

5 种杜鹃幼苗对高温胁迫的生理生化响应及耐热性综合评价

王凯红¹, 刘向平¹, 张乐华^{1,①}, 凌家慧², 李立¹

(1. 江西省·中国科学院庐山植物园, 江西 庐山 332900; 2. 江西省庐山自然保护区管理处, 江西 庐山 332900)

摘要: 以杜鹃花属(*Rhododendron* L.) 5 个亚属 5 种杜鹃的 4 年生实生苗为材料, 对模拟高温(30 °C 和 38 °C) 条件下叶片丙二醛(MDA)、过氧化氢(H₂O₂) 和脯氨酸(Pro) 含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT) 和抗坏血酸过氧化物酶(APX) 活性进行了测定分析, 对各指标进行了相关性和主成分分析; 在此基础上, 采用隶属函数法对 5 种杜鹃的耐热性进行了综合评价, 并通过建立最优回归方程对综合评价结果进行检验。测定结果表明: 与对照(22 °C) 相比, 5 种杜鹃幼苗的 MDA、H₂O₂ 和 Pro 含量以及 CAT 和 APX 活性均随胁迫温度的升高而增加; SOD 活性则表现为在 30 °C 条件下小幅增加, 38 °C 条件下下降的趋势。CAT 活性与 H₂O₂ 和 Pro 含量及 APX 活性均呈极显著正相关关系($P < 0.01$), APX 活性与 Pro 含量和 SOD 活性分别呈显著的正相关和负相关关系($P < 0.05$)。通过主成分分析可将测定的 6 个单项指标转换成 3 个相互独立的综合指标, 累计贡献率达 87.52%。根据综合评价值(D), 可将 5 种杜鹃的耐热性分为 4 个等级: 白花杜鹃(*R. mucronatum* (Blume) G. Don) 的耐热性最强, 毛棉杜鹃(*R. moulmainense* Hook. f.) 和羊躑躅(*R. molle* (Blume) G. Don) 耐热性较强, 红滩杜鹃(*R. chihsinianum* Chun et Fang) 耐热性较弱, 红棕杜鹃(*R. rubiginosum* Franch.) 的耐热性最弱。利用所建立的最优回归方程对供试种类进行耐热性预测, 预测值与 D 值的次序完全一致, 表明综合评价法可用于杜鹃苗期耐热性的评价。

关键词: 杜鹃花属; 幼苗; 耐热性; 主成分分析; 隶属函数法; 综合评价

中图分类号: Q945.78; Q948.112⁺.2; S685.21 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2011)03-0029-07

Physiological-biochemical response of five species in *Rhododendron* L. to high temperature stress and comprehensive evaluation of their heat tolerance WANG Kai-hong¹, LIU Xiang-ping¹, ZHANG Le-hua^{1,①}, LING Jia-hui², LI Li¹ (1. Lushan Botanical Garden, Jiangxi Province and the Chinese Academy of Sciences, Lushan 332900, China; 2. The Management Office of Lushan Natural Reserve of Jiangxi Province, Lushan 332900, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2011, 20(3): 29-35

Abstract: Using four-year-old seedlings of five species belonging to five subgenera in *Rhododendron* L. as experimental materials, contents of malondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide (H₂O₂) and proline (Pro) and activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) were determined and analyzed under condition of artificial simulated high temperature (30 °C and 38 °C), and correlation and principal component analyses of above indexes were also conducted. On this basis, comprehensive evaluation of heat tolerance of the five species was performed by subordinate function method, and comprehensive evaluation results were tested by means of the established optimum regression equation. The determination results show that compared to the control (22 °C), contents of MDA, H₂O₂, Pro and activities of CAT, APX of the five species seedlings all increase with rising of stress temperature, and SOD activity appears the trend of less increasing under 30 °C condition while decreasing under 38 °C condition. CAT activity has extremely significant positive correlation with contents of H₂O₂ and Pro and APX activity ($P < 0.01$), and APX activity has significant positive or negative correlations respectively with Pro content and SOD activity ($P < 0.05$). Six single indexes tested of all

收稿日期: 2011-01-25

基金项目: 国家科学技术部国际科技合作项目(2007DFA31410); 江西省学科带头人培养计划项目(2010DD00500); 江西省国际科技合作项目(2007BN18700); 江西省星火计划项目(2008CX06500)

作者简介: 王凯红(1968—), 女, 江西庐山人, 本科, 工程师, 主要从事杜鹃花属植物的引种驯化及保育技术研究。

①通信作者 E-mail: lehuaz@vip.sohu.com

species are converted into three independent comprehensive indexes with an accumulative contribution rate of 87.52% by principal component analysis. According to the comprehensive evaluation value (D), heat tolerance of the five species can be divided into four classes; heat tolerance of *R. mucronatum* (Blume) G. Don is the strongest, that of *R. moulmainense* Hook. f. and *R. molle* (Blume) G. Don is stronger, that of *R. chihsonianum* Chun et Fang is weaker, and that of *R. rubiginosum* Franch. is the weakest. The heat tolerance of the five species can be predicted using the optimum regression equation established and the prediction value order is completely in accordance with D value order, indicating that the comprehensive evaluation method can be used to evaluate heat tolerance of different species of *Rhododendron* L. at seedling stage.

