

高温胁迫对草地早熟禾渗透势、膜脂肪酸成分及膜脂过氧化产物的影响

彭燕^{1,*}, 黄炳茹², 许立新³, 李州¹

(¹四川农业大学动物科技学院, 四川雅安 625014; ²罗格斯大学植物生理与病理实验室, 美国新布朗斯维克 08901;
³北京林业大学林学系草坪研究所, 北京 100083)

摘要: 以‘Midnight’和‘Brilliant’两个草地早熟禾(*Poa pratensis*)品种为试材, 研究叶片渗透势、膜脂肪酸成分变化以及抗氧化酶对高温胁迫(35/30 °C, 昼/夜)的响应。高温胁迫下, ‘Midnight’草地早熟禾草坪外观质量显著高于‘Brilliant’; 随胁迫时间延长, ‘Midnight’叶片的渗透势不断下降, 而‘Brilliant’除在前5 d有一定程度下降外, 而后基本处于不变, ‘Midnight’保持更高的相对含水量; 两品种亚麻酸(18:3)含量不断下降, 亚油酸(18:2)和棕榈酸(16:0)不断增加, 即脂肪酸饱和水平增加, ‘Midnight’比‘Brilliant’含有更高的亚麻酸和棕榈油酸(16:1), 更低的棕榈酸和硬脂酸(18:0), 因而伴随着更高的双键指数(DBI); ‘Brilliant’的MDA含量在胁迫10 d后上升加快, 胁迫25 d结束时其含量为‘Midnight’的1.6倍, 与之相对应的则是‘Midnight’的SOD酶活性显著高于‘Brilliant’, 电解质渗透率显著低于‘Brilliant’。以上结果表明, ‘Midnight’较强的渗透调节能力, 较高的SOD酶活性, 减轻了膜脂过氧化程度, 有效保护了细胞膜稳定性, 因而缓解了高温胁迫下的水分和氧化压力, 表现出较强的耐热性。同时, ‘Midnight’具有避免膜脂饱和程度剧烈变化的能力, 也可能与耐热性较强有关。

关键词: 草地早熟禾; 高温; 渗透势; 膜脂肪酸; 抗氧化酶

中图分类号: S 688.4

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X(2013)05-0971-10

Heat Stress Effects on Osmotic Potential, Membrane Fatty Acid Composition and Lipid Peroxidation Content of Two Kentucky Bluegrass Cultivars Differing in Drought Tolerance

PENG Yan^{1,*}, HUANG Bing-ru², XU Li-xin³, and LI Zhou¹

(¹College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625104, China; ²Department of Plant Biology and Pathology, Rutgers University, New Brunswick, NJ 08901, USA; ³Turfgrass Institute, Department of Forestry, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: The objective of this study was to examine osmotic potential, membrane fatty acid changes and antioxidant enzyme protection in two Kentucky bluegrass (*Poa pratensis*) cultivars (heat-tolerant ‘Midnight’ and heat-sensitive ‘Brilliant’) in response to heat stress (35/30 °C, day/night). The results showed that under heat stress, ‘Midnight’ demonstrated significantly higher turf apparent quality than

收稿日期: 2012-12-24; 修回日期: 2013-03-21

基金项目: 四川省国际合作项目(2011HH0019)

* E-mail: pengyanlee@163.com

‘Brilliant’。With the extension of heat stress, osmotic potential in ‘Midnight’ constantly decreased and remained unchanged in ‘Brilliant’ except for an initial drop. At the same time, ‘Midnight’ maintained a higher relative water content than ‘Brilliant’. Linolenic acid (18:3) content of the two cultivars gradually decreased and linoleic acid (18:2) and palmitic acid (16:0) gradually increased, accordingly, there was an increase in levels of saturated fatty acid. However, the higher 18:3 and palmitoleic acid (16:1) contents, correspondingly, the lower 16:0 and stearic acid (18:0) contents in ‘Midnight’ were observed as compared to ‘Brilliant’, therefore, ‘Midnight’ had a higher double bond index (DBI) than ‘Brilliant’. MDA content of ‘Brilliant’ increased quickly after 10 d of heat stress and was 1.6 times higher than that of ‘Midnight’ at the end of heat stress. Furthermore, SOD activity was significantly higher and electrolyte leakage was significantly lower in ‘Midnight’ than in ‘Brilliant’. These results suggested that a better osmotic adjustment, a higher SOD activity and a less MDA accumulation from membrane unsaturated fatty acid composition in ‘Midnight’ provided effective protection for membrane stability against heat stress. As a result, water deficit and oxidative stress was relieved. Meanwhile, ‘Midnight’ had an ability to avoiding a dramatic change of lipid saturation level. These mechanisms conferred ‘Midnight’ a better heat tolerance compared to ‘Brilliant’.

Key words: Kentucky bluegrass; high temperature; osmotic potential; membrane fatty acid; lipid peroxidation

草地早熟禾 (*Poa pratensis*) 是国内外应用最广泛的优良冷季型草坪草种之一。具有颜色深绿、质地柔软, 形成的草坪密度高, 耐修剪, 绿色期长等特点。但夏季高温严重影响冷季型草坪草正常生长和草坪质量, 表现为叶片衰老和细胞膜伤害。水分缺乏和氧化压力是其重要诱因。

