

兴安鹿蹄草 (*Pyrola dahurica* (H. Andr.) Kom.) 雪盖前后丙二醛及渗透调节物质含量的变化

马玉心^{1,2}, 蔡体久^{1*}, 宋丽萍¹, 喻晓丽¹

(1 东北林业大学林学院, 哈尔滨 150040 2 牡丹江师范学院生物系, 牡丹江 157012)

摘要: 研究了自然生境下生长的兴安鹿蹄草 (*Pyrola dahurica* (H. Andr.) Kom.) 根状茎及叶片中渗透调节物质、膜脂过氧化产物在雪盖前后的变化。结果表明, 在雪盖前期 (10 月 1 日 ~ 12 月 15 日) 兴安鹿蹄草根状茎及叶片中丙二醛 (MDA) 含量先增高, 尔后下降, 翌年春季雪盖后期 (3 月 1 日 ~ 4 月 15 日) MDA 含量明显低于雪盖前期, 雪盖前期根状茎的丙二醛 (MDA) 含量低于叶片, 雪盖后期高于叶片。可溶性糖、可溶性蛋白质含量在雪盖前期随着温度的下降而升高, 11 月中旬达到最大, 尔后下降, 脯氨酸含量先下降尔后升高。雪盖后期渗透调节物质含量高于雪盖前期, 可溶性糖含量随气温的升高而下降, 可溶性蛋白质与脯氨酸含量随气温升高而大幅度升高, 而且成明显正相关。根状茎的可溶性糖含量在雪盖前期、雪盖后期低于叶片, 可溶性蛋白质与脯氨酸含量在雪盖前期、雪盖后期高于叶片。兴安鹿蹄草主要通过渗透调节物质含量的变化来适应雪盖前期及雪盖后期低温环境而安全越冬。

关键词: 膜脂过氧化; 渗透调节物质; 雪盖; 兴安鹿蹄草; 植物抗冻性

文章编号: 1000-0933(2007)11-4596-07 中图分类号: Q141 文献标识码: A

Changes in contents of MDA and osm oregulatory substances during snow cover for *Pyrola dahurica*

MA Yu-Xin^{1,2}, CAI Ti-Jiu^{1*}, SONG Li-Ping¹, YU Xiao-Li¹

¹ College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

² Department of Biology, Mudanjiang Normal College, Mudanjiang 157012, China

Acta Ecologica Sinica 2007, 27(11): 4596~ 4602

Abstract The *Pyrola dahurica*, an indicator of mixed conifer broad-leaved forest, is an important medicinal species in northeastern China. The mechanism of cold hardiness for this evergreen species is not well known. To explore its cold hardiness during winter seasons, we measured contents of MDA and osm oregulatory substances (i.e. soluble sugar, soluble protein and proline) in the rhizomes and leaves of *Pyrola dahurica* in two stages: early stage of snow cover (ESSC: from October to December in 2005) and late stage of snow cover (LSSC: from March to April in 2006). The results showed that the MDA content increased at the beginning and decreased gradually as the winter proceeded, suggesting that the degree of membrane injury decrease due to coldness conditioning. Compared with that in the leaves, the MDA content in rhizomes was lower in ESSC and higher in LSSC. The contents of soluble sugar and protein increased with the temperature decreasing in ESSC, peaked in the middle of November and decreased afterwards, while that of proline presented an opposite trend.

基金项目: 黑龙江省自然科学基金资助项目 (C2005-29)

收稿日期: 2007-01-21; 修订日期: 2007-08-23

作者简介: 马玉心 (1965~), 男, 黑龙江省牡丹江人, 教授, 主要从事种群生态学研究, E-mail: dongha8883@163.com

* 通讯作者 Corresponding author E-mail: cai@263.net

Foundation item: The project was financially supported by Natural Science Foundation of Heilongjiang Province (No. C2005-29)

Received date 2007-01-21; **Accepted date** 2007-08-23

Biography: MA Yu-Xin, Professor mainly engaged in population ecology. E-mail: dongha8883@163.com

In the following spring as temperature was rising and snow melting the contents of osmoregulatory substances (soluble protein and free proline) sharply increased while the content of soluble sugar dropped gradually. The soluble protein content was strongly positively correlated to the free proline content. Whether in ESSC or in LSSC, the content of soluble sugar in rhizomes was lower than that in leaves, while the contents of soluble protein and proline in rhizomes was higher than those in leaves. We concluded that the *Pyrola dahurica* adapted low temperature winters by adjusting the contents of osmoregulatory substances in its leaves and rhizomes.

