

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2020.02.014

青海省 6 种禾本科牧草的抗寒性研究及综合评价

李京蓉^{1,2}, 马 真^{1,3*}, 张 骞¹, 刘泽华², 张春辉³, 乔安海⁴,
邓艳芳⁴, 王文颖², 邵新庆⁵, 姚步青¹, 黄小涛¹, 周华坤^{1,3*}

(1. 中国科学院西北高原生物研究所青海省寒区恢复生态学重点实验室, 青海 西宁 810001; 2. 青海师范大学, 青海 西宁 810008;
3. 青海大学省部共建三江源生态与高原农牧业国家重点实验室, 青海 西宁 810016; 4. 青海省草原总站, 青海 西宁 810001;
5. 中国农业大学动物科技学院, 北京 100193)

摘要:为筛选出抗寒性强的牧草种质资源,本试验以同德贫花鹅观草(*Roegneria pauciflora* Tongde)、草原看麦娘(*Alopecurus pratensis*)、大颖草(*Roegneria grandiglumis*)、无芒雀麦(*Bromus inermis*)、扁穗冰草(*Agropyron cristatum*)、同德短芒披碱草(*Elymus breviaristatus* Tongde)为研究材料,对不同温度下 6 种牧草的萌发率进行了研究,并对这 6 种牧草苗期进行了抗寒锻炼、冷冻及解冻恢复生长处理,分析了不同处理阶段牧草中的丙二醛、可溶性糖和脯氨酸含量,而且采用隶属函数对 6 种牧草进行了抗寒性综合评价。结果表明:不同处理下,同种牧草的萌发率差异显著($P < 0.05$);6 种牧草的丙二醛含量在抗寒锻炼后显著增加,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;6 种牧草的抗寒性依次为无芒雀麦 > 草原看麦娘 > 同德贫花鹅观草 > 同德短芒披碱草 > 扁穗冰草 > 大颖草。本研究为退化高寒草地恢复的物种选取提供了一定的理论依据。

关键词:禾本科牧草;抗寒性;萌发率;丙二醛;可溶性糖;脯氨酸

中图分类号:Q945.78

文献标识码:A

文章编号:1007-0435(2020)02-0405-07

Cold Hardiness Research and Comprehensive Evaluation of Six Grasses in Qinghai Province

LI Jing-rong^{1,2}, MA Zhen^{1,3*}, ZHANG Qian¹, LIU Ze-hua², ZHANG Chun-hui³, QIAO An-hai⁴,
DENG Yan-fang⁴, WANG Wen-ying², SHAO Xin-qing⁵, YAO Bu-qing¹, HUANG Xiao-tao¹,
ZHOU Hua-kun^{1,3*}

(1. Key Laboratory of Cold Regions Restoration Ecology, Qinghai Province, Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining, Qinghai Province 810008, China; 2. Qinghai Normal University, Xining, Qinghai Province 810008, China;
3. The Co-constructing State Key Laboratory of Three Rivers Sources Ecology and Plateau Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining, Qinghai Province 810016, China; 4. Qinghai Province Prairie terminus, Xining, Qinghai Province 810008, China;
5. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: In order to select forage resources with strong cold resistance, the experiment was carried out with *Roegneria pauciflora* Tongde, *Alopecurus pratensis*, *Roegneria grandiglumis*, *Bromus inermis*, *Agropyron cristatum*, *Elymus breviaristatus* Tongde as the research material. The germination rate of forage seeds under different temperature treatments was studied. Under the condition of artificial temperature control, cold acclimation, freezing treatment and reviving was performed on the grass at seedling stage. The contents of MDA, soluble sugar and proline in six forages at these stages were determined. The results showed that the content of MDA increased significantly after cold resistance training, the contents of soluble sugar and proline increased after cold resistance training and freezing treatment, and decreased after re-

收稿日期:2019-09-24;修回日期:2019-10-28

基金项目:国家重点研发计划课题(2016YFC0501901);国家自然科学基金项目(31702163,31600335,31860668);中国科学院科技服务网络计划(STS计划)(KFJ-STZ-ZDTP-036, KFJ-STZ-ZDTP-056-2);中科院先导专项(XDA2005010405);青海省创新平台建设专项(2017-ZJ-Y20);青海省自然科学基金面上项目(2019-ZJ-908);青海省自然科学基金基础研究项目(2020-ZJ-733);青海省重点研发与转化计划(2016-NK-A7-BA-02;2018-SF-136);(2017)年度青海三江源生态保护和建设二期工程科研和推广项目(编号:2017-S-1);青海三江源生态保护和建设二期工程科研和推广项目(2017-S-1-04);第二次青藏高原综合科学考察研究项目(2019QZKK0302);西部之光(2018)“放牧对青海湖流域草地生产力影响的定量研究”资助

