

水杨酸对高温胁迫下水稻幼苗抗热性的影响*

吕俊¹ 张蕊² 宗学风¹ 王三根^{1**} 何光华¹

(1. 西南大学农学与生物科技学院 农业部生物技术与作物品质改良重点开放实验室 重庆 400716;

2. 周口职业技术学院农学系 周口 466000)

摘要 以“西农优1号”水稻品种为材料,研究了水杨酸(SA)预处理对高温胁迫下水稻幼苗抗热性的影响,结果表明:0.5 mmol·L⁻¹ SA 预处理可减缓水稻幼苗的电解质渗出,降低MDA含量和超氧阴离子产生速率,提高高温胁迫下水稻幼苗体内过氧化氢、脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白质、抗坏血酸和GSH的含量。表明SA预处理可提高高温胁迫下水稻幼苗的抗热性。

关键词 水稻幼苗 高温胁迫 水杨酸 抗热性

中图分类号: Q945.78 文献标识码: A 文章编号: 1671-3990(2009)06-1168-04

Effect of salicylic acid on heat resistance of rice seedling under heat stress

LU Jun¹, ZHANG Rui², ZONG Xue-Feng¹, WANG San-Gen¹, HE Guang-Hua¹

(1. College of Agronomy and Biotechnology, Southwest University; Key Laboratory of Biotechnology and Crop Quality Improvement, Ministry of Agriculture, Chongqing 400716, China; 2. Department of Agronomy, Zhoukou Vocational Technical College, Zhoukou 466000, China)

Abstract The effect of salicylic acid (SA) pretreatment on heat resistance of “Xinongyou1” rice seedlings under high temperature stress was investigated. The study shows that 0.5 mmol·L⁻¹ SA pretreatment retards electrolyte osmosis in rice seedling, reduces malondialdehyde (MDA) content and superoxide anion radical (O₂⁻) production rate. Meanwhile, contents of hydrogen peroxide (H₂O₂), proline, soluble sugar, soluble protein, vitamin C and GSH in rice seedling increase with SA pretreatment under high temperature stress. The findings suggest that SA pretreatment enhances heat resistance of rice seedling.

Key words Rice seedling, High temperature stress, Salicylic acid, Heat resistance

(Received Feb. 5, 2009; accepted April 26, 2009)

水杨酸(Salicylic acid, SA),即邻羟基苯甲酸,是一种植物体内产生的小分子酚类化合物,广泛存在于高等植物中。近年来SA及其盐类被认为是一种新型的植物激素,是植物对胁迫反应的一种信号分子。目前SA在植物抗逆境方面的研究报道较多^[1-5],在冷害、重金属离子毒害、干旱胁迫、盐害等非生物胁迫下对不同植物如大麦、小麦、芥菜、辣椒、百合等在不同生长发育阶段、不同组织的保护作用已有研究^[6-9],而对于水稻的研究报道则较少,尤其是有关SA对提高水稻幼苗抗热性的系统研究目前国内外尚少见报道。本试验初步研究了SA

预处理对水稻幼苗抗热性的影响,为进一步研究SA提高水稻幼苗抗热性机制及其产量提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试水稻品种为“西农优1号”,由西南大学水稻研究所提供。

1.2 培养和处理方法

水杨酸为分析纯,用蒸馏水溶解后,用1 mol·L⁻¹ NaOH调至pH 6.8,配成100 mmol·L⁻¹母液,使用前配成所需浓度。

* 重庆市水稻玉米良种创新重大专项(CSTC, 2007AB1033)、杂交水稻育种材料创新项目(CSTC2007AA1099)、耐高温干旱水稻种质创新及其评价体系的构建(CSTC2007AC1051)和重庆市自然科学基金重点项目(CSTC.2009BA1006)资助

