

# 水分胁迫下苹果实生苗茉莉酸的积累及其与水分的关系

兰彦平 韩振海\* 许雪峰

(中国农业大学园艺植物研究所, 北京 100094)

**摘要:** 用气相色谱法测定苹果抗旱种新疆野苹果 [*Malus sieversii* (Ledeb.) Roem.] 和较不抗旱种平邑甜茶 [*M. hupehensis* (Pamp.) Rehd.] 根系、叶片和木质部汁液茉莉酸 (jasmonic acid, JA) 对快速和缓慢水分胁迫的反应。结果表明, 两个种对水分胁迫反应灵敏。水分胁迫下两个种叶片气孔阻力与根系、木质部汁液中 JA 含量呈显著对数相关关系, 而与叶片中 JA 含量相关不显著。

**关键词:** 苹果; 水分胁迫; 新疆野苹果; 平邑甜茶; 茉莉酸

中图分类号: S 661.1 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2004) 01-0016-05

## Accumulation of Jasmonic Acid in Apple Seedlings under Water Stress

Lan Yanping, Han Zhenhai\*, and Xu Xuefeng

(Institute of Horticultural Plants, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

**Abstract:** Two apple species with different drought resistance were exposed to a polyethylene glycol-induced water deficit. The concentration of jasmonic acid (JA) in roots, leaves and xylem sap were measured by gas chromatograph. Sensitive increases of JA in roots, leaves or xylem sap were showed in two species. A significant logarithm correlation existed between leaf stomatal resistance and concentration of JA in xylem sap or roots. This suggest that JA in xylem sap may be the signal responsible for communication between roots and shoots in apple trees under water stress.

**Key words:** *Malus*; Water stress; *Malus sieversii*; *Malus hupehensis*; Jasmonic acid

水分胁迫是影响作物生产力的一种最普遍的环境胁迫<sup>[1]</sup>。但许多研究表明, 植物并非水分胁迫被动的受害者, 而是具有快速感知并主动适应的能力, 其中, ABA 在此过程中起信息传递的作用<sup>[2]</sup>。近年来的研究表明, 果树体内重要的次生物质茉莉酸 (jasmonic acid, JA) 及其甲基酯 (Methyl jasmonate, MJ) 不但具有与 ABA 相似的结构与生理功能, 而且参与了植物的抗逆反应, 部分研究涉及到抗旱性<sup>[3,4]</sup>。

本研究以新疆野苹果 [*Malus sieversii* (Ledeb.) Roem.] 和平邑甜茶 [*M. hupehensis* (Pamp.) Rehd.] 两个苹果种植株为试材, 用气相色谱测定技术研究幼苗在水分胁迫下茉莉酸的积累及其与水分的关系, 为 JA 类物质在果树抗旱栽培生产上的应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料及水分胁迫处理

试验于 1999~2001 年在中国农业大学园艺植物研究所植物培养室进行。选取均匀饱满的新疆野

收稿日期: 2003-03-10; 修回日期: 2003-07-08

基金项目: 北京市自然科学基金重点项目 (6021003)

\*通讯作者 Corresponding author

第一作者现在北京市农林科学院植物营养与资源研究所工作。

苹果和平邑甜茶种子, 用饱和漂白粉溶液消毒 15 min, 洗净后浸种过夜, 4 层积。选取发芽基本一致的种子播种于蛭石内, 生长室内培养。待幼苗出土并长至 2 片真叶时, 移至营养液中培养。光/暗比为 16 h/8 h。光强  $400 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , 室温  $24 \sim 28$  , 相对湿度 85 %。

幼苗生长 10 周后选取生长相对一致的幼苗, 用清水小心洗净后, 分别置于含有 20 %、30 % 聚乙二醇 (PEG, 分子量 6000) 的营养液中, 进行水分胁迫处理。因 20 % PEG 较 30 % PEG 失水慢, 因此, 可将前者视为缓慢胁迫, 后者视为快速胁迫。以正常营养液培养的植株为对照。每处理 30 株苗, 3 次重复。

