

水杨酸和高温锻炼与葡萄抗热性及抗氧化的关系

王利军* 黄卫东** 战吉成

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100094)

摘要: 对‘京秀’葡萄 (*Vitis vinifera* cv. Jingxiu) 高温锻炼和外施水杨酸 (salicylic acid, SA) 都能显著提高其幼苗的抗热性。高温锻炼 1 h, 叶片内自由态 SA 含量急剧升高, 其后又迅速下降。在抗热性诱导过程中 (高温锻炼 12 h 或水杨酸喷施后 6 h), 抗氧化酶系统中的过氧化物酶 (POD)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽还原酶 (GR)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 的活性都明显升高, 但过氧化氢酶 (CAT) 活性下降; 高温锻炼或外施 SA 1 h, 过氧化氢 (H_2O_2) 含量急剧升高, 之后又迅速下降, 可能起着一种信号分子的作用。以上结果说明内源 SA 可能通过提高抗氧化酶活性参与了高温锻炼过程, 外施 SA 和高温锻炼有相似的提高抗热性机制。

关键词: 葡萄; 水杨酸 (SA); 高温锻炼; 抗热性; H_2O_2 ; 抗氧化酶

中图分类号: Q 945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2003) 04-0452-03

1 目的、材料与方法

有研究显示, 高温锻炼提高植物的抗热性很可能在某种程度上是依赖于水杨酸引起的生理生化变化^[1,2]。我们以前的试验表明, $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 SA 能够提高葡萄幼苗的抗热性^[3], 在本试验中, 以葡萄幼苗为试材, 通过高温锻炼过程中 SA 含量变化、高温锻炼与外源 SA 所诱导 H_2O_2 、POD、SOD、CAT、GR、APX 的变化来探讨 SA 和高温锻炼的关系。供试材料为 1 年生‘京秀’葡萄 (*Vitis vinifera* ‘Jingxiu’) 扦插苗。1999 年 12 月中旬在温室中 (最高温度 27°C , 最低温度 18°C) 把已经通过休眠的幼苗栽植到塑料盆中。盆高 25 cm, 盆底和盆口直径分别为 15 cm 和 20 cm。盆栽用土为园土:草炭土 = 4:6。其它按常规管理。2000 年 3 月下旬, 从温室中选择生长一致的幼苗 (已经长有 10 片功能叶), 分为两组。一组在人工气候箱中分别进行 0、1、6、12、24 h 的 38°C 高温锻炼处理。另一组用 SA $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 进行喷施, 叶面湿润为止, 使其处在 27°C 下, 分别在喷后的 0、1、6、12、24 h 取样。每个处理 3 个重复。两种处理时环境的光照强度都为 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-2}$, 相对湿度 70%~80%。处理完毕后采摘一部分叶片立即测定 H_2O_2 , 一部分用于测定电解质渗出率, 一部分先在液氮中速冻, 然后在 -40°C 的冰箱中保存, 用于测定电解质渗出率 (以电解质渗出率 50% 时所需要的时间为热致死时间)、SA 含量和 H_2O_2 含量、过氧化物酶 (POD) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 活性 (POD 以 $\Delta A_{470} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}\text{FM}$ 表示, SOD 以抑制 NBT 光化还原的 50% 为一个酶活性单位)、过氧化氢酶 (CAT) 活性 (以每分钟分解 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2$ 为 1 个酶活性单位)、APX 活性 (以每秒种分解 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 抗坏血酸为一个单位)、GR 活性 ($\Delta OD_{340} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}\text{FM}$ 表示)。

2 结果与分析

2.1 高温锻炼和 SA 处理对葡萄幼苗抗热性的影响

葡萄幼苗经 38°C 高温锻炼或者喷施 SA 后, 取其叶片立即进行 50°C 的热致死试验。图 1 表明, 在

收稿日期: 2002-11-28; 修回日期: 2003-03-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30070531)

* 现在中科院地理所工作。 ** 通讯联系人。 Author for correspondence. E-mail: huanggdw@263.net



一定时间范围内, 随着高温锻炼时间的延长, 热致死时间也延长, 说明高温锻炼可以提高葡萄的抗热能力。组织抗热能力在高温锻炼 12 h 时达到最大, 此后逐渐下降。葡萄幼苗喷施 SA 后, 热致死时间明显延长。叶片抗热性在喷施后 6 h 达到最大。此后虽有所下降, 但始终高于对照。

2.2 高温锻炼对内源水杨酸含量的影响

从图 2 中可以看出, 葡萄幼苗经 1 h 高温锻炼后, 叶片中游离态 SA 含量升高 5.3 倍, 达到 $19.081 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FM}$, 然后又显著 ($P < 0.05$) 下降, 至 6 h 基本恢复至正常水平。在此期间, 结合态 SA 变化不显著且含量较低。总的 SA 含量变化趋势与自由态变化趋势基本一致。

