

# 高温胁迫对莴笋幼苗叶绿素和抗氧化系统的影响

王 娟, 寿森炎

(浙江大学园艺系, 杭州 310029)

**摘 要:**以耐热性不同的“夏抗40”和“种都冬青”两个莴笋品种的幼苗为材料,研究了以22℃/15℃(d/n)为对照,32℃/28℃(d/n)、37℃/30℃(d/n)高温胁迫期间以及随后的恢复过程中植株叶绿素和抗氧化系统的变化。高温胁迫条件下,莴笋幼苗的叶绿素总量和类胡萝卜素的含量都低于对照;MDA含量则随高温胁迫时间的延长不断上升,热敏品种上升幅度大,37℃/30℃(d/n)条件下差异显著;高温胁迫过程中,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性均高于对照,解除胁迫后,都能恢复对照水平;脯氨酸(Pro)含量在高温胁迫下比对照有明显增长,32℃/28℃(d/n)处理48h与对照呈显著差异,Pro含量的增加与耐热性成正相关。

**关键词:**莴笋;高温胁迫;叶绿素;抗氧化系统

**中图分类号:**S 644.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2007)02-0001-05

莴笋是菊科莴苣属的一、二年生蔬菜植物,肥大的花茎为食用器官,它的原产地在地中海沿岸,约在公元5世纪传入我国,莴笋不仅营养丰富,而且有一定的药用价值,因此,我国大部分地区都有广泛种植。莴笋是半耐寒性蔬菜,喜冷凉,茎叶生长时的适宜温度为18℃~22℃,温度在24℃以上时,就会影响生长。秋莴笋在种植中,由于苗期高温,导致花芽提早分化,先期抽薹,从而影响食用器官的形成<sup>[1]</sup>。因此,选育耐热、质优的秋莴笋品种就显得十分重要。通过对耐热性不同的莴笋在高温胁迫下幼苗的叶绿素和抗氧化系统变化的研究,以期莴笋耐热品种筛选提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

试验于2006年3~5月在浙江大学园艺系蔬菜所进行。供试品种为耐热性强的“夏抗40”和耐热性弱的“种都冬青”,于2006年3月22日播于15孔穴盘中,每品种9盘。幼苗5~7叶时放入智能人工气候箱,设3个处理温度:22℃/15℃(d/n)(CK)、32℃/28℃(d/n)、37℃/30℃(d/n),空气湿度为

(80±7)%,每处理、每品种3盘,处理3d。高温处理苗于田间自然条件下生长3d,即为恢复苗,分别于处理24h、48h、72h及恢复3d各取样一次,进行各项指标测定。

### 1.2 方法

1.2.1 取样 每处理每次取样3株,取样部位为第2、3片成熟叶。各项指标测定重复3次。

1.2.2 测定方法 叶绿素含量的测定:分光光度法<sup>[2]</sup>;丙二醛(MDA)含量的测定:按Heath<sup>[3]</sup>等的方法;酶的提取及其活性测定:SOD(超氧化物歧化酶)、CAT(过氧化氢酶)、APX(抗坏血酸过氧化物酶)酶液的提取参照朱祝军等<sup>[4]</sup>的方法,SOD的活性采用Giannopolitis等<sup>[5]</sup>的方法测定,CAT活性采用Cakmak等<sup>[6]</sup>的方法测定,APX的活性采用Nakano等<sup>[7]</sup>方法测定;脯氨酸含量的测定:茚三酮法<sup>[2]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 高温胁迫对莴笋幼苗叶绿素和类胡萝卜素含量的影响

由图1可知,高温胁迫下,莴笋幼苗的叶绿素总量和类胡萝卜素的含量都低于对照,解除胁迫后,含量没有恢复,而是继续呈下降趋势。37℃/30℃(d/n)处理72h,又恢复3d后,“夏抗40”的叶绿素总量和类胡萝卜素的含量分别比对照下降了38.7%和22.3%，“种都冬青”叶绿素总量和类胡萝卜素的含量分别比对照下降了33.6%和18.4%。叶绿素总量和类胡萝卜素的含量在高温胁迫下变化规律一致,但与耐热性没有显著相关性。

