

Ca^{2+} 处理对滇北球花报春耐热性的影响

张睿鹂, 蔡明, 张启翔

(北京林业大学 园林学院 北京 100083)

摘要: 分别以 5、10、20 mmol/L 的 CaCl_2 溶液喷洒滇北球花报春 1 a 生幼苗叶片 10 d 后, 将其幼苗置于人工气候箱进行 12 h 的 42℃ 高温胁迫, 每隔 3 h 测定幼叶相关的生理指标, 并于 10 d 后测定其热害指数。结果表明: Ca^{2+} 处理 20 mmol/L 能有效抑制高温胁迫引起的滇北球花报春幼苗叶片内丙二醛含量的快速积累, 促进叶片内游离脯氨酸含量的积累, 同时提高和保护 Ca^{2+} -ATPase 的活性, 并使热害指数降低近 40%。 Ca^{2+} 处理能一定程度提高滇北球花报春的耐热性。

关键词: 滇北球花报春; Ca^{2+} ; 生理指标; 耐热性

中图分类号: S 685.18; S 143.7⁺2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)04-0148-04

滇北球花报春 (*Primula denticulata* ssp. *sinodenticulata*) 是著名的高山花卉, 其早春蓝紫色球状花序具有良好的观赏价值, 既可以应用于岩石园、高山园, 也可以盆栽观赏, 具有较高的引种驯化价值。在其长期的引种栽培中发现, 夏季持续高温是影响其成活的关键因子, 利用有效的措施提高滇北球花报春的耐热性对其引种成功具有重要的指导意义^[1]。

研究表明: 在植物体中, Ca^{2+} 不仅是一种重要的矿质营养元素, 还可以作为偶联胞外信号与胞内生理生化反应的第二信使^[2]。细胞质中 Ca^{2+} 浓度的改变是植物细胞感受并传导外界逆境信号的一个中心环节^[3-4]。近年来研究还发现, Ca^{2+} 参与多种逆境胁迫过程如低温胁迫、盐胁迫、氧胁迫, 施用外源钙能够有效提高植物的抗逆性^[5-7]。在植物耐高温胁迫研究方面, Gong 等认为 Ca^{2+} 参与了植物耐热性的诱导过程^[8], 张宗申、王光等认为 Ca^{2+} 处理能增强植物的耐热性^[9-11]。研究组用不同浓度的 CaCl_2 溶液处理滇北球花报春幼苗, 测定其相关的生理指标和热害指数的变化, 为其抗高温胁迫研究提高一定的实践基础。

1 材料和方法

1.1 植物材料

试验用的滇北球花报春幼苗是由野外(云南丽江地区)采收的种子进行播种。2006 年 9 月中下旬在北京林业大学胖龙温室进行穴盘播种, 2 周后移栽至直径 8 cm 的营养钵, 6~8 片真叶时移苗上盆, 盆基质为草炭土: 珍珠岩=4:1。期间根据不同的季节和温室的条件进

行常规的养护管理和病虫害防治。植物休眠季, 严格控制肥水, 以植物不出现萎蔫现象为上限。植物生长季用 Hogland 配方的标准营养液进行施肥, 一般 15 天施肥 1 次。从 5 月份开始, 进入夏季管理。期间每天早晚喷水以增加温室湿度, 水分管理以见干见湿为主。

1.2 处理方法和取样

用清水(对照)和 3 种不同浓度的 CaCl_2 溶液于每天下午 19 时在温室进行叶面喷施。连续喷施 10 d。第 11 天各选取生长状态一致的 30 株幼苗置于人工气候箱中进行高温胁迫。设置温度 42℃, 光照强度 10 000 lx, 处理时间 12 h。每间隔 3 h 取幼嫩的叶片进行 1 次相关生理指标的测定, 每次 10 株。第 21 天进行热害指数的统计和计算。6~8 月份连续进行 3 次喷施和指标的测定, 期间各间隔 20 d。3 种 CaCl_2 溶液的浓度分别为: 5 mmol/L (pH 6.5)、10 mmol/L (pH 6.5)、20 mmol/L (pH 6.5)。

1.3 生理指标的测定

丙二醛含量的测定参照汤章城的方法^[12]。脯氨酸含量的测定采用茚三酮比色法测定^[12]。 Ca^{2+} -ATPase 酶活性的测定采用叶绿体偶联法测定^[12]。