高温胁迫时, 即使水分供给充足, 但由于蒸腾失水加剧, 水势降低, 植物也会出现生理缺水现象 (Morales et al., 2003)。渗透调节是植物适应逆境的重要机制之一。在干旱、盐渍、高温等条件下, 植物常在细胞内主动积累无机离子、可溶性糖、脯氨酸、甜菜碱、 γ -氨基丁酸等渗透调节物质, 以降低渗透势, 增强吸水能力, 维持细胞膨压, 从而提高对环境的适应性 (Hare et al., 1998)。如经热预处理的番茄比未处理的具有更好的渗透调节能力从而维持了叶片水势 (Morales et al., 2003); 高温条件下, 甘蔗叶片渗透势下降, 压力势上升, 与甜菜碱、游离脯氨酸和可溶性糖的积累密切相关 (Wahid & Close, 2007)。干旱预处理提高草地早熟禾耐热性与维持较高的水势和压力势有关 (Jiang & Huang, 2001)。然而, 有关草地早熟禾不同品种耐热性与渗透调节关系的研究报道较少。

植物在高温逆境胁迫中, 细胞内的活性氧自由基代谢平衡被破坏, 包括超氧阴离子、 H_2O_2 及 $\cdot OH$ 等在内的活性氧不断积累, 引发膜脂质过氧化反应, 导致细胞膜系统的破坏。但是植物体内也相应形成了清除活性氧的一系列抗氧化保护机制。其中, SOD 酶是抗氧化酶保护中的第一道防线, 将超氧阴离子转化为 H_2O_2 , H_2O_2 被 APX、CAT、POD 等酶分解为无害的水 (Leshem, 1981)。高温胁迫下, 耐热性强的匍匐翦股颖品种比敏感品种具有更高的 SOD、CAT 活性, 更低的 POD 活性, 更低的 MDA 含量 (Liu & Huang, 2000)。水杨酸 (SA) 提高草地早熟禾耐热性与增强 SOD 和 CAT 酶活性, 清除超氧阴离子和 H_2O_2 活性氧有关 (He et al., 2005)。

高温胁迫下, 无论是类囊体膜还是细胞膜, 其脂肪酸饱和水平呈增加趋势已被大量试验所证实 (Vigh et al., 1989, 1993; Horvath et al., 1998; Nishiyama et al., 1999)。然而, 膜脂肪酸成分变化与耐热性的关系一直存在两种观点。一种观点认为脂肪酸饱和水平提高有利于耐热性诱导。Grover 等 (2000) 报道, 不饱和脂肪酸水平下降的转基因烟草在高温条件下存活时间更长。耐热的小麦品种膜脂饱和水平显著高于敏感品种 (Yang et al., 1984)。Larkindale 和 Huang (2004) 的研究表明,

耐热的匍匐翦股颖品种比敏感品种含有更高比例的饱和脂肪酸。另一种观点则认为耐热性与膜脂肪酸饱和水平无关联。Gombos 等 (1994) 在绿藻上 (*Cyanobacterium synechocystis*) 的研究结果显示, 膜脂的不饱和程度有利于稳定光合作用而提高耐热性。菠菜耐热性与膜脂肪酸饱和水平无关 (Santarius & Miiller, 1979)。

研究表明, 草地早熟禾品种 ‘Midnight’ 比 ‘Brilliant’ 具有更强的耐热性和耐旱性 (Wang & Huang, 2004)。高温胁迫时, 与 ‘Brilliant’ 相比, 耐热性强的 ‘Midnight’ 和 ‘Eagleton’ 具有更高的蛋白质含量, 热激蛋白出现早, 蛋白质降解程度低 (He & Huang, 2007)。在干旱胁迫下, ‘Midnight’ 草地早熟禾维持更高的不饱和脂肪酸含量 (Xu et al., 2011)。本试验在以前研究的基础上, 继续以 ‘Midnight’ 和 ‘Brilliant’ 为对比试材, 研究草地早熟禾在高温胁迫下渗透势、膜脂肪酸成分及膜脂过氧化产物、抗氧化酶活性的变化, 为深入揭示草地早熟禾的耐热机理提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料 with 处理

试验于 2010 年 4 月至 10 月在美国罗格斯大学植物生理与病理实验室进行。供试的两个草地早熟禾品种材料取自罗格斯大学第 II 园艺农场试验区。用取草塞器取生长两年的草皮块种植于直径为 10 cm, 深度为 60 cm 的塑料筒中。筒中装满沙与肥沃土壤按 1:2 (体积比) 混和并经消毒的土壤。材料在玻璃温室 (昼/夜温度为 23 °C/16 °C) 中培育 30 d, 每周修剪 1 次, 每 2 d 浇 1 次透水, 每 3 d 施 1 次 1/2 霍格氏营养液。在高温胁迫前 2 周, 将材料移至昼/夜温度为 20 °C/15 °C, 相对湿度为 70%, 12 h 光照, 光照强度为 $600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ PAR 的生长室中进行 2 周适应性生长。然后, 每个品种分别选取培育好的 4 筒材料 (即 4 个重复) 置于同一生长箱中进行高温 (昼/夜, 35 °C/30 °C) 胁迫, 其余条件同前面的生长室。材料在生长箱中随机排列。胁迫期间每天浇 1 次透水, 并按顺序变换位置以保证生长条件的一致。在胁迫的 0、5、10、15、20 和 25 d 进行草坪质量和相关生理指标分析。

1.2 观测内容与方法

1.2.1 草坪质量

根据颜色、密度和均匀性, 采用 “9 分制” 方法对草叶外观进行评价, “9 分” 表示草叶具有健康的绿色、草层均匀、密度高; “0 分” 表示植株完全死亡色; “6 分” 代表草坪外观可以接受。

1.2.2 叶片渗透势和相对含水量

参照 Blum (1989) 的方法用 Vapor Pressure Osmometer 5520 渗透仪 (Wescor, Inc., Logan, UT) 测定溶液质量摩尔浓度 C ($\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$), 推算渗透势 (ψ_s , MPa) $= -C \times 2.58 \times 10^{-3}$ 。参照 Barrs 和 Weatherley (1962) 测定叶片组织相对含水量。

