

外源 Ca^{2+} 提高百合耐热性的生理机制初探

张铭顺¹,吕福堂¹,褚鹏飞¹,吴 泽²,义鸣放³,曹 兴¹

(1.聊城大学农学院,山东聊城252059;2.南京农业大学园艺学院,江苏南京210095;

3.中国农业大学园艺学院/花卉发育与品质调控北京市重点实验室,北京100193)

摘要:为探讨 Ca^{2+} 对百合耐热性的影响及其生理机制,以东方百合杂种系西伯利亚为试验材料,研究 CaCl_2 、钙离子螯合剂EGTA、钙调蛋白抑制剂三氟拉嗪(TFP)处理对40℃高温胁迫下百合热害指数、抗性相关生理指标和相关热响应基因表达的影响。结果表明,高温胁迫下,15 mmol/L CaCl_2 处理能够减缓膜透性的加大、叶绿素的降解和丙二醛的积累,提高脯氨酸、可溶性蛋白含量和超氧化物歧化酶活性,促进热响应基因 $LoCam3$ 和 $LoHsfA3a$ 的表达,从而提高植株的耐热性,降低热害指数。10 mmol/L EGTA和200 $\mu\text{mol}/\text{L}$ TFP的作用则相反。表明作为植物生长所必需的大量元素, Ca^{2+} 也可能通过 Ca^{2+} -CaM信使系统提高渗透调节能力、抗氧化能力、光合能力和蛋白质活性,以维持细胞稳态来调节百合对高温逆境的适应性。

关键词:百合; Ca^{2+} ;耐热性;生理机制;钙调蛋白

中图分类号:S682.2⁵⁶ 文献标志码:A 文章编号:1004-3268(2019)02-0120-06

Primary Studies on Physiological Mechanism of Exogenous Calcium Improving Thermotolerance in Lily

ZHANG Mingshun¹, LÜ Futang¹, CHU Pengfei¹, WU Ze², YI Mingfang³, CAO Xing¹

(1. College of Agriculture, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China;

2. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

3. College of Horticulture, China Agricultural University/Beijing Key Laboratory of Development and Quality Control of Ornamental Crops, Beijing 100193, China)

Abstract: To determine the effect and physiological mechanism of calcium on the thermotolerance of lily, the heat injury index, correlative physiological indexes and heat-responsed genes under high temperature stress of 40℃ were investigated by treating *Lilium* oriental Siberia with exogenous Ca^{2+} , Ca^{2+} chelating agent EGTA and calmodulin antagonist TFP. The results showed that under the circumstance of heat-stress, 15 mmol/L Ca^{2+} treatment alleviated leakage of electrolyte, degradation of chlorophyll and the accumulation of MDA caused by heat stress, enhanced the content of proline, soluble protein and activity of SOD, and induced the expression of heat-responsed genes $LoCam3$ and $LoHsfA3a$, which increased tolerance to heat stress and decreased heat injury index. The role of 10 mmol/L EGTA or 200 $\mu\text{mol}/\text{L}$ TFP was opposite. The results indicated that as one essential macroelement towards plant growth, Ca^{2+} might regulate the heat resistance of lily through Ca^{2+} -CaM signal transduction by improving the ability of osmoregulation, antioxidation, photosynthesis and the activity of protein to maintain cellular homeostasis.

Key words: Lily; Ca^{2+} ; Thermotolerance; Physiological mechanism; CaM

收稿日期:2018-11-20

基金项目:山东省自然科学基金项目(ZR2016CB36);国家自然科学基金项目(31471904,31601788)

作者简介:张铭顺(1992-),男,山东泰安人,在读硕士研究生,研究方向:园林植物逆境生理。E-mail:766689206@qq.com
通信作者:曹兴(1984-),男,山东滕州人,讲师,博士,主要从事园艺作物抗逆生理研究。E-mail:caoxinglina@163.com

百合(*Lilium spp.*)为百合科百合属球根花卉,具有重要的观赏、食药用价值。百合性喜冷凉、湿润气候,耐热性较差,高温造成百合生长停滞、植株矮小、少花盲花、茎秆软、病虫害严重等现象,严重影响切花的产量和质量,并造成种球退化。我国大部分地区夏季炎热,严重影响百合商品化周年生产^[1]。所以,提高百合耐热性是解决这一问题的关键。

