

高温胁迫对两种冷季型草坪草生理生化特性的影响^{*}

刘大林^{**} 王秀萍 胡楷崎 刘伟国 张 华 曹喜春

(扬州大学动物科学与技术学院, 江苏扬州 225009)

摘 要 为研究高温胁迫对冷季型草坪草生理生化指标的影响, 通过盆栽试验测定了昼夜 (38/28 ℃) 两种温度下两种冷季型草坪草的 5 种生理生化指标 (质膜透性、脯氨酸含量、过氧化物酶 (POD) 活性、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和丙二醛 (MDA) 含量)。结果表明: 随着胁迫时间的延长, 各品种叶片的相对电导率、丙二醛含量和游离脯氨酸含量均呈递增趋势, 其增加幅度与胁迫时间呈正相关, 胁迫后各指标相对于对照均有了显著的增加 ($P < 0.05$); 过氧化物酶和超氧化物歧化酶活性则呈先上升后下降的趋势。高羊茅属 3 个品种的耐热性大于早熟禾属各品种的耐热性, 其中高羊茅属的 Reble IV 和早熟禾属的 Blue Sapphire 的耐热性优于种间其他品种。

关键词 冷季型草坪草; 高温胁迫; 生理生化指标

中图分类号 S 688.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-4890(2012)4-0811-05

Effects of high temperature stress on the physiological and biochemical characters of two types of cool-season turf grass. LIU Da-lin^{**}, WANG Xiu-ping, HU Kai-qi, LIU Wei-guo, ZHANG Hua, CAO Xi-chun (College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu, China). *Chinese Journal of Ecology*, 2012, 31(4): 811–815.

Abstract: To understand the effects of high temperature stress on the physiological and biochemical characters of cool-season turf grass, a pot experiment with two turf grasses *Festuca* and *Poa* was conducted to study their plasma membrane permeability, proline and MDA contents, and POD and SOD activities at the day and night temperature 38/28 ℃. With the increasing time of the high temperature stress, the leaf relative conductivity and free proline and MDA contents of the grasses presented an increasing trend, being significantly higher ($P < 0.05$) than the control on the 8th days after the stress, whereas the POD and SOD activities showed a trend of increasing first and decreased then. All the test varieties of *Festuca arundinacea* had better heat-resistance than those of *Poa*, and the Reble IV of *F. arundinacea* as well as the Blue Sapphire of *Poa* had the best heat-resistance.

Key words: cool-season turf grass; high temperature stress; physiological and biochemical indices.

高羊茅 (*Festuca arundinacea*) 是冷季型草坪草中耐热性最强的草, 具有适应性广、绿期长、管理粗放、耐寒、耐践踏、抗病性强等特性 (谭继清, 2002; 高祥斌和张秀省, 2009)。草地早熟禾 (*Poa pratensis*) 是世界上应用最广泛的冷季型草坪草之一, 在长江中下游等亚热带气候过渡地带种植, 面积呈现逐年增长的趋势 (王艳荣等, 2003; Caro & Rachel, 2005)。高羊茅属和草地早熟禾属植物因其在南方

坪用质量好, 冬季不枯黄而备受重视 (赵海明等, 2010)。长江中下游地区夏季温度最高可达 40 ℃ 以上, 高温成为其引种的主要限制因素。因此, 选择耐热性强的冷季型草坪草品种, 成为在夏季炎热潮湿的南部地区建坪成功的关键 (张巨明等, 2007)。

研究表明, 夏季高温是导致草坪质量下降最重要的因子 (Huang *et al.*, 1998a, 1998b), 气温超过 25 ℃ 后冷季型草坪质量显著下降, 质膜透性变大 (Bonos & Murphy, 1999)。赵昕和李玉霖 (2001) 测定高温胁迫下几种冷季型草坪草的叶片相对含水量、叶片细胞质膜透性及叶片脯氨酸含量等指标, 结果显

