

# 短期高温处理对大白菜几个生理指标的影响<sup>\*</sup>

王志和<sup>1</sup>,于丽艳<sup>1</sup>,曹德航<sup>2</sup>,周 波<sup>2</sup>,杨建平<sup>1\*</sup>

(1. 山东农业大学园艺科学与工程学院, 泰安 271000; 2. 泰安市农业局, 泰安 271000)

**摘 要:** 选取 6 个大白菜自交系, 对其短期高温处理前后的 SOD 活性、丙二醛含量、可溶性蛋白含量和叶绿素含量进行了测定。结果表明: 短期高温处理前后 SOD 活性以及叶绿素 a 和 b 含量的变化与大白菜自交系的耐热性无关; 可溶性蛋白含量和丙二醛含量的变化与耐热性正相关, 是良好的耐热性筛选指标。

**关键词:** 大白菜; 高温处理; SOD; 丙二醛; 可溶性蛋白; 叶绿素含量

中图分类号: S634. 1      文献标识码: A      文章编号: 1004-1389(2005)03-0082-04

## The Effect to Several Physiological Indexes by Short-term High Temperature in Chinese Cabbage

WANG Zhi-he<sup>1</sup>, YU Li-yan<sup>1</sup>, CAO De-hang<sup>2</sup>, ZHOU Bo<sup>2</sup> and YANG Jian-ping<sup>1\*</sup>

(1. College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agriculture University, Tai'an 271000, China;

2. The Agricultural Bureau of Tai'an City, Tai'an 271000, China)

**Abstract** SOD activities, Malondialdehyde contents, soluble protein contents and chlorophyll contents were measured before and after high temperature treatment with six Chinese cabbage parents of hybrid in this experiment. The results indicated that the changes of SOD activities, chlorophyll a and chlorophyll b contents had no relations with the heat tolerance of Chinese cabbage parents of hybrid. So they could not be used as the screening index, the changes of malondialdehyde content and soluble protein content had a marked positive correlation with the heat tolerance of Chinese cabbage parents and they were excellent screening indexes.

**Key words** Chinese cabbage; High temperature treatment; SOD; Malondialdehyde; Soluble protein; Chlorophyll content

大白菜原产于我国,由于其口味好,品质高和耐储藏而备受欢迎。随着经济发展和生活水平的提高,迫切需要做到优质大白菜的周年供应。但是大白菜喜好冷凉气候,高温下很难生长结球,因此大白菜的耐热性研究和耐热育种备受关注,其中耐热性材料的筛选是耐热性育种的首要工作。

近年来我国蔬菜科技工作者对热胁迫下作物的生理及生化变化作了较多的研究,探索出了一些针对不同蔬菜作物进行抗热性鉴定的方法,并选育出了一些优良的抗热品种<sup>[1~3]</sup>,但在大白菜自交系上的耐热研究则少有报道。本试验旨在研

究高温处理对大白菜自交系 SOD 活性、丙二醛含量、可溶性蛋白含量和叶绿素含量的影响,以期通过高温逆境对代表性自交系苗期生理指标变化规律影响的研究,建立一套简易、准确、对材料伤害和损失较少的大白菜自交系耐热性筛选方法和技术,以提供早期鉴定自交系抗热性的简易程序,为大白菜的耐热性选育工作提供一定的参考依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

本试验所使用的材料为 6 个大白菜自交纯化

\* 收稿日期: 2004-12-15      修回日期: 2005-01-22

作者简介: 王志和 (1979-), 山东荣成人,在读硕士。E-mail: zhihewang802@sohu.com

\* 通讯作者

系,分别为: A代表 98- 6- 4- 3- 8 B代表 96- 3- 7- 8- 2 C代表 97- 6- 3- 3- 4 D代表 91- 5- 7- 9- 6 E代表 98- 3- 6- 8- 9 F代表 01- 3- 8- 7- 6,其中 D高抗热,B与 F不抗热,A G E中抗热