## 1.2 取样及测定

从处理开始, 每小时取样 1 次, 直到叶片下垂, 共取样 6~7 次。样品包括根系、叶片和木质部汁液, 均为 3 个重复。根系自水中剪下, 去离子水冲洗 3 次, 吸干表面水分, 剪取根尖白到黄色部分, 液氮速冻,  $-70$  保存。木质部汁液收集用 Else 等<sup>[5]</sup>的方法。水势测定用压力室法<sup>[6]</sup>。蒸腾速率 (Tr)、气孔阻力 (RS) 等参数用 Li-301 光合作用分析系统测定。

SA 的测定: 材料加少量液氮研磨后, 用 70 % 甲醇在 4 提取 24 h, 离心, 旋转蒸发除去甲醇。用 pH 8.2 的磷酸缓冲液溶解残留物后, 加入少量 PVP (1/10) 搅拌, 静置 5 min 后在 4200 g 的转速下离心 5 min, 上清液用乙醚萃取 3 次, 收集水相, 用等体积正己烷萃取后, 减压浓缩至 1 mL。样品溶液用  $\text{N}_2$  吹干, 分别加入 1 mL 苯-石油醚 (1:1) 和 1.6 % KOH-甲醇溶液, 室温反应 20 min 后, 用 8 mL 水萃取, 吸取上层溶液用  $\text{N}_2$  吹干后, 用 200  $\mu\text{L}$  乙醇溶解后立即注入色谱仪。色谱条件: 岛津公司生产的 GC-14A 气相色谱仪, 氢火焰离子化光度检测器。柱温在  $80$  下保持 5 min 后, 以  $25$  /min 升到  $180$  , 保持 15 min。柱压为 30 kPa, 汽化室温度为  $240$  , 检测器温度为  $290$  , 载气为  $\text{N}_2$ , 流量 50 mL/min, 进样量为 0.6  $\mu\text{L}$ 。取相同体积标准液和样品溶液分别进行测定。以保留时间定性, 以美国 Sigma 公司生产的标准 JA 作外标, 峰高法定量。

## 2 结果与分析

### 2.1 叶片水势对水分胁迫的感应

图 1, A 表明, 水分胁迫下叶片水势随胁迫时间延长而持续降低, 其中抗旱性较强的新疆野苹果比抗旱性较弱的平邑甜茶水势下降得快。在胁迫处理 2 h 内, 快速胁迫与缓慢胁迫使前者水势分别下降 0.39 MPa 和 0.30 MPa, 后者降低 0.38 MPa 和 0.30 MPa; 7 h 后, 快速胁迫使二者水势分别降低 2.24 MPa 和 2.04 MPa, 缓慢胁迫则分别降低 1.33 MPa 和 0.82 MPa。

### 2.2 苹果幼苗 JA 对水分胁迫的感应

2.2.1 根系 JA 对水分胁迫的感应 快速胁迫下, 新疆野苹果和平邑甜茶根系 JA 含量在 1 h 时出现第一个峰值, 分别为对照的 6.58 倍、6.62 倍; 6 h 时出现第二个峰值, 分别为对照的 8.96 和 8.17 倍。缓慢胁迫下, JA 含量持续增加, 新疆野苹果在胁迫 5 h 时达到最大值, 为对照的 3.96 倍, 平邑甜茶则在胁迫 4 h 后达到最大值, 为对照的 4.73 倍 (图 1, B)。

2.2.2 叶片 JA 对水分胁迫的感应 图 1, C 的结果表明, 在快速胁迫下, 新疆野苹果和平邑甜茶叶片中 JA 均持续缓慢增加, 并在 6 h 时达到最高, 分别为对照的 6.22 倍和 5.89 倍。缓慢胁迫下, 两个种叶片中 JA 含量均呈单峰曲线; 新疆野苹果在胁迫 5 h 后达到最大值, 为对照的 3.16 倍, 平邑甜茶在胁迫 4 h 后达到最大值, 为对照的 2.98 倍。

