

高温胁迫下番茄体内 ABA 水平的变化及其对花粉萌发的影响

毛胜利 杜永臣* 王孝宣 朱德蔚 高建昌 戴善书

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘要: 研究了番茄耐热品种和不耐热品种在高温条件下内源 ABA 水平的差异, 探讨了外源 ABA 处理对高温下花粉萌发的影响。结果表明, 在常温下, 耐热与不耐热品种叶片中 ABA 差异不明显, 但在高温下, 耐热品种叶片 ABA 含量提高的幅度明显大于不耐热品种; 耐热品种花器官中 ABA 含量无论在常温还是在高温下, 都高于不耐热品种; 外源 ABA 处理可以显著减轻高温对花粉萌发的抑制作用。

关键词: 番茄; 耐热性; ABA; 花粉

中图分类号: S 641.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2005) 02-0234-05

Changes of Endogenous Abscissic Acid and the Effect of Exogenous ABA on Pollen Germination under Heat Stress Tomato

Mao Shengli, Du Yongchen*, Wang Xiaoxuan, Zhu Dewei, Gao Jianchang, and Dai Shanshu

(Institute of Vegetable and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: The investigation was done on the comparison with endogenous abscissic acid levels, and the effect of exogenous abscissic acid on the pollen germination under high temperature among different heat-tolerant tomato varieties. It showed that the leaf ABA levels had no obvious difference between heat-tolerant and heat-sensitive varieties at optimal growing temperature (25 °C), but increased greatly in heat-tolerant varieties after treatment with superoptimal temperatures. Heat-tolerant varieties exhibited a higher ABA level in flowers both at optimal and superoptimal temperatures compared with heat-sensitive varieties. Application of exogenous ABA could partly alleviate inhibition of heat stress on pollen germination.

Key words: Tomato; Heat-tolerance; ABA; Pollen

高温逆境是影响番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 产量和品质的主要因素之一。夏季露地以及春夏之交的日光温室和塑料大棚的气温经常超过 35 °C, 持续高温环境往往导致番茄生育异常, 因此, 提高番茄的耐热能力是目前番茄育种研究的重要内容之一。探讨番茄的耐热性形成的生理、生化基础对于提高番茄耐热育种的效率具有重要的意义。国内外对番茄耐热性的遗传机制、生理生化特性的研究发现, 花粉中脯氨酸水平高低与花粉的受精、授粉能力相关^[1,2], 精胺、亚精胺、生长素和赤霉素等^[3-6]也与番茄的耐热性有关。另外, ABA 与植物对逆境的应答反应有密切的关系^[7-11]。如在干旱和高温胁迫下耐热高粱品种比热敏感品种含有更高水平的 ABA^[12], 在高温下具有高水平 ABA 的玉米品种具有更强的耐热能力^[13,14]。Davies 等认为 ABA 在调节植物对水分胁迫的适应性中起重要作用^[15,16]。Lacho 等研究发现盐处理能显著增加玉米根中内源 ABA 含量^[17], 外源 ABA 处理能提高烟草组培细胞对盐胁迫的适应性^[18]。Bonham-Smith 等研究结果表明外源 ABA 能减轻高温对高粱的伤害^[19], 高温下内源 ABA 水平高的玉米品种叶绿体结构受到的伤害较轻^[20]。高温下坐果率的高低是评价番茄耐热性强弱的重要指标, 耐热品种在高温胁迫下具有较强的坐果能力, 是因为在高温下能保持较高的花粉活力。本试验以耐热和不耐热番茄品种为试材, 分析苗期、开花期叶片和花器官 ABA

收稿日期: 2004 - 08 - 23; 修回日期: 2004 - 12 - 08

基金项目: 农业部蔬菜遗传与生理重点开放实验室资助项目

* 通讯作者 Author for correspondence

水平在高温胁迫下的变化, 研究外源 ABA 处理对番茄花粉活力的影响, 为进一步了解番茄耐热的生理机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料及处理

