DOI: 10.11686/cyxb2016493　　http://cyxb.lzu.edu.cn
郭海燕，段婧，刘金平，游明鸿，谢瑞娟. 温度对雌雄葎草生理代谢及保护酶系统影响的性别差异. 草业学报，2017，26(10)：198-206.
GUO Hai-Yan, DUAN Jing, LIU Jin-Ping, YOU Ming-Hong, XIE Rui-Juan. Gender differences in physiology and enzyme activity in response to temperature in *Humulus scandens*. Acta Prataculturae Sinica, 2017, 26(10): 198-206.

温度对雌雄葎草生理代谢及保护酶系统影响的性别差异

郭海燕[1]，段婧[1]，刘金平[1*]，游明鸿[2]，谢瑞娟[1]
(1. 西华师范大学西南野生动植物资源保护省部共建教育部重点实验室，四川 南充 637009；2. 四川省草原科学研究院，四川 成都 611731)

摘要：以雌雄异株攀援草本植物葎草为材料，依据野生资源主要分布地域的平均温度，设置 3 个温度(15，20，25 ℃)为变量，通过测定光合指标、代谢指标、抗氧化酶活性指标和细胞膜完整性指标，分析温度对葎草光合作用、呼吸作用及抗逆性影响的生理变化，研究温度对雌雄葎草生理代谢及保护酶系统影响的性别差异。结果表明，温度显著影响葎草叶中的叶绿素含量，P_n 和单株生物量随温度下降显著减小($P<0.05$)，♀株的潜在 P_n 显著大于♂株($P<0.05$)；♂株的糖代谢和呼吸作用显著高于♀株($P<0.05$)，氮代谢性别间无显著差异($P>0.05$)，温度对可溶性糖(SS)、丙酮酸(PA)含量和硝酸还原酶(NR)有显著影响($P<0.05$)，随温度下降 SS 含量逐步增加($P<0.05$)，NR 活性逐步降低($P<0.05$)，温度对代谢速率影响远大于性别间的差异。温度对 SOD 和 POD 活性有极显著影响($P<0.01$)，对 CAT 活性有显著影响($P<0.05$)，随温度降低 3 种酶活性均不断增加，♀株中 SOD 和 POD 含量显著高于♂株($P<0.05$)，性别间 CAT 含量无差异。温度对细胞膜完整性物质含量的影响，远大于性别间差异，随温度降低葎草体内 H_2O_2、丙二醛(MDA)、脯氨酸(Pro)和可溶性蛋白(SP)含量均显著增加，♂株中 H_2O_2 和 SP 含量显著高于♀株($P<0.05$)，♀株中 MDA 和 Pro 含量显著大于♂株。温度对光合作用、呼吸作用、抗氧化酶系统及细胞膜完整性的影响有显著的性别差异，♀株比♂株有更强的适应温度胁迫的生理基础。

关键词：葎草；雌雄异株；新陈代谢；抗氧化酶；细胞膜完整性

Gender differences in physiology and enzyme activity in response to temperature in *Humulus scandens*

GUO Hai-Yan[1], DUAN Jing[1], LIU Jin-Ping[1*], YOU Ming-Hong[2], XIE Rui-Juan[1]
1. *China West Normal University and Key Laboratory of Education on Southwest China Wildlife Resoureces Conservation*, *Nanchong* 637009, *China*; 2. *Academy of Sichuan Grassland Science*, *Chengdu* 611731, *China*

Abstract: The purpose of the study was to explore gender differences in physiology and protective enzyme activity of dioecious plant species at different temperatures. Seed of the dioecious climbing herb *Humulus scandens* were planted in pots; at the 1－2 true leaf stage seedlings were moved to an incubator with three temperature settings (15, 20, 25 ℃) based on the mean temperature of the area of seed provenance origin. Photosynthesis, metabolism, antioxidant enzyme activity and cell membrane integrity were measured. The effect of temperature on photosynthesis, respiration and resistance of *H. scandens* to temperature was determined. Temperature significantly affected leaf chlorophyll content, light-saturated photosynthetic rate (P_n) and biomass which

收稿日期：2016-12-26；改回日期：2017-03-13
基金项目：西华师范大学英才科研基金(2017YC0337)和四川省科技支撑计划项目(2011NZ0064)资助。
作者简介：郭海燕(1993-)，女，重庆合川人，在读硕士。E-mail：1217482599@qq.com
* 通信作者 Corresponding author. E-mail: jpgg2000@163.com

significantly decreased with decreasing temperature. The P_n of female plants was always significantly higher than that of males ($P<0.05$). Soluble sugar (SS) and pyruvic acid (PA) contents and nitrate reductase activity (NRA) were also affected by temperature change ($P<0.05$); SS content was lower but NRA higher with decreasing temperature. Sugar metabolism and respiration rate of males was significantly higher than females ($P<0.05$), while nitrogen metabolism was not influenced by gender. Temperature affected metabolism more than gender. Temperature significant affected superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) ($P<0.05$) activity which increased with decreasing temperature; SOD and POD activity in females plants were significant higher than those of males ($P<0.05$) but CAT activity was not influenced by gender. The effect of temperature on cell membrane traits was greater than that of gender. H_2O_2, malondialdehyde (MDA), proline (Pro) and soluble protein (SP) content also increased significantly with decreasing temperature. Higher H_2O_2 and SP but lower MDA and Pro were observed in male compared to female plants. Our results indicated that gender differences in photosynthesis, respiration, antioxidant enzyme system and cell membrane integrity response to low temperature were of less importance than differences due to temperature.