第一作者简介:王娟,女,1983年生,硕士,研究方向为植物逆境生理。

通讯作者:寿森炎,男,教授,硕士生导师,研究方向为蔬菜生长发育与栽培技术、设施园艺环境的调控与栽培技术、部分蔬菜品种选育与分子标记辅助育种技术的研究。

基金项目:浙江省重大科技招标资助项目,编号:200AC12008。

收稿日期:2006-10-24

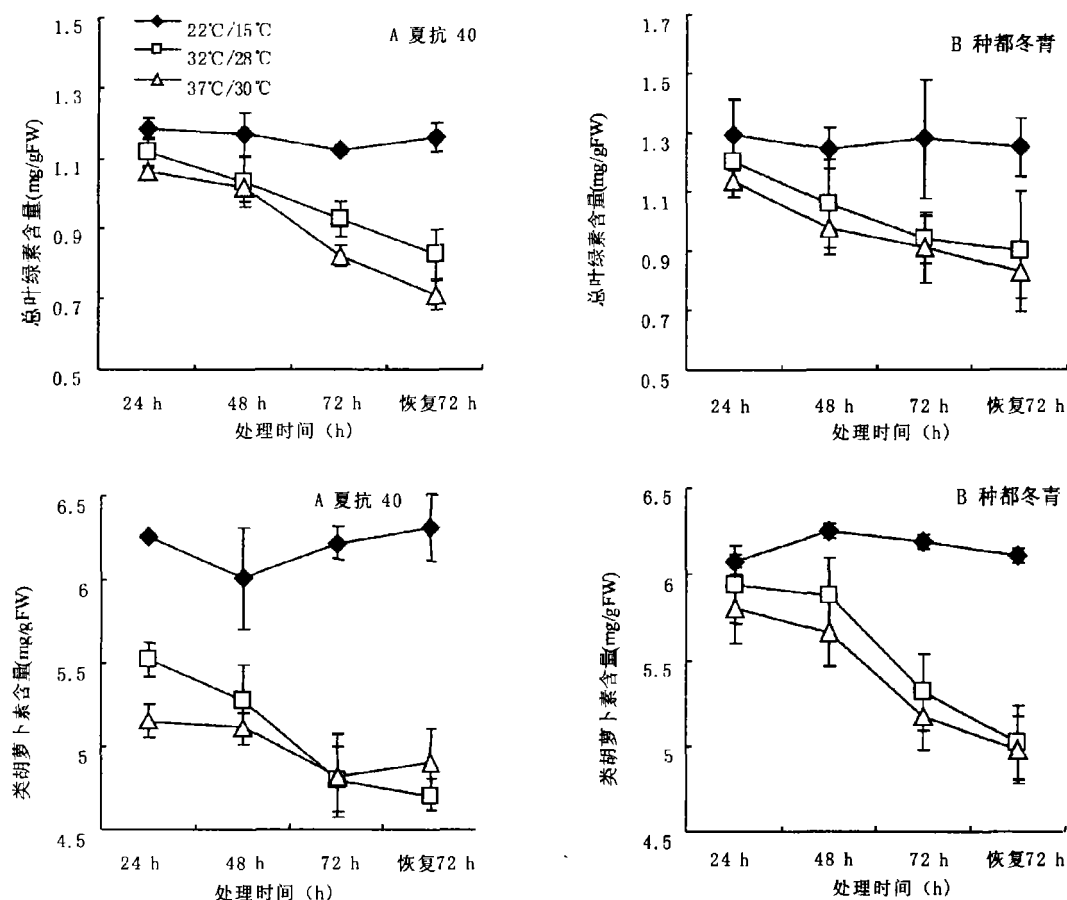


图1 高温胁迫对莠笋幼苗叶绿素和类胡萝卜素含量的影响

## 2.2 高温胁迫对莠笋幼苗MDA含量的影响

丙二醛(MDA)是膜脂过氧化的重要产物,表示细胞膜脂过氧化程度和植物对逆境条件反应的强弱。从图2可看出,高温胁迫下MDA积累明显增加,温度越高增加趋势越明显,并且同耐热性密切相关,耐热品种“夏抗40”在37°C/30°C(d/n)处理72h时,MDA含量比对照增加了38.9%,而相同条件下热敏品种“种都冬青”则增加了106.2%,两品种差异显著,说明耐热品种比热敏品种在高温下膜脂过氧化程度低。温度恢复3d后,MDA含量有所下降,但“种都冬青”由于膜脂过氧化程度严重,因此下降后仍比对照高出65.85%。

