

水杨酸在植物抵御低温胁迫中的作用

王维领¹, 赵灿¹, 李国辉¹, 许轲¹, 姜东^{2,*}, 霍中洋^{1,*}

¹扬州大学农业部长江流域稻作技术创新中心/江苏省作物栽培生理重点实验室/江苏省粮食作物现代产业技术协同创新中心/扬州大学水稻产业工程技术研究院, 江苏扬州225009

²南京农业大学农业部小麦区域技术创新中心/农业部作物生理生态与生产管理重点实验室, 南京210095

摘要: 低温胁迫是威胁我国粮食安全生产的重要因素之一。水杨酸是植物界中天然存在的一种小分子酚类物质, 它在植物响应生物和非生物胁迫方面具有重要作用。本文较为系统地综述了低温对植物的不利影响、水杨酸在植物体内的代谢途径及对低温的响应, 并从促进产热、缓解氧化胁迫和脱水胁迫等方面初步分析了水杨酸提高植物抗寒性的生理机制。最后探讨了目前该领域中需要进一步研究的若干问题, 以期为深入研究水杨酸诱导植物抗寒性的生理和分子机制提供参考。

关键词: 植物; 低温胁迫; 水杨酸; 代谢途径; 生理机制

低温胁迫是影响植物地理分布、限制农作物产量、威胁粮食安全的主要环境因子之一(董春娟等2015; 李春燕等2015)。由于全球气候变暖引起的植物低温驯化不足、生育期提前等现象将会进一步加重低温胁迫对植物生长和发育的不利影响(Xiao等2018)。Zhong等(2008)研究发现, 我国河南省小麦(*Triticum aestivum*)每年发生冻害胁迫的概率在20世纪70年代大约为40%, 到80年代增加到约50%, 而90年代则达到了78%以上。从1955~2010年期间, 春季低温冻害导致美国堪萨斯州冬小麦年产量损失超过520 kg·ha⁻¹ (Holman等2011)。因此, 如何在日益严峻的气候变化背景下深入探究植物抵御低温胁迫的机理, 寻找合理的栽培管理措施, 对保障我国农作物安全生产具有重要意义。

水杨酸(salicylic acid, SA)是植物界普遍存在的一种小分子酚类物质, 化学名称为邻羟基-苯甲酸(Wang等2020b)。SA的命名来自于拉丁文*Salix* (柳树)。很早以前古人就发现柳树皮和树叶具有缓解关节疼痛和发热症状的功效(An和Mou 2011)。1828年德国科学家Johann A. Buchner从柳树皮中提取出少量淡黄色物质, 并命名为水杨苷。1838年, 意大利化学Raffaele Piria将水杨苷分解为糖和SA。1859年Herman Kolbe及其同事首次用化学方法合成了SA。1897年德国化学家、拜耳员工Felix Hoffmann将水杨酸乙酰化, 之后它被并命名为“*Aspirin*” (阿司匹林), 成为世界上最畅销的药物之一。除了在人类医学方面的应用, SA还广泛参与调

节植物体内的多种生理生化过程, 如植物开花、产热、气孔运动、衰老和细胞自噬等(Khokon等2011; Yoshimoto等2009; 原永兵和曹宗共1991)。因此, Raskin提出SA可以作为一种新的植物内源激素。20世纪90年代, 科学家发现SA在植物获得性系统抗性(system acquired resistance, SAR)过程中具有关键作用(Ryals等1996)。而近20年, 研究人员发现SA在植物应对高低温、盐、重金属等非生物胁迫方面也扮演着重要角色(Khan等2015; Miura和Tada 2014)。本文较为系统地综述了低温胁迫对植物的不利影响、SA代谢途径及对低温的响应和SA诱导植物抗寒性的生理机制, 以期为进一步明确SA在植物应对低温胁迫时具有的作用提供参考。

1 低温胁迫对植物的不利影响

1.1 热力学影响

低温可以在热力学上直接减缓植物的新陈代谢活动。低温降低细胞膜的流动性, 细胞膜由半流动状态转变为半晶体状态, 膜系统的功能性受到限制, 导致一系列与膜相关的生理活动(例如离子转运、电子传递等)无法正常进行(Pirzadah等

收稿 2020-06-12 修定 2020-09-22

资助 国家重点研发计划(2018YFD0300800和2016YFD0300107)和江苏省重点研发计划(BE2018362和BE2019377)。

* 共同通讯作者: 霍中洋(huozhy69@163.com)、姜东(jiangd@njau.edu.cn)。

2014)。另外,低温会改变蛋白结构的热力学平衡,使蛋白质的非极性侧链更有可能暴露在细胞水介质中,直接影响许多球状蛋白的稳定性和溶解性,导致蛋白质或蛋白质复合物的稳定性受到干扰,进而影响各种新陈代谢活动(Siddiqui和Cavicchioli 2006)。Ruellan等(2009)指出,低温还会钝化部分抗氧化酶活性,影响RNA次级结构的形成和稳定性。因此,缓解低温引起的热力学影响对提高植物抗寒性至关重要。

1.2 氧化胁迫

低温不仅可以降低质膜的流动性,还可以抑制质体醌的扩散,从而抑制质膜上的电子传递(Li等2014)。相比之下,光系统(PSI和PSII)天线色素捕获光能以及利用这种能量驱动反应中心电荷分离的能力在很大程度上与外界温度无关,这就打破了能量吸收和释放之间的平衡,导致电子传递链过能量化。过剩的激发能可以直接传递给氧产生单线态氧($^1\text{O}_2$),也可以通过电子传递链将单电子传递给基态氧分子形成超氧阴离子自由基(O_2^-) (Ruellan等2009)。而低温对卡尔文循环的抑制导致电子传递链末端受体NADP的供应不足,从而加剧活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生(张梦如等2014)。由于低温钝化了部分抗氧化酶的活性,不能将这些产生的ROS及时清除,从而导致了ROS的过量积累(Li等2014)。ROS的过量积累会引起膜系统的过氧化反应,损害光合机构;ROS还会破坏蛋白质、核酸等大分子物质的结构和功能,引起细胞生理活动失调(彭皎凤和张磊2000)。因此,ROS的过量积累是低温胁迫诱导植株生理代谢紊乱进而抑制植株生长的重要原因。

