

doi: 10.16104/j.issn.1673-1891.2024.04.003

外源水杨酸对干旱胁迫下猕猴桃砧木生理特性的影响

周康宇^{1,2,3}, 何成勇^{1,2}, 徐子鸿^{1,2}, 李靖^{1,2}, 王玲利^{1,2}, 刘普³, 涂美艳^{1,2*}

(1. 四川省农业科学院园艺研究所, 四川 成都 610066; 2. 农业农村部西南地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 四川 成都 610066; 3. 安徽农业大学园艺学院, 安徽 合肥 230036)

摘要: [目的] 探究外源水杨酸对干旱胁迫下猕猴桃砧木生理特性的影响, 为抗旱调节物质的应用提供理论依据。[方法] 采用盆栽试验, 以 'Bruno' 猕猴桃为材料, 外源水杨酸预处理后采用 25% 的聚乙二醇 6000 (PEG-6000) 溶液模拟干旱胁迫, 于干旱胁迫后不同时间测定 'Bruno' 猕猴桃叶片生理指标的变化。[结果] 1、2、4 mmol/L 水杨酸溶液处理下, 猕猴桃在干旱胁迫下叶片中丙二醛 (MDA) 和过氧化氢 (H_2O_2) 质量分数上升幅度显著降低, 而脯氨酸 (Pro) 质量分数、超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性上升幅度显著升高。其中, 2 mmol/L 水杨酸溶液处理抗旱效果最明显。[结论] 外源水杨酸处理降低了膜脂过氧化程度, 增加了渗透调节物质的积累和抗氧化酶活性, 从而提高了猕猴桃抗旱性。

关键词: 猕猴桃砧木; 水杨酸; 干旱胁迫; 抗氧化能力

中图分类号: S663.4 文献标志码: A 文章编号: 1673-1891(2024)04-0020-06

Effects of Exogenous Salicylic Acid on the Physiological Traits of Kiwifruit Rootstocks under Drought Stress

ZHOU Kangyu^{1,2,3}, HE Chengyong^{1,2}, XU Zihong^{1,2}, LI Jing^{1,2}, WANG Lingli^{1,2},
LIU Pu³, TU Meiyang^{1,2*}

(1. Institute of Horticulture, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, Sichuan, China; 2. Key Laboratory of Biology and Germplasm Enhancement of Horticultural Crops in Southwest China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Chengdu 610066, Sichuan, China; 3. School of Horticulture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, Anhui, China)

Abstract: [Objective] To explore the effects of exogenous salicylic acid on the physiological traits of kiwifruit rootstocks under drought stress and provide a theoretical basis for the application of drought-resistant regulatory substances. [Method] A pot experiment was carried out using 'Bruno' kiwifruit as the material, after pretreatment with exogenous salicylic acid, 25% polyethylene glycol 6000 (PEG-6000) solution was used to simulate drought stress. The changes in the physiological indexes of the leaves of 'Bruno' kiwifruit were measured at different times after drought stress. [Result] Under the treatments with 1, 2 and 4 mmol/L salicylic acid solutions, the increase ranges of the mass fractions of malondialdehyde (MDA) and hydrogen peroxide (H_2O_2) in the kiwifruit leaves under drought stress were significantly reduced, while the increase ranges of the mass fraction of proline (Pro), the activities of superoxide dismutase (SOD) and

收稿日期: 2024-12-04

基金项目: 四川省科技计划项目 (2022YFYZ0003); 国家现代农业产业技术体系四川创新团队 (SCCXTD-2024-4); 国家柑橘产业技术体系猕猴桃成都综合试验站 (CARS-26)。

作者简介: 周康宇 (1998—), 男, 江苏徐州人, 硕士, 研究方向: 果树抗性机理, e-mail: 1063800248@qq.com。

*通信作者: 涂美艳 (1983—), 男, 江西吉安人, 研究员, 博士, 研究方向: 果树育种与栽培, e-mail: huahalei@126.com。

catalase (CAT) were significantly increased. Among them, the treatment with 2 mmol/L salicylic acid solution had the most obvious drought-resistant effect. [Conclusion] The exogenous salicylic acid treatment reduced the degree of membrane lipid peroxidation, enhanced the accumulation of osmoregulatory substances and increased the activities of antioxidant enzymes, thus improving the drought resistance of kiwifruit plants.