## 2.3 高温胁迫对莠笋幼苗SOD、CAT、APX活性的影响

SOD、CAT、APX是植物体内清除活性氧的重要酶类。SOD是活性氧清除反应中的一个重要的抗氧化酶,对于清除氧自由基,防止氧自由基破坏细胞的组成、结构和功能,保护细胞免受氧化损伤具有十分重要的作用。由图3可看出,高温胁迫下,SOD活性先上升后下降,在处理48h达到峰值,37°C/30°C(d/

n)处理比32°C/28°C(d/n)处理更为显著,“夏抗40”和“种都冬青”在37°C/30°C(d/n)处理48h后SOD活性明显上升,分别比对照上升了89.57%和74.72%。解除胁迫后,耐热品种很快恢复,而热敏品种仍保持较高的活性。

CAT是清除叶绿体中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的关键酶。如图4所示,高温胁迫下,CAT的活性随胁迫时间的延长而不断上升,“夏抗40”在37°C/30°C(d/n)处理下比在32°C/28°C(d/n)处理下CAT活性上升速度快,但胁迫72h,均达到最大峰值,解除胁迫3d后,恢复到对照水平。“种都冬青”在32°C/28°C(d/n)处理下24h与48h之间CAT活性迅速上升至最大值,之后有所下降,解除胁迫后CAT活性下降缓慢,难于恢复对照水平。

APX与CAT一样都是消除H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的主要酶类。图5表明,随着胁迫时间的延长APX的活性不断上升,37°C/30°C(d/n)处理72h呈显著差异,“夏抗40”和“种都冬青”分别比对照增加260%和87.31%,抗热品种APX活性增加幅度明显高于热敏品种,说明APX活性与耐热性成正相关,耐热性强,高温胁迫

