

热激锻炼对高温胁迫下菊花生理代谢的影响

李云, 张钢*, 杨际双*

(河北农业大学园艺学院, 河北保定 071001)

摘要: 以菊花(*Chrysanthemum morifolium*)品种‘神马’的扦插苗为试验试材,在40℃下对其进行8 h的热激锻炼,然后在50℃下分别进行0、1、1.5、2、2.5、4 h不同时间的高温胁迫。通过对其相对电导率、丙二醛(MDA)、脯氨酸和可溶性蛋白质含量及过氧化物歧化酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定,研究了热激锻炼对菊花耐热性的影响。结果表明,热激锻炼的菊花叶片相对电导率比对照减小,MDA含量也比对照减小,而可溶性蛋白质和脯氨酸含量及POD和SOD活性比对照增加,说明热激锻炼在一定程度上提高了菊花幼苗的耐热性。

关键词: 菊花; 热激锻炼; 高温胁迫; 耐热性

中图分类号: Q945.78; S682.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2008)02-0175-04

Effects of Heat Shock on Physiological Metabolism of Chrysanthemum under High Temperature Stress

LI Yun, ZHANG Gang*, YANG Ji-Shuang*

(College of Horticulture, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001, China)

Abstract: To investigate the effects of heat shock on the heat tolerance, the cuttings of chrysanthemum ‘Jinba’ were treated at 40℃ for 8 hours, and then the changes of electrolytic leakage, content of malondialdehyde level (MDA), soluble protein, proline and activity of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) were measured after high temperature stress with different times (1–4 h). The results showed that the electrolytic leakage and the content of MDA in leaves treated with heat acclimation were lower than those of non-treated, the contents of soluble protein and proline and the activities of SOD and POD kept higher levels compared with those of controls. The results indicated that the heat tolerance of chrysanthemum was improved by heat shock treatment.

Key words: *Chrysanthemum morifolium*; Heat shock; High temperature stress; Heat tolerance

菊花(*Chrysanthemum morifolium*)是原产于我国的菊科菊属宿根性花卉,是世界四大切花之一。我国切花菊的生产部分用于出口,但是由于切花菊大多是秋菊,不耐高温,我国许多地区在春夏之交时温室和塑料大棚内高温危害日益突出,因此夏季切花菊的生产和出口出现断档。热锻炼提高植物耐热性在许多植物上有报道^[1-3],而未见过热锻炼对菊花耐热性影响的研究报道。本试验以菊花幼苗为研究对象,在热激锻炼后对其进行50℃高温胁迫,通过对热激锻炼后菊花幼苗在热胁迫下生理活性变化规律的研究,将有助于采取相应措施减轻高温对菊花的危害,并通过揭示热激锻炼下菊花生理变化特点及特异性表现,为热激锻炼提高植物抗逆性提供理论依据,并为菊花的耐热性鉴定提供科学简捷的

方法。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试材料为河北宝硕集团提供的菊花品种‘神马’扦插苗(40 d),2007年3月18日,在温室中(25℃)将扦插苗置于18 cm × 18 cm的塑料钵中,每个塑料钵中栽4棵菊花幼苗。栽植用土为:蛭石:草炭土=1:1,其它按常规管理。

1.2 热激锻炼和热胁迫处理

随机选取生长一致的菊花幼苗置于智能人工气候箱中(PRX-450D-30,宁波海曙赛福试验仪器厂),光照强度3000 $\mu\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,相对湿度65%,进行40℃热锻炼8 h,然后在50℃高温下分别进行不

收稿日期:2007-09-03,修回日期:2007-12-05。

基金项目:河北农业大学留学回国人员科研启动基金;菊花抗性育种(2004-897)资助。

作者简介:李云(1981-),女,硕士研究生,从事观赏植物抗性生理与育种研究。

* 通讯作者(E-mail: zhanggang1210@126.com)。

同时时间(0、1、1.5、2、2.5、4 h)的处理,以未经热锻炼的为对照,随后进行耐热指标的测定。

1.3 测定指标与方法

将扦插苗在 50℃ 下分别进行 0、1、1.5、2、2.5、4 h 的高温胁迫后取出,用于各种指标的测定。

1.3.1 电导法测膜透性 电导率的测定参考 Ryyppö 等^[4]的方法,每个处理取 5 片叶,用打孔器(直径为 0.5 cm)避开叶脉部分打 48 个孔,样本切后先用去离子水清洗,再平均置于 3 个盛有 15 mL 去离子水的试管中,每个试管 16 片小圆片;装好后用封口膜封口,室温下静置 3 h,之后用数字电导仪(DDSL-308,上海京科雷磁)测定初电导值(C_1);然后将试管置于沸水中煮沸 20 min,组织死亡和电解质释放完全后测定终电导值(C_2)。相对电导率(REL)计算公式: $REL = (C_1/C_2) \times 100\%$