Key words: *Humulus scandens*; dioecious; metabolism; antioxidant enzymes; cell membrane integrity

集雌雄异株植物的性别分化性、攀缘植物对外界支持物的依赖性、草本植物的短寿命性等特点于一身，雌雄异株攀缘草本植物面临生境胁迫时，要求其充分适应与利用生境条件，采取复杂、完善、高效、系统的生长策略，顺利完成短暂的生活史，才能在残酷的自然选择中保证物种的延续。雌雄异株植物维持种群稳定性的能力较为薄弱，光合作用能力、生物量分配、水分利用效率及开花授粉等方面均易受环境胁迫的影响[1]。应对环境胁迫时，雌雄个体生长、形态、生理、生殖及抗逆性等方面表现出明显的性别差异[2]，常引起种群内雌雄性比例失衡，种群繁殖能力下降，导致种群的组成、结构和功能发生改变。若雌雄异株攀缘草本植物遭遇胁迫时，雌、雄株不能及时、同步、协调、匹配地采取有效的应对措施，使物质能量在生长、生殖和抗性等功能间合理分配，保证生活史的顺利完成，且产生充足、健康的种实后代，必将造成物种的濒危或灭绝。

桑科葎草属植物葎草(*Humulus scandens*)作为药用、饲用、生态绿化、工业原料及水土保持材料等方式利用[3]，且广泛分布的雌雄异株草本攀缘植物，是研究该类植物生殖分配与繁殖策略的理想材料。目前，关于葎草的研究主要集中在营养成分、药物成分、饲喂效果评价及对其他生物的化感作用方面[4-6]，对性别分化导致的种群性比、雌雄株形态、生殖特点、种子发育等方面进行了较为浅显的研究[7-9]，对生境胁迫下形态塑性及繁殖策略进行了初步的研究[10-14]。关于温度对雌雄异株植物的生长发育、生理应激及生殖过程影响研究极少。温度是植物生长的主要生境因子之一，温度通过改变植物体内酶的组成、比例与活性，影响植物的光合、呼吸、蒸腾作用等代谢过程，改变有机物的合成、运输和累积速度，从而影响植物的生存、生长及生殖过程。常通过三基点温度研究适合植物生长发育与存活的温度范围，而最适与最高(低)之间其他温度对植物生理、生长、生殖的影响更加普遍。雌雄个体能否依据立地温度，及时形成生理应激机制，调整和改变同化、异化速率，使物质与能量在生长、防御、抗逆等功能间合理平衡分配，对雌雄异株草本攀缘植物的生长、生殖及物种留存有决定性意义。

本试验依据葎草主要分布地域的生长季的平均温度，采用人工气候培养箱，设置温度为唯一变量。通过测定雌、雄株的叶绿素含量、光合速率、潜在光合速率和单株生物量，分析温度对光合生理的影响；通过测定可溶性糖(SS)、丙酮酸含量(PA)和硝酸还原酶(NR)活性，研究温度对糖代谢、氮素代谢及呼吸作用的影响；通过测定超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性，探究温度对抗氧化酶系统的影响；通过测定丙二醛(MDA)、脯氨酸(Pro)、可溶性蛋白(SP)和过氧化氢(H_2O_2)含量，探讨温度对细胞膜完整性的影响。研究温度对雌雄葎草生理代谢及保护酶系统影响的性别差异，以期为胁迫环境下葎草个体发育、种群形成、适应度及种群扩繁等研究奠定基础，为雌雄异株草本攀缘植物资源的保护利用提供科学借鉴。

1 材料与方法

1.1 试验材料及设计

于 2015 年 3 月以野生葎草种子为材料，采用高 34 cm、口径 50 cm 花盆，以河沙∶腐殖土 1∶1 均匀混合为基质，按 10 粒/盆播种，共 30 盆。在 25 ℃下培养，幼苗 1～2 对真叶时，随机按 3 株/盆定苗(避免人为造成性比例失衡)。10 盆为 1 组，分别移入 15，20，25 ℃的人工气候培养箱(ZRX-1000DC)，设光照 12 h/黑暗 12 h，光照强度 1300 lx，相对湿度 32%下进行培养。待花芽分化现花序识别雌雄时，按性别每株取由上而下第 3 叶进行光合测定后，摘取、剪碎、混合后保鲜备用，测定生理指标。

