

干旱、盐胁迫下 LaCl_3 和 CPZ 对稻苗脯氨酸积累的影响*

宗会 刘娥娥 郭振飞 李明启

(华南农业大学生物技术学院, 广东广州 510642)

提 要 干旱、盐胁迫下水稻幼苗丙二醛(MDA)含量增加, 质膜透性增大, 同时脯氨酸(Pro)积累; 以质膜 Ca^{2+} 通道阻断剂 LaCl_3 和钙调素(CaM)拮抗剂氯丙嗪(CPZ)对水稻幼苗预处理以阻碍 Ca^{2+} /CaM 信使传导后, 加剧逆境下, 水稻幼苗 MDA 含量的增加, 质膜透性的增大和 Pro 积累, 且 Pro 含量与 MDA 含量和质膜透性呈极显著正相关。表明干旱、盐胁迫下阻碍 Ca^{2+} /CaM 信使传导后, 水稻幼苗 Pro 积累加剧, Pro 积累的多少, 可反映水稻幼苗的伤害程度。

关键词 水稻幼苗; 干旱和盐; LaCl_3 和 CPZ; 脯氨酸

Effects of LaCl_3 and CPZ on Proline Accumulation of Rice Seedling under Drought and Salt Stresses

ZONG Hui LU E e GUO Zhen-Fei LIM ing-Q i

(College of Biotechnology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract Under drought and NaCl stresses, MDA content and cell membrane permeability were increased, at the same time the proline in rice seedling was accumulated. Blocking Ca^{2+} /CaM messenger system by pretreating rice seedling with CPZ (a kind of CaM agonist), or LaCl_3 (a kind of Ca^{2+} -channel blocker), not only the MDA content and membrane permeability but also the proline accumulation in rice seedling were enhanced significantly under the stresses. Proline content was positively correlated very significantly with MDA content and membrane permeability respectively. The results suggested that blocking calcium messenger system transduction could affect proline accumulation in rice seedling, and the proline accumulation seems to be a symptom of rice seedling injury.

Key words Rice seedling; Drought and salt; LaCl_3 and CPZ; Proline

目前植物对逆境反应的信号传导机制受到关注。 Ca^{2+} 是植物生长发育的第二信使, 其中 Ca^{2+} /CaM 信使系统是研究较多和较清楚的一个钙信使系统^[1, 2]。钙信使系统参与植物的抗逆反应, 干旱、盐和低温等胁迫都可诱发植物细胞产生钙信号^[3, 4]。我们的初步研究表明 Ca^{2+} /CaM 信使系统可能参与稻苗抗逆性反应^[5]。逆境下植物体积累脯氨酸(Pro)具有一定普遍性^[6], Pro 可能作为渗透调节物质、膜和酶的保护物质及自由基清除剂等而对植物起保护作用^[7-10]。逆境下钙信使系统可能影响植物体内 Pro 的积累^[11, 12]。本文报道干旱和盐胁迫下以 LaCl_3 和 CPZ 对稻苗预处理以阻碍 Ca^{2+} /CaM 信使系统后稻苗 Pro 积累的变化及其与膜

* 农业部“九五”基础研究项目资助(03-01-02)

收稿日期: 1999-12-17, 接受日期: 2000-05-02

Received on: 1999-12-17, Accepted on: 2000-05-02

脂过氧化和质膜透性的关系,为探讨 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 信使系统在水稻抗逆中的作用和评价逆境下 Pro 积累的生理意义提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材料及培养

选用抗旱和抗盐性较强的水稻 (*Oryza sativa* L.) 品种湘中粳 2 号,由华南农业大学分子植物生理室提供。将种子以 1 g/L HgCl_2 消毒后置恒温箱 (28°C) 中催芽 2d 后,播种于尼龙网上,以木村 B 培养液进行培养,自然光光照生长至三叶期(约 13d)备用。

