

水杨酸诱导的玉米幼苗适应高温和低温胁迫的能力与抗氧化酶系统的关系

杜朝昆 李忠光 龚明*

云南师范大学生命科学学院, 昆明 650092

摘要 玉米种子经水杨酸(SA)预处理后其幼苗的耐热性与耐冷性提高。其中以 $300 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SA 预处理的玉米幼苗对 46°C 高温胁迫 2 d 的耐热性提高最大, $150 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SA 预处理的玉米幼苗对 1°C 低温胁迫 5 d 的耐冷性提高最大。在高温和低温胁迫过程中, SA 预处理过的玉米幼苗中过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、过氧化物酶(GPX)、超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽还原酶(GR)的活性水平均高于未经 SA 处理的。

关键词 水杨酸; 高温胁迫; 低温胁迫; 玉米幼苗; 抗氧化酶

The Adaptations to Heat and Chilling Stresses and Relation to Antioxidant Enzymes of Maize Seedlings Induced by Salicylic Acid

DU Chao-Kun, LI Zhong-Guang, GONG Ming*

School of Life Sciences, Yunnan Normal University, Kunming 650092

Abstract Salicylic acid (SA) treatment of maize seeds could markedly enhanced heat and chilling tolerance of maize seedlings. $300 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ of SA could increase the heat tolerance of maize seedlings under 46°C for 2 d and $150 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ of SA could enhance the chilling tolerance under 1°C for 5 d. The activities of antioxidant enzymes CAT, APX, GPX, SOD and GR in maize seedlings induced by SA during heat and chilling stress were all higher than the control.

Key words salicylic acid; heat stress; chilling stress; maize (*Zea mays*) seedlings; antioxidant enzymes

水杨酸是一种普遍存在于高等植物体内的酚酸类化合物和参与植物对逆境胁迫反应尤其是生物胁迫反应的胞内信号分子^[1~4]。近年来的研究报告逐渐显示, SA 及其类似物在诱导植物抗非生物胁迫中也起一定作用^[5~10], 尤其在诱导植物的耐热性^[5,6]与耐冷性^[7,8]中起作用, 这些结果都是以不同植物材料或在不同的实验体系得出的。但在同一种植物及同一个实验体系中, SA 能否既诱导植物的耐热性又诱导它的耐冷性? SA 诱导植物抗逆性的生理基础是什么? 这些问题尚未见报告。本文研究 SA 预处理玉米种子对其幼苗耐热性及耐冷性的效应, 并同时测定玉米幼苗在高温和低温胁迫过程中 5 种抗氧化酶——过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(GPX)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽还原酶(GR)活性的动态变化, 以探讨抗氧化酶在 SA 诱导植物的耐热性和耐冷性形成中的作用。

材料与方法

植物材料为玉米(*Zea mays*)品种大黄。挑选均匀饱满的种子, 经 0.1% HgCl_2 消毒 10 min 后, 漂洗干净, 吸干种子表面水分, 用于处理。

上述消毒过的玉米种子分别用 9 个不同浓度(0、100、150、200、250、300、350、400、450 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的 SA 溶液(用 NaOH 调 pH 至 6.8), 在 25°C 下浸种 12 h, 而后把吸胀的种子播种到垫有 6 层经相应浓度 SA 溶液湿润滤纸的带盖磁盘(24 $\text{cm}\times 16 \text{cm}$)中, 于 $28^\circ\text{C}/25^\circ\text{C}$ (昼/夜)下暗萌发 60 h。分别在萌发期间的 12 和 36 h 用相应浓度的 SA 溶液 60 mL 进行根际浇灌。选取萌发后生长一致的

收稿 2004-05-08 修定 2004-10-26

资助 国家自然科学基金(30060009)、云南省自然科学基金重点项目(98C002Z)、教育部优秀高校青年教师教学科研奖励计划(2001年度)。

* 通讯作者(E-mail: gongming@public.km.yn.cn, Tel: 0871-5516244)。

玉米幼苗, 转入46℃下高温处理2 d或转入1℃下低温处理5 d。高温和低温处理均在暗中进行。处理结束后, 幼苗转入28℃/25℃(昼/夜)、光照16 h·d⁻¹ (平均光照度为65 μmol·m⁻²·s⁻¹)的环境中恢复培养8 d后, 计算存活率。以在恢复期间能转绿并能够恢复生长的玉米幼苗计为存活的幼苗。

测定抗氧化酶活性时, 取经SA预处理并经高温或低温处理下的玉米黄化幼苗的胚芽鞘0.5 g, 转入液氮中冷冻保存。按前法提取并同时测定CAT、GPX、APX、SOD和GR 5种抗氧化酶活性的变化^[11]。