Key words: *Rhododendron* L.; seedling; heat tolerance; principal component analysis; subordinate function method; comprehensive evaluation

中国是全世界杜鹃花属 (*Rhododendron* L.) 植物的起源和分布中心,拥有丰富的杜鹃花野生资源,但这些野生资源多分布于西南高海拔地区^[1]。受遗传因素的制约,该属植物喜冷凉、湿润环境,耐热性较差,高温热害是制约其迁地保育及园林应用的主要限制因子^[2]。杜鹃花种类繁多、遗传资源丰富,不同种间的生态习性和耐热性存在较大差异。为了探讨杜鹃花属植物的耐热机制及不同种间的适应性差异,近年来部分学者针对杜鹃花属植物开展了高温胁迫实验,筛选出一批与杜鹃花耐热性有关的形态及生理指标^[3-5]。然而,植物耐热性是受多基因控制的数量性状^[6],且受环境条件的复杂性和植物对高温胁迫的适应性等多因子影响,故仅凭个别或少数指标的简单比较难以真实地反映植物耐热性的遗传本质^[7-8]。

主成分分析法可以在不损失或很少损失原有信息的前提下,将原来数量较多且彼此相关的指标转换成新的个数较少且彼此独立的综合指标,并在此基础上计算出供试植物的每个综合指标值及其相应的隶属函数值,经加权求和可得到供试植物的抗逆性综合评价^[9]。近年来,该方法已被应用于大白菜 (*Brassica pekinensis* Rupr.)、小麦 (*Triticum aestivum* L.) 和水稻 (*Oryza sativa* L.) 等农作物和一些绿化植物的抗逆性评价,并取得了较为客观可靠的评价效果^[8-11],但尚未见有关杜鹃花属植物耐热性鉴定与评价方面的研究报道。

为探索和建立快速、有效的杜鹃花耐热性的鉴定方法,作者对高温胁迫条件下5种杜鹃花属植物实生苗的6个生理生化指标进行了测定和相关性分析,并应用主成分分析和隶属函数法对5种杜鹃的耐热性进行了综合评价,据此建立了最优回归方程,以期对杜鹃花属植物耐热性的鉴定、评价、预测及耐热种质的发掘和遗传改良提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试种类有映山红亚属 [Subgen. *Tsutsusi* (G. Don) Pojark.] 的白花杜鹃 [*Rhododendron mucronatum* (Blume) G. Don]、马银花亚属 (Subgen. *Azaleastrum* Planch. ex K. Koch) 的毛棉杜鹃 (*R. moulmainense* Hook. f.)、羊躑躅亚属 [Subgen. *Pentanthera* (G. Don) Pojark.] 的羊躑躅 [*R. molle* (Blume) G. Don]、常绿杜鹃亚属 [Subgen. *Hymenanthes* (Blume) K. Koch] 的红滩杜鹃 (*R. chihsonianum* Chun et Fang) 和杜鹃亚属 (Subgen. *Rhododendron* L.) 的红棕杜鹃 (*R. rubiginosum* Franch.), 均为江西省·中国科学院庐山植物园内同批播种的4年生实生苗。

2009年4月初,选取大小一致且生长健壮的5种杜鹃的4年生实生苗栽植于高9 cm、上口径11.5 cm、底径8.5 cm的塑料盆中,每盆1株,栽培基质为当地林下的表层腐殖土,土壤中有机质和腐殖质的质量分数分别为10.87%和6.63%,速效氮、速效磷和速效钾的质量浓度分别为266.20、22.17和83.65 mg·kg⁻¹, pH 4.79。供试苗置于常温温室中培养,采用日常养护管理方法,3个月后进行胁迫实验。