作者简介:李京蓉(1994-),女,青海民和人,硕士研究生,主要从事草地生态恢复研究, E-mail:350440948@qq.com; *通信作者 Author for correspondence, E-mail:hkzhou@nwipb.cas.cn, mazhen@nwipb.cas.cn

turning to green. The membership function method was used to evaluate the cold resistance, the order of the coldness is; *Bromus inermis* > *Alopecurus pratensis* > *Roegneria pauciflora* Tongde > *Elymus breviaristatus* Tongde > *Agropyron cristatum* > *Roegneria grandiglumis*. This study provides a theoretical basis for species selection in the restoration of degraded alpine grassland.

Key words: Grass forage; Cold resistance; Germination rate; MDA; Soluble sugar; Proline

温度是影响植物生长和地理分布的一个不可忽视的环境因素。不同植被类型的区域性分布是植被长期适应低温或高温环境的结果^[1]。青藏高原地区气候寒冷、自然条件恶劣,该区域牧草的存活、产量及品质常常受到低温的影响^[2]。因此,引进并筛选出适宜该区域种植的抗寒性强的牧草种质资源,对当地畜牧业发展和生态环境保护具有重要意义^[1]。

本研究选取的无芒雀麦(*Bromus inermis*)、草原看麦娘(*Alopecurus pratensis*)、同德短芒披碱草(*Elymus breviaristatus* Tongde)、同德贫花鹅观草(*Roegneria pauciflora* Tongde)、大颖草(*Roegneria grandiglumis*)和扁穗冰草(*Agropyron cristatum*)均为青海省多年生禾本科牧草,分布于海拔 3 000~4 300 m,为该区域的优良牧草。然而对这些牧草的研究还处于试验阶段,尚未大规模应用于人工草地的建植等方面。目前,对于无芒雀麦和扁穗冰草抗寒性方面的研究较少,主要偏重于分子基因的层面^[3-5];而草原看麦娘、同德短芒披碱草、同德贫花鹅观草、大颖草的相关研究未见报道。

陈奕吟等^[6-9]的耐寒性研究表明:在植物受到低温胁迫时,植物会积累更多的可溶性糖及蛋白、脯氨

酸等营养物质和渗透调节物,以此调控植物抗寒性,抵御低温对自身带来的伤害。植物脯氨酸含量和冷胁迫有关,脯氨酸含量在受到低温胁迫的植物体内会增加,起着调节寒冷的作用。植物在冬季低温锻炼的过程中,细胞内可溶性物质的含量呈上升趋势,到次年春天逐渐减少。可溶性糖含量也在人工低温处理过程中呈增加趋势^[10]。植物的抗寒反应是一个十分复杂的调控过程,目前人们对植物抗寒机理的认识还有待进一步研究^[11]。

本试验以 6 种禾本科牧草为材料,对幼苗期低温抗寒锻炼、冷冻处理和解冻恢复生长阶段下各牧草中的丙二醛、可溶性糖和脯氨酸含量进行了分析测定,运用隶属函数法进行抗寒性综合评判,以期更加全面鉴定各牧草的抗寒性,揭示牧草在不同温度胁迫下的响应规律,为退化高寒草地恢复选取建植物种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本试验以青海省分布较为广泛的 6 种禾本科牧草为研究对象并进行抗寒性评价。详情见表 1。

表 1 供试材料
Table 1 Test materials

材料 Material	来源 Source
同德贫花鹅观草 <i>Roegneria pauciflora</i> Tongde	青海省牧草良种繁殖场 Qinghai Province Pasture Breeding Farm
草原看麦娘 <i>Alopecurus pratensis</i>	青海省草原总站 Qinghai Provincial Grassland Station
无芒雀麦 <i>Bromus inermis</i>	青海省草原总站 Qinghai Provincial Grassland Station
大颖草 <i>Roegneria grandiglumis</i>	青海省草原总站 Qinghai Provincial Grassland Station
扁穗冰草 <i>Agropyron cristatum</i>	青海省草原总站 Qinghai Provincial Grassland Station
同德短芒披碱草 <i>Elymus breviaristatus</i> Tongde	青海省牧草良种繁殖场 Qinghai Province Pasture Breeding Farm

