

## 高温胁迫下五种杜鹃花属植物的 生理变化及其耐热性比较

张乐华<sup>1</sup>, 孙宝腾<sup>2</sup>, 周广<sup>1,2</sup>, 王书胜<sup>1</sup>, 李晓花<sup>1</sup>, 单文<sup>1</sup>

(1. 江西省、中国科学院庐山植物园, 江西庐山 332900; 2. 南昌大学 生命科学与食品工程学院, 南昌 330031)

**摘要:** 高温是制约分布于较高海拔地区杜鹃花迁地保育与园林应用的重要因子。为探讨杜鹃花属植物的高温致伤机理, 该实验以隶属不同亚属的白花杜鹃、羊躑躅、毛棉杜鹃、红滩杜鹃及红棕杜鹃 4 年生实生苗为材料, 通过人工气候箱的盆栽实验, 研究了 30 ℃、38 ℃ 高温胁迫下其叶片生理生化指标的变化, 并利用隶属函数法及系统聚类分析法对其种间耐热性进行了综合评价。结果表明: 高温胁迫下, 5 种杜鹃叶片的过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性及脯氨酸(Pro)、过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)、丙二醛(MDA)含量均随着胁迫温度的升高而增大; 超氧化物歧化酶(SOD)活性在 30 ℃ 轻度胁迫时均小幅度上升, 而 38 ℃ 重度胁迫时下降。2 个高温条件下, SOD、CAT 的变化幅度与杜鹃种间耐热性总体呈正相关, 而 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、MDA 增幅与种间耐热性呈负相关; Pro 增幅在 30 ℃ 轻度胁迫时与种间耐热性呈负相关, 而 38 ℃ 重度胁迫时与耐热性呈正相关; APX 增幅与种间耐热性的相关性较弱。隶属函数与聚类分析综合评判得出 5 种杜鹃耐热性强弱顺序为: 白花杜鹃 > 羊躑躅、毛棉杜鹃 > 红滩杜鹃 > 红棕杜鹃, 与其田间耐热性表现一致。

**关键词:** 杜鹃花属; 高温胁迫; 生理生化指标; 耐热性; 隶属函数; 聚类分析

**中图分类号:** Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2011)05-0651-08

## Physiological changes and heat tolerance comparison of five *Rhododendron* species under high-temperature stress

ZHANG Le-Hua<sup>1</sup>, SUN Bao-Teng<sup>2</sup>, ZHOU Guang<sup>1,2</sup>,  
WANG Shu-Sheng<sup>1</sup>, LI Xiao-Hua<sup>1</sup>, SHAN Wen<sup>1</sup>

(1. Lushan Botanical Garden, Jiangxi Province and Chinese Academy of Sciences, Lushan 32900, China;

2. College of Life Science and Food Engineering, Nanchang University, Nanchang 330031, China)

**Abstract:** High temperature is the important constraining factor of *Rhododendron* in *ex situ* conservation and landscape application. In order to reveal the injury of mechanism of five *Rhododendron* species under high-temperature stress, *R. mucronatum*, *R. molle*, *R. moulmianense*, *R. chihsinianum* and *R. rubiginosum* which belong to different subg. *Rhododendron* were used in the experiment. Four years-old seedlings of these five species were planted in artificial climate chambers and their changes of physiological and biochemical index were determined under high-temperature of 30 ℃ and 38 ℃ stress, and the heat tolerance was comprehensively evaluated with fuzzy subordinate function and system cluster analysis. The results showed that the activities of catalase(CAT), ascorbate peroxidase(APX) in leaves of five species were increased with temperature becoming higher, so do the contents of proline(Pro), hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and malondi-

收稿日期: 2010-12-18 修回日期: 2011-04-06

基金项目: 科技部国际科技合作项目(2007DFA31410); 江西省国际科技合作项目(2007BN18700); 江西省星火计划项目(2008CX06500)[Supported by International Science and Technology Cooperative Project of the Ministry of Science and Technology(2007DFA31410); International Science and Technology Cooperative Project of Jiangxi Province(2007BN18700); Spark Project of Jiangxi Province(2008CX06500)]

作者简介: 张乐华(1966-), 男, 江西进贤人, 硕士, 研究员, 从事杜鹃花属植物的引种驯化及保育技术研究, (E-mail)lehuaz@vip.sohu.com.

aldehyde(MDA). The activity of superoxide dismutase(SOD)increased slightly under 30 °C and decreased under 38 °C. The variational extent of SOD and CAT had positive correlation with the heat tolerance and the increase extent of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and MDA had the negative correlation under high temperature. The increase extent of Pro had negative correlation with the heat tolerance under 30 °C and positive correlation under 38 °C. There was weak correlation between the increase extent of APX and the heat tolerance. The comprehensive evaluation of subordinate function and cluster analysis indicate that the heat tolerance sequence of five *Rhododendron* species was *R. mucronatum*>*R. molle* and *R. moulmainense*>*R. chihsinianum*>*R. rubiginosum*, in accordance with their behavior in the field.

**Key words:** *Rhododendron*; high-temperature stress; physiological and biochemical index; heat tolerance; subordinate function; cluster analysis

杜鹃花(*Rhododendron*)是世界著名的高山花卉和中国十大名花,具有极高的观赏和园林应用价值。我国是世界杜鹃花的起源和分布中心,有野生杜鹃 571 种,其中特有种 409 种,主要分布于西南高海拔地区(Wu 等,2005)。受遗传机制的制约,该属植物性喜凉爽湿润环境,耐热性较差,高温热害是制约其迁地保育与园林应用的主要因子(张乐华,2004);但杜鹃花种类繁多、遗传资源丰富,不同的种间其生态习性及其耐热性存在较大差异。故此,开展杜鹃花高温胁迫机制研究对其耐热性鉴定及耐热资源的挖掘与利用具有重要意义。

高温引发植物体代谢失衡和活性氧的大量产生,加剧细胞膜脂过氧化作用,从而影响生物膜及其它大分子结构与功能,严重时导致细胞受损和植株死亡,而植物能启动抗氧化系统等应急机制,以减轻

