

高温胁迫对野扇花植株生长及叶中生理生化指标和极性代谢产物的影响

张俊波^{1,①}, 李志怡^{1,①}, 孙清², 杜红梅^{1,②}

(1. 上海交通大学设计学院, 上海 200240; 2. 上海市闵行区三农综合服务中心, 上海 201109)

摘要: 以日温 25 °C、夜温 20 °C 为对照, 对高温(日温 35 °C、夜温 30 °C)胁迫 32 d 内野扇花(*Sarcococca ruscifolia* Stapf) 植株生长及叶中生理生化指标和极性代谢产物含量的变化进行了比较。结果表明: 高温胁迫下野扇花大部分叶片明显干枯、变黄, 甚至萎蔫、脱落。总体来看, 随着高温胁迫时间延长, 野扇花叶中叶绿素和类胡萝卜素含量逐渐下降; 丙二醛(MDA)含量逐渐升高; 电解质外渗率在处理 8 d 低于 0 d, 之后逐渐升高, 并在处理 32 d 显著($P<0.05$)升高; 超氧化物歧化酶(SOD)活性不断升高; 过氧化物酶(POD)活性先下降后升高, 并在处理 24 d 最低; 抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性先升高后降低并趋于平稳。高温胁迫下, 野扇花叶中叶绿素和类胡萝卜素含量及 POD 活性总体上低于对照, 而 MDA 含量以及 SOD 和 APX 活性一直高于对照; 电解质外渗率则表现为在处理 8、16 和 24 d 显著低于对照, 但在处理 32 d 显著高于对照。依据变量投影重要性值大于 1 且在高温胁迫和对照间差异显著的标准, 从野扇花叶中筛选出 22 种差异极性代谢产物, 包括 4 种有机酸类成分、7 种氨基酸类成分、10 种糖和糖醇类成分及 1 种不饱和脂肪酸类成分, 这些差异极性代谢产物可能影响野扇花对高温胁迫的抗性。综上所述, 野扇花对高温胁迫较为敏感, 且长时间的高温胁迫对野扇花叶中差异极性代谢产物积累的影响更大。

关键词: 高温胁迫; 野扇花; 生理生化指标; 极性代谢产物

中图分类号: Q948.112⁺.2; S688.4 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2021)02-0052-07

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2021.02.07

Effect of high temperature stress on plant growth and physiological and biochemical indexes and polar metabolites in leaves of *Sarcococca ruscifolia* ZHANG Junbo^{1,①}, LI Zhiyi^{1,①}, SUN Qing², DU Hongmei^{1,②} (1. School of Design, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China; 2. Shanghai Minhang District Comprehensive Service Center for Agriculture, Rural Areas and Farmers, Shanghai 201109, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2021, 30(2): 52-58

Abstract: Taking day temperature of 25 °C and night temperature of 20 °C as the control, plant growth and changes of physiological and biochemical indexes and polar metabolite contents in leaves of *Sarcococca ruscifolia* Stapf during high temperature (day temperature of 35 °C and night temperature of 30 °C) stress for 32 d were compared. The results show that under high temperature stress, most leaves of *S. ruscifolia* evidently wither and turn yellow, even wilt and fall. Overall, with the elongation of high temperature stress time, contents of chlorophyll and carotenoid in leaves of *S. ruscifolia* decrease gradually; malondialdehyde (MDA) content increases gradually; electrolyte leakage at treatment for 8 d is lower than that at treatment for 0 d, then increases gradually, and has a significant ($P<0.05$) increase at treatment for 32 d; superoxide dismutase (SOD) activity increases continuously; peroxidase (POD)

收稿日期: 2020-10-26

基金项目: 上海市闵行区自然科学研究项目(2018MHZ079)

作者简介: 张俊波(1996—),女,山东烟台人,硕士研究生,主要从事园林植物逆境生理的研究。

李志怡(1996—),女,四川成都人,本科,主要从事园林植物相关研究。

① 共同第一作者

② 通信作者 E-mail: hmdu@sjtu.edu.cn

引用格式: 张俊波, 李志怡, 孙清, 等. 高温胁迫对野扇花植株生长及叶中生理生化指标和极性代谢产物的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2021, 30(2): 52-58.

activity first decreases and then increases, and is the lowest at treatment for 24 d; ascorbate peroxidase (APX) activity first increases and then decreases and finally tends to be steady. Under high temperature stress, contents of chlorophyll and carotenoid and POD activity of leaves of *S. ruscifolia* are lower than those of the control in general, while MDA content and SOD and APX activities are always higher than those of the control; electrolyte leakage is significantly lower than that of the control at treatment for 8, 16, and 24 d, but is significantly higher than that of the control at treatment for 32 d. 22 differential polar metabolites are screened from leaves of *S. ruscifolia* according to the criteria of variable importance in projection greater than 1 and significant difference between the high temperature stress and the control, including 4 organic acids, 7 amino acids, 10 saccharides and saccharide alcohols, and 1 unsaturated fatty acid, these differential polar metabolites may affect the resistance of *S. ruscifolia* against high temperature stress. In conclusion, *S. ruscifolia* is sensitive to high temperature stress, and the effect of high temperature stress for long time on accumulation of differential polar metabolites in leaves of *S. ruscifolia* is greater.

