

高温胁迫对 5 种牧草生理生化特性的影响

李龙兴¹, 王志伟², 陈莹²

(1. 贵州省草地技术试验推广站, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州省草业研究所, 贵州 贵阳 550006)

摘要:利用生化培养箱模拟了高温胁迫(38℃/30℃)对高羊茅(*Festuca elata*)、鸭茅(*Dactylis glomerata*)、一年生黑麦草(*Lolium multiflorum*)、宽叶雀稗(*Paspalum wetsfeteini*)和百喜草(*Paspalum notatum*)等 5 种牧草生理生化特性的影响。结果表明:高温胁迫下,5 种牧草的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性、可溶性蛋白含量(SP)和谷胱甘肽含量(GSH)均呈现先上升后下降的趋势,丙二醛含量(MDA)持续上升,叶绿素含量(SPAD)呈现明显下降趋势。百喜草和宽叶雀稗对高温胁迫适应能力明显强于一年生黑麦草、鸭茅和高羊茅。

关键词:牧草;高温胁迫;生理生化指标

中图分类号:S54;Q945.78

文献标志码:A

文章编号:1009-5500(2019)04-0107-05

高温逆境胁迫使植物抵抗能力降低,生长势减弱,从而导致产量降低,品质劣化^[1]。鉴于高温是制约牧草生长的重要生态因子之一,不同牧草在高温环境下都会表现出一定的适应性,特别是通过一些内在的生理和生化机制能够抵御一定程度的高温胁迫,如通过体内细胞膜脂组分的变化、抗氧化系统对氧自由基的清除、热激蛋白的合成以及渗透调节来减轻高温对植物的伤害。

一年生黑麦草(*Lolium multiflorum*)适宜生长在我国长江流域以南地区,喜温热和湿润气候,在昼夜温度为 27℃/12℃时,生长最快,夏季炎热则生长不良,甚至枯死;高羊茅(*Festuca elata*)主要分布于广西、四川、贵州,喜寒冷潮湿、温暖的气候,不耐高温;鸭茅(*Dactylis glomerata*)原产欧、亚温带地区,在我国西南常见,喜温暖、湿润的气候,最适生长温度为 10~28℃,30℃以上生长缓慢;宽叶雀稗(*Paspalum wetsfeteini*)在我国西南、华南地区均有栽培,喜高温多雨的气候,在我国南亚热带地区四季常青,夏秋季节生长

最茂盛;百喜草(*Paspalum notatum*)原产美洲,适宜于热带和亚热带地区,耐旱、耐热性较好。

为了进一步揭示贵州地区常见牧草对高温胁迫的适应性,选择以上 5 种牧草品种,通过模拟高温胁迫,测定、分析超氧化物歧化酶活性(SOD)、过氧化物酶活性(POD)、丙二醛含量(MDA)、可溶性蛋白含量(SP)、谷胱甘肽含量(GSH)和叶绿素相对含量(SPAD 值)的变化规律。旨在探讨高温胁迫对不同牧草生理生化特性的影响,以期为贵州地区牧草种植及品种的选育提供理论参考。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验所用高羊茅、鸭茅、一年生黑麦草、宽叶雀稗、百喜草种子由贵州省草业研究所提供。

1.2 试验方法

分别选取饱满的 5 种牧草种子 200 粒种植在塑料盆内,每个品种 9 盆,pH 值 5.32,有机质 21.3 g/kg,水解氮 75.2 mg/kg,速效磷 12.48 mg/kg、速效钾 126.1 mg/kg,置于室外培养 2 个月后,选择长势良好、形态大小一致的植株移入生化培养箱,在 23℃/20℃(7:00~19:00/19:00~7:00)条件下预处理一周,在处理期间保证适宜的光照强度和水分,空气湿度 76%~80%,预处理结束后,设置 38℃/30℃(7:00~19:00/19:00~7:00)进行高温胁迫,分别在 0、24、48、