1.3 脱水胁迫

零度以下低温胁迫会引起植物的脱水胁迫。在自然条件下,由于质外体细胞液较少,冰点较高,逐渐降低的环境温度会首先引起细胞质外体冰核的形成(Pirzadah等2014)。随着低温的持续,冰核会不断融合扩大,引起质外体水势的进一步降低,细胞内的水分向质外体迁移,导致细胞脱水和收缩(Wang等2020a)。质外体冰晶的扩大不仅会引起细胞脱水,还会对细胞造成一定程度的机械压力,引起细胞变形,破坏细胞壁和细胞器结构,导致细胞器

功能退化和细胞死亡(Ruellan等2009)。因此,细胞脱水胁迫是低温冻害引起植物死亡的主要原因。

综上所述,低温胁迫对植物的不利影响是多方面、多层次的。除热力学因素外,低温胁迫所引起的伤害,主要是由ROS过量积累引起的氧化胁迫,和质外体冰晶形成及融合引起的脱水胁迫造成的。因此,改善低温胁迫下植物的产热能力、抗氧化能力和抗脱水能力是提高植物抗寒性的有效途径。

2 SA代谢途径及对低温的响应

2.1 SA代谢途径

不同物种间内源SA的基础含量差异巨大,例如烟草(*Nicotiana tabacum*)叶片中SA的含量低于 $100 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW),马铃薯(*Solanum tuberosum*)中SA含量约在 $10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW),而水稻(*Oryza sativa*)叶片中SA含量可高达 $37.7 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW) (Sharma 2014; Silverman等1995)。在高等植物中SA的最初合成底物是分支酸,其合成途径包括异分支酸合成酶(isochorismate synthase, ICS)途径和苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)途径。其中ICS途径主要在叶绿体中进行,而PAL途径主要在细胞质中进行(Jayakannan等2015)。研究表明,ICS途径是植物响应病原菌入侵、紫外辐射(UV)胁迫时SA的主要合成途径(Catinot等2008; Wildermuth等2001)。模式作物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)编码2种ICS。然而, *ics1ics2*双突变体在UV胁迫下仍然可以合成部分的SA,而PAL途径可能就是这部分SA的来源(Garcion等2008)。另外,药理学和生物化学的研究表明, PAL途径是植物响应高低温、重金属等非生物胁迫时SA的主要来源(Dong等2014; Kovacs等2014; Pan等2006)。值得注意的是,植物在响应病原菌入侵和UV胁迫时内源SA的含量上调了7~10倍,甚至更多;而在响应镉、低温和干旱等胁迫时SA的上调倍数为1.6~5.5倍。这些研究结果表明, PAL途径可能用于少量SA的合成,而ICS途径则用于大量SA的合成。

Wildermuth等(2001)研究发现,相对于野生型植物,拟南芥ICS突变体*sid2*在遭遇病原菌入侵时仅能合成5%~10%的SA。然而,同样在拟南芥中,

相对于野生型, 敲除全部*PAL*基因的突变体在遭受病原菌入侵时SA含量降低了约50% (Huang等2010)。以上研究表明, 当植物应对复杂多变的外界环境时, 用于SA合成的ICS途径和PAL途径并不是完全孤立的, 而是被整合到一个大的调控网络中, 相互协调和补充。

植物体内产生的SA绝大多数被转换成了无生物学活性的结合态SA, 这在一定程度上避免了因游离态SA过量积累引起的毒害反应(Vlot等2009)。结合态SA是由SA与糖苷、糖脂、甲基或氨基酸等结合形成的水杨酸-葡萄糖苷等复合物, 其中最主要的结合态形式为葡萄糖基水杨酸(SA 2-O- β -D-glucose, SAG)和水杨酸甲酯(methyl salicylate, MeSA) (Jayakannan等2015)。葡萄糖基与SA的偶联反应是由水杨酸糖基转移酶(SA glycosyltransferase, SAGT)催化的, 而甲基与SA的偶联反应是由水杨酸甲基转移酶(SA methyltransferase, SAMT)催化的(Jayakannan等2015)。SAG被转运至液泡中贮藏, 当植物再次遭遇环境胁迫时可被迅速转化为游离态SA, 激活抵御机制(Vlot等2009)。但目前参与催化SAG转化为游离态SA的酶尚不明确。MeSA可以作为系统信号分子在细胞间进行运输, 抵达目的位置时可被水杨酸结合蛋白(SA-binding protein 2, SABP2)或者甲基酯酶(methyl esterase, MES)催化形成游离态SA, 从而诱导植物SAR (Park等2008)。

2.2 内源SA对低温的响应

低温锻炼处理(5°C, 12 d)显著促进了拟南芥内源SA的积累(较对照升高约5.5倍), 抑制了野生型拟南芥植株的生长; 而突变体*NahG* (SA被降解为儿茶酚)在低温锻炼处理下的生物量显著高于野生型植株(Scott等2004), 说明SA在平衡植物生长

和抗性强弱中具有一定的作用。值得注意的是, 低温锻炼处理第1周拟南芥内源SA的含量并没有显著的变化(Kim等2013; Scott等2004)。Shin等(2018)发现低温锻炼(4°C, 9 d)显著提高了菠菜叶片内源SA的含量(较对照升高约5.0倍)并伴随着叶片抗冻性的显著增强。然而, Dong等(2014)在黄瓜(*Cucumis sativus*)和Cheng等(2016)在西瓜(*Citrullus lanatus*)上的研究发现, 低温处理初期(1 d)叶片游离态SA含量便显著升高(较对照上调约1.4和2.2倍)。Kosová等(2012)发现低温锻炼(4°C)第1天小麦叶片内源SA含量呈现下降的趋势, 而在第7天SA含量则显著升高。以上研究表明, 不同植物在应对外界低温时内源SA的变化规律存在一定差异; 另外, 植物在应对低温时其内源SA的水平可能处于动态变化当中。我们在小麦中的研究发现, 低温(10°C)处理1 h后叶片SA的含量较对照处理(22°C/18°C, 昼/夜)有所升高, 于12 h时达到峰值(较对照上调约2.4倍), 之后便迅速下降至对照水平(数据未发表)。由此我们推测, 早期SA含量的迅速升高是植物面对外界环境变化的应激反应, 用于激活其信号途径, 之后便迅速降低, 以避免应激过度; 而当低温持续存在时, 植物需要再次积累SA和其他信号分子对体内各生理过程进行调节和整合, 以提高植物抗寒性(图1)。

