荞麦幼苗根对热胁迫的生理应答

田 学军 (红河学院 生物系,云南 蒙自 661 100)

摘要: 通过测定热驯(37° C)、经热驯再热胁迫(37° C→44 $^{\circ}$ C)和直接热胁迫(44° C)下荞麦($Fagopy-rum\ esculentum\ Moench$)幼苗的根生长量、抗坏血酸(AsA)、丙二醛(MDA)、相对含水量(RWC)和相对电导率的变化,探讨荞麦幼苗根对热胁迫的生理应答。结果表明,荞麦幼苗根的生长量、RWC和 AsA 含量随胁迫温度的升高而降低,相对电导率和 MDA 含量随胁迫温度的升高而增加;热驯提高了根部对后继热胁迫的耐性,使根的生长量、RWC和 AsA 含量高于直接热胁迫幼苗,MDA含量和相对电导率低于直接高温胁迫的。显然,热胁迫对荞麦根的生长造成不利影响,热驯在 一定程度提高了根的耐热性。

关键词: 荞麦; 根; 热胁迫

中图分类号: S517 文献标识码: A 文章编号: 1004-3268(2009)11-0056-03

Physiological Response of Buckwheat Seedling to Heat Stress

TIAN Xue-jun

(Department of Biology, Honghe University, Mengzi 661100, China)

Abstract: To explore the physiological response of buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) seedlings to heat stress, the change of growth, ascorbic acid(AsA), malondialdehyde(MDA), relative water content (RWC) and relative conductance in roots of buckwheat seedlings after exposed to three heat stress levels (37 °C, 37 °C → 44 °C, 44 °C) were measured. The results showed that the growth, RWC and AsA content decreased, and the relative conductance and MDA content increased with the increase of temperature. However, the seedling roots pretreated with heat acclimation kept higher level of growth, RWC and AsA content than those without heat acclimation, but the MDA content and relative conductance kept lower level than no heat-acclimated seedling. This indicated that the heat stress was unfavorable to root growth, and the heat acclimation pretreatment could improve the thermotolerance of buckwheat seedling roots.

Key words: Fagopyrum esculentum Moench; Root; Heat stress

荞麦(Fagopyrum esculentum Moench)喜温凉,怕霜冻,种子萌发的适宜温度为 10~25℃¹¹,生育前期易受高温影响,后期则易遭霜害²¹。Guan 和Adachi^[3]研究了5个荞麦品种,夏季授粉 3d 后观察到许多变态的胚囊,导致发育不全、败育或胚发育终止。显然,像高温这样的逆境条件将导致荞麦减产和产量不稳定。生产实践也表明,热胁迫对荞麦生长和产量有明显的负作用,但关于热胁迫对荞麦造

成的生理损伤研究并不多。此外,在研究高温对植物造成的损伤时,人们研究更多的是地上部分。其实,根比茎对高温更敏感^[4]。土壤高温比空气高温对植物生长更有害,它抑制茎的生长、光合作用、碳水化合物代谢和细胞分裂素的合成,导致叶片老化,因此,直接暴露在高温土壤中的根可能调控茎对热胁迫的反应^[5]。本研究以荞麦幼苗根为材料,通过热驯和热胁迫,探讨高温对根部生长、细胞膜损伤、

收稿日期: 2009-06-16

基金项目: 红河学院科研基金项目(XJIY0805)

作者简介: 田学军(1962-), 男, 云南沪西人, 副教授, 本科, 主要从事植物逆境生理和资源植物研究及植物学教学工作。

丙二醛(MDA)和抗坏血酸(AsA)含量的影响,进而分析高温对荞麦幼苗根生长发育的影响。

1 材料和方法

1.1 试剂与设备

三氯乙酸, 硫脲, 二硝基苯肼, H₂SO₄, A₅A, 硫代巴比妥酸, N₄OH。 电导率仪 (JEY — 45001, Jenway, England), 高速冷冻离心机 (Eppendrof Centrifuge 5810 R, Germany), 双光束紫外可见分光光度 计 (TU-1901, 北京普析)。

1.2 荞麦幼苗根生长测定

仿照 Hong 等的方法^[6],荞麦种子加适量水润湿,4 [°]个春化 24h;转 22 [°][°]恒温培养室避光培养约 36h(种子刚萌发),随机分成下列 4 组,每组 50 粒。

① 对照组: 22 ©恒温培养室中避光培养 24h。② 37 © 热 驯组 (37 ©): 37 © 水浴中热 驯 1h,转入 22 ©避光培养 24h。③热 驯 → 热胁 迫组 (37 © → 44 ©): 37 © 水浴中热驯 1h,转入 22 ©恢复 1h,再放入 44 © 水浴中胁迫 2h,转入 22 ©避光培养 24h。转22 ©恢复 1h 的目的是让供试植物对热驯有一个生理适应过程。④热胁迫组 (44 ©): 直接放 44 © 水浴中胁迫 2h,转入 22 ©避光培养 24h。

