

外源水杨酸诱导油菜幼苗响应干旱胁迫的生理机制

范思静, 王亚男 (安徽金培因科技有限公司, 安徽合肥 230088)

摘要 [目的]探索外源水杨酸诱导油菜幼苗响应干旱胁迫的生理机制。[方法]以油菜幼苗为材料,采用15%的PEG-6000处理幼苗模拟干旱胁迫,利用0.1 mmol/L外源水杨酸对叶片进行喷施,探讨不同干旱程度下水杨酸对油菜叶片抗氧化系统酶活、丙二醛含量以及脯氨酸含量的影响。[结果]在不同干旱程度下,0.1 mmol/L的水杨酸处理可显著降低叶片中MDA的含量,增加叶片中抗氧化系统酶活以及脯氨酸含量。[结论]0.1 mmol/L的水杨酸处理可有效调控油菜幼苗响应干旱胁迫,缓解干旱胁迫导致的膜脂过氧化等危害的发生。

关键词 水杨酸;干旱胁迫;抗氧化系统;丙二醛含量;脯氨酸含量

中图分类号 S634.3 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2022)01-0030-03

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2022.01.008



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Physiological Mechanism of Exogenous Salicylic Acid Alleviates Drought Stress on Seedlings of *Brassica napus* L.

FAN Si-jing, WANG Ya-nan (Anhui Jinpei Yin Technology Co., Ltd., Hefei, Anhui 230088)

Abstract [Objective] To explore the physiological mechanism of exogenous salicylic acid inducing rape seedlings to respond to drought stress. [Method] Using rape seedlings as materials, 15% PEG-6000 was used to treat the seedlings to simulate drought stress, and 0.1 mmol/L exogenous salicylic acid was used to sprayed on the leaves to explore the effects of salicylic acid on the enzyme activities of the antioxidant system, malondialdehyde content and proline content of rape leaves under different drought levels. [Result] Under different drought degrees, 0.1 mmol/L salicylic acid treatment could significantly reduce the MDA content in leaves, and increase the enzyme activity of antioxidant system and proline content in leaves. [Conclusion] Salicylic acid treatment of 0.1 mmol/L can effectively alleviate the drought stress and protect the normal physiological and biochemical metabolism of the seedlings for *Brassica napus* L.

Key words Salicylic acid; Drought stress; Antioxidant system; MDA content; Proline content

油菜是我国重要的油料作物,其种植面积和产量居世界首位,我国的油菜种植区域分为长江流域的冬油菜区域和东北及西北地区的春油菜区域,但以冬油菜区域为主,其种植面积与产量均占全国的90%以上。近年来,随着极端天气的频繁发生,油菜种植区季节性干旱时有发生,油菜苗期常因遭遇干旱胁迫导致生长慢,个体发育差异大,单株间大小不整齐,导致后期油菜产量明显下降^[1]。

水杨酸是植物体内普遍存在的一种简单小分子酚类化合物,是植物响应生物与非生物胁迫的重要信号分子,能够激活植物过敏反应,并诱导植物系统产生获得性抗性,其在植物生长、发育、成熟等生理过程,以及抗干旱、抗高温、抗涝渍等抗逆反应中发挥着重要的生理生化调控作用^[2-4]。如在对西葫芦的研究中发现,水杨酸处理增加了植物体内蛋白质和碳水化合物的含量,诱导西葫芦对西葫芦花叶病毒抗性的增加^[5]。而在对蚕豆的研究中也发现,使用水杨酸处理叶片后,接种菜豆黄花叶病毒后,蚕豆的感病程度和叶片的病毒含量均明显降低^[6]。此外,在对番茄的研究中发现,水杨酸处理可显著提高盐胁迫条件下植物抗氧化系统酶活,如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等活性,以及丙二醛(MDA)含量与脯氨酸(Pro)含量,以清除盐胁迫条件下植物体内产生的过多活性氧,降低MDA含量,防止膜脂过氧化的发生^[7]。为此,该项目拟以油菜幼苗为材料,通过模拟干旱胁迫与外源水杨酸协同处理,探讨水杨酸调控油菜幼苗响应干旱逆境胁迫,缓解干旱胁迫

