

陈宏志,杜晓华,穆金艳,等. 大花三色堇和角堇对高温胁迫的生理响应[J]. 江苏农业科学,2017,45(6):124-126.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.06.031

# 大花三色堇和角堇对高温胁迫的生理响应

陈宏志,杜晓华,穆金艳,贾文庆,刘会超

(河南科技学院,河南新乡 453003)

**摘要:**为研究高温胁迫下大花三色堇和角堇的生理响应,分别对大花三色堇 DFM-16、DFM-17 和角堇 08H、E01 幼苗进行不同温度胁迫处理,记录热害情况并测定不同胁迫条件下细胞膜透性、光化学效率( $F_v/F_m$ )、脯氨酸含量、过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性等生理指标。结果表明,角堇的热害指数高于大花三色堇;角堇细胞膜在高温胁迫下受损程度比大花三色堇细胞膜受损程度重;供试 4 种材料的光合作用在昼温 42 °C 下均受到了抑制,且角堇比大花三色堇受抑制程度大;大花三色堇的脯氨酸含量基本上随温度的升高而升高;供试 4 种材料 POD 活性随着温度的升高出现不同程度的下降,大花三色堇 SOD 活性在昼温 25、35 °C 下相对稳定,42 °C 时下降,大花三色堇的 CAT 活性在 42 °C 下较对照均明显升高,而角堇明显下降。综合热害指数和生理指标分析得出,大花三色堇的耐热性高于角堇。

**关键词:**高温胁迫;大花三色堇;角堇;生理响应

**中图分类号:** S681.901 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)06-0124-03

大花三色堇(*Viola tricolor* L.)和角堇(*Viola cornuta*)均为堇菜科堇菜属的 2 年生草本花卉,具有花色丰富、花期长等特点,是世界著名的早春草本花卉<sup>[1-2]</sup>。自 20 世纪 80 年代开始,三色堇和角堇分别引入我国,在许多城市作为冬春季花坛用花,市场需求量巨大。在我国长江以南地区育苗主要在夏秋季进行,高温造成成苗率低及移栽死亡率高<sup>[3]</sup>。在我国华北地区,观赏期主要在春季,进入 6 月由于气温急速增高,导致植株逐渐枯萎死亡,缩短了观赏期。因此研究三色堇或角堇耐热机制,培育耐热品种成为当前三色堇园林应用及育种研究的重要课题。

植物往往采取一些策略应对高温胁迫,引起形态及生理指标的改变,一旦伤害已经造成,则难以恢复<sup>[4]</sup>。目前,仅见彭华婷等对大花三色堇幼苗在 35 °C 胁迫下的生理变化进行了研究<sup>[3]</sup>。尚未见有关不同高温梯度下生理响应的探讨。本研究以 2 种大花三色堇和 2 种角堇为试验材料,对其幼苗进行不同温度的胁迫处理,记录在高温胁迫下幼苗的热害情况,测定不同温度下表征高温对植物伤害程度的细胞膜透性、光化学效率( $F_v/F_m$ )和表征植物自我保护机制的脯氨酸含量、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)及超氧化物歧化酶(SOD)活性等指标,探究在高温胁迫下三色堇和角堇的生理响应,以期有助于采取相应措施减轻高温危害,为筛选抗高温基因型植株提供有效的途径,也为堇菜属观赏植物的耐热性研究寻找理论依据。

收稿日期:2016-01-07

基金项目:河南省科技攻关项目(编号:132102110119);2014 年河南省新乡市科技创新平台建设项目(编号:CPI408)。

作者简介:陈宏志(1990—),男,河南南召人,硕士,主要从事观赏植物生物技术与遗传育种研究。E-mail:ahongyang120@163.com。

通信作者:刘会超,博士,教授,主要从事观赏植物抗性生理及种质资源研究。E-mail:huichaoliu2012@163.com。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试大花三色堇和角堇分别引自德国和荷兰,由河南科技学院草花育种实验室提供,名称及来源见表 1。在苗圃种植期间发现角堇 08H、E01 不耐高温,6 月高温条件下植株开始枯萎死亡,而大花三色堇 DFM-16、DFM-17 在高温环境中能够维持较好的生长状态,因而推测后 2 种材料较前 2 种耐热。