1.2 试验方法

1.2.1 牧草萌发试验 选取 6 种禾本科牧草饱满且无病虫害的种子,放置于 1% 氯化钠溶液中 15 min,蒸馏水冲洗 3 遍后置于培养皿中(铺有 3 层滤纸)。培养皿分别放在光照/黑暗 14 h/10 h,温度分别为 0℃, 5℃, 10℃, 15℃ 的光照培养箱中。每天加入蒸馏水以补充吸收的水分。每个处理温度 4 个重复,每个重复 50 粒种子。自种子置于培养箱中开始观察,以胚芽长度等于萌发种子 1/2 的长度为标准

记为萌发,之后每天记录萌发种子的数量,连续 12 d 不再有萌发种子,记为试验结束^[12-13],按照下式进行计算。

萌发率(%) = (萌发种子数/供试种子数) × 100%。

1.2.2 牧草苗期试验 对种植牧草的土壤基质进行去除杂质及筛分,基质中沙:有机肥:土比例为 1:1:4。1% NaCl 消毒后的种子种植于塑料花盆中,深度为 1 cm。幼苗长至 2~3 片叶时进行间苗,每盆 30 株。6 种牧草每种 4 盆,共 24 盆。幼苗

4~5 片真叶时移至营养盒并置于智能气候箱(白天/夜间的光照、温度及湿度分别为 14 h/10 h, 25°C/20°C, 60%/75%) 进行前期培养;之后依次在(白天/夜间)20°C/15°C、15°C/10°C、10°C/5°C、5°C/3°C、3°C/1°C 五个温度梯度下进行抗寒锻炼,每个温度 24 h(光照和湿度条件同前期培养);接着转入-10°C, -15°C 冰箱进行冷冻处理 24 h,再按与抗寒锻炼相反的顺序依次进行升温(光照和湿度同前期培养),白天/夜间 23°C/18°C 培养 15 d 后观察返青率。整个试验过程中,土壤保持湿润。分别在未处理对照、抗寒锻炼后、冷冻处理完并解冻 24 h 后和返青培养 10 d 后随机取叶片样品进行相关指标的测定。

1.3 牧草苗期生理指标测定及方法

1.3.1 丙二醛含量 参见李京蓉等丙二醛含量测定方法^[14]。

丙二醛($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$) = [丙二醛浓度($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) × 提取液体积(ml)] / 植物组织鲜重(g)。

1.3.2 可溶性糖含量 参见李京蓉等可溶性糖含量测定方法^[14]。

可溶性糖含量($\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$) = (C × V/a) / W,

C: 由标准曲线求得; V: 提取液总体积(ml); a: 测定时所吸取的体积(ml); W: 样品重(g)。

1.3.3 游离脯氨酸(PRO)含量 参见李京蓉等游离脯氨酸含量测定方法^[14]。

脯氨酸($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$) = (C × V/a) / W,

C: 提取液中脯氨酸的浓度, 由标准曲线求得; V: 提取液总体积(ml); a: 测定时所用体积(ml); W: 样品重(g)。

1.4 隶属函数分析

采用 Fuzzy 隶属函数法对 6 种牧草的抗寒性进行综合评判。与抗寒性呈正相关的参数采用公式:

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

与抗寒性呈负相关的参数采用公式:

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

X_{ijk} 表示第 i 个品种第 j 个处理下的第 k 个指标的测定值; $U(X_{ijk})$ 表示第 i 个品种第 j 个处理下的第 k 个指标的抗寒隶属度值/隶属函数值, 且 $U(X_{ijk}) \in [0, 1]$; X_{\min} , X_{\max} 表示测定值中的最小值和最大值。牧草抗寒性是多项指标综合作用的结果, 采用隶属函数法, 综合评价 6 种牧草的抗寒性。先求出各牧草各指标参数的隶属函数值, 再将各牧草各项指标的隶属函数值累加起来求其平均值得出总隶属函数值, 总隶属函数值越大, 抗寒性越强, 反之则弱。