活性氧对植物的伤害(Wahid 等,2007;姬承东等,2007)。目前,国内外针对杜鹃花逆境生理研究的报道较少,主要集中于自然降温条件下体内生理特征变化、光合生理响应及叶片感热运动对低温的适应(Wang 等,2009;鲍思伟 2005;Harris 等,2006);同时笔者等(2010)、柯世省等(2007)及仪民等(2008)分别探讨了单个杜鹃种在高温、水分及 SO<sub>2</sub> 胁迫下的抗氧化保护机制,而针对多个物种的耐热性比较迄今未见报道。为探讨杜鹃花属植物的高温致伤机理及种间耐热性差异,我们按杜鹃花属 5 个亚属的分类系统(Cullen 等,1978,1979)每亚属选取 1 种,采用人工气候箱内的盆栽实验,测定了三种温度条件下其叶片的生理生化指标值,并运用隶属函数法及系统聚类分析法对其种间耐热性进行了综合评价,以期杜鹃花属植物的耐热性鉴定与评价提供依据。

表 1 5 种杜鹃花分类地位、形态特征及分布

Table 1 Phylogenetic position, biological characters and distribution of five *Rhododendron* species

物种 Species	分类 Taxonomy	形态特征 Biological characters	分布 Distribution
白花杜鹃 <i>R. mucronatum</i>	映山红亚属 subg. <i>Tsutsusi</i>	半常绿灌木,叶小、纸质	长江以南分布,各大城市常见栽培
羊躑躅 <i>R. molle</i>	羊躑躅亚属 subg. <i>Pentanthera</i>	落叶灌木,叶较小、纸质	长江流域广布种,分布于海拔 600~1 200 m 山坡草地、灌丛及林下
毛棉杜鹃 <i>R. moulmainense</i>	马银花亚属 subg. <i>Azaleastrum</i>	常绿灌木至小乔木,叶较大、厚革质	长江流域广布种,分布于海拔 700~1 500 m 灌丛或疏林中
红滩杜鹃 <i>R. chihsinianum</i>	常绿杜鹃亚属 subg. <i>Hymenanthes</i>	常绿小乔木,叶大、革质	广西北部 and 东北部,分布于海拔 850~1 800 m 疏林中或山石上
红棕杜鹃 <i>R. rubiginosum</i>	杜鹃亚属 subg. <i>Rhododendron</i>	常绿灌木,叶较大、薄革质	四川、云南及西藏,分布于海拔为 2 800~3 500 m 的林缘、林下

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与处理

试验材料取自江西省、中国科学院庐山植物园,为同一批次播种的 4 年生实生苗。各物种的分类地位、形态特征及分布见表 1。4 月初将大小一致、生长健壮的苗木栽植于高 9 cm、上口径 11.5 cm、下口

径 8.5 cm 的塑料盆中,每盆 1 株,栽培基质为庐山林下表层腐殖土(主要理化性状:有机质 10.87%,腐殖质 6.63%,速氮、速磷、速钾分别为 266.20、22.17、83.65 mg/kg,pH 值 4.79),在冷温室中养护管理,3 个月后进行实验处理。

实验于人工气候箱中进行,采用 22 °C(对照)、30 °C(轻度高温胁迫)、38 °C(重度高温胁迫)3 个温度梯度处理,培养箱空气相对湿度 80%、光照 12/12

h(光/暗)、光强约  $120 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。为减轻高温引发的水分胁迫伤害,盆底设置托盘(水深 1~1.5 cm)补充基质水分并每天补水保湿。每处理设 3 次重复,每重复 6 株,6 d 后取当年生功能叶测定相关生理生化指标。

## 1.2 测定指标及其方法

1.2.1 抗氧化酶活性 SOD 活性测定采用 Spychala 等(1990)的方法,以抑制氮蓝四唑(NBT)光化还原 50% 为一个酶活性单位,表示为  $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ ; CAT 活性测定采用 Turkan 等(2005)的方法,以每分钟  $\text{OD}_{240}$  值变化 0.1 为一个酶活力单位,表示为  $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{min}^{-1}$ ; APX 活性测定采用 Nakano 等(1981)的方法,以每分钟  $\text{OD}_{290}$  变化 0.01 为一个酶活性单位,表示为  $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

1.2.2 脯氨酸(Pro)含量 参考酸性茚三酮法(张殿忠等,1990),并进行改进。取鲜叶 0.5 g,加入石英砂及 3% 磺基水杨酸 5 mL 研磨,沸水浴 10 min,冷却后  $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,取上清液 1 mL 并加入 1 mL 冰醋酸、1 mL 蒸馏水和 2 mL 酸性茚三酮再沸水煮 60 min,冷却,加入 4 mL 甲苯,震荡 30 s,静置分层,取上层液于 520 nm 波长处测吸光值  $\text{OD}_{520}$ ,根据标准曲线计算脯氨酸含量,单位为  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 。

1.2.3 过氧化氢( $\text{H}_2\text{O}_2$ )含量 采用 Velikova 等(2000)的方法。于 390 nm 处测其吸光值。根据标准曲线求得  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量,单位为  $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 。

1.2.4 丙二醛(MDA)含量 参考赵世杰等(1994)的方法,并进行改进。称取叶片 0.5 g,加入含 10% 三氯乙酸(TCA)和 0.25% 硫代巴比妥酸(TBA)的混合液 5 mL 及少许石英砂研磨成匀浆,沸水中加热 30 min,冰浴速冷,  $10000 \text{ g}$  离心 10 min,取上清液于分光光度计上分别测定 450 nm、532 nm 和 600 nm 处的吸光值  $\text{OD}_{450}$ 、 $\text{OD}_{532}$  和  $\text{OD}_{600}$ ,根据公式  $[6.45 \times (\text{OD}_{532} - \text{OD}_{600}) - 0.56 \times \text{OD}_{450}]$  计算 MDA 含量,单位为  $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 。