上述所有实验均重复3次, 每次实验中有2次测定重复, 图中所有数据均为平均值±标准误。所用药品GSH、GSSG、DTT、NADPH、氮蓝四唑(NBT)等购自Sigma公司, 其余药品为国产分析纯。

实验结果

1 不同浓度SA预处理种子后的玉米幼苗耐热性和耐冷性

种子经SA预处理后所培养成的玉米幼苗, 分别转入46℃下高温处理2 d或转入1℃下低温处理5 d后, 于28℃/25℃下恢复8 d。从图1可以看出, 150~450 μmol·L⁻¹的SA均可提高玉米幼苗在高温胁迫后的存活率, 其中以300 μmol·L⁻¹ SA的效果最好。

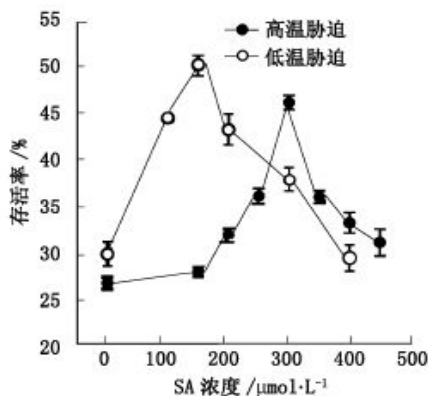


图1 SA预处理种子后玉米幼苗在高温(46℃)和低温(1℃)胁迫下的存活率

Fig. 1 The survival percentage of maize seedlings under heat (46℃) and chilling (1℃) stress after pretreatment of maize seeds by SA

从图1可同时看出, 100~300 μmol·L⁻¹的SA能提高玉米幼苗在低温胁迫下的存活率, 其中以150 μmol·L⁻¹ SA的存活率为最高。

2 种子经SA预处理后的玉米幼苗抗氧化酶活性在高温胁迫过程中的变化

如图2所示, 经300 μmol·L⁻¹ SA预处理的玉米幼苗和未经预处理的对照相比, 在46℃高温胁迫处理前, CAT及APX活性无明显差异, GPX、GR和SOD活性略有提高。在46℃高温胁迫过程中, SA预处理与否的玉米幼苗中CAT、APX及GPX活性均有不同程度的下降; 经SA预处理的玉米幼苗SOD和GR活性在胁迫前期上升, 后期下降, 未经SA处理的则一直呈下降趋势。从总体上看, 在整个高温胁迫期间, 经SA预处理的玉米幼苗的CAT、APX、GPX、SOD和GR活性下降幅度较小, 明显高于未经SA处理的。

3 种子经SA预处理后的玉米幼苗抗氧化酶活性在低温胁迫过程中的变化

如图3所示, 种子经150 μmol·L⁻¹ SA预处理后玉米幼苗在低温胁迫处理前的CAT及APX活性与未经SA处理的无差异, GPX、GR和SOD活性均略有提高。在1℃低温胁迫下, 经SA预处理与否的玉米幼苗中CAT、APX及GR活性均有不同程度的下降; 而经SA预处理的玉米幼苗的GPX和SOD活性在胁迫前期上升, 后期快速下降。总体上讲, 经SA预处理的玉米幼苗CAT、APX、GPX、SOD和GR活性在整个低温胁迫期间均明显高于未经SA处理的。

讨论

从本文结果来看, SA预处理种子可同时提高玉米幼苗耐热性和耐冷性, 但SA诱导玉米幼苗耐热性与耐冷性的适宜SA浓度不同。与未经SA预处理的相比, 以300 μmol·L⁻¹ SA预处理的玉米幼苗耐热性效果最好, 而以150 μmol·L⁻¹ SA诱导的玉米幼苗耐冷性效果最好(图1), 即诱导抗热性的适宜SA浓度较诱导抗冷性的高。出现这一差异可能有以下几个原因: (1)高温与低温胁迫中玉米幼苗的水杨酸信号传递途径或组分以及各信号分子之间相互作用的时空性存在差异; (2)SA是可转移的信号分子, 当植物某个部位受到高温胁迫时, SA向外输出即受到抑制^[12, 13]; (3)高温胁迫过程中植