1.2 测定项目与方法

1.2.1 光合指标测定 叶绿素含量采用乙醇丙酮混合提取法[14]。用 LI-6400 便携式光合仪，光照强度 1300 lx 下测现实光合速率，在有效辐射为 850 μmol/(m^2 · s)(光响应曲线表明该光照下 P_n 最大)的内置光源下测潜在光合速率，于第 3 叶中部随机 3 点连续采集 3 个值。每组随机选雌、雄各 3 株，在 105 ℃下烘至恒重后，称单株生物量。

1.2.2 代谢指标测定 用“苏州科铭生物有限公司”生产的试剂盒，测定可溶性糖(SS)、丙酮酸(PA)含量和硝酸还原酶(NR)活性[13]。

1.2.3 抗性指标测定[14] 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用氮蓝四唑(NBT)光化还原法，过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法，过氧化氢酶(CAT)活性测定采用紫外吸收法。

1.2.4 受伤害指标测定[15] 丙二醛(MDA) 采用硫代巴比妥酸(TBA)法，脯氨酸(Pro)采用酸性茚三酮法，可溶性蛋白(SP)含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法，过氧化氢(H_2O_2)含量采用钼酸法。

1.3 数据分析

用 SAS 10.0 软件对所有数据进行方差分析和析因分析，并用 Duncan 法对各参数进行显著性检验(SNK 检验)。

2 结果与分析

2.1 温度对光合指标的影响

叶绿素含量在性别间无显著差异($P>0.05$)，♀株的 P_n 和生物量显著大于♂株($P<0.05$)(表 1)。3 个温度下♀株的同化能力及物质积累能力均强于♂株。温度对叶绿素含量和 P_n 有显著影响，20 ℃下叶绿素含量显著低于 25 ℃($P<0.05$)，15 ℃时恢复到 25 ℃的水平；随温度下降 P_n 和单株生物量显著逐步下降($P<0.05$)，15 ℃时 P_n 值和生物量降为 25 ℃时的 50%左右。♀株的潜在 P_n 显著大于♂株($P<0.05$)，15 ℃时潜在 P_n 显著高于其他温度。

表 1 温度对叶绿素含量和光合速率影响的 SNK 检验

Table 1 SNK test about chlorophyll content and photosynthesis rate in different temperature

温度 Temperature (℃)	性别 Sex	总叶绿素 Chlorophyll (Chl a+b, mg/g)	光合速率 Photosynthetic rate (P_n, μmol/m^2 · s)	潜在光合速率 Potential photosynthetic rate (Potential P_n, μmol/m^2 · s)	生物量 Biomass of plant (g/plant)
25	♀	1.94±0.31bAa	6.06±0.27Aa	7.26±0.30Ab	2.31±0.18Aa
	♂	3.04±0.46bAa	5.07±0.14Ba	5.65±0.37Bb	1.52±0.12Ba
20	♀	1.66±0.38Ab	3.19±0.44Ab	3.91±0.34Ac	1.65±0.14Ab
	♂	1.13±0.65Ab	3.07±0.71Bb	3.89±0.53Bc	1.47±0.17Bb
15	♀	2.29±0.46Aa	2.96±0.13Ac	8.69±0.31Aa	1.03±0.12Ac
	♂	2.32±0.38Aa	2.73±0.53Bc	7.43±0.37Ba	0.61±0.18Bc

注：♀-雌株，♂-雄株。同列不同大写字母表示性别间差异显著($P<0.05$)，不同小写字母表示温度间差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: ♀-Female, ♂-Male. Different capital letters in the same column indicate significant difference between genders at 0.05 level, different lower letters within the same column indicate significant difference among temperatures at 0.05 level. The same below.

方差分析表明，P_n、潜在 P_n 及单株生物量在性别间和温度间均有极显著差异($P<0.01$)(表 2)。由 F 值可见，温度对叶绿素和光合速率的影响大于性别。温度与性别互作对叶绿素含量、P_n 及生物量无显著影响。性别影响为生物量>潜在 P_n>P_n>叶绿素含量，温度影响为 P_n>潜在 P_n>生物量>叶绿素含量。

2.2　温度对代谢指标的影响

♂株的 SS 和 PA 含量显著高于♀株($P<0.05$)(表 3)，NR 活性在性别间无显著差异($P>0.05$)。温度对 SS 和 PA 含量及 NR 活性有显著影响($P<0.05$)，随温度下降 SS 含量显著增加($P<0.05$)，♂株比♀株增加更快；NR 活性显著逐步降低($P<0.05$)，♂株和♀株下降无差异。PA 含量在 25 和 20 ℃间无显著变化，15 ℃时显著增加。

方差分析说明，性别对 SS 和 PA 含量有显著影响($P<0.05$)；温度对 PA 含量有显著影响($P<0.05$)，对 SS 含量和 NR 活性有极显著影响($P<0.01$)(表 4)。温度对代谢指标的影响远大于性别，温度和性别对代谢指标无显著交互作用。性别对代谢影响为 SS>PA>NR，温度的影响为 NR>SS>PA。