收稿日期:2018-06-26;修回日期:2019-04-01

基金项目:贵州省基金(黔科合 LH 字[2014]7699);贵州省科技支撑计划(黔科合支撑[2019]2367 号)资助

作者简介:李龙兴(1986-),男,陕西汉中,人,硕士研究生。

E-mail:lilongxing3110@163.com

陈莹为通讯作者。E-mail:cy860803@163.com

72 h 选取形态均匀一致的完整叶片,测定 SOD、POD 活性,MDA、SP、GSH 含量和叶绿素含量(SPAD 值)。

1.3 指标测定

SOD 活性采用氮蓝四唑光还原法^[2];POD 活性的测定采用愈创木酚显色法,加入反应体系后以每分钟吸光度变化($D_{470\text{ nm}}$)变化 0.01 为一个过氧化物酶活力单位^[2];MDA 含量采用硫代巴比妥酸显色法测定^[3];SP 的含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法;GSH 含量测定参照刘萍的方法^[4];叶绿素含量用 HM-YB 叶绿素测定仪测定。

1.4 数据处理

采用 Excel 进行数据统计分析并作图,用 SPSS 软件进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 高温胁迫下不同牧草 SOD 活性的变化

随着胁迫时间的延长,5 种牧草 SOD 呈现先上升后下降的趋势(图 1)。胁迫 48 h 后,5 种牧草 SOD 活性均达到最大值,之后开始下降。百喜草和宽叶雀稗 SOD 活性在高温胁迫过程中明显高于一年生黑麦草、鸭茅和高羊茅。

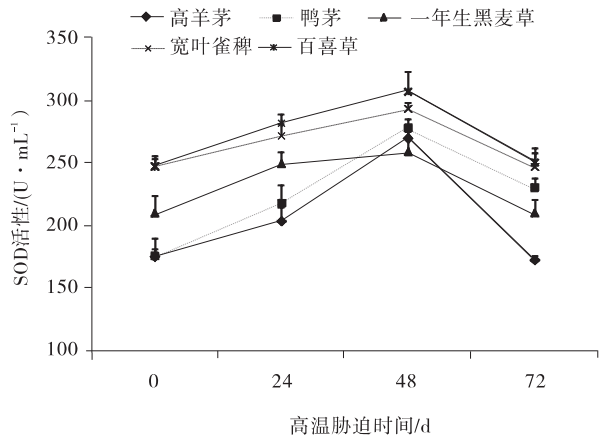


图 1 高温胁迫下不同牧草的 SOD 活性

Fig. 1 Changes of SOD activity of different forages under high temperature stress

2.2 高温胁迫下不同牧草 POD 活性的变化

高温胁迫下,POD 活性先增加后降低,呈现与 SOD 活性相似的变化趋势(图 2)。高温胁迫 24 h,5 种牧草 POD 活性均达到最大值,POD 活性强弱顺序为:宽叶雀稗(116.12 U/mL)>百喜草(115.0 U/mL)>高羊茅(104.3 U/mL)>一年生黑麦草(102.5 U/mL)>鸭茅(96.0 U/mL),高温胁迫 24 h 后,POD

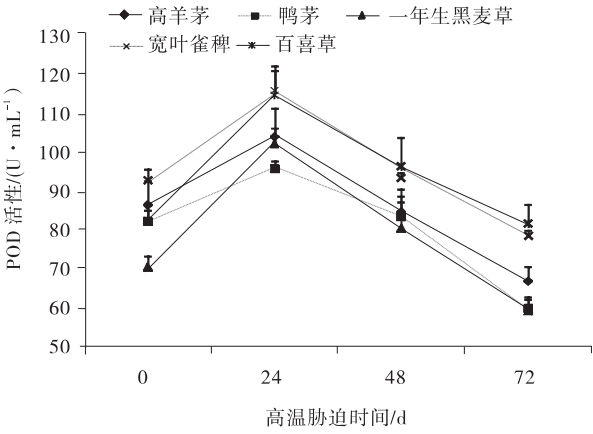


图 2 高温胁迫下不同牧草的 POD 活性

Fig. 2 Changes of POD activity of different forages under high temperature stress