1.2.3 脂肪酸成分和饱和水平

根据 Browse 等 (1986) 描述的方法用 HP6890 气相色谱仪 (GC) 和 HP5973 质谱仪 (MS) 进行脂肪酸分离、鉴定和测定。不饱和脂肪酸的双键指数 (DBI) 根据公式: $\text{DBI} = 0 \times ([16:0] + [18:0]) + 1 \times ([16:1] + [18:1]) + 2 \times ([16:2] + [18:2]) + 3 \times [18:3]$ 计算 (Cyril et al., 2002)。方括号内表示每种脂肪酸占总脂肪酸的百分比。

1.2.4 抗氧化酶活性、丙二醛含量和电解质渗透率的测定

取 0.5 g 鲜样, 在液氮中迅速冷冻, 置于 -80 °C 备用。pH 7.8、浓度 $50 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、含 1% 的聚乙烯吡咯烷酮的 4 mL 磷酸缓冲液经冷却后用于粗酶提取。样品用液氮在冰浴中研磨, $12\,000 \times g$ (4 °C)

离心 30 min, 取上清液测定酶活性和丙二醛含量。SOD 酶活性根据 Giannopolities 和 Ries (1977) 的方法测定, POD 根据 Chance 和 Maehly (1955) 的方法, 丙二醛含量根据 Dhindsa 等 (1981) 的方法测定。取 0.1 ~ 0.2 g 样品置入装有 20 mL 去离子水的离心管中, 震荡摇匀 24 h, 用电导仪 (YSI Model 32, Yellow Springs, OH) 测定初始电导率 (C_{initial}), 然后在 140 °C 高压蒸汽炉内煮沸 30 min, 冷却摇匀后测定最大电导率 (C_{max}), 相对电解质渗透率 (EL, %) = $C_{\text{initial}}/C_{\text{max}} \times 100$ 。

1.3 统计分析

在 Excel 2003 中进行数据处理和绘图, 方差分析 (ANOVA) 和最小显著性检验 (LSD , $P = 0.05$) 用 SAS9.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC) 线性模型程序计算和统计。

2 结果与分析

2.1 高温胁迫对草坪质量的影响

在高温胁迫下, 两个草地早熟禾品种草坪质量随胁迫时间延长而不断下降 (图 1)。热敏感品种 ‘Brilliant’ 的草坪质量下降较快, 14 d 以后, 下降到 6.0 分以下, 并持续下降。而耐热品种 ‘Midnight’ 的草坪质量则下降缓慢, 14 d 以后, 草坪质量维持在 7.0 分以上, 胁迫 25 d 结束时, 仍保持 6.0 分以上, 在整个胁迫期间, ‘Midnight’ 的草坪质量显著高于 ‘Brilliant’ (图 1)。

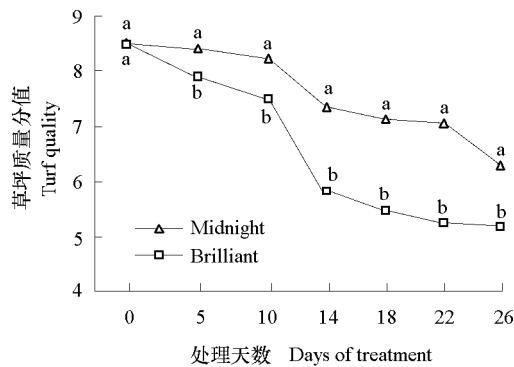


图 1 高温胁迫对草地早熟禾草坪质量的影响

不同字母表示两处理间差异显著 ($P \leq 0.05$)。

Fig. 1 Effects of heat stress on turf quality for two Kentucky bluegrass cultivars

Data marked with different letters at a given day of treatment indicate difference between the two cultivars ($P \leq 0.05$).

2.2 高温胁迫对渗透势及相对含水量变化的影响

2.2.1 渗透势变化

如图 2, A 所示, 高温胁迫下, 草地早熟禾两个品种渗透势变化呈现不同的趋势。在胁迫初期的前 5 d, 热敏感品种 ‘Brilliant’ 的渗透势呈下降趋势, 且显著低于耐热品种 ‘Midnight’, 此后渗透势无明显变化, 维持相对平稳。而 ‘Midnight’ 则正好相反, 在胁迫初期, 渗透势无明显变化, 5 d 以后渗透势持续下降, 到胁迫的 20 d 时, ‘Midnight’ 的渗透势显著低于 ‘Brilliant’, 25 d 时, 渗透势略有上升。

2.2.2 相对含水量变化

草地早熟禾相对含水量随高温胁迫时间延长而不断下降。胁迫期间, ‘Brilliant’ 的相对含水量

5 d 以后快速下降, 10~15 d 下降幅度最大; 而 ‘midnight’ 的相对含水量在胁迫早期无明显变化, 10 d 以后开始逐渐下降。在处理 5~20 d, ‘Midnight’ 的相对含水量显著高于 ‘Brilliant’ (图 2, B)。