^{*} 2010 年江苏省科技支撑计划 (农业) 项目 (E2010308) 资助。

^{**} 通讯作者 E-mail: jsdalin@163.com

收稿日期: 2011-09-26 接受日期: 2012-01-17

示不同草种间存在差异,高羊茅耐受力最强,草地早熟禾次之,多年生黑麦草较弱;韩春梅等(2006)和赵海明(2010)分别对高羊茅和早熟禾品种进行耐热性比较,筛选出耐热性较强的品种。关于冷季型草坪草在扬州等长江中下游地区的耐热性研究较少。本试验通过研究两种冷季型草坪草与耐热有关的各种生理指标的变化,探讨了高温胁迫下植物的生理生化反应机制并比较得出耐热性较强的品种,以期为南方草坪草引种建植提供理论数据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料均从美国进口见表 1,其中高羊茅 3 个品种,分别为家园、可奇思 4 代和领域 2 号,标号 1、2、3;草地早熟禾 3 个品种,分别为斗士、狂想曲和蓝钻,标号 4、5、6。各品种的纯净率和发芽率如表 1 所示。

1.2 试验设计

试验在扬州大学农牧场试验地进行,于 2010 年 9 月 25 日播种,2011 年 3 月 20 日移栽到 10 cm×12 cm 的花盆中,基质为沙壤土,有机质含量为 12 g·kg⁻¹,全氮为 0.72 g·kg⁻¹,碱解氮为 100.4 mg·kg⁻¹,速效磷为 36.3 mg·kg⁻¹,速效钾为 88.7 mg·kg⁻¹。移入温室,平均温度 25℃,相对湿度 60%。每天浇水至盆底有水渗出,每周修剪草坪草至 6 cm 左右。在温室内培养 30 d 后再将其移入人工光照培养箱内培养 20 d,温度控制在 25/18℃(昼/夜),同时结合光照 14 h·d⁻¹,光照强度为 7000 lx,相对湿度 60%。各盆植株在人工气候箱内随机摆放并定期交换位置,以保证每盆所受内部环境影响一致,之后再将其转移到昼/夜温度为 38/28℃的另一人工气候箱内进行高温处理,其内部的光照、相对湿度以及管理方式均与对照温度下光照培

表 1 各品种的纯净率及发芽率(%)

Table 1 Purity and germination rates in different grass varieties

属	品种代号	英文名	纯净率	发芽率
高羊茅	1	Plantation	98	94
	2	Reble IV	98	96
	3	Regiment II	98	93
早熟禾	4	Geronimo	98	92
	5	Rhapsody	98	93
	6	Blue Sapphire	98	93

养箱一致。胁迫处理的时间分别为 0(对照)、2、4、6 和 8 d。按要求采样,进行各项指标的测定,每个指标重复 3 次。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 质膜透性 质膜透性采用电导率法,采用浸泡法(陈建勋和王晓峰,2006)。剪取 1 cm 长的叶片 10 个,用蒸馏水冲洗干净,去离子水洗 3 次,吸去叶面上水分,将其放入试管中,去离子水冲洗 3 次后加入 10 mL 去离子水,试管在室温下静置 12 h。用 DDSO11A 型电导仪测定电导值 L_1 ,将试管放入沸水中煮沸 30 min,冷却至室温后再次测定电导值 L_2 ,计算细胞膜的相对透性(%),其计算公式为:

$$\text{质膜透性} = \frac{\text{叶片杀死前的外渗电导值 } L_1}{\text{杀死后的外渗电导值 } L_2} \times 100\%$$

1.3.2 脯氨酸含量 采用磺基水杨酸抽提法(高俊凤,2006)。

1.3.3 丙二醛(MDA)含量、过氧化物酶(POD)和超氧化物酶(SOD)活性 采用南京建成生物公司的试剂盒。准确称取 0.1 g 植物叶片,加入 9 mL 生理盐水,在冰浴上研磨成植物匀浆,按照说明书依次加入各试剂,经水浴、离心后比色。

1.4 数据处理

数据用 Excel 和 SPSS 16.0 软件分析,各材料在不同胁迫时间后的各生理指标采用 Duncan 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 质膜透性的变化