** 通讯作者: 王三根(1954-),男,教授,主要研究方向为植物生理生化。E-mail: wangsg@swu.edu.cn

吕俊(1973-),男,博士研究生,研究方向为植物生理生化。E-mail: lvjun9898@163.com

收稿日期: 2009-02-05 接受日期: 2009-04-26

水稻种子经常规消毒、浸种和催芽后,播于带有尼龙网的培养钵中。1/2 浓度的水稻培养液培养,在西南大学农学与生命科学学院恒温温室培养至 2 叶 1 心,进行水杨酸和高温处理。

SA 处理:在进行 35 ℃ 高温处理前 24 h,用 0.5 mmol · L⁻¹ 的 SA 进行叶面喷施处理,同时设有高温对照(只喷等量清水)。

高温处理:把在恒温温室培养至 2 叶 1 心的水稻幼苗放入 35 ℃ 下进行高温处理,分别在高温处理的 6 h、12 h、24 h、48 h 各取材 1 次,测定各项生理生化指标。

电解质渗漏率用 DDS-11A 型电导仪法测定,丙二醛(MDA)含量参照王爱国的方法测定^[10],过氧化氢(H₂O₂)含量参照林植芳的方法测定^[11],超氧阴离子(O₂⁻)产生速率按王爱国等的方法测定^[10],抗坏血酸含量参照邹琦^[12]的方法测定,还原型谷胱甘肽含量按赵旭东等方法^[13]测定,可溶性蛋白含量采用 Folin-酚法测定,可溶性糖用蒽酮比色法测定。

2 结果与分析

2.1 SA 预处理对高温胁迫下水稻幼苗电导率和 MDA 含量的影响

表 1 表明,在高温胁迫过程中,SA 预处理和高温对照的水稻幼苗电导率基本呈增加趋势。但 SA 预处理水稻幼苗的电导率低于高温对照,在高温胁迫 24 h 和 48 h 时差异显著。说明 SA 预处理能够减缓水稻幼苗电解质的渗出。

MDA 是膜脂过氧化的一种典型产物,MDA 含量的多少与膜脂过氧化程度有关。表 1 表明,在高温胁迫过程中水稻幼苗 MDA 含量呈上升趋势,且经 SA 处理的水稻幼苗植株体内 MDA 含量一直低于

表 1 SA 预处理对高温胁迫下水稻幼苗电导率和 MDA 含量的影响

Tab. 1 Effects of SA pretreatment on the electrolytes leakage and MDA content in rice seedlings during heating stress

项目 Item	高温处理 时间 Heating stress time (h)	高温对照 Heating stress control	SA 处理 SA treatment
电导率 Electrolytes leakage [ng · g ⁻¹ (FW)]	6	132.97±0.75	130.94±1.16
	12	133.89±1.64	132.13±0.56
	24	134.63±0.51	132.84±0.81*
	48	138.13±3.87	131.56±0.95*
MDA 含量 MDA content [μmol · g ⁻¹ (FW)]	6	1.86±0.056	0.95±0.030*
	12	2.26±0.130	1.38±0.039*
	24	2.59±0.053	1.44±0.210*
	48	2.98±0.110	1.64±0.320*

*,** 分别为 0.05 和 0.01 水平差异显著,下同。*,** mean significant difference at 0.05 and 0.01 levels, respectively. The same below.

未处理的高温对照,且差异达极显著水平。

2.2 SA 预处理对高温胁迫下水稻幼苗 H₂O₂ 含量和超氧阴离子产生速率的影响

高温胁迫下,SA 预处理与未处理植株的超氧阴离子产生速率均呈上升趋势,但 SA 处理植株的超氧阴离子产生速率显著或极显著低于未处理植株(表 2);而 SA 预处理植株过氧化氢含量则在高温胁迫前期(6~24 h)呈下降趋势,之后则上升。在高温胁迫过程中,SA 预处理植株过氧化氢含量显著或极显著高于未处理植株。

2.3 SA 预处理对高温胁迫下水稻幼苗脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白质含量的影响

经 SA 预处理的水稻幼苗脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白质含量在整个高温胁迫期间均高于未处理植株(表 3)。在高温胁迫 12 h、24 h 和 48 h 时,SA

