

香豆素对水稻幼苗抗寒性的影响

陈桂华^a, 李静波^b, 蔡海林^b, 柏连阳^{b*}

(湖南农业大学 a.农学院; b.生物安全科学技术学院, 湖南 长沙 410128)

摘要: 用香豆素类化合物(前胡香豆素Ⅲ、前胡香豆素Ⅱ、北美芹素), 每种化合物分别设 1、5、10、50、100 mg/L 处理早稻组合培两优 500, 研究在低温(5±1) °C 胁迫下香豆素对水稻幼苗的成苗率、茎叶干重、根干重以及防御酶活性、可溶性蛋白质含量、叶绿素含量和游离脯氨酸含量的影响。结果表明, 3 种香豆素化合物处理均能使水稻幼苗的成苗率、茎叶干重、根干重显著高于对照(清水), 且 50 mg/L 处理时效果最佳。50 mg/L 的香豆素化合物处理均使水稻秧苗在低温胁迫下的过氧化物酶、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶活性、可溶性蛋白质含量和叶绿素含量升高, 游离脯氨酸积累增加。

关键词: 香豆素类化合物; 水稻幼苗; 抗寒性

中图分类号: S511.01 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2010)05-0524-04

Effects of coumarins on cold resistance of rice seedlings

CHEN Gui-hua^a, LI Jing-bo^b, CAI Hai-lin^b, BAI Lian-yang^{b*}

(a.College of Agronomy; b.College of Bio-Safety Science and Technology, HNAU, Changsha 410128, China)

Abstract: The effects of coumarins have been studied on seedling rate, stem and leaf dry weight and root dry weight of the tested rice, as well as defense enzymes, soluble protein content, chlorophyll content and proline content with coumarins (peucedanocoumarin III, Peucedanocoumarin II, pteryxin) (1,5,10,50,100 mg/L). The coumarin compounds have been used to treat the early rice combination Peiliangyou500 with low temperature stress of (5±1) °C. The results showed that three coumarin compounds could make seedling rate, stem and leaf dry weight and root dry weight of the tested rice significantly higher than control, and the effect of 50 mg/L was the best. 50 mg/L coumarin compounds made peroxidase, superoxide dismutase, catalase active and soluble protein content, chlorophyll content. Proline accumulation also increased under low temperature stress.

Key words: coumarin compounds; rice seedling; cold resistance

目前,提高水稻抗寒性主要依赖施用药剂^[1-8]。有研究报道,香豆素在植物体内低浓度时刺激发芽和生长,高浓度时则抑制发芽和生长,香豆素实际上是一种植物生长物质^[9]。另外,香豆素化合物作为植物保护素,还控制植物的生长过程,调节植物的生长活动^[10-11]。Chong等的研究发现,

6-甲氧基-7-羟基香豆素类化合物在植物中可以清除过敏反应引起的过多活性氧^[12]。笔者将从中药前胡中提取鉴定的3种香豆素化合物应用于水稻,采用人工控制低温方法,通过测定水稻叶片细胞内蛋白质、叶绿素、游离脯氨酸、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)

收稿日期: 2010-04-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(30971951); 湖南省重点科技项目(2007NK2005); 湖南省杰出青年科学基金项目(05JJ10005); 湖南农业大学稳定人才基金项目(09WD18)