2.2.3 茎木质部汁液 JA 对水分胁迫的感应 由图 1, D 可知, 两个供试苹果种茎木质部汁液中 JA 含量的变化均为单峰曲线, 快速胁迫下, 新疆野苹果在 6 h、平邑甜茶在 4 h 时, 分别增加到对照的 4.81 倍和 3.84 倍。缓慢胁迫下, 二者分别在 6 h 和 5 h 时, 增加到对照的 3.95 倍和 2.73 倍。胁迫越重, JA 积累越高; 说明木质部汁液中 JA 含量能够反映根系的水分状态, 可以作为信使参与对地上部气孔行为的调控。

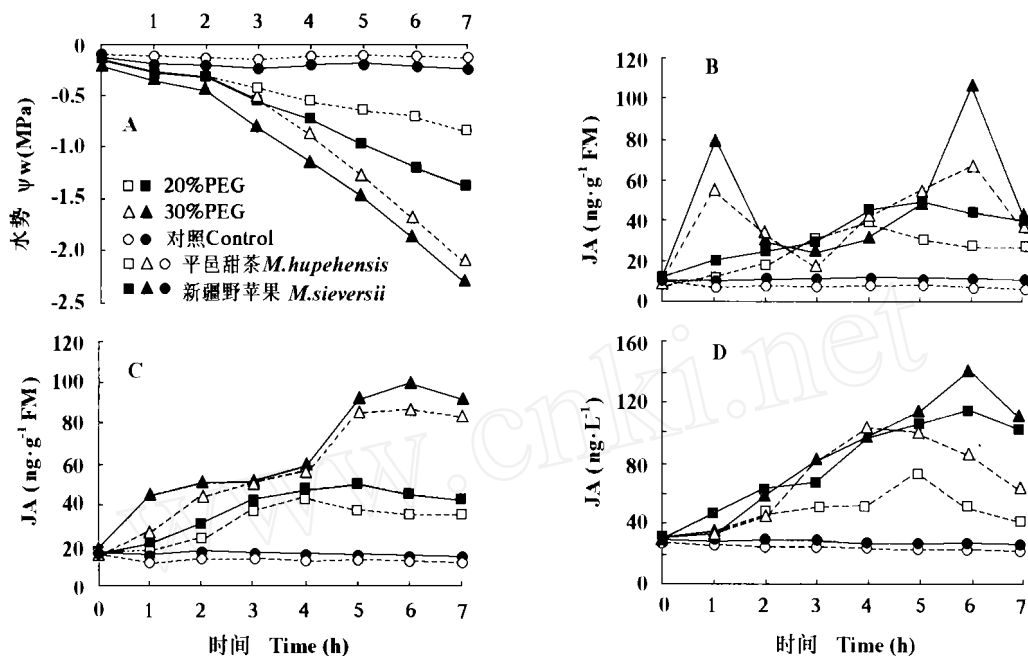


图1 水分胁迫下苹果叶片水势 (A) 和根系 (B)、叶片 (C)、木质部汁液 (D) JA 含量的变化  
Fig. 1 Effect of water deficit stress on water potential of apple leaves (A) and content of JA in apple roots (B), leaves (C), or xylem sap (D) in apple seedlings

## 2.3 JA 含量与气孔阻力的相关性

2.3.1 根系、叶片 JA 含量与气孔阻力的相关性 用对数方程来描述水分胁迫下苹果幼苗 JA 含量与叶片气孔阻力的关系时, 平邑甜茶在缓慢胁迫或快速胁迫下, 其根系 JA 含量与叶片气孔阻力相关系数分别为  $r^2 = 0.6098^{**}$ 、 $r^2 = 0.5966^{*}$ , 达显著水平; 叶片 JA 含量与叶片气孔阻力相关系数分别为  $r^2 = 0.4369$ 、 $r^2 = 0.5411$ , 相关不显著 (图 2, A); 新疆野苹果根系 JA 含量与叶片气孔阻力相关系数分别为  $r^2 = 0.6975^{**}$ 、 $r^2 = 0.5823^{*}$ , 显著相关; 叶片 JA 含量与叶片气孔阻力相关系数分别为  $r^2 = 0.5617$ 、 $r^2 = 0.5125$ , 未达显著水平 (图 2, B)。