表 2 SA 预处理对高温胁迫下水稻幼苗 H₂O₂ 含量和 O₂⁻ 产生速率的影响

Tab. 2 Effects of SA pretreatment on the hydrogen peroxide concentration and production rate of O₂⁻ in rice seedlings during heating stress

项目 Item	高温处理 时间 Heating stress time (h)	高温对照 Heating stress control	SA 处理 SA treatment
H ₂ O ₂ 含量 H ₂ O ₂ content [μmol · g ⁻¹ (FW)]	6	13.08±0.46	15.35±0.68**
	12	11.19±0.90	12.43±0.22**
	24	7.59±0.94	10.71±0.50**
	48	9.19±0.66	11.54±0.98*
O ₂ ⁻ 产生速率 Production rate of O ₂ ⁻ [μmol · min ⁻¹ · g ⁻¹ (FW)]	6	85.10±4.36	63.04±2.62**
	12	94.45±2.78	87.02±1.62*
	24	107.78±1.84	94.74±1.58**
	48	119.22±3.46	101.61±3.95**

表 3 SA 预处理对高温胁迫下水稻幼苗脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白质含量的影响

Tab. 3 Effects of SA pretreatment on the contents of proline, soluble sugar and protein in rice seedlings during heating stress

项目 Item	高温处理时间 Heating stress time (h)	高温对照 Heating stress control	SA 处理 SA treatment
脯氨酸含量 Proline content [μg · g ⁻¹ (FW)]	6	1.20±0.061	1.34±0.095
	12	2.12±0.095	2.84±0.086*
	24	2.32±0.054	2.78±0.057*
	48	2.16±0.056	2.40±0.051*
可溶性糖含量 Soluble sugar content [mg · g ⁻¹ (FW)]	6	2.27±0.14	3.24±0.25*
	12	2.72±0.16	3.82±0.43*
	24	2.57±0.35	2.90±0.19*
	48	2.66±0.60	2.86±0.58
可溶性蛋白质 含量 Soluble protein content [mg · g ⁻¹ (FW)]	6	7.02±0.38	9.51±0.52*
	12	4.34±0.86	4.84±0.30
	24	3.00±0.10	3.86±0.05*
	48	5.24±0.31	5.62±0.11*

预处理的水稻幼苗脯氨酸含量与未处理植株有极显著差异, 高温胁迫 6 h、12 h 和 24 h 时, SA 预处理的水稻幼苗可溶性糖含量与未处理植株差异显著或极显著。

2.4 SA 预处理对高温胁迫下水稻幼苗 Vc 和 GSH 含量的影响

由表 4 可知, 高温胁迫下, SA 预处理的水稻幼苗抗坏血酸含量呈先上升而后略有下降的趋势, 而未处理的高温对照植株抗坏血酸含量呈先下降而后略有上升的趋势, 但在整个高温胁迫阶段, SA 处理植株的抗坏血酸含量高于未处理植株, 且差异达到极显著水平。说明 SA 增加 Vc 含量有利于水稻幼苗抵御高温胁迫, 从而起到保护植物细胞的作用。

表 4 SA 预处理对高温胁迫下水稻幼苗 Vc 和 GSH 含量的影响

Tab. 4 Effects of SA pretreatment on the contents of Vc and GSH in rice seedlings during heating stress

项目 Item	高温处理		SA 处理 SA treatment
	时间 Heating stress time (h)	高温对照 Heating stress control	
Vc 含量	6	5.49±0.23	6.68±0.18*
Ascorbic acid concentration	12	5.04±0.085	6.73±0.10*
[$\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}(\text{FW})$]	24	5.54±0.25	6.84±0.11*
	48	6.15±0.080	6.57±0.14*
GSH 含量	6	244.72±18.91	266.16±11.30*
Glutathione concentration	12	266.62±7.23	268.48±6.67
	24	232.93±6.81	266.35±10.96*
[$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}(\text{FW})$]	48	257.83±11.08	269.81±4.83

