

水杨酸对低温胁迫香蕉幼苗呼吸作用的影响

康国章^{1,2}, 孙谷畴², 王正询³

(1. 河南农业大学国家小麦工程技术研究中心, 河南郑州 450002; 2. 中国科学院华南植物研究所, 广东广州 510650; 3. 广州大学生物系, 广东广州 510405)

摘要: 探讨了水杨酸(salicylic acid, SA)对低温胁迫香蕉幼苗叶片呼吸作用的影响。在常温下用 0.5 mmol/L SA 水溶液处理香蕉幼苗, 能明显提高香蕉幼苗的抗氰呼吸和细胞色素呼吸, 增加总呼吸量, 提高产热量; 在随后 7 °C 低温胁迫与常温恢复期间 SA 预处理, 能抑制总呼吸速率的下降, 这种对总呼吸下降的抑制与此时细胞色素途径维持在较高的水平有关, 而与抗氰呼吸无关。此时也未检测到 SA 预处理植株叶片产热量增加的现象。

关键词: 水杨酸; 呼吸作用; 香蕉; 低温胁迫

中图分类号: Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2004)04-0359-04

Effect of salicylic acid on respiration of chilling-stressed banana seedlings

KANG Guo-zhang^{1,2}, SUN Gu-chou², WANG Zheng-xun³

(1. National Engineering Research Center for Wheat of Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;
2. South China Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China;
3. Department of Biology, Guangzhou University, Guangzhou 510405, China)

Abstract: Effect of salicylic acid (SA) on the respiration of the chilling-stressed banana plants was investigated in this paper. Treatment of banana plant with 0.5 mmol/L SA hydroponic solution by form of foliar spray and root irrigation at 30/22 °C for 1 day raised the total respiration (V_t), which was related to the increase both in alternative pathway ($\rho'V_{alt}$) and in cytochrome pathway (ρV_{cyt}). During subsequent chilling stress at 7 °C and recovery periods, however, SA pretreatment inhibited the decrease in V_t and ρV_{cyt} . But SA did not change $\rho'V_{alt}$ and heat production, indicating that the enhancement of SA on V_t could not be from $\rho'V_{alt}$, but from ρV_{cyt} . The mechanism of SA on V_t during chilling stress was explored.

Key words: salicylic acid; respiration; banana; chilling stress

近年来,水杨酸(salicylic acid, SA)在植物抗环境胁迫(冷、热、盐、干旱、重金属等)中的作用已引起人们广泛的注意(Janda 等, 1999; Mishra 和 Choudhuri, 1999; Dat 等, 2000; Senaratna 等, 2000; Al-Hakini 和 Hamada, 2001)。在前文中,我们研究发现,SA 常温处理香蕉幼苗,能减少随后低温胁迫期间叶片的萎蔫面积,降低胞内电解质的泄漏,提高

叶片的光合作用等功能,提高植株的抗寒能力(Kang 等, 2003; 康国章等, 2003)。呼吸作用是植物细胞最主要的新陈代谢之一,它为细胞的绝大多数代谢活动提供物质与能量。已发现 SA 在产热植物开花时与植物的产热有关(Rasin 等, 1987),并且外源 SA 能提高产热量,使植物提前开花(Rasin, 1992)。SA 是否在低温下通过影响呼吸作用来提

收稿日期: 2003-07-02 修订日期: 2003-10-20

基金项目: 广州市重点资助项目(1999-11); 中国科学院研究生院研究生科技创新项目。

作者简介: 康国章(1971-), 男, 河南伊川人, 博士, 植物生理学专业, 从事植物抗逆分子生理。

高植物的抗寒性? 此方面的研究尚未见报道。本文以香蕉幼苗为实验材料, 采用氧电极法研究了 SA 对香蕉幼苗呼吸作用的影响, 以进一步探讨其提高香蕉幼苗抗寒性的机制。