Cheng等(2016)研究发现, 低温处理显著上调西瓜叶片*PALs*的表达以及酶活性, 轻微下调了*ICS*的表达。Dong等(2014)在黄瓜上的研究同样发现, *PAL*途径是低温下SA积累的主要来源。而Kim等(2013)在拟南芥中的研究发现, 低温下野生型植株SA的积累伴随着*ICS*表达量的上调, 且*ICS*缺失体*sid2-1*在低温下丧失了积累SA的能力。但值得注

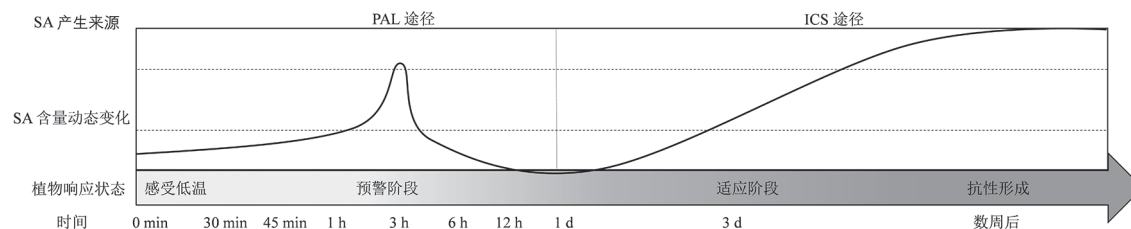


图1 植物内源SA对低温的响应

Fig.1 Response of plant endogenous SA to low temperatures

本图改自Kim等(2013)、Kosová等(2012)和Scott等(2004)文献。

意的是,拟南芥内源SA含量和ICS表达量在低温处理前7 d并没有发生显著变化,而在12 d显著提高,其中SA含量较对照升高5.5倍左右(Kim等2013; Scott等2004)。在黄瓜和西瓜的研究中,SA含量、PAL表达量及酶活性在低温处理第1天便显著增强,其中SA的含量较对照分别升高约1.4和2.3倍(Cheng等2016; Dong等2014)。以上研究结果表明, PAL途径可能主要贡献于低温下早期少量SA的产生,而ICS途径则是低温处理后期SA大量积累的来源(图1)。

虽然一系列研究发现,低温可以诱导植物内源SA的积累,但低温下SA的积累水平和植物抗寒性强弱的关系还不是十分明确。抗寒性较强的*MdcMDH*过表达苹果(*Malus domestica*)植株无论在常温下还是低温下较对照植株均保持了较高的游离态和总SA含量(Wang等2016)。而冬小麦‘Sammanta’(抗寒性较强)较春小麦‘Sandra’(抗寒性较弱)在常温和低温下内源SA含量均保持在较低水平(Kosová等2012)。由此可见,内源SA的基础水平高低与植物抗寒性强弱没有必然的关系。积累较高水平SA的突变体*siz1*、*acd6*显著降低了拟南芥植株的抗寒性(Miura和Ohta 2010),而Kim等(2013)指出低温下SA的积累与拟南芥植物抗寒性并无明显关联。Dong等(2014)和Cheng等(2016)通过药理学研究发现,低温下SA的积累对黄瓜和西瓜抗寒性的提高有重要影响。因此,SA在植物应对低温时所扮演的角色还有待进一步的研究。

3 SA诱导植物抗寒性的生理机理

3.1 SA促进低温下细胞产热

早在1987年就发现SA是天南星科植物佛焰花序产热的“致热源”。经研究表明,生热现象实质上是由于SA诱导了线粒体抗氰呼吸(也称交替呼吸)水平的增加(原永兵和曹宗共1991)。该途径是非磷酸化的氧化途径,能使多余的能量以热能的形式放出(Lei等2010)。SA除了可以诱导产热植物产热外,也可以诱导一些非产热植物产热(Sharma 2014)。在烟草悬浮细胞中加入2~20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的SA显著提高细胞抗氰呼吸容量,同时伴随着细胞产热能力的增强,较对照升高约60%。Lei等(2010)研究发现,外源SA显著增强黄瓜叶片的抗氰呼吸容

量和植株抗寒性。SA诱导植物抗氰呼吸容量增强的主要原因是促进抗氰呼吸末端氧化酶-交替呼吸氧化酶(alternative oxidase, AOX)编码基因的表达,提高AOX的蛋白含量(Lei等2010; Rwm等2004)。Calegario等(2003)研究指出,提高抗氰呼吸的容量可以促进产热,却很难在整体上提高植株的温度,不过由抗氰呼吸产生的热量可能在亚细胞水平具有明显的局部效应,这对缓解低温造成的不利影响具有重要的生理意义。热量是低温抑制植物生长的主要因素。由此可见,增强抗氰呼吸容量可能是SA提高植物抗寒性的重要生理机制。

3.2 SA抑制低温下ROS的积累

SA能够缓解低温引起的氧化伤害主要是通过抑制ROS的产生和促进ROS的清除。上文已提到SA参与调控低温下植物抗氰呼吸容量的变化(Lei等2010)。在拟南芥中过表达*WAOX1a*显著缓解了低温胁迫下ROS的产生(Sugie等2006),这主要是因为抗氰呼吸途径可以快速有效地消耗还原力,减少呼吸电子传递链和光合电子传递链的过还原,从而减少ROS的产生(Zhang等2012)。由此可见,提高抗氰呼吸容量不仅可以促进产热,还可以抑制线粒体和叶绿体ROS的产生。SA可以改变质膜中饱和脂肪酸和非饱和脂肪酸的比例来调整质膜的稳定性(Sayyari等2017),缓解低温对电子传递的抑制,进而减少ROS的产生。