## 1.3 数据处理

采用 Excel 2007 对实验数据进行计算整理,用 SPSS 17 软件进行同一物种、不同处理间各生理指标的差异性检验。

各指标耐热系数 = 高温胁迫下的指标测定值 / 对照指标测定值(王改萍等,2009;鲁守平等,2007)。

耐热性综合评价:采用数学分析隶属函数法及系统聚类法(王改萍等,2009;鲁守平等,2007)对测定的各项指标进行转换和综合分析评价。各指标隶

属函数计算公式为:  $U(X_{ij}) = (X_{ij} - X_{min}) / (X_{max} - X_{min})$ ,式中  $U(X_{ij})$  为测定指标的耐热隶属函数值,  $X_{ij}$  为各材料的指标测定值,  $X_{min}$  为各材料中测定指标的最小值,  $X_{max}$  为各材料中测定指标的最大值。其中  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、MDA 与耐热性呈负相关,用反隶属函数计算其耐热隶属函数值,其计算公式为:  $U(X_{ij}) = 1 - (X_{ij} - X_{max}) / (X_{max} - X_{min})$ 。然后将各指标的耐热隶属函数值进行累加,求平均值,平均值越大,耐热性越强。

## 2 结果与分析

### 2.1 5 种杜鹃的田间耐热性表现

植物的分布与生境是其长期适应环境而演替与进化的结果。5 种杜鹃的分类地位不同,其分布海拔、生境及生态习性、耐热性存在较大差异。笔者多年的引种驯化及推广研究发现,白花杜鹃作为长江以南低海拔的广布种(实际为栽培种),在中海拔的庐山地区(栽培地海拔 1000~1200 m)及低海拔的南昌、上海、广州等城市栽培时适应性极佳,并已广泛应用于城市公园、街道及路旁绿化,耐热性强;羊蹄躅、毛棉杜鹃为长江流域中、低海拔分布种,在庐山栽培适应性良好,推广到低海拔城市栽培时则多因夏季高温而出现热害(叶片失绿、反卷、下垂,叶尖、叶缘轻度焦枯),宜栽植于林下、沟谷旁等阴凉阴湿的环境中,耐热性较强;红滩杜鹃为广西北部中海拔的区域性分布种,在庐山栽培适应性较好,但难以适应低海拔的城市环境,耐热性相对较弱;红棕杜鹃为我国西南高海拔地区分布种,在庐山宜栽植于林缘、林下等阴凉的小生境中,开阔地带栽培时易出现热害,适应性较差,耐热性弱。

### 2.2 高温胁迫对叶内保护酶活性的影响

2.2.1 SOD 酶活性的变化 逆境胁迫会导致植物体内活性氧的积累,从而对细胞产生氧化伤害。SOD 是植物抗氧化保护系统的第一道防线,主要功能是清除  $\text{O}_2^-$ ,其活性大小可反映植物对逆境的适应能力。从表 2 可以看出,在  $30^\circ\text{C}$  胁迫时,5 种杜鹃叶片 SOD 活性均有不同程度的增加,但不同的种间存在一定差异,增幅由大至小依次为羊蹄躅(2.77%)、白花杜鹃(1.18%)、毛棉杜鹃(0.87%)、红滩杜鹃(0.68%)和红棕杜鹃(0.26%); $38^\circ\text{C}$  胁迫时,5 种杜鹃 SOD 活性均有不同程度的下降(低于对照处理),降幅由小至大依次为白花杜鹃(1.

18%)、毛棉杜鹃(1.77%)、红滩杜鹃(2.30%)、羊蹄躅(3.27%)和红棕杜鹃(7.90%)。2个高温条件下,除羊蹄躅的SOD增幅及降幅略大外,其它杜鹃SOD变化幅度与种间耐热性一致。方差分析表明,5种杜鹃38℃与30℃处理间均达到极显著差异( $P < 0.01$ );38℃与对照处理间除白花杜鹃差异不显著( $P > 0.05$ )、羊蹄躅差异显著( $P < 0.05$ )外,其它3种杜鹃呈极显著差异( $P < 0.01$ );30℃与对照处理间除羊蹄躅存在显著差异( $P < 0.05$ )外,其它差

异不显著( $P > 0.05$ )。可见,耐热性强的杜鹃在30℃轻度胁迫时SOD酶活性增幅相对较大,而38℃重度胁迫时降幅小,有利于活性氧的清除和抵御高温伤害;而耐热性弱的种相反,易引发膜脂过氧化伤害。

2.2.2 CAT酶活性的变化 5种杜鹃叶片的CAT活性均随着胁迫温度的升高而增强(表2)。在30℃胁迫时,CAT增幅由大至小依次为白花杜鹃(31.54%)、毛棉杜鹃(24.94%)、羊蹄躅(22.01%)、红滩杜鹃(16.22%)和红棕杜鹃(12.89%);38℃胁

表2 高温胁迫对5种杜鹃叶片SOD、CAT及APX酶活性的影响  
Table 2 Effect of high-temperature stress on the activities of SOD, CAT and APX in leaves of five *Rhododendron* species