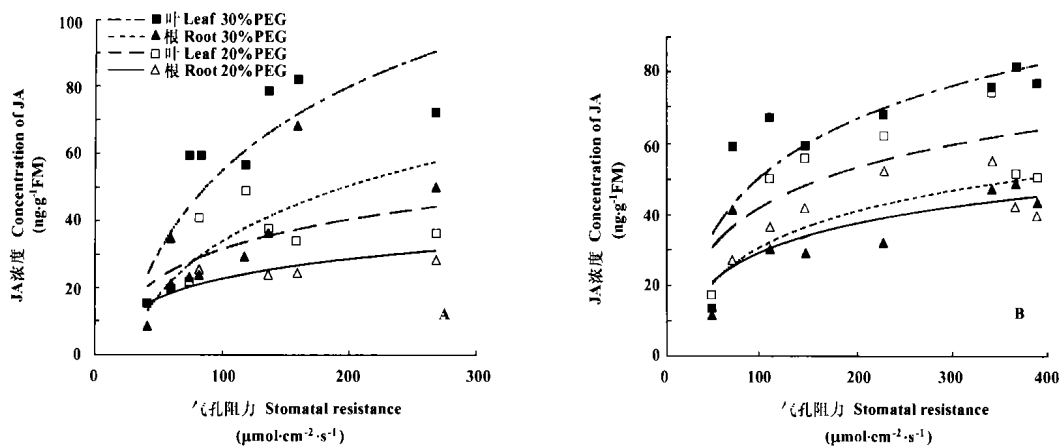


图2 水分胁迫下平邑甜茶 (A) 与新疆野苹果 (B) 根系、叶片 JA 含量与气孔阻力的对数拟合曲线  
Fig. 2 Logarithm curve of leaf stomatal resistance and content of JA in roots or leaves of *Malus hupehensis* (A) and *Malus sieversii* (B)

2.3.2 木质部汁液 JA 含量与气孔阻力的相关性 缓慢与快速胁迫下, 平邑甜茶木质部汁液 JA 含量与气孔阻力呈显著对数相关关系, 相关系数分别为  $r^2 = 0.6099^{*}$ 、 $r^2 = 0.7637^{*}$  (图 3, A)。新疆野

苹果木质部汁液 JA 含量与气孔阻力相关性达显著水平，相关系数分别为  $r^2 = 0.5021^*$ 、 $r^2 = 0.6147^*$  (图 3, B)。

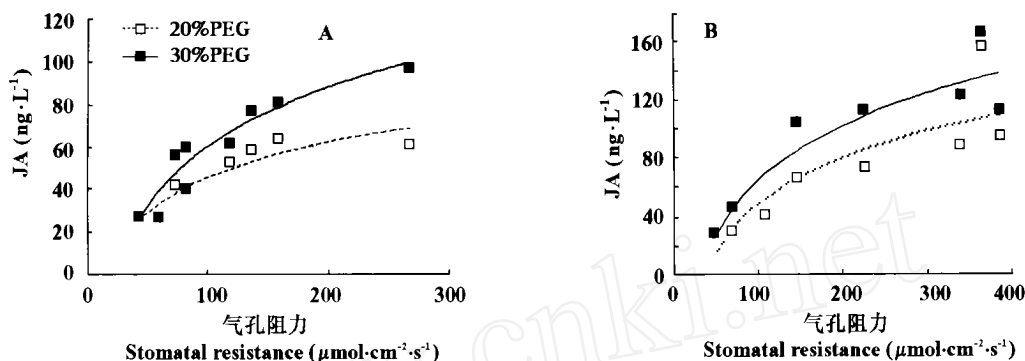


图 3 水分胁迫下平邑甜茶 (A) 与新疆野苹果 (B) 木质部汁液 JA 含量与气孔阻力的对数拟合曲线

Fig. 3 Logarithm curve of leaf stomatal resistance and content of JA in xylem sap of *Malus hupehensis* (A) and *Malus sieversii* (B)