1.3.2 MDA、SOD、POD 和可溶性蛋白质含量的测定 每个处理取 5 片叶片,随机称取 3 个重复,每个重复称取 0.3 g,将样品在冰浴的研钵中研磨,加入 1 mL pH 7.8 的磷酸缓冲液转移至离心管中,再加 2 mL pH 7.8 的磷酸缓冲液将研钵冲洗干净。在 10000 × g 下离心 20 min,粗酶液用于 MDA、SOD、POD 和蛋白质含量的测定。MDA 测定参考张宪政的方法^[5];SOD 测定参考李柏林和梅慧生的方法^[6],根据 SOD 抑制 NBT 的光化还原原理测定。POD 测定参考李合生的方法^[7]采用愈创木酚显色法测定。可溶性蛋白质测定方法参考 Whitham 等的考马斯亮蓝 G-250 染色法^[8]。

1.3.3 脯氨酸含量的测定 每个处理取 5 片叶片,随机称取 3 个重复,每个重复称取 0.3 g。测定参考薛应龙的方法^[9]。

1.4 统计分析

根据测定的膜透性数据,计算相对电导率,在 Excel 中作图。用 SPSS 11.5 (SPSS Inc., Chicago, IL, U. S. A.) 软件的 One-way ANOVA 分析不同时间处理的热锻炼和对照的相对电导率、SOD 和 POD 活性、MDA、蛋白质和脯氨酸含量的平均值差异是否显著。

2 结果与分析

2.1 热锻炼对热胁迫下菊花叶片 MDA 含量和相对膜透性的影响

在 50℃ 胁迫 0~4 h 范围内,热锻炼的扦插苗叶片中 MDA 含量变化趋势大体与对照一致,呈现出先上升再下降(0~1.5 h),再上升后又下降的趋

势(2~4 h)。但是热锻炼的 MDA 含量比对照低,在 1、2.5 h 时最为显著($p < 0.05$)(图 1)。MDA 是膜脂过氧化产物之一,热锻炼抑制了 MDA 含量的增大,说明热锻炼减弱了膜脂的过氧化作用,延缓了高温对细胞结构的破坏,提高了植物体对高温的耐受性。

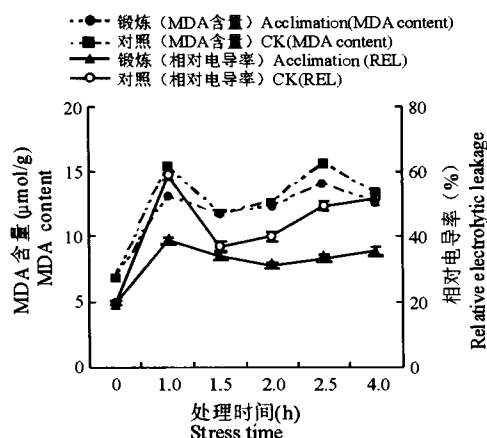


图 1 热锻炼对高温胁迫下菊花叶片 MDA 含量和相对电导率的影响

Fig. 1 Effect of heat shock on MDA content and relative electrolytic leakage (REL) of chrysanthemum leaves under high temperature stress

在 50℃ 胁迫 0~4 h 范围内,热锻炼的叶片相对电导率始终低于对照。在 1、2、2.5、4 h 热锻炼的相对电导率与对照的差异都为显著($p < 0.05$)(图 1)。在 0~1.5 h 期间热锻炼和对照的相对电导率都是先上升后下降,在短暂的时间内机体可能是经历了一个逐渐适应高温环境的过程。1.5 h 后热锻炼的叶片相对电导率呈现出先缓慢下降又缓慢上升的趋势,而在此过程中对照则一直缓慢上升,且上升幅度较大。相对电导率的增高,是膜透性增大的缘故,热锻炼后的扦插苗相对电导率比对照低,说明热锻炼在一定程度上缓解了菊花幼苗叶片膜损伤程度。

2.2 热锻炼对热胁迫下菊花叶片 POD 和 SOD 活性的影响

在高温胁迫 0~4 h 范围内,热锻炼的菊花叶片中 POD 活性先逐渐升高,2.5 h 后下降,且在整个热胁迫过程中始终高于对照(图 2)。对照没有明显的 POD 活性升高过程。这意味着在热胁迫初期,经热锻炼的菊花幼苗可通过自身调节机制,提高 POD 酶活性以适应环境胁迫。随着胁迫时间的延长,菊花幼苗自身调节能力已经减弱,内源抗氧化酶系统清除活性氧能力下降。但相对于对照,高温胁迫