危害的生理生化机制。

1 材料与方法

1.1 材料与处理 以安徽金培因公司选育的油菜品种“创杂8号”为材料,选取饱满、完整无病害的种子,将种子播于盛放育苗基质的育苗盘中,置于人工气候培养箱中,设置温度25℃、湿度70%,进行发芽,待发芽后设置光照强度110 μmol/(m²·s),光照时间10 h,暗培养14 h,连续培养至幼苗4叶期时,选取表型基本一致的油菜幼苗放置于hoagland营养液中进行液体培养,连续培养7 d后,重新定苗,选取表型基本一致的油菜幼苗,分成2组进行培养、处理,第一组为对照,在hoagland培养液中加入PEG-6000至浓度15%,第二组在第一组的基础上,对油菜叶片喷施0.1 mmol/L的水杨酸,在干旱与水杨酸处理前,以及处理1、3、5和7 d时取样,进行SOD、POD、CAT活性以及MDA与Pro含量等指标的测定。

1.2 抗氧化系统酶活性以及MDA与Pro含量测定 称取0.5 g的油菜叶片组织,采用pH 7.0的磷酸缓冲液进行冰浴并研磨成浆,加缓冲液至体积5 mL,而后5 000 r/min下离心20 min,留上清液。SOD、POD、CAT活性以及MDA与Pro含量测定流程具体按照南京建成生物工程研究所提供的试剂盒方法进行测定。

1.3 数据处理 SOD、POD、CAT活性以及MDA与Pro含量测定均按照3次重复进行,并采用DPS 2000统计分析软件按turkey多重比较方法进行试验结果差异显著性分析^[8]。

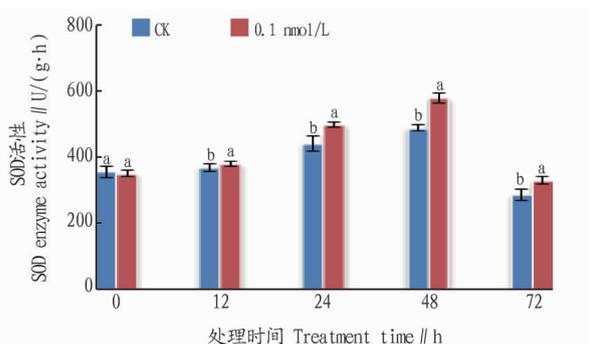
2 结果与分析

2.1 水杨酸处理对干旱胁迫下油菜叶片SOD活性的影响 SOD是植物氧自由基的清除者之一,对植物正常生理代

作者简介 范思静(1991—),女,安徽宣城人,农艺师,硕士,从事品种选育与管理工作的。

收稿日期 2021-04-14

谢起重要的保护作用。由图 1 可见,随着干旱处理时间的延长,叶片中 SOD 活性呈先增后降的趋势,在干旱处理的 24 h 内,SOD 活性显著增加,但在处理 48 h 后,其活性开始下降。而与对照相比,经水杨酸喷施之后,干旱处理前后,油菜叶片 SOD 活性上升趋势明显,在处理 72 h 后,油菜叶片 SOD 活性下降趋势较小,仍能保持较高水平,酶活水平显著高于对照。



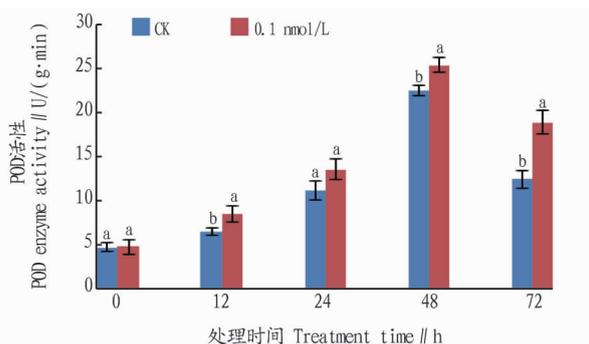
注:图中不同小写字母表示不同处理在 0.05 水平差异显著

Note: Different lowercase letters in the figure stand for significant differences between different treatments at 0.05 level

图 1 水杨酸处理对干旱胁迫下油菜叶片 SOD 酶活的影响

Fig. 1 Effects of exogenous salicylic acid treatment on SOD enzyme activity in rape leaves under drought stress

2.2 水杨酸处理对干旱胁迫下油菜叶片 POD 活性的影响 POD 是植物体内普遍存在且活性较高的氧化还原酶。由图 2 可看出,经干旱处理后,POD 活性呈先升后降趋势,在干旱处理 48 h 后达到峰值;而与对照相比,水杨酸有效缓解了干旱胁迫引起的生理反应,在干旱处理的过程中,POD 活性增加明显,增加的幅度远高于对照,在处理 12 h 后与对照的 POD 活性差异达到显著水平,在处理 72 h 后,水杨酸胁迫处理与对照间 POD 活性水平差异最大。