作者简介: 陈桂华(1977—),女,湖南衡阳人,博士,从事植物病虫害生物防治研究; *通讯作者, bly8253@hunau.net

等指标,探讨香豆素对水稻幼苗抗寒性的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

供试水稻品种培两优 500,由湖南农业大学水稻研究所提供;前胡香豆素Ⅲ、前胡香豆素Ⅱ、北美芹素是从中药前胡中提取的香豆素类化合物,并经湖南化工研究院鉴定。

1.2 方法

1.2.1 种子发芽及幼苗生长试验

水稻种子用 0.1% 的升汞表面灭菌 10 min,用自来水、蒸馏水分别冲洗 3 次后,吸干水分,分装于小烧杯中,分别加入 1、5、10、50、100 mg/L 的 3 种香豆素化合物(重复 3 次)溶液,30 °C 下浸种 48 h 后,用蒸馏水冲洗 3 次,其间每天更换溶液 1 次,以蒸馏水浸种为对照。于 30 °C 黑暗催芽 24 h,检查发芽数,计算发芽率。再选取芽长一致的种子播种,每盆 100 粒,各处理 3 盆,在光照度 4 000 lx、温度(25±2) °C 的人工光照培养箱中培养,每日光照 12 h,当幼苗生长到二叶一心期时,喷施不同质量浓度(同浸种浓度)的香豆素,处理 36 h 后,置于(5±1) °C 低温培养箱处理 48 h,检查死苗数,计算死苗率、成苗率。洗净幼苗,除去种子,剪下苗与根,稍晾干,在 80 °C 下烘 48 h 后称其干重,选择效果最佳的浓度进行后续试验。

1.2.2 低温逆境处理方法

以最佳质量浓度的 3 种香豆素化合物溶液浸种,培养水稻幼苗方法同 1.2.1,当生长到二叶一心期,用上述溶液(与浸种浓度相同)喷洒 1 次,直到叶面滴水为止,对照喷洒蒸馏水,喷洒 36 h 后,将供试材料分成 2 组,一组于原培养条件下继续生长,另一组移至(5±1) °C 低温培养箱处理 48 h,再移回原培养室恢复生长 3 d,分别于药剂处理 36 h 后低温胁迫前、低温胁迫后 48 h 和恢复生长 72 h 后取水稻叶片,测定各项生理生化指标。

1.2.3 生理生化指标测定方法

叶片脯氨酸含量、可溶性蛋白质含量的测定参照文献[13]的方法;叶绿素含量的测定参照文献[14]的方法;过氧化氢酶活性的测定参照文献[15]的方

法;过氧化物酶(POD)活性的测定参照文献[16]方法;超氧化物歧化酶(SOD)活性测定参照文献[17]方法进行。

1.2.4 数据处理

全部试验数据用 Excel 软件初步计算处理,再用 DPS 数据处理系统进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 香豆素处理对水稻种子发芽及幼苗生长特性的影响

试验结果表明,不同质量浓度的香豆素浸种处理对种子的发芽率没有明显的影响,但水稻幼苗的成苗率、茎叶干重、根干重均显著高于对照(表 1)。50 mg/L 的香豆素处理,水稻幼苗的成苗率、茎叶干重、根干重好于其他处理,10 mg/L 处理次之。在 10 mg/L 和 50 mg/L 时 3 种香豆素之间的成苗率差异未能达到显著水平,说明香豆素处理对水稻的抗寒效果没有差别。在其他浓度下,3 种香豆素处理后水稻的成苗率和其他生长特性指标与对照无规律可循。由此可看出,香豆素化合物处理后不仅提高了幼苗的成苗率和秧苗素质,还促进了幼苗在低温逆境后迅速恢复生长。且 50 mg/L 的香豆素对水稻幼苗生长的促进效果最好。

表 1 香豆素化合物处理对水稻抗寒效果的影响

Table 1 The effect of coumarins on cold resistantance in rice seedling

处理	质量浓度 (mg·L ⁻¹)	成苗率 /%	百株茎叶重 /g	百株根重 /g
前胡香豆素Ⅲ	1	56.38i	0.55de	0.52e
前胡香豆素Ⅲ	5	63.18gh	0.57bc	0.54cde
前胡香豆素Ⅲ	10	76.32bcd	0.60a	0.58ab
前胡香豆素Ⅲ	50	80.47ab	0.60a	0.60a
前胡香豆素Ⅲ	100	70.94cde	0.59ab	0.53cde
前胡香豆素Ⅱ	1	59.73hi	0.54e	0.53cde
前胡香豆素Ⅱ	5	66.60efg	0.56cd	0.53cde
前胡香豆素Ⅱ	10	77.17abc	0.59ab	0.54cd
前胡香豆素Ⅱ	50	79.46ab	0.59ab	0.60a
前胡香豆素Ⅱ	100	72.56cde	0.55de	0.53cde
北美芹素	1	64.40fgh	0.53e	0.53e
北美芹素	5	68.61efg	0.55de	0.53de
北美芹素	10	78.97ab	0.59ab	0.57b
北美芹素	50	83.06a	0.60a	0.59a
北美芹素	100	70.06def	0.59ab	0.55c
对照	—	29.86j	0.46f	0.40f