1.2 方法

1.2.1 高温胁迫处理方法 分别设置22℃(对照)、30℃(轻度高温胁迫)和38℃(重度高温胁迫)3组处理;每组处理设3次重复,每一重复6株苗。实验在空气相对湿度80%、光照时间12 h·d⁻¹、光照强度120 μmol·m⁻²·s⁻¹的人工气候箱中进行。盆底设置托盘(水深1.0~1.5 cm)补充基质水分。胁迫处理6 d后,随机采集当年生功能叶(成熟叶),去

除中脉;一部分直接用于丙二醛(MDA)、过氧化氢(H_2O_2)和脯氨酸(Pro)含量的测定;另一部分置于 $-70\text{ }^\circ\text{C}$ 保存,用于超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的测定。

1.2.2 生理生化指标测定方法 MDA含量的测定参照文献[12]的方法并略加改进。称取0.5 g新鲜叶片,加入体积分数20%三氯乙酸与体积分数0.5%硫代巴比妥酸的等体积混合液5 mL及少许石英砂,研磨至匀浆;沸水浴中保温30 min后,置于冰浴中迅速冷却;用3-18K离心机(德国Sigma公司生产)于10 000 g离心10 min;取上清液,采用UV-3100PC扫描式紫外可见光分光光度计(上海美谱达公司生产)测定450、532和600 nm处的吸光值,根据下列公式计算样品中的MDA含量:MDA含量 $=6.45 \times (A_{532} - A_{600}) - 0.56 \times A_{450}$ 。

采用文献[13]的方法测定 H_2O_2 含量。于波长390 nm处测定吸光值,并根据标准曲线方程 $y = 70.185x - 0.663$ (x 为吸光值, y 为 H_2O_2 含量)计算样品中 H_2O_2 含量。

Pro含量测定参照文献[14]的酸性茚三酮法并略加改进。取新鲜叶片0.5 g,加入少许石英砂及5 mL体积分数3%磺基水杨酸,研磨至匀浆;沸水浴中保温10 min后,冰浴冷却,765 g离心10 min;取上清液1 mL,加入1 mL冰乙酸、1 mL蒸馏水和2 mL酸性茚三酮,混匀后置于沸水浴中保温60 min,冰浴冷却后加入4 mL甲苯,振荡30 s,静置;取上层液于波长520 nm处测定吸光值,并根据标准曲线方程 $y = 34.793x + 0.140$ (x 为吸光值, y 为Pro含量)计算样品中Pro含量。

采用NBT光还原法^[15]测定SOD活性,以抑制50%氮蓝四唑(NBT)光还原为1个酶活力单位;采用紫外分光光度法^[16]测定CAT活性,以1 min内 A_{240} 变化0.1为1个酶活力单位;采用文献[17]的方法测定APX活性,以1 min内 A_{290} 变化0.01为1个酶活力单位。

各指标均重复测定3次,结果取平均值。

1.3 数据处理与统计分析

主成分分析参照曾宪海等^[18]及张云等^[19]的方法。首先对各指标的原始数据进行标准化;计算各指标间的相关系数矩阵以及主成分贡献率和累计贡献率,并按累计贡献率大于或等于85%确定主成分个

数;根据相关系数矩阵与初始因子载荷矩阵之间的关系求出特征向量矩阵(系数矩阵);建立主成分方程表达式并计算综合指标值。

依据文献[8-9]中的公式计算5种杜鹃在不同温度条件下各综合指标的隶属函数值 $U(x_j)$ 、各综合指标的权重 W_j 和各种类的耐热综合评价值 D 。

实验过程中的数据处理、相关性分析、主成分分析、隶属函数计算和逐步回归分析等均运用Excel 2007和SPSS 17.0软件完成。

2 结果和分析

2.1 高温胁迫条件下5种杜鹃生理生化指标的变化分析

2.1.1 生理生化指标的比较分析 高温胁迫条件下,5种杜鹃丙二醛(MDA)、过氧化氢(H_2O_2)和脯氨酸(Pro)含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的测定结果见表1。由表1数据可见:与对照($22\text{ }^\circ\text{C}$)相比, $30\text{ }^\circ\text{C}$ 和 $38\text{ }^\circ\text{C}$ 高温胁迫条件下5种杜鹃叶片的各项生理生化指标均发生了变化,其中MDA、 H_2O_2 和Pro含量以及CAT和APX活性均随处理温度的升高而增加;在 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 胁迫条件下,SOD活性略高于对照,而在 $38\text{ }^\circ\text{C}$ 胁迫条件下则低于对照。

由表1还可见:高温胁迫条件下5种杜鹃叶片各项生理生化指标的变化幅度均存在较大差异,因而无法采用某一单项指标评价供试5种杜鹃的耐热性强弱,也说明植物的耐热性是一个复杂的综合性状。