1.5 数据处理与分析

采用 Excel 2007 和 SPSS 20.0 对试验数据进行处理和方差分析及多重比较(Duncan 法^[15])。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫对 6 种禾本科牧草萌发率的影响

5°C 和 10°C 温度条件下, 同种牧草的萌发率差异不显著。同德贫花鹅观草、草原看麦娘、无芒雀麦、扁穗冰草、同德短芒披碱草的萌发率在 15°C 时显著高于其它处理(表 2)。

表 2 不同温度处理下的萌发率

Table 2 The germination rate under different temperatures / %

品种 Species	萌发率	萌发率	萌发率	萌发率	平均 Average
	Germination rate	Germination rate	Germination rate	Germination rate	
	0°C	5°C	10°C	15°C	
同德贫花鹅观草 <i>Roegneria pauciflora</i> Tongde	11.0 ± 5.7 ^c	47.0 ± 6.6 ^b	22.5 ± 9.1 ^b	56.5 ± 6.0 ^a	34.3 ± 19.8
草原看麦娘 <i>Alopecurus pratensis</i>	29.0 ± 5.3 ^c	70.5 ± 17.9 ^b	89.0 ± 3.5 ^b	91.0 ± 2.6 ^a	69.9 ± 27.1
无芒雀麦 <i>Bromus inermis</i>	12.0 ± 6.3 ^c	36.0 ± 7.8 ^b	46.5 ± 7.5 ^b	58.0 ± 9.9 ^a	38.1 ± 18.9
大颖草 <i>Roegneria grandiglumis</i>	4.5 ± 2.5 ^c	28.0 ± 4.6 ^a	10.0 ± 1.6 ^a	16.5 ± 1.9 ^b	14.8 ± 9.4
扁穗冰草 <i>Agropyron cristatum</i>	0.0 ± 0.0 ^c	4.5 ± 3.4 ^b	7.0 ± 2.0 ^b	10.5 ± 1.9 ^a	5.5 ± 4.4
同德短芒披碱草 <i>Elymus breviaristatus</i> Tongde	17.5 ± 7.9 ^c	30.5 ± 9.8 ^b	24.0 ± 7.1 ^b	51.0 ± 15.5 ^a	30.8 ± 16.1

注: 不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$), 下同

Note: Different lowercase letters indicate significant difference at the 0.05 level, the same as below

2.2 低温对 6 种禾本科牧草幼苗期各生理指标影响

2.2.1 返青情况 试验得出各牧草种返青率分别为: 无芒雀麦(69.5%) > 草原看麦娘(64.3%) >

同德短芒披碱草(51.6%) > 同德贫花鹅观草(47.4%) > 大颖草(32.8%) > 扁穗冰草(19.7%), 如图 1 所示。

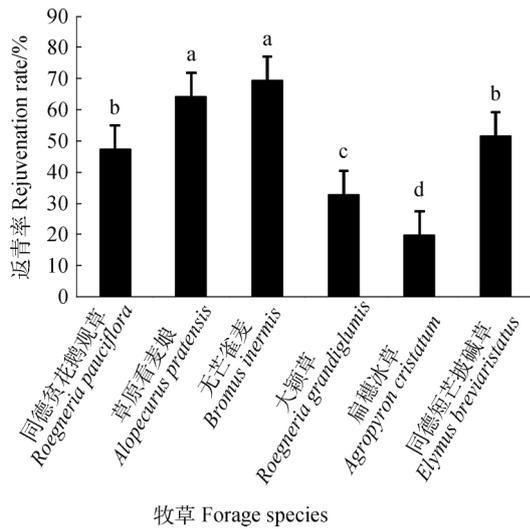


图1 冷冻处理解冻后的返青率情况

Fig. 1 Reviving rate situation after freezing thawing

2.2.2 丙二醛含量的变化 各牧草的丙二醛含量随胁迫程度增加呈上升趋势,且各处理间差异显著 ($P < 0.05$) (表3)。草原看麦娘、无芒雀麦和同德短芒披碱草的丙二醛含量在返青时达到最高,其余牧草的丙二醛含量在返青时均有不同程度的下降。

2.2.3 可溶性糖含量的变化 各牧草可溶性糖含量在抗寒锻炼、冷冻处理及返青后均有不同程度的增加(表4)。草原看麦娘和无芒雀麦可溶性糖含量在返青后达到最大;其余四个物种的可溶性糖含量在冷冻处理和返青后差异不显著。

