

白三叶不同叶龄叶片对不同季节温度适应的生理调控机理

张 玥¹ 周瑞莲¹ 梁慧敏^{2*} 张婷凤¹

(¹ 鲁东大学生命科学学院, 山东烟台 264025; ² 江苏农林职业技术学院/江苏省农业种质资源保护与利用平台, 江苏句容 212400)

摘要 对不同季节白三叶 (*Trifolium repens*) 不同叶龄叶片 (幼叶、中叶和老叶) 抗氧化酶 (SOD、POD 和 CAT) 活力、渗透调节物 (可溶性糖、可溶性蛋白和游离脯氨酸) 含量、MDA 含量和叶绿素含量进行分析, 揭示白三叶不同叶龄叶片对不同季节温度适应的生理调控机理和白三叶叶片短寿在维护匍匐茎生长中的生态作用。结果表明: (1) 冬季低温生出的幼叶 MDA 含量较低, 而叶绿素 a、POD 和 SOD 活力、可溶性糖和脯氨酸含量均最高; 夏季高温生出的幼叶 MDA 和叶绿素 b 含量较高, 而 POD 和 SOD 活力、可溶性糖和脯氨酸含量较低。白三叶幼叶具有较强的生理调控可塑性以适应冬夏季温度。(2) 不同季节幼叶成长过程中, 其生理调控模式相近, 随叶片长大成熟, 叶绿素含量和 SOD、POD、CAT 活力及脯氨酸和可溶性糖含量均增高, 而 MDA 含量降低。(3) 不同季节老化叶片生理特征相同, 叶片中可溶性糖和脯氨酸含量趋于增高, CAT 活力及 MDA 含量均下降。研究表明, 抗氧化酶和渗透调节物通过维护氧自由基代谢和水分代谢平衡而在幼叶适应不同季节温度、叶片快速生长中起重要保护作用。不同季节叶片抗氧化能力下降和持续积累的脯氨酸、可溶性糖抑制光合作用可能是叶片衰老和短寿的诱因。不同季节匍匐茎上叶片的短寿、快速衰老可使匍匐茎将能量物质分配给其顶部, 促进匍匐茎顶部幼叶萌生和匍匐茎的延伸生长及种群的扩散, 其在维护白三叶植株持续生存中具有重要的调控作用。

关键词 季节; 叶龄; 白三叶; 生理差异; 叶片衰老机理

Physiological adaptation mechanism of different aged leaves of *Trifolium repens* L. to different seasonal temperatures. ZHANG Yue¹, ZHOU Rui-lian¹, LIANG Hui-min^{2*}, ZHANG Ting-feng¹ (¹ School of Life Science, Ludong University, Yantai 264025, Shandong, China; ² Jiangsu Agricu Ltrare and Forestry Profession Techonology College/The Jiangsu Prorincial Plat-form for Conservation and Vtilization of Agricultural Germplasm, Jurong 212400, Jiansu, China).

Abstract: In this study, the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxide (POD) and catalase (CAT), and the contents of soluble sugar, soluble protein, proline, malondialdehyde and chlorophyll in different aged leaves (young, middle-aged, old) of white clover (*Trifolium repens*) were investigated in different seasons to understand how different aged leaves of white clover adapt to different seasonal temperatures in physiology and what ecological role of leaf senescence plays in maintaining stolon growth. The result showed that: (1) young leaves grown in winter had lower MDA content, and higher values in chlorophyll a content, SOD and POD activities, and soluble sugar and proline contents. However, young leaves grown in summer had higher MDA and chlorophyll b contents, but had lower SOD and POD activities and soluble sugar and proline contents. It is indicated that young leaves had higher physiological regulation plasticity in adaptation to different seasonal temperatures. (2) There existed a similar model of physiological regulation in the developing leaves grown in different seasons. When young leaves became ma-

ture, the contents of chlorophyll and soluble sugar and proline, and the activities of SOD and POD increased, while MDA content decreased. (3) Aging leaves grown in different seasons had same physiological characteristics. With the leaves becoming senescent, the soluble sugar and proline contents still increased, but the activities of SOD and CAT and content of MDA decreased. The antioxidant enzyme system and osmoregulation played an important role in physiological protection of young leaves to adapt different seasonal temperatures and in keeping their rapid growth by maintaining metabolic balance of oxygen free radicals and water metabolic balance. During leaf development, the antioxidant capacity decreased, and the proline and soluble sugar kept on accumulation, which was the reason inducing leaf senescence and short life. However, short life of leaves grown in different seasons would make more energy and matter being allocated to stolon top and promote leaf initiation, stolon elongation growth, and population expansion, which played an important physiological regulating role in maintaining growth of white clover in different seasons.

Key words: season; leaf age; *Trifolium repens*; physiological difference; leaf senescence physiology mechanism.