1.4 热害指数的计算

参考罗少波的方法(1996)将高温伤害程度划分为如下 5 级: 0 级为无热伤害症状; 1 级为 1~5 片叶变黄; 2 级 5~10 片叶变黄, 1~3 片叶枯死; 3 级多于 10 片叶变黄; 4 级整株枯死。热害指数由下公式计算, 其中 x 代表热害级数, x_i 代表该 x 热害级数下植株的数量, A 代表出现热害的最高级数, N 代表调查的总株数。

$$\text{热害指数} = \frac{\sum (x \times x_i)}{A \times N} \times 100.$$

第一作者简介: 张睿鹂(1979-), 女, 在读博士, 研究方向中国野生花卉种质资源的保护和创新。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(2004BA525B11)。

收稿日期: 2007-10-17

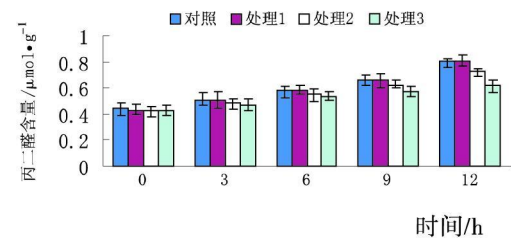


图1 7月8日42℃高温胁迫下Ca²⁺处理对滇北球花报春叶片丙二醛含量的影响

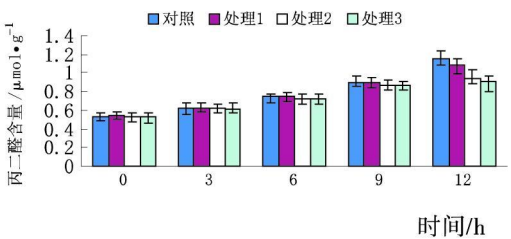


图2 7月28日42℃高温胁迫下Ca²⁺处理对滇北球花报春叶片丙二醛含量的影响

2 结果与分析

2.1 Ca²⁺处理对滇北球花报春叶片丙二醛含量的影响

7月8日的结果表明:在连续12 h的高温胁迫中,对照丙二醛含量增幅近100%,而处理2和处理3的增幅分别为70%和46%。7月28日的结果是对照丙二醛含量增幅近120%,而处理2和处理3的增幅分别为90%和70%,8月17日的结果和7月28日接近。在整个过程中, Ca²⁺处理1(5 mmol/L)和对照的结果非常接近,不能抑制丙二醛的快速积累。Ca²⁺处理2(10 mmol/L)和Ca²⁺处理3(20 mmol/L)能从一定程度上抑制丙二醛的快速积累,尤其Ca²⁺处理3(20 mmol/L)的差异显著($P<0.05$)。

2.2 Ca²⁺处理对滇北球花报春叶片游离脯氨酸含量影响

7月8日的结果表明:高温胁迫下植物叶片内的游离脯氨酸含量呈上升趋势。高温胁迫开始时,对照和3种处理的脯氨酸含量集中在较低水平0.1 μg/g, 12 h后,分别上升至0.27、0.28、0.33、0.44 μg/g,其中处理3的增幅最大。对照和处理3的方差分析表明差异显著($P<0.05$)。7月28日的结果也表明:高温胁迫初期,对照和3种处理的脯氨酸含量集中在较低水平0.14 μg/g, 12 h后,分别上升至0.38、0.40、0.48、0.59 μg/g,其中处理3的增幅最大。对照和处理3的方差分析表明差异显著($P<0.05$)。8月17日的脯氨酸含量变化与前两类类似,对照和处理3的方差分析表明差异显著($P<0.05$)。