2.2.4 脯氨酸含量的变化 各牧草的脯氨酸含量随胁迫强度增加呈现先升高后降低的趋势(表5)。其中,草原看麦娘在抗寒锻炼后积累到最大含量,而后持续降低;其余牧草在冷冻处理后积累到最大含量,返青后降低,但所有牧草的脯氨酸含量仍显著高于对照 ($P < 0.05$)。

表3 不同处理对丙二醛含量的影响

Table 3 MDA content under different treatments

品种 Species	丙二醛 MDA/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$					
	对照 CK	抗寒锻炼 Cold acclimation	冷冻处理 Freezing treatment		返青 Reviving	
			-15.00	-10.00	-15.00	-10.00
同德贫花鹅观草 <i>Roegneria pauciflora</i> Tongde	7.92±0.06 ^f	8.33±0.01 ^e	12.46±0.03 ^a	10.34±0.02 ^c	12.37±0.02 ^b	10.05±0.02 ^d
草原看麦娘 <i>Alopecurus pratensis</i>	3.77±0.02 ^f	6.45±0.02 ^e	9.44±0.01 ^c	8.25±0.02 ^d	12.87±0.02 ^a	11.97±0.01 ^b
无芒雀麦 <i>Bromus inermis</i>	4.93±0.03 ^f	6.75±0.02 ^e	10.03±0.01 ^c	8.86±0.02 ^d	12.16±0.01 ^a	10.78±0.02 ^b
大颖草 <i>Roegneria grandiglumis</i>	8.14±0.02 ^f	9.05±0.03 ^e	13.58±0.03 ^a	12.37±0.02 ^b	12.25±0.02 ^c	11.15±0.02 ^d
扁穗冰草 <i>Agropyron cristatum</i>	9.76±0.03 ^f	11.06±0.01 ^e	17.76±0.02 ^a	15.24±0.04 ^c	16.05±0.02 ^b	14.77±0.02 ^d
同德短芒披碱草 <i>Elymus breviaristatus</i> Tongde	7.04±0.02 ^f	7.87±0.02 ^e	12.17±0.02 ^b	9.95±0.02 ^d	14.34±0.04 ^a	11.26±0.02 ^c

表4 不同处理对可溶性糖含量的影响

Table 4 Soluble sugar content under different treatments

品种 Species	可溶性糖 Soluble sugar/ $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$					
	对照 CK	抗寒锻炼 Cold acclimation	冷冻处理 Freezing treatment		返青 Reviving	
			-15.00	-10.00	-15.00	-10.00
同德贫花鹅观草 <i>Roegneria pauciflora</i> Tongde	2.27±0.00 ^c	5.82±0.00 ^b	6.88±0.01 ^a	6.94±0.03 ^a	5.26±0.00 ^a	5.44±0.01 ^a
草原看麦娘 <i>Alopecurus pratensis</i>	3.05±0.00 ^d	4.25±0.02 ^c	5.93±0.01 ^b	5.34±0.02 ^b	7.97±0.01 ^a	8.47±0.00 ^a
无芒雀麦 <i>Bromus inermis</i>	2.38±0.01 ^d	5.98±0.00 ^c	7.84±0.00 ^b	7.85±0.02 ^b	8.82±0.01 ^a	6.91±0.02 ^a
大颖草 <i>Roegneria grandiglumis</i>	1.85±0.01 ^e	4.03±0.01 ^b	6.06±0.01 ^a	6.79±0.02 ^a	5.68±0.01 ^a	5.79±0.00 ^a
扁穗冰草 <i>Agropyron cristatum</i>	1.50±0.01 ^e	3.94±0.00 ^b	5.96±0.03 ^a	6.05±0.02 ^a	5.97±0.01 ^a	5.98±0.01 ^a
同德短芒披碱草 <i>Elymus breviaristatus</i> Tongde	2.13±0.02 ^c	5.56±0.02 ^b	6.58±0.01 ^a	6.63±0.01 ^a	5.34±0.02 ^a	5.57±0.01 ^a