GSH 也是植物体内重要的抗氧化物质, 表 4 结果表明: 未经 SA 预处理的水稻幼苗在高温胁迫初期(6~12 h), GSH 含量迅速上升, 之后随高温胁迫时间的延长, GSH 含量下降, 而经 SA 预处理的水稻幼苗 GSH 含量在整个高温胁迫阶段变化不大。在高温胁迫过程中, SA 预处理的水稻幼苗 GSH 含量均高于未处理的高温对照, 且在高温胁迫 6 h、24 h 时, 差异达到显著水平。

3 讨论

近年来有些学者在抗逆性机理研究中提出“自由基”假说, 认为在逆境胁迫下, 植物体内可产生超氧自由基(O_2^-)、羟自由基($\text{OH}\cdot$)和过氧化氢(H_2O_2)等活性氧, 这些“有毒”物质可能会引起生物大分子的破坏, 启动膜脂过氧化作用, 从而使植物体内积累膜脂过氧化产物——丙二醛(MDA)。植物体内产生的自由基首先攻击膜系统, 随着膜伤害的发生,

膜内的可溶性物质、电解质大量渗漏。因此, MDA 和电解质渗漏率是植物受伤害的两个重要指标。MDA 含量越多, 电解质渗漏率越大, 说明植物受伤害的程度越大。本试验用 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 SA 预处理, 在高温胁迫下, SA 预处理与未处理植株的超氧阴离子产生速率、电导率和 MDA 均呈上升的趋势, 但 SA 处理植株的超氧阴离子产生速率显著或极显著低于未处理植株, 且电导率和 MDA 含量低于高温对照, 说明 SA 预处理能够减少超氧自由基的产生速率, 降低膜脂过氧化, 减缓水稻幼苗电解质的渗出。

植物体内产生的自由基一般由酶促系统和低分子量自由基清除剂的非酶促系统两大清除系统来参与。在各种酶促和非酶促清除系统中, SOD 催化 O_2^- 发生歧化反应而生成 H_2O_2 , 从而清除 O_2^- ; 而 CAT、APX 和 POD 又可清除 H_2O_2 、 $\cdot\text{OH}$ 等过氧化物, 抗氧化剂 AsA 和 GSH 等也参与清除活性氧的活动, 从而减轻活性氧自由基对植物膜系统的伤害。

SA 可通过调节活性氧、抗氧化物质含量而提高植物抗性反应。大量证据表明, 植物体内 H_2O_2 的积累对植物产生抗逆反应是必须的, 而外源水杨酸处理能诱导植物体内 H_2O_2 含量的增加^[2,14], 增加的 H_2O_2 被认为是引起植物超敏反应和系统获得抗性的重要信号分子。已经发现病原微生物侵染植株后, 植株中 SA 水平急剧增加, 且 SA 可以同时通过提高各种抗氧化剂来清除活性氧^[15]。植物体内存在多种抗氧化剂, 其中 GSH 和 AsA 是植物体内重要的抗氧化剂。AsA 因在植物中含量多尤其重要, Foyer 等^[16]报道, 叶绿体中 AsA 浓度可达 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。叶片中所含的 AsA 多于叶绿素; AsA 库占可溶性碳水化合物的 10% 以上, 是最主要的抗氧化剂。AsA 能直接清除超氧阴离子和过氧化氢。试验结果表明, 在高温胁迫过程中, SA 预处理植株过氧化氢含量显著或极显著高于未处理植株, 抗坏血酸和 GSH 含量也高于未处理植株。说明 SA 增加 Vc 和 GSH 含量有利于水稻幼苗抵御高温胁迫, 从而起到保护植物细胞的作用。

渗透调节是植物在逆境下降低渗透势, 抗逆境胁迫的一种重要方式。逆境胁迫下, 植物细胞通过代谢活动来增加细胞内的溶质浓度, 降低渗透势, 使细胞保持一定的膨压以维持正常的生命活动^[17]。在低温胁迫中植物细胞可以积累大量的氨基酸、可溶性糖等物质, 从而提高细胞渗透压。低温引起脯氨酸的积累, 脯氨酸有很强的溶解度, 对植物无毒害作用, 对离体酶活力无抑制作用, 是氨基酸中最