2.2 香豆素对低温逆境下水稻幼苗可溶性蛋白质和游离脯氨酸及叶绿素含量的影响

由表2可以看出,用50 mg/L 香豆素喷雾处理均可增加水稻幼苗可溶性蛋白质、游离脯氨酸、叶绿素含量,与对照相比达到显著水平.低温胁迫后,可溶性蛋白质含量均下降,但香豆素处理较对照显著提高了水稻的可溶性蛋白含量.与低温逆境结束时相比,幼苗在低温结束恢复生长3 d后,可溶性蛋白含量增加,幼苗可溶性蛋白恢复率比对照高,

其中北美芹素处理后的可溶性蛋白含量恢复得最快.经过低温胁迫的水稻幼苗游离脯氨酸含量明显高于对照.低温处理结束恢复生长3 d后,幼苗脯氨酸继续累积,香豆素处理后幼苗脯氨酸含量高于对照,前胡香豆素Ⅲ处理后的脯氨酸含量的增加量高于前胡香豆素Ⅱ和北美芹素处理后的增加量.与低温逆境结束时相比,幼苗在低温结束恢复生长3 d后,叶绿素含量增加,3种香豆素处理后的幼苗叶绿素含量比对照高,三者均达到显著水平.

表2 香豆素对低温处理水稻幼苗可溶性蛋白质和游离脯氨酸及叶绿素含量的影响

Table 2 The influence of coumarins on soluble protein content, chlorophyll content, proline content of rice seedling before and after low temperature treatment

处理	可溶性蛋白质含量/(mg·g ⁻¹)			游离脯氨酸含量/(μg·g ⁻¹)			叶绿素含量/(mg·g ⁻¹)		
	处理前	处理后	恢复生长3 d后	处理前	处理后	恢复生长3 d后	处理前	处理后	恢复生长3 d后
CK	22.14c	11.02c	17.80c	22.31b	41.04c	49.87c	0.59c	0.52d	0.59c
前胡香豆素Ⅲ	27.17b	14.23b	25.05b	29.61a	53.29b	72.49ab	0.62b	0.56c	0.71b
前胡香豆素Ⅱ	27.93a	14.68a	25.56a	29.67a	54.94a	74.02a	0.63b	0.57b	0.72a
北美芹素	27.32b	13.90b	25.12b	28.61a	52.93b	71.19b	0.65a	0.59a	0.71b

2.3 低温逆境下香豆素对水稻幼苗 SOD、POD、CAT 活性的影响

50 mg/L 的香豆素对低温处理前后幼苗叶片 SOD、POD、CAT 活性影响的结果见表3.经喷雾处理36 h后的各处理幼苗叶片的 SOD、POD、CAT 活性均高于对照;低温处理后, SOD 活性均下降,但处理组的活性均比对照组高;恢复生长后,处理组和对照组的 SOD 的活性均升高,超过了低温处理前的活性水平,其中北美芹素处理的 SOD 活性最高,表明50 mg/L 的香豆素处理能使水稻幼苗在

低温胁迫下及恢复生长后维持较高的 SOD 活性.低温逆境处理后,POD 活性均上升,恢复生长3 d后,幼苗过氧化物酶活性也明显高于对照.经香豆素处理36 h后,叶片的 CAT 活性升高,低温处理后, CAT 活性均下降,但香豆素处理均比对照处理幼苗的 CAT 活性高;恢复生长后活性升高,低温对照处理幼苗的 CAT 活性的增加幅度为33.96%,而各化合物处理的幼苗的 CAT 活性的增加幅度分别为58.73%、55.38%、56.06%,明显高于对照.

表3 香豆素对低温处理水稻幼苗 SOD、POD、CAT 活性的影响

Table 3 The influence of coumarins on SOD, POD, CAT activity of rice seedling before and after low temperature treatment

处理	SOD活性/(U·g ⁻¹)			POD活性/(U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)			CAT活性/(U·g ⁻¹)		
	处理前	处理后	恢复生长3 d后	处理前	处理后	恢复生长3 d后	处理前	处理后	恢复生长3 d后
CK	567.55a	422.37a	642.55a	43.92b	69.00b	76.50b	5.67b	4.42b	5.92b
前胡香豆素Ⅲ	904.32b	572.69b	968.53b	79.00a	95.50a	119.08a	7.08a	5.25a	8.33a
前胡香豆素Ⅱ	897.76b	569.51b	967.61b	78.33a	95.83a	119.58a	7.25a	5.42a	8.42a
北美芹素	906.20b	578.69c	973.81c	79.25a	96.33a	119.25a	7.33a	5.50a	8.58a