表 5 不同处理对脯氨酸含量的影响

Table 5 Proline content under different treatments

品种 Species	脯氨酸 Proline/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$					
	对照	抗寒锻炼	冷冻处理		返青	
	CK	Cold acclimation	Freezing treatment		Reviving	
同德贫花鹅观草 <i>Roegneria pauciflora</i> Tongde	3.43±0.07 ^e	4.74±0.01 ^d	15.24±0.03 ^a	14.48±0.03 ^b	8.75±0.02 ^c	9.57±0.04 ^c
草原看麦娘 <i>Alopecurus pratensis</i>	3.55±0.02 ^e	12.67±0.02 ^a	10.87±0.02 ^b	9.45±0.02 ^c	8.15±0.02 ^d	8.56±0.03 ^d
无芒雀麦 <i>Bromus inermis</i>	3.85±0.02 ^e	7.76±0.02 ^d	15.38±0.01 ^a	14.38±0.02 ^b	9.35±0.03 ^c	10.84±0.03 ^c
大颖草 <i>Roegneria grandiglumis</i>	3.45±0.02 ^e	4.65±0.03 ^d	11.75±0.01 ^a	9.25±0.02 ^b	5.64±0.02 ^c	6.37±0.03 ^c
扁穗冰草 <i>Agropyron cristatum</i>	4.35±0.03 ^e	5.16±0.02 ^d	9.85±0.03 ^a	8.57±0.03 ^b	7.26±0.02 ^c	7.65±0.02 ^c
同德短芒披碱草 <i>Elymus brevيارistatus</i> Tongde	3.47±0.02 ^e	4.46±0.03 ^d	14.77±0.02 ^a	12.36±0.01 ^b	11.16±0.03 ^c	9.15±0.03 ^c

2.3 抗寒性综合评价

通过隶属函数法对 6 种牧草的抗寒性进行综合评判,

结果表明其抗寒性强弱顺序为:无芒雀麦>草原看麦娘>

同德贫花鹅观草>同德短芒披碱草>扁穗冰草>大颖草。

表 6 6 种牧草的抗寒性综合评价

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

物种 Species	萌发率	丙二醛含量	可溶性糖	脯氨酸	总隶属函数值
	Germination rate	MDA content	Soluble sugar	Proline	Total membership function value
同德贫花鹅观草 <i>Roegneria pauciflora</i> Tongde	0.44	0.43	0.47	0.48	0.45
草原看麦娘 <i>Alopecurus pratensis</i>	0.52	0.38	0.51	0.44	0.47
无芒雀麦 <i>Bromus inermis</i>	0.50	0.40	0.54	0.54	0.49
大颖草 <i>Roegneria grandiglumis</i>	0.36	0.48	0.45	0.40	0.42
扁穗冰草 <i>Agropyron cristatum</i>	0.35	0.53	0.43	0.41	0.43
同德短芒披碱草 <i>Elymus brevيارistatus</i> Tongde	0.39	0.44	0.46	0.46	0.44

3 讨论

植物的耐寒性是植物对低温伤害抵御能力^[16-17]的表现。在高寒地区,耐寒性是牧草适应性和生产力的重要指标^[18]。在长期的进化过程中,植物逐渐适应环境,从而形成对外部刺激的响应机制,其中包括对外界刺激的快速响应、信号的快速接收、放大、传递和响应,并引起相应的生理变化^[19]。植物理化指标的变化是植物自我保护的重要机制之一^[20]。解冻恢复后的返青率能一定程度上反映牧草的抗寒能力,返青率越高,抗寒性越强,反之则弱。

冷激后的丙二醛含量是影响细胞膜稳定性的一个重要指标。丙二醛是植物膜脂过氧化的产物。其含量与细胞膜损伤程度有关,反映了植物细胞的受损伤程度^[21]。因此,丙二醛的含量已成为鉴定和评价逆境对生物膜损伤程度的重要指标之一^[22-23]。低温下,抗寒性强的物种中丙二醛含量较低^[24]。本研究的结果显示,低温处理后,各牧草的丙二醛含量有不同程度的增加,草原看麦娘和无芒雀麦丙二醛含量显著低于其它几种禾本科牧草。从丙二醛含量这个指标来看,草原看麦娘和无芒雀麦的抗寒性较强。