2.3　温度对抗氧化酶活性指标的影响

♀株中 SOD 和 POD 含量显著高于♂株($P<0.05$)(表 5)，CAT 在性别间无差异。温度对 3 种抗氧化酶活性有显著影响($P<0.05$)，随温度降低 3 种酶活性不断增加，♀株中 SOD 和 POD 增加速度大于♂株。SOD 和 POD 在 3 个温度间有显著差异($P<0.05$)，CAT 在 25 和 20 ℃时差异较小。从 25 ℃到 20 ℃，SOD 活性增加了 30%左右，POD 活性增加了 3 倍左右，CAT 活性无显著增加；从 20 ℃到 15 ℃，SOD 活性增加了约 6 倍，POD 活性增加了约 80%，CAT 活性增加了约 50%。

性别对 SOD 和 POD 活性有显著影响($P<0.05$)，对 CAT 活性影响不显著(表 6)。温度对 SOD 和 POD 活性有极显著影响($P<0.01$)，对 CAT 活性有显著影响($P<0.05$)。温度对抗氧化酶活性的影响远大于性别，温度和性别对 SOD 活性有显著交互作用($P<0.05$)。性别和温度对抗氧化酶活性影响均为 SOD>POD>CAT。

2.4　温度对细胞膜完整性指标的影响

性别对细胞膜完整性指标有显著影响，♂株中 H_2O_2 和SP含量显著高于♀株($P<0.05$)(表7)，♀

表 2　叶绿素含量和光合速率差异的双因子方差分析

Table 2　Two-factor variance analysis about chlorophyll content and photosynthesis rate

变异来源 Source	项目 Item	叶绿素含量 Chl a+b	光合速率 P_n	潜在光合速率 Potential P_n	生物量 Biomass
总处理 Corrected model	F	1.71	35.51	18.87	18.66
	P	0.228	<0.001	<0.001	<0.001
温度 Temperature	F	8.55	60.45	48.23	44.91
	P	0.035	<0.001	<0.001	<0.001
性别 Sex	F	0.25	8.74	8.94	14.10
	P	0.627	0.004	0.003	0.001
互作间 Interaction	F	1.79	2.83	1.97	1.99
	P	0.222	0.067	0.167	0.161

注：F 值表示 F 检验的显著性，F 越大表示越显著，P 值表示概率值。下同。

Note: F value indicate the significance of the F test, with greater F value means the more significant, and P value indicates the probability value. The same below.

表 3　温度对 SS、PA 和 NR 影响的 SNK 检验

Table 3　SNK test about SS, PA and NR in different temperature

温度 Temperature (℃)	性别 Sex	可溶性糖 Soluble sugar (SS, mg/g)	丙酮酸 Pyruvic acid (PA, μg/g)	硝酸还原酶 Nitrate reductase (NR, U/g)
25	♀	7.15±0.52Bc	3.79±0.56Bb	0.49±0.04Aa
	♂	9.98±0.92Ac	4.25±0.45Ab	0.51±0.03Aa
20	♀	15.52±2.18Bb	3.27±0.22Bb	0.35±0.01Ab
	♂	18.18±2.63Ab	4.27±0.75Ab	0.42±0.05Ab
15	♀	18.22±2.04Ba	4.77±0.45Ba	0.28±0.00Ac
	♂	31.98±2.67Aa	5.56±0.17Aa	0.27±0.02Ac

表 4　SS、PA 和 NR 差异的双因子方差分析

Table 4　Two-factor variance analysis about SS, PA and NR

变异来源 Source	项目 Item	可溶性糖 SS	丙酮酸 PA	硝酸还原酶 NR
总处理 Corrected model	F	4.43	3.57	4.72
	P	0.013	0.026	0.008
温度 Temperature	F	4.37	2.84	8.75
	P	0.003	0.042	<0.001
性别 Sex	F	3.67	3.85	0.57
	P	0.025	0.045	0.912
互作间 Interaction	F	1.12	1.34	1.12
	P	0.306	0.337	0.454

表 5 温度对抗氧化酶活性指标影响的 SNK 检验

Table 5 SNK test about antioxidant enzyme activity index in different temperature

温度 Temperature (℃)	性别 Sex	超氧化物歧化酶活性 Superoxide dismutase activity (SOD, U/min·g)	过氧化物酶活性 Peroxidase activity (POD, U/min·g)	过氧化氢酶活性 Catalase activity (CAT, U/min·g)
25	♀	102.17±12.18Ac	40.65±6.67Ac	247.25±23.52Ab
	♂	98.65±9.92Bc	39.17±3.37Bc	272.71±8.91Ab
20	♀	143.17±11.32Ab	132.15±15.85Ab	227.15±15.38Ab
	♂	128.24±13.58Bb	108.34±11.53Bb	254.18±9.64Ab
15	♀	862.15±58.54Aa	262.17±9.48Aa	378.57±8.54Aa
	♂	608.36±39.48Ba	181.45±5.25Ba	347.48±14.65Aa

