

两种常绿杜鹃亚属幼苗耐热性的主成分及隶属函数分析

王凯红¹, 凌家慧², 张乐华^{1*}, 刘向平¹, 李立¹

(1. 江西省、中国科学院庐山植物园, 江西 九江 332900; 2. 江西省庐山自然保护区管理处, 江西 九江 332900)

摘要:以常绿杜鹃亚属(*Rhododendron* subgenus *Hymenanthus*)的井冈山杜鹃(*R. jinggangshanicum* Tam)、猴头杜鹃(*R. simiarum* Hance) 4年生实生苗为材料,在人工气候箱中模拟高温试验,测定不同温度下叶片的丙二醛(MDA)、过氧化氢(H_2O_2)、脯氨酸(Pro)、可溶性蛋白质、抗坏血酸(AsA)含量及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)及抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性等生理生化指标,并采用主成分分析与隶属函数相结合的方法对其种间耐热性进行综合评价。结果表明,与杜鹃幼苗耐热性密切相关的生理生化指标有MDA、 H_2O_2 、SOD、CAT、POD及APX,6个指标的隶属函数值(*U*值)与所有指标的*U*值高度相关($r=0.987^{**}$),达到了极显著水平;在30℃和38℃高温条件下,猴头杜鹃的*U*值及其增幅均大于井冈山杜鹃,评价结果与其田间耐热性一致。因此,本方法可用来对该亚属杜鹃幼苗的种间耐热性进行客观评价。

关键词:常绿杜鹃亚属; 幼苗; 耐热性; 综合评价

中图分类号: Q945.78

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2011)05-0412-07

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2011.05.004

Analysis of Principal Components and Subordinate Function on Heat Tolerance of Two Seedlings of *Rhododendron* Subgenus *Hymenanthus*

WANG Kai-hong¹, LING Jia-hui², ZHANG Le-hua^{1*}, LIU Xiang-ping¹, LI Li¹

(1. Lushan Botanical Garden, Jiangxi Province and Chinese Academy of Sciences, Jiujiang 332900, China; 2. Management Office of Lushan Nature Reserve, Jiangxi Province, Jiujiang 332900, China)

Abstract: In order to explore the indices and evaluation method of heat tolerance of *Rhododendron* subgenus *Hymenanthus*, 4-year-old seedlings of *R. jinggangshanicum* Tam and *R. simiarum* Hance were planted in artificial climate chamber under different high temperatures (30℃, 38℃, and with 22℃ as control). The contents of malondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide (H_2O_2), proline (Pro), soluble protein, ascorbic acid (AsA) and the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD), ascorbate peroxidase (APX) were determined after treated for 6 days. The heat tolerance of two species was comprehensively evaluated by principal components analysis and fuzzy subordinate function based on the measurement values of tested parameters. The results showed that MDA, H_2O_2 , SOD, CAT, POD, APX were the most important physiological and biochemical indexes for heat tolerance of *Rhododendron* seedlings. A very significant correlation ($r=0.987^{**}$) was found between the subordinate function values (*U* value) of 6 main indices and *U* value of whole indices. The *U* value and increased range of *U* value in *R. simiarum* were larger than those in *R. jinggangshanicum* at 30℃ and 38℃, the evaluation results accorded with their behavior in the field. It is suggested that the method can give an objective evaluation on the comprehensive heat tolerance between different species of *Rhododendron* subgenus *Hymenanthus* seedlings.

收稿日期: 2011-01-27 接受日期: 2011-05-31

基金项目: 科技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)资助

* 通讯作者 Corresponding author, email: lehuaz@vip.sohu.com

Key words: *Rhododendron* subgenus *Hymenanthus*; Seedling; Heat tolerance; Comprehensive evaluation

随着世界人口的增长和工业化、都市化进程的加快,全球气候变暖日趋加剧。高温热害越来越严重地影响着植物的生理生态过程,逐渐成为了限制植物分布、生长和生产力的重要生态因子^[1],而植物耐热机制的研究及鉴定方法、评价指标选择也成为了全球的关注热点^[2]。

