

水杨酸对银杏幼苗抗高温胁迫能力的影响

曹福亮, 欧祖兰

(南京林业大学 森林资源与环境学院, 江苏 南京 210037)

摘要: 为确立水杨酸对银杏 *Ginkgo biloba* 的耐热性调控效果并探讨外源水杨酸下银杏耐热的可能机制, 分别对 2 年生银杏叶片喷施 100, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的水杨酸溶液处理 48 h, 并以喷施蒸馏水为对照, 然后以 44 °C 的高温胁迫 4 h。结果表明: 高温胁迫下, 2 种浓度的水杨酸溶液均可抑制银杏叶片中相对电导率和丙二醛质量摩尔浓度的升高, 促进超氧化物歧化酶活性的增强和抗坏血酸质量分数的升高, 而且与对照相比, 外源水杨酸处理过的银杏叶片可溶性蛋白质量分数较高, 可溶性糖较低。各项生理生化指标均反映了水杨酸对缓解高温对银杏的伤害起到了一定作用; 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的水杨酸溶液比 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的水杨酸溶液缓解银杏受高温伤害的效果要好。图 3 参 21

关键词: 植物学; 银杏; 水杨酸; 高温胁迫; 生理生化效应

中图分类号: S718.43 文献标志码: A 文章编号: 100-5692(2008)06-0756-04

Ginkgo biloba seedling tolerance to high-temperature stress using salicylic acid

CAO Fu-liang, OU Zu-lan

(College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China)

Abstract: To determine tolerance, *Ginkgo biloba* seedlings were sprayed with salicylic acid (SA) and then subjected to high-temperature stress. Electrical conductivity, malondialdehyde (MDA) content, superoxide dismutase (SOD) activity, ascorbic acid (ASA) and soluble proteins and carbohydrates were determined. The 2 year-old seedlings were sprayed by SA at 0 (the control), 100 or 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ for 4 times (twice for one day) in July of 2007. Results showed that: SA at 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ increased SOD activity and ASA content, significantly ($P < 0.05$) more efficient than the control and 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; SA at 100 and 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ restrained ($P < 0.05$) the increase of electrical conductivity, significantly ($P < 0.05$) lower than the control. In addition, compared with the control, treated seedling leaves showed higher ($P < 0.05$) soluble protein content and lower ($P < 0.05$) soluble carbohydrates content. All of these results indicated that pretreatment with SA could increase the tolerance of *G. biloba* seedlings to high-temperature stress. [Ch, 3 fig. 21 ref.]

Key words: botany; *Ginkgo biloba*; salicylic acid (SA); high-temperature stress; physio-biochemical effect

银杏 *Ginkgo biloba* 集果用、叶用、材用、防护和观赏于一体^[1], 还有重要的科学价值, 是不可多得的多用途经济生态型树种。从生长发育和结实情况来看, 银杏极喜温凉湿润的气候条件, 而忌湿热的气候环境。夏季高温会引起银杏的生理代谢紊乱, 生长受到抑制。水杨酸是植物体内自身合成的一种类似植物激素的酚类化合物, 它能够激活植物过敏反应和系统获得抗性^[2]。继 Lopez-Delgado 等^[2]首次报告水杨酸能提高马铃薯 *Solanum tuberosum* 组织的耐热性后, 不断有外施水杨酸能提高植物

收稿日期: 2007-12-18; 修回日期: 2008-03-03

基金项目: 科技部林业科技支撑项目(2006BAD18B03)

作者简介: 曹福亮, 教授, 博士生导师, 从事经济林培育等研究。E-mail: samcao@njfu.edu.cn。欧祖兰, 博士研究生, 从事植物生态学和植物栽培研究。E-mail: OZL1973@163.com

抗热性的报告^[4-9]。关于水杨酸提高植物的耐热性机制, 何亚丽等^[6]和 Dat 等^[10]认为与水杨酸可使植物大量合成热激蛋白有关, 并与保持较高的超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽还原酶和抗坏血酸还原酶等抗氧化酶的活性以及还原型谷胱甘肽增加和还原型谷胱甘肽与氧化型的谷胱甘肽比值增加有关。笔者通过研究外源水杨酸对银杏幼苗抗高温胁迫能力的影响, 以确立水杨酸对银杏的耐热性调控效果, 并探讨外源水杨酸下银杏耐热的可能机制。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验材料为南京林业大学科技试验园盆栽的 2 年生银杏实生苗。