白三叶(*Trifolium repens*)抗冻、抗寒、绿期长、花期长、适应性强,是优良的庭院绿地观赏草坪园林植物(梁超等,2013)。因而研究白三叶抗冻生理机理,开发其抗冻基因种质资源吸引了众多科学家的关注。

对白三叶抗冻生理机理研究发现,在自然和人工模拟融冻胁迫过程中,随着气温下降至0℃以下叶片冻结,白三叶叶片细胞膜透性、丙二醛(MDA)含量、脯氨酸和蛋白质含量、抗氧化酶活力(过氧化氢(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD))增加;随着气温上升叶片融化,白三叶叶片膜透性、丙二醛和脯氨酸含量、POD和CAT活力降低(安莹等,2009;范玉贞,2010;赵梅等,2011;高婷婷等,2014)。冬季在暖棚内越冬,生长旺盛的白三叶和棚外白三叶一样,随气温下降叶片细胞膜透性、MDA、脯氨酸、可溶性糖含量和抗氧化酶活力(SOD、CAT、POD)增高,与气温变化呈负相关,但其生理指标均低于棚外,而且,在春季揭棚遭遇低温后叶片SOD和CAT活性和可溶性糖和脯氨酸含量急剧增加且明显高于棚外白三叶(周瑞莲,2012a)。白三叶有发达的侧根和匍匐茎,在晚秋气温下降时白三叶根和匍匐茎会积累大量的淀粉和可溶性糖(Guin-chard *et al.*, 1997;李州等,2013)。在冰冻过程中,白三叶根部蔗糖和脯氨酸含量提高,以维护细胞渗透调节能力防止结冰伤害(Kirsti *et al.*, 1993; Guin-chard *et al.*, 1997)。这表明,融冻胁迫中白三叶细胞中积累的渗透调节物和被激活的抗氧化酶系统在维护细胞水分平衡和氧自由基代谢平衡中起重要作用,可能是其快速适应冻融胁迫,持续生长的关键(Lee *et al.*, 2009;周瑞莲等,2012b)。

目前,无论在自然条件下还是人工模拟条件下,对白三叶抗冻力及抗融冻力研究结果均来自对不同叶龄混合叶片分析所得,该结果反映的是白三叶种群对胁迫处理的响应,对揭示白三叶抗逆生理机理具有一定意义。但由于白三叶为多年生草本植物,其匍匐茎上的叶片不会像多年生树木叶片那样春季萌生,秋季脱落。白三叶种群的绿色依靠匍匐茎顶部不断生出新叶替代老叶而维护着种群的生机和活力,其白三叶叶片寿命较短。而不同季节白三叶匍匐茎顶部生出的叶片,既是环境塑造的产物,也是对新环境适应的结果。目前对不同季节叶片抗逆生理变化与环境关系、不同季节叶片抗逆生理是否有差异、引起叶片短命的生理基础和生态因子目前尚不清楚。

本文以不同季节采集的不同叶龄(幼叶、中叶和老叶)白三叶叶片为实验材料,通过对抗氧化酶(SOD、POD和CAT)和渗透调节物(可溶性蛋白、可溶性糖和脯氨酸)含量以及MDA和叶绿素含量的测定,以了解不同季节白三叶叶片抗逆生理指标变化与温度、不同叶龄叶片间抗逆生理指标的差异与其老化的关系,以揭示抗氧化酶和渗透调节物在白三叶适应季节气温、维护种群繁衍生长中的作用,为白三叶抗融冻基因的开发利用及白三叶种群的管理提供理论指导。

1 研究地区与研究方法

1.1 试验地概况

试验在烟台市芝罘区鲁东大学校内进行。烟台地处119°34'E—121°57'E,36°16'N—38°23'N,位于山东半岛东部。年平均降水量为651.9 mm,主要

集中在7—8月,占年降雨量的49%;年平均气温11.8℃,最热月为8月(24.6℃),历年极端最高气温38.4℃。最冷月为1月,月平均气温-1.5℃,历年极端最低气温-13.8℃;年平均相对湿度68%,冬季降雪频繁,地面常有积雪。秋分过后,昼夜温差逐渐加大,幅度高于10℃以上,全年无霜期210 d。

1.2 试验地和材料

试验在自然条件下进行,试验地设在鲁东大学校园内2010年建植生长均匀的绿化带上。该绿化带在园林工的精心护理下,白三叶生长健壮、茂密、属于无杂草的单一种群。试验前将绿化小区围起来做标记以保证试验期间不被干扰,同时剔除生长过弱和过强的白三叶以确保试验材料均匀一致。

样品采集:不同季节白三叶样品的采集时间为2013年10月16日(秋季)、2014年1月22日(冬季)、2014年4月1日(春季)和2014年8月13日(夏季)。取样时间均在10:00进行。首先选取长势一致、匍匐茎长度相近的白三叶植株,将其剪下,并将匍匐茎分为3段,即顶部、中部、基部,并在各部位分别剪取幼叶、中叶和老叶。外观表征为:幼叶是位于匍匐茎顶部尚未完全展开、倒“V”型斑不清晰的嫩绿叶片;中叶叶片一般较大、倒“V”型斑清晰的深绿叶片;老叶叶片较大但边缘略黄。然后快速将各年龄段叶片用液氮固定,并放置在超低温冰箱中,用于抗氧化酶活性、渗透调节物含量、丙二醛含量、叶绿素含量的测定。