Key Words membrane lipid peroxidation; osmoregulatory substance; snow cover; *Pyrola dahurica* (H. Andr.) Kam.; plant freezing tolerance

兴安鹿蹄草 (*Pyrola dahurica* (H. Andr.) Kam.) 为鹿蹄草科植物, 主要分布于我国东北地区, 是寒温带针阔混交林的指示植物。其叶片革质, 四季常绿, 是冬季鹿、狍等动物的主要食物^[1]。全草入药, 是北药研究的热点。目前关于鹿蹄草属植物研究主要集中于药物开发与利用方面, 在生理生态学方面的研究还比较少^[2]。

在北半球高纬度地区, 大范围存在着终年积雪和季节性积雪覆盖现象。季节性积雪覆盖地区, 雪盖的覆盖与融化过程对植被的物候特征、繁殖对策、生长节律、生理生态等方面产生了强烈的影响。随着全球气温的升高雪盖的状况也将改变, 这对雪生植物的多样性、群落结构与功能都将产生直接的影响, 因此开展雪盖对植物群落影响的研究, 已经成为生物圈对全球气候变化响应的重要研究方向^[3]。

兴安鹿蹄草冬季以其地上的绿叶及地下根状茎越冬, 从 11月中旬到第 2年 3月末其叶及根状茎被雪盖所覆盖, 是典型的雪生植物。在冬季比较寒冷的季节, 雪下的温度随着雪的深度的增加逐渐升高, 雪盖的存在使温度变化不是那么剧烈, 对环境温度剧烈变化具有明显的缓冲性能, 能够保护植物叶片及根系免受冻害^[3,4]。然而高寒地区多年生植物成功地越冬生存取决于两个关键时期, 即抗寒锻炼和脱冻适应^[5], 这两个关键时期即是雪盖前后的入冬初期和早春的积雪融化期, 这两个时期环境温度变化剧烈, 安全度过这两个时期是成功越冬的关键。许多研究表明在植物抗寒锻炼中有许多低温保护物质能明显增强植物的抗寒性^[18]。如初冬时期, 随着气温的降低可溶性糖含量增加, 可以降低冰点, 防止细胞内结冰, 也可以防止细胞膜因结冰而引起的伤害^[19]。然而目前人们仍然不了解高寒地区雪生植物低温保护物质的消长动态^[5]。本文通过测定兴安鹿蹄草入冬及早春雪盖前后的丙二醛 (MDA)、低温保护物质的变化, 进而阐明兴安鹿蹄草在雪盖前后对低温的适应性规律。

1 材料与方法

1.1 样地的基本概况

试验地位于黑龙江省尚志县帽儿山地区, 东经 127°30′~127°34′, 北纬 45°20′~45°25′, 平均海拔 390 m, 最高海拔 594 m。年平均气温 2.8℃, $\geq 10^\circ\text{C}$ 的年积温为 2495.74℃, 最冷月 (1月份) 平均气温 -19.70℃, 最热月 (7月份) 平均气温 21℃。无霜期为 120~140d, 年降水量 724 mm, 年蒸发量 1094 mm。11月中旬开始降雪, 整个冬季被积雪所覆盖, 积雪厚度在 20~30 cm 左右, 翌年 3月中旬积雪开始融化, 4月末积雪完全融化。根据研究区气温变化、积雪状况, 可将其分为 3个阶段, 雪盖前期 (即抗寒锻炼期, 10月初~11月中旬)、雪盖期 (11月中旬~翌年 3月)、雪盖后期 (即脱冻适应期, 3月初~4月末)。土壤为暗棕壤。地带性植被为红松阔叶混交林, 主要有红松 (*Pinus koraiensis* Sieb. et Zucc.), 胡桃楸 (*Juglans mandshurica* Maxim.), 水曲柳 (*Fraxinus mandshurica* Rupr.), 黄菠萝 (*Phellodendron amurense* Pupr.), 白桦 (*Betula platyphylla* Suk.) 及山杨 (*Populus davidiana* Dode) 等^[6]。