Key words: high temperature stress; *Sarcococca ruscifolia* Stapf; physiological and biochemical index; polar metabolite

野扇花(*Sarcococca ruscifolia* Stapf), 又名清香桂, 为常绿灌木, 具有较强的耐寒性^[1-2]和耐阴性^[3-4], 可在长江中下游地区露地越冬^[2]。该种是城市园林绿化的理想植物, 常作为地被和绿篱等^[2]。

长时间高温不利于植物生长, 致使植物生理生化代谢水平失衡^[4]。植物体受到胁迫后, 膜脂过氧化程度加剧, 丙二醛(MDA)含量和电解质外渗率增大, 膜蛋白损伤加剧^[4]。高温条件下, 植物体内的抗氧化酶系统会发生响应, 以清除体内的活性氧, 保护膜系统^[5]; 高温还可影响植物代谢产物的积累^[6]。

作者在前期研究中发现夏季高温可引起野扇花叶片枯黄、脱落(未发表), 不利于其推广应用。为此, 本研究对模拟高温(日温 35 °C、夜温 30 °C)胁迫下野扇花植株生长及叶中生理生化指标的变化进行了分析, 并对野扇花叶片极性代谢产物的积累状况进行了比较, 以期明确野扇花的耐热性, 为野扇花在长江中下游地区的栽培应用提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

实验材料为上海迪士尼度假区的 2 年生野扇花盆栽苗, 株高 50~55 cm, 盆栽基质为园土和河沙的混合基质(体积比 2:1)。于 2019 年 3 月移至温室进行过渡培养。培养条件为温度 18 °C~30 °C, 空气相对湿度 60%~80%, 自然光照; 每周浇 1 次水。

1.2 方法

1.2.1 处理方法 过渡培养 30 d 后, 选择株高和叶

片状态相近, 且无机械损伤和病虫害的植株, 置于培养箱内适应培养 1 周后进行实验。高温处理组日温 35 °C、夜温 30 °C, 对照组日温 25 °C、夜温 20 °C。每盆 1 株, 每组 6 盆, 每盆视为 1 个重复。其余培养条件为空气相对湿度 75%~85%, 光合有效辐射 315 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 光照时间 14 $\text{h} \cdot \text{d}^{-1}$; 每 2 d 浇 1 次水。实验期间, 观察各组植株生长变化; 在处理 0、8、16、24 和 32 d 分别采集植株的叶片, 待测。

1.2.2 生理生化指标测定 采用二甲基亚砷法^[7]测定叶中叶绿素和类胡萝卜素的含量。参照 Da Costa 等^[8]的方法, 使用 FE30 电导率仪(美国 Mettler-Toledo 公司)测定叶的电解质外渗率。参照 Zhang 等^[9]的方法, 测定叶中 MDA 含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性。每个指标重复测定 4 次。

1.2.3 极性代谢产物提取及含量分析 叶片总代谢物提取参照 Du 等^[10]的方法并稍作修改; 参照 Qiu^[11]的方法, 以 2 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 核糖醇为内标, 使用 7890A-5975C 气质联用仪(美国 Agilent 公司)进行分析; 采用 NIST 2011 谱库分析总离子流色谱图, 根据化合物峰面积和内标峰面积计算极性代谢产物的相对含量。

1.3 数据处理和统计分析

使用 EXCEL 2019 和 SPSS 21.0 软件进行数据处理和统计分析, 采用 one-way ANOVA 法进行方差分析, 采用 Duncan's 新复极差法进行多重比较。应用 SIMCA 14.1 软件对极性代谢产物进行主成分分析; 采用偏最小二乘判别分析(PLS-DA)对极性代谢产物进行筛选, 选出变量投影重要性值(VIP)大于 1 且

在处理组和对照组间差异显著的极性代谢产物。

2 结果和分析

2.1 高温胁迫对野扇花植株生长的影响

实验观察发现,长时间(32 d)高温(日温 35 °C、夜温 30 °C)胁迫后,野扇花大部分叶片明显干枯、变黄,甚至萎蔫、脱落;而对照组(日温 25 °C、夜温 20 °C)植物生长良好,新叶继续萌发。