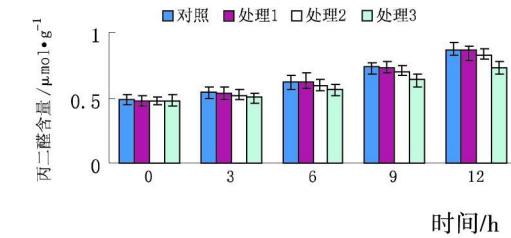


图3 8月17日42℃高温胁迫下Ca²⁺处理对滇北球花报春叶片丙二醛含量的影响

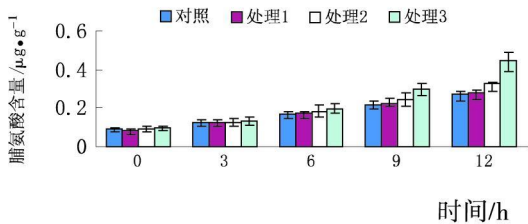


图4 7月8日42℃高温胁迫下Ca²⁺处理对滇北球花报春叶片脯氨酸含量的影响

2.3 高温胁迫下Ca²⁺处理对滇北球花报春叶片Ca²⁺-ATPase酶活性的影响

7月8日的结果表明:高温胁迫前,处理3叶绿体Ca²⁺-ATPase活性是对照组的1.15倍;经高温胁迫后,对照组和处理组叶绿体Ca²⁺-ATPase活性在热胁迫初期均呈上升趋势,6~9 h后开始下降。热激12 h后,对照组叶绿体Ca²⁺-ATPase活性是热胁迫前的1.25倍,处理3是热胁迫前的1.9倍,方差分析表明, Ca²⁺处理3与对照相比呈显著差异($P<0.05$)。7月28日的结果是热激12 h后,对照组叶绿体Ca²⁺-ATPase活性是热胁迫前的1.07倍,处理3是热胁迫前的1.5倍,方差分析表明Ca²⁺处理3与对照相比差异不显著。8月17日的结果是热激12 h后,对照组叶绿体Ca²⁺-ATPase活性是热

胁迫前的0.96倍,处理3是热胁迫前的1.69倍,方差分析也表明Ca²⁺处理3与对照相比差异显著($P<0.05$)。

由图7~9可知,外源Ca²⁺处理可显著提高Ca²⁺-ATPase活性,虽然在高温胁迫6 h或9 h后Ca²⁺-ATPase活性开始呈现下降的趋势,但仍显著高于高温胁迫的初期。

2.4 高温胁迫下Ca²⁺处理对滇北球花报春热害指数的影响

高温情况下,植株的外部形态发生的一系列的变化是植物对高温胁迫最直接的反应。对多数植物而言,植株或叶片失绿变黄乃至萎蔫枯萎是高温热害的主要症状,对滇北球花报春而言,情况也类似。夏季随着温度的升高(高于30℃),滇北球花报春外部形态变化首先表

现为叶片失水, 植株萎蔫下垂; 其次基部 3~5 枚叶片边缘开始变黄, 然后蔓延到整个叶片; 随高温加剧有半数以上的叶片出现萎蔫, 同时部分萎蔫的叶片枯死; 最严

重时整株枯死。随着夏季温度的升高和高温持续时间的累积, 滇北球花报春的热害指数呈现逐渐上升的趋势。

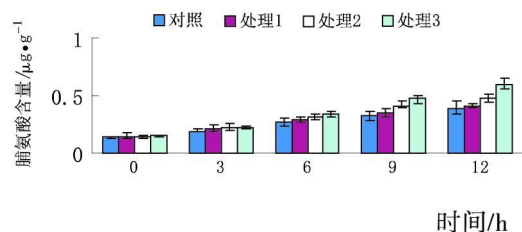


图5 7月28日 42℃高温胁迫下 Ca^{2+} 处理对滇北球花报春叶片脯氨酸含量的影响

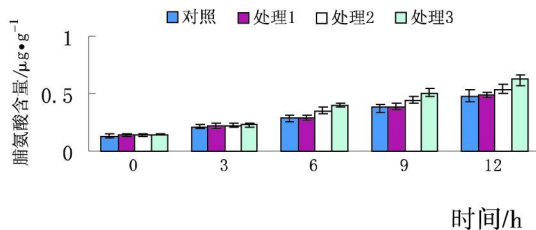


图6 8月17日 42℃高温胁迫下 Ca^{2+} 处理对滇北球花报春叶片脯氨酸含量的影响

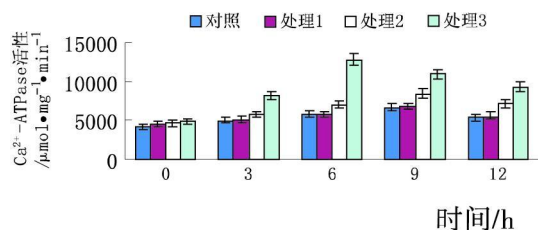


图7 7月8日 42℃高温胁迫下 Ca^{2+} 处理对滇北球花报春叶片 Ca^{2+} -ATPase 活性的影响

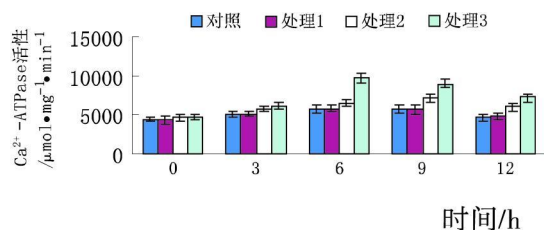


图8 7月28日 42℃高温胁迫下 Ca^{2+} 处理对滇北球花报春叶片 Ca^{2+} -ATPase 活性的影响

7月17日对照和3种不同 Ca^{2+} 处理的热害指数分别是 31.67%、30%、28.33%、26.67%, 集中在 30% 左右, 由于北京刚进入夏季高温, 持续时间不长, 无明显差别。8月6日对照上升至 47.5%, 3种处理分别上升至 45%、43.33%和 40%, 受夏季持续高温的影响, 分别有不同程度的上升。8月26日, 对照上升至 73.33%, 3种处理分别上升至 70.83%、64.17%和 52.5%, 处理1和对照的

