

高温锻炼对小麦细胞膜热稳定性的影响*

周人纲 樊志和 李晓芝 王占武 韩 炜

(河北省农林科学院农业物理生理生化研究所, 石家庄 050051)

摘 要 通过电解质渗漏量的变化研究了冬小麦细胞膜的耐热性。耐热性的程度用 50℃ 下热致死时间表示。研究表明, 小麦幼苗在 34℃ 下锻炼 3 天可获得最大耐热性。在 20℃ / 15℃ (日 / 夜) 生长条件下, 耐热品种与热敏感品种之间耐热性无明显差异, 它们在 50℃ 下热致死时间为 8~26min。在 34℃ 下锻炼 3 天后, 耐热品种的耐热性明显地高于热敏感品种, 耐热品种的 50℃ 热致死时间为 87~110min, 而热敏感品种为 35~55min。

关键词 小麦 电解质渗漏 高温锻炼 耐热性 细胞膜热稳定性

在我国北方地区, 冬小麦生长后期经常受到干热风危害, 影响小麦的产量与质量。而高温是干热风伤害小麦的主导因子^[1]。实验表明, 高温伤害首先是细胞膜完整性被破坏^[5,8,9]。因此, 膜的稳定性可以反映植物耐热性的大小。电解质渗漏量的测定可用来表示细胞膜的稳定性, 所以, 电解质渗漏量的大小, 反映不同基因型的作物品种耐热性的差异。

高温胁迫对植物有很大的伤害作用, 但植物对高温胁迫也有一定的适应能力。在适当的高温锻炼条件下, 通过提高膜和蛋白质以及酶的稳定性使植物本身很好地适应高温环境^[5,10]。同一作物不同品种在高温锻炼时耐热性获得的程度是不同的, 作物对高温的忍耐能力也只有有一定高温锻炼后才能表现出来。我们研究的不同冬小麦品种在热锻炼过程中膜稳定性的变化证明了这一点。

1 材料和方法

实验材料: 所用冬小麦品种根据田间观察鉴定, 耐热品种为衡 87-6276、90-80、90-111-3。热敏感品种为武麦 74、京双 12、晋麦 11。其中衡 87-6276、京双 12、晋麦 11 来自河北省衡水地区农科所, 其余三个由河北省农科院理化所小麦育种组提供。

小麦幼苗生长条件以及高温锻炼条件: 种子浸泡半天后, 播于塑料盒中放入培养箱, 给予 20℃ / 15℃ (日 / 夜) 温度和 14 / 10 小时的光周期。当第二叶展开时, 分别转入 26~40℃ 温度下进行 1~5 天高温锻炼, 仍给予 14 / 10 小时的光周期。为避免水分胁迫, 在高温锻炼期间每天浇足水, 以保持盒中土壤的潮湿和培养箱中空气湿度。一部分苗仍

1992-06-15 收稿。

* 农业部北京农业大学植物生理生化开放实验室资助项目。

在 20℃ / 15℃ 下生长 (对照)。

电解质渗漏量的测定采用邹琦的方法⁽²⁾, 略加改变: 取麦苗第二叶并切取中部 1.8cm 长的叶段, 每叶取 4 个叶段, 二片叶为一个重复。将装好样品的试管置于 50±1℃ 水浴中处理不同时间。然后将试管在 25±1℃ 水浴中振荡 3h, 用 DDS-11A 型电导仪测得初始电导值 C_1 , 再将试管在 -30℃ 下冻 24h, 取出后立即融化, 在 25℃ 下振荡 3h, 测得终电导值 C_2 , 按下式计算叶片电解质的相对渗漏量 L (%): $L(\%) = C_1 / C_2 \times 100$ 。进一步根据下列公式计算伤害性渗漏百分率 IL (%), 简称伤害度, 作为高温伤害程度的指标。

$$IL(\%) = \frac{L_t - L_c}{100 - L_c} \times 100$$

式中, L_t 为高温伤害处理的电解质相对渗漏量, L_c 为对照的电解质相对渗漏量。

将计算得的伤害性渗漏百分率对 50℃ 高温胁迫时间作图, 找出伤害度为 50 % 时的高温胁迫时间, 用它作为小麦叶片在 50℃ 时的致死时间。

2 结果与分析

2.1 锻炼温度对小麦叶片膜热稳定性的影响

将麦苗分别在 26℃、30℃、34℃、40℃ 下热锻炼 2 天, 测定它们在 50℃ 的热致死时间, 以 20℃ / 15℃ 下生长的麦苗作对照, 结果见图 1。从图中可以看出小麦在 34℃ 的条件下锻炼后的热致死时间最高, 即膜的热稳定性最高。在 26℃ 和 30℃ 条件下热锻炼与对照相比,