2.1.2 生理生化指标的相关性分析 高温胁迫条件下,5种杜鹃6个生理生化指标的相关性分析结果见表2。由表2可以看出:6个生理生化指标间均存在着一定的相关性,其中有些指标间的相关性达到了显著或极显著的水平。SOD活性与APX活性呈显著负相关关系($P < 0.05$),与 H_2O_2 和Pro含量及CAT活性呈负相关关系;其他指标间均呈正相关关系。其中,CAT活性与 H_2O_2 和Pro含量及APX活性间均呈极显著的正相关关系($P < 0.01$),APX活性与Pro含量呈显著的正相关关系($P < 0.05$),从而使得它们所提供的信息发生了重叠。因此,直接利用这些指标难以准确地评价5种杜鹃种间的耐热性强弱,需要应用主成分分析方法。

表1 高温胁迫条件下5种杜鹃生理生化指标的测定结果($\bar{X}\pm SD$)Table 1 Determination result of physiological-biochemical indexes of five species in *Rhododendron L.* under high temperature stress ($\bar{X}\pm SD$)

种类 Species	温度/℃ Temperature	丙二醛含量/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ MDA content	过氧化氢含量/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ H_2O_2 content	脯氨酸含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Pro content	超氧化物歧化酶活性/ $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ SOD activity	过氧化氢酶活性/ $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ CAT activity	抗坏血酸过氧化物酶活性/ $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ APX activity
白花杜鹃 <i>R. mucronatum</i>	22	0.056 5±0.000 2	1.260±0.008	64.255±4.986	380.156±0.623	247.222±12.647	1 916.667±35.119
	30	0.062 5±0.000 7	1.324±0.041	79.912±6.714	384.642±4.398	325.208±10.652	2 270.000±103.923
	38	0.073 3±0.000 7	1.728±0.052	165.387±4.810	375.671±0.623	445.000±10.929	5 096.667±50.332
毛棉杜鹃 <i>R. moulmainense</i>	22	0.093 9±0.000 4	1.198±0.035	56.485±3.917	375.399±2.092	213.889±15.486	1 573.333±110.604
	30	0.100 4±0.003 9	1.418±0.077	73.997±5.234	378.661±1.311	267.222±26.995	1 816.667±153.731
	38	0.110 0±0.006 1	1.946±0.017	88.379±1.392	368.739±1.883	325.833±27.550	4 966.667±150.444
羊躑躅 <i>R. molle</i>	22	0.025 2±0.000 2	1.229±0.022	67.619±2.109	353.109±2.825	229.722±31.195	1 610.000±147.309
	30	0.032 6±0.000 4	1.405±0.043	87.915±6.109	362.895±5.334	280.278±11.375	2 166.667±140.119
	38	0.049 1±0.001 8	1.939±0.048	141.728±4.322	341.556±4.473	405.556±15.642	4 193.333±161.967
红滩杜鹃 <i>R. chihsinianum</i>	22	0.047 1±0.000 2	0.724±0.012	65.067±4.053	378.933±0.849	229.444±14.561	1 550.000±60.000
	30	0.053 7±0.004 4	1.001±0.057	89.422±3.760	381.516±2.092	266.667±15.207	1 853.333±70.946
	38	0.072 6±0.003 2	1.133±0.042	169.678±4.850	370.234±0.706	309.167±16.415	3 680.000±138.564
红棕杜鹃 <i>R. rubiginosum</i>	22	0.054 0±0.000 7	0.501±0.021	54.745±3.427	362.895±0.815	232.917±9.419	2 316.667±110.151
	30	0.076 7±0.002 2	0.824±0.047	78.868±6.982	363.846±1.698	262.944±10.809	2 736.667±141.892
	38	0.089 2±0.002 9	1.023±0.056	93.134±5.722	334.217±14.185	316.944±12.919	6 150.000±141.067

表2 高温胁迫条件下5种杜鹃生理生化指标的相关性分析¹⁾Table 2 Correlation analysis of physiological-biochemical indexes of five species in *Rhododendron L.* under high temperature stress¹⁾

指标 Index	相关系数 Correlation coefficient						
	丙二醛含量 MDA content	过氧化氢含量 H_2O_2 content	脯氨酸含量 Pro content	超氧化物歧化酶活性 SOD activity	过氧化氢酶活性 CAT activity	抗坏血酸过氧化物酶活性 APX activity	
丙二醛含量 MDA content	1.000 0						
过氧化氢含量 H_2O_2 content	0.236 2	1.000 0					
脯氨酸含量 Pro content	0.058 8	0.480 3	1.000 0				
超氧化物歧化酶活性 SOD activity	0.115 3	-0.092 3	-0.170 3	1.000 0			
过氧化氢酶活性 CAT activity	0.153 6	0.691 2 **	0.817 4 **	-0.223 6	1.000 0		
抗坏血酸过氧化物酶活性 APX activity	0.431 6	0.433 2	0.615 0 *	-0.542 5 *	0.747 8 **	1.000 0	

¹⁾ * : $P<0.05$; ** : $P<0.01$.