有效的渗透调节物质,脯氨酸的渗透调节作用除保护细胞与环境渗透平衡外,还可能直接影响蛋白质的稳定性,对蛋白质起到一定的保护作用,脯氨酸与细胞内的一些化合物形成类似亲水胶体的聚合物,有一定的保水作用。通常可溶性糖与植物的抗冷性之间呈正相关,可溶性糖在低温胁迫下的积累首先是提高细胞渗透压从而增强保水能力。此外,可溶性糖还具有冰冻保护剂的作用,防止蛋白质发生凝固变形等作用。此外,有报道认为细胞内可溶性蛋白质含量与植物抗低温胁迫之间也具有平行增长的关系。本试验结果表明,高温胁迫过程中,经SA预处理的水稻幼苗脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白质含量在整个高温胁迫期间均高于未处理植株。因此本研究认为水杨酸通过诱导脯氨酸和可溶性糖的合成和大量积累,进行渗透调节,降低了渗透势,提高了水稻幼苗的抗热性。

参考文献

- [1] Al-Hakimi A. M. A., Hamada A. M. Counteraction of salinity stress on wheat plants by grain soaking in ascorbic acid, thiamin or sodium salicylate[J]. *Biol. Plant*, 2001, 44: 253-261
- [2] Janda T., Szalai G., Tari I., *et al.* Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants[J]. *Planta*, 1999, 208: 175-180
- [3] Nemeth M., Janda T., Horvath E., *et al.* Exogenous salicylic acid increases polyamine content but decrease drought tolerance in maize[J]. *Plant Science*, 2002, 162: 569-574
- [4] Ho-Min K., Saltveit M. E. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots are differentially affected by salicylic acid[J]. *Physiologia Plantarum*, 2002, 115: 571-576
- [5] 康国章, 段中岗, 王正询, 等. 水杨酸提高香蕉幼苗抗冷性初探[J]. *植株生理学通讯*, 2003, 39(2): 122-124
- [6] 白团辉, 马锋旺, 李翠英, 等. 水杨酸对根际低氧胁迫八棱海棠幼苗活性氧代谢的影响[J]. *园艺学报*, 2008, 35(2): 163-168
- [7] 张素勤, 耿广东, 谭玉丽. 水杨酸对辣椒抗寒性的影响[J]. *华北农学报*, 2008, 23(增刊): 118-120
- [8] 齐付国, 陈明灿, 王秀云. 水杨酸对小麦幼苗抗寒性的影响[J]. *安徽农业科学*, 2008, 36(14): 5732-5733
- [9] 陈秋明, 尹慧, 李晓艳, 等. 高温胁迫下外源水杨酸对百合抗氧化系统的影响[J]. *中国农业大学学报*, 2008, 13(2): 44-48
- [10] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系[J]. *植物生理学通讯*, 1990 (6): 55-57
- [11] 林植芳, 李双顺, 林桂珠, 等. 衰老叶片和叶绿体中 H_2O_2 累积与膜脂过氧化的关系[J]. *植物生理学报*, 1988 (14): 16-22
- [12] 邹琦. *植物生理学实验指导*[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000
- [13] 赵旭东, 魏东芝. 谷胱甘肽的简便测定法[J]. *药物分析杂志*, 2000, 20(1): 34-37
- [14] Guozhang K., Changhu W., Guchou S., *et al.* Salicylic acid changes activities of H_2O_2 -metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2003, 50: 9-15
- [15] Noctor G., Foyer C. H. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control[J]. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1998, 49: 249-279
- [16] Foyer C. H., Souriau N., Perret S., *et al.* Overexpression of glutathione reductase but not glutathione synthetase leads of increases in antioxidant capacity and resistance to photoinhibition in poplar trees[J]. *Plant Physiol.*, 1995, 109: 1047-1057
- [17] 李美如, 刘鸿先, 王以柔. 植物细胞中的抗寒物质及其与植物抗冷性的关系[J]. *植物生理学通讯*, 1995, 31(5): 324-328