

非洲菊耐热变异株系的筛选和田间鉴定

彭建宗¹, 李安¹, 黄志刚¹, 陈兆平¹, 文方德², 王小菁¹

(¹华南师范大学生命科学学院/广东省植物发育生物工程重点实验室, 广州 510631; ²珠海市园艺研究所, 广东珠海 519070)

摘要: 【目的】以非洲菊‘深圳5号’(S5)品种为材料筛选耐热株系。【方法】利用组织培养体系,以EMS诱变和多代间歇高温筛选的方法获得耐热变异体EH和H10,经继代增殖、生根后定植于大棚,在自然高温条件下测定植株叶的生长及耐热相关生理生化变化、产花量以及花品质等指标。【结果】经间歇高温筛选获得的非洲菊组培苗耐热变异株系H10与对照相比,叶面积增大,叶绿素含量有所提高,在珠海温度最高的7、8月份,产花量分别比对照提高55.67%和53.27%,花径增加5.57%和5.70%,花梗长度增加10.35%和11.77%,花瓣的花色素苷含量明显高于对照组;在自然高温条件下,H10的叶片细胞膜透性具有较好的稳定性,且明显低于对照组,脯氨酸含量增高,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)活性增强。EH在生长状况、产花量和成花品质等各方面均未优于对照组。【结论】经过大棚种植鉴定和相关生理生化指标测定,认为H10可以作为一个优良的非洲菊耐热新品系。

关键词: 非洲菊; 耐热性; 离体筛选; 田间鉴定

Screening for Heat-Tolerant Variants and Field Identification of *Gerbera hybrida*

PENG Jian-zong¹, LI An¹, HUANG Zhi-gang¹, CHEN Zhao-ping¹, WEN Fang-de², WANG Xiao-jing¹

(¹College of Life Science, South China Normal University, Guangdong Key Laboratory of Biotechnology for Plant Development, Guangzhou 510631, Guangdong; ²Zhuhai Institute of Horticulture, Zhuhai 519070, Guangdong)

Abstract: 【Objective】The objective of the experiment is to screen heat-tolerant variants in *Gerbera hybrida* with *Shenzhen 5* (S5) as material. 【Method】Heat tolerant lines EH and H10 were obtained by *in vitro* screening with treatments of EMS and intermittent high temperature. After rooting, the regenerated plants were transferred to field. The growth and some physiological and biochemical changes of leaf, the yield and quality of cut flower under natural high temperature environment were determined. 【Result】Compared with the control, the leaf area of H10 was larger and chlorophyll content was higher. In July and August, the hottest months of the year in Zhuhai, the flower yield of H10 increased by 55.67% and 53.27% and flower diameter increased by 5.57% and 5.70%, scape length increased by 10.35% and 11.77%, respectively, and the anthocyanin content of H10 petals was also obviously higher than that of the control. Moreover, H10 showed higher membrane stability with lower permeability, higher proline content and increased activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and ascorbate peroxidase (APX). Nevertheless, EH had no significant improvement in the characters of plant growth, flower yield and quality under natural high temperature conditions. 【Conclusion】H10 would be an excellent heat-tolerant variant of *G. hybrida* from the field identification and determination of physiological and biochemical changes.

Key words: *Gerbera hybrida*; heat tolerance; *in vitro* screening; field identification

0 引言

【研究意义】非洲菊(*Gerbera hybrida*)是菊科

扶郎花属多年生常绿草本植物。该植物原产南非,生长适温为20—25℃,在温度适宜的条件下能常年开花,头状花序含舌状花、过渡花和筒状花等3种类型

收稿日期: 2009-04-27; 接受日期: 2009-07-16

基金项目: 广东省自然科学基金重点项目(9251063101000002)、广东省科技攻关项目(2005B20901014)

作者简介: 彭建宗, 副教授, 博士。E-mail: pengjz@scnu.edu.cn。通信作者王小菁, 教授。E-mail: wangxj@scnu.edu.cn