各组经上述处理、培养后,测定根长度。

1.3 测定细胞膜损伤及 AsA 和 MDA 含量的荞麦 幼苗的培养

荞麦种子加适量水润湿. 置 4 $^{\circ}$ 冰箱春化 24 h; 转 22 $^{\circ}$ 恒温培养室避光培养 48h (下胚轴长约 1 5cm),备用。

1.4 热胁迫方法

将 1. 3 培养的幼苗随机分成下列 4 组: ①对照组: 幼苗置 22 $^{\circ}$ 位温培养; ②37 $^{\circ}$ 热驯组(37 $^{\circ}$): 幼苗在 37 $^{\circ}$ 水浴中热驯 1h; ③热驯→热胁迫组(37 $^{\circ}$) →44 $^{\circ}$): 幼苗在 37 $^{\circ}$ 水浴中热驯 1h, 转入 22 $^{\circ}$ 恢复 1h, 再放入 44 $^{\circ}$ 水浴中胁迫 2h; ④热胁迫组: 幼苗直接在 44 $^{\circ}$ 水浴中胁迫 2h。 经上述处理的幼苗,取其根, 用于各指标测定。 6 次重复。

1.5 细胞膜热损伤测定

热胁迫造成的细胞膜损伤仿照 Xu 等⁷ 用相对含水量(RWC)和细胞膜的热稳定性(MTS)来表达。1.6 MDA 测定

仿照 Dhindsa 等^[8] 硫代巴比妥酸法。M DA 含量按下列公式计算:

M DA 浓度 ($\mu_{\text{mol/L}}$) = 6. 45 × (A_{532} - A_{600})-0. 56× A_{450}

MDA 浓度 $(\mu_{mol/g}) = MDA$ 摩尔浓度 $\times N \times W$

式中, N 为提取液体积(L), W 为鲜重(g), A532、A600、A450分别为532、600和450nm处吸光度。

1.7 AsA 测定

仿 Xu 等^[7] 二硝基苯肼法。以 As A 为标样制作标准曲线和回归方程,在 530nm 处测定吸光值。

1.8 统计分析

采用 SPSS14. 0 统计软件进行方差分析, 以比较各处理的差异性。

2 结果与分析

2.1 热驯和热胁迫对荞麦幼苗根生长的影响

试验结果表明(表 1),处理②、处理③和处理④的幼苗根短于对照,差异达极显著水平(P< 0. 01);处理③的根短于处理②的,差异达极显著水平(P< 0.01);处理④的根也明显短于处理③的,且差异达极显著水平(P< 0.01)。表明荞麦幼苗根的生长量随热胁迫温度的升高而降低。尽管 37 $^{\circ}$ $^{\circ}$

表 1 热驯和热胁迫下荞麦幼苗根生长量

项目	处理 ① (CK)	处理 ②	处理③	处理④
下胚轴长度(mm)	19.0±8.6	15. 2±5. 2	9.2±3.2	5.0±+2.2

2.2 热驯和热胁迫对荞麦幼苗根细胞膜热稳定性 和相对含水量的影响

处理③和处理④的幼苗根相对电导率高于对照和处理②(P<0.01);处理③的低于处理④的,但差异不显著(P>0.05);对照与处理②差异亦不显著(P>0.05)(表 2)。结果表明,荞麦幼苗根的相对电导率随胁迫温度升高而增加,高温对荞麦根的细胞膜造成了损伤。本研究中,热驯对提高细胞膜抵御后继热胁迫的耐性的作用不明显。

处理③和处理④ 幼苗根的相对含水量低于对照的(P< 0.05),但与处理②的差异不明显(P> 0.05),处理③与处理④的差异及对照与处理②的差异亦不明显(P> 0.05)(表 2)。表明热胁迫使荞麦幼苗根失去较多的水份,但热驯对提高细胞膜抵御后继热胁迫的耐性的作用不明显。

2.3 热驯和热胁迫对MDA、AsA 含量的影响

处理④的 M DA 含量与对照差异极显著 (P<0.01),与处理②和处理③的差异显著 (P<0.05) (表 2)。表明热胁迫使荞麦幼苗根的膜脂更多地被氧化,而热驯可提高根部抵御后继热胁迫造成的膜脂过氧化,降低过氧化产物 MDA 含量。

表 2 热驯和热胁迫对荞麦根细胞膜损伤、 RWC MDA 和 AsA 含量变化的影响

处理	处理 ① (CK)	处理②	处理③	处理④
相对电导率	9. 1±2 9	8. 4±2. 5	10.9±3.9	17.0±7.6
RW C(%)	95.6 \pm 2.1	90.0±4.2	91. 2 ± 4.6	87. 4 ± 3.6
MDA 含量 (μ _{mol/g})	31.9 ± 5.2	34.6±4.5	36.4±8.4	44.2±7.7
AsA 含量 (μg/g)	109. 3 ± 13.2	69.6±11.9	67.5±6.3	61.8±10.3