供试材料为耐热品种 258、259、260 (台湾亚洲蔬菜研究发展中心提供) 和 Saladelette (美国加州大学 Davis 分校提供, 文中简称为 'Sa'), 不耐热品种中蔬 5 号和中蔬 6 号 (中国农科院蔬菜花卉所提供, 文中分别简称为 'Zh5' 和 'Zh6')^[3]。

在温室中播种, 采用营养钵育苗。分别于幼苗长至 4 片真叶和第 1 穗花刚显蕾时移至 HPG-280B 型光照培养箱中培养。设定昼/夜温度 25/20 (对照)、33/25、38/28 3 个处理, 每个处理设 3 次重复。其间每天光照培养 12 h, 暗培养 12 h, 光照强度为 $350 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。分别在培养 2 d 和 4 d 后采摘叶片及花朵提取 ABA。

1.2 ABA 测定方法

ABA 的提取参考吴秀英的方法^[21]略有改动。分别称 1 g 新鲜番茄叶片和花朵, 加入液氮研磨; 再加入 6 mL 预冷的 80% 甲醇, 转移至平底烧瓶; 将平底烧瓶放置 4 冰箱中过夜; 过滤提取液并用预冷的 80% 甲醇洗干净, 旋转蒸干甲醇; 用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 调至 pH 3; 用乙醚萃取 3 次, 保留乙醚相; 在 45 水浴锅中旋转蒸干乙醚; 用色谱纯甲醇定容至 500 μL ; 保存在 -20 冰箱中待测。

HPLC 流动相的制备: 磷酸缓冲液 甲醇 (色谱纯) = 3 : 1, 磷酸缓冲液中 $0.025 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KH_2PO_4 、 $0.025 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ K_2HPO_4 为 3 : 7。称 0.0025 g ABA 溶于 2.5 mL 甲醇, ABA 标样购自美国 Sigma 公司。

HPLC 检测条件: ODS - 反相 C18 柱 (150 mm \times 6 mm), SPD-6AV 紫外检测, 波长 254 nm, 柱温 25, 流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 标样进样量 1 μL , 样品进样量 15 μL 。

1.3 花粉萌发率的测定

培养基组成: 10% 蔗糖 $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, H_3BO_3 $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ $1.27 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, KNO_3 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, ABA $38 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。将各品种花粉置于培养基上, 分别在 25、33 和 38 下培养 1 h 和 2 h, 在显微镜下观察并计算萌发率。

2 结果与分析

2.1 高温对不同耐热性番茄内源 ABA 含量的影响

苗期叶片 ABA 水平分析的结果表明 (图 1), 所有供试材料的 ABA 含量都是随温度的升高而增加, 耐热和不耐热品种都是在 38/28 (昼/夜) 时最高。培养 2 d 的结果显示: 在 25/20 下各品种 ABA 含量由高到低依次是 260、Zh5、258、Sa、259、Zh6; 在 33/25、38/28 下耐热品种明显高于不耐热品种。培养 4 d 和培养 2 d 的变化趋势相似, 38/28 处理中耐热品种都高于不耐热品种。

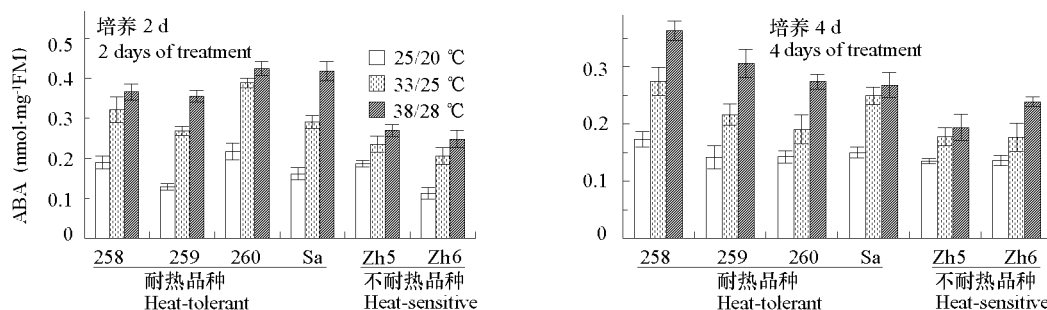


图 1 高温对耐热性不同番茄苗期叶片 ABA 含量的影响

Fig 1 The effect of high temperatures on leaf ABA contents of seedling leaves in tomatoes with different heat-tolerance