物内SA在转运时,可能转化为其它物质^[13]; (4) 高温与低温胁迫下植物细胞超微结构和膜相变化可能有差异^[14]。

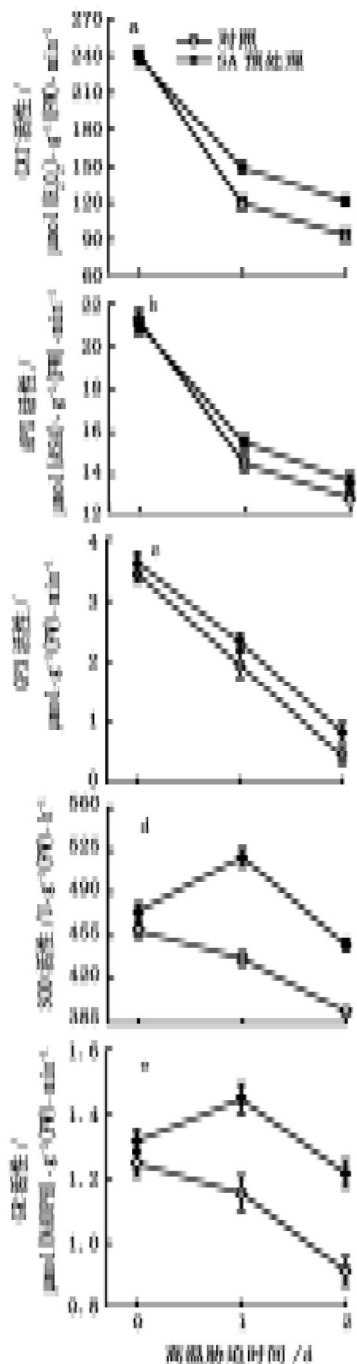


图2 种子经SA预处理后的玉米幼苗抗氧化酶活性在高温胁迫过程中的变化
Fig. 2 The activities of antioxidant enzymes in maize seedlings during heat stress after pretreatment of maize seeds by SA

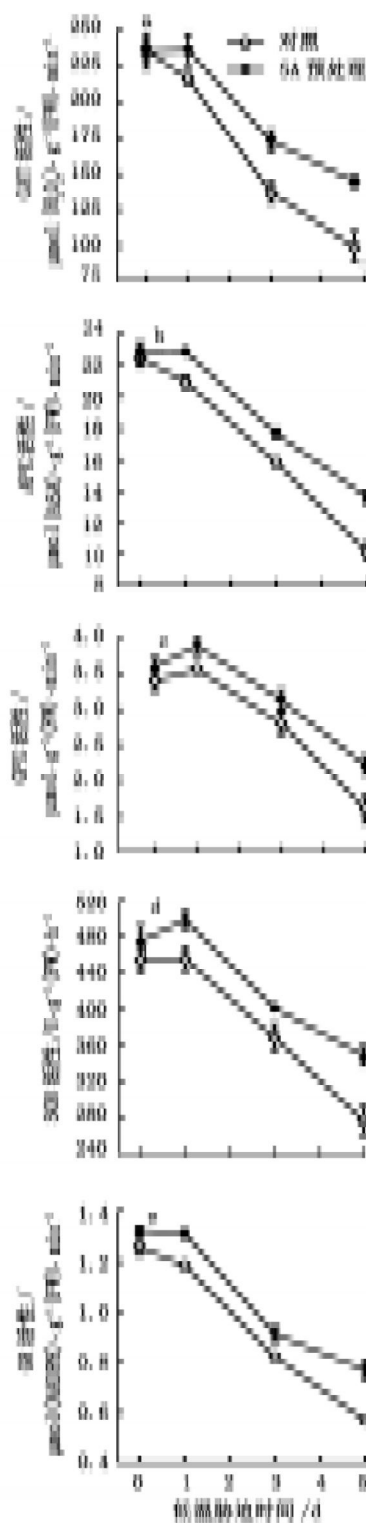


图3 SA预处理种子后玉米幼苗抗氧化酶活性在低温胁迫过程中的变化
Fig. 3 The activities of antioxidant enzymes in maize seedlings during chilling stress after pretreatment of maize seeds by SA

已知各种逆境胁迫都可引起细胞内活性氧水平增加而导致氧化胁迫^[15~17], 而一般认为植物抗逆性的强弱是与抗氧化酶活性高低密切相关的^[18~20]。Conrath等^[21]和Chen等^[22]的实验结果显示, SA预处理的植物在生物或非生物胁迫前的CAT活性显著受抑。但也有研究表明, 在体外浓度低于 $0.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的SA对玉米等植物的CAT活性没有明显的抑制作用^[23~26]。而另有研究结果则表明, SA和乙酰水杨酸(ASA)能提高植物在常温下的CAT活性^[6, 27]。本文结果显示, 种子经SA预处理的玉米幼苗的CAT活性在高温胁迫前和低温胁迫前不受到SA的明显抑制, 与上面提及的文献报道中认为SA明显抑制或增强CAT活性的结果不同。我们认为, 这可能是SA处理的方式和SA浓度不同对不同植物CAT活性的影响不同所致。

此外, 在高温和低温胁迫过程中, 经SA预处理的玉米幼苗5种抗氧化酶(CAT、APX、GPX、SOD和GR)活性均高于未经SA处理的(图2、3), 可见保持较高的抗氧化酶活性可能是SA处理的玉米幼苗耐热性和耐冷性提高的原因。在高温和低温胁迫中, GR和SOD的活性显著高于未经SA处理的, 表明较高的GR和SOD活性是玉米幼苗在高温和低温胁迫中对SA预处理响应的关键。总之, 本文结果表明, 无论在高温胁迫还是在低温胁迫下, 种子经SA预处理的玉米幼苗均表现出类似的生理反应, 幼苗抗氧化酶活性提高与幼苗的耐热性及耐冷性的增强相吻合。这暗示SA预处理后细胞抗氧化酶活性的提高, 是SA诱导的玉米幼苗耐热性和耐冷性形成的生理基础。