Keywords: kiwifruit rootstock; salicylic acid; drought stress; antioxidant capacity

0 引言

干旱造成的水分胁迫是当今世界范围内作物生产的最重要制约因素,研究相关的胁迫反应机制对于促进气候适应性品种的选育至关重要。猕猴桃属于猕猴桃科(Actinidiaceae),猕猴桃属(*Actinidia* Lind L.),其根系属于肉质根类,主要储存营养物质和水分,具有含水量高、分布较浅等特点,猕猴桃叶片肥大,且有发达的输导组织和气孔,叶面蒸腾作用强,耗水量大,是一种不耐旱型果树^[1]。水分匮乏严重影响猕猴桃的产量和品质。因此,探究可能增强猕猴桃抗旱性的方法对实现猕猴桃产业可持续发展具有重要意义。

干旱胁迫下,植物会通过减少水分散失以及提高水分利用率来维持正常生长所需水分。一方面,植物通过大量积累脯氨酸(Pro)、可溶性糖、可溶性蛋白及无机离子等渗透调节物质降低细胞渗透势,从而降低水势,稳定膜结构和大分子结构表面的水化层,提高水分利用率,从而提高植物在干旱胁迫下的耐受力^[2-4]。另一方面,干旱胁迫下植物体内会产生过量的活性氧自由基。由于活性氧具有极强的氧化性,为了维持正常生理代谢,植物通过体内的酶促清除系统如过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)等抗氧化酶之间相互协调,维持植物体内氧化-抗氧化平衡,从而保障植物正常的生命活动^[5-7]。水杨酸(salicylic acid, SA)是一种可以传递信号的小分子酚类物质,其不仅作为生长调节剂在植物生长发育中发挥着重要作用^[8],还在植物遭受逆境胁迫时,作为

重要的信号分子参与植物相关基因表达、信号传导、活性氧变化等进程^[9-11]。研究表明,外源水杨酸处理能显著提高西洋参^[12]、水曲柳^[13]、藜麦^[14]、大豆^[15]、黑枸杞^[16]等植物的抗氧化酶活性,从而提高作物的抗旱性,但外源水杨酸在果树抗旱中的作用仅在极少数作物中有报道。

本研究以生产中常用的美味猕猴桃砧木品种‘Bruno’为试材,探究外源水杨酸处理对猕猴桃在干旱胁迫下渗透调节物质和抗氧化酶活性的影响,同时探究干旱胁迫下外源水杨酸能否提高猕猴桃的抗旱能力,为猕猴桃实际生产过程中合理使用调节物质提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

以国家西南特色园艺作物种质资源圃保存的美味猕猴桃‘Bruno’作为供试材料,选取长势基本一致的猕猴桃幼苗移栽至花盆中。将花盆置于四川省农业科学院园艺研究所狮子山片区猕猴桃大棚内(30°36′48″N, 104°6′20″E),正常田间管理。

1.2 外源水杨酸处理

水杨酸处理参考Li等^[17]的方法。首先,将水杨酸配制成1、2和4 mmol/L(1 mmol/L=0.138 g/L)3个浓度的溶液。干旱处理前3天采用叶面喷施方式于每天早上8点、晚上6点分别对猕猴桃整株叶片进行喷施,每株喷施25 mL左右,每个浓度处理10株苗,3次重复,以喷施清水的幼苗作为对照。连续处理3天。

1.3 模拟干旱处理

对水杨酸或清水连续处理3天后的猕猴桃幼苗

每天浇灌 25% 的聚乙二醇 6000 (PEG-6000) 溶液 600 mL 进行模拟干旱胁迫;于干旱胁迫后第 1、2、3、4、5 天分别取猕猴桃自上而下第 5~6 片完全叶,用纯水洗净后将表面残留纯水吸拭干净,立即放置于液氮中,保存于超低温(-80 °C)冰箱内,后续进行相关指标测定。