SA属于小分子酚类物质,自身具有清除ROS的能力(Dong等2014; 吴冰等2015)。另外,SA可以提高抗氧化酶活性和非酶类抗氧化物质的含量,促进低温胁迫下ROS的清除(Wang等2020b)。植物体内主要的抗氧化酶包括超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、谷胱甘肽转移酶(glutathione-S-transferase, GST)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)、谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)、脱氢抗坏血酸还原酶(dehydroascorbic acid reductase, DHAR)和单脱氢抗坏血酸还原酶(monodehydroascorbate reductase, MDHAR)等,而非酶类抗氧化物质主要有抗坏血酸(ascorbic acid, ASA)、还原型谷胱甘肽(reduced

glutathione, GSH)、多酚、类黄酮和花青素等(Wang等2018b)。其中, APX、GR、DHAR和MDHAR是维持ASA-GSH循环的关键酶(Wang等2018b)。外源SA浸种显著提高了低温胁迫下玉米(*Zea mays*)幼苗SOD、CAT和APX的活性, 有效缓解了低温引起的氧化胁迫(Farooq等2008)。在营养液中添加SA显著提高了低温胁迫下黄瓜、玉米叶片POD、GR的活性(Kang和Saltveit 2002)。外源喷施SA显著提高低温胁迫下茄子(*Solanum melongena*)叶片GST、APX、DHAR、MDHAR的活性及其编码基因的表达, 从而在一定程度上提高了ASA和GSH的含量(Chen等2011)。经SA浸泡后的柠檬(*Citrus limon*)果实在低温贮藏过程中具有较高的总酚含量和较低的低温伤害指数(Siboza等2014)。以上研究说明, SA通过提高抗氧化能力(包括抗氧化酶活性和抗氧化物质含量)缓解低温引起氧化伤害的机制在植物中具有普遍性。但SA对氧化胁迫的缓解作用依赖于SA的施用浓度、施用方式(浸种、根部吸收和叶面喷施等)和植物的生长状态等(Miura和Tada 2014)。这就要求在利用SA缓解逆境胁迫时要综合考虑以上几点因素。一般情况下, 低浓度SA有利于缓解胁迫引起的氧化胁迫, 而高浓度则会加重氧化胁迫(Miura和Tada 2014)。综上所述, SA不仅可以抑制低温下ROS的产生, 还能促进ROS的清除, 进而维持细胞的氧化还原平衡和生命活动的正常进行。

3.3 SA缓解低温下细胞的脱水

在低温冻害条件下, 越冬植物可以向质外体分泌抗冻蛋白(antifreeze proteins, AFPs), 抗冻蛋白可以与冰晶结合并整合到冰晶中以抑制冰晶的扩展和融合, 从而阻止细胞的脱水(Ruellan等2009)。低温下*TaIRI1*和*TaIRI2* (AFP编码基因)的转录水平与小麦的抗寒性显著正相关(Tremblay等2005)。绝大多数AFPs是病程相关蛋白(pathogenesis related proteins, PRs), 包括几丁质酶、 β -1,3-葡聚糖酶等(Ruellan等2009)。PRs的表达水平与SA信号途径密切相关(An和Mou 2011)。Yu等(2001)研究发现, 正常生长温度下SA诱导的质外体PRs不具有AFPs活性。我们的研究发现, SA预处理显著提高了低温胁迫下小麦叶片*TaIRI1*的表达(数据未发表)。因

此, 提高低温下AFPs的积累水平可能是SA缓解低温冻害引起细胞脱水的重要机制。

当遭遇脱水胁迫时, 植物常主动积累一些有机或无机物来提高细胞液浓度, 降低渗透势, 提高细胞的吸水和保水能力, 其中较为主要渗透调节物质包括可溶性糖(蔗糖、果糖、果聚糖等)、脯氨酸和甜菜碱等(Wang等2020a, 2019)。外源SA可以显著提高低温胁迫下植物可溶性糖、脯氨酸和甜菜碱含量, 并伴随着抗寒性的显著提高(Aghdam等2016; Farooq等2008; Luo等2014)。由此可见, SA能够通过促进低温下植物渗透调节物质的积累, 提高细胞的吸水和保水能力, 缓解低温引起的脱水伤害。吴冰等(2015)在小麦中的研究发现, SA通过提高叶片和根茎中蔗糖合成相关酶(蔗糖磷酸合成酶、蔗糖合成酶)的活性及其相关基因(*TaSPS*、*TaSS*)的表达, 降低蔗糖分解有关酶(蔗糖酸性转化酶、碱性/中性转化酶)的活性及其相关基因(*TaSA-Inv*、*TaA/N-Inv*)的表达, 来促进低温胁迫下蔗糖的积累。但关于SA对低温下脯氨酸和甜菜碱代谢途径影响的研究鲜有报道。

脱水蛋白(dehydrins, DHNs)在植物响应低温时具有重要作用。它具有亲水性, 在低温下具有稳定膜结构、防止蛋白变性、抗氧化剂、抗冻蛋白的功能(Ruellan等2009), 其中COR (cold regulated)、LTI (low temperature induced)和RAB (responsible for ABA regulation)都属于DHN家族。WCS120也是脱水蛋白的一种, 因其蛋白水平与小麦抗寒性密切相关而被认为是评价禾本科植物抗寒性强弱的分子标记(Houde等1992)。这些脱水蛋白的表达主要受转录因子CBF/DREB (C-repeat binding factor/dehydration-responsive element binding)的调控(Chinnusamy等2007)。Dong等(2014)研究发现, 喷施SA的合成抑制剂多效唑(paclobutrazol, PAC)显著抑制了低温胁迫下黄瓜叶片CBFs、*COR47*以及*RAB18*的表达; 外源补施SA后CBFs、*COR47*以及*RAB18*的表达显著升高。此外, 在小麦、番茄(*Solanum lycopersicum*)、杏(*Prunus armeniaca*)和桃(*Prunus persica*)等植物上研究同样发现, SA诱导的抗寒性与其上调CBFs和CORs的表达有关(Ding等2016; Wang等2018a; Zhang等2017; 张俊环等