作为植物生长发育所必需的大量元素, Ca^{2+} 是细胞壁的组成成分,是细胞膜的稳定剂,也是细胞内多种酶的活化剂,同时作为第二信使, Ca^{2+} 与其受体蛋白如钙调蛋白(CaM)、类钙调磷酸酶B亚基蛋白(CBL)、钙离子结合蛋白激酶(CDPK)等结合,参与了植物对内环境(发育)和外环境的感知和传导,涉及植物对病原菌、光、高低温、机械损伤、干旱、盐和渗透胁迫等的响应^[2]。施用外源 Ca^{2+} 能提高植物的耐热性。10 mmol/L Ca^{2+} 处理能够有效缓解高温强光对西葫芦光合机构的伤害^[3]。10 mmol/L CaCl_2 处理能提高滨梅幼苗对高温的耐受性, Ca^{2+} 信号系统参与了胁迫过程中渗透物质和 Ca^{2+} - ATPase 活性等的调节^[4]。

利用 Ca^{2+} 、 Ca^{2+} 载体 A23187, 钙离子螯合剂 EGTA, 钙离子通道抑制剂 LaCl_3 、异搏定(Verapamil), 钙调蛋白抑制剂氯丙嗪(Chlorpromazine, CPZ)、三氟拉嗪(Trifluoperazine, TFP)、N-(6-氨基己烷基)-5-氯-1-萘-黄胺(W7)等增强或阻碍 Ca^{2+} -CaM 信号传导是目前研究植物 Ca^{2+} -CaM 信号功能的重要手段^[5]。以东方百合杂种系(*Lilium oriental hybrids*)品种西伯利亚(Siberia)为试验材料,研究 CaCl_2 、EGTA 和 TFP 对高温胁迫下百合表型、相关生理指标及基因表达的影响,探讨 Ca^{2+} 在百合耐热性调节方面的功能及作用机制,以期为生产上应用 Ca^{2+} 提高百合耐热性奠定理论与技术基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验材料为东方百合杂种系西伯利亚,每盆1株。栽培基质配比为 V (草炭): V (细河砂)=2:1。人工气候室培养温度为22℃/16℃(昼/夜),光照时间为14 h/d。 CaCl_2 和 EGTA 购于中国国药集团,TFP 购于 Sigma 公司,荧光定量试剂盒 SYBR® Premix Ex Taq 购自 TaKaRa 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 热害指数的测定 待百合地上部分长至约30 cm时,选取健壮、生长一致的植株,分别用5、10、15 mmol/L CaCl_2 , 5、10、15 mmol/L EGTA 和 100、200、300 $\mu\text{mol}/\text{L}$ TFP 进行灌根处理,以去离子水处

理为对照,每5 d 处理1次,共处理3次。每个处理6株苗,重复3次。第3次药剂处理后立即将植株置于光照培养箱内,40℃胁迫处理72 h,光照时间为14 h/d。热激处理后,取植株中部叶片(株间相近叶位),利用 Photoshop CS5 软件参照于守超等^[6]的方法测定叶面积,统计伤害面积率,计算热害指数。热害分级标准见表1。

伤害面积率 = 叶片明显失绿部分面积/叶片总面积 × 100%

热害指数 = Σ (各级热害叶数 × 相应级数值)/(调查总叶数 × 最高级别数值) × 100。

表1 热害分级标准

Tab. 1 The classification standard of heat injury

| 热害级别 Heat injury level | 分级标准 Classification standard |
|---------------------------|---------------------------------|
| 0 | 叶片无明显变化 |
| 1 | 伤害面积率 10% 以下 |
| 2 | 伤害面积率 10% ~ 20% |
| 3 | 伤害面积率 20% ~ 40% |
| 4 | 伤害面积率 40% ~ 70% |
| 5 | 伤害面积率 70% 以上 |

1.2.2 相关生理指标的测定 人工气候室培养条件下,分别用15 mmol/L CaCl_2 、10 mmol/L EGTA 和 200 $\mu\text{mol}/\text{L}$ TFP 溶液灌根,以去离子水处理为对照,每5 d 处理1次,共处理3次。每个处理15株苗,重复3次。第3次药剂处理后立即将植株置于光照培养箱内,40℃胁迫处理72 h,光照时间为14 h/d,分别在热激处理0、12、24、48、72 h 取植株中部叶片(株间相近叶位),测定相关生理指标。膜透性测定采用电导仪法,叶绿素含量测定采用浸提法,可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 法,脯氨酸含量测定采用酸性茚三酮法,丙二醛(MDA)含量测定采用硫代巴比妥酸法,超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用氮蓝四唑显色法。以上指标的测定均参照李合生^[7]的方法。