的单花^[1]，花序直径为 8—12 cm，园艺品种很多，花色艳丽，花梗修长，装饰性强，观赏价值很高，是世界十大切花之一。尽管非洲菊可周年生产，但夏季高温严重影响植株的正常生长，导致产花量低，花色变浅，花序直径变小，花型不规范。因此，在生产中急需选育耐高温的非洲菊新品种。【前人研究进展】尽管以模式植物拟南芥为材料，对耐热的分子机理已有深入了解^[2-3]，但通过组织培养有目的筛选耐热变异体仍是获得耐热品种（系）的有效途径之一。在蔬菜和花卉耐热品系的离体筛选上，何晓明等^[4]通过热胁迫筛选出 3 个菜心耐热无性系，黄剑华等^[5]利用平阳霉素诱变处理与高温胁迫相结合的方法筛选白菜耐热变异体，于晓英等^[6]用高温胁迫和羟脯氨酸（HYP）分别作为直接和间接选择压，筛选到多个瓜叶菊耐热无性系，黄志刚等^[7]建立了非洲菊耐热羟脯氨酸变异系，Mullarkey 和 Jones^[8]用高温胁迫筛选小麦幼苗，获得了 10 个耐热变异株。但上述研究多数仅停留在实验室的离体筛选和组培苗耐热观察上，缺乏在大田或设施栽培中进一步开展田间试验而获得耐热品（株）系的研究。【本研究切入点】非洲菊各种花色和花型的品系多是通过杂交育种获得^[9]，也有通过分子生物学技术对非洲菊花色或花型进行改造的研究^[10-11]，但目前尚未获得耐热非洲菊品种的报道。广东省植物发育生物工程重点实验室多年来开展了耐热非洲菊品种选育的研究工作，建立了耐热筛选的组织培养体系^[7, 12]，但筛选出的株系耐热性是否稳定，以及这些株系是否具有优良的园艺性状还需进行田间或大棚栽培试验。【拟解决的关键问题】本文首先通过 EMS 诱变和多代间歇高温筛选的方法获得耐热变异体 EH 和 H10，进一步开展大棚栽培试验，针对花卉生长、产量和品质以及生理生化的各项指标，通过将自然高温条件下生长的 EH 和 H10 与对照植株进行检测比较，最终获得高产优质的耐热非洲菊新品种。

1 材料与方法

1.1 材料

以非洲菊‘深圳 5 号’（S5）品种的幼小花托为外植体，用于诱导分化无菌组培苗^[12]。

1.2 方法

1.2.1 耐热变异体的离体筛选

（1）多代间歇高温处理 预试验结果表明，35℃ 处理 15 d 能有效致死‘深圳 5 号’组培苗。因此，非洲菊组培苗继代接种 2 d 后，于恒温光照培养箱中 35

℃ 处理 15 d，然后于 25℃ 恢复培养 20—30 d，共处理 100 瓶，每瓶 10 株组培苗。存活的个体再继续代培养，以这种方式间隔筛选 7 次后获得耐热初选株系 SR7。SR7 再连续 35℃ 15 d 高温间隔胁迫筛选 10 次，获得耐热候选株系 H10。

（2）EMS 诱变处理 预培养花托经 0.4% EMS 诱变 4 h 获得的无菌苗（100 瓶，每瓶 10 株组培苗）再经 35℃ 15 d 间隔筛选 6 次获得耐热初选株系 SE6。SE6 的花托再用 0.6% EMS 诱变 4 h，获得的无菌苗再经 35℃，15 d 间隔筛选 8 次，获得耐热候选株系 EH。

（3）对照 以 S5 同步继代培养而未经温度和化学药剂处理的组培苗作为对照。

1.2.2 耐热变异株系的田间鉴定 将 S5（对照）和所获得的 2 个耐热候选株系进行增殖及生根，并于 2005 年 3 月定植于花卉大棚中（珠海园艺研究所），每个株系各分 3 个小区，每小区 60 株，不同株系的小区交替排列。6 月上旬开始保留花蕾，并测定 6—9 月份各株系植株的生长和生理生化指标以及花产量和花品质。期间用温度计（上海医用仪器厂生产）测定试验区大棚内靠近非洲菊植株顶部区域的最高温度和最低温度（图 1）。

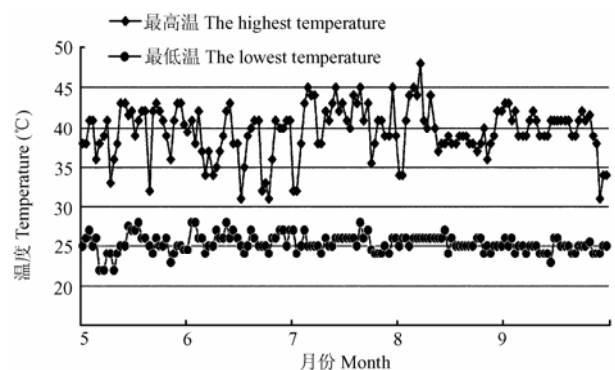


图 1 大棚日最高气温和最低气温

Fig. 1 The highest and lowest temperature of the pilot field

1.2.3 相关生理生化指标的测定

（1）叶生长指标的测定 定植 5 周后，开始测定植株叶片数目。每株取 3 片叶（第 4—6 片叶）用于测定叶长、叶面积、鲜重和干重，测定分 2 次进行，一次在开花前（5 月 14 日），另一次在开花后（7 月 2 日）。在随后的 7—9 月份每月测定叶片叶绿素含量。每个株系每次随机取 12 株植物测定。