1.4 相关生理指标的测定

丙二醛(MDA)质量分数测定采用硫代巴比妥酸法^[18],样品用三氯乙酸溶解后加入硫代巴比妥酸(TBA)溶液,使用酶标仪测定反应产物在 532 nm 波长处的吸光度;过氧化氢(H₂O₂)质量分数测定采用过氧化氢-四氯化钛反应方法^[19],取适量待测样品溶液加入等量的四氯化钛溶液和硫酸溶液,测定 412 nm 波长处的吸光度;脯氨酸(Pro)质量分数测定采用茚三酮-磺基水杨酸法方法^[20],待测液中加入茚三酮溶液和磷酸缓冲液,混合均匀后沸水浴加热 30 min,反应结束后,加入甲苯进行萃取,将生成的红色产物转移到甲苯层,使用分光光度计在 532 nm 下测定甲苯层的吸光度;超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用氮蓝四唑(NBT)法^[21],样品匀浆离心后取上清加入 NBT 溶液,测定 560 nm 波长下的吸光度;过氧化氢酶(CAT)活性测定采用双氧水(过氧化氢)法^[22],测定 532 和 600 nm 波长下的吸光度。每个指标均进行 3 次重复测定,取平均值。

1.5 数据统计与分析

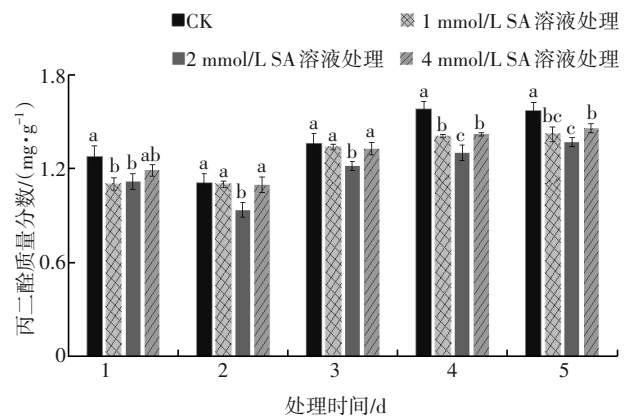
采用 Excel 对数据进行处理并作图,利用 SPSS 27.0 软件对数据进行显著性差异分析。

2 结果与分析

2.1 外源水杨酸对干旱胁迫下猕猴桃叶片丙二醛(MDA)质量分数的影响

从图 1 可知,随着干旱时间的不断延长,‘Bruno’猕猴桃叶片中的 MDA 质量分数整体呈现出上升趋势。在干旱处理后的第 5 天,对照组植株的 MDA 质量分数达到了 1.57 mg/g,与干旱处理第 1 天

相比,上升了 22.7%。此时,经过 1、2 和 4 mmol/L 3 个浓度水杨酸溶液预处理的植株,其 MDA 质量分数分别为 1.42、1.37 和 1.46 mg/g,与对照组相比,分别下降了 9.55%、12.74% 和 7.01%。特别地,使用 2 mmol/L 浓度水杨酸溶液预处理的植株,在干旱胁迫的各个阶段其丙二醛质量分数对照组相比,差异均有统计学意义($P < 0.05$),并且其 MDA 质量分数的上升幅度也是最低的。这些结果表明,外源喷施水杨酸溶液能够有效缓解猕猴桃在干旱胁迫下叶片中 MDA 质量分数的升高,而在所测试的浓度中,2 mmol/L 水杨酸溶液的处理效果最为显著。