2005年初冬及 2006年早春地面最高温度、最低温度如图 1, 最低温度往往成为植物安全越冬的重要限制因子, 从 10月 1日开始温度逐渐降低, 10月 15日左右下降到 -1.3℃, 到 12月 1日下降到最低点 -32℃, 春季 3月 1日温度还是很低, 为 -31.5℃, 之后温度迅速回升, 到 4月 1日已经回升到 -3℃。从图 1还可以看出从 11月 15日开始温度下降迅速。

1.2 植物材料的采集方法

以海拔 450m 的落叶松与白桦针阔混交林下的兴安鹿蹄草为实验材料,从 2005 年 10 月到 2005 年 12 月,2006 年 3 月至 2006 年 5 月,每半月取材 1 次,每次取材时间为 12 00~14 00 以避免日温差的影响。取材参照 Olien^[7]的方法进行,即在土壤未结冻前,直接用铁锹直立下挖一个正方形草筏,冬季取材时用扫帚扫开积雪,从草筏上取下叶片,迅速用液氮固定;以镐刨开草筏,迅速把带有根状茎的草筏土块拿回实验基地,以自来水迅速冲洗根状茎,之后用液氮固定。

1.3 测定方法

MDA (丙二醛)含量用 TBA 比色法进行测定^[8]。

按 Bradford^[9]方法测定可溶性蛋白质含量,以 BSA 为标准样品。按张志良《植物生理学实验指导》^[10]的方法测定可溶性糖的含量。按 Bates 等方法^[11],分别取 1 g 根和 0.5 g 叶测定游离脯氨酸含量。所测分析至少重复 3 次。

2 结果分析与讨论

2.1 雪盖前后低温对兴安鹿蹄草膜脂过氧化作用的影响

如图 2 所示,兴安鹿蹄草叶片中的 MDA 含量从 10 月 1 日开始随温度降低而升高,到 11 月 15 日达到最大值 $167.7 \mu\text{mol g}^{-1}$,比 10 月 1 日提高了 5.02 倍。之后开始缓慢下降,从 11 月末开始兴安鹿蹄草被积雪所覆盖。翌年 3 月 1 日至 3 月 15 日 MDA 含量明显降低,4 月 1 日有所回升之后又缓慢下降。根状茎的情况有所不同,在雪盖前期根状茎中 MDA 含量也随温度的降低而升高,升高的幅度没有叶片大,在 11 月 15 日 MDA 含量为 $39.9 \mu\text{mol g}^{-1}$,比 10 月 1 日仅提高了 1.63 倍,显著低于叶片中的含量,雪盖后期根状茎 MDA 含量又高于叶片中的含量。

在自然降温过程中植物能通过体内的一系列生理生化的适应性变化来提高对逆境的抵抗能力。非伤害性的低温可以使植物细胞的代谢活动向适应低温、增强抗寒性的方向发展^[13]。MDA 是细胞膜脂过氧化的产物,其含量可以表示膜脂过氧化作用的程度,也是反映细胞膜系统受害的重要指标^[12]。从本实验中可以看出兴安鹿蹄草从 10 月 1 日到 11 月 15 日虽然细胞膜随着温度的降低受到一定伤害,但经过低温锻炼,形成了抗寒能力,从 11 月中旬以后表现 MDA 含量逐渐降低,说明经过抗寒锻炼以后,植物增加了抵御寒冷的能力,MDA 先升高后降低与抗寒能力的形成有密切关系。抗寒锻炼是植物对零下低温适应的一种遗传特性,随着气候由暖到冷的变化,植物逐渐产生了适应寒冷的能力,植物一旦形成抗寒能力以后,各种保护酶活性将下降,渗透性调节物质的含量也将降低,这也是植物对自然降温与人工胁迫降温所产生的不同的生理生化适应过程^[16],本实验结论与周瑞莲^[5]的研究结果也是一致的。雪盖前期叶片 MDA 含量高于根状茎的原因是叶片暴露于空气中,温度变化较大,叶片膜脂过氧化远比根状茎要大,初冬地温高于气温,植物根状茎受到的胁迫低于叶片,在自然降温过程中上升的幅度较小。雪盖后期根状茎的 MDA 含量显著高于叶片,原因在于春季积雪融化,由于从大气输入到雪盖中的能量高于从冻土中吸收的能量,此时的土层温度随着深度的变化出现逆