2.2 高温胁迫对野扇花叶中生理生化指标的影响

2.2.1 对叶绿素和类胡萝卜素含量的影响 高温(日温 35 °C、夜温 30 °C)胁迫下野扇花叶中叶绿素和类胡萝卜素含量的变化见表 1。结果显示:在高温处理 8、24 和 32 d,处理组叶中叶绿素含量显著 ($P < 0.05$) 低于对照组(日温 25 °C、夜温 20 °C),分别为对

照组的 96.24%、81.38% 和 66.49%;在处理 24 和 32 d,高温处理组叶中类胡萝卜素含量也显著低于对照组,分别为对照组的 90.48% 和 68.18%。随着处理时间延长,高温处理组叶中叶绿素和类胡萝卜素含量总体上逐渐下降,且在部分处理时间差异显著;而对照组叶中叶绿素和类胡萝卜素含量变化均不明显。

2.2.2 对丙二醛(MDA)含量和电解质外渗率的影响 高温胁迫下野扇花叶中 MDA 含量和电解质外渗率的变化见表 2。结果显示:在处理 16、24 和 32 d,高温处理组叶中 MDA 含量显著高于对照组,分别为对照组的 1.15、1.15 和 1.28 倍;在处理 8、16 和 24 d,高温处理组叶的电解质外渗率显著低于对照组,分别为对照组的 88.53%、86.88% 和 90.94%,但在处理 32 d 却显著高于对照组,为对照组的 1.64 倍。随着处理时间延长,高温处理组叶中 MDA 含量逐渐升高,电解质

表 1 高温胁迫下野扇花叶中叶绿素和类胡萝卜素含量的变化 ($\bar{X} \pm SE$)¹⁾

Table 1 Changes of chlorophyll and carotenoid contents in leaves of *Sarcococca ruscifolia* Stapf under high temperature stress ($\bar{X} \pm SE$)¹⁾

编号 No.	日温/°C Day temperature	夜温/°C Night temperature	不同处理时间的叶绿素含量/(mg·g ⁻¹) Chlorophyll content at different treatment times				
			0 d	8 d	16 d	24 d	32 d
T	35	30	3.79±0.03Aa	3.58±0.04Bab	3.53±0.14Ab	3.06±0.09Bc	2.46±0.06Bd
CK	25	20	3.77±0.06Aa	3.72±0.02Aa	3.70±0.06Aa	3.76±0.08Aa	3.70±0.03Aa

编号 No.	日温/°C Day temperature	夜温/°C Night temperature	不同处理时间的类胡萝卜素含量/(mg·g ⁻¹) Carotenoid content at different treatment times				
			0 d	8 d	16 d	24 d	32 d
T	35	30	0.21±0.00Aa	0.20±0.00Aa	0.21±0.00Aa	0.19±0.00Bb	0.15±0.00Bc
CK	25	20	0.23±0.05Aa	0.21±0.04Aa	0.22±0.06Aa	0.21±0.03Aa	0.22±0.03Aa

¹⁾T: 高温处理组 High temperature treatment group; CK: 对照组 The control group. 同列中不同大写字母表示在同一处理时间不同组间差异显著 ($P < 0.05$) Different uppercases in the same column indicate the significant ($P < 0.05$) difference between different groups at the same treatment time; 同行中不同小写字母表示在同组不同处理时间间差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same row indicate the significant ($P < 0.05$) difference in the same group among different treatment times.

表 2 高温胁迫下野扇花叶中丙二醛(MDA)含量和电解质外渗率的变化 ($\bar{X} \pm SE$)¹⁾

Table 2 Changes of malondialdehyde (MDA) content and electrolyte leakage of leaves of *Sarcococca ruscifolia* Stapf under high temperature stress ($\bar{X} \pm SE$)¹⁾

编号 No.	日温/°C Day temperature	夜温/°C Night temperature	不同处理时间的 MDA 含量/(mg·g ⁻¹) MDA content at different treatment times				
			0 d	8 d	16 d	24 d	32 d
T	35	30	1.56±0.02Ac	1.67±0.06Abc	1.73±0.03Ab	1.75±0.05Ab	1.94±0.04Aa
CK	25	20	1.51±0.03Aa	1.50±0.09Aa	1.51±0.06Ba	1.52±0.02Ba	1.51±0.02Ba