2.1.3 生理生化指标的主成分分析 高温胁迫条件下供试5种杜鹃6个生理生化指标的主成分分析结果见表3。表3数据显示:前3个综合指标的贡献率分别为52.01%、19.20%和16.31%,累计贡献率达87.52%。表明前3个综合指标反映了原指标的绝大部分信息,可以代替原来6个生理生化指标对5种杜鹃的耐热性进行综合评价。将前3个综合指标分别定义为第1、第2和第3主成分,根据杜鹃6个测定指标的标准化值和综合指标的标准化特征向量(表3),可得到第1、第2和第3主成分的回归方程,分别为: $CI(1)=0.186 2X_1+0.409 8X_2+0.464 7X_3-0.228 7X_4+0.527 0X_5+0.501 0X_6$; $CI(2)=0.655 0X_1+0.244 1X_2-0.049 4X_3+0.707 2X_4+0.015 8X_5-0.091 3X_6$; $CI(3)=$

$-0.623 9X_1+0.268 0X_2+0.352 9X_3+0.456 0X_4+0.255 8X_5-0.376 2X_6$ 。

主成分特征向量为各主成分表达式中的原始变量标准化值的系数向量,它们代表了各变量对相应的主成分作用权重,即各单项指标对综合指标的贡献大小。由主成分方程式及表3结果可知:第1主成分特征向量较大的是CAT和APX活性,其次是Pro和 H_2O_2 含量;第2主成分特征向量最大的是SOD活性,其次是MDA含量;第3主成分中绝对值最大的特征向量是MDA含量(为负值),其次是SOD活性。高温胁迫条件下CAT和APX活性及Pro含量的增加均有利于活性氧的清除和维持细胞膜的稳定,因此第1主成分主要反映了高温胁迫条件下植物体内清除 H_2O_2

表 3 高温胁迫条件下 5 种杜鹃生理生化指标的主成分分析结果

Table 3 Result of principal component analysis of physiological-biochemical indexes of five species in *Rhododendron* L. under high temperature stress

主成分 Principal component	各指标的特征向量 ¹⁾ Eigen-vector of different indexes ¹⁾						特征值 Eigen-value	贡献率/% Contribution rate	累计贡献率/% Accumulative contribution rate
	MDA	H ₂ O ₂	Pro	SOD	CAT	APX			
1	0.186 2	0.409 8	0.464 7	-0.228 7	0.527 0	0.501 0	3.120 7	52.01	52.01
2	0.655 0	0.244 1	-0.049 4	0.707 2	0.015 8	-0.091 3	1.151 7	19.20	71.21
3	-0.623 9	0.268 0	0.352 9	0.456 0	0.255 8	-0.376 2	0.978 4	16.31	87.52

¹⁾ MDA: 丙二醛含量 MDA content; H₂O₂: 过氧化氢含量 H₂O₂ content; Pro: 脯氨酸含量 Pro content; SOD: 超氧化物歧化酶活性 SOD activity; CAT: 过氧化氢酶活性 CAT activity; APX: 抗坏血酸过氧化物酶活性 APX activity.

的能力,可定义为 H₂O₂ 清除因子。SOD 是清除 O₂⁻ 的关键酶,对减轻活性氧引发的膜脂过氧化伤害具有保护作用,而 MDA 是膜脂过氧化作用的最终产物,也是衡量膜系统受害程度的重要指标,故第 2 和第 3 主成分可定义为维持生物膜结构稳定的因子。

通过降维,可把原来 6 个相互关联的生理生化指标转换成 3 个新的相互独立的综合指标,并保留了原指标的绝大部分信息。对于同一综合指标而言,数值越大,说明某一种类在这一综合指标上的耐热性越强,反之则越弱。但是,杜鹃不同种类的耐热性并不是由某一个综合指标决定的,而是由 3 个综合指标共同决定的,而这 3 个综合指标的贡献率不同、所起的作用也不相同,因此应进行进一步的综合评价。