无论是耐热品种还是不耐热品种，叶片和花器官中的 ABA 含量随温度变化的趋势与苗期基本一致（图 2，图 3）。但在正常温度和高温下耐热品种花器官的 ABA 含量都高于不耐热品种。

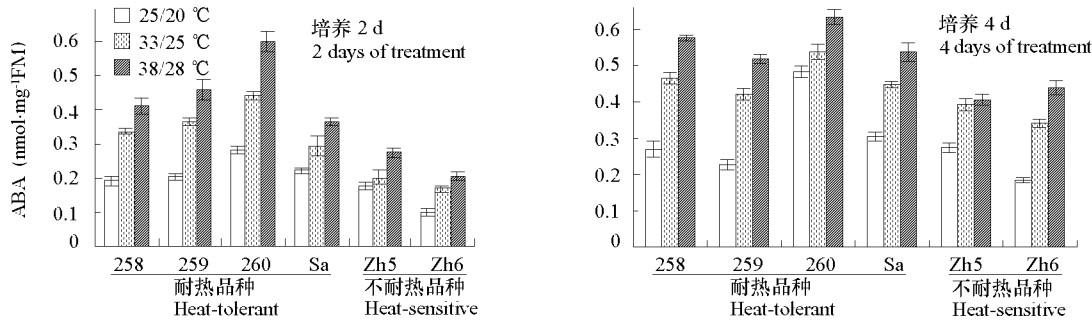


图 2 高温对耐热性不同番茄开花期叶片 ABA 含量的影响

Fig 2 The effect of high temperatures on leaf ABA contents of blooming leaves in tomatoes with different heat-tolerance

2.2 高温对不同耐热性番茄花粉萌发的影响

表 1 结果显示，所有参试品种都随温度的升高而花粉萌发率递减，培养 1 h 与 2 h 具有同样的趋势，但各品种随温度升高而减低的幅度不同。在 25 下，耐热和不耐热品种的萌发率差异不明显；在 33 下，耐热品种萌发率高于不耐热品种；在 38 下，耐热品种的萌发率高于不耐热品种，降低幅度远低于不耐热品种，并且随着花粉培养时间的延长，这种现象表现得更加明显。

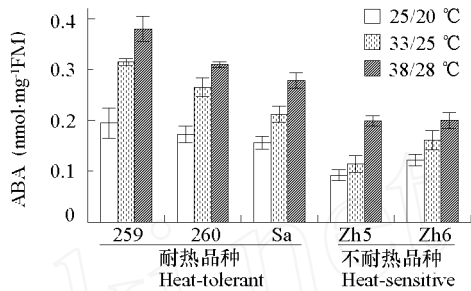


图 3 高温对耐热性不同番茄花器官 ABA 含量的影响（处理 4 d）

Fig 3 The effect of high temperatures on flower ABA contents in tomatoes with different heat-tolerance