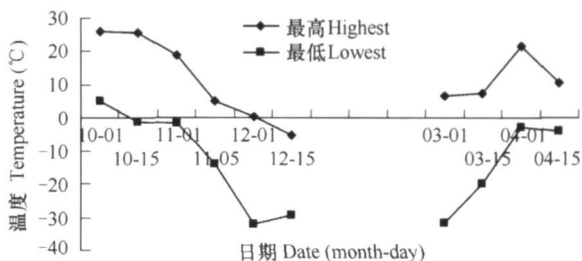


图 1 2005 年初冬及 2006 年早春帽儿山样地地面的最高温度与最低温度

Fig 1 The highest and lowest temperature on sample surface from October 1st 2005 to April 15th 2006 in Maoershan of pbt

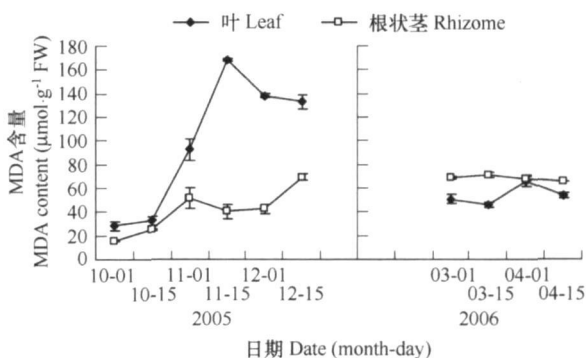


图 2 雪盖前后兴安鹿蹄草 MDA 含量的变化

Fig 2 Changes in MDA level of *Pyrola dahurica* (H. Andr.) Kzm. before and after snow cover

转,土壤表层温度高于底层,所以根状茎受伤害程度高于叶片。

2.2 雪盖前后兴安鹿蹄草可溶性糖含量的变化

如图3所示,从10月1日到11月中旬随着气温的降低可溶性糖的含量逐渐增加,根状茎增加幅度大于叶片,到11月15日叶片与根状茎分别增加了49.1%、133.8%。但之后随着温度的进一步降低,可溶性糖含量反而下降,根状茎和叶片的可溶性糖含量12月15日比11月15日分别降低了30.2%、35.8%。初春3月份积雪开始融化,雪盖覆盖的稳定环境被破坏,温度变化剧烈,气温很低,所以这时的可溶性糖含量达到最大值,叶及根状茎分别为 108.9 mg g^{-1} 、 92.9 mg g^{-1} ,叶片与根状茎分别比雪盖前11月15日最高值分别增加了18.0%、7.5%,以后随着气温的升高可溶性糖含量逐渐下降,原因是随着气温的升高,胁迫强度逐渐减弱,可溶性糖的含量逐渐减少,根状茎和叶片4月15日比3月1日分别减少了20.4%、17.9%。从图3中可以看出雪盖前后叶片可溶性糖含量高于根状茎,经方差分析表明二者在雪盖前期差异不显著($F = 0.83$; $P = 0.38$; $F_{\text{crit}} = 4.96$),雪盖后期差异格外显著($F = 8.06$; $P = 0.03$; $F_{\text{crit}} = 5.99$)。