1.3 试验方法

酶液提取是在4℃条件下进行的,准确称取1g液氮固定的叶片于预冷研钵中,加入酶提取液(pH值=7.8磷酸缓冲液),冰浴上研磨成匀浆,在15000 r·min⁻¹ 4℃条件下离心15 min,上清液用于抗氧化酶活力和脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白质和MDA含量的测定。

采用愈创木酚法测定POD活性(张志良等,2003);采用氮蓝四唑(NBT)光还原法测定SOD活性(Sundar *et al.*,2004);采用过氧化氢-碘量法测定CAT活性(Drazkiewicz *et al.*,2004)。采用茚三酮比色法测定游离脯氨酸含量、采用蒽酮法测定可溶性糖含量、采用考马斯亮蓝法测定可溶性蛋白质含量、采用硫代巴比妥酸法测定MDA含量、采用分光光度计方法测定叶绿素a和叶绿素b含量(张志良等,2003)。

1.4 数据处理

实验数据采用3个以上重复的平均值±标准差

(mean±SD),用SPSS 11.5软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 烟台2013年秋季到2014年夏季气温变化

烟台2013年秋季到2014年夏季,全年最高温出现在2014年7月17日(最高气温36℃,最低气温26℃);全年最低气温出现在2013年2月9日(最高气温-4℃,最低气温-8℃);秋、冬、春和夏各季节平均最高温分别为18、4、19和29℃;最低温分别为12、-2、10和21℃(图1)。年度气温变化表明:烟台年间气温差异较大(-8~36℃),是典型的冬季寒冷,夏季炎热。尽管在夏季炎热白三叶生长缓慢,但其能在寒冷的冬季存活并依旧保持绿色这一特性使之成为了该地区的优质园林绿化植物。

2.2 不同季节不同叶龄白三叶叶片叶绿素含量的变化

不同季节叶片总叶绿素含量略有不同。叶片平均总叶绿素含量在春季白三叶叶片萌动生长时较高、冬季较低,但不同季节叶片总叶绿素含量差异不显著(图2)。

但不同季节白三叶叶片叶绿素a和b含量明显不同。叶片叶绿素a在秋季最高,夏季最低(图2)。夏季气温升高,叶片叶绿素a含量大幅降低,只有秋冬季节叶片的19%,两者差异明显($P<0.05$)。而且,不同叶龄间叶片叶绿素a含量差异显著($P<0.05$)(图2,表1)。不同季节均以中叶最高,幼叶较低。春、夏、秋和冬季中叶叶绿素a含量分别较

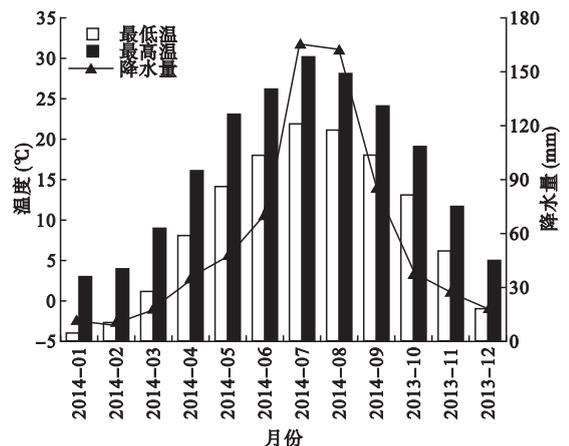


图1 烟台2013年秋季到2014年夏季最高和最低气温及降水量变化

Fig.1 Change in daily maximum and minimum temperature and rainfall from fall of 2013 to summer of 2014 in Yantai, China

表1 不同叶龄间白三叶抗逆生理指标比较

Table 1 Comparison of physiological index related to resistance in the leaves of different aged *Trifolium repens* grown in different seasons

叶龄	叶绿素 a (mg · L ⁻¹)	叶绿素 b (mg · L ⁻¹)	MDA (μmol · g ⁻¹ FW)	POD (μmol H ₂ O ₂ · g ⁻¹ FW · min ⁻¹)	CAT (μmol H ₂ O ₂ · g ⁻¹ FW)	SOD (U · g ⁻¹ FW · h ⁻¹)	脯氨酸 (μg · g ⁻¹ FW)	可溶性蛋白 (μg · g ⁻¹ FW)	可溶性糖 (μg · g ⁻¹ FW)
幼叶	8±4 b	8±3 b	14±6 a	17±6 b	6±1 a	680±186 a	8±1.3 b	22±3 a	29±12 b
中叶	20±11a	24±12a	10±3 a	18±6 b	8±2 a	749±139 a	10±16 b	25±1 a	39±16 b
老叶	13±7 ab	16±13ab	11±4 a	22±7 a	5±4 a	684±217 a	18±26 a	20±6 a	55±26 a