中国是杜鹃花属(*Rhododendron* L.)常绿杜鹃亚属(subgenus *Hymenanthus*)植物的分布中心,有259种(其中特有种190种),主要分布于西南高海拔地区^[3]。该亚属植物株形优美、花大色艳、四季常绿,具有极高的观赏价值,但多自然分布于高山大岭、深壑幽谷之中,受遗传机制的制约,性喜冷凉湿润气候、耐热性差,高温热害是制约其引种驯化和利用的主要限制因子^[4]。因此,开展杜鹃花种间耐热性鉴定与评价对其耐热种质发掘、遗传改良和耐热目标基因研究等具有重要意义,而鉴定方法与指标又是其耐热性评价的基础。为了探讨常绿杜鹃亚属植物的耐热机制及不同种间适应性的差异,我们^[5-6]曾开展了系列的高温胁迫试验,筛选了一批与耐热性有关的形态及生理指标。但植物耐热性是一个受多基因控制的数量性状^[7],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可靠地反映植物耐热性的遗传本质^[8-9]。主成分分析与隶属函数相结合的方法能充分利用各指标间的深层次联系,使单个指标评定的片面性得到其它指标的弥补和缓解,从而使评价结果更为客观科学^[10-11]。为探索常绿亚属杜鹃的耐热机制及评价方法与指标,笔者在实验测定的生理指标基础上,采用主成分分析筛选了一些与杜鹃幼苗耐热性密切相关的生理指标,并运用模糊数学隶属函数法对其幼苗耐热性进行了综合评价,以期对杜鹃花耐热性早期鉴定、耐热种源筛选及其鉴定指标与评价体系的建立等提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料及处理

井冈山杜鹃(*R. jinggangshanicum* Tam)、猴头杜鹃(*R. simiarum* Hance)均取自江西省、中国科学院庐山植物园,为同一批次播种的4年生实生苗。

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%,速效氮、速效磷、速效钾分别为266.20、22.17、83.65 mg kg⁻¹,pH值为4.79),在常温温室中养护管理,待苗木恢复正常生长后移入温度为22℃左右、相对湿度为75%~80%的恒温预处理室中适应14 d,然后进行实验处理。

实验于人工气候箱中进行,采用22℃(对照)、30℃(轻度高温胁迫)、38℃(重度高温胁迫)3个温度梯度处理,培养箱空气相对湿度为80%、光照为12 h/12 h(光/暗)、光强约120 μmol m⁻² s⁻¹。为减轻高温引发的水分胁迫伤害,盆底设置托盘(水深1.0~1.5 cm)补充基质水分并每天补水保湿。每处理设3次重复,每个重复6株。前期实验表明,高温胁迫6 d时杜鹃叶片的生理生化指标变化较大、重复间的数值稳定,且各指标变幅与种间耐热性密切相关,因此,在处理6 d时取当年生的功能叶片测定相关生理生化指标。

1.2 方法

丙二醛(MDA)含量测定 参照赵世杰等^[12]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 × 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,根据公式 $[6.45 \times (OD_{532} - OD_{600}) - 0.56 \times OD_{450}]$ 计算MDA含量,单位为μmol g⁻¹ FW。

过氧化氢(H₂O₂)含量 采用Velikova等^[13]的方法,于390 nm处测溶液的吸光值。根据标准曲线求得H₂O₂含量,单位为μmol g⁻¹ FW。

脯氨酸(Pro)含量 参照酸性茚三酮法^[14],并进行改进。取叶片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765 × g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酸性茚三酮在沸水中煮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OD₅₂₀,根据标准曲线计算脯氨酸含量,单位为μg g⁻¹ FW。

可溶性蛋白质含量 采用Bradford等^[15]的方法,于595 nm处测定吸光值OD₅₉₅,根据标准曲线计算可溶性蛋白质含量,单位为mg g⁻¹ FW。

抗坏血酸(AsA)含量 参照蔡卓等^[16]的方法,并进行改进。取叶片 0.5 g,加入石英砂及 5 mL 10% TCA 研磨,匀浆于 10000 × g 离心 5 min。取上清液 2 mL,分别加入 4 mL 1 mol/L 硫酸及 2 mL 5 mol/L 重铬酸钾溶液,定容至 25 mL,反应 30 min 后,在 350 nm 处测其吸光值 OD₃₅₀,根据标准曲线求得抗坏血酸含量,单位为 mg g⁻¹ FW。