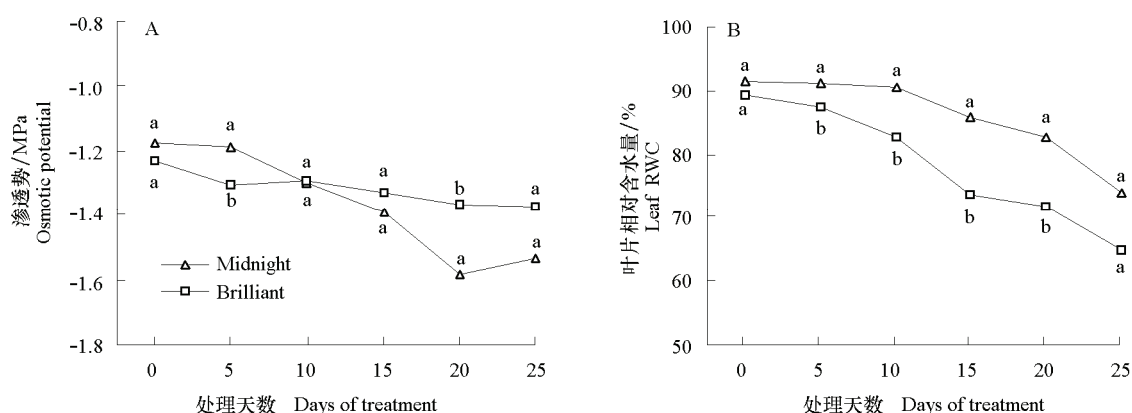


图 2 高温胁迫对草地早熟禾渗透势 (A) 和相对含水量 (B) 的影响

不同字母表示两处理间差异显著 ($P \leq 0.05$)。

Fig. 2 Effects of heat stress on osmotic potential (A) and RWC (B) for two Kentucky bluegrass cultivars

Data marked with different letters at a given day of treatment indicate difference between the two cultivars ($P \leq 0.05$).

2.3 高温胁迫对草地早熟禾两个品种膜脂肪酸成分及饱和水平的影响

如图 3 所示, 在草地早熟禾中检测到的 5 种主要脂肪酸中, 不饱和脂肪酸中的亚麻酸 (18:3) 含量最多, 占总含量的 60% 以上, 其次是不饱和脂肪酸亚油酸 (18:2) 和饱和脂肪酸棕榈酸 (16:0), 分别占总量的 20% 和 15% 以上, 而不饱和脂肪酸棕榈油酸 (16:1) 和饱和脂肪酸硬脂酸 (18:0) 的含量较少, 分别为 1% 左右。高温胁迫下, 两个品种脂肪酸成分变化如下:

胁迫前, ‘Brilliant’ 比 ‘Midnight’ 有更高的饱和脂肪酸棕榈酸 (16:0) 含量。高温胁迫期间, 草地早熟禾棕榈酸 (16:0) 含量持续增长。在前期, 两品种间的增长速度相似, 10 d 以后 ‘Brilliant’ 的增长速度明显加快; 而 ‘Midnight’ 在整个处理期间呈较平稳而缓慢的增长。20 d 时, ‘Brilliant’ 和 ‘Midnight’ 棕榈酸 (16:0) 增长量分别为 67% 和 40% (图 3, A)。

胁迫前, ‘Brilliant’ 和 ‘Midnight’ 叶片中棕榈油酸 (16:1) 含量分别为 1.11% 和 1.26%, 差异不显著。在处理期间的前 15 d, ‘Brilliant’ 棕榈油酸 (16:1) 含量变化较小, 然后开始上升, 而 ‘Midnight’ 则是在胁迫 10 d 后开始明显上升, 在 15 d 和 20 d 时, ‘Midnight’ 的棕榈油酸 (16:1) 含量显著高于 ‘Brilliant’ (图 3, B)。

高温胁迫时, 两品种硬脂酸 (18:0) 含量变化趋势不同。前 15 d, ‘Brilliant’ 的硬脂酸 (18:0) 含量不断增长, 增长量达 89%, 然后维持在一个相对平稳的水平。而 ‘Midnight’ 的硬脂酸 (18:0) 含量在胁迫的前 20 d 都维持在 1% 左右的水平, 到第 25 d 时才有较明显的上升, 较胁迫前上升了 37%。处理 10 d 和 20 d 时, ‘Brilliant’ 硬脂酸 (18:0) 的含量显著高于 ‘Midnight’ (图 3, C)。

高温胁迫下, 两品种的亚油酸 (18:2) 含量不断上升。胁迫结束时, ‘Brilliant’ 和 ‘Midnight’ 的亚油酸含量分别增长了 67.60% 和 68.12%。胁迫前后两品种亚油酸含量差异皆不显著 (图 3, D)。

受到高温胁迫时, 两品种的亚麻酸 (18:3) 含量不断下降。5 d 以后 ‘Brilliant’ 的下降速度明显高于 ‘Midnight’, 20 d 时 ‘Brilliant’ 和 ‘Midnight’ 的亚麻酸含量分别下降了 72% 和 37%。而从 5 d 后 ‘Midnight’ 的亚麻酸含量显著高于 ‘Brilliant’ (图 3, E)。

脂肪酸饱和水平变化如图 3, F 所示, 在胁迫前, ‘Midnight’ 的双键系数显著高于 ‘Brilliant’,

胁迫期间,两品种叶片脂肪酸双键系数不断下降,表明脂肪酸饱和程度呈增加趋势。前 10 d ‘Brilliant’ 和 ‘Midnight’ 的双键系数下降幅度相近,在 9%~10%之间。15 d 时 ‘Brilliant’ 和 ‘Midnight’ 则分别下降了 20%和 12%。胁迫结束时,‘Midnight’ 的双键系数比 ‘Brilliant’ 大约高 5%左右。胁迫 5 d 后 ‘Midnight’ 的双键系数显著高于 ‘Brilliant’。

由不同脂肪酸成分及双键系数变化趋势可以看出,高温胁迫时,与热敏感品种 ‘Brilliant’ 相比,耐热品种 ‘Midnight’ 的饱和脂肪酸棕榈酸、硬脂酸含量(图 3, A、C)增长速度较慢,不饱和脂肪酸棕榈油酸含量增长速度较快(图 3, B),且不饱和脂肪酸亚麻酸的下降速度较慢(图 3, E),双键系数(图 3, F)进一步证实,胁迫期间,‘Brilliant’ 的脂肪酸饱和程度迅速增加,而 ‘Midnight’ 脂肪酸饱和程度变化趋势较平缓。表明高温胁迫时,‘Midnight’ 比 ‘Brilliant’ 具有更强的避免脂肪酸成分剧烈变化的能力。