（2）花产量和品质的测定 每日统计各小区植株

完全开放的花枝数目, 观察其花色深浅, 测量花序的直径、花梗长度, 计算每小区的月平均值。

舌状花花瓣的花色素苷含量测定按照 Weiss 等^[13]的方法进行, 即取 0.5 g 舌状花在含 1% 盐酸的甲醇中 4℃ 浸提过夜, 离心去除残渣, 测定上清液在 530 nm 和 657 nm 下的吸光值, 按公式 $A = A_{530\text{nm}} - 0.25A_{657\text{nm}}$ 计算出花色素苷的相对含量。

(3) 叶细胞膜透性的测定 参照康俊根等^[14]的方法, 用 DDS-11A 电导仪测定叶细胞膜透性。称取不同株系非洲菊叶片 0.2 g, 加入 20 ml 蒸馏水, 室温下放置 1.5 h, 测定溶液的电导率 E_1 , 然后置沸水浴 20 min, 冷却后测定总电导率 E_2 , 蒸馏水电导率为 E_0 。质膜相对透性按公式 $P = [(E_1 - E_0) / (E_2 - E_0)] \times 100\%$ 计算。

(4) 游离脯氨酸含量、抗坏血酸氧化酶 (APX)、过氧化物酶 (POP) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的测定参照文献^[15]的方法。

1.2.4 数据分析 采用统计软件 DPS2000 进行统计分析。

2 结果

2.1 各株系植株的营养生长比较

S5 (对照)、H10 和 EH 幼苗于 2005 年 3 月 7 日定植于花卉大棚中, 5 月 8 日开始有个别植株出现花蕾, 为了保证植株的营养生长, 每天摘除新生花蕾, 不让其开花, 直到 6 月 10 日开始保留花蕾。在开花前的 5 月 14 日和开花后的 7 月 2 日分别测定了各株系植株的叶长、叶面积、叶鲜重和干重。结果表明, H10 的各项指标较对照组均有明显增加。与对照组相比, H10 开花前后的叶面积分别增加了 68.59% 和 34.37%, 叶鲜重则分别增加了 100.85% 和 61.23% (表 1)。与对照相比, EH 的各项营养生长指标则都不存在显著性差异。

表 1 H10 和 EH 叶片的生长

Table 1 Leaf growth of H10 and EH

	开花前 Before blossom				开花后 After blossom			
	叶长 Leaf length (cm)	叶面积 Leaf area (cm ²)	鲜重 Fresh weight (g)	干重 Dry weight (g)	叶长 Leaf length (cm)	叶面积 Leaf area (cm ²)	鲜重 Fresh weight (g)	干重 Dry weight (g)
S5	15.57±2.50	3.47±0.98	20.03±7.07	3.41±0.94	30.33±2.52	5.47±0.64	190.67±57.45	26.66±6.51
H10	21.67±0.29**	5.85±0.50**	40.23±1.87**	6.74±0.55**	36.50±1.32*	7.35±0.48**	307.43±32.95*	40.59±1.40*
EH	15.83±2.10	3.66±0.31	21.17±4.79	3.83±0.94	25.00±2.60	4.86±0.71	165.43±66.91	21.19±8.42

** 表示与对照在 0.05 存在极显著差异 Highly significant difference at 0.05 level

* 表示与对照在 0.01 存在显著差异 Significant difference at 0.01 level

7—8 月份是珠海一年中温度最高的月份, 在这期间过高的气温严重影响非洲菊的正常生长, 叶片叶绿素的含量会显著下降。结果表明, 在夏季高温期间, H10 的叶绿素含量明显高于对照组。7—9 月份这 3 个月中测得的 H10 叶片叶绿素含量分别比对照组增加了 60.24%、69.88% 和 33.67%, 而 EH 的叶绿素含量与对照相比无显著的差异 (图 2)。

2.2 各株系植株产花量和花品质的比较

每日采收完全开放的花序, 并计算出每株非洲菊的平均月产花量。3 月 7 日定植的非洲菊, 于 5 月上旬即开始有少量植株现蕾, 为了促进非洲菊植株的营养生长, 这时的花蕾均被摘除, 直到 6 月上旬才

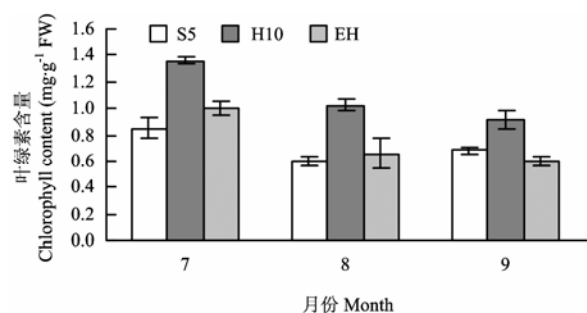


图 2 自然高温对各株系非洲菊叶片叶绿素含量的影响

Fig. 2 Effect of natural high temperature on the chlorophyll content in the leaves per line of *Gerbera hybrida*