质膜透性用相对电导率表示,在高温胁迫下,细胞膜遭到破坏,电解质外渗,膜通透性增大。高温胁迫后,各草坪草品种的电导率均有不同幅度的增加,品种 2 的电导率由 0 d 的 4.6% 上升到处理 8 d 时 46%,增加 10 倍,而品种 6 相对电导率则由 0 d 的 3.9% 上升到 8 d 的 73.7%,约增加 20 倍。由图 1 可知,在同一胁迫时间内,高羊茅和草地早熟禾各品种相对电导率差异显著($P<0.05$)。在高温胁迫 0~4 d 时,高羊茅各品种比早熟禾各品种增加缓慢,但在高温胁迫 8 d 时,各品种的相对电导率都达到了最大值,早熟禾各品种相对电导率变化幅度较大,细胞膜的受损程度大,其耐热性相对较弱,参试各品种的耐热程度为:高羊茅>草地早熟禾。

2.2 脯氨酸含量的变化

由图 2 可以看出,随着高温胁迫时间的延长,高

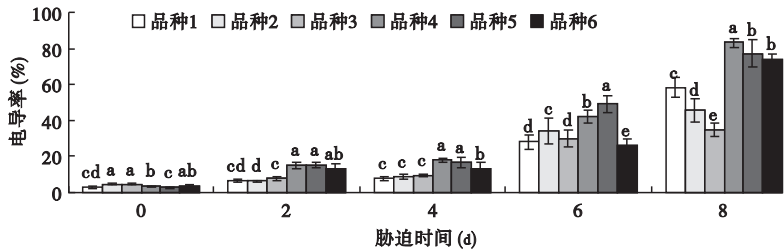


图1 各品种相对电导率的变化

Fig.1 Change of relative conductivity in different grass

不同字母表示同一时间不同品种之间差异显著 ($P<0.05$)。下同。

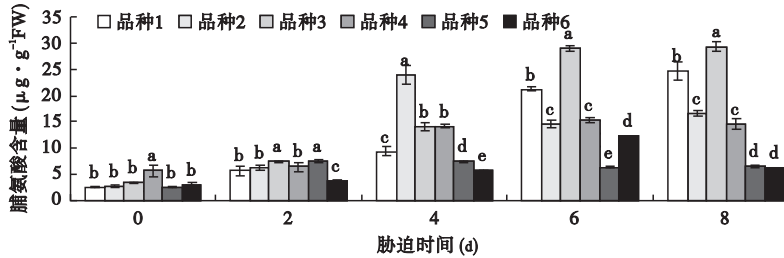


图2 各品种脯氨酸含量的变化

Fig.2 Change of proline content in different grass

羊茅各品种游离脯氨酸的累积量持续增加,在胁迫6 d时增幅最大,在胁迫8 d时达到最值;早熟禾属各品种在4 d时增幅最大,6 d时累积量达到最值,之后有所降低。高羊茅各品种在胁迫后期,各品种的增加幅度在高温胁迫处理前,早熟禾属4 d的游离脯氨酸含量为 $5.70 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,与其他各品种差异显著 ($P<0.05$),其他草种之间没有明显差异。在整个高温胁迫期间,高羊茅属各品种脯氨酸的累积量与早熟禾各品种差异显著 ($P<0.05$)。

2.3 过氧化物酶活性的变化

在高温胁迫下,随着胁迫处理时间的延长,过氧化物酶活性呈现先上升后下降的趋势。0 d时,高羊茅属各品种和早熟禾各品种过氧化物酶(POD)活性差异显著 ($P<0.05$),而属内各品种 POD 活性差异不显著。2 d 胁迫处理下,除了品种1的 POD

活性大幅度增加,其他各品种上升缓慢。在8 d 的后期胁迫处理中,品种1、2和6的POD活性保持持续增加的状态,说明其耐热性较强并可忍受更长时间的高温胁迫。品种3、4和5的POD活性在6 d时达到了最大值,之后开始下降,说明其耐热性相对较弱(图3)。

2.4 超氧化物歧化酶活性的变化

超氧化物歧化酶(SOD)在一定程度上能有效清除超氧阴离子等活性氧的危害(邓雪柯等,2005)。在受到逆境胁迫时,植物可通过提高SOD活性并及时修复受损细胞,复原自由基对细胞造成的伤害(曹冬梅等,2007)。由图4可以看出,高温胁迫后,供试各品种间的SOD活性变化有显著的差异 ($P<0.05$),高羊茅属各品种的SOD活性均高于早熟禾属各品种。品种1、3和5的SOD活性变化幅度较