活性均迅速下降。

2.3 高温胁迫下不同牧草 MDA 含量的变化

随着高温胁迫时间的延长,5 种牧草的 MDA 含量持续上升(图 3),胁迫 72 h 后,高羊茅、鸭茅、一年生黑麦草、宽叶雀稗和百喜草 MDA 含量比对照组分别增加了 93.6%、52.4%、52.7%、57.8% 和 58.8%。其中,宽叶雀稗和百喜草的 MDA 含量低于高羊茅、鸭茅和一年生黑麦草。

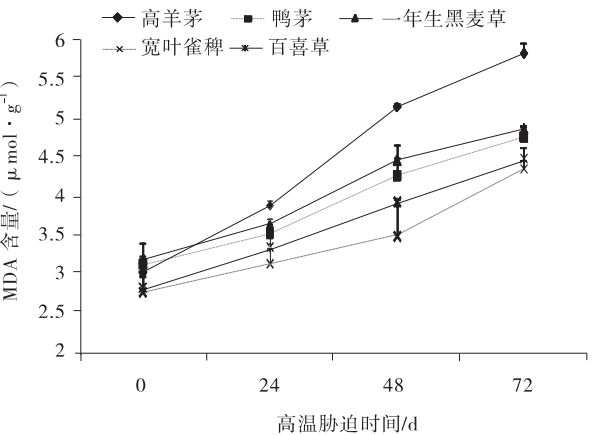


图 3 高温胁迫下不同牧草的 MDA 含量

Fig. 3 Changes of MDA content in different forages under high temperature stress

2.4 高温胁迫下不同牧草 GSH 含量的变化

不同牧草 GSH 含量在高温胁迫下均呈现先上升后下降的趋势(图 4)。胁迫 24 h,5 种牧草 GSH 含量均达到最大值,高羊茅、鸭茅、一年生黑麦草、宽叶雀稗和百喜草 GSH 含量分别为 15.3、16.3、14.1、14.6 和 15.5 μg/g FW,胁迫 24 h 之后 GSH 含量开始下降。

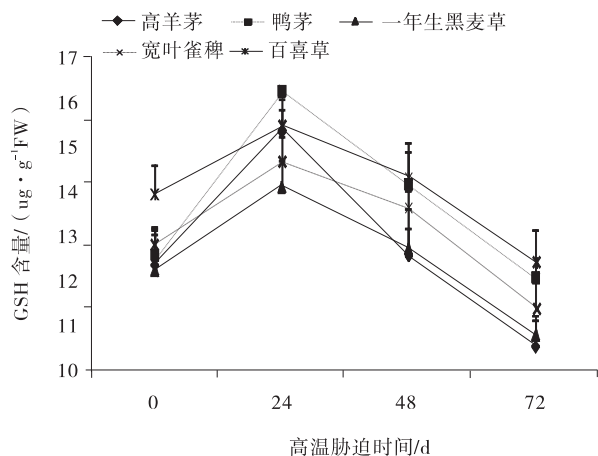


图 4 高温胁迫下不同牧草的 GSH 含量

Fig. 4 Changes of GSH content in different forages under high temperature stress

2.5 高温胁迫下不同牧草 SP 含量的变化

随着高温胁迫时间的延长,5 种牧草 SP 含量呈先升高后降低趋势(图 5)。高羊茅、鸭茅和一年生黑麦草 SP 含量在高温胁迫 24 h 达到最大值,而百喜草和宽叶雀稗 SP 含量在高温胁迫 48 h 后达到最大值,之后开始下降,且下降不明显。在整个高温胁迫过程中,宽叶雀稗和百喜草的 SP 含量高于鸭茅、高羊茅和一年生黑麦草。