表 1 高温对不同耐热性番茄花粉萌发率的影响

Table 1 Effect of high temperatures on pollen germination rate of tomatoes with different heat-tolerance (%)						
耐热性 Heat-sensitivity	品种 Variety	培养时间 Culture time (h)	25	33	38	
耐热 Tolerant	258	1	66 ±0.8	58.7 ±3.3 (11.06)	53.3 ±2.4 (19.24)	
耐热 Tolerant	Sa		73 ±2.9	69.6 ±1.8 (4.66)	61.3 ±2.3 (16.03)	
不耐热 Sensitive	Zh 5		79.6 ±2.1	54.1 ±3.1 (32.04)	46.9 ±3.1 (41.08)	
不耐热 Sensitive	Zh 6		67.9 ±2.4	57.8 ±1.6 (14.87)	52.6 ±1.6 (22.53)	
耐热 Tolerant	258	2	81.5 ±1.8	73.7 ±5.8 (9.57)	61.2 ±3.4 (24.91)	
耐热 Tolerant	Sa		87 ±3.5	75.8 ±2.5 (12.87)	67.8 ±2.4 (22.07)	
不耐热 Sensitive	Zh 5		85.5 ±2.7	62.5 ±4.9 (26.9)	54.6 ±0.8 (36.14)	
不耐热 Sensitive	Zh 6		86.2 ±2.1	65.3 ±1.8 (24.25)	56.1 ±1.5 (34.92)	

注：括号内数据为不同高温下花粉萌发比 25 处理后下降百分率。
Note: Data in brackets mean percentage decrease to the germination at 25 .

表 2 高温条件下外源 ABA 对不同耐热性番茄花粉萌发率的影响

Table 2 Effect of exogenous ABA on the pollen germination rate of tomato under different temperatures (%)									
耐热性 Heat-sensitivity	品种 Variety	培养时间 Culture time (h)	25	25 +ABA	33	33 +ABA	38	38 +ABA	
耐热 Tolerant	258	1	66	81.3 (23.18)	58.7	76.9 (31.01)	53.3	59.2 (11.07)	
耐热 Tolerant	Sa		73	84.1 (15.21)	69.6	83.2 (19.54)	61.3	65.5 (6.85)	
不耐热 Sensitive	Zh 5		79.6	85.8 (7.79)	54.1	73.1 (35.12)	46.9	58.6 (24.95)	
不耐热 Sensitive	Zh 6		67.9	80.4 (18.41)	57.8	76.8 (32.87)	52.6	52.8 (0.38)	
耐热 Tolerant	258	2	81.5	86.5 (6.13)	73.7	83.9 (13.84)	61.2	70.9 (15.85)	
耐热 Tolerant	Sa		87	86.9 (- 0.11)	75.8	86.1 (13.59)	67.8	70 (3.24)	
不耐热 Sensitive	Zh 5		85.5	87.6 (2.45)	62.5	79.4 (27.04)	54.6	63.3 (15.93)	
不耐热 Sensitive	Zh 6		86.2	87.4 (1.39)	65.3	78.3 (19.91)	56.1	57.9 (3.21)	

注：括号内数据为加 ABA 处理比相同温度下不加 ABA 处理花粉萌发增加百分率。
Note: Data in brackets mean percentage increase of ABA treatment compared to no ABA treatment

2.3 高温条件下外源 ABA 对不同耐热性番茄花粉萌发的影响

表 2 结果显示, 在培养基中加 ABA 后, 所有品种的花粉萌发率在不同温度条件下都有所提高, 但在不同温度下提高的幅度不一样。33℃ 下所有品种增加的幅度大于 25℃ 和 38℃ 下增加的幅度。随着培养时间的延长, 参试品种的花粉萌发率仍持续增加, 但各品种增加的幅度有所缓和, 且仍然是 33℃ 下增加的幅度大。

3 讨论

3.1 高温下花粉萌发能力与番茄耐热性的关系

Adul-Baki 等研究发现, 高温下花粉萌发率高的品种在高温下坐果率也高, 故建议用高温下花粉的萌发能力做为番茄耐热性筛选指标^[22, 23]。常温下耐热品种与不耐热品种的花粉萌发率没差别, 但在高温下耐热品种的花粉萌发率均高于不耐热品种。在此试验中虽然观察到高温下耐热品种花粉活力高于不耐热品种, 但二者之间相差幅度并不是很大, 这也说明决定高温胁迫下番茄坐果能力的因素是多方面的, 花粉活力只是其中的因素之一。但由于高温下花粉耐热性的萌发率鉴定非常方便、简单、重复性高, 故可考虑做为番茄耐热性筛选的一个参考指标。