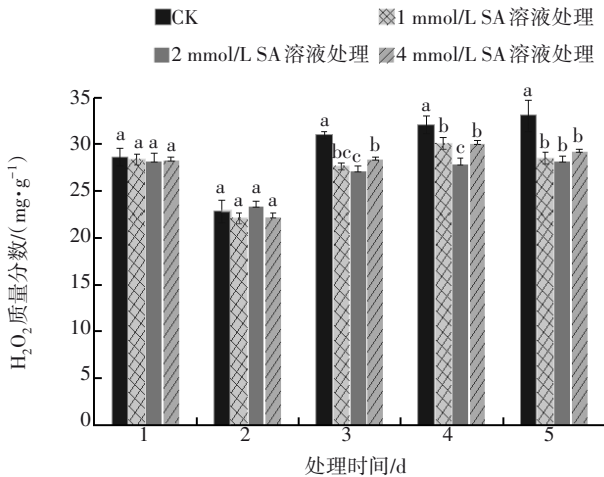
注:不同小写字母表示数据间差异有统计学意义($P < 0.05$)。

图 1 外源 SA 处理对 PEG-6000 胁迫下猕猴桃叶片中 MDA 质量分数的影响

2.2 外源水杨酸对干旱胁迫下猕猴桃叶片过氧化氢(H₂O₂)质量分数的影响

由图 2 可知,随着干旱时间的延长,‘Bruno’猕猴桃叶片中的 H₂O₂ 质量分数呈现先下降后上升的趋势。具体而言,在干旱处理的第 2 天, H₂O₂ 质量分数降至最低点,分别为约 22.81、22.06、23.30 和 22.19 mg/g,且各处理间差异无统计学意义($P > 0.05$)。然而,到了干旱处理的第 5 天,对照组植株的 H₂O₂ 质量分数显著上升至最大值,达到 33.02 mg/g,与干旱处理第 1 天相比增加了 15.37%。相比之下,此时经过 1、2 和 4 mmol/L 3 个浓度水杨酸溶液预处理的植株,其 H₂O₂ 质量分数分别为 28.49、28.13 和 29.21 mg/g,与对照组相比,分别下降了 13.72%、

14.81%和11.54%,差异均有统计学意义($P<0.05$)。其中,用2 mmol/L水杨酸溶液预处理的植株中 H_2O_2 质量分数下降幅度最大。



注:不同小写字母表示数据间差异有统计学意义($P<0.05$)。

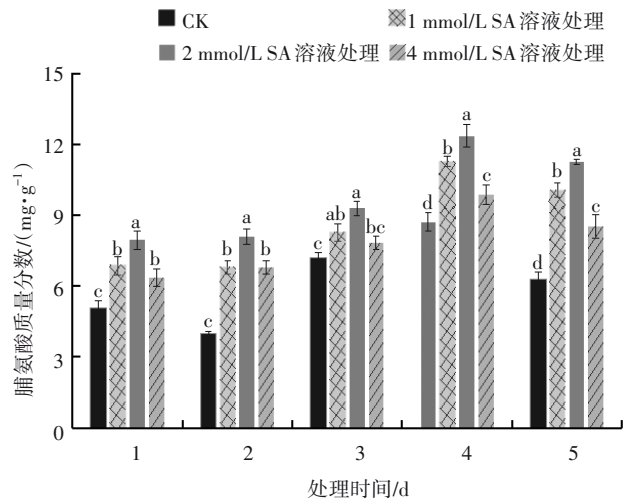
图2 外源SA处理对PFG-6000胁迫下猕猴桃叶片中 H_2O_2 质量分数的影响

2.3 外源水杨酸对干旱胁迫下猕猴桃叶片脯氨酸(Pro)质量分数的影响

如图3所示,随着干旱时间的持续,‘Bruno’猕猴桃叶片Pro质量分数总体呈现先上升后下降的趋势。其中,干旱处理第4天时升高到最大值,分别为8.72、11.28、12.37和9.88 $\mu\text{g/g}$,各处理间差异均有统计学意义($P<0.05$)。干旱处理第5天时,对照植株中Pro质量分数出现下降,为6.29 $\mu\text{g/g}$,相比干旱处理第1天上升了23.96%。此时,用1、2和4 mmol/L 3个浓度水杨酸溶液预处理的植株中Pro质量分数分别为10.07、12.37和8.53 $\mu\text{g/g}$,相比干旱处理第1天分别上升了98.36%、122.32%和68.10%。其中,用2 mmol/L水杨酸溶液预处理的植株中Pro质量分数上升幅度最大。以上结果表明,外源喷施水杨酸溶液可以促进猕猴桃在干旱胁迫下叶片中Pro质量分数的升高,并且用2 mmol/L水杨酸溶液处理效果最显著。