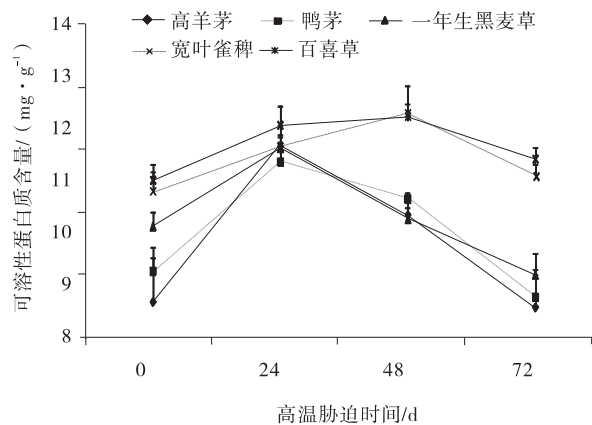


图 5 高温胁迫下不同牧草的 SP 含量

Fig. 5 Changes of soluble protein content in different forages under high temperature stress

2.6 高温胁迫下不同牧草叶绿素含量的变化

叶绿素是植物进行光合作用的主要色素,含量越高,其光合作用能力越强。在整个高温胁迫过程中,5 种不同牧草品种的叶绿素含量均呈现明显的下降趋势,在高温胁迫 72 h 后,高羊茅、鸭茅、一年生黑麦草、宽叶雀稗和百喜草叶绿素含量分别下降了 17.9%、17.3%、13.3%、14.8%和 14.2%(图 6)。

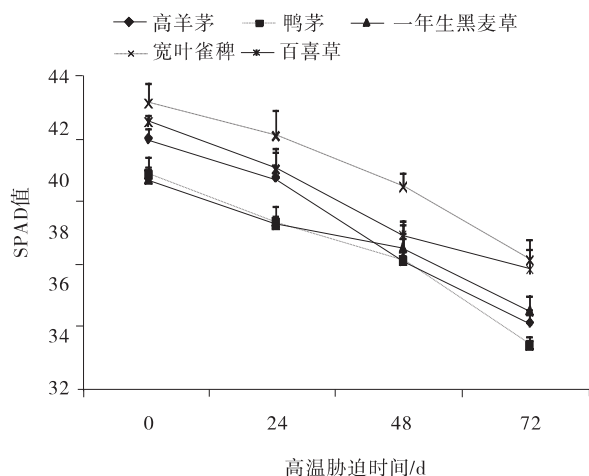


图 6 高温胁迫下不同牧草的叶绿素含量

Fig. 6 Changes of chlorophyll content in different forages under high temperature stress

3 讨论

植物在正常的生长条件下,体内各项生理代谢活动都处于稳定平衡状态,当受到逆境胁迫时,植物体内代谢活动都会受到影响^[5]。试验表明,逆境条件下植物体内会产生大量的活性氧(ROS),ROS 的积累会对植物的生长发育产生有害作用,植物膜系统受损,造成膜脂过氧化^[6-7],MDA 是膜脂过氧化作用的产物,MDA 含量增加则是膜脂过氧化的表现,其含量高低是衡量细胞膜脂损伤程度的一个重要指标,与植物的抗逆性成负相关^[8]。但在一定程度上,植物活细胞可以通过启动抗氧化酶系统来防御这种毒害作用,其主要表现就是 SOD、CAT 和 POD 等的含量和活性会迅速增强。抗氧化酶可以减少羟基自由基,避免植物膜系统遭到破坏,从而保护细胞膜的完整性^[9]。试验结果表明,随着高温胁迫时间的延长,5 种不同牧草品种的 SOD 和 POD 活性均呈现先上升后下降的趋势,MDA 含量持续上升。说明在高温胁迫初期激发了 SOD 和 POD 的活性,阻止或减少膜脂过氧化作用,因此 MDA 的含量较低,增强了牧草对高温的适应能力。但是随着高温胁迫时间的持续,SOD 和 POD 活性明显下降,发生膜脂过氧化作用,从而导致 MDA 含量大幅上升。

GSH 是植物中重要的抗氧化剂和还原缓冲剂,参与活性氧的钝化代谢过程^[11]。植物体内谷胱甘肽水平的提高不仅与植物对环境胁迫的忍耐有关,而且谷胱甘肽合成的增强可能是植物对环境胁迫的内在响应