3.2 ABA 与番茄耐热性的关系

越来越多的研究证明, ABA 参与植物对多种逆境条件的应答反应, 并在植物体内逆境信号的转导以及生理、生化保护性反应过程中起着重要的作用。本研究中发现, 耐热品种与不耐热品种无论在苗期还是开花期遭遇高温后, 叶片中 ABA 浓度都增加, 但耐热品种增加的幅度明显大于不耐热品种 (图 1、图 2)。高水平的 ABA 不仅能够调控植物体内一系列相关的生理生化反应, 增加耐热性, 而且 ABA 本身通过信号转导与生物膜上受体结合, 增加膜系统的热稳定性, 减少膜的高温伤害。耐热品种在高温条件下具有较高水平的 ABA 有利于叶片细胞和组织在高温逆境条件下维持正常的功能。光合作用是叶片最重要的生理功能, 同时也是对高温胁迫最敏感的。有研究表明存在于类囊体膜上的光系统 II 是叶绿体中对高温最敏感的部位^[24]。番茄叶片在 38℃ 时光系统 II 的光化学反应就会受到抑制, 42℃ 时这种抑制就会不可逆转^[6]。光系统 II 的这种高温伤害是因为高温破坏了类囊体的正常结构, 使氢离子的透过性增加, 从而丧失了膜内外正常的氢离子浓度梯度^[25]。作者在另外的研究中发现耐热品种 259 和 Sa 在 38℃ 处理 4 h 后叶片的光合强度下降了 26.4% 和 24.1%, 而不耐热的品种 Zh 5 和 Zh 6 分别下降了 65% 和 51%^[26]。高水平的 ABA 可能有助于减轻高温胁迫对光合系统的伤害。较高的光合作用强度有利于向花器官中供应充足的光合产物, 从而有利于保证正常的开花、坐果和果实膨大。

本研究中还发现, 经高温处理后, 耐热品种花器官中的 ABA 浓度也明显高于不耐热的品种, 外源 ABA 处理能有效地减轻高温对花粉萌发的抑制作用。由这些结果可以推测, 高温条件下花器官中能形成高水平的 ABA 是决定耐热番茄品种在高温胁迫下具有较高的花粉活力的内在因素之一。目前正在对耐热品种在高温下能形成高水平 ABA 的生理反应机制以及相关基因做进一步的研究。

参考文献:

- 1 Kuo C G, Chen H M, Ma L H. Effect of high temperature on proline content in tomato floral buds and leaves. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 1986, 111 (5): 746~750
- 2 Zhang H Q, Cros A F. Protection of pollen germination from adverse temperature: a possible role for proline. *Plant Cell and Environment*, 1983, 6: 471~476
- 3 杜永臣, 毛胜利, 王孝宣, 朱德蔚, 李树德, 戴善书, 高振华. 高温胁迫下耐热性不同番茄多胺水平变化的差异. *园艺学报*, 2003, 30 (3): 281~286
- 4 Du Y C, Mao S L, Wang X X, Zhu D W, Li S D, Dai S S, Gao Z H. The different changes of endogenous polyamines in tomato plants with different heat tolerance under high temperatures. *Acta Horticulturae Sinica*, 2003, 30 (3): 281~286 (in Chinese)
- 4 Shama N K, Bhutani R D, Singh A. Breeding tomato for heat tolerance - a review. *Crop Research*, 1993, 6 (1): 51~58