注:图中不同小写字母表示不同处理在 0.05 水平差异显著

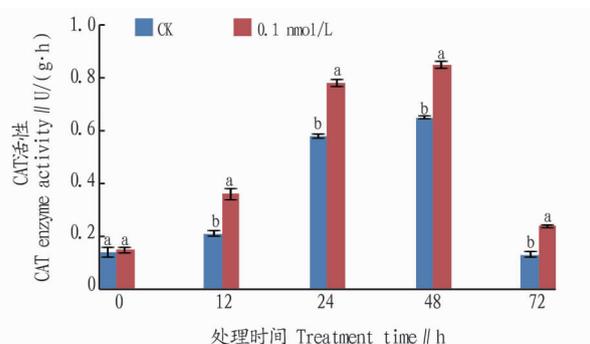
Note: Different lowercase letters in the figure stand for significant differences between different treatments at 0.05 level

图 2 水杨酸处理对干旱胁迫下油菜叶片 POD 酶活的影响

Fig. 2 Effects of exogenous salicylic acid treatment on POD enzyme activity in rape leaves under drought stress

2.3 水杨酸处理对干旱胁迫下油菜叶片 CAT 活性的影响 CAT 是植物重要的保护酶之一,其可清除植物体内的过氧化氢生成氧和水。图 3 表明,干旱处理后的 24 h,植物的 CAT 活性显著升高,48 h 后达到峰值。而与对照相比,干

旱处理后,油菜叶片 CAT 活性上升幅度较大,在干旱处理的 12、24 和 48 h,水杨酸处理与对照油菜叶片 CAT 活性差异均达到显著水平。而在 72 h 后,处理与对照油菜叶片的 CAT 活性均明显下降,但对照油菜叶片的 CAT 活性仍显著低于水杨酸处理。



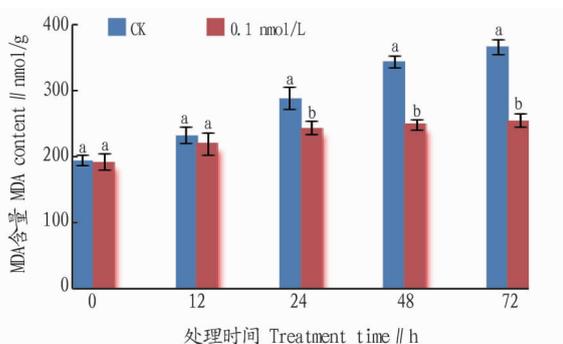
注:图中不同小写字母表示不同处理在 0.05 水平差异显著

Note: Different lowercase letters in the figure stand for significant differences between different treatments at 0.05 level

图 3 水杨酸处理对干旱胁迫下油菜叶片 CAT 酶活的影响

Fig. 3 Effects of exogenous salicylic acid treatment on CAT enzyme activity in rape leaves under drought stress

2.4 水杨酸处理对干旱胁迫下油菜叶片 MDA 含量的影响 MDA 含量是植物膜脂过氧化的最终产物,其含量反映植物受伤害的程度。由图 4 可看出,在干旱处理过程中,油菜叶片膜脂过氧化的程度逐步加重,MDA 的含量在处理 72 h 达到最高。而与对照相比,水杨酸处理有效减轻了因干旱胁迫导致的膜脂过氧化程度,干旱胁迫 24 h 后仍能保持低水平的 MDA 含量,与对照达到显著差异。



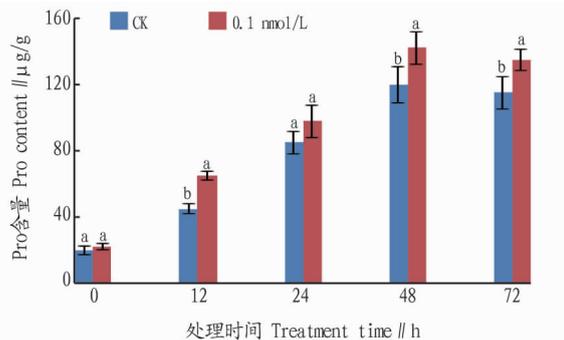
注:图中不同小写字母表示不同处理在 0.05 水平差异显著

Note: Different lowercase letters in the figure stand for significant differences between different treatments at 0.05 level

图 4 水杨酸处理对干旱胁迫下油菜叶片 MDA 含量的影响

Fig. 4 Effects of exogenous salicylic acid treatment on MDA content in rape leaves under drought stress