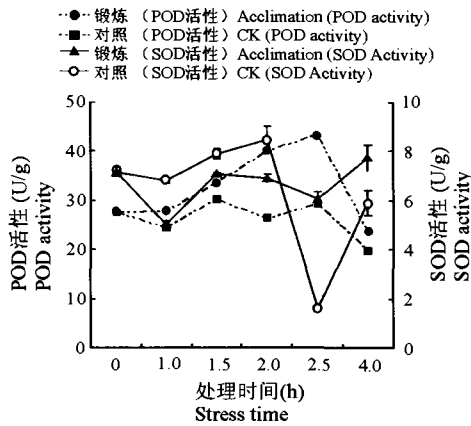


图2 热激锻炼对高温胁迫下菊花叶片 POD 和 SOD 活性的影响

Fig. 2 Effect of heat shock on POD and SOD activities of chrysanthemum leaves under high temperature stress

胁迫下热激锻炼处理使细胞内 POD 保持了较高的活性。

热激锻炼的菊花幼苗 SOD 活性在 50℃ 胁迫过程中变化比较平稳,且在 1~2 h 期间低于对照。热胁迫 2 h 时,对照的叶片 SOD 活性急剧下降(图 2),而热激锻炼的菊花幼苗叶片 SOD 活性下降幅度较小。

2.3 热激锻炼对热胁迫下菊花叶片可溶性蛋白质和脯氨酸含量的影响

热激锻炼的菊花幼苗在 50℃ 胁迫 0~4.0 h 期间都具有较高的可溶性蛋白含量,在 1~2.5 h 期间显著高于对照($p < 0.05$)(图 3)。在整个热胁迫过程中,热激处理和对照的可溶性蛋白含量在 0~1 h 期间都呈现出急剧上升的趋势,可能是植物应急反应,急剧合成热激蛋白的缘故。而在 1~4 h 期间,热激处理和对照的可溶性蛋白含量变化呈现出不同

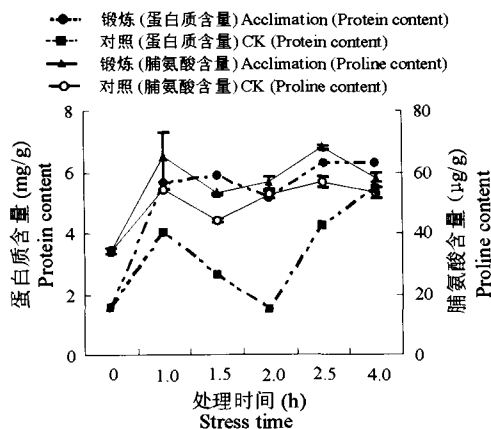


图3 热激锻炼对高温胁迫下菊花叶片可溶性蛋白质和脯氨酸含量的影响

Fig. 3 Effect of heat shock on protein and proline content of chrysanthemum leaves under high temperature stress

的趋势。热激处理的可溶性蛋白含量在 2 h 时略有降低,但没有达到显著水平($p > 0.05$),总体来说变化平稳;对照在此期间却出现先下降后上升现象,这可能是因为胁迫的加重使蛋白合成受阻,植物体内可溶性蛋白结构遭到破坏或降解,当植物体恢复调节能力时蛋白含量又表现为缓慢上升。

在 50℃ 胁迫下,热激锻炼和对照的脯氨酸含量相对于胁迫 0 h 都升高了,但热激锻炼的脯氨酸升高幅度大于对照(图 3)。脯氨酸与构成蛋白质的其它氨基酸不同,它含有亚氨基。游离脯氨酸能促进蛋白质水合作用,可维持细胞结构、细胞运输和调节渗透压。较高的脯氨酸含量间接降低了热胁迫下细胞电解质的大量外渗,减缓了高温对植物体的伤害,在一定程度上提高了菊花的耐热性。

3 讨论

本实验结果表明,热激锻炼对热胁迫下菊花生理代谢产生了影响,使叶片相对电导率比对照减小,MDA 含量也比对照减小,而可溶性蛋白质和脯氨酸含量及 POD 和 SOD 活性比对照增加,在一定程度上提高了菊花幼苗的耐热性。

