

高温胁迫对岷江百合幼苗耐热指数和理化特性的影响

杨炜茹, 张启翔, 孙 明, 潘会堂, 段 超, 李筱凡, 喇燕菲, 孔 滢

(北京林业大学 园林学院, 国家花卉工程技术研究中心, 北京 100083)

摘要:为了探明岷江百合幼苗在高温胁迫下的生理反应,以离体扩繁的岷江百合幼苗为研究材料,对其进行了不同高温(37 ℃/30 ℃、42 ℃/37 ℃)和不同时间(0、4、8、16、32、48 h)处理,研究了高温胁迫对其耐热指数和有关生理生化指标(叶绿素、丙二醛、游离脯氨酸、可溶性蛋白含量和 SOD 活性)的影响.结果表明:随着温度的升高和处理时间的延长,植株的耐热指数不断下降,叶绿素含量减少,丙二醛(MDA)含量增加;42 ℃胁迫 32 h 后,游离脯氨酸、可溶性蛋白含量、SOD 活性均达到最大值,分别比对照增加了 0.66 倍、1.77 倍和 9.78 倍.但胁迫 48 h 后,指标显著下降,这说明,42 ℃间断胁迫 48 h 对植株产生了不可逆的热伤害作用.

关键词:岷江百合; 高温胁迫; 生理特性; 耐热性

中图分类号:S682.2

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2010)01-0051-04

Effects of High Temperature on Survival Rate and Physiological Characteristics in Seedlings of *Lilium regale*

YANG Wei-ru, ZHANG Qi-xiang, SUN Ming, PAN Hui-tang, DUAN Chao, LI Xiao-fan, LA Yan-fei, KONG Ying
(School of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, National Engineering Research Center for Floriculture, Beijing 100083, China)

Abstract:To ascertain physiological response of *Lilium regale* to high temperature stress, seedlings of *Lilium regale* were subjected to different temperature (37 ℃/30 ℃, 42 ℃/37 ℃) for different times (0, 4, 8, 16, 32, 48 h). Heat-resistance index and some physiological characteristics (heat-resistance index, chlorophyll content, malondialdehyde content, free proline content, soluble protein content and SOD activity) were determined. The results showed that heat-resistance index and chlorophyll content in leaf were decreased significantly under high temperature stress, while malondialdehyde content increased. SOD activity, free proline content and soluble protein content in leaf of seedlings treated for 32 h under 42 ℃ reached the peak, increasing 0.66, 1.77 and 9.78 times respectively compared the control, but 48 h later, they declined. The results indicated that discontinuous stress under 42 ℃ for 48 h had irreversible heat injury effects on seedlings.

Key words: *Lilium regale*; high temperature stress; physiological characteristic; heat tolerance

岷江百合 *Lilium regale* 又名王百合,花大喇叭形,开放时浓香,白色,喉部为黄色.岷江百合生性强健,抗病性强,曾拯救欧洲百合于濒临灭绝惨景之中;亦耐碱性石灰土,又耐晒,广泛应用于百合杂交育种中^[1].目前市场上盛销的百合品种多从欧美国家进口,本身性喜冷凉,抗热性差,而我国华南、华北

地区春夏多高温,在栽植生产中常常会造成生长停滞,花朵败育等现象,严重影响了切花质量^[2].因而,培育耐热品种具有十分重要的意义.目前对百合耐热方面的研究多集中在国外栽培品种上^[2-7],对原种的耐热性研究较少.探讨原种的耐热机理对培育具有自主知识产权的耐热百合品种具有十分重要的意

收稿日期:2009-02-18

作者简介:杨炜茹(1980—),女,博士研究生;通讯作者:张启翔(1956—),男,教授,E-mail:zqx@bjfu.edu.cn

基金项目:国家环境保护部全国生物物种资源联合执法检查 and 调查项目(物种 09-二-3-1);国家林业局 948 重大项目(2006-4-C08);国家科技支撑计划项目(2006BAD01A18)

义. 本文以岷江百合为材料, 研究不同高温、不同处理时间下幼苗形态的变化及其叶绿素含量、质膜透性、丙二醛含量等生理指标的变化, 试图探明岷江百合在高温胁迫下的生理反应及适应机理, 以期为百合耐热育种提供理论依据.