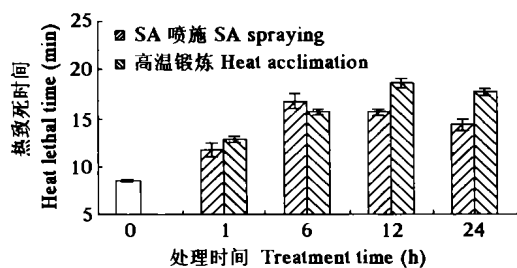


图 1 高温锻炼和喷施 SA 对葡萄叶片抗热性的影响

Fig. 1 Effects of heat acclimation or spraying SA solution on thermotolerance of grape leaves

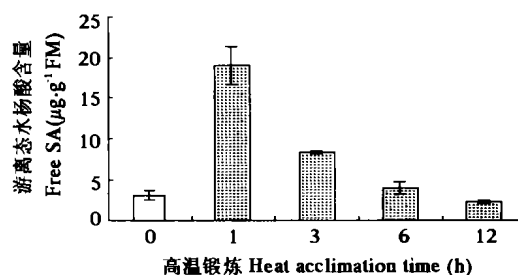


图 2 高温锻炼期间葡萄幼苗叶片中游离态 SA 含量的变化

Fig. 2 Change of free SA in leaves of young grape acclimated by high temperature

2.3 高温锻炼和 SA 处理对 POD 和 SOD 活性的影响

图 3 表明, 葡萄幼苗经过 1 h 高温锻炼和喷施 SA 后 1 h, POD 活性有明显的升高, 以后持续升高, 到 12 h 后达到最大, 到 24 h 后虽然有所下降, 但仍比对照高。高温锻炼明显提高 SOD 活性, 1 h 达到最大, 以后逐渐缓慢下降, 但始终比对照高。用 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SA 处理 1 h 后, SOD 活性显著升高并达到最大, 以后逐渐下降, 至 24 h 活性恢复到正常水平。

2.4 高温锻炼和 SA 处理对 H_2O_2 含量及 CAT 活性的影响

从图 3 可以看出, 38°C 高温锻炼后, H_2O_2 含量迅速升高, 1 h 内达到高峰, 此后迅速下降, 到锻炼 12 h 后, 恢复至对照水平; 而 CAT 活性随锻炼时间的延长快速降低, 到 12 h 达到最低水平, 以后则维持此低水平不变。SA 处理后, H_2O_2 含量和 CAT 活性变化趋势同高温锻炼的基本相似。

2.5 高温锻炼和 SA 处理对 APX 和 GR 活性的影响

高温锻炼 1 h 后 APX 活性显著升高, 到 12 h 后处于平稳状态, 之后又有升高。SA 处理叶片 1 h 后 APX 活性逐渐升高, 至 6 h 形成高峰, 以后逐渐下降。葡萄幼苗经过高温锻炼, GR 活性成倍上升, 直至锻炼后 6 h, 此后也呈波浪式变化。在 SA 处理后 1 h, 葡萄幼苗叶片 GR 活性升高, 并一直保持较平稳状态。两种处理均使 GR 和 APX 活性出现升高的趋势 (图 3)。

试验结果显示, 高温锻炼 1 h, 内源游离态 SA 含量就急剧升高, 此后又迅速下降, 并且在高温锻炼诱导的抗热性达到最大时, 再没有升高的趋势。从时间上来看, SA 升高快于抗热性达到最大值的时间, 如果他们之间有联系, 应该是 SA 诱导了抗热性。而喷施 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SA 后发现, SA 能够快速诱导葡萄幼苗的抗热性, 并且所用 SA 浓度 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (也即 $13.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) 在高温锻炼 SA 浓度变化的范围 (最大值 $19.081 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FM}$)。这符合一个激素信号分子的基本特征。可见, 葡萄获得的抗热性至少应有一部分是由 SA 诱导的。近年来, 随着人们对 AOS 研究的深入, 普遍认为植物具有一种先天的“免疫系统”——氧化猝发, 即植物细胞在胁迫条件下能迅速产生 AOS, 进而启动体内其他信号级联过程, 引起抗性反应^[4]。从我们的试验可以看出, 高温锻炼 1 h, H_2O_2 含量就急剧升高, 之后又急剧下降。 H_2O_2 启动了抗坏血酸-谷胱甘肽循环系统, 在这个系统中, APX 能够清除 H_2O_2 , GR 能利用 NADPH 把氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 还原成还原型谷胱甘肽 (GSH), GSH 能选择性地激发防御基因的表达, 是防御基因的诱导者。高温锻炼 1 h, APX 和 GR 活性有所升高, 此后持续升高, 一直到获得