经过热激锻炼的菊花幼苗在热胁迫 4 h 时细胞膜透性仅相当于对照在热胁迫 1.5 h 时的水平,显著低于对照在热胁迫 4 h 时的细胞膜透性($p < 0.05$)(图 1),并且在热胁迫过程中经过热激锻炼的菊花幼苗膜透性变化比对照平稳,这可能与热胁迫过程中热激锻炼的菊花幼苗维持了较高的 SOD 和 POD 活性有关。因为 SOD 是抗氧化酶系的核心酶,能有效清除超氧阴离子对质膜的攻击;POD 能马上清除植物体内积累的 H_2O_2 ,避免了 H_2O_2 形成氧化能力极强的 $\cdot OH$,而 $\cdot OH$ 被认为是膜脂过氧化的启动者^[10]。较高的 SOD 和 POD 活性对细胞起到了保护作用,这些可能是热激锻炼提高菊花幼苗耐热性的重要原因。本研究结果与耶兴元等^[1]对猕猴桃的研究结果一致,热激锻炼维持了较高的 SOD 和 POD 活性。但是,吴国胜等^[11]研究大白菜(*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*)时发现热激后 POD 活性下降,SOD 活性先提高后下降,与本研究的结果不十分一致。由此可见,不同植物对于热激锻炼的反应有一定差异。

热激锻炼处理相对于对照使菊花幼苗在热胁迫过程中维持了较高的可溶性蛋白含量(图 3),可能是热激锻炼诱导植物体合成了热激蛋白的结果。有研究表明热激蛋白与细胞的抗热性有关,而细胞抗

热与生物膜热稳定性有关,产生的热激蛋白富积到细胞膜组分中,有可能起到了防止生物膜受热破碎的作用^[12]。而热激锻炼维持了较高的可溶性蛋白含量,在阻止细胞电解质外渗方面可能起到了更加积极的作用,从而提高了菊花幼苗的耐热性。本研究中热激处理菊花幼苗的可溶性蛋白含量在高温胁迫1 h后急剧上升,之后基本没有下降($p > 0.05$),呈现出比较稳定的状态(图3),这与前人研究的其他植物中无论经过热激锻炼,还是未经热激锻炼的高温胁迫下蛋白质含量均出现先升后降的现象有所不同^[2,13,14]。因此,热激锻炼对菊花热激蛋白表达的影响有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 耶兴元,范宏伟,全胜利,马锋旺. 热激锻炼诱导猕猴桃耐热性研究[J]. 果树学报,2005,22(6):630-633.
- [2] 何亚丽,刘友良,陈权,卞爱华. 水杨酸和热锻炼诱导的高羊茅幼苗的耐热性与抗氧化的关系[J]. 植物生理与分子生物学报,2002,28(2):89-95.
- [3] 周人纲,樊志和,李晓芝,王占武,韩炜. 热锻炼对小麦叶片细胞膜及有关酶活性的影响[J]. 作物学报,1995,21(5):568-572.
- [4] Ryyppö A, Repo T, Vapaavuori E. Development of freezing tolerance in roots and shoots of Scots pine seedlings at nonfreezing temperatures[J]. *Can J For Res*, 1998, 28:557-565.
- [5] 张宪政. 植物生理学实验技术[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,1989. 310-312.
- [6] 李柏林,梅慧生. 燕麦叶片衰老和活性氧代谢的关系[J]. 植物生理学报,1989,15(1):6-12.
- [7] 李合生. 植物生理生化实验原理与技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000.
- [8] Whitham S, Dinesh-kumar S P, Choi D, Hehl R, Coor C, Baker B. The product of the tobacco mosaic virus resistance gene *N*: similarity to toll and the interleukin-1 receptor[J]. *Cell*, 1994, 78:1101-1115.
- [9] 薛应龙. 植物生理学实验手册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1985.
- [10] 蒋明义,荆家海. 植物体内羟自由基的产生及其与脂质过氧化作用启动的关系[J]. 植物生理学通讯,1993,29(4):300-305.
- [11] 吴国胜,曹婉红,王永健. 细胞膜热稳定性及保护酶和大白菜耐热性关系[J]. 园艺学报,1995,22(4):352-358.
- [12] 刘箭,杨晓贺,吴显荣. 菜豆热激蛋白在生物膜上的定位[J]. 植物学报,1995,37(2):87-90.
- [13] 陈培松,郁松林,詹妍妮. 茉莉酸和高温锻炼对葡萄幼苗耐热性及其抗氧化酶的影响[J]. 生命科学研究,2006,10(3):238-243.
- [14] Kratsch H A, Wise R R. The ultrastructure of chilling stress[J]. *Plant Cell Environ*, 2000, 23:337-350.