

# 高温胁迫对滇海水仙花生长发育的影响

邵长芬<sup>1</sup>, 李得发<sup>1</sup>, 关文灵<sup>2</sup>, 李世峰<sup>3</sup>

(1. 重庆旅游职业学院, 重庆 409000; 2. 云南农业大学 园林园艺学院, 云南 昆明 650201;

3. 云南省农业科学院 花卉所, 云南 昆明 650205)

**摘要:**以滇海水仙花为试材,研究了高温胁迫对滇海水仙花的生长及生理指标的影响,探讨了滇海水仙花的耐热性。结果表明:滇海水仙花是不耐热的植物,其对高温的适应性不强,植株适宜生长的最高温度为 28℃;短期内温度达到 33℃也可以生长;但是温度达到 38℃时,滇海水仙花就会表现出生长不适应,植物叶片中的丙二醛、脯氨酸、可溶性糖含量均会明显的增加;而温度达到 43℃时,整株植物就会枯死。

**关键词:**滇海水仙花;耐热性;高温胁迫

**中图分类号:**S 682<sup>+</sup>.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)05-0085-04

报春花属(*Primula*)植物属于报春花科(Primulaceae),该属植物多为一、二年生草本花卉,全世界约有 500 种,而我国就有 294 种,21 亚种和 18 变种,占全球总数的五分之三。该属植物具有较高的观赏价值,受到各国园艺界的重视,但我国对报春花属植物的研究尚处于起步阶段,该属的大部分种类尚处于野生状态。滇海水仙花(*Primula pseudenticulata* Pax.)属报春花科报春花属球根报春组多年生草本,产于云南(蒙自、昆明、大理、丽江)和四川(木里);生于沟边、水旁和湿草地,海拔 1 500~2 300(3 300)m<sup>[1]</sup>。滇海水仙花观赏价值高,可以自播繁

衍,生命力强,在野外经常成片生长,大面积的观赏效果也很好,而且野生滇海水仙花分布的海拔高度相对较低,引种驯化相对容易,是一种十分重要的观赏花卉和开展育种工作的好材料。目前关于滇海水仙花的研究文献很少,多为分类学中的形态学描述,关于其生物学特性及园林应用的研究尚鲜见报道。开展滇海水仙花的引种栽培与开花传粉特性研究,为报春花属植物的进一步育种和开发利用提供理论依据,弥补国内在报春花资源研究和利用上的严重不足,发挥我国丰富的野生花卉资源和名特种类的优势。现以滇海水仙花为试材,研究高温胁迫对滇海水仙花生长发育的影响,以期为其进一步的引种驯化工作提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为 2 年生健壮的滇海水仙花盆栽苗。

**第一作者简介:**邵长芬(1985-),女,内蒙古乌海人,硕士,讲师,现主要从事观赏植物资源及植物造景等研究工作。E-mail:chinascf1111@163.com.

**基金项目:**云南省科技计划资助项目(2011EB110)。

**收稿日期:**2015-12-14

## Study on Seed Germination of Rare and Endangered Plant *Bhesa sinensis*

ZHONG Guogui<sup>1</sup>, XIE Shaotian<sup>1</sup>, SU Fubao<sup>2</sup>, FENG Lixin<sup>2</sup>, LI Jianxing<sup>2</sup>

(1. Guangxi Yigao Forestry Limited Company, Fangchenggang, Guangxi 538021; 2. Forestry Engineering Department, Guangxi Eco-engineering Vocational and Technical College, Liuzhou, Guangxi 545004)

**Abstract:** Seeds of *Bhesa sinensis* were used as research subjects, the influence of different reagents and the concentration on the seed germination rate and the growth of main root were studied, which were gathered from Hai Ha County, Quang Ninh Province, Vietnam. The results showed that soaking in water would effectively promote the germination of *Bhesa sinensis* seeds, as soaking treatments of ABT1 and GGR6 in concentration of 0.5—15.0 mg/L had no effect on the seed germination. On the another hand, 0.5 mg/L ABT1 and 0.5—10.0 mg/L GGR6 could greatly accelerate the growth of *Bhesa sinensis* main roots.