抗氧化酶活性 SOD 活性按照 Spychalla 等^[17]的方法测定,以抑制氮蓝四唑(NBT)光化还原 50% 为 1 个酶活性单位,用 U g⁻¹ FW 表示;CAT 活性按照 Turkan 等^[18]的方法测定,以每分钟 OD₂₄₀ 值变化 0.1 为 1 个酶活力单位,用 U g⁻¹ FW min⁻¹ 表示;POD 活性测定采用 Wu 等^[19]的方法,以每分钟 OD₄₇₀ 值变化 0.01 为 1 个酶活力单位,用 U g⁻¹ FW min⁻¹ 表示;APX 活性测定采用 Nakano 等^[20]的方法,以每分钟 OD₂₉₀ 变化 0.01 为 1 个酶活性单位,表示为 U g⁻¹ FW min⁻¹。

1.3 数据处理与统计分析

数据处理、主成分分析和隶属函数计算运用 Excel 2007 和 SPSS17 软件完成。

主成分分析 由于有些指标的量纲不同,需要对原始数据进行标准化处理;然后由样本相关矩阵出发,计算指标相关矩阵的特征根和特征向量及每个主成分的贡献率和累积贡献率;建立主成分方程、进行因子分析。

隶属函数值 参照曾宪海等^[10] 和韩瑞宏

等^[11]的方法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: $U(X_{ij}) = (X_{ij} - X_{imin}) / (X_{imax} - X_{imin})$,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_{imin} 为各材料中测定指标的最小值, X_{imax} 为各材料中测定指标的最大值。其中 H₂O₂、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: $U(X_{ij}) = 1 - (X_{ij} - X_{imin}) / (X_{imax} - X_{imin})$ 。然后将各指标的耐热隶属值进行累加求其平均值,平均值越大其耐热性越强,反之则耐热性较弱。

2 结果和分析

2.1 生理生化指标的变化

从表 1 可以看出,高温胁迫下 2 种杜鹃叶片的各项生理生化指标均发生了一系列的变化,除 AsA 含量随着胁迫温度的升高而降低、猴头杜鹃 SOD 活性在 38℃ 时略低于 30℃ 外,其它指标均随着胁迫温度的升高而增大,但不同物种及同一物种不同温度处理间各项生理指标的变化幅度均存在较大差异,因而用单一指标评价杜鹃种间的耐热性强弱,其结果均不相同;同时也说明杜鹃花耐热性是一个复杂的综合性状,不同物种在不同胁迫强度下其耐热性指标的响应各有侧重。各生理指标的相关系数矩阵(表略)表明,所有单项指标间均存在着或大或小的相关性,其中有些指标达到显著或极显著统计水平,从而使得它们所提供的信息发生了重叠,因此需要进行主成分分析。

表 1 高温胁迫下 2 种杜鹃的生理生化指标

Table 1 Physiological and biochemical indexes in two *Rhododendron* species under high temperature stresses