可溶性糖是植物在寒害条件下细胞内的保护物质,它可有效地提高细胞的渗透浓度,降低水势,

增加保水能力,从而降低冰点,对原生质体起到保护作用^[14]。11月中旬可溶性糖含量降低的原因主要有两方面,一是与雪盖的覆盖有关,在雪盖覆盖的环境条件下,温度变化得不很剧烈,二是与抗寒能力的获得有直接关系,低温锻炼诱导了可溶性糖的积累从而提高了兴安鹿蹄草的抗寒性,经过低温锻炼形成了一定的抗寒能力,到11月中旬形成抗寒能力以后,可溶性糖含量开始下降,周瑞莲也曾报道过高山牧草从 0°C 到 -17°C 可溶性糖含量逐渐增高,气温低于 -17°C 时可溶性糖含量下降。雪盖后期叶片与根状茎的可溶性糖含量显著高于雪盖前期的原因是雪盖后期的气候条件对兴安鹿蹄草的胁迫强度高于雪盖前期,可溶性糖含量的增加对于兴安鹿蹄草顺利度过脱冻适应期具有重要作用;根状茎的可溶性糖含量低于叶片,而且在雪盖后期差异格外显著,原因在于叶片更容易受到低温的伤害,由于暴露于空气中,地面环境温度变化与波动较大,更容易造成细胞内结冰,可溶性糖含量的增加有助于降低冰点,使细胞膜免受伤害,能增强其适应性。雪盖后期地温低于气温,根状茎所受到的低温胁迫比叶片大,所以其可溶性糖含量差异较大。

2.3 雪盖前后兴安鹿蹄草可溶性蛋白质、脯氨酸含量的变化

从10月1日到11月15日随着气温的降低,可溶性蛋白质含量逐渐增高,叶片与根状茎分别增加了35.9%、14.8%。11月中旬以后,叶片与根状茎中的可溶性蛋白质含量都有所下降,这与抗寒能力的形成有密切关系,形成抗寒能力以后可溶性蛋白质含量降低,根状茎与叶片12月15日比12月1日分别降低了18.8%、39.8%。从翌年3月份开始,可溶性蛋白质含量显著增高,根状茎与叶片4月15日可溶性蛋白质含量比3月1日分别增加了25.5%、28.7%。可溶性蛋白质含量总的变化趋势是雪盖后期的含量明显高于雪盖前期,而且在春季随着温度的升高而升高,雪盖后期根状茎和叶片中的可溶性蛋白质含量比积雪前阶段的最高值升高了84.9%、78.5%。根状茎的可溶性蛋白质含量始终高于叶片,经方差分析表明在雪盖前期两者差

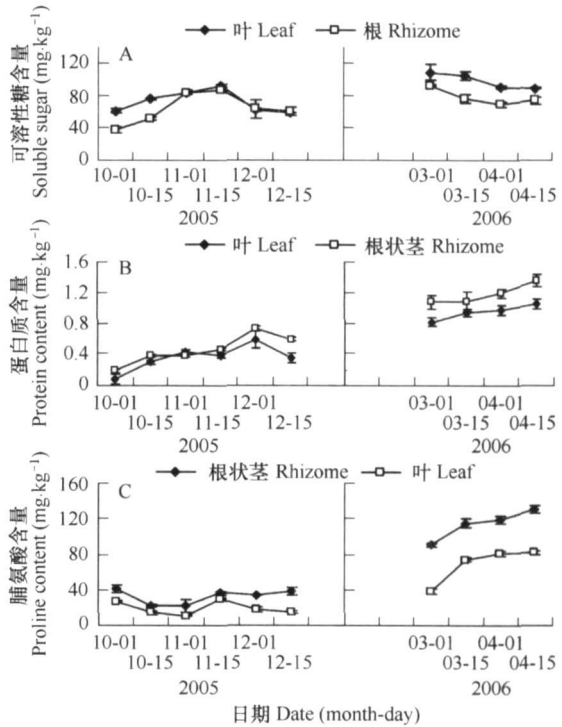


图3 雪盖前后兴安鹿蹄草叶片、根状茎中可溶性糖含量的变化(A);可溶性蛋白质含量的变化(B);脯氨酸含量的变化(C)