上升程度基本一致, 而处理2和处理3的上升程度较对照略缓慢。整个观测过程种, 对照的热害指数从开始的 31.67%增至 73.33%, 处理3从 26.67%增至 52.5%, 热害指数降低近 40%。方差分析表明, 处理3和对照相比, 差异显著 ($P < 0.05$)。外源 Ca^{2+} 处理 (20 mmol/L) 能有效降低植株的热害指数, 提高植株越夏的成活率。

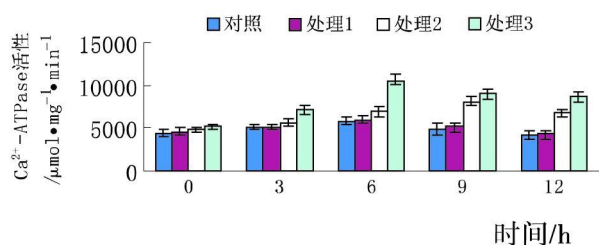


图9 8月17日 42℃高温胁迫下 Ca^{2+} 处理对滇北球花报春叶片 Ca^{2+} -ATPase 活性的影响

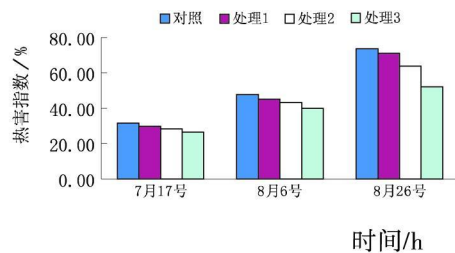


图10 7~8月 42℃高温胁迫下 Ca^{2+} 处理对滇北球花报春热害指数的影响

3 讨论

植物器官在逆境条件下遭受伤害时, 往往发生膜脂过氧化作用而产生丙二醛 (MDA), 其含量高低常用来说明过氧化作用的程度。比较高温胁迫下对滇北球花报春叶片丙二醛含量的变化发现: 常温下滇北球花报春叶

片的丙二醛含量较低, 高温胁迫引起滇北球花报春叶片中丙二醛的积累, 且随着处理时间的延续, 丙二醛含量逐渐升高。外源 Ca^{2+} 处理能从一定程度上抑制丙二醛的快速积累, 降低高温下膜脂的过氧化程度。

游离脯氨酸普遍存在于植物体内。一般来说, 植物

体内的游离脯氨酸含量不高,只占总游离氨基酸的百分之几,但植物受到逆境胁迫时,游离脯氨酸含量会大量增加。有研究指出,在高温环境中,植物体内游离脯氨酸的增加,是由于其体内水分亏缺引起的。因为脯氨酸的水合能力较强,水分亏缺时积累的游离脯氨酸可作为一种溶质来调节细胞水分环境的变化,同时积累的脯氨酸还可作为胁迫时能量和氮源的贮存库在解除胁迫后直接参与植物的代谢。推测外源 Ca^{2+} 处理可能通过调节植物细胞水分的变化来增强植物的耐热性。

植物细胞对逆境的应答主要包括逆境信号的传递和各相关功能蛋白运作两部分。 Ca^{2+} -ATPase 是植物叶绿体内一种与叶绿体膜结合的复合蛋白,它在催化光合磷酸化和调节叶绿体内 Ca^{2+} 水平等方面起着重要作用,在细胞内分布广泛。 Ca^{2+} -ATPase 可调节胞内 Ca^{2+} 浓度,维持胞质中 Ca^{2+} 的稳态平衡,而胞质中 Ca^{2+} 的稳态平衡是细胞生理活动得以正常进行的必要条件。该研究表明 Ca^{2+} -ATPase 参与滇北球花报春对高温逆境的表达,推测初始的高温胁迫 Ca^{2+} 对 Ca^{2+} -ATPase 属于正向调控,即通过促进酶活性推动跨膜转运和 ATP 的合成,同时维持低胞质 Ca^{2+} 的浓度,使植物短时间内的耐热性增加。但受试验条件的限制,12 h 后 Ca^{2+} -ATPase 活性是否继续下降及其下降趋势仍是值得深入研究的问题。同时,由于没有进行细胞定位,无法全面评价 Ca^{2+} -ATPase 的动态变化,这些问题有待进一步深入研究。