指标 Indexes	井冈山杜鹃 <i>R. jinggangshanicum</i>			猴头杜鹃 <i>R. simiarum</i>		
	22℃	30℃	38℃	22℃	30℃	38℃
MDA (μmol g ⁻¹ FW)	0.0304 ± 0.0014cC	0.0420 ± 0.0076bB	0.0619 ± 0.0032aA	0.0283 ± 0.0008cC	0.0370 ± 0.0026bB	0.0666 ± 0.0019aA
H ₂ O ₂ (μmol g ⁻¹ FW)	0.2917 ± 0.0198cC	0.3909 ± 0.0018bB	0.7780 ± 0.0031aA	0.0411 ± 0.0056bB	0.0460 ± 0.0039bB	0.1019 ± 0.0015aA
脯氨酸 Proline (μg g ⁻¹ FW)	44.7713 ± 1.7512cC	55.5571 ± 1.2219bB	65.2991 ± 0.8756aA	69.7063 ± 3.1570cB	76.6649 ± 1.2219bB	123.0555 ± 3.1378aA
可溶性蛋白质 Soluble protein (mg g ⁻¹ FW)	0.0807 ± 0.0063cC	0.1347 ± 0.0187bB	0.2498 ± 0.0244aA	0.0652 ± 0.0052bB	0.1013 ± 0.0063aAB	0.1251 ± 0.0196aA
AsA (mg g ⁻¹ FW)	0.6011 ± 0.0101aA	0.4347 ± 0.0103bB	0.1294 ± 0.0145cC	0.3687 ± 0.0111aA	0.2978 ± 0.0085bB	0.2363 ± 0.0096cC
SOD (U g ⁻¹ FW)	356.5070 ± 2.6214bB	369.9626 ± 2.3541aA	374.7197 ± 2.6738aA	304.8590 ± 2.6143bB	377.5739 ± 3.1846aA	371.4577 ± 3.4077aA
CAT (U g ⁻¹ FW min ⁻¹)	212.7802 ± 13.4949cC	439.4404 ± 20.4866bB	614.1700 ± 51.7236aA	348.6111 ± 57.9411cC	543.0556 ± 31.2953bB	896.6667 ± 54.8293aA
POD (U g ⁻¹ FW min ⁻¹)	90.0000 ± 8.8192cC	130.000 ± 15.2753bB	204.4444 ± 13.8778aA	98.8889 ± 6.9389cC	255.5556 ± 23.4126bB	444.4444 ± 49.1408aA
APX (U g ⁻¹ FW min ⁻¹)	3126.670 ± 64.289cC	4162.220 ± 233.198bB	7171.110 ± 87.580aA	2416.667 ± 241.937cC	3513.333 ± 345.302bB	8580.000 ± 245.561aA

同一物种数据后不同大写和小写字母分别表示差异极显著(P<0.01)和差异显著(P<0.05).
Data followed different capital and small letters in the same species indicate significant difference at 0.01 and 0.05 levels, respectively.

2.2 主成分分析

主成分分析是把多个指标简化为少数几个综合指标的一种统计分析方法。它采用降维处理技术,可在很少损失原有信息的前提下,将原来个数较多且彼此相关的指标转化为新的个数较少且相互独立的综合指标,这样既保留了原有指标的绝大部分信息、又避免了信息重复,从而达到科学简化的目的^[21]。9 个单项指标的主成分分析结果(表 2)表明,前 5 个主成分(综合指标)的累积贡献率达

$$CI(1) = 0.410X_1 + 0.126X_2 + 0.311X_3 + 0.283X_4 - 0.346X_5 + 0.255X_6 + 0.400X_7 + 0.362X_8 + 0.404X_9,$$
$$CI(2) = 0.080X_1 + 0.624X_2 - 0.441X_3 + 0.478X_4 - 0.050X_5 + 0.204X_6 - 0.191X_7 - 0.316X_8 + 0.030X_9,$$
$$CI(3) = -0.020X_1 - 0.082X_2 - 0.103X_3 - 0.165X_4 + 0.507X_5 + 0.813X_6 - 0.024X_7 + 0.190X_8 + 0.015X_9,$$

由线性方程及表 2 可知,第 1 主成分特征向量较大的有 X_1 (MDA)、 X_9 (APX)、 X_7 (CAT) 和 X_8 (POD),其贡献率达 62.845%;APX、CAT、POD 是植物体内清除 H_2O_2 的重要保护酶,能有效地阻止活性氧的积累;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,高温胁迫下 APX、CAT、POD 活性越强,越有利于体内活性氧的清除和减轻膜脂过氧化伤害,因此第 1 主成分主要反映了高温胁迫下体内 H_2O_2 的清除能

100%,其中前 3 个主成分的贡献率分别为62.845%、25.307%、8.275%,累积贡献率达96.427%;表明这 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 9 个单项指标对杜鹃花幼苗耐热性进行综合评价,且各综合指标所代表的信息不再重叠。根据各综合指标的标准化特征向量值(表 2)及各单项指标的标准化值,可得到 3 个主成分与原 9 项指标的线性组合方程。