开始保留花蕾,并统计 6—9 月份各株系的月平均产花量。

从表 2 可以看出, H10 产花量与对照相比增加显

著, 6—7 月份分别提高 166.67%和 55.67%, 存在极显著差异; 8 月提高 53.27%, 存在显著差异; 而 EH 的花产量在 6—9 月份这 4 个月中均略低于对照。

表 2 各株系产花量、花径和花梗长度的比较

Table 2 Comparison of inflorescence yield, inflorescence diameter and scape length per line per month

月份 Month	产花量/(月·株) Inflorescence yield per line per month			花径 Inflorescence diameter (cm)			花梗长度 Scape length (cm)		
	S5	H10	EH	S5	H10	EH	S5	H10	EH
6	0.93±0.58	2.48±0.10**	0.75±0.87	10.05±0.56	10.68±0.81*	10.57±1.14	39.96±1.66	43.58±5.86	34.33±5.77
7	1.94±0.47	3.02±0.20**	1.11±0.42	9.87±0.17	10.42±0.10*	9.97±0.18	38.17±0.68	42.12±1.33*	38.05±3.71
8	2.14±0.37	3.28±0.11*	1.89±1.04	10.18±0.31	10.76±0.07*	10.22±0.0.8	38.14±1.10	42.63±0.58**	38.72±2.05
9	1.91±0.40	2.54±0.18	1.39±0.69	9.27±0.03	10.44±0.09**	9.54±0.06*	31.22±2.00	36.76±1.09**	29.71±2.87

** 表示与对照在 0.05 存在极显著差异 Highly significant difference at 0.05 level

* 表示与对照在 0.01 存在显著差异 Significant difference at 0.01 level

非洲菊花径是非洲菊成花品质的重要指标之一。

从表 2 可以看出, H10 花径与对照相比较, 6—8 月份分别增加 6.27%、5.57%和 5.70%, 存在显著差异, 9 月份增加了 12.62%, 存在极显著差异; EH 则只在 9 月份显著高于对照。

非洲菊是重要的切花植物, 其花梗长度也是评价非洲菊花品质的重要指标。从表 2 可以看出, 不同月份不同耐热候选株系花梗长度差异较大。H10 的花序梗长度明显高于对照, 其中 7 月份比对照增加 10.35%, 存在差异显著, 8—9 月份分别增加 11.77%和 17.75%, 存在极显著差异; EH 的花序梗在长度上与对照相比没有显著性差异。

非洲菊以花色丰富而著称, 其舌状花的花色素苷含量的多少是决定花色品质的重要因子。结果表明, 在高温季节期间 H10 的花色素苷含量均明显高于对照组 (图 3), 从外观上表现为 H10 花的颜色比对照组更为鲜艳, 具有更高的观赏价值。

2.3 各株系植株叶片相关生理生化指标的比较

细胞膜的热稳定性能够反映植物耐热能力的大小。本试验大棚中 7 月份的温度明显高于 8 和 9 月份 (图 1), 叶片细胞膜透性测定结果表明, 对照组 7 月份测得的细胞膜透性明显高于 8 月和 9 月份 (图 4-a)。与对照相比较 H10 的膜透性表现出两个特征: 一是电解质相对渗透率明显下降, 在温度最高的 7 月份, H10 较对照组下降了 40.1%; 二是在 7—9 月份这 3 个月中相对电解质渗透率值变化不大, 不会随气温的变化而出现明显的波动。而 EH 的膜透性则处于较高的水平且波动幅度较大。

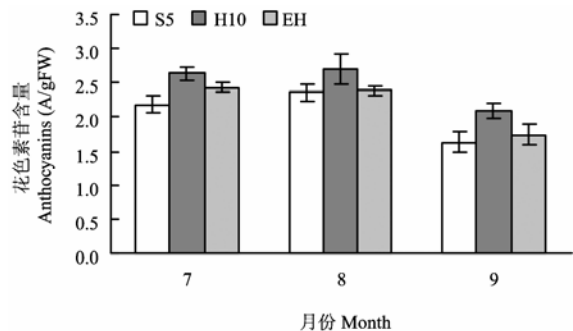


图 3 各株系舌状花花色素苷含量的比较

Fig. 3 Comparison of ray floret anthocyanin content per line per month

在高温条件下, 对照组叶片游离脯氨酸含量变化不大, 而 H10 的脯氨酸含量则明显高于对照, EH 在 8 和 9 月份也明显高于对照组, 但较 H10 低 (图 4-b)。