该研究中,采用田间试验中的热害指数来直接说明植物种类能否耐热。一般来讲田间试验结果容易受年份和地点的影响,重复性较差,为保证可靠的结果,需要多年重复鉴定。鉴于滇北球花报春有引种至温室盆栽观赏的价值,在温室进行了热害指数的测定和计算。由于温室是可控的环境,能保证较强的重复性,在多组重复处理的前提下,热害指数能较为全面的评价滇北球花报春的耐热性。

Effects of Ca^{2+} on Tolerance of *Primula denticulata* ssp. *sinodenticulata* to Heat Stress

ZHANG Rui-li, CAI Ming, ZHANG Qi-xiang

(College of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: After foliar sprayed with 5, 10, 20 mmol/L CaCl₂ solution each day for 10 days, *Primula denticulata* ssp. *sinodenticulata* seedlings were moved into an incubator controlled at 42 °C for 12 hours. In this high temperature period, related physiological indexes were monitored every 3 hours. Heat harm index were calculated after 10 days. Results showed that Ca^{2+} could inhibit the increase of MDA in the leaves of *Primula denticulata* ssp. *sinodenticulata*, and improve the accumulation of proline. Besides Ca^{2+} could improve and maintain the activity of Ca^{2+} -ATPase and decrease the high harm index in 40%. Conclusion: Ca^{2+} could improve the tolerance of *Primula denticulata* ssp. *sinodenticulata* to heat stress in some extent.

Key words: *Primula denticulata* ssp. *sinodenticulata*; Ca^{2+} ; Physiological indexes; Heat tolerance

参考文献

- [1] Richards J. *Primula* [M]. London: B. T. Batsford Ltd. 1993.
- [2] 龚明, 李英. 植物体内的钙信使系统[J]. 植物学通报, 1990, 7(3): 19-29.
- [3] Klein J D, Ferguson I B. Effect of high temperature on calcium uptake by suspension-cultural pear fruit cells [J]. *Plant Physiol*, 1987, 84: 1853-1856.
- [4] Gong M, Vanderluit A H, Knight M R, et al. Heat-shock induced changes in intracellular Ca^{2+} level in tobacco seedlings in regulation to thermotolerance [J]. *Plant Physiol*, 1998, 116: 429-437.
- [5] 李卫, 孙中海, 章文才, 等. 钙和钙调素对柑橘原生质抗冻性的影响[J]. 植物生理学报, 1997, 23(3): 262-266.
- [6] 赵可犬, 卢元芳, 衣建龙, 等. Ca 对小麦幼苗降低盐害效应的研究[J]. 植物学报, 1993, 35(1): 51-56.
- [7] 袁清昌, 许长成, 邹琦. 钙信使系统在百草枯诱导小麦幼苗膜脂过氧化中的作用[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(1): 13-16.
- [8] Gong M, Li Y J, D. Al M, et al. Involvement of calcium and calmodulin in the acquisition of heat shock induced thermotolerance in Maize [J]. *Plant Physiol*, 1997, 150: 615-621.
- [9] 张宗申, 利容千, 王建波. 外源 Ca^{2+} 预处理对高温胁迫下辣椒叶片细胞膜透性和 GSH, ASA 含量及 Ca^{2+} 分布的影响[J]. 植物生态学报, 2001, 25(3): 230-234.
- [10] 王光, 钦佩, 宰学明. 叶面喷施 Ca^{2+} 增加海滨锦葵对高温的适应能力[J]. 生态与农村环境学报, 2006, 22(3): 41-44.
- [11] 宰学明, 吴国荣, 钦佩, 等. Ca^{2+} 对花生幼苗耐热性的影响[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2006, 30(3): 47-50.
- [12] 王学奎. 植物生理生化实验原理技术[M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 2006: 238-281.
- [13] 林建军, 魏幼璋. 植物细胞 Ca^{2+} 的调控系统— Ca^{2+} -ATPase [J]. 植物学报, 2001, 18(2): 190-196.
- [14] 赵险飞, 胡杨与盐敏感杨 ATPase 活性、离子区隔化及抗盐性比较研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2005.
- [15] 朱慧芬. 五种观赏报春的引种驯化初步研究[D]. 昆明: 中科院昆明植物研究所, 2001.
- [16] 梁树乐. 我国西南地区部分野生报春的引种与杂交育种研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2006.
- [17] 胡永红, 蒋昌华, 秦俊. 植物耐热常规生理指标的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(1): 192-195.
- [18] 陈培琴, 郁松林, 詹妍妮, 等. 植物在高温胁迫下的生理研究进展[J]. 中国农学通报, 2006, 22(3): 223-227.