株中 MDA 和 Pro 含量显著大于♂株。温度对细胞膜完整性指标均有显著影响，随温度降低 H_2O_2、MDA、Pro 和 SP 含量均显著增加。25 ℃到 20 ℃，H_2O_2、MDA 和 SP 含量显著增加。20 ℃到 15 ℃，Pro 和 SP 含量显著增大。15 ℃时 H_2O_2、MDA、Pro 和 SP 含量比 25 ℃时增加了约 1.5 倍。随温度降低♂株的 H_2O_2 和 Pro 增加量大于♀株，♂株和♀株的 MDA 和 SP 增加量相近。

方差分析说明，性别间 H_2O_2、MDA、Pro 和 SP 含量均有显著差异($P<0.05$)，温度间 4 种物质含量均有极显著差异($P<0.01$)。温度对细胞膜完整性物质含量的影响远大于性别，温度和性别对 4 种物质含量无显著交互作用($P>0.05$)。性别对细胞膜完整性物质含量的影响为 SP＞MDA＞H_2O_2＞Pro，温度的影响为 Pro＞SP＞H_2O_2＞MDA(表 8)。

表 6 抗氧化酶活性指标差异的双因子方差分析

Table 6 Two-factor variance analysis about antioxidant enzyme activity index

变异来源 Source	项目 Item	超氧化物歧化酶活性 SOD activity	过氧化物酶活性 POD activity	过氧化氢酶活性 CAT activity
总处理 Corrected model	*F*	88.44	72.25	2.43
	P	<0.001	<0.001	0.081
温度 Temperature	*F*	169.15	9.07	4.37
	P	<0.001	<0.001	0.021
性别 Sex	*F*	4.12	3.56	1.67
	P	0.012	0.015	0.602
互作间 Interaction	*F*	3.82	1.62	1.12
	P	0.017	0.351	0.431

表 7 温度对细胞膜完整性指标影响的 SNK 检验

Table 7 SNK test about cell membrane integrity index in different temperature

温度 Temperature (℃)	性别 Sex	过氧化氢含量 H_2O_2(mmol/g)	丙二醛含量 Malondialdehyde content (MDA, μmol/g)	游离脯氨酸含量 Free proline content (Pro, μg/g)	可溶性蛋白含量 Soluble protein (SP, mg/g)
25	♀	105.34±24.71Bb	24.17±12.18Ab	19.79±3.45Ab	10.45±3.65Bc
	♂	237.54±21.50Ab	30.56±9.92Bb	15.78±2.74Bb	13.15±3.27Ac
20	♀	537.41±17.54Ba	57.16±11.32Aa	21.85±4.57Ab	22.14±2.05Bb
	♂	675.42±18.52Aa	59.67±13.58Ba	15.63±1.42Bb	28.33±1.53Ab
15	♀	517.54±75.14Ba	59.47±58.54Aa	35.12±8.75Aa	42.77±7.45Ba
	♂	678.13±56.17Aa	77.24±39.48Ba	30.59±6.35Ba	48.43±5.27Aa

3 讨论

3.1 温度与光合作用

光合作用实质是植物在系统性酶等生理活性物质促进下，通过叶绿素吸收、固定光能，经过复杂的系列反应

把光能转变为化学能的过程。叶绿素是光合作用的物质基础,其含量及组成极易受生境的影响。觅到合适的支持物可显著增加葎草叶绿素含量[16],轻、中度水分胁迫也显著增加了叶绿素含量[17],且增加值无显著性别差异,但重度胁迫下,♂株的叶绿素含量比♀株下降幅度更大。有研究认为在低温下酶活性降低,叶绿素合成受阻且加速降解,使叶绿素含量降低[18]。本试验中,温度对葎草叶绿素含量有显著影响,随温度降低叶绿素含量并非线性下降,15 ℃时叶绿素含量显著高于 20 ℃,也许 15 ℃未达叶绿素降解低温强度,但限制了叶片开展,造成叶绿体等细胞器密度增大,而使叶绿素含量增加。在支持物、水分、温度胁迫时叶绿素含量无显著性别差异,而♀株的 P_n 总是显著大于♂株,致使♀株的单株生物量显著大于♂株,因♀株承担孕育子实的任务,高效的光能捕获和利用能力对生殖成功及后代传播具有重要意义。随温度下降葎草的 P_n 显著下降,温度对光合作用的影响较为复杂,主要通过酶的活性和气孔开合度,影响酶促反应速度和气体通量,致使光合作用底物浓度和反应速度发生改变。可通过胞间 CO_2 浓度(C_i)与气孔导度(G_s)数值变化一致性,判断气孔是否参与光合速率调节[19],♀株在有限的叶绿素基础上,是否通过气孔调节提升其光合速率有待深入研究。温度下降 10 ℃,P_n 值可降低 50%左右,本文中 15 ℃时葎草的 P_n 值显著低于其他温度,其潜在光合速率则显著大于其他温度,说明低温虽限制了光合酶的活性,但累积了最高的叶绿素浓度。可见在长期低温环境下,葎草形成了更为复杂的系统性光合策略,若外界温度一旦提升,即可激发其光合补偿机制或光合潜力,增加植株生长发育和存活几率。