1.2.3 相关热响应基因的表达分析 人工气候室培养条件下,分别用15 mmol/L CaCl_2 、10 mmol/L EGTA 和 200 $\mu\text{mol}/\text{L}$ TFP 溶液灌根,以去离子水处理为对照,每5 d 处理1次,共处理3次。第3次药剂处理后立即将植株置于光照培养箱内,40℃热激1 h 和 3 h,取植株中部叶片(株间相近叶位),用液氮速冻后放入-80℃超低温冰箱中保存。采用实时荧光定量 PCR (Real-time quantitative RT-PCR, qPCR) 方法测定样本中钙调蛋白基因 *LoCaM3* 和热激转录因子基因 *LoHsfA3a* 的表达量,以百合 18S rRNA 作内参。试验参照 SYBR® Premix Ex Taq 试剂盒说明书进行,仪器为 ABI StepOnePlus™。*LoCaM3* 的扩增引物为 qF1 (5' - CATGTCATGACTAAC-

CTAGGCGAG - 3') 和 qR1 (5' - CCATTAGAAAT-CAGCCAGCACC - 3'), *LoHsfA3a* 的扩增引物为 qF2 (5' - CTTGGTTAACGTACGCCAGTCCAAG - 3') 和 qR2 (5' - GTAAAATATTGTAAAAGAACATGAAGC-CTATGG - 3'), *18S rRNA* 的扩增引物为 18SqF (5' - AGTTGGTGGAGCGATTGTCT - 3') 和 18SqR (5' - CCTGTTATTGCCTCAAACCTCC - 3')。反应程序为: 95 ℃ 30 s; 95 ℃ 5 s, 58 ℃ 30 s, 72 ℃ 20 s, 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法^[8] 分析基因的相对表达量, 3 次生物学重复。

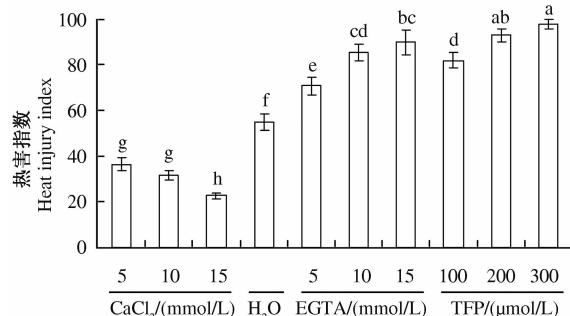
1.3 数据处理

用 Excel 2007 和 SPSS 18 处理分析数据。

2 结果与分析

2.1 Ca^{2+} 处理对高温胁迫下百合叶片热害指数的影响

热激处理对叶片造成了不同程度的伤害, CaCl_2 、EGTA 和 TFP 处理对百合叶片热害指数的影响见图 1。结果表明, 与对照相比, CaCl_2 处理显著降低了叶片的热害指数 ($P < 0.05$), 随着 CaCl_2 浓度的增加, 叶片的热害指数逐渐降低, 15 mmol/L CaCl_2 处理的叶片热害指数比对照降低了 58.53%。EGTA 和 TFP 处理则显著提高了叶片的热害指数 ($P < 0.05$), 热害指数随着处理浓度的增加而升高。与对照相比, 10 mmol/L EGTA 处理的热害指数增加了 56.11%, 但与 15 mmol/L EGTA 处理差异不显著。200 $\mu\text{mol}/\text{L}$ TFP 处理的热害指数比对照增加了 69.94%, 但与 300 $\mu\text{mol}/\text{L}$ TFP 处理差异不显著。根据表型结果, 选择 15 mmol/L CaCl_2 、10 mmol/L EGTA 和 200 $\mu\text{mol}/\text{L}$ TFP 处理用于后续的生理试验。



不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著, 下同
The different lowercase means significant difference ($P < 0.05$),
the same below

图 1 高温胁迫下不同药剂处理的百合叶片热害指数

Fig. 1 The heat injury index of leaves in lily treated by different chemicals under heat stress

2.2 Ca^{2+} 处理对高温胁迫下百合叶片抗性相关生理指标的影响

2.2.1 细胞膜透性 高温破坏细胞膜的结构, 导致

细胞膜的透性增加, 电解质外渗。因此, 细胞膜电解质渗透率能反映出高温对植物伤害的程度。由图 2A 可以看出, 随着热激时间的延长, 百合叶片的相对电导率逐渐增大。 Ca^{2+} 处理的相对电导率始终低于对照, 表明 Ca^{2+} 处理能够缓解高温下细胞膜透性的增大。EGTA 和 TFP 处理的相对电导率始终高于对照, 表明 EGTA 和 TFP 处理加剧了高温下细胞膜透性的增大。