可溶性糖可以提高细胞溶胶的浓度,降低凝固

点并与水结合,增加细胞内束缚水的含量,提高原生质的粘度,增加细胞的抗结冰和抗脱水性^[20]。植物中可溶性糖含量越高,细胞液浓度越高,植物的抗寒性越强^[25-26]。在本试验中,草原看麦娘和无芒雀麦返青后的可溶性糖含量显著高于其余牧草,这是因为牧草遭到冻害胁迫时,可溶性糖提高了细胞液浓度并缓和了细胞质过度脱水,从而使细胞不致遇冷凝固,提高了植物的抗寒性。本研究对禾本科牧草的抗寒性综合评价结果与之前研究中得出的可溶性糖含量的增加与物种耐寒性成正相关的结论一致^[27]。

一般情况下,植物中的游离脯氨酸含量较低,在低温损伤后迅速增加以应对压力^[28]。在胁迫条件下,脯氨酸的积累与植物损伤程度呈正相关,表明脯氨酸的积累是对不利条件的伤害性反应^[29]。一般认为脯氨酸是一种具有低温保护作用的物质^[30-31],但脯氨酸在植物抗寒性中的作用仍存在分歧^[32-33]。在本试验中,抗寒锻炼后和冷冻处理后牧草的脯氨酸含量显著增加,禾本科牧草通过增加脯氨酸含量来提高抗寒性,这与以前的研究一致^[6]。返青后脯氨酸含量略有下降,但仍显著高于对照,表明其对低温胁迫较为敏感,对牧草的耐寒性有重要的调控作

用。

植物抗寒性受到其理化特性的影响,决定了植物的抗寒能力。本研究借鉴黎燕琼利用模糊数学隶属函数对岷江上游不同种源的四种植物评价的方法^[34-36],对 6 种牧草的萌发率、丙二醛、可溶性糖、脯氨酸 4 个理化参数进行了综合分析,得出其抗寒性顺序依次为:无芒雀麦>草原看麦娘>同德贫花鹅观草>同德短芒披碱草>扁穗冰草>大颖草。该结果与 6 种牧草的返青率基本一致,达到了预期效果。研究表明,该方法同样适用于植物抗寒性评价。

综上所述,植物的耐寒性受到多种物质的调控。丙二醛含量,可溶性糖含量和脯氨酸含量的变化可以调节细胞的储水能力,保护生物膜,防止膜脂质和蛋白质的过氧化^[37-38],维持细胞膜完整性,减少低温对牧草的损害,它既是一种牧草对低温适应的应激反应,也是牧草越冬生存的重要调节机制^[39-40]。

4 结 论

本研究利用隶属函数对 6 种牧草种子萌发率、丙二醛、可溶性糖和脯氨酸含量 4 个理化指标进行了综合分析,研究表明,抗寒性顺序依次为:无芒雀麦>草原看麦娘>同德贫花鹅观草>同德短芒披碱草>扁穗冰草>大颖草。本研究在一定程度上揭示了 6 种牧草在不同温度胁迫下的响应规律,为退化高寒草地恢复选取建植物种提供了一定的理论依据。

参 考 文 献

[1] 李轶冰,杨顺强,任广鑫,等. 低温处理下不同禾本科牧草的生理变化及其抗寒性比较[J]. 生态学报,2009,29(03):1341-1347

[2] 郭树栋. 几种多年生禾草在高寒地区的引种栽培试验[J]. 草业与畜牧,2006(10):13-15

[3] Lee S P, Chen T H. Molecular cloning of abscisic acid-responsive mRNAs expressed during the induction of freezing tolerance in bromegrass (*Bromus inermis* Leyss) suspension culture [J]. *Plant Physiol*,1993,101:1089-1096

[4] Ishikawa M,Robertson A J,Gusta L V. Comparison of viability tests for assessing cross adaptation to freezing, heat and salt stresses induced by abscisic acid in bromegrass (*Bromus inermis* Leyss) suspension cultured cells[J]. *Plant Sci*,1995,107:83-93

[5] 张楠. 扁穗冰草抗逆相关基因的克隆和表达特性分析[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2011:9-10

[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[J]. 安徽农学报,2007,13(7):41-43

[7] 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[J]. 生态学报,1996,16(4):402-407

[8] 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[J]. 山东农业科学,2007,3:46-49

[9] 张峰源,曾钰洁. 植物抗性的研究进展[J]. 林业科技情报,2019,51(1):1-3

[10] 杨顺强. 不同禾本科牧草在干旱胁迫和低温胁迫下的生理响应[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2008:42-46