表 8　细胞膜完整性指标差异的双因子方差分析

Table 8　Two-factor variance analysis about cell membrane integrity index

变异来源 Source	项目 Item	过氧化氢 H_2O_2	丙二醛 MDA	游离脯氨酸 Pro	可溶性蛋白 Soluble protein
总处理 Corrected model	*F*	71.45	88.44	56.67	72.25
	P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
温度 Temperature	*F*	8.14	6.35	10.57	9.07
	P	0.003	0.006	<0.001	<0.001
性别 Sex	*F*	2.87	4.12	2.72	6.56
	P	0.041	0.031	0.042	0.015
互作间 Interaction	*F*	0.97	1.28	1.07	1.62
	P	0.989	0.727	0.851	0.351

3.2　温度与物质代谢

可溶性糖(SS)是主要光合产物,是碳水化合物代谢、暂时贮藏和运输的主要行式,也是呼吸作用的主要底物,与植物的抗性有密切关系[12]。植物生长发育实质是可溶性糖经过复杂的合成、分解及转运,转化为结构性物质、生理活性物质及贮藏性物质的过程。温度通过影响光合作用和呼吸作用中系列酶的活性,影响 SS 的合成与分解,也通过影响蒸腾作用和细胞膜的完整性,改变 SS 的运转和累积。本文中,温度越低 P_n 值越小,表明 SS 的合成越慢,温度越低呼吸作用产物丙酮酸(PA)含量越高,表明 SS 分解越快,但 SS 含量逐步增加,可见葎草能够依据温度在生长、生殖和抵御功能间进行物质和能量的权衡性分配,结果与支持物和水分胁迫下相似。3 个温度下♂株 P_n 显著低于♀株,而 SS 和 PA 含量均显著高于♀株($P<0.05$),不仅说明♂株的同化作用比♀株更易受温度的影响,且♂株把更多的物质与能量用于抵御生境的胁迫,致使其生物量累积、植株大小、分枝能力低于♀株[17]。硝酸还原酶(NR)活性对无机氮的还原、同化和氨基酸、蛋白质的合成等氮代谢过程起关键的调控作用[20],氮代谢与糖代谢和呼吸作用密切相关,约 25%光合总能量用于氮代谢[21]。温度越低 SS 和 PA 含量越高,而 NR 活性越低,表明氮素代谢受温度影响较大,但未与增强抵御性的糖代谢和呼吸作用同步跟进。3 个温度下♂株和♀株的 NR 活性无显著差异,NR 活性与 P_n 呈现出一致性,或因氮代谢受氮源种类、生态因子、发育阶段以及部位诸多因子的影响[22],或在胁迫条件下氮代谢主要参与维持生命运转的遗传物质和生理活性物质合成,降低了与糖代谢和呼吸作用的相关性。温度对糖代谢、氮代谢及呼吸作用的影响是极其复杂的系统性过程,本文通过 SS 和 PA 含量及 NR 活性变化,仅说明温度对葎草物质代谢速度的性别差异,说明♂株比♀株承受更大的生存风险。

3.3　温度与抗氧化酶活性

正常植物组织中通过各种途径产生活性氧(active oxygen)的同时,也通过抗氧化酶系统来降低或消除活性

氧对膜脂的攻击能力，使细胞内自由基的产生和清除处于动态平衡状态。随温度降低葎草中 SOD、POD 和 CAT 活性不断增加，25 ℃到 20 ℃，SOD 增加 30%左右，POD 增加 3 倍左右，CAT 无显著增加；从 20 ℃到 15 ℃，SOD 增加了 6 倍左右，POD 增加了 80%左右，CAT 增加了 50%左右。可见温度对抗氧化酶系统的组成和比例有显著影响，或许不同温度对活性氧产生途径、产生器官和产生量有影响。SOD 消除 H_2O_2 的产生，CAT 分解 H_2O_2，而 POD 主要定向分解叶绿体中的 H_2O_2。20 ℃时，叶绿素显著下降，POD 急剧增加，CAT 无变化，表明活性氧主要由叶绿体的代谢产生。15 ℃时，3 种酶活性均显著增加，尤其 SOD 急剧上升，表明 H_2O_2 产生途径及产生量更为复杂。♀株中 SOD 和 POD 含量显著高于♂株，CAT 性别间无差异，一方面说明♀株的抗氧化能力强于♂株，一方面说明葎草应对外界胁迫的保护酶系统相当复杂。本实验设置的 3 个温度下，抗氧化酶活性存在数倍的差异，尤其长期处于恒温条件，葎草均能合理配置资源且协调生长[23]，说明葎草具有极其强大的适应环境能力。