Fig. 3 Changes in soluble sugar level and Protein content and in leaves and rhizomes of *Pyrola dahurica* (H. Andr.) Kom. before and after snow cover

异不显著 ($F = 0.99$ $P = 0.34$ $F_{crit} = 4.96$), 雪盖后期差异显著 ($F = 8.16$ $P = 0.03$ $F_{crit} = 5.99$)。

雪盖前期, 10月1日前后脯氨酸含量较高, 之后开始降低, 到11月1日叶片与根状茎分别降低了60.5%、47.2%, 11月中旬稍有升高。雪盖前期脯氨酸含量的变化趋势表现为先降低而后升高, 这与李君报道的马蹄金自然降温过程中脯氨酸变化趋势是一致的。从3月1日到4月中旬, 积雪逐渐开始融化, 脯氨酸含量随着温度的升高大幅度升高, 根状茎与叶片在4月15日脯氨酸含量比10月1日分别增加了217.1%、203.7%, 4月15日比3月1日分别增加了44.4%、115.5%。脯氨酸的含量总的变化趋势是雪盖后期明显高于雪盖前期。从图3还可以看出在雪盖前后根状茎中脯氨酸含量始终高于叶片中含量, 经方差分析表明在雪盖前期两者差异显著 ($F = 8.05$ $P = 0.02$ $F_{crit} = 4.96$), 在积雪融化期两者差异十分显著 ($F = 11.36$ $P = 0.02$ $F_{crit} = 5.99$)。

可溶性蛋白质是重要的渗透调节物质, 植物在自然降温过程中可溶性蛋白质可束缚更多的水分, 减少原生质内因结冰而伤害致死的机会, 从而大大增强了抗寒性^[17, 21]。兴安鹿蹄草在雪盖前期, 可溶性蛋白质含量随着温度降低而逐渐增加, 表明在抗寒锻炼过程中有蛋白质的合成。Gdffiñ等发现一些禾谷类作物, 如冬小麦、冬黑麦草、冬大麦和春燕麦, 在冷适应中叶片细胞中有抗冻蛋白 (Anti-freeze protein) 积累, 并发现抗冻蛋白能抑制细胞内冰晶增大, 提高植物的抗冻力, 冷适应中产生的蛋白质可能在增加植物抗冻力上起直接作用。雪盖后期可溶性蛋白质含量明显高于雪盖前期, 原因主要在于雪盖前后气候与雪盖的结构不同, 雪盖后期气温逐渐开始升高, 积雪开始融化, 雪盖的结构发生改变, 保温性能降低, 在雪盖底层的兴安鹿蹄草处于融雪后的低温环境, 可溶性蛋白质含量增加将提高兴安鹿蹄草的抗寒性。3月份最低气温可达 -30°C , 兴安鹿蹄草处于极度寒冷的环境, 这一时期也是兴安鹿蹄草脱冻适应期, 能否顺利通过这一时期是能否安全越冬的关键时期。雪盖后期根状茎与叶片可溶性蛋白质含量差异较大, 原因是这一时期地温低于气温, 根状茎比叶片受到更大低温胁迫。

脯氨酸是最有效的渗透调节物质之一, 在低温胁迫下植物体内脯氨酸的积累, 有助于提高植物抗氧化能力及增强逆境适应性, 表现为抗寒性的增强。脯氨酸不仅可以与细胞中的水分子相结合, 增加组织束缚水, 还能与膜蛋白亲水基相结合保护蛋白质和膜结构^[15, 18, 22, 23]。在10月1日前后, 脯氨酸含量较高, 原因是初冬时气温偏高, 为抵御高温而积累大量的脯氨酸。然后随气温回落脯氨酸缓慢下降, 随温度进一步降低, 脯氨酸含量再次回升^[15]。脯氨酸的积累在雪盖后期明显高于雪盖前期, 原因是雪盖后期根状茎与叶片比雪盖前期受到更大低温胁迫。