1.2 试验处理

将材料与 2004年 6月 12日播种于花盆内,四叶时进行定苗,每盆定植 2棵,设置 3个重复。当植株分化 6片叶以后开始进行试验。本试验所采用的短期高温处理的温度和时间是在参考了司家钢等<sup>[4]</sup>的方法的基础上并进行了改进,具体为:首先在常温条件下为对照,然后将一半放入光照培养箱内采取 38℃ 8 h 30℃ 16 h以及 8 h光照交替处理 48 h以后,进行指标的测定。为减少生理指标测定的误差,所有指标在测定时都进行两次,每次均设 3个重复。

1.3 各项指标的测定

1.3.1 SOD活性与可溶性蛋白含量的测定方法

超氧化物歧化酶(SOD)活性及可溶性蛋白质含量测定所使用的酶液的制备方法参考刘祖琪的方法<sup>[5]</sup>,稍作改进 取植株的功能叶片 0.5 g,加 pH7.8 0.05 mol/L磷酸缓冲液(含 1% PV PP)少许后,加入石英砂,在冰浴条件下研磨至匀浆状,10 000 r/min离心 10 min,取上清液备用。

SOD活性的测定参照 Stewa方法<sup>[6]</sup>,以抑制氮蓝四唑(NBT)光化还原 50%的酶量作为一个酶活性单位

可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮兰 G-250法<sup>[7]</sup>。

1.3.2 叶绿素含量的测定 叶绿素测定方法为丙酮法:称取叶片 0.2 g,剪碎后加入三角瓶中,加 80%的丙酮 20 mL后封口,置暗处 24~ 36 h,当叶片完全脱色变白后,测定 663 nm 646 nm 470 nm下的 OD值。

1.2.3 脯氨酸含量与 CAT活性的测定方法 脯氨酸含量的测定方法采取茆三酮比色法<sup>[8]</sup>;CAT活性的测定采用张宪政的方法<sup>[9]</sup>。

2 结果与分析

2.1 高温处理对可溶性蛋白含量的影响

从图 1可以看出,在未进行高温处理之前抗热性强的 D自交系的可溶性蛋白的含量最高,而抗热性差的 B与 F自交系的则很低,中抗热自交系 A、G、E三者的可溶性蛋白的含量居中,且没

有很大差异,说明不同抗热性的植株内部可溶性蛋白的含量本身就存在着很大的差异,这可能与植株的耐热性有关。当经过高温处理后各个自交系的可溶性蛋白的含量都有不同程度的增加,但是不同植株的总体可溶性蛋白含量的高低仍然与未处理前相同。因此认为高温处理前后的可溶性蛋白含量的高低,都可以从一定程度上反应大白菜自交系的耐热性,能够作为早期抗热选择的依据之一。本试验的结论与孟焕文等<sup>[10]</sup>在黄瓜上得到的结论相一致

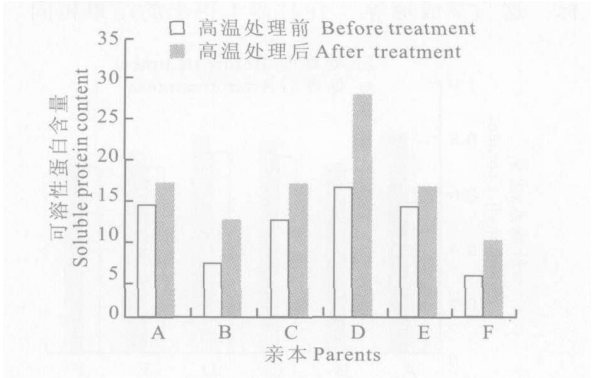


图 1 高温处理对可溶性蛋白的影响  
Fig. 1 Influence of high temperature treatment on soluble protein content of Chinese cabbage

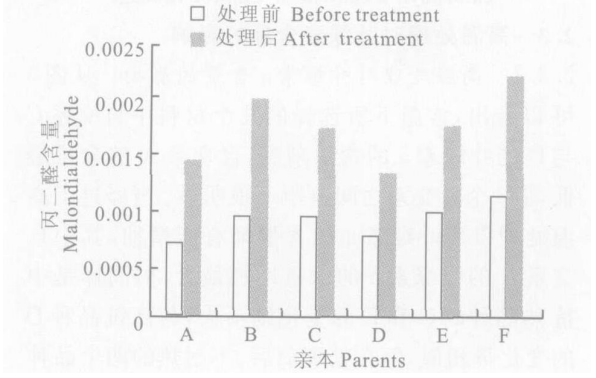


图 2 高温处理对丙二醛含量的影响  
Fig. 2 Influence of high temperature treatment on malondialdehyde content of Chinese cabbage