每个值为四个季节的平均值。

幼叶高 137%、117%、218%和 111%。

不同季节白三叶叶片叶绿素 b 在夏季最高,随着气温的降低而下降,在冬季最低(图 2)。与叶绿素 a 相同,不同叶龄间叶片叶绿素 b 含量差异显著($P<0.05$)(图 2,表 1)。不同季节中叶绿素 b 均在中叶较高,幼叶最低。春、夏、秋和冬季中叶叶绿素 b 含量分别较幼叶高 80%、70%、400%和 190%。4 个季节中叶叶片叶绿素 b 含量较幼叶高 200%(表 1)。

2.3 不同季节不同叶龄白三叶叶片 MDA 含量比较

不同季节白三叶叶片 MDA 含量存在差异。叶片平均 MDA 含量以夏季最高,春季最低(图 3)。其中夏季叶片中 MDA 含量分别较秋、冬、春季节高 51%、54%、96%,夏季与春季叶片 MDA 含量差异显著($P<0.05$)。不同叶龄间以幼叶 MDA 含量较高(除秋季),尤其是夏季幼叶 MDA 含量较中叶和老叶分别高 57%和 62%(表 1)。

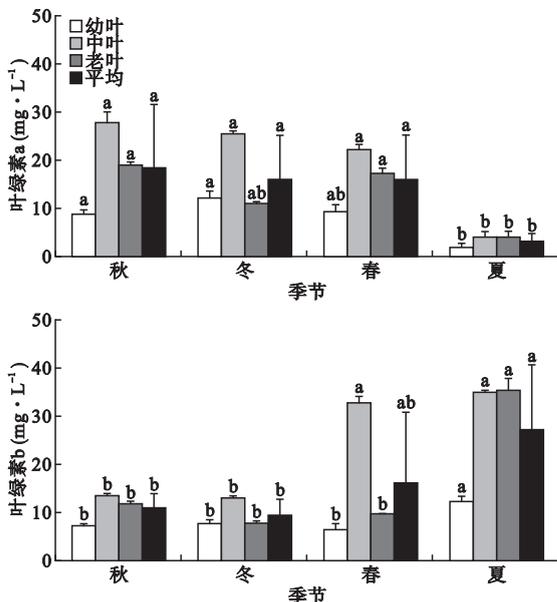


图2 不同季节不同叶龄白三叶叶片叶绿素含量比较

Fig.2 Comparison of chlorophyll contents in the leaves of different aged *Trifolium repens* grown in different seasons

不同小写字母表示同一叶龄不同季节之间差异显著($P<0.05$)。

2.4 不同季节不同叶龄白三叶叶片渗透调节物含量比较

不同季节白三叶叶片平均脯氨酸含量不同,冬季叶片脯氨酸含量最高,分别较春、夏、秋季高 18 倍、18 倍和 7 倍,并与其他季节差异极显著($P<0.01$)(图 4)。不同叶龄中以老叶叶片脯氨酸含量较高,幼叶较低,并差异显著(表 1)。

不同季节白三叶平均可溶性蛋白质含量差异不显著(图 4)。而不同叶龄间叶片可溶性蛋白质含量略有差异,但差异不显著。其中,冬春季节老叶蛋白质含量较低,其冬春季中叶蛋白质含量较老叶分别高 82%和 38%。但夏秋季幼叶可溶性蛋白质含量较低,夏秋季老叶蛋白质含量较幼叶分别高 10%和 32%。

不同季节白三叶叶片可溶性糖含量差异显著($P<0.05$)(图 4)。随季节气温降低叶片可溶性糖含量增加,在冬季达到最高,并与其他季节差异极显著($P<0.01$)。冬季叶片平均可溶性糖含量分别较春、夏和秋叶片高 107%、150%和 75%。同时,不同叶龄间叶片可溶性糖含量存在差异,以老叶可溶性糖含量最高,幼叶较低。春、夏、秋和冬各季节老叶可溶性糖含量分别较幼叶高 79%、55%、104%和

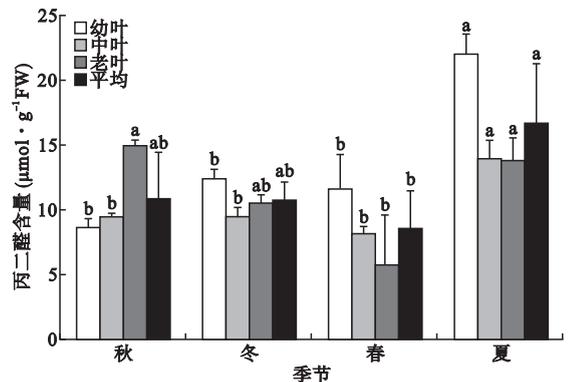


图3 不同季节不同叶龄白三叶叶片 MDA 含量比较

Fig.3 Comparison of MDA content in the leaves of different aged *Trifolium repens* in different seasons