1.2 实验处理

以 $500\ \mu\text{mol/L}$ LaCl_3 或 $50\ \mu\text{mol/L}$ CPZ 对三叶期湘中粳 2 号水稻幼苗进行根际预处理 15h,然后作如下处理:(1)对照,不做预处理和胁迫处理(CK);(2)预处理对照,只进行预处理不进行胁迫处理(P);(3)预处理后进行干旱胁迫处理(P+D);(4)不进行预处理只进行干旱胁迫处理(D);(5)预处理后进行盐胁迫处理(P+S);(6)不进行预处理只进行盐胁迫处理(S)。以上每个处理的幼苗数为 90 株,其中干旱胁迫以含 -0.6 MPa PEG-6000 的培养液根际处理模拟干旱,盐胁迫以含 0.15 mol/L NaCl 的培养液根际处理。

1.3 测定方法

1.3.1 Pro 和丙二醛(MDA)含量测定 处理 0d、2d、4d 和 6d 时,取水稻幼苗地上部分分别参照文献^[13, 14]方法测定,3 次重复。

1.3.2 质膜相对透性测定 处理 2d 时,取稻苗地上部参照文献^[14]方法测定,3 次重复。

2 结果与分析

2.1 LaCl_3 和 CPZ 对逆境下稻苗质膜相对透性的影响

LaCl_3 是一种质膜 Ca^{2+} 通道阻断剂,可阻断质膜 Ca^{2+} 通道而阻碍胞外 Ca^{2+} 进入细胞,从而阻碍 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 信使系统传导;CPZ 是一种钙调素(CaM)拮抗剂,可与 CaM 结合而阻碍 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 信使系统传导^[15]。处理 2d 时, LaCl_3 和 CPZ 预处理对正常生长条件下,稻苗质膜透性无明显影响,却加剧干旱和盐胁迫下稻苗质膜透性的增大(图 1)。表明以 LaCl_3 和 CPZ 预处理阻碍稻苗 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 信使系统传导后,稻苗质膜伤害增加。

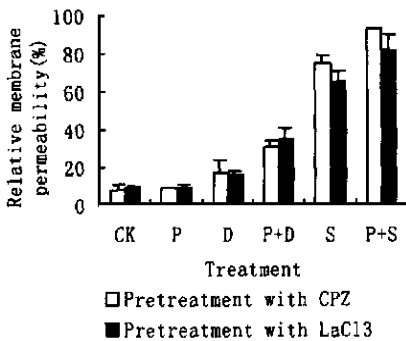


图 1 LaCl_3 和 CPZ 预处理对水稻幼苗质膜透性的影响

Fig. 1 Effects of pretreating with LaCl_3 and CPZ on cell membrane permeability of rice seedling

2.2 LaCl_3 和 CPZ 对逆境下稻苗 MDA 含量的影响

丙二醛(MDA)是反映植物体膜脂过氧化程度的一个重要指标,干旱和盐胁迫下稻苗 MDA 含量随胁迫时间的延长而增加, LaCl_3 和 CPZ 预处理对正常生长条件下稻苗 MDA 含量无明显影响,但显著增加干旱和盐胁迫下水稻幼苗的 MDA 含量(图 2, 图 3)。表明以 LaCl_3 和 CPZ 预处理阻碍稻苗 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 信使系统传导后加剧逆境下稻苗的膜脂过氧化程度。