### 3 讨论

植物对干旱的适应性反应因植物种及品种的抗旱性不同而异<sup>[7~9]</sup>；水分胁迫下，叶片水势的调节能力与植株在田间的抗旱性有关<sup>[7,10]</sup>。本试验在苹果上的结果表明，水分胁迫下，抗旱性强的新疆野苹果比缺水敏感的平邑甜茶的水势下降得快。

基于 JA 与水分胁迫的关系研究，Robert 等<sup>[11]</sup>提出，JA 可能参与水分胁迫信号传递，JA 的快速增加可能调节对膨压降低的瞬时反应。在大豆叶片上的试验表明，细胞膨压降低时有 JA 的瞬时积累，且来源于不同细胞的 JA 共同完成其在发育、防卫中的多重功能<sup>[12]</sup>。但 JA 对水分胁迫可能不进行长期调节。Xin 等以玉米为试材研究指出，水分胁迫下玉米根系、地上部 JA 均有升高，并且其变化趋势与 ABA 变化趋势相一致<sup>[13]</sup>；这与 Parthier 等<sup>[14]</sup>提出的干旱、渗透胁迫等逆境因子会引起 JA 的积累相吻合。本试验中不同抗旱性的苹果实生苗在干旱的初始阶段，其根系、叶片及木质部汁液 JA 含量均表现出随胁迫程度加重而快速升高的趋势。JA 含量在短时间内的急剧升高，反映出 JA 的产生和积累对干旱胁迫反应的敏感性，满足了作为干旱胁迫信号的首要条件<sup>[15]</sup>。至于水分胁迫下叶片气孔阻力与根系、木质部汁液 JA 含量均呈显著或极显著对数相关关系，而与叶片 JA 含量的相关不显著的结果，表明在本试验条件下，根源 JA 对干旱反应更敏感，在时空上对气孔行为的调控更快捷；由于 JA 有可能象 ABA 一样呈区隔化分布<sup>[16]</sup>，因此，只有在进一步进行叶片中 JA 的定位研究后，才有可能对其原因给予更清楚的解释。

### 参考文献：

- Bray E A. Molecular responses to water deficit. *Plant Physiol.*, 1993, 103: 1035 ~ 1040
- 王华芳, 张建华, 梁建生, 等. 木本植物根系及木质部汁液 ABA 对土壤干旱信息的感应. *科学通报*, 1999, 44 (19): 2053 ~ 2058
- 潘瑞炽, 古焕庆. 茉莉酸甲酯对花生幼苗生长和抗旱性的影响. *植物生理学报*, 1995, 21 (3): 215 ~ 220
- Bell E, Mullet J E. Lipoxygenase gene expression is modulated in plants by water deficit, wounding, and methyl jasmonate. *Mol. Gen. Genet.*, 1991, 230: 456 ~ 462
- Else M A, Tiekstia A E, Croker S J, et al. Stomatal closure in flooded tomato plants involves abscisic acid and a chemical unidentified antitranspirant in xylem sap. *Plant Physiology*, 1996, 112: 239 ~ 247
- Bates L M, Hall A E. Stomatal closure with soil water depletion not associated with change in bulk leaf water stress. *Ecologia*, 1981, 50: 62 ~ 65
- Luisa C, Sgherri M, Maffei M, et al. Antioxidative enzymes in wheat subjected to increasing water deficit and rewatering. *J. Plant Physiol.*, 2000, 157: 273 ~ 279
- Adnane H. Role of intercellular water retention strength in freezing tolerance of *Chrysanthemum ciuerariaefolium* vis cell cultures. *J. Plant Physiol.*, 2000, 156 (4): 47 ~ 53