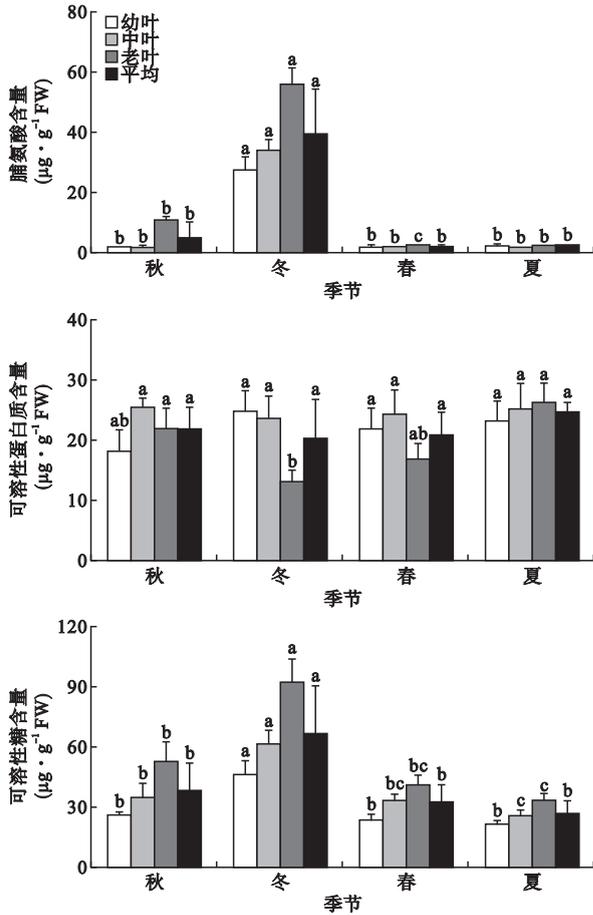


图4 不同季节不同叶龄白三叶叶片脯氨酸、可溶性蛋白质和可溶性糖含量变化

Fig.4 Comparison of the contents of proline, soluble protein and soluble sugar in the leaves of different aged *Trifolium repens* grown in different seasons

97%,不同季节老叶可溶性糖含量均与中叶和幼叶差异显著($P<0.05$)(表1)。

2.5 不同季节不同叶龄白三叶叶片抗氧化酶活力比较

不同季节叶片平均 POD 活力差异显著($P<0.05$)。随秋季气温下降,白三叶叶片中 POD 活力趋于增高,并在冬季达到最高,而春季最低(图5)。冬季不同叶龄平均 POD 活力分别较春、夏和秋季高 121%、32%和 48%,并与其他季节差异显著($P<0.05$)。不同叶龄间叶片 POD 活力存在差异,其中以老叶最高,幼叶较低,春、夏、秋和冬季老叶 POD 活力较幼叶分别高 45%、4%、61%和 33%,老叶 POD 活力与幼叶和中叶差异显著($P<0.05$)。

在气温较低的冬季叶片中 CAT 活力最低,在气温相对适宜的春季和秋季叶片中 CAT 活力较高,如春、夏和秋季叶片 CAT 活力分别较冬季高 59%、

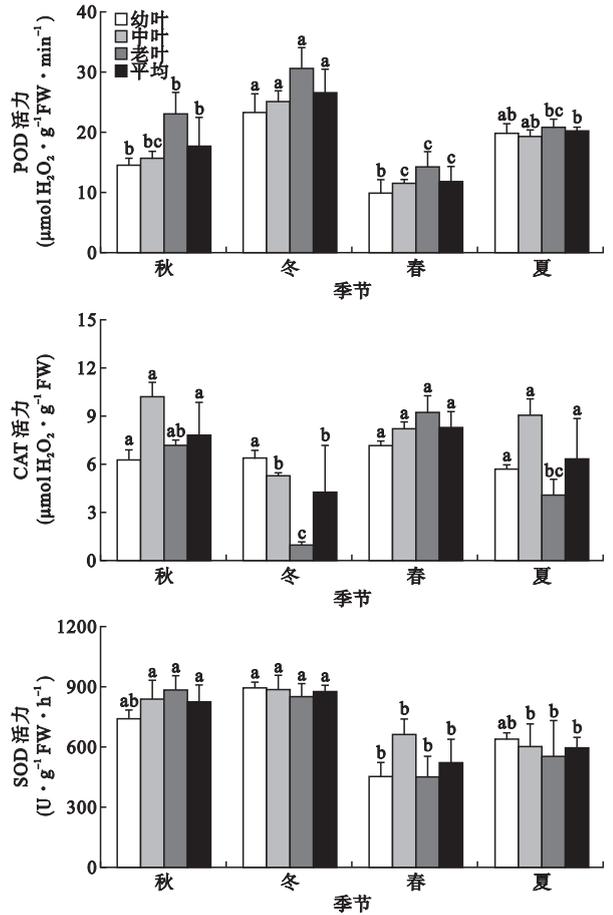


图5 不同季节不同叶龄白三叶叶片过氧化物酶、过氧化氢酶和过氧化物歧化酶活力比较

Fig.5 Comparison of the activities of peroxidase, catalase and superoxide dismutase in the leaves of different aged *Trifolium repens* grown in different seasons