1 材料与方法

供试材料为岷江百合, 收集于四川茂县. 将鳞茎低温处理后, 以中层鳞片为外植体, 经过诱导、继代、生根培养后移栽于培养钵(8 cm × 8 cm)中, 以 V(泥炭): V(蛭石): V(珍珠岩) = 5: 3: 2 为栽培基质, 置于人工气候箱(HPG-280HX)中进行培养. 待株高达 5 ~ 8 cm 时, 选取生长状况良好、长势一致的幼苗进行高温处理, 昼/夜温度设为: 37 ℃/30 ℃、42 ℃/37 ℃, 高温处理 0、4、8、16(8 h 光照 + 8 h 黑暗)、32 h(8 h 光照 + 8 h 黑暗, 2 次)、48 h(8 h 光照 + 8 h 黑暗, 3 次)后取样, 用于生理指标的测定. 对照植株置于室温下(25 ℃, 光照 8 h)生长. 每个处理 30 株.

参考贾开志等^[8]、易金鑫等^[9]的方法, 将高温伤害程度划分为以下 5 级: 0 级, 植株生长正常; 1 级, 少于 1/4 的叶片表现萎蔫; 2 级, 1/4 ~ 1/2 的叶片表现萎蔫或发黄; 3 级, 1/2 ~ 3/4 的叶片表现萎蔫或发黄; 4 级, 3/4 以上的叶片表现萎蔫或发黄; 5 级, 植株死亡. 通过公式计算耐热指数: $\text{耐热指数} = [1 - \sum(j \times N_j) / (j_{\max} \times \sum N_{ji})] \times 100$, 其中, N_j 为 j 级植株数, $j_{\max}$ 为耐热性分级最高级数, $\sum N_{ji}$ 为总株数.

叶绿素含量按张宪政^[10]的方法测定. 细胞膜透性、丙二醛(MDA)含量、脯氨酸含量和可溶性蛋白含量参照郝再彬等^[11]的方法测定. SOD 活性按 Stewart 等^[12]的方法测定. 各指标重复 3 次, 数据用 DPS 分析软件分析.

2 结果与分析

2.1 高温胁迫对岷江百合幼苗耐热指数的影响

耐热指数是反应植株耐热能力的指标之一, 耐热指数越高, 植株的耐热性能越好. 由表 1 可知, 随着温度的升高和处理时间的延长, 植株的耐热指数不断下降. 日间 37 和 42 ℃ 处理 48 h 后耐热指数分别为 60.47 和 24.34, 于对照相比, 分别降低了 39.53% 和 75.67%, 叶片绝大部分出现不可逆的发黄、萎蔫. 方差分析结果表明, 除 37 ℃ 处理 4 h 与对照相比无显著差异外, 其余处理均呈显著差异($P < 0.05$). 多重比较结果表明, 同一温度下, 各处理之间均呈显著差异, 其中 42 ℃ 胁迫下, 各处理间呈极显著差异($P < 0.01$).

表 1 高温胁迫对岷江百合幼苗耐热指数的影响¹⁾
Tab. 1 Effects of high temperature stress on the heat-resistance index in seedlings of *Lilium regale*

$t_{\text{处理}}/\text{h}$	耐热指数	
	37 ℃/30 ℃	42 ℃/37 ℃
0(对照)	100.00 Aa	100.00 Aa
4	100.00 Aa	97.55 Ab
8	96.21 Ab	89.62 Bc
16	88.23 Bc	78.11 Cd
32	70.52 Cd	65.49 De
48	60.47 De	24.34 Ef

1) 同列数据后大写字母相同者表示在 0.01 水平上差异不显著, 小写字母相同者表示在 0.05 水平上差异不显著(Duncan's 新复极差法)

2.2 高温胁迫对岷江百合叶片叶绿素含量的影响

由表 2 可以看出, 在高温胁迫下, 岷江百合叶片中的叶绿素含量迅速下降. 处理时间越长, 温度越高, 叶绿素含量降低幅度越大. 日间 37 和 42 ℃ 处理 48 h 后, 与对照相比, 叶绿素含量分别降低了 62.79% 和 80.59%. 方差分析和多重比较结果表明, 除 37 ℃ 胁迫 4 h, 与对照相比叶绿素含量无显著差异外, 其余处理均呈显著差异. 同温度下, 各处理间叶绿素含量呈显著差异. 这说明, 温度的高低和胁迫时间的长短均显著影响叶片中叶绿素的合成.