力、可定义为活性氧的清除因子。第 2 主成分特征向量最大的为 X_2 (H_2O_2),其贡献率为 25.307%; H_2O_2 是体内产生的对细胞膜系统有伤害作用的活性氧,因此第 2 主成分主要反映了高温胁迫下 H_2O_2 的积累。第 3 主成分特征向量最大的为 X_6 (SOD),其贡献率为 8.275%;SOD 是植物抗氧化保护系统的第一道防线,也是清除 O_2 的关键酶,对减轻活性氧伤害有重要作用,因此第 3 主成分也可定义为活性氧的清除因子。

表 2 主成分分析结果

Table 2 Results of principal component analysis

主成分 Principal component	特征向量 Eigenvector									特征值 Eigenvalue	贡献率 Contribution rate (%)	累积贡献率 Accumulative contribution rate (%)
	MDA	H_2O_2	Pro	Protein	AsA	SOD	CAT	POD	APX			
1	0.410	0.126	0.311	0.283	-0.346	0.255	0.400	0.362	0.404	5.656	62.845	62.845
2	0.080	0.624	-0.441	0.478	-0.050	0.204	-0.191	-0.316	0.030	2.278	25.307	88.152
3	-0.020	-0.082	-0.103	-0.165	0.507	0.813	-0.024	0.190	0.015	0.745	8.275	96.427
4	0.327	0.248	0.108	-0.130	0.640	-0.383	-0.074	-0.031	0.490	0.306	3.403	99.830
5	0.229	-0.073	0.033	0.033	0.212	0.033	0.710	-0.563	-0.294	0.015	0.170	100.000

2.3 隶属函数分析

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,代表了各变量对相应主成分作用的权数,即各单项指标对综合指标的贡献大小。因此,特征向量的大小是植物耐热性评价指标选择的重要依据。根据主成分分析结果,第 1 主成分的贡献率较大,选取其特征向量较大的 MDA、APX、CAT、POD 作为耐热性评价指标,而第 2、3 主成分的贡献率较小,分别选择其特征向量最大的

H_2O_2 、SOD 作为耐热指标;然后对筛选出的 6 个指标进行隶属函数分析,求平均值并评价 2 种杜鹃的耐热性。表 3 可见,高温胁迫下,猴头杜鹃的隶属函数值(U 值)增幅较大,在 30℃、38℃ 时其 U 值分别比对照(22℃)增加 74.933%、117.251%;而井冈山杜鹃的 U 值增幅较小,在 30℃、38℃ 时仅分别比对照增加 14.815%、13.827%。 U 值由大至小依次为:猴头杜鹃 38℃ > 猴头杜鹃 30℃ > 井冈山杜鹃 30℃ > 井冈山杜鹃 38℃ > 井冈山杜鹃 22℃ > 猴头

杜鹃 22℃。高温胁迫时猴头杜鹃的 U 值显著大于井冈山杜鹃,表明猴头杜鹃的耐热能力强于井冈山杜鹃。

耐热指标的选择是植物耐热隶属函数评价的基础。为检验主成分分析筛选耐热指标的可靠性,采用隶属函数公式对所有 9 个指标 U 值进行计算。结果表明,井冈山杜鹃所有指标 U 值在 22℃、30℃、38℃时分别为 0.391、0.439、0.447,猴头杜鹃分

别为 0.339、0.539、0.709,其结果与主成分筛选的 6 个指标 U 值在大小和增幅上均表现出较好的一致性,且两者高度相关($r=0.987^{**}$),达到了极显著水平($P=0.000$)。表明主成分筛选的 6 个指标高度概括了原有指标的绝大部分信息,可以用来对常绿亚属杜鹃幼苗的种间耐热能力做出客观、准确的评判,从而在实际工作中可针对性地测定这些指标,简化程序、减少工作量。