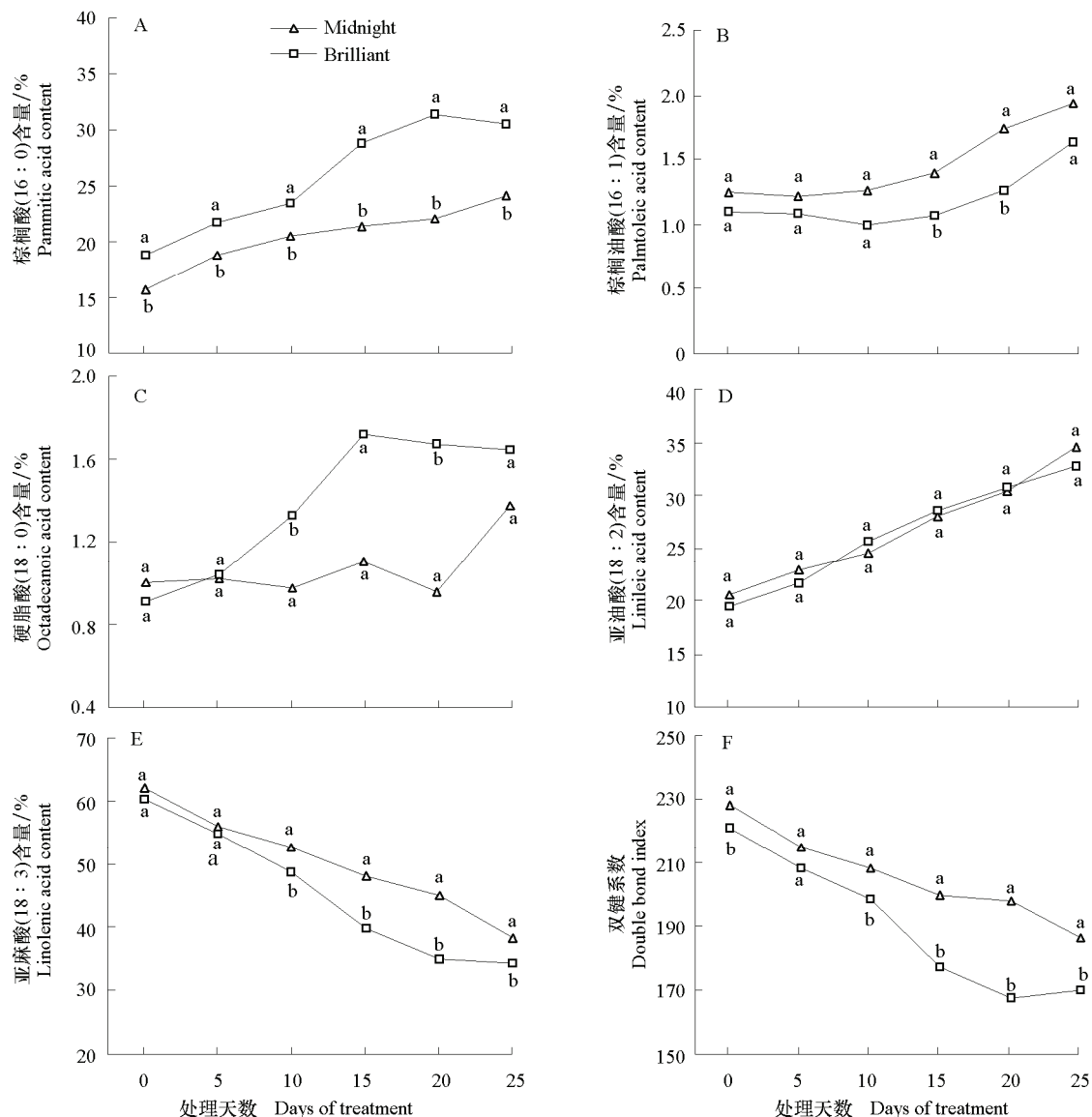


图 3 高温胁迫对草地早熟禾膜脂成分及饱和水平的影响

不同字母表示两处理间差异显著 ($P \leq 0.05$)。

Fig. 3 Effects of heat stress on lipid composition and saturation level for two Kentucky bluegrass cultivars

Data marked with different letters at a given day of treatment indicate difference between the two cultivars ($P \leq 0.05$).

2.4 高温胁迫对草地早熟禾两个品种膜脂过氧化及膜稳定性的影响

2.4.1 丙二醛 (MDA) 含量变化

MDA 含量是反映植物在逆境胁迫下细胞膜中不饱和脂肪酸因受到过量活性氧的影响而降解，最终导致细胞膜受到伤害的重要指标。高温胁迫下，两品种 MDA 含量不断增加。与 ‘Midnight’ 相比，‘Brilliant’ MDA 含量增加的速度更快，10 d 以后 ‘Brilliant’ 的 MDA 含量显著高于 ‘Midnight’，胁迫结束时，‘Brilliant’ 的 MDA 含量为 ‘Midnight’ 的 1.6 倍（图 4，A）。

2.4.2 抗氧化酶活性变化

在胁迫初期，‘Midnight’ 的超氧化物歧化酶 (SOD) 活性明显上升，然后维持在初始水平，直到 20 d 后开始下降。而 ‘Brilliant’ 则是从胁迫开始到中期一直下降，15 d 后，基本维持不变。5 ~ 15 d，‘Midnight’ 的 SOD 活性显著高于 ‘Brilliant’（图 4，B）。高温胁迫下，两个品种的过氧化物酶 (POD) 活性皆呈趋势相同的下降，初期和后期下降较快，中期下降较为缓慢，在整个处理期间，两品种的 POD 酶活性无明显差异（图 4，C）。