67%和 26%,并与冬季叶片 CAT 活力差异显著(图5)。不同叶龄间 CAT 活力不同(图5)。除了春季外,其他季节老叶 CAT 活力较低,尤其是冬季和夏季老叶 CAT 活力分别较中叶低 82%和 56%,老叶与中叶叶片 CAT 活力差异显著。

不同季节叶片 SOD 活力不同(图5)。随秋季气温下降叶片 SOD 活力开始增强,在冬季达到最高,在春季最低,秋冬季叶片 SOD 活力与春夏季差异显著($P<0.05$)。冬季叶片 SOD 活力分别较春、夏季高 65%、44%。不同叶龄间叶片 SOD 活力同样存在差异,除了秋季外,其他季节老叶 SOD 活力相对较幼叶或中叶低。值得注意的是,幼叶 SOD 活力在气温较低的冬季和气温较高的夏季较高,而在气温适宜的春季和秋季较低。不同叶龄叶片 SOD 活力与气温高低相关。

3 讨论

3.1 抗氧化酶和渗透调节物在白三叶幼叶适应季节温度中作用

白三叶喜温凉湿润气候。烟台气候四季分明(图1),春秋两季气温适宜白三叶生长,夏季白三要经历高温,冬季经历冷冻胁迫,白三叶能够在四季温度差异较大的环境中生活。而幼叶对环境较敏感,其存活与否与匍匐茎延伸生长、植株存活密切相关。结果表明,不同季节幼叶抗逆生理代谢差异很大。一年中,夏季高温下产生的幼叶叶片叶绿素 b 含量和 MAD 含量较高,但 POD 和 SOD 活力及脯氨酸和可溶性糖含量却较低;冬季低温下产生的幼叶叶绿素 b 和 MAD 含量较低,而 POD、SOD 活力和脯氨酸、可溶性糖含量却较高。研究表明,幼叶膜脂过氧化水平和叶绿素 b 含量与温度呈正相关,CAT、SOD 和 POD 活力及脯氨酸和可溶性糖含量与温度呈负相关。

冬夏季幼叶抗逆生理差异直接或间接与温度有关。有研究表明,低温可降低叶绿素含量和改变叶绿素成分(和红云等,2008)。叶绿素 a 主要吸收红光,叶绿素 b 主要吸收蓝紫光。由于光照强度和环境温度相关,夏季强光照伴随高温。因此,生活在冬季寒冷、长波光较多的幼叶通过合成更多的叶绿素 a 以捕获更多的红光,生活在夏季高温、短波光较多的幼叶通过合成更多的叶绿素 b 以捕获更多的蓝紫光。不同季节幼叶通过调控叶绿素组分以更有效地捕获光能,这可能是其不同温度和光照条件下生存的关键。低温抑制光合作用,而植物光合呼吸代谢过程是细胞氧自由基产生的来源。冬季冷冻低温降低了幼叶光合速率而使细胞中氧自由基积累少,从而降低了膜脂过氧化水平。但是,冬季冷冻使细胞遭遇冰冻胁迫引发细胞氧自由基积累,同时积累的氧自由基也激活了抗氧化酶系统,这可能是冬季幼叶 SOD 和 POD 活力较高的原因。而夏季高温下使幼叶光合速率较高导致细胞中活性氧自由基积累增多,膜脂过氧化加剧使 MDA 增高,但叶片中积累的氧自由基并没有超过细胞的控制力引发氧自由基代谢失衡,这可能是夏季幼叶 SOD、POD 活力较低的原因。研究表明,夏冬季幼叶有效地维持氧自由基代谢平衡可能是其快速适应环境温度而生存的关键。由于冷冻低温可引发植物遭遇冷冻胁迫和干旱胁迫。有研究表明,白三叶在冰冻过程中根叶中积

累脯氨酸和可溶性糖及淀粉(Kirsti *et al.*, 1993; Guincharde *et al.*, 1997; 周瑞莲等, 2012b)。因此,冬季生长的幼叶在遭遇冰冻胁迫下引发细胞脱水 and 水分代谢失衡,导致细胞积累脯氨酸和可溶性糖以增加细胞渗透势,并在维护叶片细胞弹性、膨压、水分平衡起重要的生理调控作用(Kirsti *et al.*, 1993; Kameli *et al.*, 1995; Bajji *et al.*, 2001; Ewers *et al.*, 2003)。而夏季高温生长的幼叶尽管光合呼吸速率较高,但它将较多的光合产物用于植株的快速生长,从而导致叶片中渗透调节物含量较少。这进一步表明白三叶幼叶具有较强的生理调控可塑性以适应冬夏季温度。抗氧化酶和渗透调节物通过维护氧自由基代谢平衡和水分平衡而在白三叶幼叶适应冬春季不同温度上起重要作用。