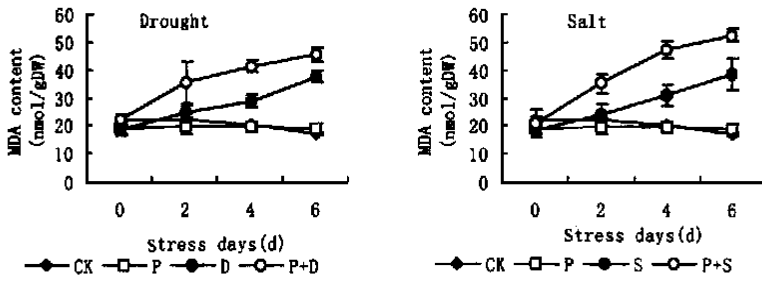


图 2 LaCl₃ 预处理对水稻幼苗MDA 含量的影响

Fig 2 Effects of pretreating with LaCl₃ onMDA content of rice seedling

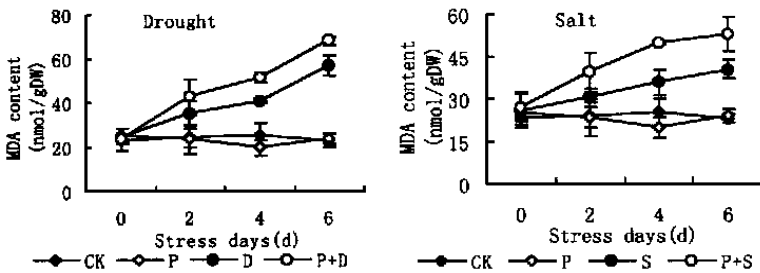


图 3 CPZ 预处理对水稻幼苗MDA 含量的影响

Fig 3 Effects of pretreating with CPZ onMDA content of rice seedling

2 3 LaCl₃ 和 CPZ 对逆境下水稻 Pro 含量的影响

正常生长条件下, 水稻体内 Pro 含量无明显变化, 干旱和盐胁迫下随着胁迫时间的延长 Pro 含量急剧增加。LaCl₃ 和 CPZ 预处理对正常生长条件下水稻 Pro 含量无明显影响, 但显著增加干旱和盐胁迫下水稻的 Pro 含量(图 4, 5)。在盐胁迫 6d 时, CPZ 预处理水稻幼苗(处理 P+ S)Pro 含量反而低于未 CPZ 预处理的水稻幼苗(处理 S)的 Pro 含量, 因此时处理 P+ S 的植株叶片开始干枯死亡, 可能致使 Pro 合成能力下降。

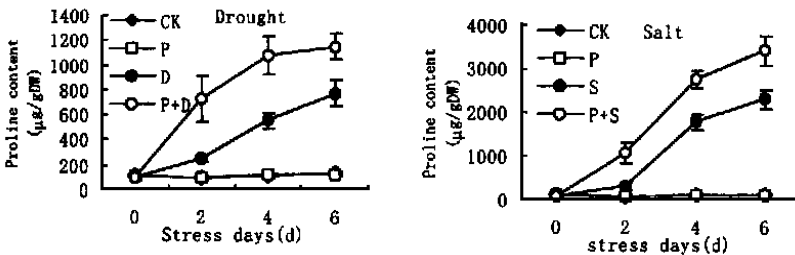


图 4 LaCl₃ 预处理对水稻幼苗 Pro 含量的影响

Fig 4 Effects of pretreating with LaCl₃ on proline content of rice seedling

2 4 Pro 含量与MDA 含量和质膜透性的相关性

对上述干旱和盐胁迫下水稻幼苗 Pro 含量与MDA 含量和质膜透性分别进行相关分析发现, 逆境下水稻幼苗体内 Pro 含量变化与MDA 含量变化和质膜透性呈极显著($P < 0.01$)正相关, 相关系数分别为 $r = 0.7644$ 和 $r = 0.7174$ (图 6)。表明胁迫下随着MDA 含量和质膜透

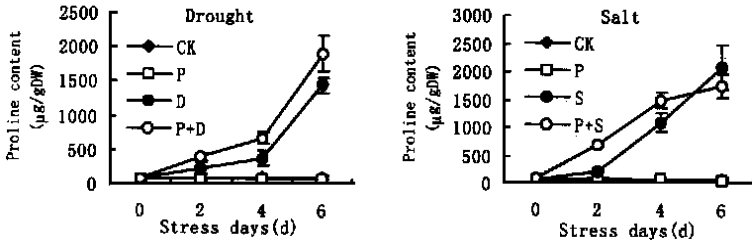


图5 CPZ 预处理对水稻幼苗 Pro 含量的影响

Fig. 5 Effects of pretreating with CPZ on proline content of rice seedling

性的增加, 稻苗 Pro 含量也相应增加。由于MDA 含量和质膜相对透性可表示植物体所受伤害的程度, 稻苗 Pro 含量与MDA 含量和质膜相对透性呈显著正相关, 说明逆境下稻苗 Pro 积累的多少, 可反映稻苗的伤害程度。