2.2 高温处理对丙二醛含量的影响

图 2显示,在未进行高温处理之前各个自交系之间的丙二醛含量存在一定的差异,自交系 F的丙二醛含量为最高;自交系 B C与 E的含量基本相当,但总体高于自交系 A和 D 当经过高温处理以后,6个自交系的丙二醛含量都表现为增加趋势。高抗热自交系 D增加最少并且终含量为最低,低抗自交系的增加量大并且终含量高,中抗

热自交系 A C与 E的增加量也很大,但总体丙二醛含量低于低抗热自交系 B与 F

以上的数据表明在常温条件下和高温处理以后的丙二醛含量都很低的自交系才有可能耐耐热自交系;不耐热自交系在常温下的丙二醛含量比较高,而且经过处理以后增加量也很大;中抗品种的丙二醛含量在常温下可能较大,但是经过高温处理以后增加不明显。所以可以将常温下与高温处理以后的丙二醛含量的变化量进行比较,或者利用高温处理以后的丙二醛含量作为抗热鉴定指标。这与李成琼等<sup>[11]</sup>在甘蓝上得出的结果相同。

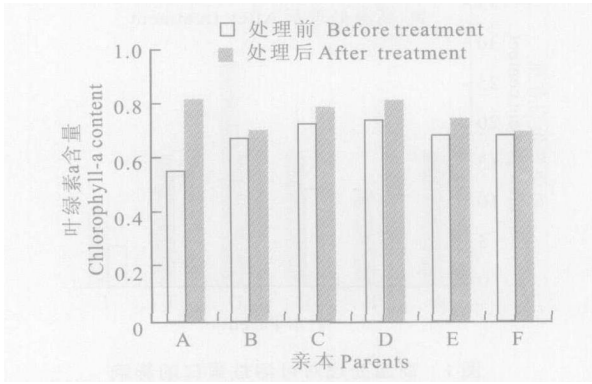


图 3 高温处理对叶绿素 a含量的影响

Fig. 3 Influence of high temperature treatment on chlorophyll a content of Chinese cabbage

2.3 高温处理对叶绿素含量的影响

2.3.1 高温处理对叶绿素 a含量的影响 从图3可以看出,常温下所选择的几个材料中自交系 C与 D的叶绿素 a的含量稍高,自交系 A的含量最低,但 6个自交系之间差距不很明显。当经过了高温处理以后叶绿素 a的含量都有所增加,其中自交系 A的叶绿素 a的含量增加最大,但同样是中抗热品种的 C和 E的变化则不大,与高抗品种 D的变化量相似。但在处理前后,不耐热的两个品种 B和 F的叶绿素 a含量基本没有变化。以上数据可以说明高温处理会影响到中抗热和高抗热大白菜自交系叶绿素 a的含量,对于不耐热自交系基本没有影响。所以高温处理前后叶绿素 a的含量变化可以作为淘汰不耐热自交系的一个指标,以配合耐热性筛选工作,减少耐热性筛选的工作量。

2.3.2 高温处理对叶绿素 b含量的影响 由图4可以看出,高温处理前各个材料之间的叶绿素 b的含量相差非常大,自交系 E F自交系的叶绿素 b的含量,几乎是自交系 A的 3倍。自交系 B C

D之间的差异不大,说明常温叶绿素 b的含量个体差异很大,可能是由于个体间不同的基因型造成的。高温处理后 A与 D的叶绿素 b的含量都明显增高,而自交系 E与 F的则明显降低,自交系 B与 C的略有下降。