在高温季节, 对照组的 POD 活性比较稳定, 但两个变异株系的酶活性都明显高于对照组, 其中以 H10 的 POD 活性为最高。与对照相比, 从 7—9 月份, H10 的 POD 活性分别提高了 130.08%、130.34%和 117.97% (图 5-a)。

SOD 活性测定结果表明, 对照组的酶活性变化不明显。从 7—9 月份, H10 的酶活性一直明显高于对照, 分别比对照提高 60.24%、53.77%和 77.93%, 而 EH 则只是在 9 月份高于对照 (图 5-b)。

在 8 月份和 9 月份的自然高温条件下, EH 的 APX 酶活性与对照相比没有明显的差异, 但 H10 的酶活性却明显高于对照组 (图 5-c)。

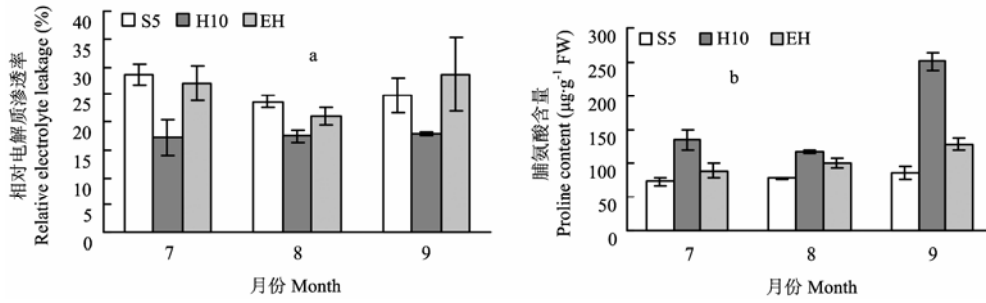


图4 各株系细胞膜相对电解质渗透率和脯氨酸含量的比较

Fig. 4 Comparison of the relative electrolyte leakage and proline content per line per month

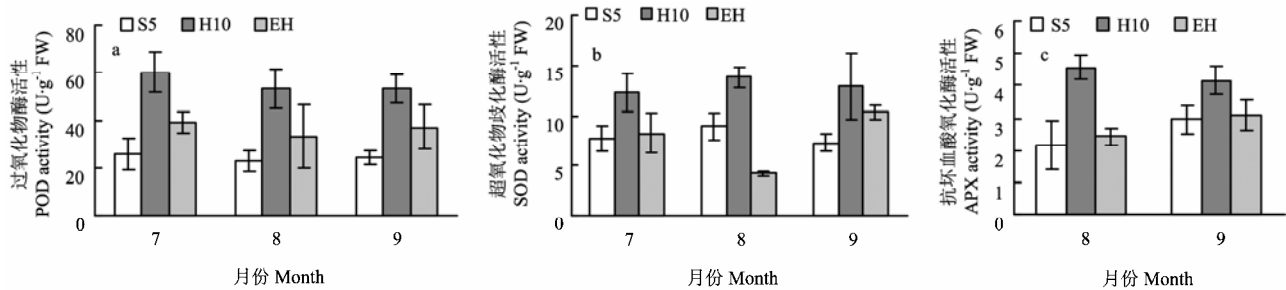


图5 各株系 POD、SOD 和 APX 酶活性的比较

Fig. 5 Comparison of POD, SOD and APX activity during summer

3 讨论

化学诱变剂被广泛应用于农作物的诱变育种^[16-19], 一般认为提高诱变剂的剂量能够提高突变率, 但诱变剂剂量的提高, 存活组织以及它们的再生能力会下降, 因为在发生有利突变的同时往往也会伴随着不利的突变^[20]。事实上, 在组织培养体系中存在大量体细胞的变异, 因此利用胁迫条件进行直接筛选是可行的。利用胁迫条件进行直接筛选时, 有可能形成适应性组织细胞, 当选择压力不存在时相应的性状也会随之消失^[21]。为了获得具有耐热性的稳定株系, 笔者采用了长时间的多代间歇高温筛选, 这有利于淘汰那些适应性的非变异株系。

耐热是一个由多基因控制的性状, 因此, 只是通过单一的机制或特征来鉴定耐热株系通常是不够的^[22]。植物在获得耐热变异的同时, 可能在其它方面会表现出劣变的性状, 对于花卉而言, 不但要具有耐热的特性, 更重要的是还要保持其优良的园艺性状。因此, 进行大田筛选试验, 观察植株生长发育的整个过程, 对于鉴定变异株系是必需的。EH 是笔者