- 5 Iwahori S. High temperature injuries in tomato. M. Development of normal flower buds and morphological abnormalities of flower buds treated with high temperature. J. Japan Soc Hort Sci, 1965, 34: 33~41
- 6 Dinar M, Rudich J. Effect of heat stress on assimilate metabolism in tomato flower buds. Annals of Botany, 1985, 56: 249~257
- 7 Chen H H, Li P H, Brenner M L. Involvement of abscisic acid in potato cold acclimation. Plant Physiology, 1983, 71: 362~365
- 8 Chen T H, Gusta L V. Abscisic acid-induced freezing resistance in cultured plant cells. Plant Physiology, 1983, 73: 71~75
- 9 Cho S C. Effect of cytokinins and several inorganic cations on the polyamine content of lettuce cotyledons. Plant Cell Physiology, 1983, 24: 27~32
- 10 Dinar M, Rudich J. Effect of heat stress on assimilate partitioning in tomato. Annals of Botany, 1985, 56: 239~248
- 11 Orr W, Keller W A, Singh J. Induction of freezing tolerance in an embryogenic cell suspension culture of *Brassica napus* by abscisic acid at room temperature. J. Plant Physiol, 1986, 126: 23~32
- 12 Larque S A, Wain R L. Studies on plant growth-regulating substance. XLII Abscisic acid as a genetic character related to drought tolerance. Annu Appl Biol, 1976, 83: 291~297
- 13 Ristic Z D, Gifford J, Cass D D. Dehydration, damage to the plasma membrane and thylakoids and heat-shock proteins in lines of maize differing in endogenous levels of abscisic acid and drought resistance. J. Plant Physiol, 1991a, 139: 467~473
- 14 Ristic Z D, Gifford J, Cass D D. Heat-shock proteins in two lines of *Zea mays* L. that differ in drought and heat resistance. Plant Physiol, 1991b, 97: 1430~1434
- 15 Davies W J, Mansfield T A, Hetherington A M. Sensing of soil water status and the regulation of plant growth and development. Plant Cell Environ, 1990, 13: 709~719
- 16 Davies W J, Zhang J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1991, 42: 55~76
- 17 Lachno D R, Baker D A. Stress induction of abscisic acid in maize roots. Plant Physiol, 1986, 68: 215~221
- 18 Singh N K, Larose P C, Handa A K. Hormonal regulation of protein synthesis associated with salt tolerance in plant cells. Proc Natl Acad Sci USA, 1987, 84: 739~743
- 19 Bonham-Smith P C, Kapoor M, Bewley J D. Exogenous application of abscisic or triadimefon affects the recovery of *Zea mays* seedlings from heat shock. Physiologia Plantarum, 1988, 73: 27~30
- 20 Zoran R, David D C. Chloroplast structure after water and high-temperature stress in two lines of maize that differ in endogenous levels of abscisic acid. Int J Plant Sci, 1992, 153 (2): 186~196
- 21 吴秀英, 王瑞萍. 用高压液相色谱及气相色谱法测定几种植物的内源激素. 植物学通报, 1985, 3 (2): 45~52
Wu X Y, Wang R P. Analysis of endogenous hormones in plant with HPLC and GC. Acta Planta Sinica, 1985, 3 (2): 45~52 (in Chinese)
- 22 AbdulBaki A A. Determination of pollen viability in tomatoes. J. Amer Soc Hort Sci, 1992, 117 (3): 473~476
- 23 AbdulBaki A A. Tolerance of tomato cultivars and selected germplasm to heat stress. J. Amer Soc Hort Sci, 1991, 116 (6): 1113~1116
- 24 Havaux M, Grepin M, Strasser R J. Functioning of photosystems I and II in pea leaves to heat stress in the presence and absence of light. Planta, 1991, 186: 88~98
- 25 Stidham M A, Uribe E G, Williams G T. Temperature dependence of photosynthesis in *Agropyron Smithii* Rydb. Plant Physiol, 1982, 69: 929~934
- 26 毛胜利. 多胺和 ABA 与番茄耐热性关系的研究: 硕士论文. 北京: 中国农业科学院, 2002. 67 页
Mao S L. Studies on the relationship between polyamines and abscisic acid and heat tolerance in tomato. [The Master thesis] Beijing: Chinese Academy of Agricultural Science, 2002. 67p (in Chinese)