

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2013.04.002

冯汉青,李芳,管冬冬,等. 两种外源化学物影响 PEG 胁迫对水稻根系的伤害[J]. 广西植物 2013, 33(4): 439-442

Feng HQ, Li F, Guan DD, et al. Effects of two exogenous chemical substances on the osmotic stress-induced damages to rice roots[J]. *Guihaia* 2013, 33(4): 439-442

## 两种外源化学物影响 PEG 胁迫对水稻根系的伤害

冯汉青\* 李芳,管冬冬,贾凌云

(西北师范大学 生命科学学院,兰州 730070)

**摘要:** 研究过氧化氢内源消除剂和交替氧化酶专一性抑制剂影响渗透胁迫对水稻根系的伤害。结果表明: PEG 6000 胁迫抑制了水稻幼根的生长,降低了相对含水量、增加了 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量,并导致细胞死亡。用 5 mmol · L<sup>-1</sup> 二甲基硫脲(过氧化氢内源消除剂, dimethylthiourea, DMTU) 预处理水稻幼根能明显降低 PEG 胁迫下水稻幼根过氧化氢的含量,缓解细胞死亡和相对含水量的降低,但对水稻根的生长影响较小。在 PEG 胁迫下,用 1 mmol · L<sup>-1</sup> 水杨基氧肟酸(交替氧化酶专一性抑制剂, salicylhydroxamic acid, SHAM) 预处理水稻幼根能显著降低水稻幼根的生长和相对含水量,并增加水稻幼根的过氧化氢含量和细胞的死亡程度。这说明 DMTU 能缓解 PEG 胁迫对水稻根系伤害,而 SHAM 加剧了 PEG 胁迫对水稻根系伤害。

**关键词:** 过氧化氢; 抗氰呼吸; 水稻; 渗透胁迫

中图分类号: Q945.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2013)04-0439-04

## Effects of two exogenous chemical substances on the osmotic stress-induced damages to rice roots

FENG Han-Qing\*, LI Fang, GUAN Dong-Dong, JIA Ling-Yun

(College of Life Sciences Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** The effects of the scavenger of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and specific inhibitor of alternative oxidase on the osmotic stress-induced damages to rice roots were studied. The results showed that PEG 6000 inhibited the growth of rice roots, decreased the relative water content, increased the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content, and caused cell death. Pretreatment with 5 mmol · L<sup>-1</sup> dimethylthiourea (DMTU), a scavenger of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, significantly decreased the increment in the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content and partially alleviated the root cell death and the decrease of the relative water content induced by PEG 6000. However, DMTU had little effect on the growth of rice roots exposed to PEG stress. Under the PEG-induced stress, pretreatment with 1 mmol · L<sup>-1</sup> salicylhydroxamic acid (SHAM), a specific inhibitor of alternative oxidase, significantly decreased the growth of rice roots and relative water content, but increased the levels of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content and cell death. The results suggested that DMTU could alleviate the osmotic stress-induced damages to rice roots, whereas SHAM could intensify those damages.

**Key words:** hydrogen peroxide; cyanide-resistant respiration; rice; osmotic stress

环境胁迫通常会导致植物体内过氧化氢、超氧阴离子、羟自由基等活性氧水平的上升。由于过氧化氢具有最长的半衰期并能穿过细胞膜,因而被认为是最稳定和广泛的活性氧(Tsanko *et al.*, 2005)。

收稿日期: 2012-10-11 修回日期: 2013-01-16

基金项目: 国家自然科学基金(30900105/31260059); 教育部科学技术研究重点项目(211190); 校级基金项目(NWNU-kjcxgc-03-77; NWNU-09-31& NWNU-LKQN-10-32)

作者简介: 冯汉青(1978-)男,河北保定人,博士,硕士生导师,主要从事植物抗逆生理学研究。(E-mail) fenghanq@nwnu.edu.cn。

\* 通讯作者 (Author for correspondence)

低浓度的  $H_2O_2$  可能作为信号分子诱导植物的抗逆反应; 而较高浓度的  $H_2O_2$  能导致蛋白质、核酸和脂类等生物分子的氧化损伤, 从而降低了植物对于不良环境的耐受力( De Carvalho 2008)。