编号 No.	日温/°C Day temperature	夜温/°C Night temperature	不同处理时间的电解质外渗率/(mg·g ⁻¹) Electrolyte leakage at different treatment times				
			0 d	8 d	16 d	24 d	32 d
T	35	30	40.62±0.73Ab	34.73±1.37Bb	34.76±0.56Bb	35.35±0.71Bb	63.53±4.26Aa
CK	25	20	38.83±0.47Aa	39.23±0.23Aa	40.01±0.82Aa	38.87±0.32Aa	38.77±0.31Ba

¹⁾T: 高温处理组 High temperature treatment group; CK: 对照组 The control group. 同列中不同大写字母表示在同一处理时间不同组间差异显著 ($P < 0.05$) Different uppercases in the same column indicate the significant ($P < 0.05$) difference between different groups at the same treatment time; 同行中不同小写字母表示在同组不同处理时间间差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same row indicate the significant ($P < 0.05$) difference in the same group among different treatment times.

外渗率则表现为在处理 8 d 低于处理 0 d,之后逐渐升高,并在处理 32 d 显著升高;而对照组叶中 MDA 含量和电解质外渗率变化均不明显。

2.2.3 对抗氧化酶活性的影响 高温胁迫下野扇花叶中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)及抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的变化见表3。结

果显示:在处理 24 和 32 d,高温处理组叶中 SOD 活性显著高于对照组,分别为对照组的 3.01 和 5.07 倍;在处理 16、24 和 32 d,高温处理组叶中 POD 活性显著低于对照组,分别为对照组的 92.25%、65.80% 和 86.18%;在处理 8、16、24 和 32 d,高温处理组叶中 APX 活性显著高于对照组,分别为对照组的 1.21、

表3 高温胁迫下野扇花叶中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)及抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的变化($\bar{X} \pm SE$)¹⁾

Table 3 Changes of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), and ascorbate peroxidase (APX) activities of leaves of *Sarcococca ruscifolia* Stapf under high temperature stress ($\bar{X} \pm SE$)¹⁾

编号 No.	日温/°C Day temperature	夜温/°C Night temperature	不同处理时间的 SOD 活性/(U · g ⁻¹) SOD activity at different treatment times				
			0 d	8 d	16 d	24 d	32 d
T	35	30	20.18±1.76Ac	25.96±4.30Ac	25.74±2.62Ac	60.70±11.95Ab	97.43±12.80Aa
CK	25	20	19.95±1.48Aa	19.58±2.22Aa	19.99±0.47Aa	20.15±0.61Ba	19.23±1.72Ba

编号 No.	日温/°C Day temperature	夜温/°C Night temperature	不同处理时间的 POD 活性/(U · g ⁻¹) POD activity at different treatment times				
			0 d	8 d	16 d	24 d	32 d
T	35	30	34.32±1.25Aa	29.58±1.21Ab	29.06±0.76Bb	21.89±1.11Bc	26.93±0.28Bb
CK	25	20	33.57±1.97Aa	33.60±2.31Aa	31.50±0.45Aa	33.27±0.14Aa	31.25±1.27Aa

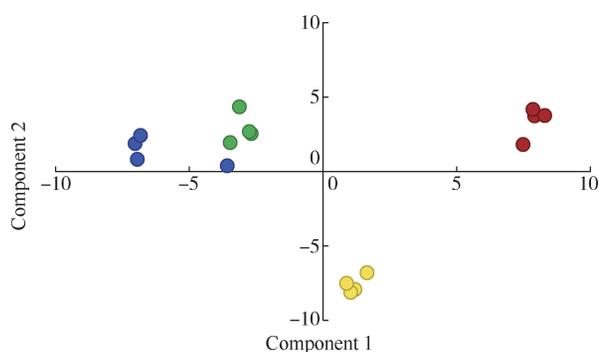
编号 No.	日温/°C Day temperature	夜温/°C Night temperature	不同处理时间的 APX 活性/(U · g ⁻¹) APX activity at different treatment times				
			0 d	8 d	16 d	24 d	32 d
T	35	30	15.25±1.17Ac	15.65±1.25Ac	36.78±1.64Aa	30.19±3.05Ab	34.06±1.14Ab
CK	25	20	13.59±1.58Aa	12.91±0.67Ba	13.98±0.42Ba	13.29±0.26Ba	13.05±0.79Ba

¹⁾T: 高温处理组 High temperature treatment group; CK: 对照组 The control group. 同列中不同大写字母表示在同一处理时间不同组间差异显著 ($P < 0.05$) Different uppercases in the same column indicate the significant ($P < 0.05$) difference between different groups at the same treatment time; 同行中不同小写字母表示在同组不同处理时间间差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same row indicate the significant ($P < 0.05$) difference in the same group among different treatment times.