2014)。然而, Miura和Ohta (2010)发现, 拟南芥突变体*siz1-2* (SA含量较高)较野生型植株显著抑制了*CBF3*和*COR47*的表达, 而*siz1-2 nahG*双突变体 (SA含量相对降低)较*siz1-2*上调了*CBF3*和*COR47*的表达。在西瓜上的研究同样发现, 喷施SA的合成抑制剂 α -氨基氧乙酸- β -苯丙酸(L- α -aminooxy- β -phenylpropionic acid, AOPP)显著上调了*CBF3*、*CBF4*和*DHN2*的表达, 而外源喷施SA可抑制AOPP的效应(Cheng等2016)。以上研究表明SA信号途径和CBF-COR途径有一定的交互作用, 但之间的调控关系还有待进一步的明确。

3.4 SA与其他信号分子间的相互作用

ROS在植物中具有双面性, 当其含量过高时会对蛋白质、脂类、DNA、RNA等大分子的结构造成破坏; 而当其浓度较低时可以作为第二信使参与植物对环境胁迫的响应, 尤其是半衰期较长过氧化氢(hydrogen peroxide, H_2O_2) (Xia等2009)。ROS属于植物响应低温的早期信号, 除了与钙信号的相互作用外, ROS还可以调控一些受氧化还原信号控制的转录因子和蛋白激酶的活性, 从而影响一系列冷响应基因的表达, 比如*CBF*和*COR*等(Baier等2019; Chinnusamy等2007)。外源施用适当浓度的 H_2O_2 可以显著提高植物的抗寒性(Xia等2009; Yu等2003)。Chen等(1993)等研究发现, SA受体蛋白SABP与CAT具有高度同源性, 并证明SA通过抑制CAT活性引起 H_2O_2 的积累进而诱导拟南芥SAR。在玉米、马铃薯、芥菜(*Brassica juncea*)和葡萄(*Vitis vinifera*)上根施和叶面喷施SA同样降低了CAT活性而引起 H_2O_2 的积累, 进而提高对低温、高温等非生物胁迫的抵抗力(Dat等1998; Lopez-Delgado等1998; Wang和Li 2006)。然而, 也有报道指出SA主要通过提高质膜NADPH氧化酶、细胞壁过氧化物酶活性诱导质外体ROS的产生(Agarwala等2005; Kawano 2003; Khokon等2011; Wang等2018a)。Mora-Herrera等(2005)研究发现, SA诱导马铃薯抗寒性提高不一定伴随着 H_2O_2 的积累, 且 H_2O_2 的积累也不一定参与SA诱导马铃薯抗寒性的提高。Wang等(2018a)通过药理学的方法证明 H_2O_2 在SA诱导小麦抗寒性提高过程中具有关键作用。

脱落酸(abscisic acid, ABA)在响应外界低温及

植物抗寒性形成过程中扮演着重要角色(Kurepin等2012; Ruellan等2009)。ABA不仅可以直接调控*CBF*、*COR*的表达水平以影响植物抗寒性, 还可以通过与其他信号物质的相互作用而影响植物抗寒性(Gusta等2005; Ruellan等2009)。Xie等(2007)研究发现, 外源SA通过上调*WRKY70* (受ABA调控)的表达而抑制大麦种子的萌发, 并推测SA信号与ABA信号可能存在一定的相互作用。外源ABA处理可以显著提高玉米叶片内源SA的含量, 并伴随着植株抗寒性的提高(Pal等2011)。外源SA能够通过上调ABA合成关键酶醛氧化酶编码基因*SIAO1*和*SIAO2*、玉米黄质环氧化酶编码基因*SIZEP1*、胡萝卜裂解双加氧酶编码基因*SICCD1A*和*SICCD1B*等的表达促进番茄叶片内源ABA的合成, 进而提高其耐盐性(Horvath等2015)。Jesus等(2015)发现SA不仅可以诱导ABA的合成, 还可以调节ABA的再分配, 从而提高桉树(*Eucalyptus globulus*)的抗旱性。ABA合成抑制剂氟丁酮(fluridone, Flu)预处理能够显著抑制SA诱导小麦抗寒性提高的能力(Wang等2018a)。

综上所述, ROS和ABA信号在SA诱导植物非生物胁迫抗性中可能起着重要的作用。除ROS和ABA信号之外, 钙、乙烯、茉莉酸等信号分子与SA信号也存在一定的相互作用(Babalara等2007; Flors等2008; Khokon等2011), 且这些信号分子在植物响应外界低温时具有重要作用(Baier等2019)。由此可知, SA可能通过与其他信号分子的相互作用共同完成植物在不同层面上状态的转变, 从而提高植物抗寒性。

4 展望

通过科学家近20年来的研究, SA在植物抗病性的上的功能及其信号转导途径已经较为清楚。然而, 植物在应对非生物胁迫尤其是低温胁迫时SA的代谢变化、信号转导途径以及其所扮演的角色还有待进一步的研究。虽然已经明确低温可以促进植物组织中SA的合成, 但低温下SA的来源途径(PAL途径或ICS途径)还存在争议, 这可能与物种、取样时间、低温处理的强度及持续时间等因素有一定的关系。其次, 植株组织中SA的积累是

否有贡献于植物抗寒性的提高也存在争议。利用药理学或遗传学方法获得不同SA含量的材料将有利于避免因SA含量过度减少或者积累引起的副作用, 有利于准确判断SA对植物抗寒性获得的影响。另外, SA信号和CBF-COR途径之间的相互调控关系也需要进一步的明确。最后, 植物在应对生物胁迫时SA的信号转导途径是否也参与了植物对低温胁迫的响应也是值得研究的问题。

参考文献(References)