**Keywords:** *Bhesa sinensis*; seed germination; germination rate; main root; endangered

## 1.2 试验方法

2010年6月28日将栽培在云南省农业科学院榆树村基地温室大棚,生长期为2年的滇海水仙花材料采回,移入云南农业大学园林园艺实验室中,常规管理,于2010年7月12日进行试验。

## 1.3 项目测定

1.3.1 热害指数的测定 选取生长状态一致的滇海水仙花2年生植株置于人工气候箱中进行高温胁迫,重复3次。设置温度为20、23、28、33、38、43℃,光照强度1800~2000 lx,培养2 d后进行调查、分级。热害指数的计算参考罗少波等<sup>[2]</sup>高温伤害程度划分为5级:0级无热伤害症状;1级为1~2片叶变黄;2级全部叶变黄;3级1~2片叶枯死;4级整株枯死<sup>[3]</sup>。耐热指数由公式计算:热害指数(%) =  $\sum(x \cdot x_i) / (A \cdot N) \times 100$ 。式中, $x$ 代表热害级数, $x_i$ 代表 $x$ 热害级数下植株数, $A$ 代表最高级数, $N$ 代表调查总株数。

1.3.2 可溶性糖含量的测定 1)标准曲线的制作:取20 mL刻度试管6支,从0~5分别编号,按表1加入溶液和水,然后按顺序向试管内加入1 mL 9%苯酚溶液,摇匀,再从管液正面以5~20 s时间加入5 mL浓硫酸,摇匀。比色液总体积为8 mL,在室温下放置30 min,显色。然后以空白为参比,在485 nm波长下比色测定,以糖含量为横坐标,光密度为纵坐标,绘制标准曲线,求出标准直线方程。2)可溶性糖的提取:取经过23、28、33、38℃下胁迫2 d的滇海水仙花叶片,擦净表面污物,剪碎混匀,称取0.1~0.3 g,共3份,分别放入3个刻度试管中,加入5~10 mL蒸馏水,塑料薄膜封口,于沸水中提取30 min(提取2次),提取液过滤入25 mL容量瓶中,反复冲洗试管及残渣,定容至刻度。3)测定:吸取0.5 mL样品液于试管中(重复2次),加蒸馏水1.5 mL,同制作标准曲线的步骤,按顺序分别加入苯酚、浓硫酸溶液,显色并测定光密度。由标准线性方程求出糖的量,计算测试样品中糖含量<sup>[4]</sup>。4)计算:可溶性糖含量(%) = 从标准曲线查得糖的量( $\mu\text{g}$ ) $\times$ 提取液体积(mL) $\times$ 稀释倍数/[测定用样品液的体积(mL) $\times$ 样品重量(g) $\times 10^6$ ] $\times 100$ 。

表1 可溶性糖绘制标准曲线的试剂量

Table 1 Standard curve of soluble sugar reagent volume

试剂	管号 Tube number					
Reagent	0	1	2	3	4	5
100 $\mu\text{g/L}$ 蔗糖标准液 Sucrose standard liquid/mL	0.0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
蒸馏水 Distilled water/mL	2.0	1.8	1.6	1.4	1.2	1.0
蔗糖量 Sugar/ $\mu\text{g}$	0	20	40	60	80	100

1.3.3 丙二醛(MDA)含量的测定 1)MDA的提取:称取经过23、28、33、38℃下胁迫2 d的滇海水仙花材料1 g,加入2 mL 10%TCA和少量的石英砂,研磨至匀浆;再加8 mL TCA进一步研磨,匀浆在4000 r/min的转速下离心10 min,上清液为样品提取液。2)显色反应

和测定:吸取离心的上清液2 mL(对照加2 mL蒸馏水),加入2 mL 0.6%TBA溶液,混匀后于沸水浴上反应15 min,迅速冷却后再离心。取上清液测定532、600、450 nm波长下的吸光度值<sup>[5]</sup>。3)计算:MDA含量( $\mu\text{mol/g}$ ) = MDA浓度(mol/L) $\times$ 提取液体积(mL)/植物组织鲜重(g)。

1.3.4 脯氨酸含量的测定 1)标准曲线的制作:在1~10  $\mu\text{g/mL}$ 脯氨酸浓度范围内制作标准曲线。取各浓度标准溶液各2 mL,加入2 mL 3%磺基水杨酸,2 mL冰乙酸和4 mL酸性茚三酮溶液,置沸水浴中显色40 min。冷却后,加入4 mL甲苯萃取红色物质。静置后,取甲苯相测定520 nm波长处的吸收值(以甲苯为空白对照),依据脯氨酸量和相应的吸收值绘制标准曲线(表2)。2)脯氨酸的提取:称取经过23、28、33、38℃下胁迫2 d的滇海水仙花植物材料0.5 g,用3%磺基水杨酸溶液研磨提取,磺基水杨酸的最终体积为5 mL。匀浆液转入离心管中,在沸水浴中浸提10 min,冷却后,以3000 r/min的转速离心10 min。3)测定:取2 mL上清液,加入2 mL水,再加入2 mL冰乙酸和4 mL酸性茚三酮溶液,置沸水浴中显色40 min。冷却后,加入4 mL甲苯萃取红色物质。静置后,取甲苯相测定520 nm波长处的吸收值<sup>[6]</sup>。4)计算:脯氨酸含量(%) =  $2.5 \times$ 从标准曲线查得脯氨酸的浓度( $\mu\text{g/mL}$ ) / [样品重量(g) $\times 10^6$ ] $\times 100$ 。

表2 脯氨酸绘制标准曲线的试剂量

Table 2 Standard curve of proline reagent volume.