2.63、2.27 和 2.61 倍。随着处理时间延长,高温处理组叶中 SOD 活性总体呈不断升高的趋势;POD 活性呈先下降后升高的趋势,在处理 24 d 时达到最低值;APX 活性呈先升高后降低并趋于平稳的趋势,在处理 16 d 时达到最高值。然而,对照组叶中 SOD、POD 和 APX 活性则随处理时间延长无明显变化。

2.3 高温胁迫对野扇花叶中极性代谢产物的影响

为了明确短时间(8 d)和长时间(32 d)高温(日温 35 °C、夜温 30 °C)胁迫对野扇花叶中极性代谢产物的影响,采用 GC-MS 技术对短时间和长时间高温胁迫下野扇花叶中的极性代谢产物进行了分析,共分离鉴定出 80 种极性代谢产物,包括 13 种有机酸类成分、15 种氨基酸类成分、42 种糖和糖醇类成分、6 种胺类成分以及 4 种其他成分。对这些成分进行主成分分析,结果见图 1。结果显示:主成分 1 占比 35.90%,能够将短时间和长时间高温胁迫下野扇花叶中的极性代谢产物完全分开。说明高温胁迫可影响极性代谢产物的积累,且长时间高温胁迫对野扇花



●: 短时间对照(日温 25 °C、夜温 20 °C)处理 Short time control (day temperature of 25 °C and night temperature of 20 °C) treatment; ●: 短时间高温(日温 35 °C、夜温 30 °C)处理 Short time high temperature (day temperature of 35 °C and night temperature of 30 °C) treatment; ●: 长时间对照处理 Long time control treatment; ●: 长时间高温处理 Long time high temperature treatment. 相同颜色圆点代表同组的 4 个重复 Dots of the same color represent four replicates of the same group.

图1 短时间(8 d)和长时间(32 d)高温胁迫下野扇花叶中极性代谢产物的主成分分析

Fig. 1 Principal component analysis on polar metabolites in leaves of *Sarcococca ruscifolia* Stapf under high temperature stress for short time (8 d) and long time (32 d)

叶中极性代谢产物积累的影响更大。

依据变量投影重要性值大于1且在处理组和对照组间差异显著($P<0.05$)的标准,从80种极性代谢产物中选出22种差异极性代谢产物,包括4种有机酸类成分、7种氨基酸类成分、10种糖和糖醇类成分及1种不饱和脂肪酸类成分,详见表4。

结果显示:有机酸类成分中,高温处理组叶中莽草酸和4-羟基丁酸相对含量在处理8d显著低于对照组(日温25℃、夜温20℃),琥珀酸、苹果酸和4-羟基丁酸相对含量在处理32d也显著低于对照组。说明野扇花叶中莽草酸和4-羟基丁酸的积累在短时间高温胁迫下明显减少,琥珀酸、苹果酸和4-羟

基丁酸的积累在长时间高温胁迫下也明显减少。

氨基酸类成分中,高温处理组叶中脯氨酸、天冬氨酸和蛋氨酸相对含量在处理8d显著低于对照组,丝氨酸相对含量在处理32d也显著低于对照组,而亮氨酸、 γ -氨基丁酸、脯氨酸、色氨酸和天冬氨酸相对含量在处理32d却显著高于对照组,分别为对照组的4.40、1.86、1.91、1.40和1.31倍。说明野扇花叶中脯氨酸、天冬氨酸和蛋氨酸的积累在短时间高温胁迫下明显减少,丝氨酸的积累在长时间高温胁迫下也明显减少,而 γ -氨基丁酸、脯氨酸、色氨酸和天冬氨酸的积累在长时间高温胁迫下却明显增加。

糖和糖醇类成分中,高温处理组叶中肌醇半乳糖

表4 基于PLS-DA法的高温胁迫下野扇花叶中差异极性代谢产物相对含量的变化分析($\bar{X}\pm SE$)¹⁾

Table 4 Analysis on changes of relative contents of differential polar metabolites in leaves of *Sarcococca ruscifolia* Stapf under high temperature stress based on PLS-DA method ($\bar{X}\pm SE$)¹⁾