1.2 试验处理

于 2007 年 7 月将处在自然环境中的一批 2 年生银杏移到温度为 30 °C/20 °C(白昼/黑夜), 光周期 14 h/10 h, 光照度 1 600 lx 的人工气候室后, 立即对银杏叶片分别喷施 100 和 200 μmol·L⁻¹ 的水杨酸溶液(pH 6.8 左右), 以喷施蒸馏水为对照, 喷洒到叶片湿透为止。每天上下午各喷洒 1 次, 连续进行 2 d, 第 3 天开始将幼苗移至(44 ± 0.5) °C 的人工气候室中高温胁迫 4 h(光照度为 1 600 lx), 每处理含 5 株。处理完成后, 立即进行电导率测定, 并随机剪取成熟叶片放在-70 °C 的超低温冰箱冷冻以待进行生理生化测定。

1.3 测定方法

可溶性糖质量分数的测定参照李合生(2001)的方法^[11]; 电导百分率、丙二醛质量摩尔浓度、超氧化物歧化酶活性、抗坏血酸和可溶性蛋白质量分数的测定参照陈建勋等(2001)的方法^[12]。各种方法在参照的基础上有所改进。所有测定重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 水杨酸对高温胁迫下银杏幼苗叶片丙二醛质量摩尔浓度和细胞膜透性的影响

从图 1 看到, 高温胁迫条件下, 经水杨酸预处理的银杏幼苗叶片丙二醛质量摩尔浓度比对照的要低, 但经 100 μmol·L⁻¹ 的水杨酸预处理的丙二醛质量摩尔浓度较 200 μmol·L⁻¹ 的降低幅度要大。经多重比较, 各处理前后的银杏叶片中, 丙二醛两两之间均有显著性差异。另外, 水杨酸预处理的银杏幼苗叶片的相对电导率也均比对照低, 与丙二醛质量摩尔浓度变化一致。经多重比较, 经 100 和 200 μmol·L⁻¹ 水杨酸预处理的银杏叶片的电导率与对照的相比均有显著性差异, 而 2 种浓度预处理的银杏电导率之间无显著性差异。

2.2 水杨酸对高温胁迫下银杏幼苗叶片超氧化物歧化酶活性和抗坏血酸质量分数的影响

从图 2 可见, 与对照相比, 水杨酸预处理后的银杏幼苗叶片具有较高的超氧化物歧化酶活性, 100, 200 μmol·L⁻¹ 预处理后银杏叶片超氧化物歧化酶活性的增幅分别为 91.55%, 64.85%, 其中以 100 μmol·L⁻¹ 的增幅较大。经多重比较, 各处理后的银杏叶片超氧化物歧化酶活性两两之间均有显著性差异。另外, 水杨酸预处理后的银杏叶片也比对照的叶片具有较高的抗坏血酸(图 2), 多重比较的结果与超氧化物歧化酶的类似。

2.3 水杨酸对高温胁迫下银杏幼苗叶片可溶性蛋白和可溶性糖质量分数的影响

在高温胁迫下, 经水杨酸预处理的银杏叶片可溶性蛋白质量分数均比对照的要高, 且 100 μmol·L⁻¹ 水杨酸预处理后的可溶性蛋白高于 200 μmol·L⁻¹ 的(图 3)。经多重比较, 2 种浓度水杨酸预处理下的可溶性蛋白均与对照的有显著性差异, 但 2 种浓度水杨酸处理下可溶性蛋白质量分数无显著性差异。

高温胁迫条件下, 经水杨酸预处理的银杏叶片可溶性糖质量分数均比对照的低, 其中 100 μmol·L⁻¹ 水杨酸预处理的降低的幅度要比 200 μmol·L⁻¹ 的大(图 3), 多重比较的结果与可溶性蛋白的类似。