3.4 温度与细胞膜透性

当胁迫导致产生的活性氧超过保护酶系统的清除能力，导致细胞膜透性增大，损伤大分子生命物质，引起系列生理紊乱，导致植物受伤。本文中♂株中 H_2O_2 含量显著高于♀株，说明♂株细胞膜受到伤害的风险更大。♀株中抗氧化酶活性高，但表征膜脂过氧化作用的最终产物 MDA 显著大于♂株。♂株通过提高 SS 和 SP 含量增加细胞水势，减弱 H_2O_2 引起的细胞脱水，♀株通过提高 Pro 含量维持细胞渗透压。细胞膜完整性指标呈现出显著的性别差异，或许♀株和♂株细胞膜对温度胁迫响应时间及抗性潜力存在差异，有研究表明♂株对水分胁迫响应早于♀株，但抗旱潜力低于♀株[12]。同时♀株和♂株采用了不同调节细胞渗透压的方式，随温度降低♂株的 H_2O_2 和 Pro 增加量大于♀株，♂株和♀株的 MDA 和 SP 增加量相近，总体上♂株中 H_2O_2、SS 和 SP 含量显著高于♀株，♀株中 MDA 和 Pro 含量显著大于♂株，表明♀株和♂株产生、消除活性氧途径存在差异，或许细胞膜对活性氧伤害的抵抗方式及应对机理存在不同。温度对葎草细胞膜有显著影响，温度越低引起细胞膜伤害的 H_2O_2 含量越高，但维持渗透压物质和表征伤害度的物质均逐步增加，且性别主要影响 SP 含量，温度主要影响 Pro 含量，到底♀株和♂株在不同温度下采用了怎样的应对机理，有待深入研究。

4 结论

葎草对温度具有极强的适应能力，在 25，20 和 15 ℃的恒温条件下，葎草可以顺利开花，为完成生活史奠定基础；温度对葎草的光合作用、呼吸作用、抗氧化酶系统及细胞膜完整性有显著影响，温度越低光合速率和生物量累积越低、糖代谢和呼吸作用越强、氮代谢则减弱、抗氧化酶活性和细胞膜伤害物质含量越高。3 个温度下♂株的光合效率、潜在光合速率、单株生物量显著低于♀株，♂株糖代谢和呼吸作用显著高于♀株，♀株中抗氧化酶含量显著高于♂株，表明♂株生长发育比♀株更易受外界温度的影响，♀株的光合同化能力和抗氧化能力强于♂株。雌雄葎草适应温度的代谢途径和响应机理存在不同，但雌雄个体均能依据温度条件，调整和改变代谢速度和抗性物质含量水平，保证个体的存活且能转入生殖生长，为传花授粉、孕育子实及物种延续奠定了基础。

参考文献 References：

[1] Xu X, Yang F, Yin C Y, *et al*. Research advances in sex-specific responses of dioecious plants to environmental stresses. Chinese Journal of Applied Ecology, 2007, 18(11): 2626-2631.
胥晓，扬帆，尹春英，等. 雌雄异株植物对环境胁迫响应的性别差异研究进展. 应用生态学报，2007，18(11)：2626-2631.

[2] Yin C Y, Li C Y. Gender differences of dioecious plants related sex ratio recent advances and future prospects. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2007, 13(3): 419-425.
尹春英，李春阳. 雌雄异株植物与性别比例相关的性别差异研究现状与展望. 应用与环境生物学报，2007，13(3)：419-425.

[3] Sun Y C, Xu T B, Wang Y L. The comprehensive development and utilization of *Humulus scandens*. Quarterly of Forest By-Product and Speciality in China, 2003, (3): 57.
孙跃春，徐彤宝，王艳玲. 葎草的综合开发利用. 中国林副特产，2003，(3)：57.

[4] Zhang J, Zhang K, Liu X G, *et al*. Identification of crude drugs from genus *Leonurus*. Journal of Chinese Medicinal Materials,

1998，21(12)：605-609.
张劫，张鲲，刘湘桂，等. 葎草的形态组织鉴定. 中药材，1998，21(12)：605-609.

[5] Li S Y，Ren X Q. Can be fed to livestock and poultry of *Humulus scandens*. Animal Science Abroad，2003，30(6)：48-49.
李守阳，任相泉. 葎草饲喂畜禽. 中国畜牧兽医，2003，30(6)：48-49.

[6] Lei Q J，Diao Z M，Zhang Z G，*et al*. The development and utilization of *Humulus scandens* and countermeasures research. Anhui Agricultural Science Bulletin，2005，11(7)：68-69.
雷青娟，刁治民，张正国，等. 葎草的开发利用及防治对策的研究. 安徽农学通报，2005，11(7)：68-69.

[7] Liu J P，Wang Y. Asexual reproduction component and its diversity of wild *Humulus scandens* in Nanchong. Pratacultural Science，2009，26(8)：68-71.
刘金平，王艳. 南充地区野生葎草构件性状多样性分析. 草业科学，2009，26(8)：68-71.