根对于植物起着固着和支持的作用, 同时也是植物从土壤中吸收水分和矿物质的重要器官( 张司南等 2010)。在自然环境中, 根部频繁地遭到了干旱和高盐等渗透压力的影响, 从而严重限制了植物整体的生长和发育( Xiong & Zhu 2002)。然而, 渗透压力对植物根部的影响是否和过氧化氢有关则尚不明确, 这在一定程度上制约了人们对渗透胁迫下植物生理学变化更加全面的认知。

此外, 叶绿体和线粒体等氧代谢位点是渗透压力下植物过氧化氢产生的原初位点( De Carvalho, 2008)。而作为非光合器官, 植物根部在渗透压力下过氧化氢产生的水平很可能取决于线粒体  $H_2O_2$  的产生。研究发现, 在植物线粒体的电子传递链中具有一条从泛醌库处开始分支并以交替氧化酶( alternative oxidase, AOX) 为末端氧化酶的抗氰呼吸途径。该呼吸途径的存在能够通过降低线粒体电子传递链的过度还原而限制线粒体中过氧化氢的生成( Millenaar *et al.* 2003)。我们之前的研究发现交替氧化酶的抑制剂水杨基氧肟酸能引起低温环境下小麦叶片中过氧化氢水平的显著上升并降低其对于低温的耐受, 表明了交替氧化酶可能是植物调节  $H_2O_2$  产生和植物抗逆性的重要机制( Feng *et al.* 2008)。但目前关于水杨基氧肟酸对  $H_2O_2$  和抗逆性影响的研究主要集中于叶片等光合组织中, 而对于其是否也会影响根中  $H_2O_2$  的生成并影响根对于渗透压力的耐受尚无明确报道。基于此, 本实验以水稻幼根为材料, 揭示了过氧化氢消除剂和抗氰呼吸抑制剂改变了 PEG 胁迫对水稻幼根的伤害程度。相信该工作有助于进一步了解作物根系在渗透压力下的内在生理变化和可能的耐受机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

实验中水稻种子购买于甘肃省农业科学研究院。购买的种子装入纸袋, 常温保存。两种化学药品 PEG 6000 和 SHAM 订购于 Sigma 公司。

### 1.2 方法

将消毒的水稻种子吸胀 24 h 后于 27 °C 下露白

萌发 48 h。将纱布紧绷在盛有蒸馏水的培养皿上, 选露白一致的种子置于纱布上, 在 27 °C 下使水稻幼根穿过纱布于蒸馏水中继续生长, 2 d 后得到 2 cm 左右的水稻幼根。然后根据测量水稻幼根长度来判断两种外源化学物质对于水稻幼根的影响。

## 2 结果与分析

### 2.1 PEG 6000 对水稻幼根的影响

在 27 °C 下将 2 cm 长的水稻幼根分别放置在蒸馏水( 对照) 和 20% 的 PEG 6000 溶液中培养 16 h。测量水稻幼根长度后发现, 与对照相比, PEG 6000 胁迫下的水稻幼根长度较短, 表明 PEG 6000 胁迫导致水稻幼根的生长减缓( 表 1)。PEG 6000 的胁迫也降低了水稻幼根的相对含水量 [RWC, 计算公式为( 鲜重-干重) / ( 饱和重-干重) ], 并提升了水稻幼根的细胞死亡水平检测方法, 见 Hung *et al.* ( 2007) ( 表 1)。这些结果表明, PEG 6000 胁迫对水稻幼根造成了生理损伤, 而用硫酸钛法( Feng *et al.*, 2008) 检测根中  $H_2O_2$  的含量发现, 水稻幼根  $H_2O_2$  含量在 PEG 6000 胁迫下较之对照有显著增加。

表 1 PEG 6000 胁迫对水稻幼根根长、相对含水量、过氧化氢含量和细胞死亡的影响

Table 1 Effects of PEG 6000 on the root length, RWC,  $H_2O_2$  content and cell death

	根长 (cm) Root length	相对含水量 RWC	过氧化氢含量 ( $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$ ) $H_2O_2$ content	相对细胞死亡 Relative cell death
Control	1.24±0.17	0.97±0.01	146.57±12.18	1.00±0.08
PEG 6000	0.11±0.03*	0.75±0.05*	179.78±8.49*	2.42±0.14*

注: 对照组中根细胞死亡被设为 1.00。\* 代表 PEG 6000 处理组和对照组间存在显著差异。以上实验结果均为至少 4 次以上测定平均值。下同。

Note: The values in the control were set to 1.0 to facilitate the comparison among the different treatments. \* indicates statistically significant difference ( $P < 0.05$  was considered) from the controls. Each value represents the mean of four independent experiments. The same below.