2.4.3 电解质渗透率 (EL) 变化

电解质渗透率反映了细胞膜的稳定性。高温胁迫下，两品种电解质渗透率随时间延长而不断上升。与 ‘Brilliant’ 相比，‘Midnight’ 的上升速度较慢，处理期间，‘Brilliant’ 的电解质渗透率显著高于 ‘Midnight’（图 4，D）。

以上结果表明，与热敏感品种 ‘Brilliant’ 相比，高温胁迫时，耐热品种 ‘Midnight’ 具有较高的 SOD 活性，较低的 MDA 含量和电解质渗透率，表明 ‘Midnight’ 抗氧化胁迫能力更强。

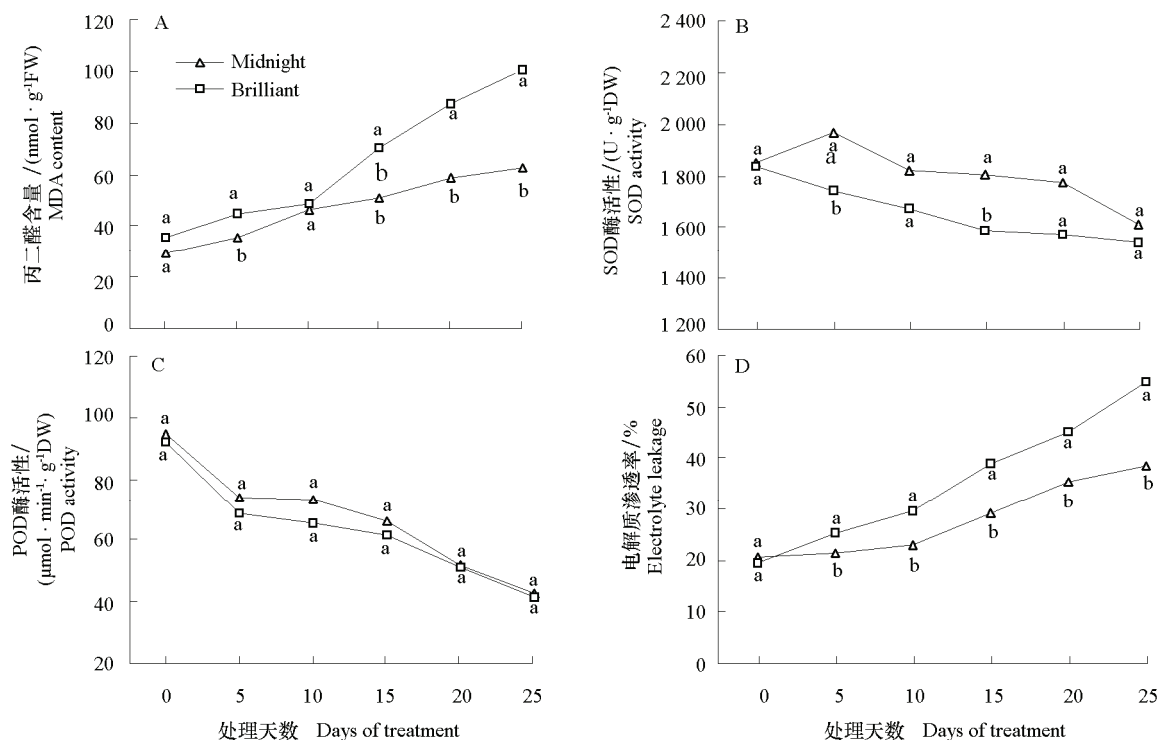


图 4 高温胁迫对草地早熟禾叶片丙二醛含量 (A)、SOD (B)、POD (C) 酶活性及电解质渗透率 (D) 的影响

不同字母表示两处理间差异显著 ($P \leq 0.05$)。

Fig. 4 Effects of heat stress on MDA content (A), SOD (B), POD (C) enzyme activities and EL (D) for two Kentucky bluegrass cultivars

Data marked with different letters at a given day of treatment indicate difference between the two cultivars ($P \leq 0.05$).

3 讨论

3.1 渗透调节与耐热性

植物在逆境条件下渗透势的降低值反映了其渗透调节能力的大小。在高温胁迫时,耐热性强的棉花品种比热敏感品种积累更多的可溶性糖、脯氨酸等渗透调节物质(Ashraf et al., 1994)。Jiang 和 Huang (2001) 研究表明,干旱预处理提高了草地早熟禾对高温胁迫的耐受性与其显著升高的渗透调节能力有关。本研究中,‘Midnight’草地早熟禾的渗透势随高温胁迫时间延长而不断下降,‘Brilliant’则是基本维持不变,到处理后期,‘Midnight’的渗透势比‘Brilliant’低 10%以上,随胁迫加剧,‘Midnight’叶片中的相对含水量显著高于‘Brilliant’(图 2, B)。表明在遭受高温胁迫时,‘Midnight’通过渗透调节增强吸水 and 保水的能力比‘Brilliant’强,从而减缓了高温伤害。这与在其它植物上的研究结果相类似(Seeman et al., 1986; Morales et al., 2003)。除了维持水分外,累积的有机渗透调节物质对活性氧的产生有抑制作用,对已生成的活性氧如·OH 能有效清除(Shen et al., 1997; Smirnoff & Cumbes, 1989)。就‘Midnight’草地早熟禾而言,在高温胁迫下,究竟是哪些渗透调节物质发挥主要作用还有待进一步深入研究。