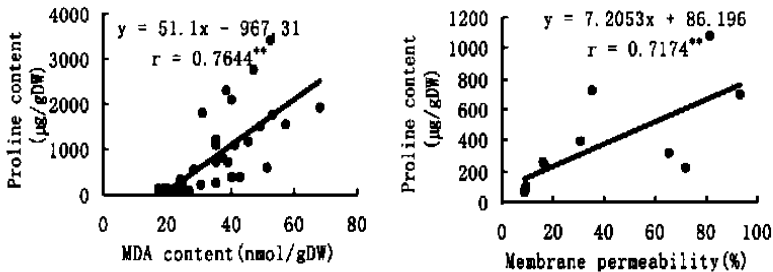


图6 Pro 含量与MDA 含量和质膜相对透性的相关关系

Fig. 6 Correlation of proline content with MDA content and cell membrane permeability

3 讨论

外界刺激可改变膜透性和开启 Ca^{2+} 通道, 使胞质内 Ca^{2+} 浓度迅速增加, Ca^{2+} 与 CaM 结合活化 CaM 然后激活靶酶, 引起相应的生理生化过程, 这就是 Ca^{2+} /CaM 信使系统的功能^[1, 2]。LaCl₃ 和 CPZ 都可阻碍 Ca^{2+} /CaM 信使传导。CPZ 通过与 CaM 结合使 CaM 功能丧失而起作用, LaCl₃ 则通过阻断质膜 Ca^{2+} 通道而阻碍 Ca^{2+} 内流而起作用^[15]。阻碍 Ca^{2+} /CaM 信使系统传导是目前探索活体内 Ca^{2+} /CaM 信使功能常用手段。

已有研究表明, 环境胁迫如干旱、盐、低温、热击等都可诱发植物细胞产生 Ca^{2+} 信号, 产生相应的生理生化反应^[3-4, 14]。Gong 等^[15]研究表明 Ca^{2+} /CaM 信使参与调节玉米幼苗中抗氧化酶活性而提高玉米幼苗抗热性。Monroy 等^[4]研究, 表明苜蓿冷驯化过程中, Ca^{2+} 信使通过调节蛋白磷酸化而诱导冷驯化基因表达, 提高苜蓿抗冷性。李卫等^[16]发现钙信使参与柑桔原生质体抗冻性表达。我们的研究表明 Ca^{2+} /CaM 信使系统可能参与水稻幼苗抗逆性调控^[5]。本文中 LaCl₃ 和 CPZ 预处理后稻苗质膜透性和 MDA 含量增加(图 1~ 3), 说明逆境下阻碍 Ca^{2+} /CaM 信使传导加剧稻苗的损伤。

逆境下植物体积累 Pro 具有一定普遍性^[6], Pro 可作为渗透调节物质、氮源贮藏、酶和细胞结构的保护剂及清除羟自由基等而对植物起保护作用^[7-10]。但至今对逆境下 Pro 积累的生理意义仍存在较大分歧。一些研究表明逆境下抗逆性较强的品种 Pro 积累较多, 而抗逆性较弱的品种积累 Pro 较少, 因此逆境下 Pro 积累的多少可以作为植物抗逆性强弱的一个指

标^[7, 11]。但另一些研究结果正好与此相反。Liu 等^[17]研究发现在盐胁迫下盐敏感的拟南芥突变体(比对照敏感 20 多倍)比耐盐较强的野生型能积累更多的 Pro。因此认为盐胁迫下拟南芥中 Pro 含量不是一个限制其抗盐性的因子, 而更适宜作为一个胁迫伤害指标。Lutts 等^[18, 19]研究发现在盐胁迫下对盐敏感的水稻品种比耐盐品种能积累更多的 Pro, 也认为盐胁迫下水稻幼苗中 Pro 积累的多少是一个胁迫伤害指标, 而不是一个抗性指标。我们研究也发现, 在盐、干旱和低温胁迫下抗逆性较强的水稻品种 Pro 积累较少, 而抗逆性较弱的水稻品种 Pro 积累较多。本文以 LaCl₃ 和 CPZ 预处理后, 加剧了干旱和盐胁迫下稻苗的损伤(图 1~ 3), 同时使 Pro 积累加剧(图 4, 5)。逆境下稻苗的 Pro 含量与 MDA 含量和质膜透性分别呈极显著正相关(图 6), 表明逆境下稻苗 Pro 积累的多少, 可反应稻苗的伤害程度, 较适宜作为一个伤害指标, 而不宜作为一个抗性筛选指标。当然, 当胁迫伤害超过一定限度时, 植物体开始死亡, Pro 含量不再积累(图 5), 此时 Pro 含量不再表示植物的伤害程度。

