物不仅要经受恶劣环境影响,还要承受日益增加的过牧压力,这些都严重影响到高原植物生长和繁衍。

需氧生物在呼吸时都会产生活性氧(ROS),同时植物在生物和非生物胁迫下也会激发ROS的产生,不断增加的ROS会导致细胞膜脂氧化、改变蛋白质构象和DNA的突变等^[15]。生长在青藏高原高寒环境中的植物,抗氧化能力的高低更成为决定植物能否在高原复杂环境生存的重要因素。而植物体内的抗氧化系统(包括抗氧化酶如SOD、过氧化物酶和过氧化氢酶等及抗氧化剂如GSH、AsA等)在清除ROS,维持细胞内ROS的产生和清除的动态平衡中起着重要作用。

SOD是一组酶,处于抗氧化系统的第一道防线,可将O₂⁻清除并转变成H₂O₂,其活性的升高有利于光合作用中超氧阴离子等活性氧自由基的清除^[16],而在生长后期的降低可能作为一种胁迫信号

而激活其他抗氧化保护机制^[17]。GSH是植物体内重要的抗氧化剂,在植物体内,GSH-AsA途径在保护植物免受ROS伤害中起着重要作用^[18],GSH可保护含硫醇的酶并且可直接清除活性氧^[19]。处理样地GSH含量在黄枯期升高,弥补了SOD活性下降的影响,增强了矮蒿草在生长后期的抗逆能力,对于抵抗外界的低温霜冻天气起着重要作用。师晨娟^[5]的研究表明,不同浓度的植物生长调节剂都可以提高SOD、过氧化物酶等抗氧化酶的活性,提高可溶蛋白等渗透调节物质的含量,抗逆性得到增强。使用植物生长调节剂可以提高植物体内的激素含量,改善植物的生长^[20],酶活性的提高可能与此有关。施用GGR导致SOD活性提高的生理途径还有待于进一步的研究。

施用GGR能够提高植物体内可溶性蛋白和可溶糖等渗透调节物质的含量^[5,21,22],而渗透调节是植物适应干旱低温等不良环境的重要手段,植物通过在细胞中积累渗透调节物质降低渗透势。杨九艳等^[23]对锦鸡儿属(*Caragana* Fabr.)植物可溶性糖的结果与我们相似,在生长早期含量高,既能够降低植物体的渗透势进行渗透调节,又能够参与生长早期植物体的构成。在9月含量最高,与矮蒿草生长后期的低温干旱等恶劣天气导致的渗透调节有关,增强矮蒿草抵抗逆境渗透胁迫的能力,延长矮蒿草生长期,增强光合能力。处理样地矮蒿草叶中可溶蛋白的含量变化规律与韩发等^[24]对不同海拔矮蒿草叶中可溶蛋白含量的变化相一致,都是在7、8月份高,生长后期高于前期。与矮蒿草随发育成熟不断增强的合成能力有关,也有利于其抗寒^[24]。Öncel等^[25]对通过对高山植物和草原植物抗逆性能的研究认为,高的可溶蛋白含量在高原植物抵抗逆境胁迫的过程中起着重要作用。彭世勇^[22]认为GGR的主要成分是生长素类物质,也含有其他一些有利于生根的活性物质,能够促进细胞内RNA和蛋白质的合成。

叶绿体分子在光合作用的光能吸收和电子传递反应中起至关重要的作用^[26],叶绿素含量的高低是植物光合能力的重要指标,是植物生长状态的反映。青藏高原海拔高、温度低、光照强烈,植物为了免受强辐射的损伤,随着海拔升高叶绿素的含量降低^[27]。施用 GGR,提高了矮嵩草叶片叶绿素的含量,特别是在后期叶绿素含量高,衰老慢,延长了光合作用时间。这一结果与马静等^[6]在牧草上应用植物生长调节剂得出的结论相一致,也说明使用 GGR 改善了矮嵩草抵抗强辐射的抗氧化能力。由于高原植物生长期短^[28],GGR 使叶绿素含量的提高,对于提高光合能力、增加产量,从而提高草甸的植被盖度和生物量,有利于高寒草甸的植被恢复和载畜能力的提高。

O₂ 既能与体内的蛋白质和核酸等活性物质直接作用,又能衍生为 H₂O₂、羟自由基和单线态氧等。自由基水平的增高会造成膜脂过氧化,损坏光合器官,损伤光合反应中心^[29]。GGR 处理措施在矮嵩草生长的初期和黄枯期显著降低了 O₂ 的产生速率,对于矮嵩草抵抗这两个时期的低温、大风和干旱等高原逆境具有重要作用。施用 GGR 在矮嵩草生长初期和后期显著降低了细胞内的 O₂ 的产生速率,应该是提高了矮嵩草体内的抗氧化能力和渗透调节能力的结果,从而使植物在不良环境下能够更好的生长,这也许是 GGR 具有良好恢复效果的内在原因。