1 材料与方 法

1.1 材料的处理

实验材料为香蕉冷敏感品种威廉斯 8818 (*Musa acuminata* cv. Williams 8818) (中国科学院华南植物研究所香蕉组培中心从威廉斯品种中选育出来的高产优质栽培品系)。取经过茎尖组织培养获得的健康组培苗种植于黑色营养钵 (10 cm × 6.5 cm × 9 cm) 中, 土壤和砂石的比例为 10 : 1, 每钵 1 苗, 一般田间管理, 生长 3 个月后, 选取株高 11 cm 左右、四叶一心和生长一致的健壮植株用于本实验。同时采用喷叶与灌根相结合的方法对植株进行 SA 处理。喷洒的标准以溶液自叶片上自然流下为准, 灌溉以每株苗 20 mL 为准。用不同浓度的 SA (0 ~ 3.5 mmol/L) 水溶液对在常温条件 (PPFD, 250 μmol m⁻² s⁻¹ (12/12 h); 昼夜温度 30/22 °C; RH, 70%) 下生长的香蕉幼苗处理 1 d, 然后与经过蒸馏水处理的幼苗 (CK) 一并放入低温培养箱 (PPFD, 150 μmol m⁻² s⁻¹ (12/12 h); RH, 70%) 中进行 7 °C 低温胁迫处理, 而后在常温 (30/22 °C) 下恢复 2 d。预备实验证明, 香蕉幼苗对低温胁迫非常敏感, 在 15 °C 时停止生长, 在 6 °C 出现萎蔫或冷斑。因此, 对香蕉幼苗进行 7 °C 低温胁迫, 此温度下香蕉幼苗叶片不出现萎蔫和冷斑, 可避免萎蔫和冷斑对生理指标测定的干扰。每处理重复 4 次 (4 株)。

1.2 测定方法

1.2.1 产热量的测定 根据文江祁等 (1995) 的方法, 并有修改。把 50 mL 干净的锥形瓶四周用绝缘的泡沫塑料密封好, 打开瓶塞 (瓶塞插有点温计的探头) 放入培养箱中, 静置 30 min, 以与培养箱内的温度相同。取处理香蕉植株最上部刚全展的整片叶, 立即放入锥形瓶中, 并使温度测量探头与叶片表面相接触, 盖紧瓶塞, 20 min 后, 读取点温计上的读数。点温计的最小分度为 0.2 °C。

1.2.2 呼吸速率的测定 参考周功克等 (2000) 方法。取上述用于产热量测定的叶片 0.5 g, 剪成宽约 1 mm 的片段, 迅速放入氧电极 (Clark 型) 的测定瓶

中, 测定叶片的氧呼吸速率以及加入各种呼吸抑制剂的氧吸收速率。测定温度为 28 °C。所有呼吸速率皆以 μL O₂ · g⁻¹ FW · h⁻¹ 为单位表示。所用 KCN 浓度和 m-CLAM (间-氯苯氧甲酸) 浓度均为 1 mmol/L。交替途径与细胞色素途径的实际运行量采用 Bahr 和 Bonner (1973) 提出的氧甲酸滴定法, 并经 Theologis 和 Latis (1978) 修改用于测定植物组织的公式来计算:

$$V_t = \rho' V_{alt} + \rho V_{cyt} + V_{res}$$

其中 V_t 是总呼吸, ρ 代表细胞色素途径实际运行的分数, ρV_{cyt} 是通过细胞色素途径的呼吸; V_{res} 是不被 KCN 和 m-CLAM 共同抑制的剩余呼吸; ρ' 代表抗氰呼吸实际运行的分数, $\rho' V_{alt}$ 代表抑制剂不存在时抗氰呼吸的实际运行量。

2 结果与讨论

2.1 SA 对低温胁迫香蕉幼苗总呼吸速率的影响

常温 (30/22 °C) 下, 经 0.5 mmol/L SA 处理 1 d 的香蕉叶片的 V_t 较未经 SA 处理的对照 (CK) 上升了 36.3% (图 1-a)。1 d 后开始下降, 7 °C 低温胁迫使 CK 香蕉幼苗叶片 V_t 迅速上升, 3 d 后 CK 叶片的总呼吸速率 (V_t) 下降了 21.2%; 在常温恢复期间, CK 的 V_t 虽有较大幅度的回复, 但未达到冷胁迫前水平 (81.3%)。在低温胁迫期间, SA 预处理植株的 V_t 与 CK 变化趋势相似, 低温胁迫 1 d 虽使 V_t 有所上升, 但升幅不明显, V_t 接近于 CK 水平, 差异不显著; 而后虽下降, 但降幅明显低于 CK, 故此时 SA 处理的 V_t 明显高于 CK, 并且常温恢复 2 d 后能迅速恢复到冷胁迫前的水平 (为常温下的 95.2%), 此时 SA 处理的 V_t 比 CK 高 42.8%。这表明, SA 能明显提高低温胁迫和恢复期间香蕉幼苗的呼吸速率。