表 3 高温胁迫下 2 种杜鹃主要指标的隶属函数值及耐热性综合评价

Table 3 Subordinate function values $U(X)$ of main indexes and comprehensive evaluation of heat tolerance in two *Rhododendron* species under high temperature stresses

植物 Species	温度 Temperature (℃)	隶属函数值 Subordinate function values $U(X)$						平均 Average	耐热排序 Order of heat tolerance
		MDA	H ₂ O ₂	SOD	CAT	POD	APX		
井冈山杜鹃 <i>R. jinggangshanicum</i>	22	0.947	0.660	0.710	0.000	0.000	0.115	0.405	5
	30	0.642	0.525	0.895	0.331	0.113	0.283	0.465	3
	38	0.122	0.000	0.961	0.587	0.323	0.771	0.461	4
猴头杜鹃 <i>R. simiarum</i>	22	1.000	1.000	0.000	0.199	0.025	0.000	0.371	6
	30	0.773	0.993	1.000	0.483	0.467	0.178	0.649	2
	38	0.000	0.917	0.916	1.000	1.000	1.000	0.806	1

3 讨论

高温对植物的伤害是一个复杂的生理过程,而植物抵抗高温胁迫的能力又是一个多系统的综合生理反应。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,采用单一指标难以全面准确地反映植物的耐热性强弱。主成分与隶属函数相结合的方法既能利用指标间的内在联系找出与植物抗逆性密切相关的重要指标、减少评价指标的数量,又能保留原有指标的绝大部分信息,近年已被应用于植物耐旱、耐盐碱评价并获得了理想的效果^[10-11],但在耐热性研究中尚未见应用。本文在实验测定的各项生理指标基础上,采用主成分分析法将原来 9 个彼此相关的指标转换成 3 个相互独立的新指标,累积贡献率达 96.427%;并依据各指标的特征向量大小确定 MDA、H₂O₂、SOD、CAT、POD 及 APX 为杜鹃幼苗耐热性评价的主要指标。大量的研究表明,高温引发植物体代谢失衡和 H₂O₂ 大量产生,加剧细胞膜脂过氧化作用(MDA 大幅增加),而植物体能启动抗氧化应急机制,诱导保护酶活性的增强、并表现为耐热性强的种增幅大于热敏感种,从而减轻高温对植物的氧化伤害^[22-24],AsA 则在参与活性氧清除的过程中因消

耗而下降^[23-24],但高温胁迫下 Pro、可溶性蛋白质积累的生理意义存在争议^[22-23,25-27]。笔者^[5-6]的前期研究也得到相似的结果:高温胁迫下杜鹃花叶片 MDA、H₂O₂ 含量大量积累,CAT、POD 及 APX 酶活性大幅增强,耐热性强的杜鹃其 SOD 活性增幅大于热敏感种,AsA 含量随着胁迫温度升高和活性氧的积累而大幅降低;同时发现 Pro 增幅与种间耐热性强弱及胁迫强度密切相关,轻度胁迫时耐热性强的种增幅反而较小,可溶性蛋白质虽然是植物体内重要的渗透调节物质,但高温胁迫时耐热性弱的种其含量和增幅反而较大(推测与膜蛋白的氧化降解有关),不宜作为杜鹃花耐热性筛选指标。可见 SOD、CAT、POD、APX 及 MDA、H₂O₂ 等生理指标与植物耐热性关系密切,可作为杜鹃幼苗耐热鉴定的评价指标,与本研究采用主成分法筛选的指标相吻合。

我们前期的引种驯化^[4]及推广研究结果表明,猴头杜鹃作为在长江以南地区的广布种,不仅在中海拔(1000~1200 m)的庐山栽培适应性良好,并能较好地适应长江流域低海拔地区的林下环境,耐热性较强;而井冈山杜鹃为江西特有种和二级保护植物,在庐山栽培时夏季易出现叶片反卷、失绿、黄斑等热害症状,尚难适应低海拔的高温环境,耐热性