2.2.2 叶绿素含量 高温胁迫过程中, 百合叶片的叶绿素含量逐渐降低(图 2B), 表明高温抑制了叶绿素的合成, 促进了叶绿素的降解。与对照相比, Ca^{2+} 处理的叶绿素含量下降趋势较缓, 热激 72 h 后, 降幅为对照的 69.88%, 叶绿素含量是对照的 1.56 倍; 而 EGTA 和 TFP 处理则加剧了叶绿素含量的下降, 热激 72 h 后, 降幅分别为对照的 1.22 倍和 1.31 倍, 叶绿素含量分别是对照的 58.15% 和 42.55%。

2.2.3 脯氨酸和可溶性蛋白含量 植物细胞可以通过渗透调节的方式抵御高温胁迫, 脯氨酸是最有效的渗透调节物质之一, 可以防止植物水分散失和提高原生质胶体的稳定性。图 2C 表明, 热胁迫前期 (0~24 h), EGTA 和 TFP 处理的脯氨酸含量升高, 但绝对含量和增幅均显著低于对照 ($P < 0.05$)。随后, EGTA 处理的脯氨酸含量变化不大, 而 TFP 处理的脯氨酸含量降低后又迅速升高, 72 h 的含量接近对照水平。高温胁迫过程中 Ca^{2+} 处理和对照的脯氨酸含量呈现先升高后降低的趋势, 在 48 h 达到峰值, Ca^{2+} 处理的脯氨酸含量分别比对照、EGTA 和 TFP 处理增加了 27.24%、117.37% 和 165.80%。

可溶性蛋白是重要的渗透调节物质和营养物质, 其增加和积累能提高细胞的保水能力, 也对细胞的生命物质及生物膜起到保护作用。高温胁迫过程中, 各处理的可溶性蛋白含量先升高后降低(图 2D), 前期升高可能是由于高温诱导合成了热激蛋白(HSP), 后期降低可能是持续高温导致蛋白质合成受阻和降解加剧。热胁迫期间, Ca^{2+} 处理的可溶性蛋白含量始终高于对照, EGTA 和 TFP 处理的可溶性蛋白含量始终低于对照。各处理的可溶性蛋白含量差异在 48 h 达到最大, Ca^{2+} 处理是对照的 1.37 倍, EGTA 和 TFP 处理分别为对照的 73.81% 和 52.86%。

2.2.4 MDA 含量和 SOD 活性 高温胁迫诱导细胞积累过多活性氧, 引起或加剧膜脂过氧化作用, MDA 是产物之一, 其含量的高低可以反映膜的损伤程度。高温胁迫期间, 百合叶片 MDA 含量的变化趋势如图 2E 所示, 各处理的 MDA 含量持续增加。热激 12 h, 各处理的 MDA 含量无显著差异 ($P >$

0.05)。热激 24、48、72 h, EGTA 处理的 MDA 含量分别是对照的 1.64、1.34、1.21 倍, TFP 处理的 MDA 含量分别是对照的 1.88、1.61、1.34 倍, Ca^{2+} 处理的 MDA 含量分别是对照的 67.85%、62.21% 和 77.83%。

虽然高温下产生的自由基会伤害细胞,然而植物体也有防御系统,SOD 是植物抗氧化防御系统中的保护酶之一,能清除高温胁迫下细胞内产生的过多活性氧,以减轻活性氧对细胞的伤害。 Ca^{2+} 、

EGTA 和 TFP 处理对高温胁迫下百合叶片 SOD 活性的影响见图 2F。高温胁迫期间,各处理的 SOD 活性呈先升高后降低的趋势。与对照相比, Ca^{2+} 处理显著提高了 SOD 活性($P < 0.05$),差异随胁迫时间的延长逐渐变大,至 72 h, SOD 活性为对照的 2.15 倍。EGTA 和 TFP 处理的 SOD 活性在热胁迫初期(0~12 h)小幅增强后持续降低,至 72 h, SOD 活性分别为对照的 36.14% 和 26.25%,表明 EGTA 和 TFP 处理显著抑制了 SOD 活性($P < 0.05$)。