2.4 外源水杨酸对干旱胁迫下猕猴桃叶片超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

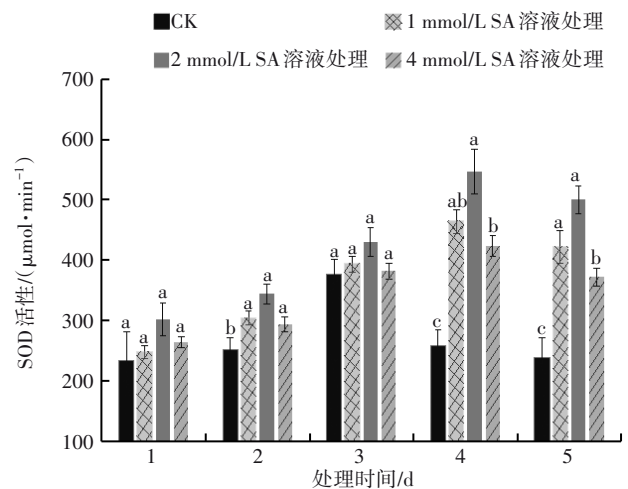
随着干旱时间的持续,‘Bruno’猕猴桃叶片SOD活性总体呈现先上升后下降的趋势(图4)。干旱胁迫



注:不同小写字母表示数据间差异有统计学意义($P<0.05$)。

图3 外源SA处理对PFG-6000胁迫下猕猴桃叶片中Pro质量分数的影响

迫第3天,对照组的SOD活性达到最高值,为375.85 $\mu\text{mol/min}$,相较于干旱胁迫1天时升高了61.4%。叶片用不同浓度水杨酸溶液预处理后,猕猴桃叶片SOD活性得到进一步提升,并在干旱胁迫后第4天达到最高值,其中2 mmol/L水杨酸溶液处理的SOD活性最高,为546.82 $\mu\text{mol/min}$;其次为1 mmol/L浓度水杨酸溶液处理,SOD活性为464.12 $\mu\text{mol/min}$,4 mmol/L水杨酸溶液处理的SOD活性为422.81 $\mu\text{mol/min}$ 。各处理与对照相比,SOD活性分别提升了1.78倍、2.11倍和1.57倍,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