3.2 抗氧化酶和渗透调节物在白三叶叶片成长和衰老中作用

研究发现,大多数多年生植物叶片春出秋落,而秋季低温和日照缩短是导致其叶片衰老的主要生态因子。但多年生白三叶匍匐茎一年四季均可产生新叶、新叶生长一段时间后衰老死亡,显然叶片衰老不受日照长度影响,但关于叶片衰老的机理目前尚不清楚。

本研究发现,尽管各季节温度不同,但同一季节不同叶龄间叶片抗逆生理指标存在差异,且从幼叶到中叶,再到老叶的发育过长中,叶片抗逆生理指标的变化趋势相同。不同季节幼叶叶片内 MDA 含量较高(图3),POD、CAT 和 SOD 活力较低(图5),可溶性糖、脯氨酸含量较低(图4);伴随着幼叶生长到成熟(中叶),其叶片叶绿素含量、POD、CAT 和 SOD 活力均增加,而 MDA 含量降低(除秋季),脯氨酸、可溶性蛋白质及可溶性糖均增加;伴随着叶片衰老,老叶叶片叶绿素和 MDA 含量、CAT(除春季)和 SOD 活力、可溶性蛋白质含量下降,而脯氨酸和可溶性糖含量持续增高(图4)。研究表明,不同季节叶片在成长过程中生理调控模式基本相同。其原因是:(1)新生幼叶对环境较敏感,抗氧化酶保护体系尚未健全,所以细胞膜脂过氧化作用较强,MDA 含量较高。而且幼叶光合色素低下导致光合作用强度较低、光合产物不足而使可溶性糖和脯氨酸含量较低。幼叶抗氧化能力和渗透调节能力不足可能是其易受环境温度影响的原因所在。(2)随着叶片成长成熟,叶片叶绿素含量增多、叶片捕获和利用光能能力增强使光合作用速率提高。但同时作为光合和呼

吸作用副产物的氧自由基也增加。但细胞中积累的氧自由基激活抗氧化保护酶系统使抗氧化酶活力提高。抗氧化酶可清除氧自由基、抑制膜脂过氧化使叶片MDA含量下降,叶片抗逆性增强。同时,随着光合作用的提高,叶片中部分光合产物被储存或合成脯氨酸等使叶片渗透调节物含量增加。这些渗透调节物可增加叶片细胞渗透势、防止蒸腾失水、维持日间水分平衡。(3)随叶片老化,老叶叶绿素含量下降使光合速率降低、氧自由基积累速率减小、而导致老叶抗氧化酶活力下降。一些研究发现,活性氧代谢失调是造成叶片衰老的主要原因(Shimazake *et al.*, 1980)。而提高抗氧化酶活力抑制膜脂过氧化可以延迟叶片衰老,延长植株寿命(Ono *et al.*, 2001; Yoshida, 2003; 张盼盼等, 2010; 林植芳等, 2012)。因此,白三叶叶片衰老与其抗氧化能力下降相关。但值得注意的是,在叶片衰老过程中,老叶可溶性糖和脯氨酸含量却增加较多。一些研究发现,细胞中积累的渗透调节物多少与其衰老有关(Kameli *et al.*, 1995; Bajji *et al.*, 2001)。叶片糖水平的增加通过负反馈调节抑制光合作用进而参与了叶片衰老的诱导(糖的库-源平衡)(Rolland *et al.*, 2002)。研究表明,老化叶片中积累的可溶性糖和脯氨酸能通过抑制光合作用诱发叶片衰老,但同时它们可能通过其渗透调节作用增强老叶保水力而在延长老叶绿叶期上起作用。因此,在叶片成长过程中,细胞中抗氧化酶通过抑制光合呼吸过程中产生的氧自由基和膜脂过氧化、维护细胞内氧自由基代谢平衡,渗透调节物通过维护细胞水分代谢平衡而在提高幼叶对环境的适应力、维护成熟叶片旺盛的光合作用上起重要作用,这也是匍匐茎可在不同季节温度条件下产生新叶延续生长的关键。随着叶片抗氧化能力下降及叶片糖分和脯氨酸积累造成匍匐茎上白三叶叶片衰老。而且,白三叶匍匐茎上叶片的衰老不仅降低了对储存物的消耗,其叶内储存的糖分是匍匐茎和其上幼叶萌动生长的物质和能量来源。因此不同季节匍匐茎上叶片的短寿,快速衰老可使匍匐茎能将能量物质分配给其顶部,促进匍匐茎顶部幼叶萌生和匍匐茎的延伸生长及种群的扩散,其在维护白三叶植株持续生存中具有重要的调控作用。

综上所述,不同季节白三叶匍匐茎上生出的幼叶抗逆生理调控上存在差异。夏季高温下产生的幼叶维持较低的SOD和POD活力及脯氨酸和可溶性糖含量,而冬季低温下幼叶维持较高的SOD和POD