脯氨酸含量的变化与可溶性蛋白质密切相关, 从3月1日到4月15日, 随着积雪融化和气温的升高, 可溶性蛋白质与脯氨酸含量大幅度增加, 二者成正相关, 根状茎、叶片的可溶性蛋白质与脯氨酸含量相关系数分别为0.990、0.617。脯氨酸的含量随着可溶性蛋白质含量的增加而增加, 说明脯氨酸的积累并不是由于蛋白质分解形成的。脱冻适应过程中产生的蛋白质可能在增加植物抗冻力上起直接作用。从实验中还发现从3月初到4月中旬脯氨酸与可溶性蛋白质含量大幅度增加, 并不随着温度升高而降低, 这是由于温度虽然上升, 但胁迫并未解除, 这也是脱冻适应期的关键反应。

另一方面, 渗透性调节物质具有抗膜脂过氧化作用。从实验中发现, 从3月1日起渗透调节物质迅速增加, 这时根状茎和叶片中的MDA含量比雪被前显著降低, 表明渗透调节物质有助于控制细胞内的膜脂过氧化。这与周瑞莲^[5]报道结果是一致的。

3 小结

综上所述, 渗透调节物质与MDA含量的变化规律为, 在雪盖前期可溶性糖、可溶性蛋白质、MDA含量都表现为先升高而后降低的趋势, 脯氨酸含量表现为先降低而后升高。在雪盖后期, 可溶性蛋白质与脯氨酸含量明显高于雪盖前期, 而且随着气温升高而升高, 可溶性糖含量高于雪盖前期, 随着气温升高而降低, MDA含量低于雪盖前期。根状茎的可溶性蛋白质与脯氨酸含量高于叶片, 可溶性糖含量低于叶片, MDA含量在雪盖前期低于叶片, 在雪盖后期高于叶片。

References

- [1] Hu W G, Hu Z L, Song Z P, *et al*. Flora of China, Tomus 56. Beijing: Science Press 1990. 169-171.
- [2] Zhao Y X, Feng T J, Du K J *et al*. Studies on morpho and microstructure in rhizome and leaf of *Pyrola calliantha* H. Journal of Agricultural University of Hebei 2005, 28(3): 23-25
- [3] Wu Y. Effects of Seasonal Snow Cover on Plant Community. Journal of Mountain Science, 2005, 23(5): 550-556
- [4] Zhao H L, Zhou R L, Zhao Y. Advance in snow ecology study in the world. Advance in Earth Sciences 2004, 19(2): 296-304
- [5] Zhou R L, Cheng G D. Changes in the Roots of Alpine Grasses in Relation to Late Fall Winter and Spring Freezing Tolerance. Acta Phytocologica Sinica, 2000, 24(5): 554-559
- [6] Northeast Forest University. Foundation data of Mao'er mountain experimental forest farm of Northeast Forest University. Northeast Forest University Press 1984
- [7] Olien C R, Clark J L. Changes in soluble carbohydrate composition of Barley, Wheat and Rye during winter. Agron J., 1993, 85, 21-29.
- [8] Wang A G, Shao C B, Luo G H. The discussion of MDA be as the index of superoxide of plants. Plant Physiol Comm, 1986, 6(2): 55-58
- [9] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 1976, 72, 248-254
- [10] Zhang Z L. Experiment guide of plant physiology. 2nd ed. Beijing: Higher Education Press 1992. 154-155
- [11] Bates L S, Waldren R P, Tear G D. Rapid determination of proline for water stress studies. Plant Soil 1973, 39, 205-207
- [12] Yang C S, Xie C T, Zhang P, *et al*. Changes in Membrane Lipid Peroxidation and Activities of Cell Defense Enzyme in Leaves of *Butia capitata* Becc Seedling under Low Temperature Stress. Acta Horticulturae Sinica, 2003, 30(1): 104-106
- [13] Wang Y L, Liao K, Liu J, Wang L. Changes of contents substances and antioxidant enzyme activity in grape vines during cold exercise period before over-wintering. Journal of Science 2006, 23(3): 375-378.
- [14] Jiang F Y, Li Y. Low temperature stress and cold hardiness physiology in plants. Fujian Journal of Agricultural Sciences 2002, 17(3): 190-195.
- [15] Li J, Zhou S B, Huang W J. Comparative study of the cold resistance between the wild and the cultivated species of *Dichondra repens* as temperature falls. Pratacultural Science, 2005, 22(6): 105-107
- [16] Wei Z W, Wang D X, He L C. Effect of super oxide dismutase on cold acclimation of alfalfa. Pratacultural Science 2006, 23(7): 15-18
- [17] Lu Z G, Zhou W J, Zhao C Q, Chen J, Tan F. Studies on the adaptation of *Taxus medla* CV. Hicksii to Natural Temperature reduction. Acta Phytocologica Sinica, 2004, 28(1): 73-77
- [18] Albino Maggiori, Saori Miyazaki, Paola Veronesi, *et al*. Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction? The Plant Journal 2002, 31(6), 699-712
- [19] Hare PD, Cress W A, Van Staden J. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. Plant Cell and Environment 1998, 21, 535-553.
- [20] Gedoff E D. Soluble protein in alfalfa roots as related to cold hardiness. Plant Physiology 1967, 42(7): 859-899.
- [21] Griffith M, Michytre H C H. The interrelationship of growth and frost tolerance in winter rye. Physiol Plant, 1993, 87, 335-344.
- [22] Junttila O, Svenning M M, Rosnes K. Influence of mineral nitrogen source on growth and frost resistance of white clover (*Trifolium repens* L.) and timothy (*Phleum pratense* L.) seedlings. Acta Agric Scand 1995, 45: 261-267
- [23] Sandi N, Svenning M M, Rosnes K, Junttila O. Effect of nitrogen supply on frost resistance, nitrogen metabolism and carbohydrate content in white clove (*Trifolium repens* L.). Physiol Plant, 1993, 88: 664-667