### 2.2 PEG 6000 胁迫下 DMTU 对水稻幼根的影响

用  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  DMTU 溶液( 使用浓度参照 Jiang *et al.* 2002) 在 27 °C 下预处理水稻幼根 4 h, 然后将预处理过的水稻幼根用蒸馏水淋洗后并分别置于蒸馏水和 20% 的 PEG 6000 下培养 16 h。结果显示, DMTU 的处理使得 PEG 6000 胁迫下水稻幼根的  $H_2O_2$  的含量降低到了对照水平( 图 1: A); DMTU 的处理也显著减缓了 PEG 6000 胁迫下水稻幼根相对含水量的降低以及细胞死亡水平的上升( 图 1: C, D), 表明了 PEG 6000 胁迫下水稻幼根相对含

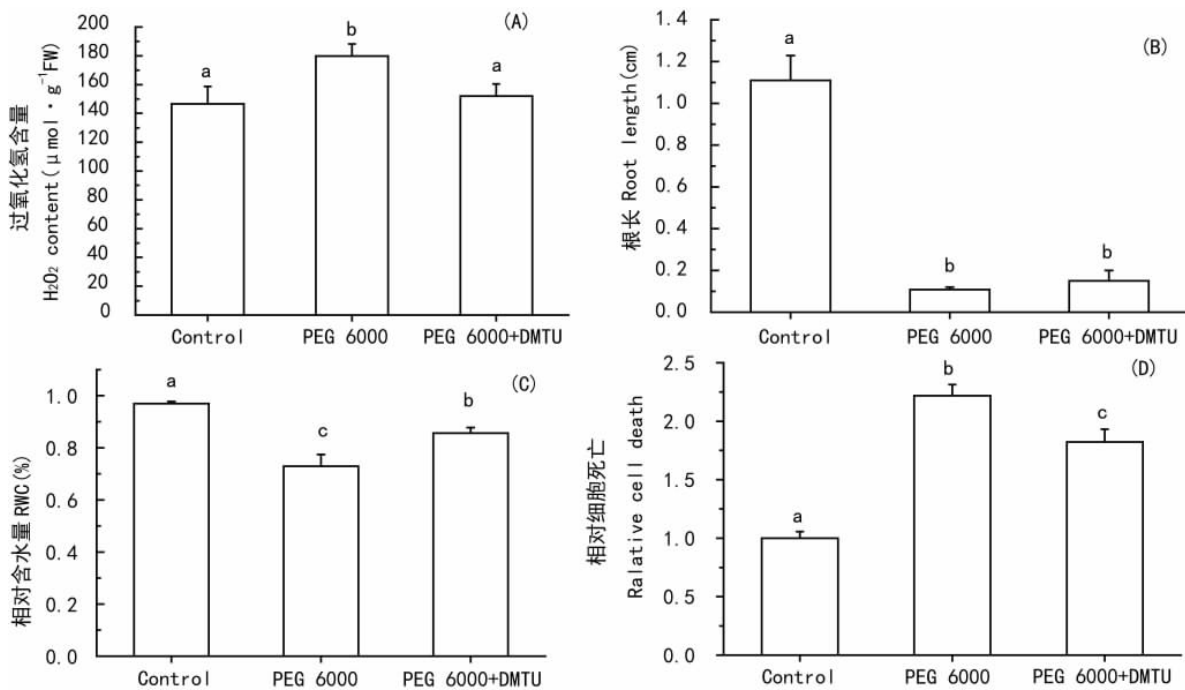


图 1 PEG 6000 胁迫下 DMTU 对水稻幼根过氧化氢含量 (A)、根长 (B)、相对含水量 (C) 和细胞死亡 (D) 的影响 相同的字母表示并不存在显著性差异 ( $P < 0.05$ )。下同。

Fig. 1 Effects of DMTU on the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content (A), root length (B), RWC (relative water content) (C) and cell death (D) of rice roots that were exposed to PEG 6000. The same letters do not mean significant differences at  $P < 0.05$ . The same below.