物种 Species	处理 Treatment	超氧化物歧化酶 SOD		过氧化氢酶 CAT		抗坏血酸过氧化物酶 APX	
		活性 Activity (U · g <sup>-1</sup> FW)	耐热系数 Tolerance coefficients	活性 Activity (U · g <sup>-1</sup> FW · min <sup>-1</sup> )	耐热系数 Tolerance coefficients	活性 Activity (U · g <sup>-1</sup> FW · min <sup>-1</sup> )	耐热系数 Tolerance coefficients
白花杜鹃	22℃	380.1563abAB	1.0000	247.2222cC	1.0000	1916.6667cC	1.0000
<i>R. mucronatum</i>	30℃	384.6415aA	1.0118	325.2083bB	1.3154	2270.0000bB	1.1843
	38℃	375.6711bB	0.9882	445.0000aA	1.8000	5096.6667aA	2.6591
羊蹄躅 <i>R. molle</i>	22℃	353.1091bAB	1.0000	229.7222cB	1.0000	1610.0000cC	1.0000
	30℃	362.8950aA	1.0277	280.2778bB	1.2201	2166.6667bB	1.3458
	38℃	341.5562cB	0.9673	395.5556aA	1.7219	4193.3333aA	2.6046
毛棉杜鹃	22℃	375.3993aA	1.0000	213.8889cB	1.0000	1573.3333bB	1.0000
<i>R. moulmianense</i>	30℃	378.6612aA	1.0087	267.2222bAB	1.2494	1816.6667bB	1.1547
	38℃	368.7394bB	0.9823	325.8333aA	1.5234	4966.6667aA	3.1568
红滩杜鹃	22℃	378.9331aA	1.0000	229.4444cB	1.0000	1550.0000cC	1.0000
<i>R. chihsinianum</i>	30℃	381.5155aA	1.0068	266.6667bAB	1.1622	1853.3333bB	1.1957
	38℃	370.2345bB	0.9770	309.1667aA	1.3475	3680.0000aA	2.3742
红棕杜鹃	22℃	362.8950aA	1.0000	232.9167cB	1.0000	2316.6667cC	1.0000
<i>R. rubiginosum</i>	30℃	363.8464aA	1.0026	262.9444bB	1.1289	2736.6667bB	1.1813
	38℃	334.2168bB	0.9210	316.9444aA	1.3608	6150.0000aA	2.6547

注:同列不同小写字母表示同一物种不同处理间在 $P < 0.05$ 水平上差异显著;不同大写字母表示同一物种不同处理间在 $P < 0.01$ 水平上差异显著。下同。

Note: Different small letters in the same column indicate significant difference at  $P < 0.05$ , among treatments in the same species; Different capital letters indicate significant difference at  $P < 0.01$ . The same below.

胁迫时,增幅依次为白花杜鹃(80.00%)、羊蹄躅(72.19%)、毛棉杜鹃(52.34%)和红棕杜鹃(36.08%)、红滩杜鹃(34.75%)。30℃胁迫时CAT活性增幅与其田间耐热性表现一致,38℃胁迫时除红滩杜鹃外,其它杜鹃CAT增幅也与其田间耐热性一致。方差分析表明,5种杜鹃38℃与对照处理间均达到极显著差异( $P < 0.01$ );30℃与对照处理间除白花杜鹃呈极显著差异( $P < 0.01$ )外,其它均为显著差异( $P < 0.05$ );38℃与30℃处理间除毛棉杜鹃、红滩杜鹃呈显著差异( $P < 0.05$ )外,其它3种杜鹃呈极显著差异( $P < 0.01$ )。

2.2.3 APX酶活性的变化 5种杜鹃的APX活性均随着胁迫温度的升高而增强(表2)。30℃处理时

除羊蹄躅增幅略大(34.58%)外,其它4种杜鹃APX活性增幅均较小且种间差异不大;38℃处理时耐热性较强的毛棉杜鹃增幅较大(达215.68%),耐热性较弱的红滩杜鹃增幅较小(137.42%),白花杜鹃、羊蹄躅及红棕杜鹃增幅居中,APX增幅与种间耐热性强弱的关联性较弱。方差分析表明,除毛棉杜鹃30℃与对照处理间差异不显著( $P > 0.05$ )外,其它处理间呈极显著差异( $P < 0.01$ )。

### 2.3 高温胁迫对叶内Pro含量的影响

随着胁迫温度的升高,5种杜鹃叶片Pro含量均不断积累(表3)。在30℃胁迫时,Pro含量增幅相对较小,依次为红棕杜鹃(44.06%)、红滩杜鹃(37.43%)、毛棉杜鹃(31.00%)、羊蹄躅(30.02%)

和白花杜鹃(24.37%),其增幅与种间耐热性呈负相关。在38℃重度胁迫时,白花杜鹃、羊躑躅、红滩杜鹃 Pro 含量大幅增加,而毛棉杜鹃、红棕杜鹃增幅较小,尤其是由30℃上升到38℃时耐热性强的白花杜鹃 Pro 增幅达106.96%,而耐热性弱的红棕杜鹃仅增加18.08%。方差分析显示,羊躑躅、毛棉杜鹃、红滩杜鹃在3个温度间均呈显著差异( $P < 0.01$ );白花杜鹃38℃与30℃、对照间达到极显著

差异( $P < 0.01$ ),而30℃与对照间仅为显著差异( $P < 0.05$ );红棕杜鹃38℃、30℃与对照间达到极显著差异( $P < 0.01$ ),而38℃与30℃处理间为显著差异( $P < 0.05$ )。可见,在高温胁迫下杜鹃花叶片能主动积累 Pro,并随着胁迫程度的加重而增加,以减轻高温对细胞膜的伤害;38℃重度胁迫时,白花杜鹃 Pro 含量大幅增加、而红棕杜鹃增幅较小,说明耐热性强的种在重度胁迫时积累的 Pro 更多,渗透

表3 高温胁迫对5种杜鹃叶片脯氨酸、过氧化氢及丙二醛含量的影响

Table 3 Effect of high-temperature stress on the contents of Pro,  $H_2O_2$  and MDA in leaves of five *Rhododendron* species