2.3 高温胁迫对岷江百合叶片丙二醛含量的影响

MDA 是膜脂过氧化的最终分解产物之一, 其含量的多少可以反映植物遭受伤害的程度. 由表 2 可以看出, 高温胁迫使岷江百合叶内 MDA 的含量增加, 胁迫持续时间越长, MDA 含量增加越多. 日间 37 和 42 ℃ 胁迫 48 h 后, MDA 质量摩尔浓度分别增加至 14.97 和 23.18 $\mu\text{mol/g}$; 与对照相比, 增加了 2.55 倍和 4.19 倍. 由方差分析可以看出, 37 ℃ 胁迫 4 ~ 8 h, 42 ℃ 胁迫 4 h, 对叶片 MDA 含量变化无显著影响. 42 ℃ 处理 48 h 后, MDA 含量急剧上升, 呈极显著差异.

2.4 高温胁迫对岷江百合叶片游离脯氨酸含量的影响

由表 2 可以看出, 高温胁迫后, 叶片游离脯氨酸含量基本上呈逐步上升趋势. 在日间 37 ℃ 高温下, 胁迫 4 h 对脯氨酸含量的影响不显著, 随着胁迫时间的延长, 脯氨酸质量分数持续上升, 至处理末(48 h)时达到最大值, 为 15.67 mg/g , 比对照增加了 47.14%, 呈极显著差异. 日间 42 ℃ 高温下, 胁迫 4 h, 脯氨酸质量分数即达到显著水平, 至 32 h 时达到最大, 为 16.84 mg/g , 增加了 66.07%. 随后脯氨酸质量分数显著下降, 48 h 时降至 9.70 mg/g , 与对照相比无显著差异. 这说明 42 ℃ 胁迫 48 h 对植株的热伤

害作用是幼苗自身无法调节恢复的.

2.5 高温胁迫对岷江百合叶片可溶性蛋白含量的影响

由表 2 可知,可溶性蛋白含量变化趋势和游离脯氨酸含量变化趋势较为相似. 日间 37 ℃ 高温处理下,可溶性蛋白含量随着胁迫时间的延长而增加,胁迫 48 h 时蛋白质质量分数达到最大值(0.59 mg/g),和对照相比呈极显著差异. 日间 42 ℃ 高温处理下,胁迫 32 h 时的蛋白质质量分数达到 0.61 mg/g,与对照相比增加了 1.77 倍. 随着胁迫时间的延长(处理 48 h 后),蛋白质含量呈下降趋势. 这表明,42 ℃ 处理 48 h 可能对植株造成了一定程度的热伤害作用.

2.6 高温胁迫对岷江百合叶片中 SOD 活性的影响

由表 2 可以看出,在一定处理时间内,高温胁迫可促使叶片的抗氧化酶活性增加. 日间 37 ℃ 的短暂高温处理 4 h 对 SOD 酶活性影响不大,无显著差异;但日间 42 ℃ 处理 4 h 即可使 SOD 活性急剧增加,达 4 407.97 U/g,为同期对照的 7.9 倍,呈极显著差异. 随着处理时间的延长,SOD 活性持续提高. 日间 37 和 42 ℃ 处理至 32 h 时,SOD 活性均达到最大,分别为 5 072.29 和 5 457.86 U/g,是同期对照的 9.45 倍和 9.78 倍. 当高温胁迫持续至 48 h 时,SOD 活性开始下降,抗氧化酶系统受到破坏.

表 2 高温处理对岷江百合幼苗叶片生理指标的影响¹⁾
Tab.2 Effects of high temperature stress on some physiological indexes in seedlings of *Lilium regale*

