

低温胁迫下氯丙嗪和氯化镧对水稻幼苗脯氨酸积累的影响

宗会¹ 徐照丽¹ 刘娥娥² 郭振飞² 李明启²

(1. 云南烟草科学研究院生物技术室, 云南 昆明 650106; 2. 华南农业大学生命科学学院, 广东 广州 510642)

摘要: 低温胁迫下水稻幼苗质膜透性增大、相对含水量(RWC)下降、丙二醛(MDA)含量增加,同时脯氨酸(Pro)积累。以氯丙嗪(CPZ)和氯化镧(LaCl₃)对水稻幼苗预处理以阻碍Ca²⁺·CaM(钙调素)信使传导后,加剧了低温胁迫下水稻幼苗质膜透性的增加、RWC的下降、MDA含量的增加和Pro的积累,说明水稻幼苗受伤害程度将加重。

关键词: 水稻幼苗; 氯丙嗪; 氯化镧; 脯氨酸; 低温胁迫

中图分类号: Q945.78

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2003)03-0241-04

Effects of Chlorpromazine and Lanthanum Chloride on Proline Accumulation in Rice Seedlings under Cold Stress

ZONG Hui¹ XU Zhao-li¹ LIU E-e² GUO Zhen-fei² LI Ming-qi²

(1. Laboratory of Biotechnology, Yunnan Academy of Tobacco Science, Kunming 650106, China;

2. College of Life Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The roots of 13-day-old rice seedlings were pretreated with 50 μmol/L chlorpromazine or 500 μmol/L lanthanum chloride (LaCl₃) at 25°C for 15 h to determine the changes in relative water content (RWC), malondialdehyde (MDA) content, relative permeability of cell membrane, and proline (Pro) accumulation in the seedlings under cold stress at 6-7°C and light intensity at 200 μmol m⁻²s⁻¹. The experiments showed that the RWC decreased, relative permeability of cell membrane and MDA content increased, meanwhile, the proline was accumulated under cold stress. Such trends were enhanced significantly in the seedlings pretreated with chlorpromazine or LaCl₃ under cold stress.

Key words: Rice seedling; Chlorpromazine; Lanthanum chloride; Proline; Cold stress

逆境胁迫下植物的信号转导机制受到关注,一些研究表明钙信使系统参与植物抗冷性调控,可通过调节与冷相关基因的表达而参与植物对低温胁迫的适应性^[1,2]。我们曾报道,低温胁迫下阻碍Ca²⁺·CaM(钙调素)信使系统传导后水稻(*Oryza sativa* L.)幼苗的抗冷性下降^[3],表明低温胁迫下水稻幼苗可能通过启动Ca²⁺·CaM信使系统而增强对低温的适应性。逆境下植物体积积累脯氨酸(Pro)对植物具有保护作用^[4-7]。氯丙嗪(CPZ)是一种CaM拮抗剂,可与CaM结合而阻碍Ca²⁺·CaM信使系统传导^[8];氯化镧(LaCl₃)是一种质膜Ca²⁺通道阻断剂,可阻碍胞外Ca²⁺进入细胞,从而阻碍Ca²⁺·CaM信使系统传导^[9]。为进一步探讨Ca²⁺·CaM信使系统在

水稻幼苗抗冷中的作用,本文报道低温胁迫下,以CPZ和LaCl₃预处理以阻碍Ca²⁺·CaM信使系统传导后,水稻幼苗Pro的积累及膜脂过氧化、质膜透性和相对含水量的变化,为了解水稻幼苗抗冷机制提供依据。

1 材料和方法

材料及培养 选用较耐低温的水稻(*Oryza sativa* L.)品种“湘早糯1号”,将种子以1 g L⁻¹ HgCl₂消毒、以蒸馏水冲洗,置恒温箱(28°C)中催芽2 d后,播种于尼龙网上,以木村B培养液进行培养(6 d更换一次培养液),自然条件下生长至三叶期(约13 d)备用。

收稿日期: 2002-09-16 接受日期: 2003-01-07

基金项目: 广东省自然科学基金(990024)资助

实验处理 取三叶期的幼苗, 25℃下分别以 500 $\mu\text{mol/L}$ LaCl_3 或 50 $\mu\text{mol/L}$ CPZ 对幼苗根际预处理 15 h 后进行处理, 所设处理如下: (1) 对照, 不进行预处理和低温胁迫处理(control); (2) 只进行预处理不进行低温胁迫处理(P); (3) 不进行预处理只进行低温胁迫处理(C); (4) 预处理后进行低温胁迫处理(P+C)。低温胁迫以 6–7℃低温处理, 光强 200 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 。每处理幼苗 90 株, 3 次重复。