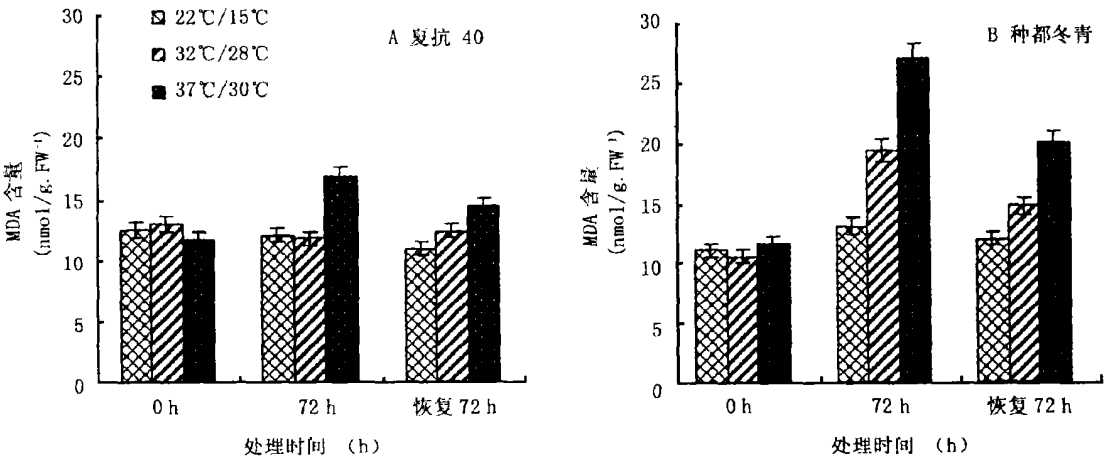


图 2 高温胁迫对莒笋幼苗 MDA 含量的影响

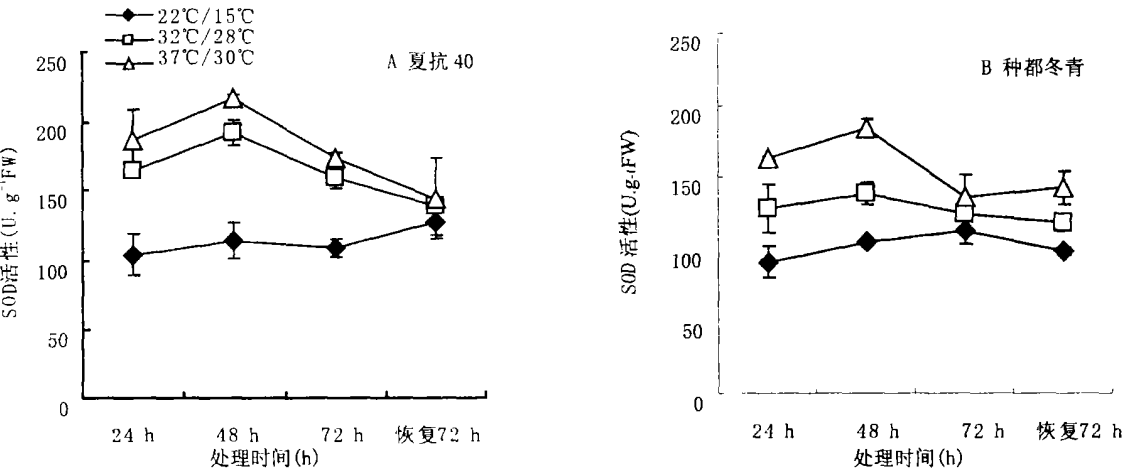


图 3 高温胁迫对莒笋幼苗 SOD 活性的影响

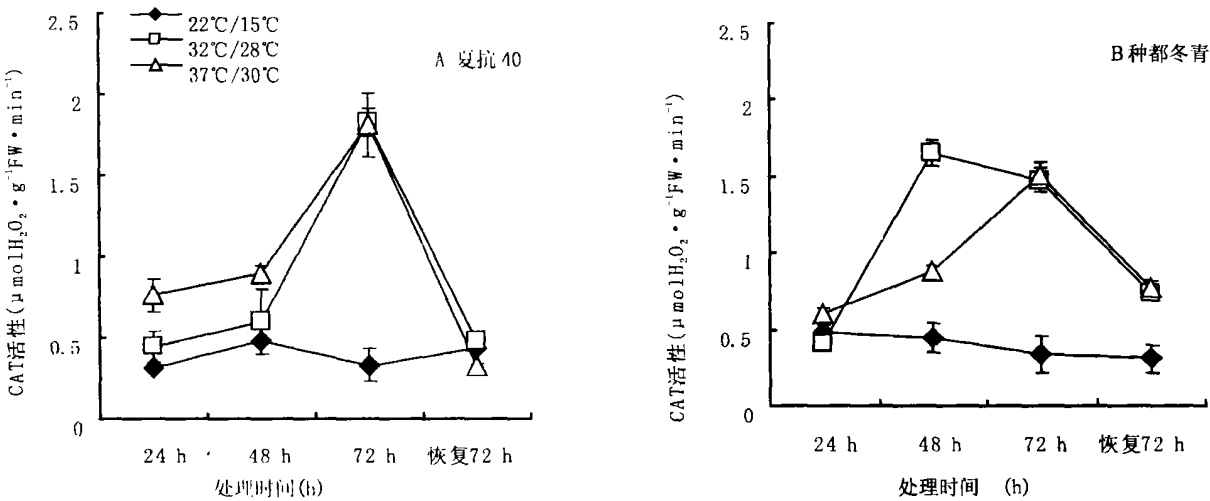


图 4 高温胁迫对莒笋幼苗 CAT 活性的影响

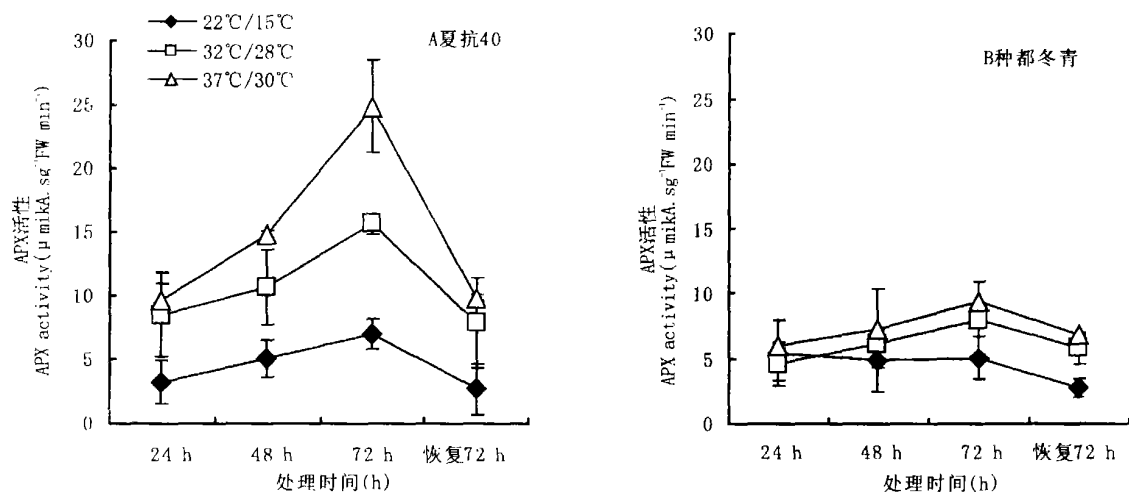


图5 高温胁迫对莴笋幼苗 APX 活性的影响

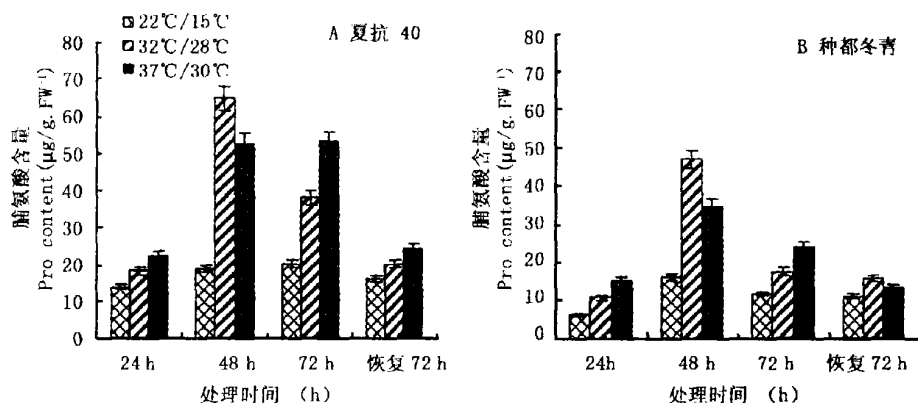


图6 高温胁迫对莴笋幼苗 Pro 含量的影响

胁迫时 APX 活性上升快,从而能更快的清除过量的活性氧,减少其对细胞的破坏。

#### 2.4 高温胁迫对莴笋幼苗 Pro 含量的影响

从图6可以看出,高温胁迫过程中“夏抗40”和“种都冬青”游离 Pro 含量比对照有明显的增长。说明高温胁迫下使蛋白质降解,游离氨基酸含量增加,特别是引起脯氨酸迅速的积累,从而保持细胞膜的稳定性。高温胁迫48 h, 32°C/28°C(d/n)温度下两品种均与对照呈显著差异,“夏抗40”与“种都冬青”分别比对照增加284.5%和185.9%,表明 Pro 含量增加与耐热性成正相关。解除胁迫后,Pro 含量恢复正常。

### 3 讨论

高温胁迫下莴笋幼苗的叶绿素总量和类胡萝卜素含量都有所下降,表明高温胁迫使叶绿素合成受阻,分解加快,直接影响植物对光能的吸收,引起光合