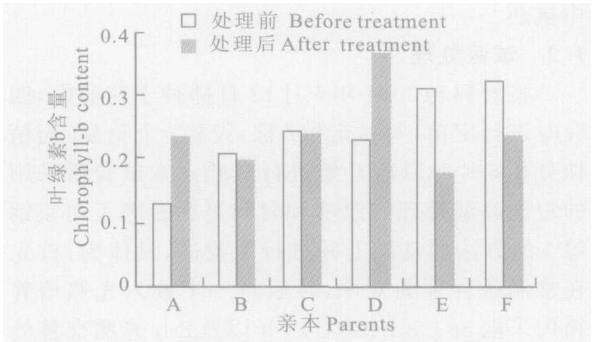


图 4 高温处理对叶绿素 b含量的影响

Fig. 4 Influence of high temperature treatment on chlorophyll b content of Chinese cabbage

通过以上分析可以看出,高温处理使耐热性相同的自交系的叶绿素 b含量产生不同的变化:不耐热的自交系 B与 F虽然处理前后含量都是降低的趋势,但处理之前的含量相差很大;中抗热自交系 A的在处理前后表现为明显升高的趋势,自交系 C是略微减少的趋势,自交系 E则是急剧下降,其表现与自交系 F基本相同。所以叶绿素 b含量在处理前后的变化与自交系的耐热性没有显著的关系,叶绿素 b含量这一指标不能用于大白菜自交系耐热性的鉴定。此结论与罗少波等<sup>[12]</sup>在大白菜上得到的结论一致。

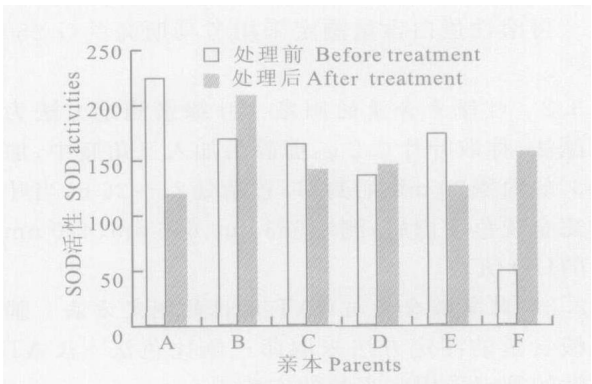


图 5 高温处理对 SOD活性的影响

Fig. 5 Influence of high temperature treatment on SOD activities of Chinese cabbage

2.4 高温处理对 SOD活性的影响

图5表明,所选择自交系之间 SOD的活性在常温条件下相差很大,其中自交系 A的 SOD活性最强,自交系 F最弱,自交系 B、C、E的基本相

同。经过高温处理以后,高抗热自交系 D 的 SOD 活性略有升高;中抗热自交系中 A 下降幅度非常大,达到了 50% 左右,自交系 C 则略有下降,自交系 E 下降幅度居于前两者之间;不耐热中自交系 F 在处理前后活性上升幅度很大,甚至超过了 100%;自交系 B 的升高幅度不大在 15% 左右。本试验证明在高温处理前后大白菜纯合自交系的 SOD 活性有的升高有的降低,不存在一致性。因此认为 SOD 的活性不能作为大白菜自交系耐热性鉴定的指标。

### 3 结论与讨论

传统的夏季田间性状鉴定是适用于结球大白菜的,而且试验周期性强、费时费力、浪费材料且受环境因子的影响较大。如果将其用于自交系选择中则延长育种进度和耗费宝贵的自交系材料。本试验经过对几个自交系在高温处理前后的生理指标的比较以后,可以得出一套较完整的大白菜自交系耐热性鉴定的方法和技术。具体步骤:将长至六叶一心的大白菜自交系的一部分放入光照培养箱,采取 38℃ 8 h 30℃ 16 h 以及 8 h 光照交替处理 48 h 以后,用常温下的植株作为对照,立即测定丙二醛含量和可溶性蛋白的含量,在所有材料中处理前后可溶性蛋白含量都较高并且丙二醛含量都很低的自交系是较耐热的自交系。如果材料较多,可以先测定叶绿素 a,将含量变化小的不耐热自交系淘汰,再进行以后的筛选工作。