2.5 水杨酸处理对干旱胁迫下油菜叶片 Pro 含量的影响 Pro 含量是植物响应干旱、盐害等非生物逆境胁迫的重要指标之一。如图 5 所示,经干旱处理后,油菜叶片的 Pro 含量逐步升高,在处理 48 h,含量达到最高,在处理 72 h 后略有降低。而与对照相比,经水杨酸处理后,油菜叶片 Pro 含量明显增加,在处理后的 12、48、72 h 显著高于对照,表明水杨酸处理诱导了 Pro 的进一步积累。



注:图中不同小写字母表示不同处理在 0.05 水平差异显著

Note: Different lowercase letters in the figure stand for significant differences between different treatments at 0.05 level

图 5 水杨酸处理对干旱胁迫下油菜叶片 Pro 含量的影响

Fig. 5 Effects of exogenous salicylic acid treatment on Pro content in rape leaves under drought stress

3 小结与讨论

植物生长发育过程中,常遭遇干旱、盐害、高温等非生物逆境,以及病害、虫害等生物逆境的胁迫。多年的研究表明,生物调节剂、信号分子等可有效缓解多种非生物逆境与生物逆境对植物的胁迫,保护植物正常的生理代谢免受逆境胁迫带来的伤害。目前已发现的多种信号分子与植物逆境胁迫响应相关,如气体类的信号分子硫化氢、一氧化氮、一氧化碳等。如小麦种子在经硫化氢供体硫氢化钠处理后可有效缓解铜离子胁迫,诱导 SOD、CAT 活性的增加,缓解 ROS 含量,保护小麦种子正常萌发^[9]。采用一氧化氮供体硝普钠处理黑麦草 1 年生的幼苗,发现外源一氧化氮能提高 SOD、POD、CAT 活性,促进 Pro 的积累,减轻低温胁迫导致的膜脂过氧化^[10]。

水杨酸是植物体内一种内源信号分子,是植物莽草酸代谢途径的一种衍生物邻羟基苯甲酸,已有研究表明,水杨酸不仅参与植物的生长发育调节,还能诱导植物产生某些逆境的抗逆性,缓解外界胁迫对植物造成的伤害。如,水杨酸可诱导西葫芦产生对西葫芦花叶病毒的抗性,水杨酸处理可缓解盐胁迫对西红柿造成的伤害^[6,11]。又如外源水杨酸可提

高干旱胁迫下花椰菜 SOD、POD、CAT 活性,降低叶片中 MDA 含量,增加细胞膜透性,防止膜脂过氧化发生^[12]。利用外源过氧化氢可有效增强盐胁迫条件下加工番茄抗氧化系统 SOD、POD、CAT 活性,降低 MDA 含量,缓解盐胁迫的伤害^[13]。而该试验以油菜幼苗为材料,采用 15% 的 PEG-6000 处理模拟干旱胁迫,通过对油菜叶片喷施水杨酸,探讨水杨酸对油菜干旱胁迫的缓解作用。试验结果表明,0.1 mmol/L 的水杨酸可有效提高油菜叶片中 SOD、POD、CAT 活性,有效降低 MDA 含量,有效抑制了膜脂过氧化发生。