De 等^[11]研究表明, 番茄幼苗和悬浮细胞系经短期的热激和低温处理后 Pro 含量增加, 外源 Ca²⁺ 预处理可增加其 Pro 含量, 而外源 EGTA 和 LaCl₃ 预处理(阻止钙信使传导)则显著降低其 Pro 含量。汪良驹等^[19]研究盐胁迫下, 无花果愈伤组织 Pro 的积累也有类似的结果。这些结果表明钙信使可能参与了逆境下植物体中 Pro 的积累。本文结果与此不同, 逆境下阻碍钙信使传导后 Pro 含量大幅增加(图 4, 5)。干旱和盐胁迫都可对植物产生氧化胁迫而造成活性氧伤害, 而 CPZ 和 LaCl₃ 预处理, 则加重了这种损伤。据报道 OH⁻ 可诱导 Pro 积累, 氧化胁迫下植物体内 Pro 积累有可能是植物抵抗氧化胁迫的一种反应^[8]。鉴于 Pro 具有多种保护作用, 本文中 CPZ 和 LaCl₃ 预处理, 加剧逆境下稻苗 Pro 积累可能是阻断钙信使后水稻幼苗抗逆性下降, 胁迫伤害增加的一种应激反应, 以抵抗其所受伤害。

参 考 文 献

- Poovaliah B W, ASN Reddy. *Crit Rev Plant Sci*, 1993, 12(3): 185~ 211
- 孙大业. 植物生理学通讯, 1996, 32(2): 81~ 91
- Knight H, A J Trewavas, M R Knight. *Plant J*, 1997, 12(5): 1067~ 1078
- Monroy A F, R S Dhindsa. *Plant J*, 1998, 13(5): 653~ 660
- 宗会, 刘娥娥, 郭振飞等. 华南农业大学学报, 2000, 21(1): 64~ 65, 67
- 潘瑞帜, 董愚得. 植物生理学. 北京: 高等教育出版社, 1995. 320
- 汤章城. 植物生理学通讯, 1984, (1): 15~ 21
- 蒋明义, 郭绍川, 张学明. 科学通报, 1997, 42(6): 646~ 649
- Smironoff N, Q J Cumbes. *Phytochem.*, 1989, 28: 1057~ 1060
- Solomon A, S Beer, Y Weisel et al. *Physiol Plant*, 1994, 90: 198~ 204
- De B, S Bhattacharjee, A K Mukherjee. *Indian J. Plant Physiol*, New Series, 1996, 14(1): 32~ 35
- 汪良驹, 刘友良, 马 凯. 植物生理学报, 1999, 25(1): 38~ 42
- 张殿忠, 汪沛洪, 赵会贤. 植物生理学通讯, 1991, (4): 62~ 65
- 张宪政, 陈凤玉, 王荣富. 植物生理学实验技术, 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1994. 164~ 179
- Gong M, Luit A H, Knight M R et al. *Plant Physiol*, 1998, 116: 429~ 437
- 李 卫, 孙中海, 章文才等. 植物生理学报, 1997, 23(3): 262~ 266
- Liu J, Zhu J-K. *Plant Physiol*, 1997, 114: 591~ 596
- Lutts S, Kinet J-M. *Physiol Plant*, 1999, 105: 450~ 458
- Lutts S, Kinet J-M, Bouhamont J. *Plant Growth Regul*, 1996, 19: 207~ 218