处理②、处理③、处理④幼苗根的 AsA 含量明显低于对照的(P<0.01),处理③的较处理④的稍高,但差异不显著(P>0.05)(表 2)。 表明荞麦幼苗根的 AsA 含量随胁迫温度的升高而降低,热驯再热胁迫的 AsA 含量下降程度低于不经热驯的。

3 讨论

将植物暴露在亚致死高温下进行热驯可使其获得抵御致死高温胁迫的能力 Liu 等 研究表明,匍茎剪股颖($Agrostis\ stolonif\ era\ var.\ palustris)根的生物量因热胁迫而减少,增加了死亡。本研究结果表明,在 <math>44^{\circ}$ C热胁迫下,荞麦幼苗根的长度明显短于 22° C条件下生长的;同时,经 37° C热驯 1h,返回 22° C正常生长条件下恢复 1h,再转到 44° C 热胁迫,下胚轴长度明显长于直接在 44° C下胁迫的。显然,热驯提高了荞麦幼苗根的耐热性。

当植物遭受高温、低温等胁迫时,细胞膜是受损的第 1 个结构,电解质渗透增加表明植物细胞膜已受损¹⁰。 热胁迫后植物叶片的 RWC 也下降^{5.7}。 本研究结果显示,热胁迫提高了荞麦幼苗根的相对电导率,表明细胞膜的完整性受到损伤, 44° 之热胁迫的幼苗根的 RWC 也低于常温 (22°) 条件下生长的。

AsA 是植物 ROS 清除系统中的一种重要抗氧化剂 ^{11~15]}。在本研究中, 荞麦幼苗根的 AsA 含量随胁迫温度的升高而降低, 这与其他研究结果基本一致。显然, 高温胁迫使 AsA 合成受到一定程度的影响。

本研究表明, 热胁迫抑制了荞麦幼苗根的生长,造成细胞膜损伤, 导致膜脂更多地被氧化和热稳定性被破坏, 降低了抗氧化剂 AsA 含量; 热驯则增加了荞麦根的热稳定性, 提高了抵御后继热胁迫的能力。由于根系承担水份、无机盐等植物生长发育所需营养物质的吸收, 可以推测, 热胁迫对荞麦根部造成的不利影响将直接影响地上部分的生长发育, 进而影响荞麦产量。

参考文献:

- [1] 张孝安. 荞麦高产的栽培技术[1]. 中国农村科技, 2000 (12): 51-53.
- [2] 张怀礼,董佃仁. 秋荞麦高产五措施[J]. 湖北农业科学,2000(1):34-36.
- [3] Guan L M, Adachi T. Reproductive deterioration in buck-wheat (*Fagopyrum esculentum*) under summer conditions [J]. Plant Breeding 1992, 109(4): 304—312.
- [4] McMichael B L. Soil temperature and root growth [J]. Hort Science, 1998, 33: 947-951.
- [5] Liu X, Huang B. Root physiological factors involved in cool-season grass response to high soil temperature
 [J]. Environmental and Experimental Botany, 2005, 53; 233-245.
- [6] Hong S W, Vierling E. Mutants of Arabidopsis thaliana defective in the acquisition of tolerance to high temperature stress[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97: 4392-4397.
- [7] Xu S, Li J Zhang X, et al. Effects of heat acclimation pretreatment on changes of membrane lipid peroxidation antioxidant metabolites, and ultrastructure of chloroplasts in two cool-season turfgrass species under heat stress[J]. Environmental and Experimental Botany, 2006 56; 274—285.
- [8] Dhindsa R S, Plumb-Dhindsa P, Thorpe T A. Leaf senescence: correlated with increased leaves of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase[J]. J Exp Bot, 1981, 32: 93—101.
- [9] Larkindale J, Hall J D, Knight M R, et al. Heat stress phenotypes of *Arabi dopsis* mutants implicate multiple signaling pathways in the acquisition of thermotolerance [J]. Plant Physiology, 2005, 138; 882—897.
- [10] Marcum K B. Cell membrane thermostability and whole-plant heat tolerance of kentucky bluegrass[J] . Crop Sci, 1998, 38: 1214—1218.
- [11] Francisco J P, Daniel V, Nilo M. Ascorbic acid and flavonoidperoxidase reaction as a detoxifying system of $\rm H_2O_2$ in grapevine leaves [J]. Phytochemistry, 2002 60:573–580
- [12] 郝建平, 陈占宽, 裴雁曦, 等. 非选择性除草剂 Basta 对荞麦和莜麦种子萌发的影响[J]. 华北农学报, 2001, 17(2): 137—141.
- [13] 陈希勇, 李亚军, 高增玉, 等. 小麦耐热性获得和耐热性表现关系的研究[J]. 华北农学报, 2003, 18(S1): 55-58.
- [14] 朱佳, 刘鹏, 徐根娣, 等. 酸铝对荞麦根系形态和体内抗 氧化系统的影响[J]. 河南农业科学 2006(7): 25-28.
- [15] 李世贵. 荞麦对环境条件的要求及高产栽培技术[J]. 现代农业科技,2007(21):138,140.