之一^[12]。植物在逆境胁迫下,谷胱甘肽还原酶活性(GR)升高,产生谷胱甘肽抗氧化物质来清除活性氧和氧自由基,从而减缓和抵抗对细胞的伤害。研究中5种牧草谷胱甘肽含量均呈现先上升后下降的趋势,表明受到高温胁迫时,谷胱甘肽还原酶活性升高,谷胱甘肽含量增加,植物通过提高自身的防御能力来应对高温胁迫。但是高温胁迫增强到一定程度时,酶的活性降低,谷胱甘肽的合成受到抑制,谷胱甘肽水平降低,导致植物防御能力的减弱。

逆境胁迫下,植物细胞蛋白酶的活性受到抑制,蛋白质合成受阻,但是植物通过应激反应可以诱导合成新的蛋白质,即热激蛋白(HSP),这些热激蛋白可以显著提高植物的抗性^[13]。试验在高温胁迫中,5种牧草可溶性蛋白含量呈先升高后降低趋势,表明随着高温胁迫时间的延长,植物产生应激反应,通过合成新的蛋白质来抵御遭受的高温胁迫伤害,表现出可溶性蛋白含量上升。其中,高羊茅、鸭茅和一年生黑麦草在高温胁迫24 h达到最大值,百喜草和宽叶雀稗在48 h达到最大值,之后可溶性蛋白含量均开始下降。表明高羊茅、鸭茅和一年生黑麦草对高温胁迫适应能力较弱,胁迫24 h体内酶的活性开始受到抑制,蛋白质合成速率下降。高羊茅、鸭茅和一年生黑麦草高温胁迫48 h后可溶性蛋白含量呈现下降趋势,但是下降幅度较小,表明对高温胁迫适应能力相对较强,因此,在高温胁迫下蛋白质含量相对稳定,在高温下依然可以维持一定的正常代谢。

叶绿素含量的高低在一定程度上可以反映植物光合作用的能力^[14]。研究中5种牧草叶绿素含量均呈现明显的下降趋势,表明高温胁迫下,叶绿体结构被破坏,导致叶绿素含量显著下降。在高温胁迫下,宽叶雀稗和百喜草的SPAD值高于高羊茅、鸭茅和一年生黑麦草。叶片中叶绿素含量越高,表面光合作用能力越强,牧草生长健康,抵抗力越强,所以宽叶雀稗和百喜草对高温胁迫适应能力较好^[15]。研究结果表明,在高温胁迫过程中,叶绿素含量持续减少,SPAD值显著下降,高温胁迫引起叶绿素分解,诱发叶片衰老,破坏植物光合作用^[16-17]。

4 结论

高温胁迫下,5种牧草的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性、可溶性蛋白含量(SP)和谷胱甘肽含量(GSH)均呈现先上升后下降的趋势,丙二醛

含量(MDA)持续上升,叶绿素含量(SPAD)呈现明显下降趋势。百喜草和宽叶雀稗对高温胁迫适应能力明显强于一年生黑麦草、鸭茅和高羊茅。

参考文献:

- [1] 李争艳,徐智明.牧草和草坪草耐热性研究进展[J].草业科学,2010,27(9):128-133.
- [2] 孔祥生,易现峰.植物生理学实验技术[M].北京:中国农业出版社,2008:259-260.
- [3] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2012.
- [4] 刘萍,李明军.植物生理学实验技术[M].北京:科学出版社,2007:152-153.
- [5] 黄锦文,陈冬梅,郑红艳,等.暖季型草坪草对高温胁迫的生理响应[J].中国生态农业学报,2009,17(5):964-967.
- [6] 窦俊辉,喻树迅,范术丽,等.SOD与植物胁迫抗性[J].分子植物育种,2010(2):359-364.
- [7] 罗登,左福元,邱健东,等.不同鸭茅品种的耐热性评价[J].草业科学,2015,32(6):952-960.
- [8] 李莉,董志国,贾纳提,等.干旱胁迫对伊犁绢蒿生理生化指标的影响[J].草原与草坪,2014,34(6):82-85.
- [9] Munné-Bosch, Alegre L. Drought induced change in the red-ox state of α -tocopherol, ascorbate and the diterpene carnosic acid in chloroplasts of labiatae species differing in carnosic acid contents[J]. Plant physiology, 2003, 131(4):1816-1825.
- [10] 刘大林,张华,曹喜春,等.夏季高温胁迫对紫花苜蓿部分生理生化指标的影响[J].草地学报,2013,21(5):933-937.
- [11] 段喜华,唐中华,郭晓瑞.植物谷胱甘肽的生物合成及其生物学功能[J].植物研究,2010(1):98-105.
- [12] Alscher R G. Biosynthesis and antioxidant function of glutathione in plants[J]. Physiology Plant, 1989, 77:457-464.
- [13] 江佳琳,孙彦.不同地区白颖苔草在热胁迫下的生理反应[J].草地学报,2013,21(3):539-545.
- [14] 李荣,王玉佳,何承刚,等.干热胁迫对紫花苜蓿形态特征及光合色素含量的影响[J].草原与草坪,2015,35(1):37-43.
- [15] 王日明,熊兴耀.高温胁迫对黑麦草生长及生理代谢的影响[J].草业学报,2016,25(8):81-90.
- [16] 刘大林,张华,胡楷崎,等.多年生黑麦草在高温胁迫下生理生化特性的变化[J].草地学报,2013,21(1):142-146.
- [17] 莫亿伟,郭振飞.温度胁迫对苜蓿和柱花草光合作用及N还原的影响[J].草地学报,2008,16(1):100-102.

Effects of high temperature stress on physiological and biochemical characteristics of five forages

LI Long-xing¹, WANG Zhi-wei², CHEN Ying²

(1. Guizhou grassland technology extending stations, Guizhou Guiyang 550025; 2. Guizhou Institute of Prataculture, Guizhou Guiyang 550006)

Abstract: This study was conducted to examine the effects of physiological and biochemical characteristics of five forages under high temperature stress (38°C/30°C). The relative enzyme activity, malondialdehyde content, chlorophyll content and other physiological indexes were determined under high temperature stress. The results showed that under high temperature stress, the activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD), the content of soluble protein (SP) and glutathione (GSH) of five forage species showed a trend of first rising and then declining, while the content of malondialdehyde (MDA) continued to rise, the content of chlorophyll (SPAD) showed a significant decline. The adaptability of *Paspalum notatum* Flugge and *Paspalum wetsfeteini* to high temperature stress was significantly better than that of *Festuca elata*, *Lolium multiflorum* and *Dactylis glomerata*.

Key words: forage; high temperature stress; physiological indices

+++++
(上接 106 页)

contents of total amino acids were observed in leaf of GNKH-2 (23.86%) as well as in stem of *M. sativa* subsp. *varia* (12.11%). Both the leaf and stem of *M. sativa* cv. Golden Empress contained the most essential amino acids, with each reaching 8.55% and 4.30%, respectively. The protein quality priority in leaf tended to decrease in the order *M. sativa* cv. Golden Empress > GNKH-1 > GNKH-3 > GNKH-2 > *M. sativa* cv. Algonquin > *M. sativa* subsp. *varia* and that in stem was *M. sativa* cv. Golden Empress > GNKH-1 > GNKH-3 > GNKH-2 > *M. sativa* subsp. *varia* > *M. sativa* cv. Algonquin. Comprehensive analysis showed that the leaf and stem of GNKH-1 gave the highest protein values; GNKH-3 ranked number 1 in terms of amino acid score (AAS), reaching 32.74 in leaf and 16.24 in stem; the essential amino acids index (EAAI) in leaf of GNKH-1 (1.279 9) and *M. sativa* cv. Algonquin (1.280 9) exceeded that of all other tested materials; EAAI in stem of GNKH-2 (1.281 1) was only 0.52% lower than that of Algonquin (1.287 8), which presented the highest EAAI in all tested materials.

Key words: alfalfa; total amino acid content; protein quality; AAS; EAAI