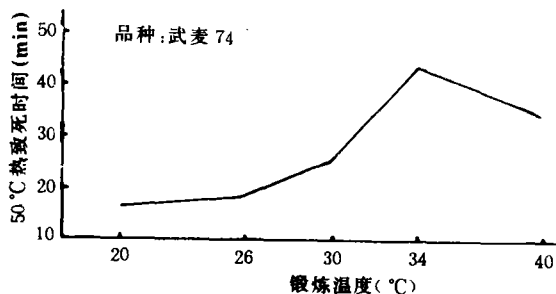


图 1 锻炼温度对小麦叶片 50℃ 热致死时间的影响

50℃ 热致死时间提高很少, 仅分别提高了 2.3min 和 8.8min, 而 34℃ 锻炼后与对照比较热稳定性提高了 2.7 倍。40℃ 的热锻炼效果与 34℃ 相比明显下降。

2.2 锻炼时间对小麦叶片膜稳定性的影响

小麦幼苗在 34℃ 下锻炼 1~5 天后, 分别测定它们的 50℃ 热致死时间, 结果如图 2。从图 2 可以看出无论是耐热品种 90-80, 还是热敏感品种武麦 74, 未经锻炼前, 起始 50℃ 热致死时间都很短, 90-80 为 8.3min, 武麦 74 为 16.2min。随着热锻炼的时间加长, 50℃ 热致死时间逐渐增加, 耐热性亦逐渐提高。锻炼一天后耐热性就有较大提高, 锻炼 2~3 天的耐热性仍继续增加, 3 天时达到高峰, 锻炼 4 天与 3 天相比耐热性变化不大, 锻炼 4 天以上耐热性开始下降。这二个品种在热锻炼时间进程中表现出相同规律。

同时可以看出, 耐热性不同的品种只有经过热锻炼后其耐热性差异才表现出来。耐热品种 90-80 的耐热性比热敏感品种武麦 74 提高得更多, 热锻炼 3 天后, 90-80 叶片 50℃ 热致死时间达 87min, 比对照高 10.5 倍, 而武麦 74 为 54min, 比对照高 3.3 倍。

2.3 高温锻炼后，不同小麦品种的膜稳定性的差异

6种耐热性不同的小麦品种，幼苗在34℃下锻炼3天（以未经锻炼的作为对照），在50℃下对叶片热胁迫不同时间，分别测定其电解质渗漏并计算伤害度，找出50℃下的致死时间，结果见表1和图3。表1表明，在热锻炼前，小麦叶片的50℃热致死时间都都比较短，仅8~26min，耐热品种与热敏感品种间无明显差异。而在34℃锻炼3天后，3个耐热品种的50℃热致死时间大大增加，达87~110min，增加了69~88min，3个热敏感品种热致死时间虽有增加，但增加得较少，仅22~38min，此时耐热品种与热敏感品种之间膜稳定性表现出明显差异。

表1 不同小麦品种50℃的热致死时间

品 种	50℃热致死时间(min)	
	未经锻炼	34℃锻炼3d
耐 热 品 种	衡 87-6276	22.6
	90-111-3	26.0
	90-80	8.3
热 敏 感 品 种	武麦 74	16.2
	京双 12	12.5
	晋麦 11	13.0