参考文献

- 林忠平, 胡鸾雷. 植物抗逆性与水杨酸介导的信号转导途径的关系. 植物学报, 1997, 39:185~188
- Klessig DF, Malamy J. The salicylic acid signal in plants. *Plant Mol Biol*, 1994, 26:1439~1458
- Klessig DF, Durner J, Noad R et al. Nitric oxide and salicylic acid signaling in plant defense. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97:8849~8855
- Raskin I. Role of salicylic acid in plants. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1992, 43:439~463
- Dat JF, Lopez-Delgado H, Foyer CH et al. Effects of salicylic acid on oxidative stress and thermotolerance in tobacco. *J Plant Physiol*, 2000, 156:659~665
- 何亚丽, 刘友良, 陈权等. 水杨酸和热锻炼诱导的高羊茅幼苗的耐热性与抗氧化的关系. 植物生理与分子生物学学报, 2002, 28:89~95
- Janda T, Szalai G, Tari I et al. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize plants. *Planta*, 1999, 208:175~1808
- Kang GZ, Wang CH, Sun GH et al. Salicylic acid changes activities of H_2O_2 -metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings. *Environ Exp Bot*, 2003, 50:9~15
- Mishra A, Chordhuri MA. Effects of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxygenase in rice. *Biol Plant*, 1999, 42: 409~415
- 陶宗娅, 邹琦, 彭涛等. 水杨酸在小麦幼苗渗透胁迫中的作用. 西北植物学报, 1999, 19:296~302
- 李忠光, 李江鸿, 杜朝昆等. 在单一提取系统中同时测定五种植物抗氧化酶. 云南师范大学学报(自然科学版), 2002, 22(3):44~48
- 王利军, 黄卫东, 于凤义. 高温胁迫对 ^{14}C -水杨酸在葡萄苗中运转分配的影响. 植物生理学报, 2001, 27:129~134
- 刘悦萍, 黄卫东, 王利军. 葡萄叶片饲喂的 ^{14}C -水杨酸对高温胁迫的应激反应. 中国农业科学, 2003, 36:685~690
- Levitt J. *Responses of Plant to Environmental Stress (Vol 1)*. New York: Academic Press, 1980. 44~447
- Jabs T. Reactive oxygen intermediates as mediators of programmed cell death in plants and animals. *Biochem Pharmacol*, 1999, 57:231~245
- Prasad TK, Anderson MP, Martin BA et al. Evidence for chilling induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. *Plant Cell*, 1994, 6:65~74
- Bartosz G. Oxidative stress in plants. *Acta Physiol Plant*, 1997, 19:47~64
- Mallick N, Mohn FH. Reactive oxygen species response of algal cells. *J Plant Physiol*, 2000, 157:183~193
- Vranova E, Inze D, Breusegem FV. Signals transduction during oxidative stress. *J Exp Bot*, 2002, 53:1227~1236
- Dat JF, Foyer CH, Scott IM. Change in salicylic acid and antioxidants during induced thermotolerance in mustard seedlings. *Plant Physiol*, 1998, 118:1455~1461
- Conrath U, Chen Z, Ricigliano JR et al. Two inducers of plant defense responses 2, 6-dichloroisonicotinic acid and salicylic acid, inhibit catalase activity in tobacco. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92:7143~7147
- Chen Z, Silva H, Klessig DF. Active oxygen species in the induction of plants systemic acquired resistance by salicylic acid. *Science*, 1993, 262:1883~1886
- Sanchez-Casas P, Klessig D. A salicylic acid-binding activity and a salicylic acid-inhibitable catalase activity are present in variety of plant species. *Plant Physiol*, 1994, 106: 1675~1679
- Rao MV, Paliyath G, Ormrod P et al. Influence of salicylic acid on H_2O_2 production, oxidative stress and H_2O_2 metabolizing enzymes. *Plant Physiol*, 1997, 115:137~149
- 宋泽双, 江国英, 卢迎春. 水杨酸处理导致过氧化氢酶基因mRNA水平的下降. 科学通报, 1998, 43:422~425
- Bi YM, Kenton P, Murr L et al. Hydrogen peroxide does not function downstream of salicylic acid in the induction of PR protein expression. *Plant J*, 1995, 8:234~245
- 汪晓峰, 张宪政. ASA提高小麦抗旱性生理效应的研究. 植物学报, 1998, 15:48~50