试剂	管号 Tube number						
Reagent	0	1	2	3	4	5	6
标准脯氨酸量 Standard proline/mL	0	0.2	0.4	0.8	1.2	1.6	2
蒸馏水 Distilled water/mL	2.0	1.8	1.6	1.2	0.8	0.4	0
冰乙酸 Acetic acid/mL	2	2	2	2	2	2	2
酸性茚三酮 Acidic-ninhydrin/mL	4	4	4	4	4	4	4
脯氨酸含量 Proline content/ $\mu\text{g}$	0	2	4	8	12	16	20

1.3.5 叶绿素指数(SPAD)的测定 将置于23、28、33、38℃的人工气候箱中的滇海水仙花植株于第2天选取24片叶片用SPAD叶绿素仪测定叶绿素的含量,取平均值。

## 2 结果与分析

## 2.1 不同高温处理对滇海水仙花的热害指数的影响

温度影响植物体内各种酶的活性,高温对植物产生的胁迫最直接的影响了植株的外部形态,植株叶片失绿变黄是高温处理后的主要症状,以20℃条件为对照,随着温度的升高,叶片开始失水,萎蔫下垂,叶片的边缘首先变黄,然后蔓延至整个叶片,严重时整株枯死。热害指数反映了植物的耐热能力,由图1可以看出,随着温度的升高,滇海水仙花的热害指数增大,20℃时为0,23℃时为25.00%,28℃时为41.67%,33℃时为58.33%,38℃时为75.00%,而在43℃时热害指数高达100.00%,植株全部枯死。结果表明,滇海水仙花是不耐

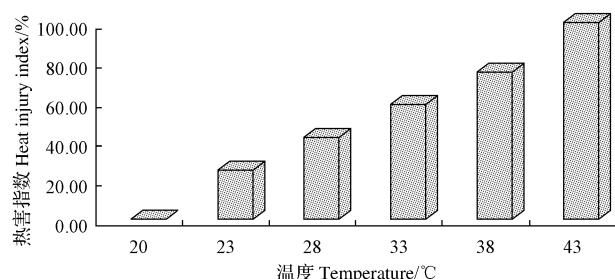


图1 不同高温处理对滇海水仙花热害指数的影响

Fig. 1 Effect of high temperature stress on heat injury index of *P. pseudenticulata* Pax.

热的植物,适宜生长在低温冷凉的环境中,20℃时生长不受影响,43℃时全部死亡,控制温度在33℃以内,温度越高,持续时间越长,则受害越严重。

## 2.2 不同高温处理对滇海水仙花的可溶性糖含量的影响

由图2可知,随着温度的升高,滇海水仙花的可溶性糖含量逐渐增加,23℃时为0.069%,28℃时为0.115%,33℃时为0.133%,38℃时为0.170%。结果表明,高温可能导致滇海水仙花呼吸紊乱,糖代谢失调,其体内相对含水量大幅度下降,造成叶片含糖量的上升,这可能是植物抵抗高温逆境的一种抗逆性反应。

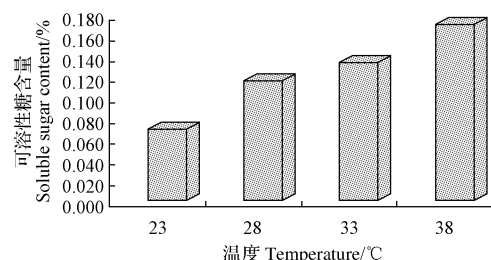


图2 不同高温处理对滇海水仙花可溶性糖含量的影响

Fig. 2 Effect of high temperature stress on soluble sugar content of *P. pseudenticulata* Pax.