3.2 膜脂肪酸成分变化及饱和水平与耐热性

本研究显示,在高温胁迫期间,草地早熟禾两品种膜脂肪酸成分变化趋势相同,含量最大的不饱和脂肪酸亚麻酸不断下降,而亚油酸和棕榈酸不断增加,即脂肪酸饱和水平呈增加趋势(图 3)。这与热胁迫在其它植物上引起的脂肪酸成分变化趋势一致(Vigh et al., 1989, 1993; Horvath et al., 1998; Nishiyama et al., 1999)。高温条件下,表现出较强耐热性的‘Midnight’草地早熟禾比‘Brilliant’具有更高的亚麻酸和棕榈油酸,更低的棕榈酸和硬脂酸,因而伴随着更高的 DBI。这与 Diepenbrock 等(1989)在马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)上的研究结果一致。Gombos 等(1994)在绿藻(*Cyanobacterium synechocystis*)上的研究结果也显示,不饱和膜脂在高温胁迫时发挥了稳定光合作用的功能。然而,本研究与 Kunst 等(1989)、Somerville 和 Browse(1991)及马海艳等(2003)的研究结果相反,他们认为,高温胁迫时,膜脂肪酸饱和程度提高有利于增强膜稳定性而提高植物耐热性。高温胁迫前,‘Midnight’棕榈酸的含量显著低于‘Brilliant’,在高温胁迫期间,‘Midnight’饱和脂肪酸棕榈酸和硬脂酸上升速度和饱和脂肪酸亚麻酸下降速度明显低于‘Brilliant’(图 3, A~E),这表明‘Midnight’在高温胁迫时避免了脂肪酸饱和程度的剧烈变化。在研究干旱胁迫时,Xu 等(2011)也报道,胁迫前,‘Midnight’棕榈酸的含量显著低于‘Brilliant’,干旱胁迫期间,‘Midnight’比‘Brilliant’维持更高的亚油酸和亚麻不饱和脂肪酸,由此可见,在高温和干旱胁迫下,‘Midnight’与‘Brilliant’的膜脂成分发生了相似的变化趋势,即保持较高水平的不饱和脂肪酸。膜脂肪酸饱和程度的增加会影响膜脂的流动性,导致膜的固化,从而影响其生理功能。因此,逆境胁迫时,‘Midnight’保持较高的不饱和脂肪酸水平,避免了膜脂成分的剧烈变化,一方面可能与其受到热伤害程度较小有关,另一方面,也可能是其适应逆境的一种保护性机制,相关特性还有待深入研究。

3.3 膜脂过氧化与耐热性

当植物受高温、干旱、寒冷等逆境胁迫时,体内会产生活性氧自由基,与细胞膜结构中的不饱和脂肪酸发生氧化反应,生成 MDA。其含量多少反映了膜脂过氧化程度(Scandalios, 1993; Smirnoff, 1993)。同时,MDA 能够反过来抑制抗氧化酶活性,从而加剧膜脂过氧化(陈少裕, 1991)。本研

究结果显示, 与 ‘Brilliant’ 相比, ‘Midnight’ 的 MDA 含量增加缓慢 (图 4, A), 结合 ‘Midnight’ 较低的电解质渗透率 (图 4, D) 以及更高的亚麻酸含量 (图 3, E), 表明高温胁迫下, ‘Midnight’ 受到的过氧化伤害程度小于 ‘Brilliant’。就 SOD 活性而言, 在高温胁迫的前 5 d 有一明显的上升, 然后维持初期水平, 一直到末期才开始下降, ‘Brilliant’ 的 SOD 活性则是在胁迫前 15 d 呈下降趋势, 而后趋于稳定。在处理的 5 d 和 15 d, ‘Midnight’ 的 SOD 活性显著高于 ‘Brilliant’ (图 4, B、C)。从总体上看, 高温胁迫下, 耐热性强的草地早熟禾品种 SOD 酶活性受到抑制的程度较轻, Jiang 和 Huang (2001) 在高羊茅和草地早熟禾上也有类似的研究结果。由此可见, 较低的膜脂过氧化产物的累积, 有效保护了 SOD 酶活性, 较高的 SOD 酶活性能又有助于清除活性氧自由基, 减轻膜脂过氧化伤害。

综上所述, 在高温胁迫期间, ‘Midnight’ 较强的渗透调节能力, 较高的 SOD 酶活性减轻了膜脂过氧化程度, 有效保护了细胞膜稳定性, 从而缓解了高温胁迫下的水分和氧化压力, 表现出较强的耐热性。同时, ‘Midnight’ 具有避免膜脂饱和程度剧烈变化的能力, 也可能与耐热性增强有关。