差异极性代谢产物 Differential polar metabolite	VIP	短时间(8 d)处理的相对含量 Relative content of short time (8 d) treatment		长时间(32 d)处理的相对含量 Relative content of long time (32 d) treatment	
		T	CK	T	CK
有机酸类成分 Organic acids					
莽草酸 Shikimic acid	1.313	0.043±0.004b	0.062±0.004a	0.036±0.011a	0.037±0.003a
琥珀酸 Succinic acid	1.083	0.090±0.023a	0.053±0.006a	0.030±0.004b	0.090±0.012a
苹果酸 Malic acid	1.206	2.867±0.541a	1.943±0.545a	0.460±0.035b	2.256±0.305a
4-羟基丁酸 4-hydroxybutanoic acid	1.257	0.012±0.002b	0.037±0.004a	0.000±0.000b	0.034±0.004a
氨基酸类成分 Amino acids					
亮氨酸 Leucine	1.033	0.076±0.006a	0.083±0.005a	0.022±0.004a	0.005±0.000b
丝氨酸 Serine	1.481	0.005±0.006a	0.020±0.002a	0.021±0.004b	0.107±0.003a
γ -氨基丁酸 γ -aminobutyric acid	1.131	1.857±0.098a	2.127±0.086a	2.169±0.146a	1.168±0.092b
脯氨酸 Proline	1.262	0.077±0.022b	0.374±0.133a	0.556±0.130a	0.291±0.111b
色氨酸 Threonine	1.008	0.082±0.009a	0.058±0.005a	0.118±0.013a	0.084±0.007b
天冬氨酸 Aspartic acid	1.317	0.013±0.004b	0.020±0.001a	0.017±0.002a	0.013±0.002b
蛋氨酸 Methionine	1.267	0.002±0.005b	0.009±0.002a	0.000±0.000a	0.000±0.000a
糖和糖醇类成分 Saccharides and saccharide alcohols					
肌醇半乳糖 Galactinol	1.145	0.387±0.058a	0.019±0.004b	2.367±0.155a	0.069±0.009b
肌醇 Myo-inositol	1.133	1.069±0.081a	0.375±0.056b	3.191±0.271a	0.149±0.005b
1-脱氧戊糖醇 1-deoxypentitol	1.002	0.064±0.002a	0.042±0.001b	0.075±0.012a	0.007±0.000b
甘露糖 Mannose	1.130	0.436±0.080a	0.157±0.007b	0.269±0.005a	0.054±0.002b
阿拉伯糖 Arabinose	1.024	0.517±0.010a	0.521±0.008a	0.310±0.022a	0.098±0.004b
甘露醇 Mannitol	1.133	0.069±0.006b	0.105±0.004a	0.221±0.010a	0.100±0.004b
果糖 Fructose	1.003	24.339±1.807a	24.492±0.533a	12.906±0.685a	7.225±0.068b
阿洛糖 Allose	1.183	0.077±0.002b	0.093±0.003a	0.154±0.006a	0.092±0.002b
阿拉伯呋喃糖 Arabinofuranose	1.299	0.417±0.129b	0.700±0.105a	0.267±0.034a	0.308±0.032a
赤藓糖 Erythrose	1.009	0.010±0.002b	0.019±0.001a	0.014±0.002b	0.044±0.000a
不饱和脂肪酸类成分 Unsaturated fatty acids					
α -亚麻酸 α -linolenic acid	1.130	0.090±0.022a	0.029±0.005b	0.013±0.002a	0.013±0.001a

¹⁾ VIP: 变量投影重要性值 Variable importance in projection; T: 高温处理组(日温35℃、夜温30℃) High temperature treatment group (day temperature of 35℃ and night temperature of 30℃); CK: 对照组(日温25℃、夜温20℃) The control group (day temperature of 25℃ and night temperature of 20℃). 同行中不同小写字母表示在不同组间差异显著($P<0.05$) Different lowercases in the same row indicate the significant ($P<0.05$) difference between different groups.

昔、肌醇、1-脱氧戊糖醇和甘露糖相对含量在处理8 d显著高于对照组,分别为对照组的20.37、2.85、1.52和2.78倍,而甘露醇、阿洛糖、阿拉伯呋喃糖和赤藓糖相对含量在处理8 d却显著低于对照组;该组叶中赤藓糖相对含量在处理32 d显著低于对照组,而肌醇半乳糖苷、肌醇、1-脱氧戊糖醇、甘露糖、阿拉伯糖、甘露醇、果糖和阿洛糖相对含量在处理32 d却显著高于对照组,分别为对照组的34.30、21.42、10.71、4.98、3.16、2.21、1.79和1.67倍。说明野扇花叶中甘露醇、阿洛糖、阿拉伯呋喃糖和赤藓糖的积累在短时间高温胁迫下明显减少,赤藓糖的积累在长时间高温胁迫下也明显减少,而肌醇半乳糖苷、肌醇、1-脱氧戊糖醇和甘露糖的积累在短时间高温胁迫下却明显增加,肌醇半乳糖苷、肌醇、1-脱氧戊糖醇、甘露糖、阿拉伯糖、甘露醇、果糖和阿洛糖的积累在长时间高温胁迫下也明显增加。