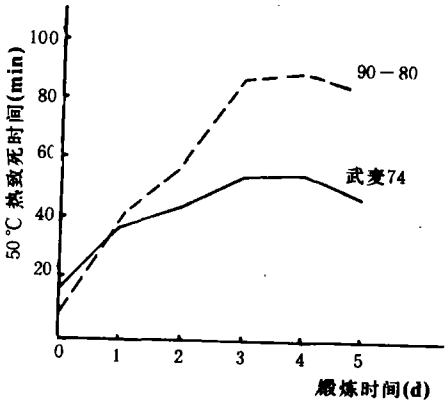


图2 锻炼时间对小麦叶片50℃热致死时间的影响

图3的结果表明，叶片的IL(%)值均随着热胁迫时间的延长而增加，增加过程中，耐热品种与热敏感品种表现出明显差异。对于耐热品种，一开始IL(%)值增加比较缓慢，在某一临界时间后，IL(%)值升高加快，形成了一个转折，如90-80在80min处有一转折，衡87-6276及90-111-3在100min处有一转折。而热敏感品种一开始IL(%)值增加得比较快，IL(%)达到较高值后增加就慢一些，也形成一个转折点。无论是耐热品种还是热敏感品种在上述转折点前，IL(%)与热胁迫时间的关系大致符合直线回归 $IL(%) = a + bt$ ，6个品种的IL(%)与t的相关系数都在0.97以上，表2列出了各品种的IL(%) - t回归方程中的各参数。可以看出耐热品种IL(%) - t方程的斜率(0.407~0.533)明显低于热敏感品种的斜率(1.027~1.444)。

表2 小麦叶片IL(%) - t回归方程各参数

品 种	时间范围 (min)	IL(%)与 t 的相关系数	IL(%) = a+bt 方程中		
			a 值	b 值	
耐 热 品 种	衡 87-6276	0-100	0.9877	-2.69	0.407
	90-111-3	0-100	0.9960	-2.09	0.533
	90-80	0-80	0.9740	-4.19	0.407
热 敏 感 品 种	武麦 74	0-80	0.9940	-2.61	1.027
	京双 12	0-60	0.9908	-0.44	1.398
	晋麦 11	0-60	0.9998	+0.40	1.404

3 讨论

根据 Chen^[5] 的实验结果, 作物的耐热程度可用伤害性电解质渗漏量为 50% 时的温度 (热致死温度) 或时间 (50℃ 热致死时间) 来表示。我们认为用 50℃ 热致死时间更可取, 本实验用 50℃ 热致死时间来表示耐热性的程度, 在高温胁迫下, 受害组织的电解质渗漏是热胁迫时间的函数, 一定时间内符合 $IL(\%) - t$ 的方程, 因而可用斜率来表示耐热性的大小, 这样, 结果更具有稳定性, 避免个别测定误差对结果的影响。

图 2 中曲线的拐点可能对研究作物耐热机理有一定意义, 拐点前这段时间的高温胁迫, 对植物可能主要是代谢变化, 正常代谢受阻, 酶活性改变, 膜脂改变, 膜流动性改变等。但这种变化仍是可逆的, 非致死性的。随着胁迫时间的延长, 电解质渗漏增加, 拐点以后, 植物受到严重伤害, 成为不可逆的致死变化, 如蛋白变性、膜结构破坏、细胞解体, 所以电解质渗漏迅速上升。这个问题有待进一步研究。

植物对高温胁迫有适应能力, 不同品种耐热性不同, 这种差异一定要在一定高温条件下才能表现出来。高温锻炼有二个构成因素, 一是温度。温度太低达不到锻炼效果, 温度太高对植物产生伤害降低了锻炼效果。所以根据不同作物选择适当的锻炼温度很重要。二是时间。菜豆、番茄等一天可达到最高锻炼效果^[5]。小麦锻炼一天后虽提高了耐热性, 但继续锻炼耐热性仍不断提高, 三天达到最好锻炼效果。时间延长耐热性又下降, 可能是长时间延续高温过多地消耗了体内的养分和能量。

热锻炼所以能提高作物耐热性可能是由于以下几方面原因: 热锻炼提高了膜的稳定性^[4]; 热锻炼使一些酶的稳定性增加^[6]; 热锻炼改变了蛋白结构使之更稳定; 热锻炼过程中热激蛋白的产生可能提高其耐热性^[7]。这些可能都是相互联系的。