2.2 SA 对低温胁迫香蕉幼苗抗氰呼吸与细胞色素途径的影响

植物的呼吸途径主要包括 2 条, 即细胞色素途径 (V_{cyt}) 和抗氰呼吸途径 (V_{alt})。SA 对 V_t 的影响是通过哪一个途径起作用的? 图 1-b 表明, 常温下 SA 处理 1 d 后叶片的抗氰呼吸的实际运行量 ($\rho' V_{alt}$) 明显上升, 较 CK 上升了 37.2%。低温胁迫 1 d 也使 CK 幼苗叶片的 $\rho' V_{alt}$ 快速上升, 但随后迅速下降, 到冷胁迫的第 3 d 已降至低于冷胁迫前水平, 恢复 2 d 后, CK 的 $\rho' V_{alt}$ 继续下降, 甚至低于

冷胁迫前的水平(为冷胁迫前的 94.2%)。低温胁迫也使经 SA 预处理幼苗的 $\rho'V_{alt}$ 有所上升,但上升幅度较小,略高于 CK;随后也快速下降,变化趋势与 CK 相似,且与 CK 无明显差异。

与对照相比,1 d 的 SA 常温处理使细胞色素呼吸实际运行量(ρV_{cyt})上升了 27.1%(图 1-c)。7 °C 低温胁迫期间 CK 和 SA 预处理植株叶片的 ρV_{cyt} 均迅速下降,其变化趋势与 V_t 相似;然而,SA 预处理能减缓这种下降趋势,因此,在低温胁迫期间,SA 处理的 ρV_{cyt} 明显高于对照。在低温胁迫期间, V_t 与 ρV_{cyt} 的相关系数为 0.873,差异达显著水平,而与 $\rho'V_{alt}$ 相关系数较小,未达显著水平。这表明

SA 在低温胁迫期间提高的 V_t 主要来自于细胞色素呼吸,而与抗氰呼吸无关。

2.3 SA 对低温胁迫香蕉幼苗产热量的影响

文江祁等(1995)发现,SA 可使马铃薯切片的抗氰呼吸与产热量均增加约 40.2%左右。在本实验中,0.5 mmol/L SA 常温处理 1 d 的香蕉幼苗叶片的总产热量较 CK 上升了约 25.3%(图 1-d)。可见,常温 SA 处理能显著增加香蕉幼苗的产热量。7 °C 低温胁迫 1 d 使对照香蕉幼苗的产热量显著上升,但随后叶片的产热量下降较快,在低温胁迫第 3 d 产热量甚至低于胁迫前水平。在低温胁迫初始 1 d,经 SA 预处理幼苗叶片的产热量也有所上升,但