3 讨论与结论

丙二醛是膜质过氧化的产物, 它是细胞膜被破坏的标志物质^[13]。较多学者认为丙二醛是反映植物

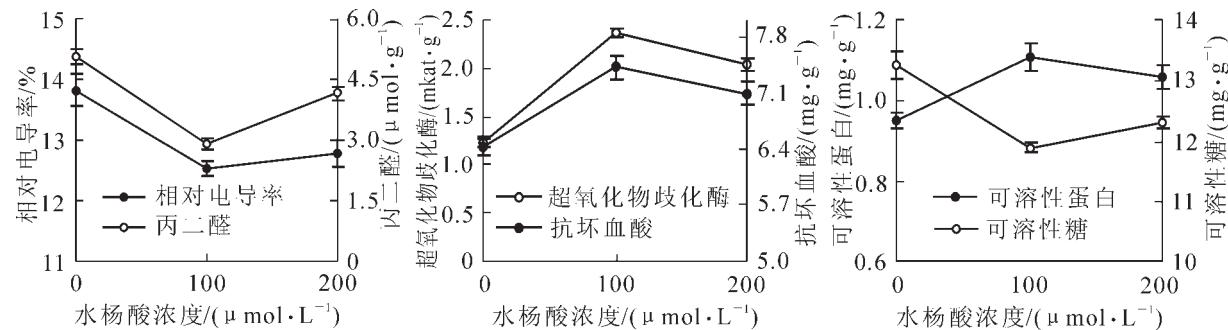


图1 水杨酸对高温胁迫下银杏幼苗叶片中丙二醛和相对电导率的影响

Figure 1 Effect of SA on MDA and relative electrical conductivity of leaves in *Ginkgo biloba* seedlings under high-temperature stress

图2 水杨酸对高温胁迫下银杏幼苗叶片中超氧化物歧化酶和抗坏血酸的影响

Figure 2 Effect of SA on ASA and SOD of leaves in *Ginkgo biloba* seedlings under high-temperature stress

图3 水杨酸对高温胁迫下银杏幼苗叶片中可溶性蛋白和可溶性糖的影响

Figure 3 Effect of SA on soluble protein and soluble sugar of leaves in *Ginkgo biloba* seedlings under high-temperature stress

遭受高温胁迫的较好指标^[14]；质膜是活细胞与环境之间的界面与屏障，各种不良环境因素往往首先作用于质膜，使电解质从细胞内渗透出来，引起相对电导率升高^[15-16]，电导法现已普遍应用于测定细胞膜热稳定性。据银杏对高温胁迫的响应实验得知，2年生银杏在44℃(4 h)高温胁迫下，其相对电导率和丙二醛质量摩尔浓度与对照相比(28℃)升高(另文发表)。本实验研究结果显示，水杨酸预处理后的银杏叶片在高温胁迫下与对照相比其相对电导率和丙二醛的增加被抑制。这表明水杨酸一定程度上缓解了高温对银杏的伤害，而且由于在外源100 μmol·L⁻¹水杨酸下银杏受到的伤害较小，可以认为100 μmol·L⁻¹的浓度较200 μmol·L⁻¹的浓度对缓解高温对银杏的伤害效果更佳。

超氧化物歧化酶是活性氧清除系统中第一个发挥作用的抗氧化酶，在保护细胞免受氧化损伤过程中具有十分重要的作用^[17]；抗坏血酸存在于植物所有组织中，是植物体内极其重要的抗氧化剂，在植物非酶类抗氧化系统中，抗坏血酸-还原型谷胱甘肽(ASA-GSH)循环是主要的清除自由基方式^[18]。本实验结果显示水杨酸预处理后银杏叶片超氧化物歧化酶活性增强和抗坏血酸升高，因此，可以推测经水杨酸预处理后银杏受高温伤害得到缓解可能与外源水杨酸促进超氧化物歧化酶活性增强和抗坏血酸升高有关，且经100 μmol·L⁻¹水杨酸预处理的银杏具有较高超氧化物歧化酶活性和较高抗坏血酸质量分数，所以，也可以认为100 μmol·L⁻¹浓度的水杨酸较200 μmol·L⁻¹浓度的水杨酸对提高银杏的耐热性效果更佳。

许多研究表明，植物耐热性的产生与热激蛋白的合成是有联系的^[19-20]，热激蛋白的出现为植物提供了一种暂时的保护机制。银杏可溶性蛋白的增加，有可能是体内合成了热激蛋白，从而增强了银杏的耐热性，但是银杏可溶性蛋白升高一方面可能是高温诱导产生了某些热激蛋白，另一方面还可能是银杏受高温伤害得到了缓解从而使蛋白质降解得少^[21]。因此，在高温胁迫下，水杨酸预处理后银杏是否产生了热激蛋白，还有待于进一步研究。据银杏对高温胁迫的响应实验得知，44℃胁迫4 h下2年生银杏的可溶性糖质量分数与对照(28℃)相比基本无变化(另文发表)，可见，银杏并没有通过可溶性糖的积累来抵抗44℃(4 h)的高温胁迫。因此，本实验中，经外源水杨酸的银杏可溶性糖与对照相比下降了，可能并不是因为外源水杨酸缓解了高温对银杏的伤害从而可溶性糖积累得少，而有可能是由于外源水杨酸的银杏在物质代谢过程中可溶性糖比对照的消耗得多，因为在外源水杨酸下银杏可溶性蛋白质量分数较高，而蛋白质合成需要一定的碳源。