2.2 高温胁迫条件下 5 种杜鹃耐热性的综合评价及检验

2.2.1 耐热性的综合评价 根据主成分表达式及隶属函数公式^[8-9]分别求得 5 种杜鹃在不同温度条件下的各综合指标值 $CI(x)$ 及其隶属函数值 $U(x)$, 详见表 4。对于同一个综合指标而言,如 $CI(1)$, 白花杜鹃在 38 °C 胁迫条件下,其 $CI(1)$ 值(3.281 7)最大,对应的 $U(1)$ 值(1.000 0)也最大,表明 38 °C 时白花杜鹃的综合指标 $CI(1)$ 表现出最强的耐热性。

根据贡献率大小及累计贡献率(表 3)计算出各综合指标的权重,分别为 0.594 3、0.219 4、0.186 3 (表 4)。

表 4 高温胁迫条件下 5 种杜鹃的综合指标值 $CI(x)$ 及其权重、隶属函数值 $U(x)$ 、综合评价值 D 及预测值

Table 4 The values of comprehensive index $CI(x)$ and weight, subordinate function value $U(x)$, comprehensive evaluation value D and prediction value of five species in *Rhododendron* L. under high temperature stress

种类 Species	温度/°C Temperature	$CI(1)$	$CI(2)$	$CI(3)$	$U(1)$	$U(2)$	$U(3)$	D	预测值 Prediction value
白花杜鹃 <i>R. mucronatum</i>	22	-1.280 3	0.434 8	0.474 7	0.155 1	0.641 6	0.812 4	0.384 3	0.386 5
	30	-0.304 9	0.821 9	0.864 6	0.335 7	0.758 2	0.921 3	0.537 5	0.538 5
	38	3.281 7	0.664 8	1.146 3	1.000 0	0.710 9	1.000 0	0.936 6	0.930 8
毛棉杜鹃 <i>R. moulmianense</i>	22	-1.462 0	1.191 5	-0.777 2	0.121 4	0.869 6	0.462 6	0.349 1	0.351 9
	30	-0.519 4	1.624 3	-0.387 1	0.296 0	1.000 0	0.571 6	0.501 8	0.503 2
	38	1.925 2	1.522 6	-1.016 4	0.748 8	0.969 4	0.395 8	0.731 4	0.731 6
羊躑躅 <i>R. molle</i>	22	-1.330 8	-1.694 9	0.459 2	0.145 7	0.000 0	0.808 0	0.237 2	0.239 1
	30	-0.408 8	-0.977 3	0.935 8	0.316 5	0.216 2	0.941 2	0.410 9	0.411 2
	38	2.921 8	-1.402 3	0.697 3	0.933 3	0.088 2	0.874 6	0.737 0	0.733 1
红滩杜鹃 <i>R. chihsinianum</i>	22	-2.117 6	-0.174 4	0.360 2	0.000 0	0.458 1	0.780 4	0.245 9	0.248 0
	30	-1.129 6	0.247 2	0.750 5	0.183 0	0.585 1	0.889 4	0.402 8	0.403 0
	38	1.269 6	0.084 4	0.480 6	0.627 3	0.536 1	0.814 0	0.642 1	0.635 9
红棕杜鹃 <i>R. rubiginosum</i>	22	-1.885 5	-0.916 3	-0.730 1	0.043 0	0.234 6	0.475 7	0.165 6	0.168 6
	30	-0.727 0	-0.127 1	-0.825 6	0.257 6	0.472 4	0.449 0	0.340 4	0.341 4
	38	1.767 5	-1.299 2	-2.432 8	0.719 6	0.119 2	0.000 0	0.453 8	0.453 7
权重 Weight					0.594 3	0.219 4	0.186 3		

根据各综合指标的 $U(x)$ 值和权重, 得出 5 种杜鹃在不同温度条件下的耐热性综合评价值 D (表 4)。 D 值反映了不同种类的综合耐热能力大小, D 值越大, 表明其耐热能力越强。由表 4 可见: 在 38 °C 条件下, 5 种杜鹃的 D 值均最大; 30 °C 条件下 D 值次之; 而在 22 °C 条件下 D 值最小。在同一温度条件下, 5 种杜鹃的综合耐热能力排序有一定差异: 22 °C 条件下, 5 种杜鹃的 D 值由大到小依次为白花杜鹃、毛棉杜鹃、红滩杜鹃、羊蹄躅、红棕杜鹃; 30 °C 条件下依次为白花杜鹃、毛棉杜鹃、羊蹄躅、红滩杜鹃、红棕杜鹃; 38 °C 条件下则依次为白花杜鹃、羊蹄躅、毛棉杜鹃、红滩杜鹃、红棕杜鹃。在 3 个温度条件下白花杜鹃的 D 值均最大, 表明其耐热性最强; 红棕杜鹃的 D 值均最小, 表明其耐热性最弱。毛棉杜鹃 D 值较大、红滩杜鹃较小; 在 22 °C 条件下羊蹄躅 D 值相对较小, 但随着胁迫温度的升高其 D 值排序逐渐上升, 说明杜鹃花对高温胁迫的耐性受到胁迫强度的影响, 不同种类、不同胁迫强度下其耐热机制存在一定差异。