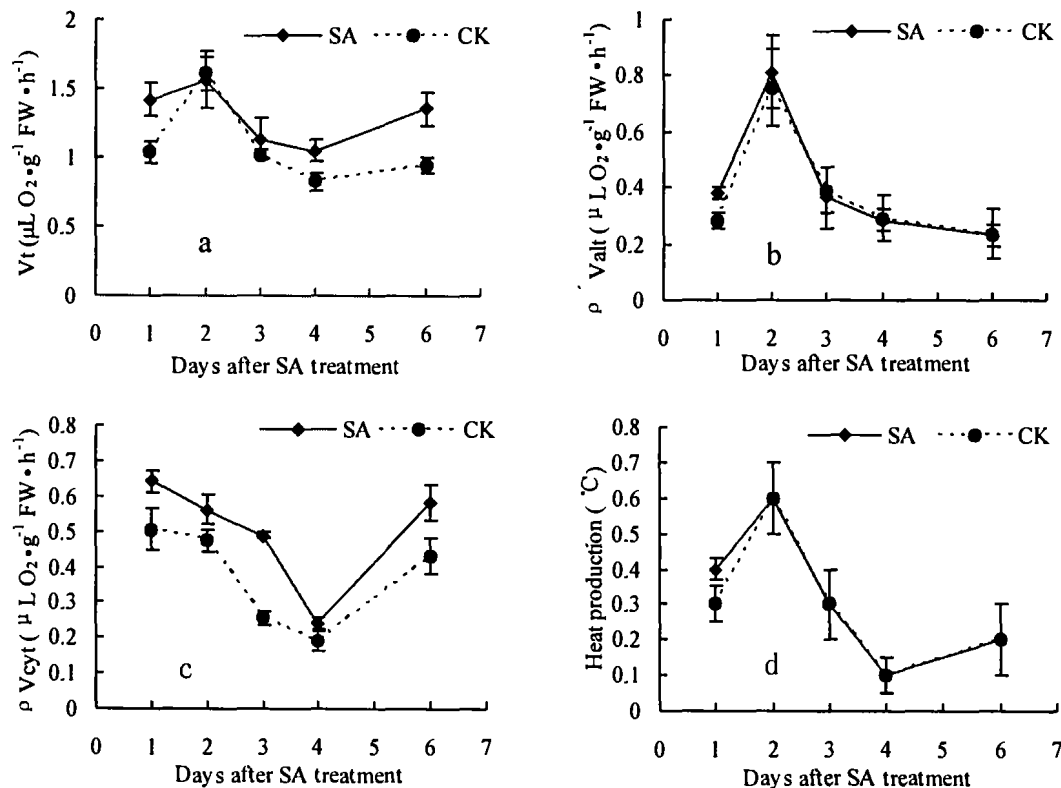


图 1 SA 对低温胁迫香蕉幼苗呼吸作用的影响

Fig. 1 Effects of SA on respiration in chilling-stressed banana seedlings

A: V_t ; B: $\rho'V_{alt}$; C: ρV_{cyt} ; D: heat production.

增加幅度较小,与 CK 差异不显著,并在随后的低温胁迫与恢复期间,二者之间的产热量也没有检测到明显差异,表明在低温胁迫期间,SA 不影响香蕉幼苗叶片的产热量。

3 讨论

在本文中,我们发现 SA 处理和低温胁迫均使香蕉幼苗叶片的 V_t 有较大范围的变化,表明其受

理化因子影响较大。SA 能提高低温胁迫香蕉幼苗叶片的 V_t ,且这种提高主要来自于细胞色素途径(V_{cyt})。植物的细胞色素呼吸途径在细胞中的主要作用有:一为细胞新陈代谢提供能量;二是其中间代谢产物,是细胞许多重要大分子物质合成的前提物质。因此,我们推测,SA 在低温下通过提高植物的细胞色素途径来增加能量供应,并且保证许多大分子代谢的正常进行,从而有助于细胞在低温下新陈代谢的正常进行,从而提高抗寒性。

植物线粒体区别于动物线粒体的一个显著功能特征是它具有一条对氰化物不敏感的呼吸电子传递链,即抗氰呼吸途径,其本质是从呼吸链泛醌处分支并以交替氧化酶为末端氧化酶的非磷酸化的电子传递链。已发现,SA 常温下能增强产热植物马铃薯切片交替呼吸的运行程度,提高产热量(文江祁等,1995)。由此,我们推测 SA 能否通过提高非产热植物香蕉幼苗的抗氰呼吸途径来增加非产热植物的产热量来提高植物的抗寒性?但本文结果显示,低温胁迫期间经 SA 预处理叶片的抗氰呼吸和产热量与对照无明显差异,可能是 SA 提高产热量极低,难以检测,也可能是 SA 不通过抗氰呼吸来提高香蕉的抗寒性。

抗氰呼吸途径普遍存在于高等植物中,它的发生除与运行程度与植物自身发育和内在生理状态有关外,还受许多逆境因子的影响。大量研究表明,各种逆境因子均可引起植物抗氰途径能力的改变。例如,当植物遭受高温、低温、机械损伤和病害侵染等逆境条件时,均表现出抗氰呼吸能力的增强(Jolivet 等,1990; Vanlerberghe 和 McIntosh,1992; Wen 和 Liang,1993; Purvis 和 Shewfelt,1997; 何军贤等,1999)。在常温下,SA 处理 1 d 能明显提高香蕉幼苗的抗氰呼吸与产热量,表明 SA 常温处理也可能是一种逆境胁迫。但在随后的冷胁迫期间,SA 不能提高细胞的抗氰呼吸与产热量,我们推测,香蕉是冷敏感性强的非产热性植物,虽然常温下 SA 能通过诱导抗氰呼吸来提高产热量,但在随后的严重低温胁迫期间,这些产热量远不能提高细胞内环境的温度。另外,SA 对抗氰呼吸途径的诱导可能是短暂性的,即不能使其长期处于较高水平的诱导水平。

感谢柯德森副研究员和徐志防副研究员的支持和帮助!