$\theta_{\text{昼}}/\theta_{\text{夜}}$	t/h	$w(\text{叶绿素 a + b})/$ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	$b(\text{MDA})/$ ($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$)	$w(\text{游离脯氨酸})/$ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	$w(\text{可溶性蛋白})/$ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	SOD 活性/ ($\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$)
37 ℃/30 ℃	0(对照)	3.01 Aa	4.22 Cd	10.65 Cc	0.23 Dd	536.67 Ee
	4	2.86 Aa	4.68 Cd	11.49 BCc	0.25 Dd	755.51 Ee
	8	2.47 ABb	5.20 Cd	13.59 ABb	0.34 Cc	2 896.97 Dd
	16	2.21 Cc	11.49 Bc	13.67 ABb	0.35 Cc	4 254.27 Cc
	32	1.33 Dd	13.68 Ab	14.44 ABa	0.45 Bb	5 072.29 Aa
	48	1.12 Ee	14.97 Aa	15.67 Aa	0.59 Aa	4 650.25 Bb
42 ℃/37 ℃	0(对照)	3.04 Aa	4.47 Ce	10.14 Cd	0.22 Dd	557.51 Ee
	4	2.42 Bb	4.55 Ce	11.59 Cc	0.29 De	4 407.97 Cc
	8	2.01 Bc	6.87 Cd	13.74 Bb	0.36 Cc	5 072.29 Bb
	16	1.66 Bd	11.97 Bc	14.14 Bb	0.58 Bb	5 134.82 Aa
	32	1.17 Ce	14.34 Bb	16.84 Aa	0.61 Aa	5 457.86 Aa
	48	0.59 Df	23.18 Aa	9.70 Cd	0.35 Cc	3 707.17 Dd

1) 相同温度处理下,同列数据后大写字母相同者表示在 0.01 水平上差异不显著,小写字母相同者表示在 0.05 水平上差异不显著(Duncan's 新复极差法)

3 讨论

光合作用是对高温最敏感的过程之一^[13]. 张桂莲等^[14]、杨秋珍等^[15]认为高温加速了叶片叶绿素的丧失,从而影响到叶片的光合能力以及光合产物的运输,导致叶片衰老. 本试验研究结果也证明了这一点,在高温胁迫下,岷江百合叶片中的叶绿素含量不断下降,叶色迅速转黄,光合作用受到抑制. 随着温度的升高和胁迫时间的延长,耐热指数不断减小.

MDA 是膜脂过氧化作用的最终产物之一,能引起对酶和膜的严重损伤,破坏细胞膜的正常结构和功能,因而其含量的高低可以反映植物遭受伤害的程度^[11]. 本试验研究表明,随着温度的升高和胁迫时间的延长,岷江百合的 MDA 含量不断提高,说明植株受到的伤害在逐渐加深,这与周斯建等^[3]研究结

果较为一致. SOD 是抗氧化系统的第一道防线,它能有效清除超氧阴离子对质膜的攻击,防御活性氧对细胞膜系统的伤害^[16]. 尹慧等^[5]、罗丽兰等^[6]研究发现,将东方百合‘Tiber’和新铁炮百合‘雷山一号’进行短暂高温处理后,其抗氧化酶活性均明显增加. 本研究表明,在一定处理时间内,高温胁迫也可促使岷江百合叶片的抗氧化酶活性增加. 但长时间高温胁迫会严重损害保护酶系统,SOD 活性下降.

渗透调节是植物在胁迫下降低渗透势、抵抗逆境胁迫的一种重要方式,在高温环境下,植物主动积累这些物质,抵抗热胁迫的伤害^[17]. 有学者研究认为,在高温胁迫下,可溶性蛋白含量是增加的^[18-19];但还有结果表明,植物体内的可溶性蛋白含量是下降的^[20-21],这可能与植物本身特性和胁迫温度有关. 本研究表明,不同温度胁迫一定时间后,叶片游

离脯氨酸和可溶性蛋白含量均显著增加,这对膜结构和功能的稳定性起到了积极的保护作用;但 42℃/37℃处理 32 h 后,二者突然下降,这说明在一定的胁迫条件下,植物能够通过积累渗透调节物质来抵抗逆境造成的伤害,但当超过这一范围,长时间的高温胁迫就破坏了岷江百合叶内自由基的产生与清除的动态平衡关系,使得膜脂过氧化作用加剧,最终导致膜结构和功能的破坏。

参考文献:

- [1] 赵祥云,王树栋,陈新露. 百合[M]. 北京:中国农业出版社, 2000.
- [2] 王凤兰,周厚高,黄玉源,等. 4 个新铁炮百合品系幼苗的抗热指标测定[J]. 仲恺农业技术学院学报, 2003, 16(2): 38-42.
- [3] 周斯建,义鸣放,穆鼎. 高温胁迫下铁炮百合幼苗形态及生理反应的初步研究[J]. 园艺学报, 2005, 32(1): 145-147.
- [4] 张施君,周厚高,孔翠颜,等. 高温胁迫对抽苔期新铁炮百合的生理影响[J]. 中国农学通报, 2004, 20(5): 191-192, 205.
- [5] 尹慧,陈秋明,何秀丽,等. 短暂高温对百合植株抗氧化酶系统的影响[J]. 园艺学报, 2007, 34(2): 509-512.
- [6] 罗丽兰,石雷,姜闯道,等. 不同温度下新铁炮百合幼苗的光合特性及其保护机制[J]. 园艺学报, 2008, 35(1): 131-136.
- [7] 陈秋明,尹慧,李晓艳,等. 高温胁迫下外源水杨酸对百合抗氧化系统的影响[J]. 中国农业大学学报, 2008, 13(2): 44-48.
- [8] 贾开志,陈贵林. 高温胁迫下不同茄子品种幼苗耐热性研究[J]. 生态学杂志, 2005, 24(4): 398-401.
- [9] 易金鑫,侯喜林. 茄子耐热性遗传表现[J]. 园艺学报, 2002, 29(6): 529-532.
- [10] 张宪政. 作物生理研究法[M]. 北京:中国农业出版社, 1992.
- [11] 郝再彬,苍晶,徐仲. 植物生理实验[M]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社, 2004.
- [12] STEWART R R C., BEWLEY J D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes 1[J]. Plant Physiology, 1980, 65(2): 245-248.
- [13] BERRY J, BJORKMAN O. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants[J]. Annual Reviews in Plant Physiology, 1980, 31(1): 491-543.
- [14] 张桂莲,陈立云,张顺堂,等. 抽穗开花期高温对水稻剑叶理化特性的影响[J]. 中国农业科学, 2007, 40(7): 1345-1352.
- [15] 杨秋珍,李军,王金霞,等. 高温胁迫下甜瓜生理生态特性研究[J]. 中国生态农业学报, 2003, 11(1): 20-22.
- [16] 吴国胜,曹婉虹. 细胞膜热稳定性及保护酶和大白菜耐热性的关系[J]. 园艺学报, 1995, 22(4): 353-358.
- [17] 李合生. 现代植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社, 2002.
- [18] 欧祖兰,曹福亮,郑军. 高温胁迫下银杏形态及生理生化指标的变化[J]. 南京林业大学学报:自然科学版, 2008, 32(3): 31-34.
- [19] 李云,张钢,杨际双. 热激锻炼对高温胁迫下菊花生理代谢的影响[J]. 武汉植物学研究, 2008, 26(2): 175-178.
- [20] 汤日圣,郑建初,陈留根,等. 高温对杂交水稻籽粒灌浆和剑叶某些生理特性的影响[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2005, 31(6): 657-662.
- [21] 庞金安,张延军. 高温处理对黄瓜幼苗蛋白质含量的影响[J]. 天津农业科学, 2001, 7(1): 10-13.

【责任编辑 李晓卉】

(上接第 50 页)

- [8] 招礼军. 我国北方主要造林树种耗水特性及抗旱造林技术研究[D]. 北京:北京林业大学图书馆, 2003.
- [9] 万雪琴,夏新莉,尹伟伦,等. 不同杨树无性系扦插苗水分利用效率的差异及其生理机制[J]. 林业科学, 2006, 42(5): 133-137.
- [10] 赵凤君,高荣孚,沈应柏,等. 黑杨无性系长期水分利用效率差异的生理基础[J]. 生态学报, 2006, 26(7): 2079-2086.
- [11] LADEFOGED K. A method for measuring the water consumption of large intact tree[J]. Physiologia Plantarum, 1960, 13: 648-658.
- [12] ROBERTS J. The use of tree-cutting technique in the study of water relation of mature[J]. Pinus sylvestris L J Exp Bot, 1977, 28: 751-767.
- [13] KNIGHT D H, FAHEY T J, RUNNING S W, et al. Transpiration from 100-yr-old lodgepole pine forests estimated with whole-tree potometers[J]. Ecology, 1981, 62(3): 717-726.
- [14] 朱妍,李吉跃,史剑波. 北京六个绿化树种盆栽蒸腾耗水量的比较研究[J]. 北京林业大学学报, 2006, 28(1): 65-70.
- [15] 何茜,李吉跃,齐涛. “施丰乐”对国槐蒸腾耗水日变化的影响[J]. 福建林学院学报, 2006(4): 358-362.
- [16] 何茜,李吉跃,齐涛. 植物生长调节剂对国槐蒸腾耗水的影响[J]. 北京林业大学学报, 2007, 29(1): 74-78.

【责任编辑 李晓卉】