3 小结与讨论

a. 从前胡中分离得到的3种香豆素用于水稻的抗寒性试验,发现不同浓度的3种香豆素对水稻生长均无药害及抑制生长表现,水稻种子的发芽特

性、幼苗的生长特性均有所改善,除浸种的发芽率与对照没有明显的区别之外,幼苗成苗率、茎叶干重及根干重均显著高于对照.田间试验效果也明显好于对照(将另文发表).

3 种香豆素的处理浓度对水稻的抗寒效果有一定的影响,质量浓度为 50 mg/L 时水稻幼苗抗寒性最好。

b. 对6项生理指标的测定结果表明,3种香豆素化合物均使秧苗在低温胁迫下维持较高的叶绿素含量,能减轻或延缓秧苗体内蛋白质的降解,促进游离脯氨酸的大量积累。50 mg/L的香豆素喷雾处理均能提高幼苗叶片的SOD、POD和CAT活性,低温处理后,三者活性均下降,恢复生长后,三者活性均上升,但在低温处理前后处理组的活性都要比低温对照高,能加强水稻对低温伤害时的防御反应,由此减缓伤害的速度,使幼苗在低温处理后及恢复生长后维持较高的酶活性水平,在一定程度上能维持活性氧和自由基代谢平衡,保护植物免受伤害。

参考文献:

- [1] 黄凤莲,戴良英,罗宽. 药剂诱导水稻抗寒机制研究[J]. 作物学报, 2000, 26(1): 92-97.
- [2] Lee B K, Chai W Y. Effect of mixture of hymexazole and metolaxyl on growth and low temperature injure in rice seedling[J]. Korean Journal of Crop Science, 1990, 35(3): 201-210.
- [3] 罗宽, 斋藤明彦, 何可佳, 等. 作物抗寒剂筛选试验[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 1996, 21(3): 266-271.
- [4] 曾晓春, 刘传飞, 陈善坤. 多效唑PP₃₃₃ 烯效唑S-3307提高水稻幼苗抗逆能力作用机制的研究[J]. 江西农业大学学报, 1994, 15(3): 288-291.
- [5] 李海林, 罗斌. 不同药剂处理对水稻幼苗抗寒性的影响[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(22): 5909-5911.
- [6] 李智念, 王光明, 曾之文. 水稻等作物抗寒中ABA的相关研究[J]. 耕作与栽培, 2003(3): 17-19.
- [7] 许文亮, 李娟, 扶惠华, 等. SODMC对水稻幼苗抗寒性影响的研究[J]. 华中师范大学学报: 自然科学版, 2003, 37(2): 218-221, 226.
- [8] 韩娜, 冯汉青, 李燕鸿, 等. 外源H₂O₂对水稻幼苗抗寒性的调节作用[J]. 西北植物学报, 2009, 29(6): 1214-1219.
- [9] 北京医学院, 北京中医学院. 中草药成分化学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1981: 79-84.
- [10] Van-Sumere C F, Cottenie J, Greef J D, et al. Biochemical studies in relation to the possible germination regulatory role of naturally occurring coumarin and phenolics[J]. Receni Advances in Phtochem, 1972(4): 165-221.
- [11] Zobel A M, Brown S A. Histochemical localization of furanocoumarins in *Ruta graveolens* shoots[J]. Canadian Journal of Botany, 1989, 67: 915-921.
- [12] Chong J, Balz R, Fritig B, et al. An early salicylic acid, pathogen and elicitor-inducible tobacco glucosyltransferase, Role in compartmentalization of phenolics and H₂O₂ metabolism[J]. FEBS Letters, 1999, 458: 204-208.
- [13] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 258-260.
- [14] 张宪政. 作物生理研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1992: 205-206.
- [15] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2002: 124.
- [16] Hammerschmidt R, Kuc J. Lignification as a mechanism for induced systemic resistance in cucumber[J]. Physi Plant Path, 1982, 20: 61-71.
- [17] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 164-169.

责任编辑: 罗慧敏

英文编辑: 胡东平