- Agarwala S, Sairama RK, Srivastava GC, et al (2005). Role of ABA, salicylic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedlings. *Plant Sci*, 169: 559–570
- Aghdam MS, Jannatizadeh A, Sheikh-Assadi M, et al (2016). Alleviation of postharvest chilling injury in anthurium cut flowers by salicylic acid treatment. *Sci Hortic*, 202: 70–76
- An C, Mou Z (2011). Salicylic acid and its function in plant immunity. *J Integr Plant Biol*, 53: 412–428
- Babalara M, Asghari M, Talaei A, et al (2007). Effect of pre- and postharvest salicylic acid treatment on ethylene production, fungal decay and overall quality of Selva strawberry fruit. *Food Chem*, 105: 449–453
- Baier M, Bittner A, Prescher A, et al (2019). Preparing plants for improved cold tolerance by priming. *Plant Cell Environ*, 42: 782–800
- Calegario FF, Cosso RG, Fagian MM, et al (2003). Stimulation of potato tuber respiration by cold stress is associated with an increased capacity of both plant uncoupling mitochondrial protein (PUMP) and alternative oxidase. *J Bioenerg Biomembr*, 35: 211–220
- Catinot J, Buchala A, Abou-Mansour E, et al (2008). Salicylic acid production in response to biotic and abiotic stress depends on isochorismate in *Nicotiana benthamiana*. *FEBS Lett*, 582: 473–478
- Chen S, Zime L, Cui J, et al (2011). Alleviation of chilling-induced oxidative damage by salicylic acid pretreatment and related gene expression in eggplant seedlings. *Plant Growth Regul*, 65: 101–108
- Chen Z, Silva H, Klessig DF (1993). Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. *Science*, 262: 1883–1886
- Cheng F, Lu JY, Min G, et al (2016). Redox signaling and CBF-responsive pathway are involved in salicylic acid-improved photosynthesis and growth under chilling stress in watermelon. *Front Plant Sci*, 7: 1519
- Chinnusamy V, Zhu J, Zhu JK (2007). Cold stress regulation of gene expression in plants. *Trends Plant Sci*, 12: 444–451
- Dat JF, Lopez-Delgado H, Foyer CH, et al (1998). Parallel changes in H_2O_2 and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedlings. *Plant Physiol*, 116: 1351–1357
- Ding Y, Zhao J, Nie Y, et al (2016). Salicylic-acid-induced chilling-and oxidative-stress tolerance in relation to gibberellin homeostasis, C-Repeat/Dehydration-Responsive Element Binding Factor pathway, and antioxidant enzyme systems in cold-stored tomato fruit. *J Agric Food Chem*, 64: 8200–8206
- Dong CJ, Li L, Cao N, et al (2015). Roles of phenylalanine ammonia-lyase in low temperature tolerance in cucumber seedlings. *Chin J Appl Ecol*, 26: 2041–2049 (in Chinese with English abstract) [董春娟, 李亮, 曹宁等(2015). 苯丙氨酸解氨酶在诱导黄瓜幼苗抗寒性中的作用. *应用生态学报*, 26: 2041–2049]
- Dong CJ, Li L, Shang QM, et al (2014). Endogenous salicylic acid accumulation is required for chilling tolerance in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings. *Planta*, 240: 687–700
- Farooq M, Aziz T, Basra SMA, et al (2008). Chilling tolerance in hybrid Maize induced by seed priming with salicylic acid. *J Agron Crop Sci*, 194: 161–168
- Flors V, Ton J, Van Doorn R, et al (2008). Interplay between JA, SA and ABA signalling during basal and induced resistance against *Pseudomonas syringae* and *Alternaria brassicicola*. *Plant J*, 54: 81–92
- Garcion C, Lohmann A, Lamodièr E, et al (2008). Characterization and biological function of the *ISOCHORISMATE SYNTHASE2* gene of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 147: 1279–1287
- Gusta L, Trischuk R, Weiser C (2005). Plant cold acclimation: the role of abscisic acid. *J Plant Growth Regul*, 24: 308–318
- Holman JD, Schlegel AJ, Thompson CR, et al (2011). Influence of precipitation, temperature, and 56 years on winter wheat yields in western Kansas. *Crop Manage*, 10: 1–10
- Horvath E, Csiszar J, Gallw A, et al (2015). Hardening with salicylic acid induces concentration-dependent changes in abscisic acid biosynthesis of tomato under salt stress. *J Plant Physiol*, 183: 54–63
- Houde M, Danyluk J, Laliberté JF, et al (1992). Cloning, characterization, and expression of a cDNA encoding a 50-kilodalton protein specifically induced by cold acclimation in wheat. *Plant Physiol*, 99: 1381–1387
- Huang J, Gu M, Lai Z, et al (2010). Functional analysis of the *Arabidopsis PAL* gene family in plant growth, develop-