在对经 EMS 诱变后的组培苗进行高温间歇筛选试验中获得的一个耐热变异株系, 该株系的组培苗在高温胁迫中能生存下来, 表现出了一定的耐热性状, 但在随后的大田试验中该株系并未表现出优于对照的园艺性状, 因此在生产中意义不大。而另一个耐热株系 H10, 不但在组培苗阶段具耐热特性, 而且在大田自然高温条件下, 其花产量和品质均明显优于对照, 这样的耐热株系在生产中具有实际应用价值, 这也证明了大田种植试验在鉴定筛选变异株系中的重要性。

H10 之所以表现出优良的耐高温性状, 是具有生理基础的。通常, 高温伤害会降低 RuBisCo 酶活性和叶绿体的活力^[23-24], 导致植物光合作用的降低, 减少碳的同化, 既影响植物的生长, 又影响花芽分化、开花、花粉囊发育^[25]和结实^[26]等过程。因此, 叶绿素的稳定性被认为是筛选耐热性的一个重要指标^[22]。在 7—9 月份高温季节期间, H10 植株叶片能保持较高的叶绿素含量 (图 2), 表明其光合机构在高温胁迫下具有比对照更高的稳定性, 而 H10 良好的营养生长包括叶长、叶面积、叶鲜重和干重都明显增

加(表 1), 也为其花芽生长发育等过程提供了良好基础。

众所周知, 高温对植物的伤害会引起细胞膜结构的改变, 导致膜透性增加, 使得细胞内的电解质和某些小分子物质外流, 引起膜外环境电导率的增加^[27-28]。电导率是否上升, 反映了细胞膜的稳定性, 被广泛用于多种作物的耐热性鉴定^[29]。康俊根等^[14]对 6 个甘蓝育种材料幼苗的电解质渗透率进行了测定, 其结果基本反映出了甘蓝耐热性的差异。廖飞雄等^[30]筛选到了较低电解质渗出率且具较高的鲜重增长的菜心株系。本研究中 H10 叶片的电解质渗透率在 7—9 月份处于较低的水平(图 4-a), 这表明其膜结构在自然高温条件下能保持相对的稳定, 这可能与该株系所表现出来的优良园艺性状有着密切的关系。此外, 高温作为一种非生物逆境可能诱发细胞内活性氧水平的增加而导致氧化胁迫, 而植物抵抗逆境常常与分解活性氧的保护酶活性相关^[31-32]。笔者测定了自然高温下植株的 POD、SOD 和 APX 酶活性, 发现在 7—9 月份, H10 叶片中 POD、SOD 酶活性明显高于对照, APX 酶活性在所测定的 8 和 9 月份植株叶片中也表现出明显增加(图 5), 这就说明了 H10 耐热表现与植株抗逆性增强相关的 3 个保护酶活性增加表现出正相关。而通常植物在逆境下积累脯氨酸^[33]的现象在笔者的试验中也得到验证, H10 的叶片中游离脯氨酸含量明显升高(图 4-b)。

综上所述, 尽管 H10 与 EH 在离体筛选中都具有耐热性, 但在大棚栽培条件下, 前者在表现出花品质增强的同时, 叶片叶绿素含量、脯氨酸含量、3 个保护酶活性明显高于后者而细胞膜相对电解质渗透率明显低于后者, 说明这些生理生化指标可以作为筛选耐高温品系的有效生理指标。

4 结论

经组培间歇高温筛选 17 次获得了耐热变异株系 H10, 将该株系的植株栽培在珠海园艺研究所花卉大棚中, 在自然高温条件下植株的营养生长、产花量和切花品质都明显优于对照组, 叶片叶绿素含量增加、细胞膜相对电解质渗透率下降、脯氨酸含量升高、POD、SOD 和 APX 酶活性升高, 说明 H10 具有耐热的生理基础。基于 H10 在自然高温条件下所表现出来的各种优良性状, 认为它可以作为一个优良的非非洲菊耐热新品系。