活力及脯氨酸和可溶性糖含量。抗氧化酶和渗透调节物通过维护氧自由基代谢平衡和水分平衡而在幼叶适应冬春季温度起重要作用。另外,伴随着叶片成长成熟,光合作用能力提高使抗氧化酶活力和渗透调节物含量增加,膜脂过氧化水平降低。抗氧化酶和和渗透调节物在维护成熟叶片旺盛的光合作用上起重要作用。在叶片衰老过程中,叶片抗氧化能力下降和持续积累的脯氨酸和可溶性糖抑制光合作用可能是叶片衰老的诱因,但老叶中积累的可溶性糖和脯氨酸通过其渗透调节作用对老叶有一定的保护作用。不同季节白三叶叶片衰老在促进幼叶形成和维护匍匐茎延续生长上具有重要生态学意义。

参考文献

- 安莹,陈雅君,赵伟,等. 2009. 低温对白三叶膜质过氧化及保护酶活性的影响. 草原与草坪, **134**(3): 8-10.
- 范玉贞. 2010. 自然低温胁迫对白三叶草的膜损伤与SOD活性的影响. 湖北农业科学, **49**(2): 404-409.
- 高婷婷,毛培春,田小霞. 2014. 10个白三叶品种苗期耐寒性评价. 草业科学, **31**(9): 1724-1731.
- 和红军,薛琳,田丽萍,等. 2008. 低温胁迫对甜瓜幼苗叶绿素含量及荧光参数的影响. 北方园艺, (4): 13-16.
- 李州,彭燕,苏星源. 2013. 不同叶型白三叶抗氧化保护及渗透调节生理对干旱胁迫的响应. 草业学报, **22**(2): 257-263.
- 梁超,王晓雷. 2013. 浅析白三叶在辽西地区园林绿化中的应用. 现代园林, (3): 111-113.
- 林植芳,刘楠. 2012. 活性氧调控植物生长发育的研究进展. 植物学报, **47**(1): 74-86.
- 张盼盼,冯佰利,王鹏科,等. 2010. 干旱条件下糜子叶片衰老与保护酶活性变化. 干旱地区农业研究, **28**(2): 99-103.
- 张志良,瞿伟菁. 2003. 植物生理学实验指导(第三版). 北京: 高等教育出版社.
- 赵梅,周瑞莲,刘建芳,等. 2011. 冬季融冻过程中白三叶叶片抗氧化酶活力和渗透调节物含量变化与抗冻性相关关系. 生态学报, **31**(2): 306-315.
- 周瑞莲,赵梅,王进,等. 2012a. 冬季高温对白三叶越冬和适应春季“倒春寒”的影响. 生态学报, **32**(14): 4462-4471.
- 周瑞莲,赵梅,张萍,等. 2012b. 白三叶和红三叶对人工融冻-冻融胁迫生理响应的差异. 生态学杂志, **31**(6): 1334-1340.
- Bajji M, Lutts S, Kinet JM. 2001. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Science*, **160**: 669-681.
- Drazkiewicz M, Skórzyńska-Polit E, Krupa Z. 2004. Copper-in-

- duced oxidative stress and antioxidant defence in *Arabidopsis thaliana*. *Biometals*, **17**: 379–387.
- Ewers FW, Lawson MC, Bowen TJ, *et al.* 2003. Freeze/thaw stress in *Ceanothus* of southern California chaparral. *Oecologia*, **136**: 213–219.
- Guincharde MP, Robin CH, Grieu PH. 1997. Cold acclimation in white clover subjected to chilling and frost: Changes in water and carbohydrates status. *European Journal of Agronomy*, **6**: 225–233.
- Kameli A, Losel DM. 1995. Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress. *Journal of Plant Physiology*, **145**: 363–366.
- Kirsti R, OLavi J, Arild E, *et al.* 1993. Development of cold tolerance in white clover (*Trifolium repens* L.) in relation to carbohydrate and free amino acid content. *Acta Agriculturae Scandinavica*, **43**: 151–155.
- Lee BR, Li LS, Jung WJ, *et al.* 2009. Water deficit-induced oxidative stress and the activation of antioxidant enzymes in white clover leaves. *Biologia Plantarum*, **53**: 505–510.
- Ono K, Nishi Y, Watanabe A, *et al.* 2001. Possible mechanisms of adaptive leaf senescence. *Plant Biology*, **3**: 234–243.
- Rolland F, Moore B, Sheen J. 2002. Sugar sensing and signaling in plants. *The Plant Cell*, **14**(Suppl): 185–205.
- Shimazake K, Sakaki T, Kondo N, *et al.* 1980. Active oxygen participation in chlorophyll destruction and lipid peroxidation in SO₂ fumigated leaves of spinach. *Plant Cell Physiology*, **21**: 1193–1204.
- Sundar D, Perianayagay B, Reddy AR. 2004. Localization of antioxidant enzymes in the cellular compartments of sorghum leaves. *Plant Growth Regulation*, **44**: 157–163.
- Yoshida S. 2003. Molecular regulation of leaf senescence. *Current Opinion in Plant Biology*, **6**: 79–84.
-
- 作者简介 张 玥,女,1989年生,硕士研究生,研究方向为植物生理生态学。E-mail: sisi0508@vip.qq.com
- 责任编辑 魏中青
-