不饱和脂肪酸类成分仅有 α -亚麻酸1种,高温处理组叶中 α -亚麻酸相对含量在处理8 d显著高于对照组,为对照组的3.10倍,而在处理32 d与对照组无显著差异。说明野扇花叶中 α -亚麻酸的积累在短时间高温胁迫下明显增加。

3 讨论和结论

叶绿素和类胡萝卜素与植物的光合作用息息相关。本研究中,高温(日温35℃、夜温30℃)胁迫处理8、16、24和32 d,野扇花叶中叶绿素含量均低于对照组(日温25℃、夜温20℃),且在部分处理时间显著低于对照组,这可能与叶绿素合成受阻^[12]和(或)降解加速^[13]有关,具体原因有待进一步深入研究。类胡萝卜素在植物体内参与清除活性氧过程,并且,可保护叶绿素免受光氧化^[14]。随着高温胁迫持续,野扇花叶中类胡萝卜素含量总体上逐渐下降,且在处理24和32 d显著($P < 0.05$)低于对照组,这可能与野扇花在受到高温胁迫后体内产生大量活性氧有关。

植物在受到高温胁迫时,体内会产生大量的自由基,这些自由基与不饱和脂肪酸发生反应,生成丙二醛(MDA)等产物,破坏细胞膜结构,从而影响植物体正常的生理活动^[4]。随着高温胁迫持续,野扇花叶中MDA含量不断升高且总体上显著高于对照组,在处理32 d达到对照组的1.28倍;而在处理32 d,处理组叶的电解质外渗率显著高于对照组,表明高温胁迫

32 d,野扇花叶细胞的细胞液外渗严重,细胞膜结构损伤严重。

抗氧化酶是植物体抗氧化防御系统的重要组成部分,且不同种类抗氧化酶对高温胁迫的响应存在差异^[15]。研究表明:超氧化物歧化酶(SOD)是清除 O_2^- 的第1道防线,可将 O_2^- 分解为 H_2O_2 和 H_2O ^[5],而过氧化物酶(POD)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)能够清除体内的 H_2O_2 ^[5],APX还能够参与抗坏血酸-谷胱甘肽循环中维生素C的再生过程^[15]。随着高温胁迫持续,野扇花叶中SOD活性不断增强且显著高于对照组,可见,高温胁迫后SOD活性不断增强可能是野扇花的一种自我保护调节,以清除体内过多的 O_2^- 。高温胁迫8、16和24 d,野扇花叶中POD活性持续下降,可能与高温胁迫下野扇花叶中可溶性蛋白质含量升高(未发表)有关;但高温胁迫32 d,野扇花叶中POD活性增强,可能是为了清除体内大量的 H_2O_2 。与POD活性不同,高温胁迫8、16、24和32 d,野扇花叶中APX活性持续增强且显著高于对照组,这可能与维生素C再生有关^[5]。

糖在植物生长和胁迫适应过程中发挥着重要作用,可直接参与其他化合物合成和能量产生,还能够参与膜稳定、基因表达调节和糖敏感信号系统调控^[10]。高温胁迫下,植物体内参与植物细胞结构组成和代谢调控的糖类化合物(如蔗糖、葡萄糖和果糖等)含量会发生改变^[10]。高温胁迫32 d,野扇花叶中甘露糖和甘露醇的相对含量较对照组显著升高,可能与体内的L-半乳糖途径中维生素C的合成相关,维生素C可作为非酶抗氧化剂参与植物生理发育调控^[16-17]。高温胁迫32 d,野扇花叶中APX活性较对照组显著增强,证明甘露糖含量升高还可能与AsA合成有关。肌醇为环状糖醇,既是一种渗透调节剂,也是多种代谢途径(如应激反应等)的二级信使^[18];肌醇半乳糖苷是植物体内重要可溶性糖棉子糖类寡糖(RFOs)的合成底物,而RFOs的相关代谢产物可能参与植物信号转导。相关研究表明:肌醇半乳糖合酶广泛参与植物对非生物逆境胁迫的响应^[19]。高温胁迫8和32 d,野扇花叶中肌醇半乳糖苷和肌醇的相对含量显著升高,推测野扇花的磷酸肌醇代谢途径受高温胁迫影响显著。