References

- Ashraf M, Saeed M M, Qureshi M J. 1994. Tolerance to high temperature in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) at initial growth stages. *Environmental and Experimental Botany*, 34 (3): 275 – 283.
- Barrs H D, Weatherley P E. 1962. A re-examination of the relative turgidity techniques for estimating water deficits in leaves. *Austrian Journal of Biological Sciences*, 15: 413 – 428.
- Blum A. 1989. Osmotic adjustment and growth of barley cultivars under drought stress. *Crop Science*, 29: 230 – 233.
- Browse J, McCourt P J, Somerville C R. 1986. Fatty acid composition of leaf lipids determined after combined digestion and fatty acid methyl ester formation from fresh tissue. *Analytical Biochemistry*, 152: 141 – 145.
- Chance B, Maehly A C. 1955. Assay of catalase and peroxidase. *Methods in Enzymology*, 2: 764 – 775.
- Chen Shao-yu. 1991. Injury of membrane lipid peroxidation to plant cell. *Plant Physiology Communications*, 27 (2): 84 – 90. (in Chinese)
- 陈少裕. 1991. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害. *植物生理学通讯*, 27 (2): 84 – 90.
- Cyril J, Powell G L, Duncan R R, Baird W V. 2002. Changes in membrane polar lipid fatty acids of seashore paspalum in response to low temperature exposure. *Crop Science*, 42: 2031 – 2037.
- Dhindsa R S, Dhindsa P P, Thorpe T A. 1981. Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32: 93 – 101.
- Diepenbrock W, Muller-Rehbehn A, Sattelmacher B. 1989. FA composition of root membrane lipids from 2 potatoes (*S. tuberosum* L.) genotypes differing in heat tolerance as affected by supraoptimal root-zone temperature. *Agrochimica*, 33: 478 – 486.
- Giannopolities C N, Ries S K. 1977. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59: 309 – 314.
- Grover A, Agarwal M, Katiyar-Argarwal S, Sahi C, Argarwal S. 2000. Production of high temperature tolerant transgenic plants through manipulation of membrane lipids. *Current Science*, 79 (5): 557 – 559.
- Gombos Z, Wada H, Hideg E, Murata N. 1994. The unsaturation of membrane lipids stabilizes photosynthesis against heat stress. *Plant Physiology*, 104: 563 – 567.
- Hare P D, Cress W A, Staden J V. 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant Cell Environment*, 21: 535 – 553.
- He Y, Liu Y, Cao W, Huai M, Xu B, Huang B. 2005. Effects of salicylic acid on heat tolerance associated with antioxidant metabolism in Kentucky bluegrass. *Crop Science*, 45: 988 – 995.
- He Y, Huang B. 2007. Protein Changes during heat stress in three Kentucky bluegrass cultivars differing in heat tolerance. *Crop Science*, 47: 2513 – 2520.
- Horvath I, Glatz A, Varvasovszki V, Zsolt T, Pali T, Balogh G, Kovacs E, Nadasdi L, Benko S, Joo F, Vigh L. 1998. Membrane physical state controls the signalling mechanism of the heat shock response in *Synschochystis* PC6803. Identification of HSP17 as a fluidity gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95: 3513 – 3518.

- Jiang Y, Huang B. 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. *Crop Science*, 41: 436 – 442.
- Kunst L, Browse J, Somerville C. 1989. Enhanced thermal tolerance in a mutant of *Arabidopsis* deficient in palmitic acid unsaturation. *Plant Physiology*, 91: 401 – 408.
- Larkindale J, Huang B. 2004. Changes of lipid composition and saturation level in leaves and roots for heat-stressed and heat-acclimated creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*). *Environmental and Experimental Botany*, 51: 57 – 67.
- Leshem Y Y. 1981. Oxy free radicals and plant senescence. *What's New in Plant Physiology*, 12 (1): 1 – 4.
- Liu X, Huang B. 2000. Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping bentgrass. *Crop Science*, 40: 503 – 510.
- Ma Yan-hong, Xu Yi-nong, Gao Li-hong. 2003. Effects on thylakoid membrane lipids of common bean under high temperature stress. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 19 (3): 1 – 3, 12. (in Chinese)
- 马海艳, 许亦农, 高丽红. 2003. 高温逆境对菜豆类囊体膜脂的影响. *中国农学通报*, 19 (3): 1 – 3, 12.
- Morales D, Rodríguez P, Dell'Amico J, Nicolás E, Ebrahim M K H, Zingsheim O, Veith R, Abo-Kassem Torrecillas A, Sánchez-Blanco M J. 2003. High temperature preconditioning and thermal shock imposition affects water relations, gas exchange and root hydraulic conductivity in tomato. *Biologia Plantarum*, 47: 203 – 208.
- Nishiyama Y, Los D, Murata N. 1999. PsbU, a protein associated with PSII is required for the acquisition of cellular thermotolerance in *Synechococcus* species PCC7002. *Plant Physiology*, 120: 301 – 308.
- Santarius K A, Müller M. 1979. Investigation on heat resistance of spinach leaves. *Planta*, 146: 529 – 538.
- Scandalios J G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiology*, 101: 7 – 12.
- Seeman J R., Downton W J S, Berry J A. 1986. Temperature and leaf osmotic potential as factors in the acclimation of photosynthesis to high temperature in desert plants. *Plant physiology*, 80: 926 – 930.
- Shen B, Jensen R G, Bohnert H J. 1997. Mannitol protects against oxidation processing enzymes and anti-oxidation in mosses. *Journal of Experimental Botany*, 43: 1031 – 1037.
- Smirnov N. 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist*, 125: 27 – 58.
- Smirnov N, Cumbe Q J. 1989. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, 28: 1057 – 1060.
- Somerville C, Browse J. 1991. Plant lipids, metabolism and membranes. *Science*, 252: 80 – 87.
- Vigh L, Gombos Z, Horvath I, Joo F. 1989. Saturation of membrane lipids by hydrogenation induces thermal stability in chloroplast inhibiting the heat dependent stimulation of photosystem I mediated electron transport. *Biochimica et Biophysica Acta*, 979: 361 – 364.
- Vigh L, Los D A, Horvath I, Murata N. 1993. The primary signal in the biological perception of temperature: Pd catalysed hydrogenation of the membrane lipids stimulated the expression of the desA gene in *Synechocystis* PC6803. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90: 9090 – 9094.
- Wang Z, Huang B. 2004. Physiological recovery of Kentucky bluegrass from simultaneous drought and heat stress. *Crop Science*, 44: 1729 – 1736.
- Wahid A, Close T J. 2007. Expression of dehydrins under heat stress and their relationship with water relations of sugarcane leaves. *Biology Plant*, 51: 104 – 109.
- Xu L, Han L, Huang B. 2011. Membrane fatty acid composition and saturation levels associated with leaf dehydration tolerance and post-drought rehydration in Kentucky bluegrass. *Crop Science*, 51: 273 – 281.
- Yang J F, Cheng B S, Wang H C. 1984. Influence of high temperature and low humidity on the fatty acid composition of membrane lipids in wheat. *Acta Botanica Sinica*, 26: 386 – 391.