高温处理以后大白菜自交系体内可溶性蛋白含量出现了上升的趋势,据分析可能有以下两方面的原因:一是高温诱导或增加了某些抗逆性酶的含量和活性,二是高温诱导了某些新蛋白的合成,例如有可能合成热激蛋白 (HSP)<sup>[13]</sup>。HSP 的合成途径以及在细胞中的选择定位,则对植物耐热性获得至关重要。但目前其相关机理还不明确,有待于进一步研究。

在高温处理下植物细胞内超氧自由基 (O<sub>2</sub><sup>-</sup>)、羟自由基 (°OH)、丙二醛 (MDA) 的产生与消除间平衡的打破,造成 O<sub>2</sub><sup>-</sup>、°OH 和 MDA 的积累,引起膜蛋白与膜内脂的变化,从而改变了膜的透性,对植物造成高温伤害。试验中高温处理前后的丙二醛含量的升高程度符合耐热性的特征,证明此理论的科学性,也说明丙二醛含量作为耐热性的筛选指标既有理论依据也有试验依据。刘维信等<sup>[14]</sup>在不结球大白菜上都得到耐热品种能保持较高过氧化物酶活性的结果;司家钢等<sup>[4]</sup>在大白

菜上的研究结果表明,受高温处理后,不论耐热品种还是不耐热品种的过氧化物酶活性均下降。本试验的 SOD 结果和前人在白菜中的结果都有一定的差异,但是其内在机理还有待于进一步的研究。

目前尽管本试验已获得对大白菜自交系的耐热性筛选方法,但是耐热性机理尚不清楚。因此亟需深入研究高温逆境胁迫下植物生理生化代谢变化,探索其内在机理,确立准确、有效的鉴定方法和技术,并在实践中广泛应用,以此推动抗热育种及配套技术的迅速发展。为了完成以上目标,笔者认为主要有以下几个问题亟待解决:① 缺少对多种抗逆性酶统一性的研究;② 自交系与其杂交后代在耐热性规律上的差别以及遗传规律;③ 自交系的耐热性与品质之间的关系;④ 完成抗热基因的定位,明确抗耐热基因的序列,以便得到分子方面的鉴定方法。

参考文献:

- [1] 周群初,马艳青.蔬菜耐热性研究现状及展望[J].长江蔬菜,2000,(3): 1~ 4.
- [2] 尚庆茂,王光耀.蔬菜抗热性的鉴定方法[J].中国蔬菜,1996,(5): 49~ 51.
- [3] 罗少波,周微波,罗建宁,等.黄瓜品种耐热强度鉴定方法比较[J].广东农业科学,1997,(6): 23~ 24.
- [4] 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~ 6,159.
- [5] 刘祖琪.植物抗性生理学[M].北京:中国农业出版社,1994.
- [6] Stewart R R S, Bewley J D. Lipid Peroxidation Associated with Accelerated Aging of Soybean Axes[J]. Plant Physiology, 1980, 65: 245~ 248.
- [7] 叶陈达,柯玉琴.大白菜耐热性的生理研究-叶片水分和蛋白质代谢与耐热性[J].福建农业大学学报,1996,25(4): 490~ 493.
- [8] 西北农业大学植物生理生化教研组编.植物生理学实验指导[M].西安:陕西科技出版社,1987. 148~ 149.
- [9] 张宪政.植物生理学实验技术[M].沈阳:辽宁科技出版社,1989.
- [10] 孟焕文,张彦峰,程智慧,等.黄瓜幼苗对热胁迫的生理反应及耐热鉴定指标筛选[J].2000,9(1): 96~ 99.
- [11] 李成琼,宋洪元,雷建军,等.甘蓝耐热性鉴定研究[J].西南农业大学学报,1998,20(4): 298~ 301.
- [12] 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~ 184.
- [13] 周人纲.植物热激蛋白[A].植物抗性生理研究[M].济南:山东科学技术出版社,1992. 242~ 247.
- [14] 刘维信,曹寿椿.高温对不结球白菜细胞膜透性过氧化物酶活性等的影响[J].南京农业大学学报,1992,(3): 115~ 117.