物种 Species	处理 Treatment	脯氨酸 Pro		过氧化氢 $H_2O_2$		丙二醛 MDA	
		含量 Content ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ FW)	耐热系数 Tolerance coefficients	含量 Content ( $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ FW)	耐热系数 Tolerance coefficients	含量 Content ( $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ FW)	耐热系数 Tolerance coefficients
白花杜鹃	22℃	64.2554cB	1.0000	1.2597bB	1.0000	0.0565cC	1.0000
<i>R. mucronatum</i>	30℃	79.9122bB	1.2437	1.3236bB	1.0507	0.0625bB	1.1058
	38℃	165.3870aA	2.5739	1.7276aA	1.3714	0.0733aA	1.2970
羊躑躅 <i>R. molle</i>	22℃	67.6187cC	1.0000	1.2291cB	1.0000	0.0252cC	1.0000
	30℃	87.9146bB	1.3002	1.4048bB	1.1429	0.0326bB	1.2922
	38℃	141.7278aA	2.0960	1.9389aA	1.5775	0.0491aA	1.9462
毛棉杜鹃	22℃	56.4849cC	1.0000	1.1984cC	1.0000	0.0939bB	1.0000
<i>R. moulmianense</i>	30℃	73.9974bB	1.3100	1.4184bB	1.1835	0.1004bAB	1.0691
	38℃	88.3785aA	1.5646	1.9464aA	1.6241	0.1100aA	1.1711
红滩杜鹃	22℃	65.0672cC	1.0000	0.7240cC	1.0000	0.0471cB	1.0000
<i>R. chihsinianum</i>	30℃	89.4223bB	1.3743	1.0012bB	1.3829	0.0537bB	1.1409
	38℃	169.6781aA	2.6077	1.1334aA	1.5655	0.0726aA	1.5422
红棕杜鹃	22℃	54.7453cC	1.0000	0.5006cC	1.0000	0.0540cC	1.0000
<i>R. rubiginosum</i>	30℃	78.8684bA	1.4406	0.8239bB	1.6459	0.0767bB	1.4188
	38℃	93.1335aA	1.7012	1.0235aA	2.0446	0.0892aA	1.6508

调节能力更强,从而增强了植物对高温的抵御能力。

#### 2.4 高温胁迫对叶内 $H_2O_2$ 和 MDA 含量的影响

植物受到高温胁迫时,细胞内自由基大量产生,进而诱导  $H_2O_2$  等有毒物质积累并直接或间接地启动膜质过氧化作用,导致细胞膜受损和电解质外渗。MDA 是膜脂过氧化作用的最终产物,其质量分数变化是细胞脂膜损伤程度的重要标志之一。

2.4.1  $H_2O_2$  含量的变化 5种杜鹃叶片  $H_2O_2$  含量均随着胁迫温度的升高而增加(表3)。在30℃胁迫时,  $H_2O_2$  含量增幅依次为红棕杜鹃(64.59%)、红滩杜鹃(38.29%)、毛棉杜鹃(18.35%)、羊躑躅(14.29%)和白花杜鹃(5.07%),其增幅大小与种间耐热性呈负相关。38℃胁迫时,白花杜鹃  $H_2O_2$  含量增幅较小(仅比对照增加37.14%),而红棕杜鹃则大幅增加(比对照增加104.46%),其它3种杜鹃增幅居中且种间差异较小。方差分析显示,毛棉杜鹃、红滩杜鹃、红棕杜鹃

在3个温度间均呈显著差异( $P < 0.01$ );白花杜鹃38℃与30℃、对照间达到极显著差异( $P < 0.01$ ),而30℃与对照间差异不显著( $P > 0.05$ );羊躑躅38℃与30℃、对照间达到极显著差异( $P < 0.01$ ),而30℃与对照间为显著差异( $P < 0.05$ )。由此表明,高温会诱导活性氧的大量产生,耐热性弱的种  $H_2O_2$  增幅较大,植株受膜脂过氧化伤害较重,而耐热性强的种  $H_2O_2$  增幅较小,受高温伤害较轻。

2.4.2 MDA 含量的变化 随着胁迫温度的升高,5种杜鹃叶片 MDA 含量均有不同程度的增加(表3)。2个高温胁迫下耐热性较强的白花杜鹃、毛棉杜鹃叶片 MDA 增幅均明显小于耐热性弱的红棕杜鹃、红滩杜鹃;羊躑躅虽然在2个高温条件下 MDA 增幅均较大,但其绝对含量较低。方差分析显示,白花杜鹃、羊躑躅、红棕杜鹃在3个温度间均呈显著差异( $P < 0.01$ );毛棉杜鹃38℃与30℃、对照间分别达到显著差异( $P < 0.05$ )和极显著差异( $P < 0.01$ ),

而 30 ℃ 与对照间差异不显著 ( $P > 0.05$ ); 红滩杜鹃 38 ℃ 与 30 ℃、对照间达到极显著差异 ( $P < 0.01$ ), 30 ℃ 与对照间为显著差异 ( $P < 0.05$ )。可见, 随着胁迫温度的升高, 5 种杜鹃 MDA 积累增多, 细胞膜脂过氧化作用加重; 耐热性强的白花杜鹃、毛棉杜鹃 MDA 增幅小, 表明其膜脂过氧化水平较低, 细胞膜受损程度相对较小; 而红棕杜鹃、红滩杜鹃在高温胁迫、尤其是 38 ℃ 重度胁迫时 MDA 大量积累, 说明体内膜脂过氧化水平较高, 植株受害较重。

### 2.5 5 种杜鹃耐热性综合评价

植物受到逆境胁迫后, 其生理变化错综复杂并受多种因素的综合影响, 孤立地用某一种指标表示这一复杂生理过程, 难以真实地反映植物的抗逆性强弱, 而运用隶属函数法综合评价植物的抗逆性相

对客观和科学(王改萍等, 2009)。采用数学分析的隶属函数法对表 2 和表 3 中各指标的耐热系数进行转换, 分别计算 30 ℃ 轻度胁迫和 38 ℃ 重度胁迫时各指标的隶属函数值, 并对每种杜鹃各指标的隶属函数值进行累加求其平均值(表 4), 综合评价 5 种杜鹃的耐热性强弱。表 4 可见, 不同胁迫强度下, 5 种杜鹃的耐热隶属函数值排序有所不同, 在 30 ℃、38 ℃ 胁迫下其耐热能力由强到弱分别为: 羊躑躅 > 白花杜鹃 > 毛棉杜鹃 > 红滩杜鹃 > 红棕杜鹃, 白花杜鹃 > 毛棉杜鹃 > 羊躑躅 > 红滩杜鹃 > 红棕杜鹃。除羊躑躅外, 其它 4 种杜鹃耐热能力排序相同, 说明杜鹃种间对不同胁迫强度的耐受程度及生理响应有一定差异。