表 1 大花三色堇和角堇材料名称及来源

材料名称	种子来源	花色	材料类型	材料类型
08H	荷兰	浅紫色	角堇	自交系
E01	荷兰	紫色	角堇	自交系
DFM-16	德国	紫色	大花三色堇	自交系
DFM-17	德国	紫色	大花三色堇	自交系

### 1.2 方法

1.2.1 材料处理 选取培育 60 d、长势均匀的 4 种材料各 100 株,做好标记,在 20 °C—15 °C(昼温—夜温),相对湿度 90%~95%,光周期 14 h 的培养箱中驯化 7 d,然后对驯化的 4 种材料分别进行不同温度胁迫,昼温—夜温分别为 25 °C—20 °C(CK)、35 °C—30 °C、40 °C—35 °C、42 °C—37 °C,胁迫时间为 4 d,其间洒水 2 次/d,保持基质湿润。每种材料每个处理至少 10 株,重复 3 次。文中各处理用昼温简略表示。

1.2.2 热害指数的测定 记录 4 种材料在不同温度胁迫下 4 d 后的热害级数。

热害症状分级标准参照文献[5-6]:0 级,幼苗生长正常,无明显热害症状;1 级,叶片绿色,轻度反卷萎焉;2 级,叶片微黄,中度萎焉;3 级,叶片发黄,重度萎焉;4 级,植株茎萎缩,叶大部分枯萎萎焉;5 级,植株死亡干枯。热害指数 =  $\sum$ (每个级别植株数 × 级别数) / (最高级数 × 总植株数) × 100%。

1.2.3 生理指标的测定 测定相对电导率:参照邹琦的方

法<sup>[7]</sup>进行测定,每个处理重复3次,取平均值。

$F_v/F_m$ :采用 Yaxin-1161 型叶绿素荧光仪测定可变荧光和最大荧光的比值来表征。选取完全伸展的叶片,暗适应 20 min 后进行测量,每个处理重复3次,取平均值。

脯氨酸含量测定:3% 磺基水杨酸提取脯氨酸,进行茚三酮反应,用分光光度计比色<sup>[4]</sup>,每个处理重复3次,取平均值。

抗氧化酶活性测定:先制备粗酶液,准确称取样品 0.5 g,放到 4 °C 预冷的研钵中,往研钵中加入 4 °C 预冷的 50 mmol/L pH 值为 7.8 的磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液 1 mL,低温研至匀浆后转移到离心管中,再用 3 mL 磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液冲洗研钵并转入离心管中,4 °C、10 000 r/min 离心 20 min,上清液即为粗酶液,4 °C 保存。用于测定 CAT、SOD 和 POD 活性。CAT、SOD 和 POD 活性的测定均参照邹琦的方法<sup>[7]</sup>进行,每个处理重复3次,取平均值。

1.2.4 统计分析 采用 Excel 与 DPS 软件对数据进行方差分析和差异显著性检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 高温胁迫下大花三色堇和角堇热害指数

在 42 °C 高温胁迫下,4 种材料叶片均出现发黄现象,随着胁迫时间的增加,角堇 08H 和 E01 部分植株先出现叶片枯萎,最后整株死亡。由表 2 可知,08H、E01 的热害指数分别为 0.75、0.68,二者差异不显著;DFM-16、DFM-17 热害指数分别为 0.45、0.38,二者差异不显著;08H 与 DFM-16、DFM-17 之间,E01 与 DFM-16、DFM-17 之间差异极显著,表明 DFM-16、DFM-17 的耐热性比 08H、E01 高,这与田间观察到的耐热性结果一致。

### 2.2 高温胁迫对大花三色堇和角堇细胞膜透性的影响

由图 1 可知,不同温度胁迫下 4 种材料的细胞膜透性呈现不同的变化规律;08H 在 40、42 °C 胁迫下,细胞膜透性比对照(25 °C)高;E01 随胁迫温度的升高,细胞膜透性呈上升趋势