4 结论

施用 GGR 提高了矮嵩草叶抗氧化酶 SOD 的活性,但是对抗氧化剂 GSH 的含量没有显著影响。GGR 对矮嵩草叶片渗透调节物质的含量影响明显:提高了可溶糖含量;对生长盛期可溶蛋白的含量影响明显。施用 GGR 提高了矮嵩草叶叶绿素含量,促进了植物生长,显著降低了矮嵩草生长早期和晚期细胞内的 O₂ 的产生速率,提高了植物抵抗外界不良环境的能力。

参考文献

- [1] 汪诗平. 青海省“三江源”地区植被退化原因及其保护策略[J]. 草业学报, 2003, 12(6): 1-9
- [2] 周华坤, 赵新全, 赵亮, 等. 青藏高原高寒草甸生态系统的恢复能力[J]. 生态学杂志, 2008, 27(5): 697-704
- [3] 董全民, 赵新全, 马玉寿, 等. 高寒地区暖季草场放牧牦牛的生产性能及其土壤养分变化[J]. 草地学报, 2009, 17(5): 629-635
- [4] 王敏, 张从宇, 谢俊生. 植物生长调节剂对干旱条件下小麦生长的效应[J]. 安徽农学通报, 2002, 8(5): 39-40
- [5] 师晨娟. 植物生长调节剂对苗木生长及其抗性生理的影响[D]. (博士论文). 北京: 北京林业大学, 2006, 3-4
- [6] 马静, 彭玉梅, 刘林贵, 等. 绿色植物生长调节剂(GGR)在牧草上生化机理及应用研究[J]. 内蒙古草业, 2008, 20(3): 15-17
- [7] 周华坤, 赵新全, 周立, 等. 青藏高原高寒草甸的植被退化与土壤退化特征研究[J]. 草业学报, 2005, 14(3): 31-40
- [8] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase II. Purification and quantitative relationship with water soluble protein in seedlings [J]. Plant Physiology, 1997, 59: 315-318
- [9] Ellman G L. Tissue sulfhydryl groups [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1959, 82: 70-77
- [10] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris* [J]. Plant Physiology, 1949, 24: 1-15
- [11] 朱广廉. 植物生理学试验[M]. 北京: 北京大学出版社, 1990, 46
- [12] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72: 248-254
- [13] 张治安, 张美善, 蔚荣海. 植物生理学试验指导[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004, 65-67
- [14] 中国科学院上海植物生理研究所上海市植物生理学会. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 2004, 308-309
- [15] França M B, Panek A D, Eleuterio E C A. Oxidative stress and its effects during dehydration [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2007, 146: 621-631
- [16] 汪晓峰, 任红旭, 孙国钧. 四裂红景天与长鳞红景天叶片中抗氧化系统随海拔梯度的变化[J]. 植物生态学报, 2005, 29(2): 331-337
- [17] Foyer CH, Halliwell B. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplast: a proposed role in ascorbic acid metabolism [J]. Planta, 1976, 133: 21-25
- [18] Noctor G, Foyer C H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control [J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1998, 49: 249-279
- [19] Asada K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons [J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1999, 50: 601-639
- [20] 郝俊, 孙小玲, 马鲁沂, 等. 三种生长调节剂对高羊茅生长特性及赤霉素含量的影响[J]. 草地学报, 2009, 17(4): 470-473
- [21] 杨立城. 植物生长调节剂(GGR)对黄瓜生长的影响[J]. 北方园艺, 2006, 5: 9-10
- [22] 彭世勇, 曹群. ABT、GGR 生根粉和 NAA 对葡萄插条生根的影响[J]. 北方果树, 2004, 2: 11-12
- [23] 杨九艳, 杨劼, 杨明博, 等. 5 种锦鸡儿属植物渗透调节物质的变化[J]. 内蒙古大学学报(自然科学版), 2005, 36(6): 677-682
- [24] 韩发, 贲桂英, 师生波. 青藏高原不同海拔矮嵩草蛋白质、脂肪和淀粉含量的变异[J]. 植物生态学报, 1997, 27(2): 97-104
- [25] Önel I, Yurdakulol E, Kele Y, et al. Role of antioxidant defense system and biochemical adaptation on stress tolerance of high mountain and steppe plants [J]. Acta Oecologica, 2004, 26: 211-218
- [26] 王强, 温晓刚, 张其德. 光合作用光抑制的研究进展[J]. 植物学通报, 2003, 20(5): 539-548
- [27] 周党卫, 朱文琰, 滕中华, 等. 不同海拔珠芽蓼抗氧化系统的研究[J]. 应用与环境生物学报, 2003, 9(5): 489-492
- [28] Ren H X, Wang Z L, Chen X, et al. Antioxidative responses to different altitudes in *Plantago major* [J]. Environmental and Experimental Botany, 1999, 42: 51-59
- [29] 卢存福, 简令成. 高山植物短管兔耳草光合作用特性及其对冰冻胁迫的反应[J]. 植物学通报, 2000, 17(6): 559-564

(责任编辑 李扬米佳)