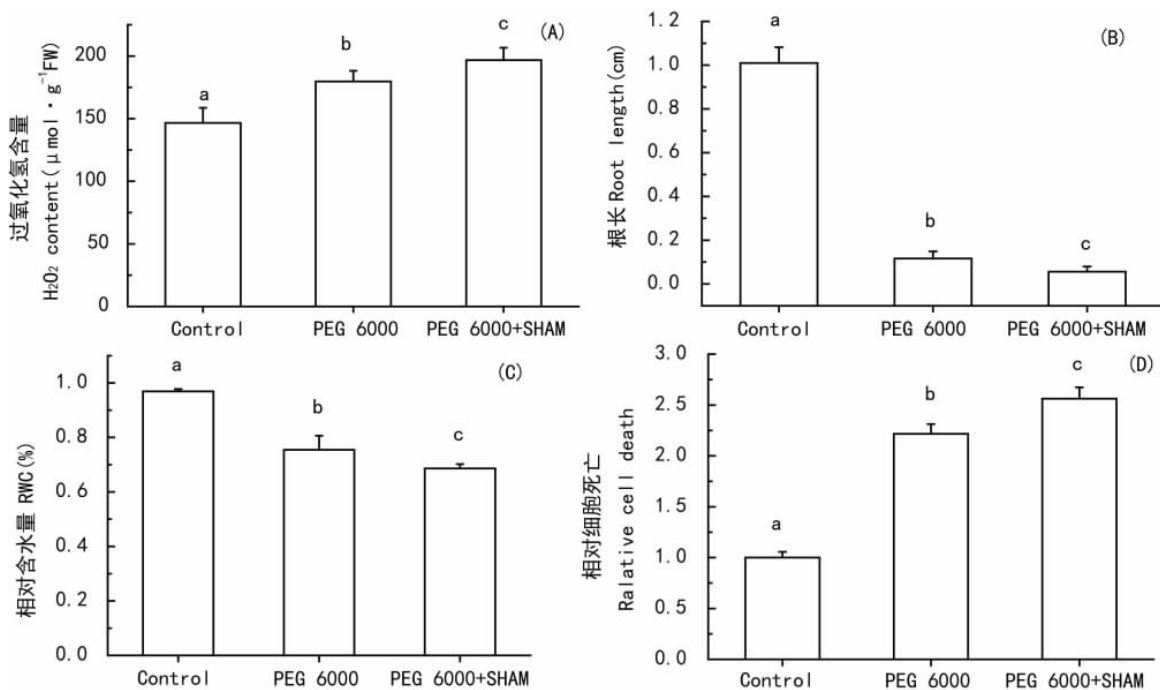


图 2 PEG 6000 胁迫下 SHAM 对水稻幼根过氧化氢含量 (A)、根长 (B)、相对含水量 (C) 和细胞死亡 (D) 的影响

Fig. 2 Effects of SHAM on the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content (A), root length (B), RWC (relative water content) (C) and cell death (D) of rice roots that were exposed to PEG 6000

水量的下降和细胞死亡水平的上升等生理损伤和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 水平的增加有关。然而, DMTU 的处理并没有

显著影响 PEG 6000 胁迫下水稻幼根的长度(图 1: B) 表明 PEG 6000 胁迫下水稻幼根的生长和过氧化氢水平没有明确关联。

### 2.3 PEG 6000 胁迫下 SHAM 对水稻幼根的影响

用  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  SHAM(使用浓度参照 Bartoli *et al.* 2005) 预处理水稻幼根并将幼根置于 PEG 6000 下培养后发现(方法同 DMTU) SHAM 的处理使得 PEG 6000 胁迫下水稻幼根过氧化氢含量进一步上升(图 2: A)。本研究也发现 SHAM 进一步导致了 PEG 6000 胁迫下水稻幼根细胞死亡水平的上升和相对含水量的下降(图 2: C、D) 表明该抑制剂会降低植物对 PEG 6000 所引起的渗透胁迫的耐受。本研究也发现 SHAM 的处理也导致了 PEG 6000 胁迫下水稻幼根生长的进一步降低(图 2: B)。