质膜相对透性测定 胁迫 2 d 时取幼苗地上部, 参照文献[10]的方法。

丙二醛(MDA)含量、相对含水量(RWC)测定 胁迫 0、2、4 d 时取幼苗地上部, 参照文献[10]的方法。

Pro 含量测定 胁迫 0 d、2 d、4 d 时取幼苗地上部, 参照文献[11]的方法。

2 结果和分析

2.1 质膜相对透性

如图 1 所示, 低温胁迫下水稻幼苗的质膜相对透性增加。CPZ 和 LaCl_3 预处理对正常生长条件下的水稻幼苗的质膜相对透性无明显影响, 但却使低温胁迫下质膜相对透性明显增大。表明低温下阻碍 $\text{Ca}^{2+}\cdot\text{CaM}$ 信使系统传导后, 水稻幼苗的质膜伤害增加。

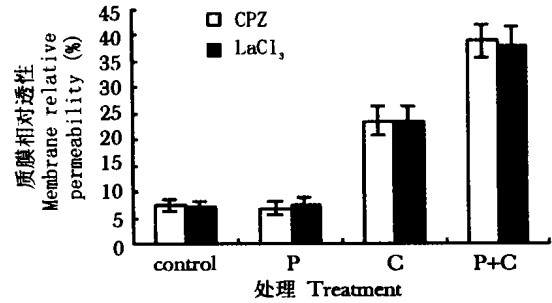


图 1 CPZ 和 LaCl_3 预处理对水稻幼苗质膜透性的影响
Fig. 1 Effects of pretreatment with chlorpromazine (CPZ) or LaCl_3 on cell membrane permeability in rice seedlings
P: pretreated but without cold stress treatment;
C: cold stress treatment only.

2.2 相对含水量

低温胁迫下, 水稻幼苗的相对含水量(RWC)随胁迫时间的延长而不断下降; CPZ 和 LaCl_3 预处理对正常生长条件下的水稻幼苗的 RWC 无明显影响, 但加速了低温胁迫下 RWC 的下降(图 2)。表明低温胁迫可导致水稻幼苗遭受一定程度的水分胁迫, 低温下阻碍 $\text{Ca}^{2+}\cdot\text{CaM}$ 信使系统传导后水分胁迫加剧。低温胁迫下, 水稻幼苗 RWC 下降可能是植株根系活力下降, 吸水能力下降, 而同时空气湿度下降导致的结果。

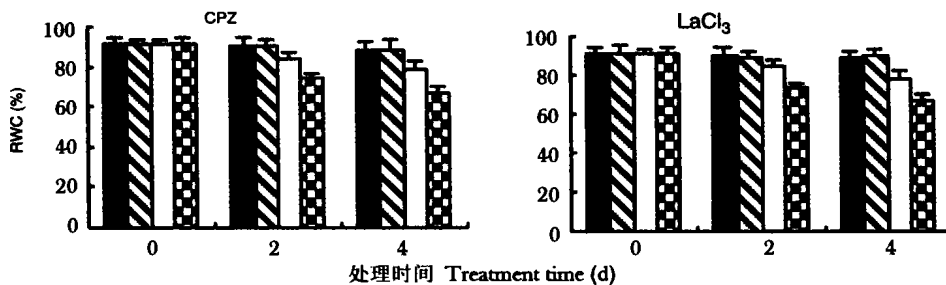


图 2 CPZ 和 LaCl_3 预处理对水稻幼苗 RWC 的影响
Fig. 2 Effects of pretreatment with chlorpromazine (CPZ) or LaCl_3 on relative water content (RWC) in rice seedlings
■ Control, ▨ P, □ C, ▩ P+C. For P and C see Figure 1.

2.3 丙二醛含量

MDA 是反映植物体膜脂过氧化程度的一个重要指标。低温下水稻幼苗丙二醛(MDA)含量随胁迫时间的延长而增加。CPZ 和 LaCl_3 预处理对正常生长条件下水稻幼苗 MDA 含量无明显影响, 但使低温胁迫下 MDA 含量增加(图 3)。表明低温下阻碍 $\text{Ca}^{2+}\cdot\text{CaM}$ 信使系统传导后水稻幼苗的膜脂过氧化程度加剧。

2.4 脯氨酸含量

低温胁迫下, 稻苗脯氨酸(Pro)含量增加, 且随胁迫时间的延长而加剧; CPZ 和 LaCl_3 预处理对正常生长条件下的水稻幼苗 Pro 含量无明显影响, 但加剧低温胁迫下 Pro 的积累(图 4)。表明低温下阻碍 $\text{Ca}^{2+}\cdot\text{CaM}$ 信使系统传导后水稻幼苗的 Pro 积累加剧。