- 9 Cristina L., Maria S., Michela M., et al. Antioxidative enzymes in wheat subjected to increasing water deficit and rewatering. J. Plant Physiol., 2000, 157: 273 ~ 279
- 10 Yao C., Moreshet S., Alont B. Water relations and hydraulic control of stomatal behavior in bell pepper plant in partial soil drying. Plant, Cell and Environment, 2001, 24: 227 ~ 235
- 11 Robert A., Creelman R A., Mullet J E. Jasmonic acid distribution and action in plants: Regulation during development and response to biotic and abiotic stress. Proc. Natl. Acad. Soc., 1995, 92: 4114 ~ 4119
- 12 Creelman R A., Mullet J E. Jasmonic acid distribution and action in plants: Regulation during development and response to biotic and abiotic stress. Proceedings of the National Academy of Sciences of the U. S. A., 1995, 92: 4114 ~ 19
- 13 Xin Z Y., Zhou X., Pilet P E. Level changes of jasmonic, abscisic, and indole-3yl-acetic acids in maize under desiccation stress. J. Plant Physiol., 1997, 152: 21 ~ 26
- 14 Parthier B. Jasmonates: hormone regulators or stress factor in leaf senescence. Journal of Plant Growth Regulation, 1990, 9: 57 ~ 63
- 15 梁建生, 张建华. 根系逆境信号 ABA 的产生和运输及其生理作用. 植物生理学通讯, 1998, 34 (5): 329 ~ 338
- 16 Minrsch E. Occurrence of jasmonic acid analogues in *Vicia faba* L. Phytochemistry, 1989, 28: 339 ~ 40