总体来看，高温胁迫下，100, 200 μmol·L⁻¹ 2种浓度的水杨酸溶液可抑制银杏叶片中相对电导率和丙二醛质量摩尔浓度的升高，促进超氧化物歧化酶活性的增强和抗坏血酸质量分数的升高，而且与对照相比，外源水杨酸处理过的银杏叶片可溶性蛋白较高，可溶性糖较低。因此，银杏的各项生理生化指标的变化均反映外源水杨酸对缓解银杏受到的高温伤害起到了一定作用，且100 μmol·L⁻¹的水杨酸溶液比200 μmol·L⁻¹的对缓解银杏受高温伤害的效果要好。

参考文献:

[1] 陈颖, 曹福亮, 银杏愈合组织诱导的叶源建立及高黄酮外植体筛选[J]. 浙江林学院学报, 2007, **24** (2): 150–155.

[2] MALAMY J, CARR J P, KLESSING D F. Salicylic acid: a likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection [J]. *Science*, 1990, **250**: 1 002–1 004.

[3] LOPEZ-DELGADO H, DAT J F, FOYER C H, *et al*. Induction of thermotolerance in potato microplants by acetylsalicylic acid and H₂O₂[J]. *J Exp Bot*, 1998, **49**: 713–720.

[4] DAT J F, LOPEZ-DELGADO H, FOYER C H, *et al*. Effects of salicylic acid on oxidative stress and thermotolerance in tobacco [J]. *J Plant Physiol*, 2000, **156**: 659–665.

[5] 王利军, 黄卫东, 战吉成. 葡萄幼苗高温锻炼过程中与水杨酸相关的信号传递的初步研究[J]. 植物学通报, 2002, **19** (6): 710–715.

[6] DAT J F, LOPEZ-DELGADO H, FOYER C H, *et al*. Parallel changes in H₂O₂ and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedling[J]. *Plant Physiol*, 1998, **116**: 1 352–1 357.

[7] SENARATNA T, TOUCHELL D, BUNN E, *et al*. Acetylsalicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants[J]. *Plant Growth Regul*, 2000, **30**: 157–161.

[8] 何亚丽, 刘友良, 陈权. 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[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2002, **28** (2): 89–95.

[9] 马德华, 庞金安, 李淑菊, 等. 温度逆境锻炼对高温下黄瓜幼苗生理的影响[J]. 园艺学报, 1998, **25** (4): 350–355.

[10] DAT J F, FOYER C H, SCOTT I M. Changes in salicylic acid and antioxidants during induced thermotolerance in mustard seedlings[J]. *Plant Physiol*, 1998, **118**: 1 455–1 461.

[11] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001.

[12] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2002.

[13] 张桂莲, 陈立云, 张顺堂, 等. 高温胁迫对水稻剑叶保护酶活性和膜透性的影响[J]. 作物学报, 2006, **32** (9): 1 306–1 310.

[14] 尹贤贵, 罗庆熙, 王文强, 等. 番茄耐热性鉴定方法研究[J]. 西南农业学报, 2001, **14** (2): 62–65.

[15] 于晓英, 卢向阳, 李向婷, 等. 热锻炼对瓜叶菊幼苗高温胁迫下生理生化特性的影响[J]. 江苏农业学报, 2006, **22** (2): 186–188.

[16] 马晓娣, 王丽, 彭惠茹. Siete Cerros × Seri-82 重组近交系小麦耐热性的测定[J]. 麦类作物学报, 2006, **26** (1): 126–128.

[17] 马旭俊, 朱大海. 植物超氧化物歧化酶(SOD)的研究进展[J]. 遗传, 2003, **25** (2): 225–231.

[18] FRANCISCO J P, DANIEL V, NILO M. Ascorbic acid and flavonoid-peroxidase reaction as a detoxifying system of H₂O₂ in grape vine leaves[J]. *Phytochemistry*, 2002, **60**: 573–580.

[19] 邵玲, 陈向荣. 热激蛋白与植物的抗逆性[J]. 北方园艺, 2005 (3): 73–74.

[20] 吴厚雄, 肖辉海, 李必湖. 植物热激蛋白的研究进展[J]. 生物技术通报, 2003 (4): 6–9, 13.

[21] 于晓英. 瓜叶菊(*Senecio × hybridus*)对热胁迫的反应及耐热变异数的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2006.