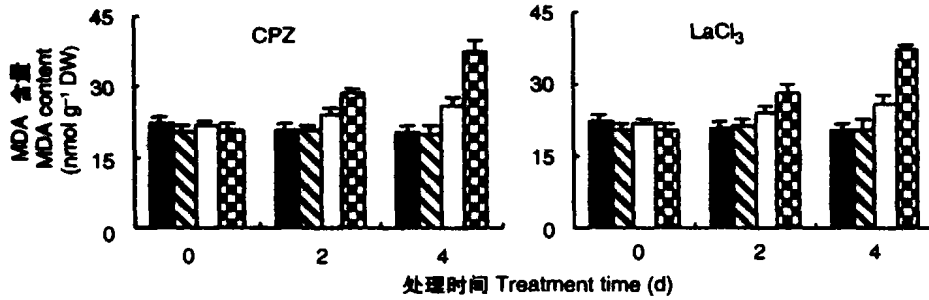


图 3 CPZ 和 LaCl₃ 预处理对水稻幼苗 MDA 含量的影响

Fig. 3 Effects of pretreatment with chlorpromazine (CPZ) or LaCl₃ on malondialdehyde (MDA) content in rice seedlings

■ Control, ▨ P, □ C, ▩ P+C. For P and C see Figure 1.

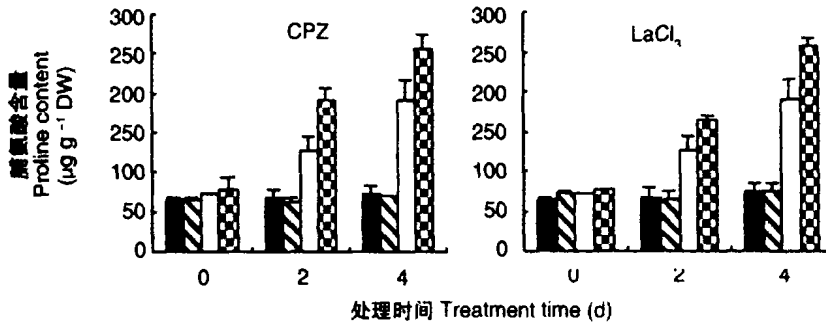


图 4 CPZ 和 LaCl₃ 预处理对水稻幼苗脯氨酸 (Pro) 含量的影响

Fig. 4 Effects of pretreatment with chlorpromazine (CPZ) or LaCl₃ on proline content in rice seedlings

■ Control, ▨ P, □ C, ▩ P+C. For P and C see Figure 1.

3 讨论

低温胁迫下,植物可启动钙信使系统以适应低温逆境^[12]。我们的实验也表明,低温胁迫下,水稻幼苗的质膜透性增大、MDA 含量增加和 RWC 下降; LaCl₃ 和 CPZ 预处理后,水稻幼苗质膜透性、MDA 含量进一步增加,而 RWC 则继续下降,说明阻碍 Ca²⁺·CaM 信使传导后加剧了低温对水稻幼苗的逆境伤害,表明水稻幼苗在适应低温胁迫的过程中要启动 Ca²⁺·CaM 信使系统。此外,本文中,LaCl₃ 和 CPZ 预处理对正常生长条件下的水稻幼苗的质膜透性、RWC、MDA 和 Pro 含量无明显影响,这可能是该浓度的 LaCl₃ 和 CPZ 处理对正常生长条件下水稻幼苗的 Ca²⁺·CaM 信使传导没有明显影响,也没有造成药物伤害。

逆境下植物体积累 Pro 具有普遍性,但在 Pro 是否可作为植物抗性或敏感性指标上研究结果不尽一致。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^[4,12]。另一些研究结果则与此不同,Liu

等^[13]研究发现盐胁迫下盐敏感的拟南芥突变体(比对照敏感 20 多倍)比耐盐的野生型能积累更多的 Pro; Lutts 等^[14,15]研究发现,盐胁迫下盐敏感的水稻品种比耐盐品种能积累更多的 Pro,因此认为胁迫下 Pro 积累的多少适宜作为一个胁迫伤害指标,而不宜作为抗性筛选指标。我们曾报道,干旱、盐和低温胁迫下,耐性强的水稻品种 Pro 积累相对较少,而敏感品种 Pro 积累则相对较多^[16]。本文中低温胁迫下,以 CPZ 和 LaCl₃ 预处理阻碍 Ca²⁺·CaM 信使系统传导后,幼苗的逆境伤害增加,与此同时 Pro 积累加剧,这表明低温胁迫下,水稻幼苗 Pro 积累的多少与其逆境伤害程度有关,较适宜作为一个胁迫伤害指标,这与我们在干旱和盐胁迫下的研究结果相一致^[17]。

·OH 可诱导 Pro 积累,氧化胁迫下 Pro 积累可能是植物抵抗氧化胁迫的一种反应^[9]。本文中,低温胁迫下水稻幼苗 MDA 含量增加、质膜透性增大,说明低温对幼苗产生了活性氧伤害,而 CPZ 和 LaCl₃ 预处理加剧了这种损伤。因此,低温下阻碍 Ca²⁺·CaM 信使系统传导后 Pro 含量大幅增加很可能是活性氧伤害加剧的一种反应。此外,水分胁迫下植