较弱。本研究的形态观察表明,30℃胁迫6 d时2种杜鹃在形态上均未见明显伤害,但猴头杜鹃长势优于井冈山杜鹃;38℃胁迫6 d后井冈山杜鹃出现叶片失水、黄化甚至变褐、萎蔫等症状,而猴头杜鹃仅部分叶片表现出轻度失水、反卷。胁迫后的恢复研究表明,经30℃处理的2种杜鹃幼苗均能恢复生长;经38℃处理的猴头杜鹃苗有90%以上能恢复生长,而井冈山杜鹃不仅恢复慢,且大部分植株陆续死亡,可见猴头杜鹃的耐热性强于井冈山杜鹃。隶属函数分析表明,主成分筛选的6个指标 U 值与所有指标 U 值之间高度相关,两者均表现为:井冈山杜鹃在高温胁迫时增幅较小,且2个高温之间差异不大,可能与高温胁迫时其 H_2O_2 、MDA等伤害物质大量积累(单项指标 U 值小)有关;而猴头杜鹃虽然在对照处理时 U 值略小于井冈山杜鹃,但随着胁迫温度的升高大幅增加并显著地大于井冈山杜鹃,结果与2种杜鹃的田间耐热性一致。因此,该评价方法不仅能科学合理地筛选出对杜鹃幼苗耐热性有显著影响的指标,并能使结果得到量化,从而能更简洁、快速地对杜鹃幼苗的种间耐热性进行科学的评价。但植物不同生长发育时期其耐热机制不同,本方法是基于杜鹃花幼苗的研究结果,是否适用于其它生育期的评价还有待进一步研究和验证。

参考文献

- [1] Gulen H, Eris A. Effect of heat stress on peroxidase activity and total protein content in strawberry plants [J]. Plant Sci, 2004, 166(3): 739-744.
- [2] Zhang X X(张晓霞), Gao Y G(高永革), Yan X B(严学兵), et al. Research progress on heat resistance identification and evaluation in alfalfa [J]. Prat Sci(草业科学), 2010, 27(2): 113-118.(in Chinese)
- [3] Wu Z Y, Raven H P. Flora of China Volume 14 [M]. Beijing: Science Press, St Louis: Missouri Botanical Garden Press, 2005: 260-455.
- [4] Zhang L H(张乐华). A study on the introduction and adaptability of *Rhododendron* in Lushan Botanical Garden [J]. J Nanjing For Univ (Nat Sci)(南京林业大学学报:自然科学版), 2004, 28(4): 92-96.(in Chinese)
- [5] Zhou G(周广), Sun B T(孙宝腾), Zhang L H(张乐华), et al. Responses of antioxidant system in leaves of *Rhododendron jinggangshanicum* to high temperature stress [J]. Acta Bot Boreal-Occid Sin(西北植物学报), 2010, 30(6): 1149-1156.(in Chinese)
- [6] Zhou G(周广). Effect of the physiological and biochemical character of seven *Rhododendron* L. plants under high temperature stress [D]. Nanchang: Nanchang University, 2010: 1-62.(in Chinese)
- [7] Wahid A, Gelani S, Ashraf M, et al. Heat tolerance in plants: An overview [J]. Environ Exp Bot, 2007, 61(3): 199-223.
- [8] Zhang Z Y(张朝阳), Xu G F(许桂芳). Comprehensive evaluation of heat tolerance of four ground covering plants by subordinate function values analysis [J]. Prat Sci(草业科学), 2009, 26(2): 57-60.(in Chinese)
- [9] Zeng X L(曾小玲), Fang S G(方淑桂), Chen W H(陈文辉), et al. Comprehensive evaluation on heat tolerance of various Chinese cabbage seedlings [J]. Fujian J Agri Sci(福建农业学报), 2010, 25(2): 183-186.(in Chinese)
- [10] Zeng X H(曾宪海), An F(安锋), Cai M D(蔡明道), et al. Analysis of the principal component and the subordinate function on rubber seedling drought resistance under hypertonic solution stresses [J]. Chin Agri Sci Bull(中国农学通报), 2010, 26(1): 260-264.(in Chinese)
- [11] Han R H(韩瑞宏), Lu X S(卢欣石), Gao G J(高桂娟), et al. Analysis of the principal components and the subordinate function of alfalfa drought resistance [J]. Acta Agres Sin(草地学报), 2006, 14(2): 143-147.(in Chinese)
- [12] Zhao S J(赵世杰), Xu C C(许长城), Zou Q(邹琦), et al. Improvement of method for measurement of malondialdehyde in plant tissues [J]. Plant Physiol Commun(植物生理学通讯), 1994, 30(3): 207-210.(in Chinese)
- [13] Velikova V, Yordanov I, Edreva A. Oxidative stress and some antioxidant system in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines [J]. Plant Sci, 2000, 151(1): 59-66.
- [14] Zhang D Z(张殿忠), Wang P H(汪沛洪), Zhao H X(赵会贤). Determination of the content of free proline in wheat leaves [J]. Plant Physiol Commun(植物生理学通讯), 1990, 26(4): 62-65.(in Chinese)
- [15] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of protein-dye binding [J]. Anal Biochem, 1976, 72(1/2): 248-254.
- [16] Cai Z(蔡卓), Huang F R(黄富嵘), Liang X Y(梁信源), et al. Spectrophotometric determination of vitamin C in tablets using potassium dichromate [J]. J Guangxi Univ (Nat Sci)(广西大学学报:自然科学版), 2008, 33(3): 289-291.(in Chinese)
- [17] Spychalla J P, Desborough S L. Superoxide dismutase, catalase and alpha tocopherol content of stored potato tubers [J]. Plant Physiol, 1990, 94(3): 1214-1218.
- [18] 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 Sci, 2005, 168(1): 223-231.