## 2.3 不同高温处理对滇海水仙花丙二醛(MDA)含量的影响

植物器官衰老或在逆境条件下遭受伤害时,往往发生膜脂过氧化作用。丙二醛是膜脂氧化的最终分解产物,其含量可以反映植物遭受逆境伤害的程度<sup>[6]</sup>。从图3可以看出,高温胁迫引起滇海水仙花叶片中MDA的积累。23℃时MDA含量为0.42 μmol/g,28℃时MDA含量为0.55 μmol/g,33℃时MDA含量为0.94 μmol/g,38℃时MDA含量为1.23 μmol/g。结果表明,随着处理温度的升高,MDA含量逐渐增大,表现出滇海水仙花对高温逆境的抗逆性逐渐增加。

## 2.4 不同高温处理对滇海水仙花脯氨酸含量的影响

脯氨酸普遍存在于植物体内,是植物体内的重要渗

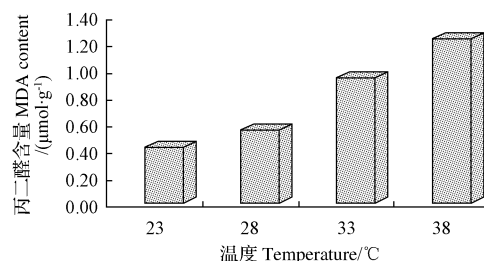


图3 不同高温处理对滇海水仙花丙二醛含量的影响

Fig. 3 Effect of high temperature stress on MDA content of *P. pseudenticulata* Pax.

透调节物质之一。一般来说,植物体内的游离脯氨酸含量并不高,只占总游离氨基酸的百分之几,但在逆境条件下,植物体内的脯氨酸含量会显著增加,因此植物体内脯氨酸含量在一定程度上反映了植物的抗逆性的大小。由图4可知,高温胁迫引起滇海水仙花叶片中脯氨酸含量的增加。23℃时为0.026 μg/mL,28℃时为0.036 μg/mL,33℃时为0.039 μg/mL,38℃时为0.052 μg/mL。结果表明,23℃时滇海水仙花的脯氨酸含量较低,随着处理温度的升高,脯氨酸含量逐渐增大,表现出滇海水仙花对高温逆境的抗逆性逐渐增加。

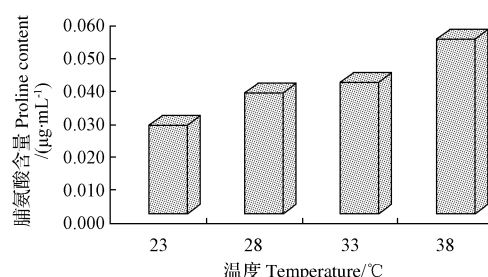


图4 不同高温处理对滇海水仙花脯氨酸含量的影响

Fig. 4 Effect of high temperature stress on proline content of *P. pseudenticulata* Pax.

## 2.5 不同高温处理对滇海水仙花的叶绿素含量的影响

植物进行光合作用的能量来源主要是光合色素捕获的光能,所以叶绿素含量的高低与植物的光合功能关系密切<sup>[7]</sup>。叶绿素对植株的生长很重要,在高温胁迫下,叶片叶绿素含量的变化随胁迫温度的升高而持续下降。由图5可以看出,28℃时叶绿素含量最高,达到46.60 mg/g;而随着温度的逐渐升高或降低,叶绿素含量都会逐渐下降;23℃时叶绿素含量为42.57 mg/g,而到38℃高温时,叶绿素含量降到最低。结果表明,28℃是滇海水仙花可以长期正常生长的临界温度。在这个温度内,滇海水仙花都能很好的生长,而温度越高,则越不利于滇海水仙花的正常生长。

## 3 讨论与结论

热害指数反映了植物的耐热能力,耐热种类的热害指数较低,不耐热的则较高。该试验结果表明,滇海水



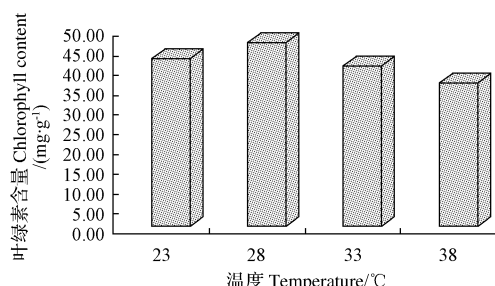


图5 不同高温处理对滇海水仙花的叶绿素含量的影响

Fig. 5 Effect of high temperature stress on chlorophyll content of *P. pseudodenticulata* Pax.