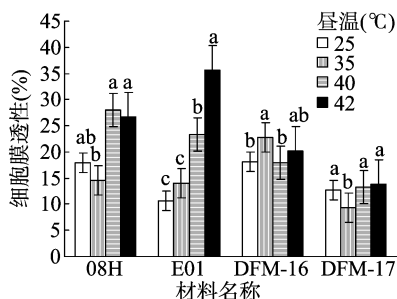


图1 高温胁迫对大花三色堇和角堇细胞膜透性的影响

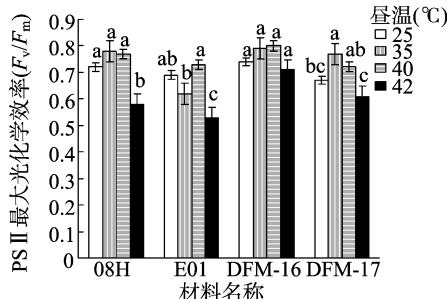


图2 高温胁迫对大花三色堇和角堇  $F_v/F_m$  的影响

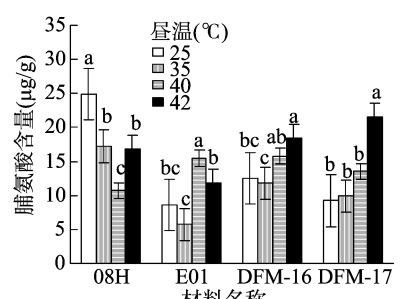


图3 高温胁迫对大花三色堇和角堇脯氨酸含量的影响

### 2.5 高温胁迫对大花三色堇和角堇抗氧化酶活性的影响

由表 3 可知,42 °C 处理下,角堇 08H 与 E01 中 POD、SOD、CAT 活性相对对照(25 °C)均有下降;在 35、40 °C 处理下,E01 中 POD 活性较对照下降,与 25 °C 对照差异显著( $P < 0.05$ ),而 08H 较 25 °C 对照上升。

由表 3 还可见,大花三色堇 DFM-16 在 35 °C 处理下 POD 活性低于对照(25 °C),且两者差异极显著( $P < 0.01$ );DFM-17 在 40、42 °C 下 POD 活性与对照(25 °C)差异极显著( $P < 0.01$ ),均明显下降,这说明高温会抑制 POD 的活性;

表 2 高温胁迫下大花三色堇和角堇热害指数

材料名称	热害指数
08H	0.75Aa
E01	0.68ABa
DFM-16	0.45BCb
DFM-17	0.38Cb

注:同列数据后不同小写字母代表在 0.05 水平上差异显著,大写字母代表在 0.01 水平上差异显著。

势,且 40、42 °C 与对照差异显著( $P < 0.05$ );DFM-16 在 35、42 °C 胁迫下细胞膜透性比对照高,在 40 °C 胁迫下无明显变化;DFM-17 在 35 °C 胁迫下较对照细胞膜透性下降,40、42 °C 条件下均小幅度升高,与对照差异均不显著。总体而言,08H 和 E01 随温度的升高细胞膜透性变化比 DFM-16 和 DFM-17 大,说明大花三色堇 DFM-16、DFM-17 在高温胁迫下细胞膜受损程度小,而角堇 08H、E01 细胞膜受伤程度大。

### 2.3 高温胁迫对大花三色堇和角堇 PS II 最大光化学效率 ( $F_v/F_m$ ) 的影响

图 2 显示,在 35、40 °C 胁迫下,除 DFM-17 外,其余 3 种材料较对照差异均不明显,说明在该温度下 4 种材料的 PSII 最大光化学效率均表现出对该高温胁迫不敏感;与 25 °C 胁迫相比,在 42 °C 时 4 种材料光化学效率均下降,说明 42 °C 条件下 4 种材料的光合作用均受到了抑制,角堇 08H 和 E01 较大花三色堇 DFM-16 和 DFM-17 下降幅度大,说明后两者较前两者在高温条件下光合作用受到的抑制作用小,耐热性更强。

### 2.4 高温胁迫对大花三色堇和角堇脯氨酸含量的影响

由图 3 可知,高温胁迫下 08H 脯氨酸含量较对照均下降;其余 3 种材料在 40、42 °C 胁迫下脯氨酸含量较对照均明显上升;E01 和 DFM-16 在 35 °C 胁迫下较对照(25 °C)有小幅度下降;随着胁迫温度的升高,DFM-16 和 DFM-17 的脯氨酸含量升高,在 42 °C 时最高,说明这 2 种材料对高温胁迫表现出了更强的适应性。