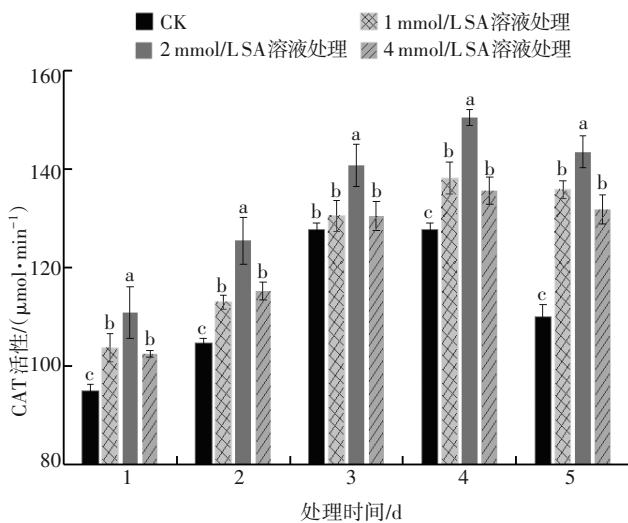


注:不同小写字母表示数据间差异有统计学意义($P<0.05$)。

图4 外源SA处理对PFG-6000胁迫下猕猴桃叶片中SOD活性的影响

2.5 外源 SA 对干旱胁迫下猕猴桃叶片过氧化氢酶 (CAT) 活性的影响

如图 5 所示,随着干旱时间的持续,‘Bruno’猕猴桃叶片 CAT 活性总体呈现先上升后下降的趋势。干旱胁迫第 4 天,对照组的 CAT 活性达到最高值,为 $127.62 \mu\text{mol}/\text{min}$,相较于干旱胁迫第 1 天时升高了 15.97%。叶片用不同浓度水杨酸溶液预处理后,猕猴桃叶片 CAT 活性得到进一步提升,并在干旱胁迫后第 4 天达到最高值,其中 $2 \text{ mmol}/\text{L}$ 水杨酸溶液处理的 CAT 活性最高,为 $150.41 \mu\text{mol}/\text{min}$;其次为 $1 \text{ mmol}/\text{L}$ 水杨酸溶液处理, CAT 活性为 $138.12 \mu\text{mol}/\text{min}$; $4 \text{ mmol}/\text{L}$ 水杨酸溶液处理的 CAT 活性为 $135.54 \mu\text{mol}/\text{min}$ 。各处理与对照相比, CAT 活性分别提升了 45.74%、58.71% 和 43.01%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。



注:不同小写字母表示数据间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

图 5 外源 SA 处理对 PFG-6000 胁迫下猕猴桃叶片中 CAT 活性的影响

3 讨论

植物应对干旱胁迫是动态的过程,受损情况取决于干旱胁迫的持续时长^[23],植物通过生理或生化的变化响应干旱胁迫。当植物遭受干旱胁迫时,细胞内会产生 MDA,其作为膜脂过氧化作用的主要产物会破坏植物细胞,因此,植物体内 MDA 的变化量

在一定程度上能够反映细胞膜脂过氧化的程度和植物的抗旱性^[24]。本研究中,叶片的 MDA 随着干旱胁迫时间的延长而增加,而 SA 处理可以缓解 MDA 的上升幅度。上述结果表明,SA 处理缓解了猕猴桃在干旱胁迫下细胞膜脂过氧化程度的升高。

渗透调节是植物应对干旱胁迫时主动适应环境变化的重要调节机制之一,在维持植物正常生理功能中发挥着重要作用。其中,Pro 能有效调节细胞内的渗透压,稳定细胞膜结构,从而帮助植物在干旱胁迫下保持正常生长与代谢。干旱胁迫引起植物体内蛋白质的分解,大量脯氨酸游离出来,其含量在一定程度上能显示出干旱胁迫下植物的渗透调节能力。本研究中,Pro 含量随着干旱胁迫时间的延长而增加,说明猕猴桃受到干旱胁迫时,Pro 积极响应调节细胞水势,从而降低干旱胁迫对植物造成的影响,而 SA 处理可以促进 Pro 的上升幅度(图 3)。上述结果表明,外源水杨酸处理能诱导植物积累脯氨酸,从而缓解干旱胁迫。

H_2O_2 是植物生理活动中产生的活性氧产物,正常植物体内活性氧通过抗氧化物质和抗氧化酶调节处于平衡状态,抗氧化系统会及时消除体内多余的 H_2O_2 ,所以 H_2O_2 整体含量相对稳定。当植物受到干旱胁迫时,如果体内无法清除过多的 H_2O_2 ,则会损伤植物。干旱胁迫下植物会启动相应的保护机制,其中,酶促保护系统在清除体内过量的自由基中发挥了重要的作用^[7]。其中, SOD 是植物体内清除自由基的第一道防线,其主要作用是将 H_2O_2 分解成 O^{2-} ,然后经 CAT 和 POD 进一步消除^[25],从而防御自由基对细胞的伤害^[26]。SOD 和 CAT 协同下,及时清除植物体内过量的活性氧,维持植物体内活性氧正常水平,因此 SOD 和 CAT 活性的高低可以一定程度上反映猕猴桃抗胁迫的能力。本研究结果表明,外源 SA 处理缓解了干旱胁迫下‘Bruno’猕猴桃叶片 H_2O_2 质量分数的升高,但提高了 SOD 和 CAT 活性,这可能与一定浓度的 SA 溶液可以诱导相关抗氧化