2.2.2 耐热性综合评价结果的检验 将不同温度条件下 5 种杜鹃的耐热性综合评价值 (D) 作因变量、各指标的标准化值作自变量, 采用逐步回归法建立的最优回归方程为: $D = 0.4718 + 0.0313X_1 + 0.0752X_2 + 0.0663X_3 + 0.0453X_4 + 0.0724X_5 + 0.0295X_6$ 。式中, X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 和 X_6 分别代表 MDA、 H_2O_2 和 Pro 含量及 SOD、CAT 和 APX 活性的标准化值。6 个自变量的偏回归系数均达到了极显著水平, 回归方程的决定系数 $R^2 = 0.9999$, 表明 6 个自变量可决定 D 值总变异的 99.99%。用该回归方程对不同温度条件下 5 种杜鹃的耐热性进行预测, 其预测值 (表 4) 与综合评价值 D 在各种类及温度间的大小次序完全一致, 两者高度相关 ($r = 1$) 并达到极显著水平。说明该方程能够很好地量化各种类的综合耐热能力与各指标值间的因果关系, 可用于对杜鹃种间耐热性进行科学准确的预测。

3 讨论和结论

植物耐热性不仅与其种类、发育时期、形态性状及代谢活动有关, 且受逆境的发生时期、持续时间、胁迫强度和强弱变化以及研究的目的性状等多种因素的影响, 是植物与环境相互作用的结果^[18,20]。不同植物耐热机制不同, 对某一具体指标的耐热反应也不尽

相同, 单一指标难以准确、真实地反映植物的耐热性强弱, 多种指标的综合评价则较为科学准确。但多指标的综合评价又存在以下问题^[7-8,10,21]: 各指标间具有一定的相关性而使信息发生交叉与重叠, 各指标在综合评价中的重要性 (权重) 也不同, 因此不能直接利用多指标进行综合评价。

本研究利用各指标间内在的深层次联系, 采用主成分分析法将原来个数较多且彼此相关的指标转换成个数较少且相互独立的综合指标, 克服了信息的重叠和指标间的相关性; 并在此基础上计算出每个物种的综合指标值及相应的隶属函数值和权重, 避免了人为确定权重的主观性; 通过加权求和法, 得到了每一物种在不同温度条件下的耐热性综合评价值, 这样既考虑了各指标间的相互关系, 又考虑了各指标的重要性, 从而使获得的评价结果更为科学合理。主成分分析结果表明: 6 个原始指标可被转换成 3 个综合指标, 累计贡献率达 87.52%。在贡献率最大的第 1 主成分中, CAT 和 APX 活性的特征向量较大, 其次是 Pro 和 H_2O_2 含量; 而 SOD 活性和 MDA 含量的特征向量仅在贡献率相对较小的第 2 和第 3 主成分中较大。生理生化指标的测定结果表明: 高温胁迫下 CAT 和 APX 活性增幅最大, Pro 和 H_2O_2 含量的增幅也较大, 而 MDA 含量增幅相对较小, SOD 活性变化幅度极小。可见, 测定的 6 个生理生化指标对高温胁迫的诱导响应强弱与主成分分析得出的各指标重要性相吻合。据此推测: 高温胁迫下杜鹃主要通过提高 CAT 和 APX 活性及 Pro 含量来清除活性氧和维持细胞膜渗透性的稳定, 以减轻高温胁迫的伤害。

综合评价值 D 的分析结果表明: 在同一温度条件下, 供试的 5 种杜鹃中, 白花杜鹃的 D 值最大, 红棕杜鹃的 D 值最小, 毛棉杜鹃、羊蹄躅和红滩杜鹃的 D 值介于前两者之间, 但在 30 °C 和 38 °C 条件下毛棉杜鹃和羊蹄躅的 D 值均大于红滩杜鹃, 因此, 可将 5 种杜鹃的耐热性划分为 4 个等级: 白花杜鹃的耐热性最强, 其次是毛棉杜鹃和羊蹄躅, 红滩杜鹃较弱, 红棕杜鹃最弱, 这一结果与 5 种杜鹃的田间耐热性表现^[2] 相一致。不同温度条件下 5 种杜鹃的 D 值差异较大, 均表现为 38 °C 时最大, 30 °C 时居中, 22 °C 时最小, 说明 5 种杜鹃对 38 °C 高温胁迫的反应强烈, 可作为不同种类杜鹃耐热性评价的指示温度。