## 3 讨论

SHAM 是交替氧化酶的抑制剂,交替氧化酶的存在能通过降低线粒体电子传递链的过度还原而限制线粒体中过氧化氢的生成(Viacheslav *et al.*, 2011; Millenaar *et al.* 2003); 尤其作为非光合组织,线粒体在理论上是根在渗透胁迫下产生  $\text{H}_2\text{O}_2$  的主要位点(De Carvalho, 2008)。因而,本研究认为,SHAM 可能是通过抑制交替氧化酶而进一步刺激了渗透胁迫下植物  $\text{H}_2\text{O}_2$  的生成。介于以上关于 PEG 6000 胁迫下水稻幼根相对含水量和细胞死亡与过氧化氢关系的观察,推测 SHAM 对水稻幼根渗透胁迫耐受性的影响可能也和其刺激了植物过氧化氢的生成有关。实验结果表明在 PEG 介导的渗透胁迫

下,交替氧化酶也和植物幼根的生长存在着一定的联系,但其内在机理尚需要进一步研究。

### 参考文献:

- Bartoli CG, Gomez F, Gergoff G *et al.* 2005. Up-regulation of the mitochondrial alternative oxidase pathway enhances photosynthetic electron transport under drought conditions [J]. *J Exp Bot* **56**: 1 269-1 276
- De Carvalho MHC. 2008. Drought stress and reactive oxygen species: Production, scavenging and signaling [J]. *Plant Sign Behav* **3**: 156-165
- Feng HQ, Li Y, Duan JG *et al.* 2010. Chilling tolerance of wheat seedlings is related to an enhanced alternative respiratory pathway [J]. *Crop Sci* **46**: 2 381-2 388
- Hung WC, Huang DD, Chien PS *et al.* 2007. Protein tyrosine dephosphorylation during copper-induced cell death in rice roots [J]. *Chemosphere* **69**: 55-62
- Jiang M, Zhang J. 2002. Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves [J]. *J Exp Bot* **53**: 2 401-2 410
- Millenaar FF, Lambers H. 2003. The Alternative oxidase: *in vivo* regulation and function [J]. *Plant Biol* **5**: 2-15
- Tsanko SG, Jacques H. 2005. Hydrogen peroxide as a signal controlling plant programmed cell death [J]. *J Cell Biol* **168**: 17-20
- Viacheslav VD, Igor V, *et al.* 2011. Beznoussenko immunolocalization of an alternative respiratory chain in antonospora (*Para Nosema*) locustae spores: mitochondria retain their role in microsporidial energy metabolism [J]. *Eukaryot Cell* **10**(4): 588-593
- Xiong L, Zhu JK. 2002. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress [J]. *Plant Cell & Environ* **25**: 131-139
- Zhang SN(张司南), Gao PY(高培尧), Xie QN(谢庆恩) *et al.* 2010. Cadmium-induced root growth inhibition is mediated by hydrogen peroxide production in root tip of *Arabidopsis*(镉诱导拟南芥根尖过氧化氢积累导致植物根生长抑制) [J]. *Chin J Eco-Agri*(中国生态农业学报) **18**(1): 136-140

(上接第 464 页 Continue from page 464)

**53**(3): 593-596

- Song XL, Wang Z, Qiang S. 2011. Agronomic performance of  $F_1$ ,  $F_2$  and  $F_3$  hybrids between weedy rice and transgenic glufosinate-resistant rice [J]. *Pest Manag Sci* **67**: 921-931
- Tang J, Xia H, Cao M *et al.* 2004. A comparison of rice chloroplast genomes [J]. *Plant Physiol* **135**(1): 412-420
- Tang L, Ma DR, Xu ZJ *et al.* 2011. Utilization of weedy rice for development of japonica hybrid rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Plant Sci* **180**: 733-740
- Xia HB, Xia H, Norman CE *et al.* 2011. Rapid evolutionary divergence and ecotypic diversification of germination behavior in weedy rice populations [J]. *New Phytol* **191**(4): 1 119-1 127

- Xiong ZY, Zhang SJ, Wang YY *et al.* 2010. Differentiation and distribution of *indica* and *japonica* rice varieties along the altitude gradients in Yunnan Province of China as revealed by InDel molecular markers [J]. *Gen Res Crop Evol* **57**: 891-902
- Zhang LJ, Dai WM, Wu C *et al.* 2012. Genetic diversity and origin of *Japonica*- and *Indica*-like rice biotypes of weedy rice in the Guangdong and Liaoning provinces of China [J]. *Gen Res Crop Evol* **59**(3): 399-410
- Zuo J, Zhang LJ, Song XL *et al.* 2011. Innate factors causing differences in gene flow frequency from transgenic rice to different weedy rice biotypes [J]. *Pest Manag Sci* **67**: 677-690