DFM-16 和 DFM-17 在 35、40 °C 处理下 SOD 活性保持相对稳定状态,在 42 °C 处理下 DFM-17 中 SOD 活性比对照(25 °C)下降;在 42 °C 时,DFM-16 和 DFM-17 中 CAT 活性均明显升高,说明高温诱导了 DFM-16 和 DFM-17 中 CAT 活性升高,提高了植物对抗高温胁迫的能力。

## 3 结论与讨论

高温胁迫对植物的伤害会引起光化学效率降低,这可能是光合内囊体膜受损、蛋白变性等引起的。PS II 最大光化学

表3 高温胁迫对大花三色堇和角堇抗氧化酶活性的影响

抗氧化酶名称	材料名称	抗氧化酶活性(U/g)			
		25 °C	35 °C	40 °C	42 °C
POD	08H	574.00Ab	1 064.00Aa	728.00Aab	541.33Ab
	E01	1 666.00Aa	415.33Bc	1 311.33Ab	1 208.67Ab
	DFM-16	322.00Cc	175.00Dd	1 150.00Ab	471.33Bb
	DFM-17	844.67Bb	1012.67Aa	98.00Dd	401.33Cc
SOD	08H	15.21Aa	13.49Aa	14.63Aa	14.93Aa
	E01	11.51Aa	10.98Aa	8.51Aa	9.04Aa
	DFM-16	12.94Aa	12.76Aa	12.33Aa	11.98Aa
	DFM-17	16.02Aa	15.26Aa	15.75Aa	11.66Aa
CAT	08H	120.00Aa	66.67Bb	86.00ABb	26.67Cc
	E01	142.63Aa	133.33Aa	105.32Aa	97.78Aa
	DFM-16	148.02ABab	93.34Bb	106.67ABb	200.00Aa
	DFM-17	53.34Cc	146.67Bb	280.00Aa	120.00BCb

注:同行数据后标有不同小写、大写字母分别表示差异显著( $P < 0.05$ )、极显著( $P < 0.01$ )。

效率的降低是光合作用受到抑制时的显著特征<sup>[8]</sup>。一般耐热性强的植物在高温下光合系统损伤较少,能够维持较高的光合速率<sup>[9]</sup>,这在条斑紫菜<sup>[10]</sup>、棉花<sup>[11]</sup>、苋菜<sup>[12]</sup>上均有研究证实。本试验也证明了这一点,4种材料PS II最大光化学效率在42 °C时均明显下降,光合作用均受到抑制。高温对植物伤害的另一面是引起电解质外渗造成细胞膜受损,细胞膜是热损伤和抗热的中心,细胞膜的热稳定性反映了植物耐热能力的大小<sup>[13]</sup>。试验结果显示,随着温度的升高,角堇08H和E01细胞膜透性变化幅度大,细胞膜受损程度大,热害指数高,而大花三色堇DFM-16、DFM-17变化幅度小,热害指数低,可见大花三色堇DFM-16、DFM-17细胞膜更加稳定。

高温胁迫下植物会进行自我保护,一方面是防止水分过分损失,即渗透调节,渗透调节是植物耐热和抵御高温的重要生理机制<sup>[14]</sup>。脯氨酸作为渗透调节物质可以防止植物水分散失,提高原生质胶体稳定性,高温胁迫时,许多耐热的植物品种比不耐热的品种脯氨酸积累量多<sup>[15]</sup>。研究结果显示,随温度的升高,大花三色堇DFM-16和DFM-17脯氨酸含量呈上升趋势,且增长幅度较08H与E01高,这表明大花三色堇较角堇对高温胁迫具有更好的适应性,耐热性更强。植物自我保护机制的另一面是活性氧清除系统,活性氧清除系统在整个系统协调反应中能有效地控制活性氧含量,增加胁迫抗性<sup>[16]</sup>。高温对POD活性有显著的抑制作用,其活性的降低加速了高温对细胞结构和功能的损伤<sup>[17]</sup>。CAT和SOD是植物抗氧化防御系统中的关键酶,可以提高植物组织的抗氧化能力。研究结果表明,随着温度的升高,08H、E01、DFM-17的POD活性相对对照均在一定范围内出现不同程度的下降,这与吴国胜等在白菜上的研究结果<sup>[18-19]</sup>一致。4种材料的SOD活性在25、35 °C下相对稳定,42 °C时下降,这可能是由于42 °C高温破坏了植物体内SOD酶的活性。DFM-16与DFM-17CAT活性较对照均明显升高,而E01与08H的CAT活性则明显下降,这可能是因为在42 °C时大花三色堇中的CAT没有遭到破坏,而角堇中CAT遭到了破坏。本试验中CAT和SOD活性的变化与彭华婷等对大花三