仙花是不耐热的植物,适宜生长在低温冷凉的环境中,43℃时植株枯死,应将温度控制在33℃以内。

MDA是膜脂过氧化作用的产物,MDA的积累对膜和细胞造成进一步的伤害,通常用MDA作为膜脂过氧化作用的指标,用以表示膜脂过氧化作用的程度和植物对抗逆境条件的强弱<sup>[7]</sup>。该试验对滇海水仙花高温胁迫下的MDA含量进行了测定,发现随着处理温度的升高,MDA含量呈上升趋势,且上升幅度较大,说明滇海水仙花植株体内清除MDA的能力比较弱,对高温的忍耐力不强。

在正常条件下,植物体内的脯氨酸对脯氨酸合成酶类有反馈抑制作用,故游离脯氨酸含量不高,植物在逆境下伴随着脯氨酸的增加,将会提高植株对逆境的忍耐力 and 抵抗力,且抗性强的品种脯氨酸的积累量大<sup>[8]</sup>。该试验中滇海水仙花体内的脯氨酸含量随着温度的升高逐渐增大,且33~38℃的脯氨酸含量增幅明显,说明滇海水仙花的耐热性不强,不能忍受33℃以上的温度;滇海水仙花适合生活在低温冷凉的环境中,这与其在自然生境中的生活状态相一致。

高温胁迫下,叶绿体外膜及类囊体膜系统的完整性遭到严重破坏,叶绿素含量,尤其是叶绿素a含量严重降低,光合机能丧失,叶绿体基质片层对高温胁迫最敏感,但罗少波等<sup>[2]</sup>对大白菜进行试验,叶绿素含量变化所反映的抗热性与田间鉴定的高温结球率无显著相关性,叶绿素含量变化不能反映大白菜品种的抗热性。该试验中滇海水仙花在28℃时的叶绿素指数达到了最大值,高于或者低于这个温度,叶绿素指数均会下降,且高温的叶绿素指数下降幅度大,说明28℃是滇海水仙花能够长期适宜生长的最高温度,滇海水仙花适宜生长在低温冷凉的环境中,过高的温度会影响其正常生长。

该试验结果表明,滇海水仙花对高温的适应性不强,适宜生长的最高温度为28℃;短期内温度达到33℃也可以生长;但是温度达到38℃时,滇海水仙花就会表现出较强烈的生长不适应;而当温度达到43℃时,滇海水仙花的各项生长指标就会消失,整株植物就会枯死。由此可以说明,滇海水仙花是不耐热植物,适宜生长在低温冷凉的环境中。

#### 参考文献

- [1] 胡启明. 中国植物志·59卷2分册[M]. 北京:科学出版社,1990.
- [2] 罗少波,李智军,周微波,等. 大白菜品种耐热性的鉴定方法[J]. 中国蔬菜,1996(2):16-18.
- [3] 吴国胜,曹婉虹,王永健. 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.
- [4] 陈克国. 地瓜儿可溶性糖和还原糖的含量测定[J]. 西安文理学院学报,2009,12(1):39-42.
- [5] 张志良,瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 3版. 北京:高等教育出版社,1980,11(1):258-276.
- [6] 林永英. 水分胁迫对青冈叶片活性氧的伤害[J]. 福建林学院学报,2002,22(1):1-3.
- [7] 郭培国,李明启. 杂交水稻及其亲本光合特性的研究 I. 功能叶片叶绿素含量、叶绿素-蛋白复合物及诱导荧光动力学[J]. 热带亚热带植物学报,1996,4(4):60-65.
- [8] 郭水良,方芳,强胜. 不同温度对七种外来杂草生理指标的影响及其适应意义[J]. 广西植物,2003,23(1):73-76.

## Effect of High Temperature Stress on Growth and Development of *Primula pseudodenticulata* Pax.

SHAO Changfen<sup>1</sup>, LI Defa<sup>1</sup>, GUAN Wenling<sup>2</sup>, LI Shifeng<sup>3</sup>

(1. Chongqing Vocational Institute of Tourism, Chongqing 409000; 2. College of Landscape and Horticulture, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201; 3. Flower Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming, Yunnan 650205)

**Abstract:** Taking the *Primula pseudodenticulata* Pax. as experimental material, the effect of high temperature stress treatment on growth and physiological indices of *Primula pseudodenticulata* Pax. were studied, in order to explore the heat tolerance of *Primula pseudodenticulata* Pax.. The results showed that the heat tolerance of *Primula pseudodenticulata* Pax. was much weakness. The highest temperature for it was 28℃. It could grow at the temperature up to 33℃ in short time. The MDA content, proline content and the soluble sugar content of *Primula pseudodenticulata* Pax. leaf were obviously increased when the temperature was up to 38℃. The plant would be dead under 43℃.

**Keywords:** *Primula pseudodenticulata* Pax.; heat tolerance; high temperature stress