最大的抗热性 (图 3)。POD 活性在高温锻炼期间持续升高, 由于 POD 能够氧化 H_2O_2 , 所以, H_2O_2 在高温锻炼 1 h 后急剧下降既和 SOD 活性下降有关, 又和 APX、POD 活性升高有关。SA 处理能显著提高葡萄的抗热能力, 诱导了和高温锻炼相似的抗氧化系统的变化, 即 SA 处理后, H_2O_2 骤然升高, 抗氧化酶 SOD、POD、APX、GR 活性升高, CAT 活性下降。从中可以看出, 高温锻炼提高植物抗热性的过程中有 SA 的参与, SA 和高温锻炼有共同诱导葡萄抗热性机制。

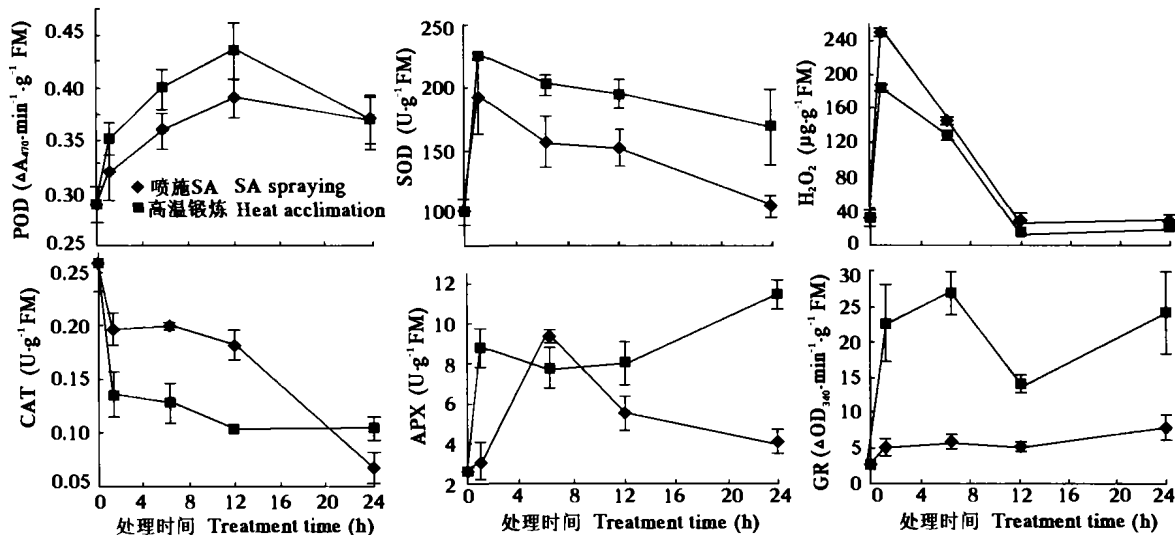


图 3 高温锻炼期间和喷施 SA 后葡萄叶片的 POD、SOD、CAT、APX、GR 活性及 H_2O_2 含量变化

Fig. 3 Changes of POD, SOD, CAT, APX, GR and H_2O_2 activity or content in grape leaves during heat acclimation or after spraying SA solution

参考文献:

- 1 Dat J F, Lopez-Delgado H, Foye C H, et al. Change in salicylic acid and antioxidants during induced thermotolerance in mustard seedlings, *Plant Physiol.*, 1998, 118: 1455 ~ 1461
- 2 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特征的影响. *园艺学报*, 1998, 25 (4): 350 ~ 355
- 3 王利军, 黄卫东, 于风义. 高温对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
- 4 张 晓, 董发财, 宋纯鹏, 等. 氧化迸发和 H_2O_2 信号转导. *植物生理学通讯*, 2000, 36: 376 ~ 383

Thermotolerance Related to Antioxidation Induced by SA and Heat Acclimation in Grape Seedlings

Wang Lijun, Huang Weidong, and Zhan Jicheng

(College of Horticulture, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: Thermotolerance and antioxidation induced by heat acclimation or exogenous SA treatment were studied in grape (*Vitis vinifera* cv. Jingxiu) seedlings. The results showed that thermotolerance of grape seedlings was enhanced by heat acclimation or exogenous SA. When seedlings were acclimated under 38°C for 1h, the content of free SA in grape leaves rose from $3.086 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FM}$ to $19.081 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FM}$, then declined to $8.269 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FM}$ after 6 h of heat acclimation. Activities of antioxidant enzymes including superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), glutathione reductase (GR) and ascorbic peroxidase (APX) were elevated, but the activity of catalase (CAT) was decreased. The content of hydrogen peroxide (H_2O_2) in grape leaves were drastically elevated at 1h, then rapidly declined. The results suggested that SA may take part in heat acclimation that induced thermotolerance through induction activity of antioxidative enzymes, SA treatment and heat acclimation showed common mechanism of inducing thermotolerance of plants.

Key words: *Vitis vinifera*; Salicylic acid; Heat acclimation; Thermotolerance; H_2O_2 ; Antioxidant enzyme