聚类分析也是植物抗逆性鉴定的常用方法。参

表 4 高温胁迫下 5 种杜鹃各指标的隶属函数值 U(X)

Table 4 Subordinate function values of each index of five *Rhododendron* species under high-temperature stress

处理 Treatment	物种 Species	各指标的隶属函数值 U(X) of each index						U(X) 平均值 Average	排序 Sequencing
		SOD	CAT	APX	Pro	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	MDA		
30 ℃	白花杜鹃 <i>R. mucronatum</i>	0.3657	1.0000	0.1554	0.0000	1.0000	0.8951	0.5694	2
	羊躑躅 <i>R. molle</i>	1.0000	0.4887	1.0000	0.2868	0.8450	0.3622	0.6638	1
	毛棉杜鹃 <i>R. moulmainense</i>	0.2418	0.6456	0.0000	0.3370	0.7769	1.0000	0.5002	3
	红滩杜鹃 <i>R. chihsinianum</i>	0.1671	0.1786	0.2148	0.6632	0.4418	0.7947	0.4100	4
	红棕杜鹃 <i>R. rubiginosum</i>	0.0000	0.0000	0.1394	1.0000	0.0000	0.0000	0.1899	5
38 ℃	白花杜鹃 <i>R. mucronatum</i>	1.0000	1.0000	0.3641	0.9676	1.0000	0.8376	0.8615	1
	羊躑躅 <i>R. molle</i>	0.6888	0.9236	0.2944	0.5094	0.6939	0.0000	0.5183	3
	毛棉杜鹃 <i>R. moulmainense</i>	0.9116	0.3887	1.0000	0.0000	0.6246	1.0000	0.6542	2
	红滩杜鹃 <i>R. chihsinianum</i>	0.8340	0.0000	0.0000	1.0000	0.7117	0.5212	0.5112	4
	红棕杜鹃 <i>R. rubiginosum</i>	0.0000	0.0294	0.3584	0.1309	0.0000	0.3812	0.1500	5

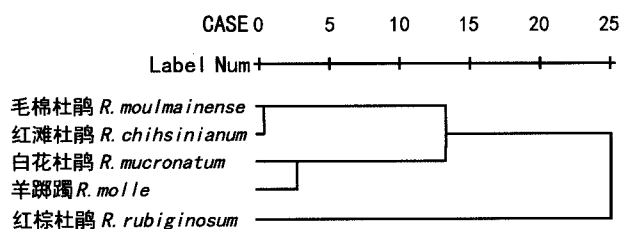


图 1 30 ℃ 温度条件下 5 种杜鹃系统聚类分析  
Fig. 1 Cluster analysis of five *Rhododendron* species under 30 ℃

照鲁守平等(2007)的方法, 对表 2 和表 3 中 30 ℃、38 ℃ 胁迫下各生理指标的测定值进行欧氏距离系统聚类(图 1, 图 2)。由图 1 可见, 30 ℃ 胁迫时在相似性系数 5 处可将 5 种杜鹃划分为 3 类, 其中毛棉杜鹃、红滩杜鹃的欧氏距离接近, 可划分为一个等级, 白花杜鹃、羊躑躅可划分为另一个等级, 而红棕杜鹃单独成为一个等级。在 38 ℃ 胁迫时, 白花杜

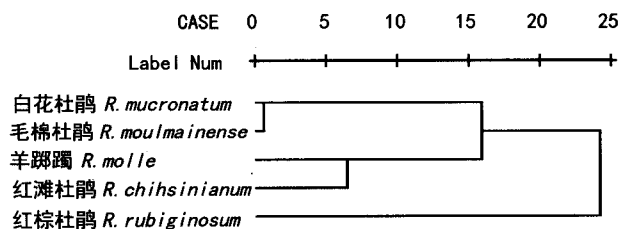


图 2 38 ℃ 温度条件下 5 种杜鹃系统聚类分析  
Fig. 2 Cluster analysis of five *Rhododendron* species under 38 ℃

鹃、毛棉杜鹃聚为一个耐热等级(图 2), 羊躑躅、红滩杜鹃聚为另一个耐热等级, 红棕杜鹃单独成为一个耐热等级。结果表明, 不同高温胁迫下聚类分析中一些杜鹃归属的耐热等级略有不同: 羊躑躅在 30 ℃ 胁迫时划分为耐热能力强的等级, 而在 38 ℃ 胁迫时为耐热性一般的等级; 毛棉杜鹃在 30 ℃ 胁迫时划分为耐热性一般的等级, 而在 38 ℃ 胁迫时上升为耐热