[8] Liu J P，Kang J L. Variation analysis of sexual reproductive investment for wild *Humulus scandens* (lour) merr population. Southwest China Journal of Agricultural Sciences，2010，23(3)：872-875.
刘金平，康军利. 野生葎草种群有性生殖投入与收益差异性分析. 西南农业学报，2010，23(3)：872-875.

[9] Liu J P，Ouyang M. Effect of maturity degree and storage time on the seed germinating ability of wild *Humulus scandens*. Journal of Anhui Agricultural Sciences，2009，38(4)：1817-1818.
刘金平，欧阳梅. 成熟度与贮藏期对野生葎草种子发芽力的影响. 安徽农业科学，2009，38(4)：1817-1818.

[10] Liu J P，You M H，Zhang L H，*et al*. External supports affect the photosynthetic characteristics and biomass allocation of the climbing plant *Humulus scandens*. Acta Ecologica Sinica，2015，35(18)：6032-6040.
刘金平，游明鸿，张丽慧，等. 不同支持物对攀援植物—葎草雌雄株光合特性及生物量结构的影响. 生态学报，2015，35(18)：6032-6040.

[11] Liu J P，Duan J. *Humulus scandens* gender differences in response to water stress in the vegetative growth stage. Acta Prataculturae Sinica，2013，22(2)：243-249.
刘金平，段婧. 营养生长期雌雄葎草表观性状对水分胁迫响应的性别差异. 草业学报，2013，22(2)：243-249.

[12] Liu J P，You M H，Duan J，*et al*. Plasticity of reproductive strategy of dioecious *Humulus scandens* in response to variation in water deficit stress. Acta Prataculturae Sinica，2015，24(3)：226-232.
刘金平，游明鸿，段婧，等. 水分胁迫下雌雄异株植物葎草繁殖策略的可塑性调节. 草业学报，2016，25(3)：226-232.

[13] Liu J P，Fan X，You M H，*et al*. Change of sugar，pyruvic acid content and nitrate reductase activity of *Elymus sibiricus* reproductive branches during the seed development. Acta Prataculturae Sinica，2016，25(5)：69-77.
刘金平，范宣，游明鸿，等. 老芒麦种子发育过程中生殖枝中糖分、丙酮酸含量及硝酸还原酶活性变化. 草业学报，2016，25(5)：69-77.

[14] Xiong Q E. Plant Physiology Experiment Teaching Materials[M]. Chengdu：Sichuan Science and Technology Publishing House，2003.
熊庆娥. 植物生理实验教材[M]. 成都：四川科学技术出版社，2003.

[15] Wang X K. Principle and Technology of Plant Physiology and Biochemistry Experiment[M]. Beijing：Higher Education Press，2006.
王学奎. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京：高等教育出版社，2006.

[16] Fan X，Wang D W，Liu J P. Gender differences in morphological plasticity and reproductive strategy of *Humulus scandens* in response to different external supports. Chinese Journal of Ecology，2015，34(6)：1559-1564.
樊星，王大伟，刘金平. 支持物对攀援葎草分枝形态塑性和繁殖对策影响的性别差异. 生态学杂志，2015，34(6)：1559-1564.

[17] Duan J，Liu J P. Gender differences of *Humulus scandens* in response to drought stress during the vegetative growth stage. Hubei Agricultural Sciences，2014，52(13)：3078-3082.
段婧，刘金平. 营养生长期葎草对干旱胁迫应对机理的性别差异分析. 湖北农业科学，2014，52(13)：3078-3082.

[18] Miao W，Wang G J，Ma D R，*et al*. Physiological responses of weedy rice to cold stress at seeding in Liaoning Province，China. Chinese Journal of Rice Science，2011，25(6)：639-644.
苗微，王国骄，马殿荣，等. 辽宁省杂草稻幼苗对低温胁迫的生理响应. 中国水稻科学，2011，25(6)：639-644.

[19] Xu D Q，Zhang Y Z. Photoinhibition of photosynthesis in plants. Plant Physiology Communications，1992，28(4)：237-243.
许大权，张玉忠. 植物光合作用的光抑制. 植物生理学通讯，1992，28(4)：237-243.

[20] Ma C H，Han J G，Sun J F，*et al*. A study on the changes of physiology and biochemistry during zoysiagrass seed development. Acta Prataculturae Sinica，2009，18(6)：174-179.

马春晖，韩建国，孙洁峰，等. 结缕草种子发育过程中生理生化变化的研究. 草业学报，2009，18(6)：174-179.

[21] Ching T M，Crane J M，Stamp D L. Adenylate energy pool and energy change in maturing rape seed. Plant Physiology，1974，54：748-751.

[22] Solomonson L P，Barber M J. Assimilatory nit rate reductase：Functional properties and regulation. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology，1990，41(4)：225-253.

[23] Duan J，Liu J P. Gender differences analysis of apparent traits of *Humulus scandens* in response to temperature in the vegetative growth stage. Pratacultural Science，2013，30(3)：418-422.
段婧，刘金平. 不同温度下雌雄葎草营养生长期的生长特性. 草业科学，2013，30(3)：418-422.