作用的下降。类胡萝卜素能及时清除叶绿体中产生的 $O_2^-$ 和 $^1O_2$ ,其含量降低可能是为了猝灭活性氧,防止膜脂过氧化<sup>[9,10]</sup>。

MDA 是膜脂过氧化物,其含量变化常用来衡量膜结构的损伤程度。试验结果表明,耐热品种“夏抗40”MDA 积累量小于热敏品种“种都冬青”,说明莴笋耐热品种在高温胁迫下氧化过程较慢,细胞膜热稳定性强。

正常环境下生长的植物体内活性氧产生和猝灭处于动态平衡,高温胁迫往往导致活性氧代谢平衡破坏,为了避免活性氧过量对植物的伤害,清除活性氧的酶促防御系统活性随之变化<sup>[11,12,13]</sup>。试验中,高温胁迫过程中SOD、CAT、APX 活性均高于对照水平,且耐热品种比热敏品种活性升高幅度大。SOD 活性表现为先上升后下降的趋势,CAT、APX 活性则随着受胁迫时间的延长不断上升,这可能是由于 SOD 对

热胁迫反应最敏感, 在处理初期活性迅速上升, SOD 可使  $O_2^-$  转化为  $H_2O_2$ ,  $H_2O_2$  可以和  $O_2^-$  相互作用产生更多的氧自由基, 对细胞形成伤害, 而 CAT、APX 可以清除  $H_2O_2$ <sup>[11]</sup>, 因此, 在 SOD 活性增强产生大量  $H_2O_2$  后, CAT、APX 活性迅速上升, 以减少过多的氧自由基对细胞的伤害。解除胁迫后, SOD、CAT、APX 的活性明显下降。