- ment and response to environmental stress. *Plant Physiol*, 153: 1526–1538
- Jayakannan M, Bose J, Babourina O, et al (2015). Salicylic acid in plant salinity stress signalling and tolerance. *Plant Growth Regul*, 76: 25–40
- Jesus C, Meijon M, Monteiro P, et al (2015). Salicylic acid application modulates physiological and hormonal changes in *Eucalyptus globulus* under water deficit. *Environ Exp Bot*, 118: 56–66
- Kang HM, Saltveit ME (2002). Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots are differentially affected by salicylic acid. *Physiol Plantarum*, 115: 571–576
- Kawano T (2003). Roles of the reactive oxygen species-generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction. *Plant Cell Rep*, 21: 829–837
- Khan MI, Fatma M, Per TS, et al (2015). Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. *Front Plant Sci*, 6: 462
- Khokon MAR, Okuma E, Hossain MA, et al (2011). Involvement of extracellular oxidative burst in salicylic acid-induced stomatal closure in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ*, 34: 434–443
- Kim Y, Park S, Gilmour SJ, et al (2013). Roles of CAMTA transcription factors and salicylic acid in configuring the low-temperature transcriptome and freezing tolerance of *Arabidopsis*. *Plant J*, 75: 364–376
- Kosová K, Prášil IT, Vítámvás P, et al (2012). Complex phytohormone responses during the cold acclimation of two wheat cultivars differing in cold tolerance, winter Samanta and spring Sandra. *J Plant Physiol*, 169: 567–576
- Kovacs V, Gondor OK, Szalai G, et al (2014). Synthesis and role of salicylic acid in wheat varieties with different levels of cadmium tolerance. *J Hazard Mater*, 280: 12–19
- Kurepin LV, Dahal KP, Savitch LV, et al (2012). Role of CBFs as integrators of chloroplast redox, phytochrome and plant hormone signaling during cold acclimation. *Int J Mol Sci*, 14: 12729–12763
- Lei T, Feng H, Sun X, et al (2010). The alternative pathway in cucumber seedlings under low temperature stress was enhanced by salicylic acid. *Plant Growth Regul*, 60: 35–42
- Li CY, Xu W, Liu LW, et al (2015). Changes of endogenous hormone contents and antioxidative enzyme activities in wheat leaves under low temperature stress at jointing stage. *Chin J Appl Ecol*, 26: 2015–2022 (in Chinese with English abstract) [李春燕, 徐雯, 刘立伟等(2015). 低温条件下拔节期小麦叶片内源激素含量和抗氧化酶活性的变化. *应用生态学报*, 26: 2015–2022]
- Li X, Cai J, Liu F, et al (2014). Cold priming drives the sub-cellular antioxidant systems to protect photosynthetic electron transport against subsequent low temperature stress in winter wheat. *Plant Physiol Biochem*, 82: 34–43
- Lopez-Delgado H, Dat JF, Foyer CH, et al (1998). Induction of thermotolerance in potato microplants by acetylsalicylic acid and H₂O₂. *J Exp Bot*, 49: 713–720
- Luo YL, Su ZL, Bi TJ, et al (2014). Salicylic acid improves chilling tolerance by affecting antioxidant enzymes and osmoregulators in sachinchi (*Plukenetia volubilis*). *Braz J Bot*, 37: 357–363
- Miura K, Ohta M (2010). SIZ1, a small ubiquitin-related modifier ligase, controls cold signaling through regulation of salicylic acid accumulation. *J Plant Physiol*, 167: 555–560
- Miura K, Tada Y (2014). Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. *Front Plant Sci*, 5: 1–12
- Mora-Herrera ME, Lopez-Delgado H, Castillo-Morales A, et al (2005). Salicylic acid and H₂O₂ function by independent pathways in the induction of freezing tolerance in potato. *Physiol Plantarum*, 125: 430–440
- Pal M, Janda T, Szalai G (2011). Absciscic acid may alter the salicylic acid-related abiotic stress response in maize. *J Agron Crop Sci*, 197: 368–377
- Pan Q, Zhan J, Liu H, et al (2006). Salicylic acid synthesized by benzoic acid 2-hydroxylase participates in the development of thermotolerance in pea plants. *Plant Sci*, 171: 226–233
- Park SW, Kaimoyo E, Kumar D, et al (2008). Methyl salicylate is a critical mobile signal for plant systemic acquired resistance. *Science*, 318: 113–116
- Peng JF, Zhang L (2000). Causes for the formation and reduction mechanisms of photooxidation. *Life Sci Res*, (S1): 83–90 (in Chinese with English abstract) [彭皎凤, 张磊 (2000). 光氧化的成因及其削减机制. *生命科学研究*, (S1): 83–90]
- Pirzadah TB, Malik B, Rehman RU, et al (2014). Signaling in response to cold stress. In: Hakeem KR, Rehman RU, Tahir I (eds). *Plant Signaling: Understanding the Molecular Crosstalk*. 10th ed. Springer India, 193–226
- Ruellan E, Vaultier M, Zachowski A, et al (2009). Cold signalling and cold acclimation in plants. *Adv Bot Res*, 49: 135–150
- Rwm F, Wang CY, Smith DL, et al (2004). MeSA and MeJA increase steady-state transcript levels of alternative oxidase and resistance against chilling injury in sweet peppers (*Capsicum annuum* L.). *Plant Sci*, 166: 711–719
- Ryals JA, Neuenschwander UH, Willits MG, et al (1996). Systemic acquired resistance. *Plant Cell*, 8: 1809–1819
- Sayyari M, Valero D, Serrano M (2017). Pre-storage salicylic acid treatment affects functional properties, unsaturated/