性强的等级; 白花杜鹃、红滩杜鹃及红棕杜鹃在 2 个高温条件下其耐热等级不变, 系统聚类分析结果与同一温度条件下的隶属函数评价结果相吻合。

### 3 讨论

#### 3.1 耐热性与叶片保护酶活性的关系

逆境胁迫下, 植物体内活性氧的产生与清除平衡被打破, 导致活性氧积累。SOD、CAT 和 APX 是植物体内清除活性氧的重要保护酶。SOD 活性受  $O_2^-$  的诱导, 歧化  $O_2^-$  为  $H_2O_2$  和  $O_2$ , 生成的  $H_2O_2$  又诱导 CAT 等活性的增强。CAT 主要清除叶绿体外的  $H_2O_2$ , SOD 和 CAT 的共同作用把体内潜在危害的  $O_2^-$  和  $H_2O_2$  转化为无害的  $H_2O$  和  $O_2$ , 并能减少  $\cdot OH$  的形成(姬承东等, 2007), 而 APX 被认为是叶绿体内清除  $H_2O_2$  的关键酶。大量研究表明, 高温胁迫下保护酶活性诱导增强, 其活性大小与植物的耐热性密切相关(姬承东等, 2007; 许桂芳等, 2009; 李敏等, 2007)。本研究结果表明, 30 °C 轻度胁迫时 5 种杜鹃 SOD 酶活性均有所增强, 但相对于其它保护酶, 其活性增幅较小, 可能与杜鹃花 SOD 酶对温度逆境反应不敏感有关(Wang 等, 2009); 38 °C 重度胁迫时 SOD 酶活性均有不同程度的下降, 可能是高温诱导了活性氧的大量产生, 加剧了细胞膜脂过氧化作用, 从而抑制了 SOD 活性表达, 这一结果与张朝阳等(2009)的报道一致。高温胁迫下, 5 种杜鹃 CAT 酶活性均随着温度的升高而增强, 对清除活性氧、减轻高温诱发的活性氧伤害有一定的保护作用, 这一结果也与杜鹃花的其它逆境生理研究相似(Wang 等, 2009; 鲍思伟, 2005)。本研究还发现, 高温胁迫下 SOD、CAT 活性变化趋势与 5 种杜鹃的田间耐热性表现呈正相关, 这进一步说明耐热性较强的杜鹃在高温逆境下有相对较高的 SOD、CAT 活性, 有利于体内活性氧的清除和抵御高温伤害; 而耐热性弱的种在 38 °C 重度胁迫时 SOD 活性降幅较大、CAT 增幅较小, 清除活性氧的能力较弱, 进而加剧了膜脂过氧化伤害。高温胁迫下 5 种杜鹃 APX 酶活性均增强, 特别是在 38 °C 重度胁迫时大幅增加, 有利于减轻活性氧的伤害, 但其增幅与种间耐热性的相关性较弱, 故认为 APX 不适宜作为杜鹃花属不同亚属的种间耐热性鉴定指标。

#### 3.2 耐热性与叶片 Pro 含量的关系

高温胁迫下, 强烈的蒸腾作用导致植物水分亏

缺是其高温伤害的重要原因。因此, 高温胁迫下渗透调节物质含量的提高对维持植物体内水分平衡和细胞膜结构的稳定性具有重要意义。Pro 是一种水溶性极强的氨基酸, 作为溶质, 可调节原生质体与环境的渗透平衡、缓解细胞因脱水而引起的伤害。大量研究表明, 高温胁迫下耐热性较强的种 Pro 积累较多, 其含量高低可以作为植物耐热性强弱的重要指标(姬承东等, 2007; 许桂芳等, 2009; 李敏等, 2007; 张朝阳等, 2009)。李忠光等(2010)发现, 热激能提高玉米幼苗的 Pro 含量且其增幅与品种间耐热性呈正相关, 并认为 Pro 的积累能诱导 APX、SOD 及 CAT 等保护酶活性的增强。本研究表明, 高温逆境下 5 种杜鹃叶片的 Pro 含量均随着温度的升高而增加。30 °C 胁迫时耐热性强的种 Pro 增幅小, 耐热性弱的种增幅大, 可能是相对于耐热性较强的种, 30 °C 时胁迫程度较轻, 故白花杜鹃 Pro 增幅最小, 而对于耐热性较弱的种在 30 °C 时已构成较重的胁迫, 故红棕杜鹃、红滩杜鹃增幅较大; 由 30 °C 上升到 38 °C 时耐热性强的白花杜鹃 Pro 大量积累, 而耐热性弱的红棕杜鹃增幅较小, 表明 Pro 积累与胁迫程度和植物的耐热性密切相关。

#### 3.3 耐热性与叶片 $H_2O_2$ 和 MDA 含量的关系

植物受逆境伤害的关键部位是生物膜系统。大量研究表明, 逆境导致植物体内  $O_2^-$  及  $H_2O_2$ 、 $\cdot OH$  等活性氧的累积, 从而引发并加重膜脂过氧化作用; MDA 是膜脂过氧化作用的主要产物之一, 可与膜蛋白、酶发生交联使膜透性增大、酶功能受损, 还可与细胞内核酸、蛋白质等生物大分子发生反应, 生成 Schiff 碱, 进而破坏细胞膜的结构, 其含量高低能反映细胞膜脂过氧化水平和植物耐热性强弱与受伤害程度(姬承东等, 2007; 许桂芳等, 2009; 李敏等, 2007; 张朝阳等, 2009)。本试验结果表明, 5 种杜鹃叶片的 MDA 及  $H_2O_2$  含量均随着胁迫温度的升高而上升, 且增幅与其田间耐热性总体呈负相关。耐热性强的种在高温胁迫下其体内保护酶活性能维持在较高的水平, 清除活性氧能力较强, 故  $H_2O_2$ 、MDA 积累较少; 而耐热性弱的种其保护酶活性相对较低, 重度胁迫时 Pro 增幅小、渗透调节能力弱, 体内代谢功能紊乱, 故  $H_2O_2$ 、MDA 等伤害物质大量积累。

植物的耐热性是一个受多因素影响的、复杂的数量性状(Wahid 等, 2007)。不同植物的耐热机制不同、对某一具体指标的耐热性反应也不尽相同, 用单一指标难以全面准确地反映植物耐热性的强弱

(王凤兰等,2008)。王改萍等(2009)和鲁守平等(2007)运用隶属函数及聚类分析法分别对不同楸树品种和不同种源地乌拉尔甘草的耐旱性进行了综合评判,并得到了满意的结果。本研究运用同样的方法,对隶属不同亚属的5种杜鹃耐热性进行综合分析,结果发现隶属函数法与聚类分析法的评判结果相吻合。综合隶属函数与聚类分析结果可以将5种杜鹃划分为4个耐热等级:白花杜鹃耐热性最强,羊躑躅、毛棉杜鹃其次,红滩杜鹃较弱,红棕杜鹃最弱,该结果与5种杜鹃的田间耐热性表现一致,说明该方法可以较客观地鉴定与评价杜鹃的种间耐热性。