物积累 Pro 是抵御水分胁迫的一种反应^[4],本文中低温胁迫下,阻碍 Ca^{2+} •CaM 信使系统传导后,水稻的 RWC 下降,水分胁迫加剧,Pro 含量的增加也可能是水分胁迫加剧的结果。鉴于 Pro 具有多种保护作用,本文中 CPZ 和 LaCl_3 预处理阻碍 Ca^{2+} •CaM 信使传导后,低温下水稻幼苗 Pro 的积累加剧,可能是水稻幼苗对抗逆性下降、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

- [1] Poovaiah B W, Reddy A S N. Calcium and signal transduction in plants [J]. Crit Rev Plant Sci, 1993, 12(3):185-211.
- [2] Monroy A F, Dhindsa R S. Low temperature signal transduction during cold acclimation: Protein phosphates 2A as an early target for cold-inactivation [J]. Plant J, 1998, 13(5):653-660.
- [3] Zong H (宗会), Liu E E (刘娥娥), Guo Z F (郭振飞), et al. Preliminary report on relationship between Ca^{2+} •CaM messenger system and stress resistance of rice seedling [J]. J South China Agri Univ (华南农业大学学报), 2000, 21(1): 64-65,67.(in Chinese).
- [4] Tang Z C (汤章城). The proline accumulation in plant under stress and its possible signification [J]. Plant Physiol Comm(植物生理学通讯), 1984, (1) : 15-21.(in Chinese).
- [5] Jiang M Y (蒋明义), Guo S C (郭绍川), Zhang X M (张学明). The proline accumulation in rice seedlings under •OH stress and its role of antioxidant [J]. Chin Sci Bull(科学通报), 1997, 42 (6) : 646-649.(in Chinese)
- [6] Smironoff N, Cumbes Q J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes [J]. Phytochem, 1989, 28:1057-1060.
- [7] Solomon A, Beer S, Waisel Y, et al. Effects of NaCl on the carboxylating activity of rubisco from *Tamarix jordanis* in the presence and absence of proline-related compatible solutes [J]. Physiol Plant, 1994, 90:198-204.
- [8] Polito V S. Calmodulin and calmodulin inhibitors: effects on pollen germination and tube growth [A]. In: Mulcahy D L, Ottaviano E. Pollen: Biology and Implications for Plant Breeding [M]. New York: Elsevier, 1983. 53.
- [9] Graziana A, Fosset M, Rajeva R, et al. Ca^{2+} channel inhibitor that bind to plant cell membranes block Ca^{2+} entry into protoplasts [J]. Biochemistry, 1988, 27:764-768.
- [10] Zhang X Z (张宪政), Chen F Y (陈凤玉), Wang R F (王荣富). Experiment Methods of Plant Physiology [M]. Shenyang: Liaoning Scientific Technological Press, 1994. 20-179. (in Chinese)
- [11] Zhang D Z (张殿忠), Wang P H (汪沛洪), Zhao H X (赵会贤). The method to determinate the content of free proline in wheat leaf [J]. Plant Physiol Comm (植物生理学通讯), 1990, (4) : 62-65.(in Chinese)
- [12] De B, Bhattacharjee S, Mukherjee A K. Short term heat shock and cold shock induced proline accumulation relation to calcium involvement in *Lycopersicon esculentum* (Mill.) cultured cells and seedling [J]. Indian J Plant Physiol, New Series, 1996, 14(1):32-35.
- [13] Liu J, Zhu J K. Proline accumulation and salt-stress-induced gene expression in a salt-hypersensitive mutant of *Arabidopsis* [J]. Plant Physiol, 1997, 114:591-596.
- [14] Lutts S, Kinet J M. NaCl effects on proline metabolism in rice (*Oryza sativa*) seedlings [J]. Physiol Plant, 1999, 105:450-458.
- [15] Lutts S, Kinet J M, Bouharmont J. Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance [J]. Plant Growth Regul, 1996, 19:207-218.
- [16] Liu E E (刘娥娥), Zong H (宗会), Guo Z F (郭振飞), et al. Effects of drought, salt and chilling stresses on accumulation of proline in shoot of rice seedlings [J]. J Trop Subtrop Bot (热带亚热带植物学报), 2000, 8(3):235-238.(in Chinese)
- [17] Zong H (宗会), Liu E E (刘娥娥), Guo Z F (郭振飞), et al. Effects of LaCl_3 and CPZ on proline accumulation of rice seedling under drought and salt stresses [J]. Acta Agro Sin(作物学报), 2001, 27 (2):173-177.(in Chinese)