[11] 周棋赢,韩月华,潘娟娟,等. 植物抗寒机理研究进展. 信阳师范学院学报(自然科学版)[J],2019,32(3):511-516

[12] 朱教君,李智辉,康宏樟,等. 聚乙二醇模拟水分胁迫对沙地樟子松种子萌发影响研究[J]. 应用生态学报,2005,(05):801-804

[13] 冯淑华,陈雅君. 干旱对草地早熟禾种子萌发的影响[J]. 草地与草坪,2006,25(1):70-71

[14] 李京蓉,周学斌,马真,等. 6 种高寒牧区禾本科牧草抗旱性研究与评价[J]. 草地学报,2018,26(3):659-665

[15] Li S G. Practical biological statistic[M]. Beijing:Beijing University Press,2002:134-139

[16] 云锦风,米福贵,杨青川,等. 牧草育种技术[M]. 北京:化学工业出版社,2004:336

[17] 杜希夷,肖亮,蒋建雄,等. 中国芒属植物抗寒性初步研究[J]. 草地学报,2014,22(4):803-807

[18] 罗新义,李红,刘学峰,等. 多年生牧草的抗寒性[J]. 黑龙江畜牧兽医,1996(11):21-23

[19] 吴能表,钟永达,肖文娟,等. 零上低温对甘蓝幼苗逆境指标的动态影响[J]. 西南师范大学学报,2005,30(3):525-528

[20] 黄华,郭水良. 外来植物加拿大一枝黄花生理指标的季节动态及其适应意义[J]. 浙江师范大学学报,2005,28(2):201-205

[21] 乔枫,罗桂花,耿贵工. 蚕豆幼苗对 NaCl 和 NaHCO₃ 胁迫的生理响应[J]. 安徽农业大学学报,2011,38(5):783-787

[22] Pan X Y, Cao Q D, Wang G X. Evaluation of Lipid Peroxidation for Use in Selection of Cold Hardiness Cultivars of Almond[J]. *Acta Ecologica Sinica*,2002,22(11):1902-1911

[23] Zhou R L, Zhao H L. Protecting enzyme system of herbage and its functions in the cold growing process in alpine and cold region[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*,2002,22(3):566-573

[24] 杨丹,田新会,杜文华. 红三叶新品系生理生化指标对低温的响应机理[J]. 草地学报,2019,27(1):163-169

[25] 王静,杨持. 冷蒿耐寒生理特性的研究[J]. 内蒙古大学学报(自然科学版),2002,33(6):673-676

[26] 申晓慧,姜成,冯鹏,等. 六种紫花苜蓿在高寒地区抗寒生理特性差异比较研究[J]. 草地学报,2016,24(5):1131-1133

[27] 张国珍,肖向阳. 八种引种草坪植物的耐寒性比较研究[J]. 植物研究,1997,17(2):200-206

[28] 龚明,刘友良,朱培仁. 低温下稻苗叶片中蛋白质及游离脯氨酸的变化[J]. 植物生理学通讯,1989(4):18-22

[29] 卢少云,郭振飞. 草坪草逆境生理研究进展[J]. 草业学报,2003,12(4):7-13

- [30] Krnuv J, Glofcheski D J. Protective effects of aminoacids against freeze thaw damage in mammalian cells[J]. *Cryobiology*, 1992, 29: 291-295
- [31] 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 [J]. *Plant Physiol*, 1993, 142: 222-225
- [32] Xin Z, Browse J. Eskimol mutants of *Arabidopsis* are constitutively freezing-tolerant[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(7): 7799-7804
- [33] Wanner L A, Junntila O. Cold-induced freezing tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 1999, 120(7): 391-399
- [34] 李松岗. 实用生物统计[M]. 北京: 北京大学出版社, 2002: 134-139
- [35] 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[J]. *生态学报*, 2002, 22(11): 1902-1911
- [36] 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[J]. *生态学报*, 2007, 27(3): 870-878
- [37] 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[J]. *Acta Biologica Experimentalis Sinica*, 1991, 24(3): 249-257
- [38] Jiang M Y, Guo S C, Zhang X M. Proline accumulation in rice seedlings exposed to oxidative stress in relation to antioxidant[J]. *Acta Phytophysiological Sinica*, 1997, 23(4): 347-352
- [39] 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[J]. *草业科学*, 2006, 23(7): 15-18
- [40] 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[J]. *生态学报*, 2001, 21(6): 885-870

(责任编辑 闵芝智)