一些保护性物质的产生能提高作物的耐热性, 脯氨酸就是这样一种物质。在热锻炼中脯氨酸的积累对耐热性提高有一定作用。马永战认为小麦脯氨酸积累是蛋白质分解造成的氨基酸总量增加的伴随结果^[3]。本试验结果表明, 高温锻炼过程中脯氨酸的积累规律与膜的稳定性变化规律相似, 脯氨酸含量增高, 膜的稳定性也提高。但脯氨酸的积累比与总的游离氨基酸积累比并不一致, 例如热锻炼后, 品种 90-80 的游离脯氨酸是对照的 3.3 倍, 总游离氨基酸是 1.7 倍, 武麦 74 的这两个值分别为 2.4 倍和 4.3 倍。由此可见, 耐热品种高温锻炼时脯氨酸的积累不只是蛋白分解的伴随结果, 也是单独积累的过程, 因而提高了耐热性, 而热敏感品种中脯氨酸并没有多少积累。

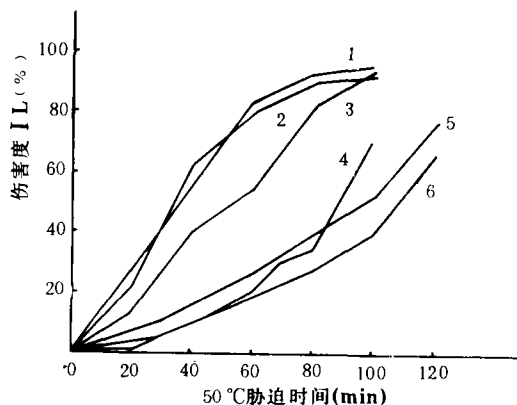


图 3 不同耐热性小麦经高温锻炼后 $IL(\%)$ 与 50℃ 胁迫时间的关系 1 晋麦 11; 2 京双 12; 3 武麦 74; 4 90-80; 5 90-111-3; 6 87-6276

参 考 文 献

- 1 北方十三省(市)小麦干热风科研协作组.小麦干热风伤害机理的研究.作物学报, 1984, 10 (2): 105~112
- 2 邹琦.小麦高温伤害与高温适应.植物学报, 1988, 30 (4): 388~395
- 3 马永战.高温对麦苗游离脯氨酸含量的影响.山东农业大学学报, 1986, 17 (4): 1~8
- 4 Bjorkman O et al. Response and adaptation of photosynthesis to high temperatures. In: Turner NC and Kramer PI (eds). Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress. New York: Wiley-Interscience, 1980, 233-249
- 5 Chen Hwei-hwang et al. Adaptability of crop plants to high temperature stress. Crop Science. 1982 (22): 719-725
- 6 Kinbacher EI. Thermal stability of malic dehydrogenase from heat-hardened *Phaseolus acutifolius* "Tepary Buff". Crop Science, 1967,(7):148-151
- 7 Lin Chu-yung et al. Acquisition of thermotolerance in soybean seedling. Plant Physiol, 1984, (74):152-160
- 8 Martineau IR et al. Temperature tolerance in soybean. Crop Science, 1979 (19):75-78
- 9 Shanahan IF. Membrane thermostability and heat tolerance of spring wheat. Crop Science, 1990, (30):247-251.
- 10 Steponius PL. Responses to extreme temperature. In: Encyclopedia of Plant Physiology. New Series, Vol. 12, 1982, 371~377

The Effect of Heat Acclimation on Cellular Membrane Thermostability in Wheat

Zhou Rengang Fan Zhihe Li Xiaozhi Wang Zhanwu Han Wei

(Agro-physics, Plant Physiology and Biochemistry, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Shijiazhuang)

Abstract Heat tolerance of wheat was studied by change of the amount of electrolyte leakage. The degree of heat tolerance was expressed by the heat killing time at 50°C. Increased heat tolerance reached a peak after acclimation at 34°C for 3 days. The heat-tolerant and heat-susceptible cultivars of wheat did not differ in killing time when the seedlings were grown at 20°C / 15°C (day / night) condition. Their heat killing times were between 6 to 26 minutes. However the difference became marked after acclimation at 34°C for 3 days. The heat killing times of heat-tolerant cultivars (87-110 minutes) were dramatically higher than that of heat-susceptible ones (35-53 minutes).

Key words: Wheat; Heat acclimation; Heat tolerance; Membrane thermostability; Electrolyte leakage