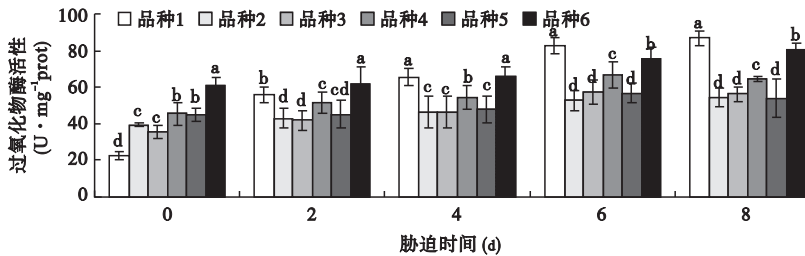


图3 各品种过氧化物酶活性的变化

Fig.3 Change of POD activity in different grass

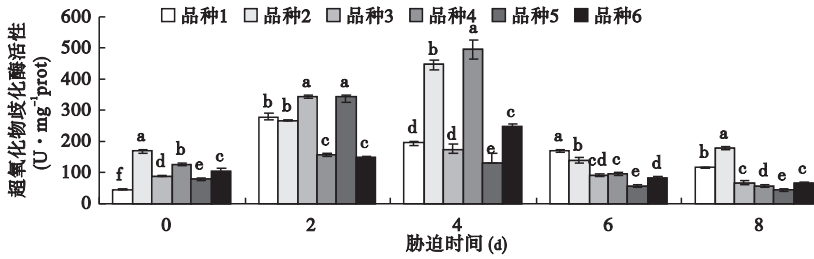


图 4 各品种超氧化物歧化酶活性的变化
Fig. 4 Change of SOD activity in different grass

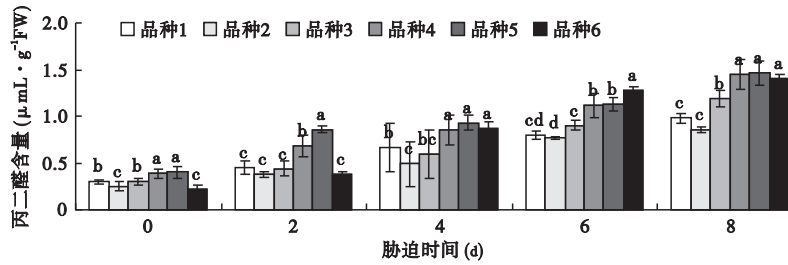


图 5 各品种丙二醛含量的变化
Fig. 5 Change of MDA content in different grass

大,在胁迫处理 2 d 时 SOD 活性达到最大,是 0 d (对照)的 4~6 倍;品种 2 和 6 植株体内的 SOD 活性在胁迫处理 4 d 时还维持在最高水平,并且到胁迫处理第 8 d 时,仍维持在所有材料的 SOD 活性最高水平(图 4)。这说明品种 2 和 6 对高温胁迫的适应性较强,还可以忍受更长时间的高温胁迫。

2.5 丙二醛含量的变化

在高温胁迫处理后,两种草坪草叶片中丙二醛(MDA)的含量均呈递增趋势,不同品种间的增加幅度各不相同。在高温胁迫初期,丙二醛的积累量缓慢增长,在胁迫后期达到某一强度后,丙二醛的量开始大量积累,达到最值。由图 5 可以看出,品种 3 和品种 5 的 MDA 含量的日增加率较高,增幅较大,说明其膜脂过氧化水平较高,细胞膜受损程度较大,耐热性相对较弱。其他草种 MDA 含量的日增加率处于中等水平,故耐热性也处于中等水平。品种 2 和品种 4 细胞膜受损程度相对较小,耐热性相对较强。

3 讨论

正常情况下,植物体内各项代谢的生理生化过程都是比较稳定而协调的,活性氧的产生和清除处于一种平衡状态,当植物长时间受到高温胁迫时,植物体内的各种代谢活动都会受到影响而失调(Huang *et al.*, 2001; 黄锦文等, 2009)。逆境条件下,活性氧会大量积累,有关保护酶类表达量和活性