- [19] Wu Y X, Tiedemann A. Impact of fungicides on active oxygen species and antioxidant enzymes in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) exposed to ozone [J]. Environ Pollut, 2002, 116(1): 37–47.
- [20] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts [J]. Plant Cell Physiol, 1981, 22(5): 867–880.
- [21] Xie H X(谢恒星), Cai H J(蔡焕杰), Zhang Z H(张振华), et al. Research on muskmelon growth formula in greenhouse based on principal component analysis [J]. Agri Res Arid Areas(干旱地区农业研究), 2009, 27(6): 134–138.(in Chinese)
- [22] Li M(李敏), Ma J(马均), Wang H Z(王贺正), et al. Relationship between some physiological and biochemical characteristics and heat tolerance at flowering stage in rice [J]. Hybrid Rice(杂交水稻), 2007, 22(6): 62–66.(in Chinese)
- [23] Ji C D(姬承东), Zhang D G(张德罡), Zhu J(朱钧), et al. Effects of high temperature stress on some physiological characteristics and regeneration ability of *Agrostis stolonifera* green turfgrass [J]. Chin Agri Sci Bull(中国农学通报), 2007, 23(1): 221–224.(in Chinese)
- [24] Ye X Y(耶兴元), Ma F W(马锋旺), Wang S C(王顺才), et al. Physiological effects of kiwifruit lamina under high temperature stress [J]. J NW Sci-Tech Univ Agri For (Nat Sci)(西北农林科技大学学报: 自然科学版), 2004, 32(12): 33–37.(in Chinese)
- [25] Shao L(邵玲), Liu G L(刘光玲), Li Y Y(李芸瑛), et al. Comparison of physiological characteristics in leaves of *Amaranthus tricolor* L. ‘Red flower’ and ‘Green leaf’ under high temperature [J]. J Trop Subtrop Bot(热带亚热带植物学报), 2009, 17(4): 378–382.(in Chinese)
- [26] Wu T(吴涛), Lang N J(郎南军), Peng M J(彭明俊), et al. Effect of high temperature stress on some physiological indices of *Jatropha curcas* seedlings [J]. J NE For Univ(东北林业大学学报), 2008, 36(11): 29–31.(in Chinese)
- [27] Zhou S J(周斯建), Yi M F(义鸣放), Mu D(穆鼎). The preliminary research on the morphological and physiological response to heat stress of *Lilium longiflorum* seedlings [J]. Acta Hort Sin(园艺学报), 2005, 32(1): 145–147.(in Chinese)