References

- [1] Teeri T H, Elomaa P, Kotilainen M, Albert V A. Mining plant diversity: *Gerbera* as a model system for plant developmental and biosynthetic research. *BioEssays*, 2006, 28(7): 756-767.
- [2] Larkindale J, Hall J D, Knight M R, Vierling E. Heat stress phenotypes of *Arabidopsis* mutants implicate multiple signaling pathways in the acquisition of thermotolerance. *Plant Physiology*, 2005, 138(2): 882-897.
- [3] Larkindale J, Vierling E. Core genome responses involved in acclimation to high temperature. *Plant Physiology*, 2008, 146(2): 748-761.
- [4] 何晓明, 潘瑞焱, 廖飞雄. 菜心耐热变异体离体筛选研究. *广东农业科学*, 1999(5): 17-18.
He X M, Pan R C, Liao F X. A study on *in vitro* screening of heat-tolerant variants of *Brassica campestris* L. *Guangdong Agricultura Science*, 1999(5): 17-18. (in Chinese)
- [5] 黄剑华, 陆瑞菊, 张玉华, 孙月芳, 周润梅. 应用离体培养技术鉴定不结球白菜耐热性及诱导耐热变异体. *上海农业学报*, 1995, 11(4): 18-22.
Huang J H, Lu R J, Zhang Y H, Sun Y F, Zhou R M. Identification of heat tolerance and selection of heat tolerant variant from *B. campestris* var. *chinensis* *in vitro* culture. *Acta Agriculturae Shanghai*, 1995, 11(4): 18-22. (in Chinese)
- [6] 于晓英, 卢向阳, 李 达, 张宏志, 姚 觉, 陈翠林. 瓜叶菊耐热无性系离体筛选初步研究. *园艺学报*, 2007, 34(2): 513-516.
Yu X Y, Lu X Y, Li D, Zhang H Z, Yao J, Chen C L. A preliminary study on *in vitro* selection of heat-tolerant clonal lines in *Senecio*×*hybridus*. *Acta Horticulturae Sinica*, 2007, 34(2): 513-516. (in Chinese)
- [7] 黄志刚, 李 安, 陈兆平, 文方德, 王小菁. 非洲菊耐羟脯氨酸变异系离体筛选体系的建立. *西北植物学报*, 2008, 28(7): 1313-1318.
Huang Z G, Li A, Chen Z P, Wen F D, Wang X J. *in vitro* screening procedure of hydroxyproline-resisitant lines of *Gerbera hybrida*. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2008, 28(7): 1313-1318. (in Chinese)
- [8] Mullarkey M, Jones P. Isolation and analysis of thermotolerant mutants of wheat. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51(342): 139-146.
- [9] 李绅崇, 李淑斌, 蒋亚莲, 杨春梅, 吴丽芳. 非洲菊品种间杂交主要观赏性状在 F₁ 代的遗传表现. *云南农业大学学报*, 2007, 22(2): 197-201.
Li S C, Li S B, Jiang Y L, Yang C M, Wu L F. Genetic performance of primary ornamental traits in F₁ hybrids of *Gerbera jamesonii* Bolus