酶基因表达上调并且有效提高植物叶片的光合作用改善植物抗氧化酶系统的过程相关^[27]。

4 结论

本研究探究了外源SA处理对猕猴桃在干旱胁迫下的缓解作用,结果发现,用1、2、4 mmol/L浓度

的SA溶液处理后,猕猴桃在干旱胁迫下叶片中MDA和H₂O₂的质量分数上升幅度显著低于对照,而Pro质量分数、SOD和POD活性上升幅度显著高于对照。上述结果表明,外源SA处理降低了膜脂过氧化程度,增加了渗透调节物质的积累和抗氧化酶活性,从而提高了猕猴桃抗旱性。

参考文献:

- [1] 何科佳,王中炎,王仁才.高温干旱强光对猕猴桃生长发育的影响及其生理基础[J].湖南农业科学,2005(3):42-44.
- [2] 赵军营,王利军,范培格,等.半根交替干旱对‘大久保’桃叶片中几种有机渗透调节物质的影响[J].园艺学报,2006(4):801-804.
- [3] 刘国琴,樊卫国.果树对水分胁迫的生理响应[J].西南农业学报,2000(1):101-106.
- [4] FU Y L, MA H L, CHEN S Y, et al. Control of proline accumulation under drought via a novel pathway comprising the histone methylase CAU1 and the transcription factor ANAC055[J]. Journal of Experimental Botany, 2018, 69(3):579-588.
- [5] 石美娟,续海红,郭华,等.水分胁迫下水肥耦合对矮砧富士幼树生长及保护酶活性的影响[J].干旱地区农业研究,2022,40(1):146-154+162.
- [6] 潘继红,余卫霖,高贤玉,等.香蕉优选2号幼苗对PEG6000模拟干旱的生理响应[J].热带农业科学,2023,43(10):7-11.
- [7] LIU H C, BAO G Z, DOU Z H, et al. Response characteristics of highland barley under freeze-thaw, drought and artemisinin stresses[J]. BMC Plant Biology, 2022, 22(1):126.
- [8] JIA X, WANG L, ZHAO H, et al. The origin and evolution of salicylic acid signaling and biosynthesis in plants[J]. Molecular Plant, 2023, 16(1):245-259.
- [9] DING P, DING Y. Stories of salicylic acid: a plant defense hormone[J]. Trends in Plant Science, 2020, 25(6):549-565.
- [10] KUMAR D. Salicylic acid signaling in disease resistance[J]. Plant Science, 2014, 228:127-134.
- [11] AN C F, MOU Z L. Salicylic acid and its function in plant immunity[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2011, 53(6):412-428.
- [12] 卢超,陈景鲜,王国霞,等.水杨酸对干旱胁迫下西洋参不定根生化指标和药用成分含量及相关基因表达的影响[J].西北植物学报,2023,43(8):1295-1303.
- [13] 申晨静,武文博,耿露冉,等.水杨酸、纳米氧化锌和促生真菌YZ13-1在水曲柳抵御干旱胁迫中的调控作用[J].植物研究,2023,43(3):388-395.
- [14] 康书瑜,庞春花,张永清,等.干旱胁迫下外源水杨酸对藜麦生理效应及产量的影响[J].干旱区资源与环境,2022,36(12):151-157.
- [15] 刘云峰,宋志启,祁志伦,等.外施水杨酸对干旱胁迫下大豆抗性的影响[J].农业科技通讯,2022(9):90-93.
- [16] 可静,李进,李永洁.干旱胁迫下黑果枸杞幼苗对外源水杨酸的生理响应[J].植物生理学报,2016,52(4):497-504.
- [17] LI S, ZHANG Z X, ZHOU C Y, et al. RNA-dependent RNA polymerase 1 delays the accumulation of viroids in infected plants[J]. Molecular Plant Pathology, 2021, 22(10):1195-1208.
- [18] 孙哲,范维娟,刘桂玲,等.干旱胁迫下外源ABA对甘薯苗期叶片光合特性及相关生理指标的影响[J].植物生理学报,2017,53(5):873-880.