### 参考文献:

- Bao SW(鲍思伟). 2005. The adaptation of *Rhododendron fortunei*'s semilethal temperature to natural temperature falling(云锦杜鹃低温半致死温度对自然降温的适应)[J]. *J Southwest Univ for Natl Sci*(西南民族大学学报·自然科学), **31**(1):99-102
- Cullen J, Chamberlain DF. 1978. A preliminary synopsis of the genus *Rhododendron*[J]. *Not Roy Bot Gard Edinb*, **36**(1):105-126 ib. 1979, **37**(2):327-338
- Harris GC, Antoine V, Chan M, et al. 2006. Seasonal changes in photosynthesis, protein composition and mineral content in *Rhododendron* leaves[J]. *Plant Sci*, **170**(2):314-325
- Ji CD(姬承东), Zhang DG(张德昱), Zhu J(朱钧), et al. 2007. Effects of high temperature stress on some physiological characteristics and regeneration ability of *Agrostis stolonifera* green turfgrass(高温对匍匐剪股颖岭草坪草生理特性及再生性的影响)[J]. *Chin Agric Sci Bull*(中国农学通报), **23**(1):221-224
- Ke SS(柯世省), Yang MW(杨敏文). 2007. Effects of water stress on antioxidant system and lipid peroxidation in leaves of *Rhododendron fortunei*(水分胁迫对云锦杜鹃抗氧化系统和脂类过氧化的影响)[J]. *Acta Hort Sin*(园艺学报), **34**(5):1 217-1 222
- Li M(李敏), Ma J(马均), Wang HZ(王贺正), et al. 2007. Relationship between some physiological and biochemical characteristics and heat tolerance at flowering stage in rice(水稻开花期高温胁迫条件下生理生化特性的变化及其与品种耐热性的关系)[J]. *Hyb Rice*(杂交水稻), **22**(6):62-66
- Li ZQ(李忠光), Guo Y(郭颖), Yang SM(杨双梅), et al. 2010. Heat-shock-induced heat tolerance in maize seedlings and involvement of proline(热激诱导的玉米幼苗耐热性及其与脯氨酸的关系)[J]. *Guihaia*(广西植物), **30**(3):403-406
- Lu SP(鲁守平), Sun Q(孙群), Hong L(洪露), et al. 2007. Drought resistance evaluation of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. from different regions in germination stages(不同种源地乌拉尔甘草发芽期抗旱性鉴定)[J]. *J Plant Gen Res*(植物遗传资源学报), **8**(2):189-194
- Nakano Y, Asada K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. *Plant Cell Physiol*, **22**:867-880
- Spychalla JP, Desborough SL. 1990. Superoxide dismutase, catalase and alpha tocopherol content of stored potato tubers[J]. *Plant Physiol*, **94**(3):1 214-1 218
- Türkan İ, Bor M, Özdemir F, et al. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* subjected to polyethylene glycol mediated water stress[J]. *Plant Sci*, **168**(1):223-231
- Velikova V, Yordanov I, Edreva A. 2000. Oxidative stress and some antioxidant system in acid rain-treated bean plants; Protective role of exogenous polyamines[J]. *Plant Sci*, **151**(1):59-66
- Wahid A, Gelani S, Ashraf M, et al. 2007. Heat tolerance in plants; An overview [J]. *Environ Exp Bot*, **61**(3):199-223
- Wang FL(王凤兰), Zhou HG(周厚高), Huang ZF(黄子锋), et al. 2008. Studies on several physiological and biochemical indices of the heat-resistance of *Lilium longiflorum* and its comprehensive evaluation(麝香百合抗热性生理生化指标及综合评价初探)[J]. *Guihaia*(广西植物), **28**(2):261-264
- Wang GP(王改萍), Cen XC(岑显超), Peng FR(彭方仁), et al. 2009. Drought resistance in seedlings of *Catalpa bungei* cultivars(不同楸树品种的抗旱性鉴定)[J]. *J Zhejiang Fore Coll*(浙江林学院学报), 2009, **26**(6):815-821
- Wang X, Peng YH, Singer JW, et al. 2009. Seasonal changes in photosynthesis, antioxidant systems and ELIP expression in a thermonastic and non-thermonastic *Rhododendron* species; A comparison of photoprotective strategies in overwintering plants [J]. *Plant Sci*, **177**(6):607-617
- Wu ZY, Raven HP. 2005. Flora of China(Vol. 14)[M]. Beijing: Science Press, 260-455
- Xu GF(许桂芳), Zhang ZY(张朝阳). 2009. Effect of high-temperature on physiological and biochemical indices of four *Lysimachia* plants(高温胁迫对4种珍珠菜属植物抗性生理生化指标的影响)[J]. *Chin J Eco-Agric*(中国生态农业学报), **17**(3):565-569
- Yi M(仪民), Yi HL(仪惠兰), Wang BZ(王变珍), et al. 2008. Protective oxidation effects of *Rhododendron* sp. to SO<sub>2</sub> stress (杜鹃对SO<sub>2</sub>胁迫的抗氧化防护效应)[J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*(西北植物学报), **28**(6):1 155-1 159
- Zhang DZ(张殿忠), Wang PH(汪沛洪), Zhao HX(赵会贤). 1990. Determination of the content of free proline in wheat leaves(测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法)[J]. *Plant Physiol Commun*(植物生理学通讯), (4):62-65
- Zhang LH(张乐华). 2004. A study on the introduction and adaptability of *Rhododendron* in Lushan Botanical Garden(庐山植物园杜鹃属植物的引种适应性研究)[J]. *J Nanjing Fore Univ: Nat Sci Edi*(南京林业大学学报·自然科学), **28**(4):92-96
- Zhang ZY(张朝阳), Xu GF(许桂芳). 2009. Physiological characteristics of heat tolerance in two ground covering plants(两种地被植物的耐热性生理特性研究)[J]. *J Northwest Fore Univ*(西北林学院学报), **24**(1):49-52
- Zhao SJ(赵世杰), Xu CC(许长城), Zou Q(邹琦), et al. 1994. Improvement of method for measurement of malondialdehyde in plant tissues(植物组织中丙二醛测定方法的改进)[J]. *Plant Physiol Commun*(植物生理学通讯), **30**(3):207-210