周广生等^[22] 认为: 利用逐步回归法建立的抗逆性综合评价值与所测指标间的最优回归方程, 可以预

测供试对象的抗逆性强弱,使抗逆性鉴定更有预见性。本研究应用所建立的最优回归方程对5种杜鹃在不同温度条件下的综合耐热性进行了预测,结果显示:预测值与综合评价值在所有种类及处理间的大小次序完全一致,说明该方法能客观、准确地评价杜鹃苗期的耐热性。

参考文献:

- [1] Wu Z Y, Raven P H. Flora of China: Vol. 14 [M]. Beijing: Science Press, 2005: 260-455.
- [2] 张乐华. 杜鹃属植物的引种适应性研究[J]. 南京林业大学学报:自然科学版, 2004, 28(4): 92-96.
- [3] 周广, 孙宝腾, 张乐华, 等. 井冈山杜鹃叶片抗氧化系统对高温胁迫的响应[J]. 西北植物学报, 2010, 30(6): 1149-1156.
- [4] 张乐华, 周广, 孙宝腾, 等. 高温胁迫对两种常绿杜鹃属植物幼苗生理生化特性的影响[J]. 植物科学学报, 2011, 29(3): 362-369.
- [5] 周广. 高温胁迫对7种杜鹃生理生化特性的影响[D]. 南昌: 南昌大学生命科学与食品工程学院, 2010.
- [6] Wahid A, Gelani S, Ashraf M, et al. Heat tolerance in plants: an overview[J]. Environmental and Experimental Botany, 2007, 61(3): 199-223.
- [7] 张朝阳, 许桂芳. 利用隶属函数法对4种地被植物的耐热性综合评价[J]. 草业科学, 2009, 26(2): 57-60.
- [8] 曾小玲, 方淑桂, 陈文辉, 等. 不同大白菜品种苗期耐热性的综合评价[J]. 福建农业学报, 2010, 25(2): 183-186.
- [9] 白志英, 李存东, 孙红春, 等. 小麦代换系抗旱生理指标的主成分分析及综合评价[J]. 中国农业科学, 2008, 41(12): 4264-4272.
- [10] 张宏玉, 刘凯, 钟平安, 等. 水稻品种灌浆期耐热性的综合评判[J]. 生态学报, 2006, 26(7): 2154-2160.
- [11] 魏秀君, 殷云龙, 芦治国, 等. NaCl胁迫对5种绿化植物幼苗生长和生理指标的影响及耐盐性综合评价[J]. 植物资源与环境学报, 2011, 20(2): 35-42.
- [12] 赵世杰, 许长成, 邹琦, 等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进[J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(3): 207-210.
- [13] Velikova V, Yordanov I, Edreva A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines[J]. Plant Science, 2000, 151(1): 59-66.
- [14] 张殿忠, 汪沛洪, 赵会贤. 测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法[J]. 植物生理学通讯, 1990, 26(4): 62-65, 32.
- [15] Szychalla J P, Desborough S L. Superoxide dismutase, catalase and α -tocopherol content of stored potato tubers[J]. Plant Physiology, 1990, 94(3): 1214-1218.
- [16] Türkan İ, Bor M, Özdemir F, et al. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress[J]. Plant Science, 2005, 168(1): 223-231.
- [17] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts [J]. Plant Cell Physiology, 1981, 22(5): 867-880.
- [18] 曾宪海, 安锋, 蔡明道, 等. 高渗胁迫后橡胶树萌发籽苗抗旱性主成分及隶属函数分析[J]. 中国农学通报, 2010, 26(1): 260-264.
- [19] 张云, 林凡. 基于主成分分析的木麻黄抗旱性评价[J]. 江苏农业科学, 2008(5): 159-162.
- [20] 张晓霞, 高永革, 严学兵, 等. 紫花苜蓿抗热性鉴定与评价的研究进展[J]. 草业科学, 2010, 27(2): 113-118.
- [21] 蔡义东, 袁小玲, 邓荏明, 等. 基于花粉萌发与结铃表现选育耐高温高产杂交棉[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版, 2010, 36(2): 119-121.
- [22] 周广生, 梅方竹, 周竹青, 等. 小麦不同品种耐湿性生理指标综合评价及其预测[J]. 中国农业科学, 2003, 36(11): 1378-1382.

(责任编辑: 佟金凤)