参考文献:

- [1] 胡文光, 胡琳贞, 宋滋圃, 等. 中国植物志, 56卷. 北京: 科学出版社, 1990. 169~171.

- [2] 赵耀新, 冯天杰, 杜克久, 等. 鹿蹄草根状茎、叶器官的形态解剖学研究. 河北农业大学学报, 2005 28(3): 23~25.
- [3] 吴彦. 季节性雪盖覆盖对植物群落的影响. 山地学报, 2005 23(5): 550~556.
- [4] 赵哈林, 周瑞莲, 赵悦. 雪生态学研究进展. 地球科学进展, 2004 19(2): 296~304.
- [5] 周瑞莲, 程国栋. 高寒山区牧草根中丙二醛、渗透调节物、多胺季节动态与抗冻力的关系. 植物生态学报, 2000 24(5): 554~559.
- [6] 东北林业大学. 东北林业大学帽儿山实验林场基础资料. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 1984.
- [8] 王爱国, 绍从本, 罗广华. 丙二醛作为植物脂质过氧化指标的探讨. 植物生理学通讯, 1986, 6(2): 55~57.
- [10] 张志良. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 1990 154~155
- [12] 杨盛昌, 谢潮天, 张平, 等. 低温胁迫下弓葵幼苗膜脂过氧化及保护酶活性的变化. 园艺学报, 2003 30(1): 104~106
- [13] 王燕凌, 廖康, 刘君, 王丽. 越冬前低温锻炼期间不同品种葡萄枝条中渗透性物质和保护酶活性的变化. 果树学报, 2006, 23(3): 375~378
- [14] 江福英, 李延. 植物低温胁迫及其抗性生理. 福建农业学报, 2002 17(3): 190~195.
- [15] 李君, 周守标, 黄文江. 马蹄金野生种与栽培种在自然降温过程中的抗寒性研究. 草业科学, 2005, 22(6): 105~107
- [16] 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. 草业科学, 2006, 23(7): 15~18
- [17] 芦站根, 周文杰, 赵昌琼, 陈京, 谈锋. 曼地亚红杉对自然降温的适应性研究. 植物生态学报, 2004 28(1): 73~77.