色堇的研究<sup>[3]</sup>不完全符合,这可能是由于材料的差异引起的。

综合热害指数、细胞膜透性、光合效率、脯氨酸含量以及抗氧化酶活性等指标分析表明,大花三色堇2个品种的耐热性均高于角堇的2个品种。至于是否是所有的大花三色堇品种抗热性均高于角堇还有待于进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 王晓磊,胡宝忠. 三色堇生物学特性及栽培管理[J]. 东北农业大学学报,2008,39(6):132-135.
- [2] 张其生,包满珠,卢兴霞,等. 大花三色堇育种研究进展[J]. 植物学报,2010,45(1):128-133.
- [3] 彭华婷,高悦,杜红梅,等. 高温胁迫对大花三色堇幼苗相关生理指标的影响[J]. 上海交通大学学报(农业科学版),2012,30(6):67-71.
- [4] 程小英. 植物逆境生理研究进展[J]. 科学与财富,2012(5):21-22.
- [5] 康俊根,秦海明. 甘蓝耐热性鉴定方法[J]. 中国蔬菜,2002(1):4-7.
- [6] 吴国胜,王永健,曹婉虹,等. 大白菜热害发生规律及耐热性筛选方法的研究[J]. 华北农学报,1995,10(1):111-115.
- [7] 邹琦. 植物生理生化实验指导[M]. 北京:中国农业出版社,1995.
- [8] 张鹏翀,应求是,莫亚鹰. 阴生型地被植物耗水性与最大光化学效率对干旱胁迫的响应[J]. 浙江农林大学学报,2013,30(4):499-504.
- [9] Tzeng S, Hsu B D. Chlorophyll degradation in heat-treated *Chlorella pyrenoidosa*. A flow cytometric study[J]. Functional Plant Biology, 2001,28(1):79-83.
- [10] 黄文,吕峰,严兴洪,等. 条斑紫菜耐高温品系的特性分析与海区中试[J]. 水产学报,2014,38(10):1758-1768.
- [11] 熊格生,袁小玲,贺彭毅,等. 三个不同耐高温棉花品系的光合特性及对盛花期高温胁迫的响应[J]. 棉花学报,2011,23(2):106-112.
- [12] 陈梅,唐运来. 高温胁迫下苋菜的叶绿素荧光特性[J]. 生态学杂志,2013,32(7):1813-1818.
- [13] 马永战,邹琦,程炳嵩. 高温锻炼与解除对冬小麦叶片细胞膜热稳定性的影响[J]. 山东农业大学学报,1998,19(2):55-58.
- [14] 刘祖祺,张石城. 植物抗性生理学[M]. 北京:中国农业出版社,1995.
- [15] Fang Y, Xu B C, Turner N C, et al. Grain yield, dry matter accumulation and remobilization, and root respiration in winter wheat as affected by seeding rate and root pruning[J]. European Journal of Agronomy, 2010,33(4):257-266.
- [16] 刘兰英,张军民,李春玲. 3种园林植物的耐热性研究[J]. 中国农学通报,2009,25(23):354-357.
- [17] 王涛,田雪瑶,谢寅峰,等. 植物耐热性研究进展[J]. 云南农业大学学报,2013,28(5):19-726.
- [18] 吴国胜,曹婉虹,王永健,等. 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.
- [19] 司家钢,孙日飞,吴飞燕,等. 高温胁迫对大白菜耐热性相关生理指标的影响[J]. 中国蔬菜,1995(4):4-6.