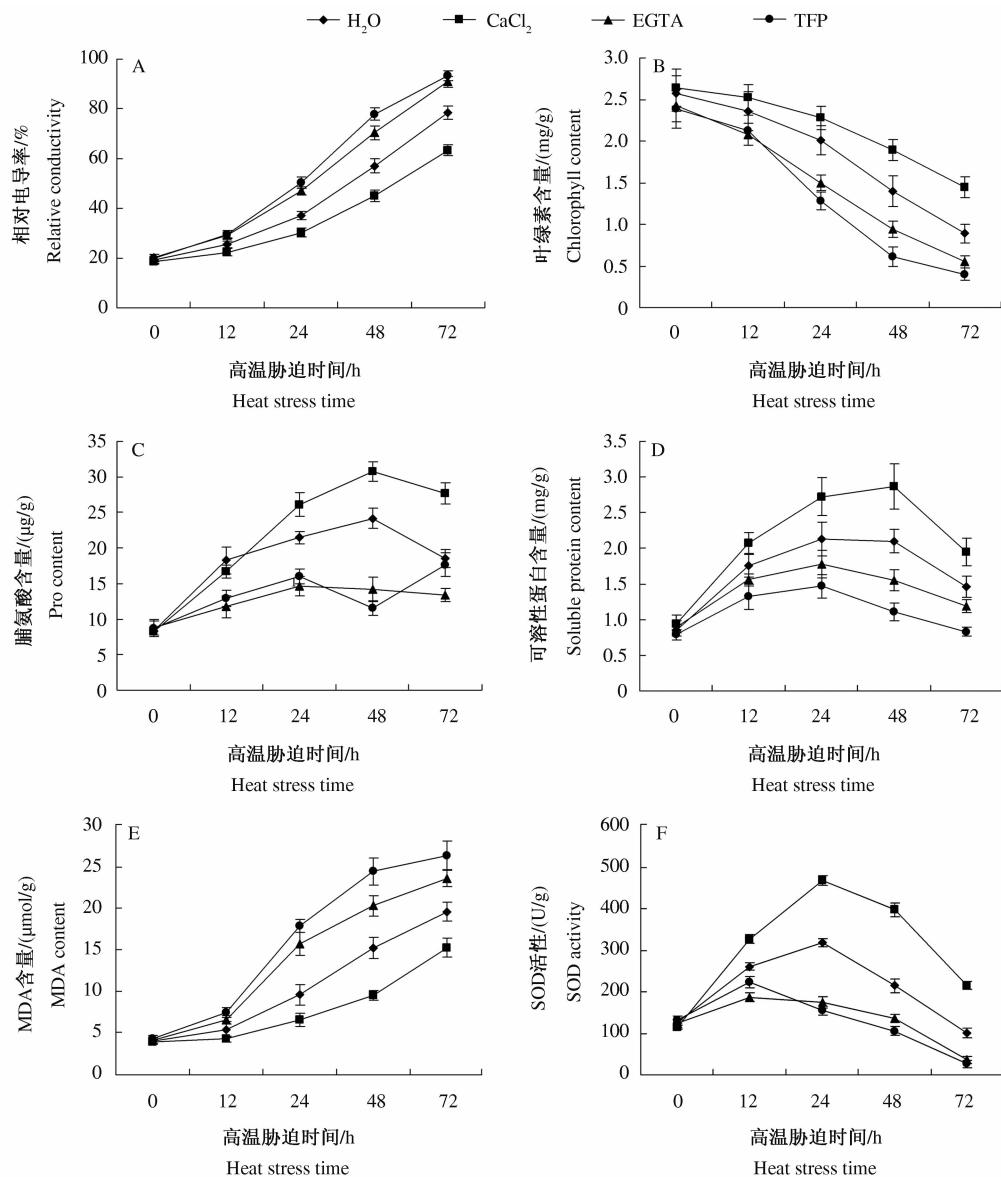


图 2 高温胁迫下不同药剂处理对百合叶片抗性相关生理指标的影响

Fig. 2 Effect of different chemicals on correlative physiological indexes of lily leaves under heat stress

2.3 Ca^{2+} 处理对高温胁迫下百合 *LoCam3* 和 *LoHsfA3a* 表达的影响

CaM3 与 *HsfA3a* 参与了百合的热激信号转导^[9-10]。40 ℃热胁迫条件下,检测了 CaCl_2 、EGTA、TFP 处理 1 h 后叶片 *LoCam3* 的表达量和处理 3 h 后叶片

LoHsfA3a 的表达量(图 3)。结果表明,与对照相比, CaCl_2 处理显著促进了 *LoCam3* 和 *LoHsfA3a* 的表达($P < 0.05$),而 EGTA 或 TFP 处理则显著抑制了 *LoCam3* 和 *LoHsfA3a* 的表达($P < 0.05$),表明外源 Ca^{2+} 可以通过 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}-\text{HSF}$ 信号途径参与百合的热激反应。