值得注意的是,高温胁迫8 d,野扇花叶中 α -亚麻酸相对含量显著高于对照组。已有研究表明:膜脂肪酸饱和程度与植物抗逆性有关,不饱和脂肪酸水平

较高可能是植物适应高温胁迫的一种保护机制^[20]；膜脂肪酸不饱和程度增加有利于稳定植物的光合能力,提高植物的耐热性^[21]。

总体来看,高温胁迫下,野扇花大部分叶片干枯、变黄,甚至萎蔫、脱落;叶中叶绿素和类胡萝卜素含量逐渐下降,MDA含量逐渐升高,电解质外渗率仅在处理32 d显著升高,SOD和APX活性增强,POD活性减弱。高温胁迫下,野扇花叶中22种差异极性代谢产物较对照组发生显著变化,并且,胁迫时间越长,变化越大,据此认为这些差异极性代谢产物可能在野扇花响应和抵抗高温胁迫过程中发挥重要作用,影响野扇花抗高温的能力。综上所述,野扇花对高温胁迫较为敏感,且长时间高温胁迫对野扇花叶中差异极性代谢产物积累的影响更大。然而,关于野扇花叶中差异极性代谢产物在植株响应高温胁迫中的作用尚不清楚,有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 王榆枫. 极端低温胁迫野扇花叶片耐寒生理生化特性的研究[J]. 贵州林业科技, 2013, 41(4): 43-46.
- [2] 刘艺, 杨远庆, 袁春强. 清香桂耐寒性及园林应用评价[J]. 福建林业科技, 2010, 37(1): 148-151.
- [3] 吴梅, 聂捷夫, 娄义龙, 等. 野扇花与几种耐阴性植物光合作用的比较[J]. 贵州农业科学, 2006, 34(4): 100-101.
- [4] WAHID A, GELANI S, ASHRAF M, et al. Heat tolerance in plants: an overview[J]. Environmental and Experimental Botany, 2007, 61(3): 199-223.
- [5] MITTLER R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance[J]. Trends in Plant Science, 2002, 7(9): 405-410.
- [6] RIZHSKY L, LIANG H, SHUMAN J, et al. When defense pathways collide. The response of Arabidopsis to a combination of drought and heat stress[J]. Plant Physiology, 2004, 134(4): 1683-1696.
- [7] ARNON D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*[J]. Plant physiology, 1949, 24(1): 1-15.
- [8] DACOSTA M, WANG Z, HUANG B. Physiological adaptation of Kentucky bluegrass to localized soil drying[J]. Crop Science, 2004, 44(4): 1307-1314.
- [9] ZHANG J, KIRKHAM M B. Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings[J]. New Phytologist, 1996, 132(3): 361-373.
- [10] DU H, WANG Z, YU W, et al. Differential metabolic responses of perennial grass *Cynodon transvaalensis* × *Cynodon dactylon* (C₄) and *Poa pratensis* (C₃) to heat stress[J]. Physiologia Plantarum, 2011, 141: 251-264.
- [11] QIU Y, SU M, LIU Y, et al. Application of ethyl chloroformate derivatization for gas chromatography-mass spectrometry based metabolomic profiling[J]. Analytica Chimica Acta, 2007, 583(2): 277-283.
- [12] TEWARI K A, TRIPATHY C B. Temperature-stress-induced impairment of chlorophyll biosynthetic reactions in cucumber and wheat[J]. Plant Physiology, 1998, 117: 851-858.
- [13] 郭培国, 李荣华. 夜间高温胁迫对水稻叶片光合机构的影响[J]. 植物学报, 2000, 42(7): 673-678.
- [14] 马俊莹, 周睿, 程炳嵩. 类胡萝卜素与活性氧代谢的关系[J]. 山东农业大学学报, 1997, 28(4): 518-522.
- [15] 王凯红, 刘向平, 张乐华, 等. 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[J]. 植物资源与环境学报, 2011, 20(3): 29-35.
- [16] 董今, 曹东艳, 田慧琴, 等. 利用植物代谢途径提高AsA含量的研究进展[J]. 中国食品学报, 2017, 17(8): 197-202.
- [17] DAVEY M W, GILOT C, PERSIAU G, et al. Ascorbate biosynthesis in Arabidopsis cell suspension culture[J]. Plant Physiology, 1999, 121(2): 535-543.
- [18] ECKARDT N A. Myo-inositol biosynthesis genes in Arabidopsis: differential patterns of gene expression and role in cell death[J]. The Plant Cell, 2010, 22(3): 537.
- [19] 从青, 程龙军, 杨宁. 植物肌醇半乳糖苷合酶的生理功能和调控机制[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2019, 35(11): 1193-1200.
- [20] GOMBOS Z, WADA H, HIDEG E, et al. The unsaturation of membrane lipids stabilizes photosynthesis against heat stress[J]. Plant Physiology, 1994, 104(2): 563-567.
- [21] 彭燕, 黄炳茹, 许立新, 等. 高温胁迫对草地早熟禾渗透势、膜脂肪酸成分及膜脂过氧化产物的影响[J]. 园艺学报, 2013, 40(5): 971-980.

(责任编辑: 佟金凤)