## 欢迎购阅下列新书

- |  |  |   |
|--|--|---|
| <p>1- 1 《英汉生物学词汇》(第二版) 99 元</p> <p>1- 2 《英汉/汉英生物化学词汇》30 元</p> <p>1- 3 《拉汉英农业害虫名称》90 元</p> <p>1- 7 《PCR 技术实验指南》(译) 110 元</p> <p>1- 8 《植物生理与分子生物学》94 元</p> <p>1- 9 《汉英生物学词汇》106 元</p> <p>1- 10 《新英汉病毒学词典》36 元</p> <p>1- 11 《蛋白质结构分析》(译) 46 元</p> <p>1- 12 《生物化学制备技术》39 元</p> <p>1- 13 《蛋白质电泳实验技术》29 元</p> <p>1- 14 《分子遗传学》70 元</p> <p>1- 17 《植物分子遗传学》(第二版) 88 元</p> <p>1- 22 《英汉化学化工词汇》(第四版) 110 元</p> <p>1- 24 《精编分子生物学实验指南》(译) 123 元</p> <p>1- 25 《植物分子生物学实验指南》(译) 52 元</p> <p>1- 26 《蛋白质纯化与鉴定实验指南》(译) 52 元</p> <p>1- 27 《实用分子生物学方法手册》32 元</p> <p>1- 31 《被子植物有性生殖图谱》96 元</p> <p>1- 32 《基因工程原理》(第二版) 上册 58 元</p> <p>1- 33 《基因工程原理》(第二版) 下册 78 元</p> <p>1- 34 《基因及其表达》24 元</p> <p>1- 38 《植物生殖遗传学》30 元</p> <p>1- 39 《蛋白质技术手册》33 元</p> <p>1- 41 《英汉生物化学及分子生物学词典》88 元</p> <p>1- 42 《生物技术概论》23 元</p> <p>1- 43 《分子细胞生物学》78 元</p> <p>1- 44 《现代遗传学原理》77 元</p> <p>1- 45 《分子克隆实验指南》(第三版英文原版) 1300 元</p> <p>1- 48 《细胞信号转导》(第三版) 55 元</p> <p>1- 50 《细胞实验指南》(译)(上、下)244 元</p> <p>1- 51 《拉汉英种子植物名称》(第3版)134 元</p> <p>1- 52 《分子克隆实验指南》(第三版) 187 元</p> <p>1- 53 《生物信息学: 序列与基因组分析》82 元</p> <p>1- 54 《生物化学技术原理及应用》(第三版) 45 元</p> <p>1- 55 《基因工程》49 元</p> <p>1- 56 《分子生物学》89 元</p> | <p>1- 57 《微注射和转基因实验指南》66 元</p> <p>1- 58 《真核生物转录调控——概念、策略和方法》86 元</p> <p>1- 59 《DNA 与 RNA 基本操作技术》52 元</p> <p>1- 60 《蛋白质组学: 从序列到功能》50 元</p> <p>1- 62 《植物基因工程》(第2版) 97 元</p> <p>1- 63 《基因组》55 元</p> <p>1- 64 《植物数量性状遗传体系》57 元</p> <p>1- 65 《体外培养的原理与技术》165 元</p> <p>2- 1 《英汉农业大词典》218 元</p> <p>2- 2 《英汉园艺学词典》23 元</p> <p>2- 3 《花卉资源原色图谱》218 元</p> <p>2- 5 《农业百科全书·观赏园艺卷》165 元</p> <p>2- 6 《农业百科全书·果树卷》61 元</p> <p>2- 8 《葡萄学》141 元</p> <p>2- 9 《苹果学》176 元</p> <p>2- 10 《柑橘学》207 元</p> <p>2- 12 《中国水生蔬菜》62 元</p> <p>2- 13 《花卉病虫害防治手册》42 元</p> <p>2- 14 《花卉病虫害防治彩色图说》20 元</p> <p>2- 15 《中国蔬菜花粉扫描电镜图解》40 元</p> <p>2- 17 《中国科学技术专家传略》(农学编园艺卷2) 57 元</p> <p>2- 18 《中国科学技术专家传略》(农学编综合卷2) 66 元</p> <p>2- 27 《育苗蔬菜生产技术图册》32 元</p> <p>3- 4 《新编拉汉英植物名称》185 元</p> <p>3- 5 《果品品质研究》30 元</p> <p>3- 6 《中国蔬菜品种志》(上、下) 卷 490 元</p> <p>4- 1 《花卉无土栽培》23 元</p> <p>4- 2 《花卉组织培养》23 元</p> <p>4- 3 《花卉化学控制》23 元</p> <p>4- 4 《花卉贮藏保鲜》23 元</p> <p>4- 5 《月季》27 元</p> <p>4- 6 《菊花》29 元</p> <p>4- 7 《香石竹》31 元</p> | <p>4- 8 《球根类》37 元</p> <p>4- 9 《多浆花卉》48 元</p> <p>4- 10 《宿根花卉》44 元</p> <p>4- 11 《温室花卉》52 元</p> <p>4- 12 《藤蔓花卉》37 元</p> <p>4- 13 《中小型苗圃林果苗木繁育实用技术手册》25 元</p> <p>4- 14 《中国果树志 枣卷》56 元</p> <p>4- 15 《中国果树志 李卷》100 元</p> <p>4- 16 《中国果树志 核桃卷》76 元</p> <p>4- 17 《中国果树志 山楂卷》56 元</p> <p>4- 18 《中国果树志 荔枝卷》67 元</p> <p>4- 19 《中国果树志 龙眼、枇杷卷》80 元</p> <p>4- 20 《中国果树志 梅卷》68 元</p> <p>4- 21 《中国果树志 苹果卷》134 元</p> <p>4- 22 《中国果树志 桃卷》110 元</p> <p>4- 29 《中国果树志 杏卷》165 元</p> <p>4- 23 《中国木本植物种子》200 元</p> <p>4- 24 《新型育苗菜 - 豆芽菜生产技术图册》40 元</p> <p>4- 25 《室内观赏植物(装饰、养护、欣赏)》76 元</p> <p>4- 26 《室内观赏植物及装饰》(第二版) 21 元</p> <p>4- 27 《苹果树整形修剪和病虫防治技术》(第二版) 16 元</p> <p>4- 28 《枣树丰产栽培管理技术》(第二版) 21 元</p> <p>5- 1 《中国蔬菜病原原色图谱》(第三版·无公害) 69 元</p> <p>5- 2 《中国蔬菜病原原色图谱续集》(第二版) 89 元</p> <p>5- 3 《中国果树病原原色图谱》60 元</p> <p>5- 4 《中国花卉病虫害原色图鉴》(上、下) 158 元</p> <p>5- 5 《中国果树病虫害原色图谱》(第二版) 101 元</p> <p>* 《园艺学报》2000 增刊 10 元</p> <p>* 《园艺学报》2001 增刊 10 元</p> <p>* 《园艺学报》2002 增刊 10 元</p> |
|--|--|---|

以上价格已含邮资。购书者请通过邮局汇款至北京中关村南大街 12 号《园艺学报》编辑部, 邮编: 100081。