参考文献

- [1] 高雪,尼玛扎西,刘国一,等. PEG 模拟干旱胁迫对白菜型春油菜芽期生长特性的影响[J]. 广东农业科学,2020,47(7):9-17.
 - [2] 唐艳萍,文涛,孙敏,等. 水杨酸对植物光合作用影响的研究进展[J]. 西北植物学报,2015,35(8):1701-1708.
 - [3] 黄玉梅,张杨雪,刘庆林,等. 水杨酸对盐胁迫下百日草种子萌发及幼苗生理特性的影响[J]. 草业学报,2015,24(7):97-105.
 - [4] 汪尚,徐鹭芹,张亚仙,等. 水杨酸介导植物抗病的研究进展[J]. 植物生理学报,2016,52(5):581-590.
 - [5] RADWAN D E M, FAYEZ K A, MAHMOUD S Y, et al. Physiological and metabolic changes of *Cucurbita pepo* leaves in response to zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) infection and salicylic acid treatments[J]. Plant physiology and biochemistry, 2007, 45(6/7):480-489.
 - [6] RADWAN D E M, LU G Q, FAYEZ K A, et al. Protective action of salicylic acid against bean yellow mosaic virus infection in *Vicia faba* leaves[J]. Journal of plant physiology, 2008, 165(8):845-857.
 - [7] AL-AGHABARY K, ZHU Z J, SHI Q H. Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence, and antioxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress[J]. Journal of plant nutrition, 2005, 27(12):2101-2115.
 - [8] TANG Q Y, ZHANG C X. Data Processing System (DPS) software with experimental design, statistical analysis and data mining developed for use in entomological research[J]. Insect science, 2013, 20(2):254-260.
 - [9] ZHANG H, HU L Y, HU K D, et al. Hydrogen sulfide promotes wheat seed germination and alleviates oxidative damage against copper stress[J]. Journal of integrative plant biology, 2008, 50(12):1518-1529.
 - [10] 马向丽,魏小红,龙瑞军,等. 外源一氧化氮提高一年生黑麦草抗冷性机制[J]. 生态学报,2005,25(6):1269-1274.
 - [11] 韩浩章,王晓立. 外源水杨酸对番茄耐盐性的影响[J]. 安徽农业科学,2011,39(1):30-31.
 - [12] 王丽君,张国斌,周亚婷,等. 外源水杨酸对干旱胁迫下花椰菜叶片抗氧化作用的影响[J]. 中国农学通报,2014,30(25):91-96.
 - [13] 蔺亚平,林海荣,崔辉梅. 外源 H₂S 和 H₂O₂ 对 NaCl 胁迫下加工番茄幼苗生理特性的影响[J]. 华北农学报,2018,33(3):159-166.
- (上接第 7 页)
- [74] LIU T, YANG W Q, XIE Y G, et al. Construction of an efficient genomic editing system with CRISPR/Cas9 in the vector mosquito *Aedes albopictus* [J]. Insect Sci, 2019, 26(6):1045-1054.
 - [75] LING L, RAIKHEL A S. Serotonin signaling regulates insulin-like peptides for growth, reproduction, and metabolism in the disease vector *Aedes aegypti* [J]. PNAS, 2018, 115(42):E9822-E9831.
 - [76] DONG Z Q, DONG F F, YU X B, et al. Excision of nucleopolyhedrovirus form transgenic silkworm using the CRISPR/Cas9 system [J]. Front Microbiol, 2018, 9:1-10.
 - [77] DONG Z Q, QIN Q, HU Z G, et al. Construction of a one-vector multiplex CRISPR/Cas9 editing system to inhibit nucleopolyhedrovirus replication in silkworms [J]. Virol Sin, 2019, 34(4):444-453.
 - [78] XU X, BI H L, ZHANG Z J, et al. BmHpo mutation induces smaller body size and late stage larval lethality in the silkworm, *Bombyx mori* [J]. Insect Sci, 2018, 25(6):1006-1016.
 - [79] LIU Z L, XU J, LING L, et al. CRISPR disruption of TCTP gene impaired normal development in the silkworm *Bombyx mori* [J]. Insect Sci, 2019, 26(6):973-982.
 - [80] XU X, WANG Y H, LIU Z L, et al. Disruption of egg-specific protein causes female sterility in *Bombyx mori* [J/OL]. Insect Sci, 2021 [2021-03-25]. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12904>.
 - [81] XU X, BI H L, WANG Y H, et al. Disruption of the ovarian serine protease (*Osp*) gene causes female sterility in *Bombyx mori* and *Spodoptera litura* [J]. Pest Manag Sci, 2020, 76(4):1245-1255.
 - [82] XU X, ZHANG Z J, YANG Y, et al. Genome editing reveals the function of *Yorkie* during the embryonic and early larval development in silkworm, *Bombyx mori* [J]. Insect Mol Biol, 2018, 27(6):675-685.
 - [83] SUN L L, ZHANG Z J, ZHANG R, et al. Molecular disruption of ion transport peptide receptor results in impaired water homeostasis and developmental defects in *Bombyx mori* [J]. Front Physiol, 2020, 11:424.
 - [84] BI H L, XU X, LI X W, et al. CRISPR disruption of *BmOvo* resulted in the failure of emergence and affected the wing and gonad development in the silkworm *Bombyx mori* [J]. Insects, 2019, 10(8):1-12.
 - [85] ZHANG X, XIA L, DAY B A, et al. CRISPR/Cas9 initiated transgenic silkworms as a natural spinner of spider silk [J]. Biomacromolecules, 2019, 20(6):2252-2264.
 - [86] LI Y F, MA S Y, SUN L, et al. Programmable single and multiplex base-editing in *Bombyx mori* using RNA-guided cytidine deaminases [J]. G3 (Bethesda), 2018, 8(5):1701-1709.