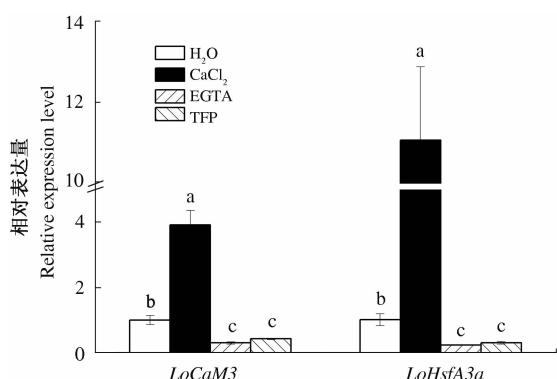


图 3 高温胁迫下不同药剂处理的百合叶片 *LoCaM3* 和 *LoHsfA3a* 的表达量

Fig. 3 Expression of *LoCaM3* and *LoHsfA3a* of leaves treatment with different chemicals under heat stress

3 结论与讨论

目前,有关百合的耐热研究主要集中在以下 2 个方面:第一,百合对高温胁迫的形态和生理响应。东方百合 Sorbonne、岷江百合等在高温环境下叶片逐渐萎蔫、变黄,随着温度的升高和处理时间的延长,植株的耐热指数不断下降^[11-12]。本研究中,西伯利亚百合在高温胁迫下的表型变化与上述研究基本一致,40 ℃热激 72 h 后,叶片基本都萎蔫下垂,因此,根据叶片的失绿程度进行热害分级,能够客观反映植株的受害程度。与对照相比,5 ~ 15 mmol/L CaCl_2 处理显著降低了热害指数,5 ~ 15 mmol/L EGTA 和 100 ~ 300 $\mu\text{mol}/\text{L}$ TFP 处理则显著提高了热害指数。高温处理的百合叶片脯氨酸、MDA 含量和相对电导率显著升高,这 3 个指标可作为耐热性鉴定的生理指标^[13]。高温胁迫下,百合的过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、SOD 等抗氧化酶的活性和谷胱甘肽(GSH)、抗坏血酸(AsA)等抗氧化剂的含量处于较高水平,可以有效清除高温诱导产生的活性氧,提高百合的耐热性^[14]。本试验中,热胁迫导致相对电导率和 MDA 含量升高,脯氨酸、可溶性蛋白含量和 SOD 活性先升高后降低,叶绿素含量下降,这与杨炜茹等^[12]对岷江百合的研究结果基本一致。第二,提高百合耐热性的途径和方法。利用物理或化学的方法可以提高百合的耐热性。热激锻炼百合种球可以提高植株 SOD 活性、可溶性糖含量和根系活力^[15],可以引起植株体内 SOD 与光合色素的协同作用并提高系统的热耗散^[16],能抑制由高温胁迫引起的相对电导率的升高^[17],从而提高百合的耐热性。外源水杨酸可以通过提高抗氧化系统酶的活性来增强百合的耐热性^[18]。外施 Ca^{2+} 可以提高小麦^[19]、半夏^[20]、藤本月季^[21]、高山杜鹃^[22]等植物的耐热性,之前的研究表明,外源 Ca^{2+} 处理可以显著