会迅速提高,持续胁迫或短期的高强度胁迫会诱导膜脂过氧化加剧,离子渗透率增大(张元等, 2011)。另外,一些渗透调节物质如脯氨酸等在抵御高温胁迫中也起着重要的作用。

本试验中,在胁迫处理第 2 天, SOD 和 POD 活性最强,但在胁迫第 6 天和第 8 天活性最弱,各品种均呈先上升后下降的趋势。在胁迫初期植株通过自身某些调节机制,提高 SOD 和 POD 活性以适应胁迫;随着胁迫时间延长,植物受伤害程度加大, SOD、POD 活性逐渐下降。这与安佳佳对巴西香蕉高温逆境的研究相一致(安佳佳等, 2010)。MDA 作为膜脂过氧化的最终产物,其累积量也会随着细胞伤害程度的加剧而不断增大。在高温胁迫后,各草坪草叶片中 MDA 含量和电导率均在第 8 天达到了最大。说明在高温胁迫下发生了膜质过氧化作用,致使其细胞膜系统遭到了破坏,而且随胁迫时间的增加,质膜遭到的破坏愈来愈严重。李品明等(2011)对黄连叶片进行高温胁迫,亦得出了相似的结论。何霞等(2008)通过研究不同品种高羊茅叶片细胞膜热稳定性,随着水温处理时间的延长,相对电导率值也在随之增大。各品种的游离脯氨酸的含量较胁迫后均有显著提高,并且随着胁迫时间的延长其增加幅度也在增大,说明逆境下脯氨酸升高有利于植物体对逆境胁迫的抵抗,徐胜等(2006)测定了冷季型草坪草对高温的生理生态响应,亦支持此观点。

植物的酶促防御系统,包括 CAT、POD 和 SOD 等都具有清除活性氧的能力,能减轻膜脂过氧化程度,与植物的抗热性密切相关。高温胁迫下植物膜脂过氧化水平升高、细胞膜损伤与质膜透性增加是高温伤害的本质之一,Almeselmani 等(2006)亦指出了此观点。耶兴元等(2010)认为,高温胁迫下的草坪草,其体内脯氨酸含量明显增加,可以作为选择耐高温草坪草品种的指标。MDA 的累积可引起膜结构和功能的破坏,从而影响植物的生理代谢功能,使植株受害加重,因此也可作为衡量植物是否耐高温的一个重要的生理指标。前人分别对高羊茅和草地早熟禾进行高温胁迫,通过测定某些生理指标来探讨冷季型草坪草热伤害的主要生理机制并进行了耐热性比较(陈传军等,2006;龚雪梅,2010;汤日圣等,2010)。此外,王凯红等(2011)、刘兰英等(2009)、夏钦等(2010)分别在杜鹃、园林植物、粉带也做了类似的研究。

本试验采用质膜透性、保护酶活性、渗透调节物质、丙二醛含量等 5 个生理指标对两种冷季型植物的耐热性进行了初步鉴定,综合比较得出高羊茅属的 3 个品种的耐热性大于早熟禾属各品种的耐热性,其中高羊茅属的 Reble IV 和早熟禾属 Blue Sapphire 的耐热性又优于种间其他品种。

参考文献

- 安佳佳,李新国,李茂富,等. 2010. 大豆多肽对高温胁迫下巴西蕉幼苗生理特性的影响. 中国农学通报, **26**(19): 387-391.
- 曹冬梅,王云山,康黎芳. 2007. 高温对红掌幼苗叶片茉莉酸浓度及抗氧化系统的影响. 中国生态农业学报, **15**(5): 103-104.
- 陈传军,沈益新,周建国,等. 2006. 高温季节草地早熟禾草坪质量与叶片抗氧化酶活性的变化. 草业学报, **4**(4): 81-87.
- 陈建勋,王晓峰. 2006. 植物生理学实验指导(第 2 版). 广州:华南理工大学出版社.
- 邓雪柯,乔代蓉,李良. 2005. 低温胁迫对紫花苜蓿生理特性影响的研究. 四川大学学报(自然科学版), **42**(1): 191-194.
- 高俊凤. 2006. 植物生理学实验指导. 北京:高等教育出版社.
- 高祥斌,张秀省. 2009. 高温对高羊茅几个生理指标的影响. 中国农学通报, **25**(14): 153-156.
- 龚雪梅. 2010. 高羊茅草坪草抗热性生理研究. 北方园艺, **19**: 91-93.
- 韩春梅,张新全,彭燕,等. 2006. 18 个高羊茅品种的耐热性比较研究. 草原与草坪, (1): 36-44.
- 何霞,杨志民,徐迎春. 2008. 不同品种高羊茅叶片细胞