参考文献:

- 文江祁,王 俊,邸 焯,等. 1995. 陈化马铃薯切片交替途径运行与产热的关系[J]. 科学通报, 40(22): 2 086—2 087.
- Al-Hakimi AMA, Hamada AM. 2001. Counteraction of salinity stress on wheat plants by grain soaking in ascorbic acid, thiamin or sodium salicylate[J]. *Biol Plant*, 44: 253—261.
- Bahr JT, Bonner JR. 1973. Cyanide-insensitive respiration 1. The steady states of skunk Cabbage spadix and bean hypocotyls mitochondria[J]. *J Biol Chem*, 248: 3 441—3 445.
- Dat JF, Lopez-Delgado H, Foyer CH, et al. 2000. Effects of salicylic acid on oxidative stress and thermotolerance in tobacco[J]. *J Plant Physiol*, 156: 659—665.
- He JX(何军贤), Wei ZQ(韦振泉), Lin HH(林宏辉), et al. 1999. Effects of water stress on the cyanide-resistant respiration and expression of the alternative oxidase gene in wheat seedlings(水分胁迫对小麦幼苗抗氰呼吸和交替氧化酶基因表达的影响)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报), 41(3): 340—342.
- Janda T, Szalai G, Tari I, et al. 1999. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants[J]. *Planta*, 208: 175—180.
- Jolivet Y, Pireaux JC, Dizengremel P. 1990. Changes in properties of barley leaf mitochondria isolated from NaCl-treated plants[J]. *Plant Physiol*, 94: 641—646.
- Kang GZ, Wang ZX, Sun GC. 2003. Participation of H₂O₂ in enhancement of cold chilling by salicylic acid in banana seedlings[J]. *Acta Bot Sin*, 45(5): 567—573.
- Kang GZ(康国章), Ou ZY(欧志英), Wang ZX(王正询), et al. 2003. Salicylic acid alleviated the damage caused by low temperature to cell membrane and some photosynthetic functions of banana seedlings(水杨酸诱导提高香蕉幼苗耐寒性的机制研究)[J]. *Acta Hort Sin*(园艺学报), 30(2): 141—146.
- Mishra A, Choudhuri MA. 1999. Effects of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxygenase in rice[J]. *Biol Plant*, 42: 409—415.
- Purvis AC, Shewfelt RL. 1997. Does the alternative pathway ameliorate chilling injury in sensitive plant tissues[J]? *Physiol Plant*, 88: 712—718.
- Rasin I, Ehmann A, Melander WR, et al. 1987. Salicylic acid: a natural inducer of heat production in Arum lilies [J]. *Science*, 237: 1 601—1 602.
- Rasin I. 1992. Salicylate, a new plant hormone[J]. *Plant Physiol*, 99: 799—803.
- Senaratna T, Touchell D, Bunn E, et al. 2000. Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants [J]. *Plant Growth Regul*, 30: 157—161.
- Theologis A, Laties GG. 1978. Relative contribution of cytochrome-mediated and cyanide-resistant electron transport in fresh and aged potato slices[J]. *Plant Physiol*, 62: 232—237.
- Vanlerberghe GC, McIntosh L. 1992. Lower growth temperature increases the capacity of the alternative pathway and AOX protein in tobacco[J]. *Plant Physiol*, 100: 115—119.
- Wen JG, Liang HG. 1993. Studies on energy status and mitochondrial respiration during growth and senescence of mung bean cotyledons[J]. *Physiol Plant*, 89: 805—810.
- Zhou GK(周功克), Li HY(李红玉), Wen JQ(文江祁), et al. 2000. The cyanide-resistant respiration in callus of *Nicotiana rustica* cv. Gansu yellow flower under lower temperature(低温胁迫下甘肃黄花烟草愈伤组织的抗氰呼吸)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报), 42(7): 679—683.