高温胁迫使蛋白质降解, 游离氨基酸含量增加, 特别是引起脯氨酸大量积累, Pro 主要通过保持细胞膜的稳定性, 使细胞在逆境下保持分裂能力和增殖, 减少褐变, 提高存活率来增强对热胁迫的耐性。廖飞雄等<sup>[14]</sup> 的研究表明培养基中添加外源的 Pro, 菜心愈伤组织 3 种膜保护酶 POD、CAT 和 SOD 活性都有不同的提高。试验中, 高温胁迫使 Pro 含量比对照有明显增加, 且耐热品种比热敏品种积累量大, 在胁迫过程中 Pro 含量先上升后下降, 这可能是由于莴笋幼苗在胁迫初期反应敏感, 而随后的高温起到一定锻炼作用, 使 Pro 含量有所下降。

4 结 论

耐热性不同的两个莴笋品种在 32℃/28℃(d/n)、37℃/30℃(d/n) 两个高温条件下都受到一定的伤害, 并且温度越高, 胁迫时间越长, 受害程度也越深, 热敏品种比抗热品种更易受到伤害, 且难恢复。对胁迫过程中莴笋幼苗的一些生理生化指标的测定发现, MDA 含量、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性和脯氨酸(Pro)含量变化较为明显, 因此可将其作为筛选抗热型莴笋品种指标。

参考文献:

[1] 成玉富, 姜敦云. 品种和播种期对秋莴笋先期抽笋率和产量的影响[J]. 中国蔬菜 2000, (1): 14-16.

[2] 赵世杰, 刘华山, 董新纯. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1998.

[3] Heath R L, Packer L. Photo Peroxidation in isolated chloroplasts I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation[J]. Arch Biochem Biophys, 1968, 125: 189-199.

[4] 朱祝军, 喻景权, Joska G, Burkhard S. 氮素形态和光照强度对烟草生长和  $H_2O_2$  清除酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 1998, 4(4): 379-385.

[5] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase II. Purification and quantitative relationship with water soluble protein in seedlings[J]. Plant Physiol, 1977, 59: 309-314.

[6] Cakmak I, Marschner H. 1992. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves[J]. Plant Physiol, 1998(4): 1222-1227.

[7] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. Plant Cell Physiology, 1981, 22(5): 867-880.

[8] Willekens H, Camp W V, Montagu M V, Inze D. Sulfur dioxide and antioxidant genes in Nicotiana plumbaginifolia I[J]. Plant physiology, 1994, 106: 1007-1014.

[9] Tewari A K, Tripathy B C. Temperature stress induced impairment of chlorophyll biosynthetic reactions in cucumber and wheat[J]. Plant Physiology, 1998, 117: 851-858.

[10] Dirk I, Marc V M. Oxidative stress in plants[J]. Current Opinion in Biotechnology, 1995, 6: 153-158.

[11] 张玉华, 朱月林, 缪昱珉. 高温胁迫对黄瓜花药中  $Ca^{2+}$  分布、ABA 含量及蛋白质合成的影响[J]. 园艺学报, 2005, (2): 314-317.

[12] 汪炳良, 徐敏, 史庆华, 等. 高温胁迫对早熟花椰菜叶片抗氧化系统和叶绿素及其荧光参数的影响[J]. 中国农业科学, 2004, 37(8): 1245-1250.

[13] Tibor J, Gabriella S, Krisztina R G, Ott V, Email P. Comparative study of frost tolerance and antioxidant activity in cereals[J]. Plant Science, 2003, 164: 301-306.

[14] 廖飞雄, 潘瑞炽. 热胁迫下菜心脯氨酸含量变化及其在耐热中的作用[J]. 华南师范大学学报(自然科学版), 2001, (2): 45-49.

Effects of High Temperature Stress on Chlorophyll and Antioxidant Systems in Lettuce Seedlings

WANG Juan, SHOU Sen-yan  
(Department of Horticulture, Zhejiang University, Hangzhou 310029)

**Abstract** Effects of two high temperature stress 32℃/28℃(d/n), 37℃/30℃(d/n) on chlorophyll and antioxidant systems in lettuce seedlings of heat tolerant “Xiakang40” and heat sensitive “Zhongdudongqing” were studied. Under high temperature condition, the contents of total chlorophyll and carotenoid decreased by more than 18 percent as compared with the control, which were hard to recover. With the prolonging time of high temperature stress, MDA content improved fast, showing more significant effects at 37℃/30℃(d/n) in heat sensitive lettuce seedlings. High temperature stress increased the activities of SOD, CAT and APX. The activities of these enzymes returned to normal after 3 days of recovery under normal conditions. Pro content increased markedly under 32℃/28℃(d/n), at the same time, much less in heat tolerant “Xiakang40” than in heat sensitive “Zhongdudongqing”.

**Key words:** Lettuce; High temperature stress; Chlorophyll; Antioxidant systems