- 膜热稳定性鉴定. 中国草地学报, **30**(2): 74-78.
- 黄锦文,陈冬梅,郑红艳. 2009. 暖季型草坪草对高温胁迫的生理响应. 中国生态农业学报, **17**(5): 964-967.
- 李品明,杨丙贤,孙玉芳,等. 2011. 高温胁迫对黄连幼苗活性氧代谢及保护酶活性的影响. 安徽农业科学, **39**(18): 796-798.
- 刘兰英,张军民,李春玲. 2009. 3 种园林植物的耐热性研究. 中国农学通报, **25**(23): 354-357.
- 谭继清. 2002. 草坪地被景观设计与应用. 北京:中国建筑工业出版社.
- 汤日圣,汪军,邓国平,等. 2010. 高温胁迫对草地早熟禾某些生理指标的影响. 江苏农业学报, **26**(6): 1192-1196.
- 王凯红,刘向平,张乐华,等. 2011. 5 种杜鹃幼苗对高温胁迫的生理生化响应及耐热性综合评价. 植物资源与环境学报, **20**(3): 29-35.
- 王艳荣,刘玉燕,赵利清. 2003. 草地早熟禾光合与蒸腾特性的研究. 中国草地, **25**(4): 46-49.
- 夏钦,何丙辉,刘玉民,等. 2010. 高温胁迫对粉带扦插苗形态和生理特征的影响. 生态学报, **30**(19): 5217-5224.
- 徐胜,李建龙,何兴元,等. 2006. 冷季型草坪草对高温胁迫的生理生态适应机理研究进展. 生态学杂志, **25**(6): 698-670.
- 耶兴元,何晖,张燕,等. 2010. 脯氨酸对高温胁迫下猕猴桃苗抗热性相关生理指标的影响. 山东农业科学, (5): 44-47.
- 张元,谢潮添,陈昌生,等. 2011. 高温胁迫下坛紫菜叶状体的生理响应. 水产学报, **35**(3): 379-386.
- 张巨明,解新明,董朝霞. 2007. 高温胁迫下冷季型草坪草的耐热性评价. 草业科学, **24**(2): 105-109.
- 赵昕,李玉霖. 2001. 高温胁迫下冷地型草坪草几项生理指标的变化特征. 草业学报, **10**(4): 85-91.
- 赵海明,刘君,杨志民. 2010. 夏季高温对不同草地早熟禾品种坪用质量的影响. 草业科学, **27**(1): 4-7.
- Almeselmani M, Deshmukh PS, Sairam RK, et al. 2006. Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress. *Plant Science*, **171**: 382-388.
- Bonos SA, Murphy GA. 1999. Growth response and performance of Kentucky bluegrass under summer stress. *Crop Science*, **39**: 770-774.
- Caro DF, Rachel K. 2005. Food sources and intakes of caffeine in the diets of persons in the United States. *Journal of the American Dietetic Association*, **105**: 110-113.
- Huang B, Liu X, Fry JD. 1998a. Shoot physiological responses of two bentgrass cultivars to high temperature and poor soil aeration. *Crop Science*, **38**: 1214-1219.
- Huang B, Liu X, Fry JD. 1998b. Shoot physiological responses to high temperature and poor soil aeration in creeping bentgrass. *Crop Science*, **38**: 1858-1862.
- Huang B, Liu X, Xu Q. 2001. Supraoptimal soil temperature induced oxidative stress in leaves of creeping bentgrass cultivars differing in heat tolerance. *Crop Science*, **41**: 430-435.

作者简介 刘大林,男,1963 年生,博士,副教授,主要从事草业科学教学与研究工作。E-mail: jsdalin@163.com

责任编辑 刘丽娟