提高麝香百合品种白天堂组培苗的耐热性^[9],但未深入研究其生理机制。本研究结果表明,与单纯高温处理相比,15 mmol/L CaCl_2 处理能够降低电解质渗透率和 MDA 含量,提高叶绿素、脯氨酸、可溶性蛋白含量和 SOD 活性,即通过降低细胞膜透性和膜脂过氧化作用,提高光合色素、渗透调节物质含量和抗氧化酶活性,增强植株的耐热性;10 mmol/L EGTA 和 200 $\mu\text{mol}/\text{L}$ TFP 处理则加剧了电解质的外渗和 MDA 的积累,降低了叶绿素、脯氨酸、可溶性蛋白含量以及 SOD 活性,从而降低植株的耐热性。在对茄子^[23]、滨梅^[4]、棉花^[24]等的研究中也得到了类似的结果,表明作为植物生长发育所必需的大量元素, Ca^{2+} 也可能通过 Ca^{2+} - CaM 信号途径介导百合对高温胁迫的响应。筛选耐热种质是培育耐热品种的基础^[25-26],杂交育种是提高百合耐热性的主要途径^[27-28]。近年来,百合耐热转基因育种也取得了初步进展。尚爱芹等^[29]利用农杆菌介导的方法将拟南芥干旱应答元件结合蛋白 *AtDREB2A* 基因转化百合,高温胁迫下,转基因植株的 POD、SOD 活性等及脯氨酸含量高于野生型植株,耐热性明显强于野生型植株。从百合中鉴定了一些耐热功能基因,如 *LHsfA1*^[30]、*LHsfA2a*^[31]、*LHsfA2b*^[32]、*LHsfA3a*^[10]、*LHsfA3b*^[10]、*LHSP70*^[33]、*LimHSP16.45*^[34] 等。前期对麝香百合的研究中发现,LLCaM3 为响应 Ca^{2+} 和热胁迫的重要信号分子, Ca^{2+} /LLCaM3 可能在 A 类 HSF 的上游发挥作用^[9];*LHsfA3a* 的表达受热胁迫诱导,转基因拟南芥中一些 HSP 基因的表达量显著增加^[10]。在本研究中,检测了 CaCl_2 、EGTA、TFP 处理对高温胁迫下东方百合 *LoCaM3* 和 *LoHsfA3a* 表达的影响,结果表明, CaCl_2 处理显著促进了 *LoCaM3* 和 *LoHsfA3a* 的表达,而 EGTA 或 TFP 处理则显著抑制了 *LoCaM3* 和 *LoHsfA3a* 的表达,说明外源 Ca^{2+} 可能通过 Ca^{2+} /CaM - HSF 信号途径诱导 HSP 的合成,利用 HSP 的分子伴侣作用^[35],提高百合的耐热性。

15 mmol/L CaCl_2 处理能够缓解由高温胁迫造成的膜透性的加大和 MDA 的积累,提高叶绿素、脯氨酸、可溶性蛋白含量和 SOD 活性,促进热响应基因 *LoCaM3* 和 *LoHsfA3a* 的表达,表明 Ca^{2+} 作为植物生长所必需的大量元素和偶联胞外信号与胞内生理反应的第二信使,能通过提高细胞的光合能力、渗透调节能力、抗氧化能力和蛋白质活性来维持细胞壁、细胞膜及蛋白质的稳定性,从而增强百合对高温胁迫的抗性。利用 Ca^{2+} 提高栽培作物的抗逆性具有成本低、对环境影响小的突出优势,本研究初步探讨了 Ca^{2+} 对百合耐热性的影响及其生理机制,为生产上应用 Ca^{2+} 提高百合耐热性奠定了理论与技术基础。

参考文献:

- [1] 辛海波,连青龙,董爱香,等.铁炮百合热激转录因子基因HSFA2b的克隆与表达分析[J].园艺学报,2014,41(10):2125-2131.
- [2] HASHIMOTO K, KUDLA J. Calcium decoding mechanisms in plants[J]. Biochimie, 2011, 93:2054-2059.
- [3] 秦舒浩,李玲玲,陈娜娜,等.外源Ca²⁺对高温强光下西葫芦幼苗形态特征、光合特性及荧光参数的影响[J].应用生态学报,2010,21(11):2830-2835.
- [4] 宰学明,夏连全,闫道良,等.外源Ca²⁺对高温强光胁迫下滨梅幼苗的保护效应[J].西北植物学报,2011,31(3):558-563.
- [5] LIU H T, LI B, SHAN Z L, et al. Calmodulin is involved in heat shock signal transduction in wheat [J]. Plant Physiology, 2003, 132:1186-1195.
- [6] 于守超,张秀省,冀芦莎.基于Photoshop CS5的植物叶面积测定方法[J].湖北农业科学,2012,51(15):3340-3342.
- [7] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000.
- [8] SCHMITTGEN T D, LIVAK K J. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method[J]. Nature Protocols, 2008, 3(6):1101-1108.
- [9] CAO X, YI J, WU Z, et al. Involvement of Ca²⁺ and CaM3 in regulation of thermotolerance in lily (*Lilium longiflorum*) [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2013, 31(6):1293-1304.
- [10] WU Z, LIANG J H, WANG C P, et al. Overexpression of two novel *Hsf43s* from lily in *Arabidopsis* confer increased thermotolerance and salt sensitivity via alterations in proline catabolism [J]. Journal of Experimental Botany, 2018, 69(8):2005-2021.
- [11] 吴在生,曹晓娟,张智,等.高温胁迫下东方百合‘Sorbonne’形态及生理响应[J].西北农业学报,2011,20(2):174-177.
- [12] 杨炜茹,张启翔,孙明,等.高温胁迫对岷江百合幼苗耐热指数和理化特性的影响[J].华南农业大学学报,2010,31(1):51-54.
- [13] 周斯建,义鸣放,穆鼎.高温胁迫下铁炮百合幼苗形态及生理反应的初步研究[J].园艺学报,2005,32(1):145-147.
- [14] YIN H, CHEN Q M, YI M F. Effects of short-term heat stress on oxidative damage and responses of antioxidant system in *Lilium longiflorum* [J]. Plant Growth Regulation, 2008, 54(1):45-53.
- [15] 刘雪凝,杨利平,马川,等.温汤处理种球对亚洲百合幼苗耐热性的影响[J].中国农业科学,2010,43(6):1314-1320.
- [16] 刘雪凝,杨利平.热激锻炼对亚洲百合耐热性的诱导[J].东北林业大学学报,2011,39(5):64-66.
- [17] 向地英,张钢,杨利平.热激诱导对高温胁迫下百合相对电导率及电阻抗参数的影响[J].西北农业学报,2014,23(9):189-195.
- [18] 陈秋明,尹慧,李晓艳,等.高温胁迫下外源水杨酸对百合抗氧化系统的影响[J].中国农业大学学报,2008,13(2):44-48.
- [19] 李利红,杨亚军,赵会杰,等.外源Ca²⁺对高温强光胁迫下灌浆期小麦叶片光合机构运转的影响[J].植物生理学通讯,2009,45(9):851-854.
- [20] 杨卫星,黑刚刚,李姣姣,等.外源Ca²⁺对高温胁迫下半夏光合参数及有效成分积累的影响[J].中国中药杂志,2014,39(14):2614-2618.
- [21] 陈芳芳,郝福玲,汪天,等.Ca²⁺处理对不同藤本月季品种的耐热性影响[J].安徽农业大学学报,2013,40(3):400-405.
- [22] 赵冰,付玉梅,丁惠惠,等.Ca²⁺处理对秦岭高山杜鹃耐热性的影响[J].西北林学院学报,2010,25(6):29-32.
- [23] 陈贵林,贾开志.钙和钙调素拮抗剂对高温胁迫下茄子幼苗抗氧化系统的影响[J].中国农业科学,2005,38(1):197-202.
- [24] 熊瑛,吕强,刘素云,等.ABA及Ca²⁺/CaM信使系统对高温逆境下棉苗根系生长的调控[J].干旱地区农业研究,2010,28(6):165-169.
- [25] 程千钉,刘桂芳,杨利平.百合新种质苗期耐热性比较[J].河北农业大学学报,2012,35(5):34-39.
- [26] 李蕊,杨利平,刘雪凝.百合杂交种及亲本耐热性比较[J].中国农业科学,2011,44(6):1201-1209.
- [27] 崔光芬,王祥宁,蒋亚莲,等.OT百合新品种‘金门’[J].园艺学报,2014,41(7):1517-1518.
- [28] 冯丽媛,王文和,赵祥云,等.景观应用百合新品种‘云景红’[J].园艺学报,2014,41(6):1275-1276.
- [29] 尚爱芹,高永鹤,段龙飞,等.逆境诱导转录因子At-DREB2A转化百合的研究[J].园艺学报,2014,41(1):149-156.
- [30] GONG B H, YI J, WU J, et al. LIHSFA1, a novel heat stress transcription factor in lily (*Lilium longiflorum*), can interact with LIHSFA2 and enhance the thermotolerance of transgenic *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Cell Reports, 2014, 33(9):1519-1533.
- [31] XIN H B, ZHANG H, CHEN L, et al. Cloning and characterization of *Hsf42* from lily (*Lilium longiflorum*) [J]. Plant Cell Reports, 2010, 29(8):875-885.
- [32] XIN H B, ZHANG H, ZHONG X H, et al. Over-expression of *LHsfA2b*, a lily heat shock transcription factor lacking trans-activation activity in yeast, can enhance tolerance to heat and oxidative stress in transgenic *arabidopsis* seedlings [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2017, 130(3):617-629.
- [33] 宫本贺.百合热激转录因子L1HSFA1及其下游热激蛋白L1HSP70响应热胁迫的机制解析[D].北京:中国农业大学,2014.
- [34] MU C J, ZHANG S J, YU G Z, et al. Overexpression of small heat shock protein *LimHSP16.45* in *Arabidopsis* enhances tolerance to abiotic stresses [J]. PLoS ONE, 2013, 8(12):e82264.
- [35] WANG W, VINOCUR B, SHOSEYOV O, et al. Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response [J]. Trends in Plant Science, 2004, 9(5):244-252.