- intervarietal hybridization. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 2007, 22(2): 197-201. (in Chinese)
- [10] Elomaa P, Helariutta Y, Kotilainen M, Teemu T H. Transformation of antisense constructs of the chalcone synthase gene superfamily into *Gerbera hybrida*: differential effect on the expression of family members. *Molecular Breeding*, 1996, 2(1): 41-50.
- [11] Kotilainen M, Helariutta Y, Mehto M, Pollanen E, Albert V A, Elomaa P, Teemu T H. *GEG* participates in the regulation of cell and organ shape during corolla and carpel development in *Gerbera hybrida*. *The Plant Cell*, 1999, 11(6): 1093-1104.
- [12] 黄志刚, 陈兆平, 文方德, 叶庆生, 王小菁. 非洲菊耐热变异离体筛选体系的研究. *亚热带植物科学*, 2003, 32(4): 25-29.
Huang Z G, Chen Z P, Wen F D, Ye Q S, Wang X J. The establishment of the *in vitro* screening procedure of heat-tolerant variants of *Gerbera hybrida*. *Subtropical Plant Science*, 2003, 32(4): 25-29. (in Chinese)
- [13] Weiss D, Halevy A H. Stamens and gibberellin in the regulation of corolla pigmentation and growth in *Petunia hybrida*. *Planta*, 1989, 179(1): 89-96.
- [14] 康俊根, 翟依仁, 张京社, 秦海明, 卜晓东. 甘蓝耐热性鉴定方法. *中国蔬菜*, 2002(1): 4-7.
Kang J G, Zhai Y R, Zhang J S, Qin H M, Bu X D. Study on high temperature injury and identification method of heat tolerance in cabbage. *China Vegetables*, 2002(1): 4-7. (in Chinese)
- [15] 中国科学院上海植物生理研究所, 上海植物生理学会编. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999.
Shanghai Institute of Plant Physiology, Chinese Academy of Science, Shanghai Association of Plant Physiology. *A Laboratory Manual of Model Plant Physiology*. Beijing: Science Press, 1999. (in Chinese)
- [16] 朱保葛, 路子显, 耿玉轩, 邓向东, 谷爱秋. 烷化剂 EMS 诱发花生性状变异的效果及高产突变系的选育. *中国农业科学*, 1997, 30(6): 87-89.
Zhu B G, Lu Z X, Geng Y X, Deng X D, Gu A Q. Effects of peanut character variations induced by EMS and breeding of high yielding mutant strains. *Scientia Agricultura Sinica*, 1997, 30(6): 87-89. (in Chinese)
- [17] 赵永亮, 宋同明, 马惠平. 利用花粉化学诱变快速创造特用玉米新种质. *作物学报*, 1999, 25(2): 157-160.
Zhao Y L, Song T M, Ma H P. The quick development of speciality corn by chemical mutagenesis of pollen. *Acta Agronomica Sinica*, 1999, 25(2): 157-160. (in Chinese)
- [18] 祝丽英, 池书敏, 刘志增, 孟义江, 陈景堂, 宋占权. EMS 玉米花粉诱变的 M1 代生物学效应. *玉米科学*, 2002, 10(1): 33-35.
Zhu L Y, Chi S M, Liu Z Z, Meng Y J, Chen J T, Song Z Q. The biological effects of M-1 by EMS inducing maize pollens. *Maize Sciences*, 2002, 10(1): 33-35. (in Chinese)
- [19] Dhanavel D, Pavadai P, Mullainathan L, Mohana D, Raju G, Girija M, Thilagavathi C. Effectiveness and efficiency of chemical mutagens in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). *African Journal of Biotechnology*, 2008, 7(22): 4116-4117.
- [20] Bhagwat B, Duncan E J. Mutation breeding of banana cv. Highgate (*Musa* spp., AAA Group) for tolerance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* using chemical mutagens. *Scientia Horticulturae*, 1998, 73(1): 11-22.
- [21] Karadimova M, Djambova G. Increased NaCl-tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L. and *T. durum* desf.) through in vitro selection. *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant*, 1993, 29(4): 180-182.
- [22] Senthil-Kumar M, Kumar G, Srikanthbabu V, Udayakumar M. Assessment of variability in acquired thermotolerance: Potential option to study genotypic response and the relevance of stress genes. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164(2): 111-125.
- [23] Pareek A, Singla S L, Grover A. Short term salinity and high temperature stress associated ultra-structural alterations in young leaf cell of *Oryza sativa* L. *Annals of Botany*, 1997; 80(5): 629-639.
- [24] Sharkey T D. Effects of moderate heat stress on photosynthesis: importance of thylakoid reactions, rubisco deactivation, reactive oxygen species, and thermotolerance provided by isoprene. *Plant, Cell and Environment*, 2005, 28(3): 269-277.
- [25] Ahmed F E, Hall A E. Heat injury during early floral bud development in cowpea. *Crop Science*, 1993, 33(4): 764-767.
- [26] Prasad P V V, Boote K J, Allen H, Thomas J M G. Effect of elevated temperature and carbon dioxide on seed set and yield of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Global Change Biology*, 2002, 8(8): 710-721.
- [27] Ismail A M, Hall A E. Reproductive-stage heat tolerance, leaf membrane thermostability and plant morphology in cowpea. *Crop Science*, 1999, 39(6): 1762-1768.
- [28] Sangwan V, Orvar B L, Beyerly J, Hirt H, Dhindsa R S. Opposite changes in membrane fluidity mimic cold and heat stress activation of distinct plant MAP kinase pathways. *The Plant Journal*, 2002, 31(5): 629-638.
- [29] Saadalla M M, Quick J S, Shanahan J F. Heat tolerance in winter wheat: II. Membrane thermostability and field performance. *Crop Science*, 1990, 30(6): 1248-1251.
- [30] 廖飞雄, 潘瑞焱. 菜心耐羟脯氨酸初选系的耐热性. *热带亚热带植物学报*, 2004, 12(4): 359-362.
Liao F X, Pan R C. Heat tolerance characteristics of a

- hydroxyproline-resistant line of *Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *utilis* Tsen et Lee. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2004, 12(4): 359-362. (in Chinese)
- [31] Pellinen R I, Korhonen M S, Tauriainen A A, Palva E T, Kangasjärvi J. Hydrogen peroxide activates cell death and defense gene expression in birch. *Plant Physiology*, 2002, 130(2): 549-560.
- [32] Vacca R A, de Pinto M C, Valenti D, Passarella S, Marra E, de Gara L. Production of reactive oxygen species, alteration of cytosolic ascorbate peroxidase, and impairment of mitochondrial metabolism are early events in heat shock-induced programmed cell death in tobacco Bright-Yellow 2 cells. *Plant Physiology*, 2004, 134(3): 1100-1112.
- [33] Silva-Ortega C O, Ochoa-Alfaro A E, Reyes-Agüero J A, Aguado-Santacruz G A, Jiménez-Bremont J F. Salt stress increases the expression of p5cs gene and induces proline accumulation in cactus pear. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2008, 46(1): 82-92.

(责任编辑 曲来娥)