- saturated fatty acids ratio and chilling resistance of pomegranate during cold storage. *Int Food Res J*, 24: 637–642
- Scott IM, Clarke SM, Wood JE, et al (2004). Salicylate accumulation inhibits growth at chilling temperature in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 135: 1040–1049
- Sharma P (2014). Salicylic acid: a novel plant growth regulator—role in physiological processes and abiotic stresses under changing environments. In: Narendra T, Sarvajeet SG (eds). *Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance*. 36th ed. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 939–989
- Shin H, Min K, Arora R (2018). Exogenous salicylic acid improves freezing tolerance of spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves. *Cryobiology*, 81: 192–200
- Siboza XI, Bertling I, Odindo AO (2014). Salicylic acid and methyl jasmonate improve chilling tolerance in cold-stored lemon fruit (*Citrus limon*). *J Plant Physiol*, 171: 1722–1731
- Siddiqui KS, Cavicchioli R (2006). Cold-adapted enzymes. *Annu Rev Biochem*, 75: 403–433
- Silverman P, Seskar M, Kanter D, et al (1995). Salicylic acid in rice (biosynthesis, conjugation, and possible role). *Plant Physiol*, 108: 633–639
- Sugie A, Naydenov N, Mizuno N, et al (2006). Overexpression of wheat alternative oxidase gene *Waox1a* alters respiration capacity and response to reactive oxygen species under low temperature in transgenic *Arabidopsis*. *Genes Genet Syst*, 81: 349–354
- Tremblay K, Ouellet F, Fournier J, et al (2005). Molecular characterization and origin of novel bipartite cold-regulated ice recrystallization inhibition proteins from cereals. *Plant Cell Physiol*, 46: 884–891
- Vlot AC, Dempsey MA, Klessig DF (2009). Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annu Rev Phytopathol*, 47: 177–206
- Wang LJ, Li S (2006). Thermotolerance and related antioxidant enzyme activities induced by heat acclimation and salicylic acid in grape (*Vitis vinifera* L.) leaves. *Plant Growth Regul*, 48: 137–144
- Wang QJ, Sun H, Dong QL, et al (2016). The enhancement of tolerance to salt and cold stresses by modifying the redox state and salicylic acid content via the *cytosolic malate dehydrogenase* gene in transgenic apple plants. *Plant Biotechnol J*, 14 (10): 1986–1997
- Wang W, Wang X, Huang M, et al (2020a). Alleviation of field low-temperature stress in winter wheat by exogenous application of salicylic acid. *J Plant Growth Regul*, DOI: 10.1007/s00344-020-10144-x
- Wang W, Wang X, Huang M, et al (2018a). Hydrogen peroxide and abscisic acid mediate salicylic acid-induced freezing tolerance in wheat. *Front Plant Sci*, 9: 1137
- Wang W, Wang X, Zhang J, et al (2020b). Salicylic acid and cold priming induce late-spring freezing tolerance by maintaining cellular redox homeostasis and protecting photosynthetic apparatus in wheat. *Plant Growth Regul*, 90: 109–121
- Wang X, Mao Z, Zhang J, et al (2019). Osmolyte accumulation plays important roles in the drought priming induced tolerance to post-anthesis drought stress in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Environ Exp Bot*, 166: 103804–103813
- Wang X, Zhang X, Chen J, et al (2018b). Parental drought-priming enhances tolerance to post-anthesis drought in offspring of wheat. *Front Plant Sci*, 9: 261
- Wildermuth MC, Dewdney J, Wu G, et al (2001). Isochorismate synthase is required to synthesize salicylic acid for plant defence. *Nature*, 414: 562–566
- Wu B, Cang J, Zhang D, et al (2015). Effects of SA treatment on winter wheat (*Triticum aestivum* L.) sucrose metabolism in low temperature. *Plant Physiol J*, 51: 537–545 (in Chinese with English abstract) [吴冰, 苍晶, 张达等 (2015). SA处理对低温胁迫下冬小麦(*Triticum aestivum* L.)蔗糖代谢的影响. *植物生理学报*, 51: 537–545]
- Xia X, Wang Y, Zhou Y, et al (2009). Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-induced stress tolerance in cucumber. *Plant Physiol*, 150: 801–814
- Xiao L, Liu L, Asseng S, et al (2018). Estimating spring frost and its impact on yield across winter wheat in China. *Agr Forest Meteorol*, 260: 154–164
- Xie Z, Zhang Z-L, Hanzlik S, et al (2007). Salicylic acid inhibits gibberellin-induced alpha-amylase expression and seed germination via a pathway involving an abscisic-acid-inducible *WRKY* gene. *Plant Mol Biol*, 64: 293–303
- Yoshimoto K, Jikumaru Y, Kamiya Y, et al (2009). Autophagy negatively regulates cell death by controlling NPR1-dependent salicylic acid signaling during senescence and the innate immune response in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 21: 2914–2927
- Yu C-W, Murphy TM, Lin C-H (2003). Hydrogen peroxide-induced chilling tolerance in mung beans mediated through ABA-independent glutathione accumulation. *Funct Plant Biol*, 30: 955–963
- Yu X, Griffith M, Wiseman S (2001). Ethylene induces anti-freeze activity in winter rye leaves. *Plant Physiol*, 126: 1232–1240
- Yuan YB, Cao ZG (1991). The role of salicylic acid in plants. *Chin Bull Bot*, 11: 1–9 (in Chinese with English abstract) [原永兵, 曹宗共(1991). 水杨酸在植物体内的作用. *植物学通报*, 11: 1–9]
- Zhang BB, Guo L, Song ZZ, et al (2017). Effect of salicylic

- acid on freezing injury in peach floral organs and the expressions of *CBF* genes. *Biol Plantarum*, 61: 622–630
- Zhang JH, Wang YZ, Sun YH, et al (2014). Effects of exogenous salicylic acid on antioxidant enzymes and CBF transcription factor in apricot (*Prunus armeniaca* L.) flowers under chilling stress. *Plant Physiol J*, 50: 171–177 (in Chinese with English abstract) [张俊环, 王玉柱, 孙浩元等(2014). 外源水杨酸对低温下杏花抗氧化酶和CBF转录因子表达的影响. *植物生理学报*, 50: 171–177]
- Zhang LT, Zhang ZS, Gao HY, et al (2012). The mitochondrial alternative oxidase pathway protects the photosynthetic apparatus against photodamage in *Rumex K-1* leaves. *BMC Plant Biol*, 12: 40
- Zhang MR, Yang YM, Cheng WX, et al (2014). Generation of reactive oxygen species and their functions and deleterious effects in plants. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 34: 1916–1926 (in Chinese with English abstract) [张梦如, 杨玉梅, 成蕴秀等(2014). 植物活性氧的产生及其作用和危害. *西北植物学报*, 34: 1916–1926]
- Zhong X, Mei X, Li Y, et al (2008). Changes in frost resistance of wheat young ears with development during jointing stage. *J Agron Crop Sci*, 194: 343–349

Role of salicylic acid in plant response to cold stress

WANG Weiling¹, ZHAO Can¹, LI Guohui¹, XU Ke¹, JIANG Dong^{2,*}, HUO Zhongyang^{1,*}

¹Innovation Center of Rice Cultivation Technology in Yangtze River Valley of Ministry of Agriculture/Jiangsu Key Laboratory of Crop Cultivation and Physiology/Jiangsu Co-Innovation Center for Modern Production Technology of Grain Crops/Research Institute of Rice Industrial Engineering Technology, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China

²National Technique Innovation Center for Regional Wheat Production/Key Laboratory of Crop Physiology, Ecology and Production, MOA/National Engineering and Technology Center for Information Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

Abstract: Cold stress is one of the most important factors threatening the security of grain production in China. Salicylic acid (SA) is a naturally occurring phenolic compound in plants and plays an important role in plant response to biotic and abiotic stresses. The adverse effects of cold stress on plants, the metabolic pathways of SA in plants and its response to low temperature were systematically reviewed, and the physiological mechanism of SA in improving plant cold tolerance was preliminarily analyzed from the aspects of promoting heat production, alleviating oxidation and dehydration damage. Furthermore, some points that need further investigate in this field were also discussed, in hope of providing reference for further revealing the physiological and molecular mechanisms underlying SA-induced cold tolerance in plant.

Key words: plant; cold stress; salicylic acid; metabolic pathway; physiological mechanism

Received 2020-06-12 Accepted 2020-09-22

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFD0300800 and 2016YFD0300107), and Key Research and Development Program of Jiangsu Province (BE2018362 and BE2019377).

*Co-corresponding authors: Huo ZY (huozy69@163.com), Jiang D (jiangd@njau.edu.cn).