

干旱胁迫下杏叶片中茉莉酸积累的作用

葛云侠^{1,2}, 姚允聪³, 许雪峰¹, 张 杰¹, 韩振海^{1*}

(¹ 中国农业大学园艺植物研究所, 北京 100094; ² 沈阳农业大学生物科学技术学院, 沈阳 110161; ³ 北京农学院植物科学技术系, 北京 102206)

摘 要: 以耐旱的山杏和非耐旱的龙王帽实生苗为试材, 研究干旱胁迫下茉莉酸 (JA) 的作用机制。结果表明: 在停水后第 12 天, 即植株将衰老时, 山杏叶片 JA 含量升高 3 倍。整个干旱过程中山杏和龙王帽根中内源 JA 含量都变化不大。自然干旱时杏的脂氧合酶 (LOX) 活性表现为叶片升高, 在根中无显著变化。用外源 $50 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-3}$ JA 喷洒山杏叶片后促进了叶绿素的降解, 加速了叶片衰老过程。同时在旱后复水时发现叶子完全干枯的山杏又能长出新叶而复活, 而叶片延迟衰老的龙王帽却不能复活。因此推测 JA 在干旱胁迫下是通过促使叶片衰老而使植物减少水分散失、以此来抵抗逆境的。

关键词: 杏; 干旱; 茉莉酸; 衰老; 叶片

中图分类号: S 662.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2007) 03-0575-04

The Role of Jasmonic Acid Induced by Drought Stress in Apricot Leaves

GE Yun-xia^{1,2}, YAO Yun-cong³, XU Xue-feng¹, ZHANG Jie¹, and HAN Zhen-hai^{1*}

(¹ Institute of Horticultural Plants, College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China; ² College of Biotechnology, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China; ³ Department of Plant Science and Technology, College of Beijing Agriculture, Beijing 102206, China)

Abstract: Plants of apricot (DT: drought-tolerance genotype *Prunus ameniaca* L. var Ansu Maxim. and DS: drought-sensitive genotype *Prunus ameniaca vulgaris* Lam. 'Longwangmao') were grown in pots of peat-based compost in order to examine the role of JA under drought stress. GC/MS analysis indicated that JA levels in leaves increased by 3 times in DT on day 12 since water withheld while it showed very little variation in the whole drying period in DS. There was no significant detectable difference in the concentration of JA in roots of well-watered and unwatered two apricot plants. The LOX activity in old leaves of both increased while water was withheld. However, the LOX activity in roots of two apricot plants showed very little variation in the experiment. Exogenous JA accelerated senescence of leaves in apricots by pigment loss. After this drying period, the plants were rewatered. Two months after rewatering, twelve of the eighteen DT lived, whereas all of the eighteen DS died. These results suggest that the transient accumulation of JA from leaves may be necessary to promote leaf senescence due to soil drying.

Key words: Apricot; Drought stress; Jasmonic acid; Senescence; Leaf

众所周知, 茉莉酸 (JA) 在植物衰老中的作用是被肯定的。Ueda 和 Kato (1980) 以大麦离体叶片为试材第一次证明了 JA 起促进衰老的作用。后来 He 等 (2002) 在拟南芥中也印证了 JA 在叶片衰老中起重要作用。关于 JA 与木本植物, 特别是果树的抗旱性关系的研究虽有一些零星报道 (Wang, 1999), 但有关干旱胁迫下杏树内源 JA 水平是否增加, 干旱胁迫诱导的 JA 是否与衰老有关, 目前尚未见报道。衰老并非只是一种退化过程, 它也是养分从衰老细胞向幼叶、发育中的种子或储藏组织转

收稿日期: 2006 - 11 - 14; 修回日期: 2007 - 04 - 23

基金项目: 北京市科委计划项目 (Y0705003041531)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: rschan@cau.edu.cn)

运的再循环过程。所以研究干旱条件下 JA 与衰老的关系具有重要意义。本试验以山杏和龙王帽实生幼苗为试材,通过研究干旱胁迫和复水后杏幼苗体内 JA 含量变化以及观测外施 JA 对山杏叶片的影响,发现干旱胁迫产生的 JA 与叶片衰老有关,而且这种逆境下的衰老是山杏躲避干旱的主动反应。

1 材料与方法

试验于 2004, 2005 年 (两年) 在北京农学院进行。以生长 3 个月盆栽山杏 (*Prunus ameniaca* L. var. Ansu Maxim.) 和龙王帽 (*Prunus ameniaca vulgaris* Lam. 'Longwangnao') 实生苗为试材。在人工气候箱 (白天 24~26℃, 夜间 19~21℃, 16 h 光照, 8 h 黑暗, 光强为 $250 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 不控制相对湿度) 自然失水 0、3、6、9、12 d 后取样。第 12 天晚上开始复水, 第 13 天和第 15 天取样。每次 5 盆, 每盆 3 株苗。用 GC/MS 并参照 Gundlach 等 (1992) 的方法测定叶片和根的茉莉酸含量。JA 购自 Sigma 公司, 二氢茉莉酸 (DHJA) 为中国农业大学资环学院李春俭教授馈赠。叶绿素提取及含量测定参照张宪政 (1994) 的方法进行。LOX 活性测定采用 Ederli 等 (1997) 的方法, 并改进用无水乙醇做终止反应。试验设两次重复, 每个重复平行测定 3 次, 取平均值。

2 结果与分析

2.1 自然干旱对杏幼苗茉莉酸含量的影响

本试验用 GC/MS 检测干旱条件下杏叶片和根的 JA 含量变化。在对杏叶片和根的 JA 提取物未加内标 DHJA 情况下, 用 GC/MS 未检测到 DHJA, 由此确定可用 DHJA 做内标对 JA 进行定量分析。并且已确认杏体内 JA 提取物和内标 DHJA 与已发表 (Gundlach et al., 1992; Creechman & Mullet, 1995) 的 JA 和 DHJA 质谱图相同。由图 1, A 可见, 在停水后第 3 天、第 6 天和第 9 天, 当植株分别处于轻度、中度和重度水分胁迫时, 山杏叶片内源 JA 含量一直维持在对照水平。在停水后第 12 天, 即植株处于极严重水分胁迫时, 山杏叶片 JA 含量显著增加, 高出对照约 3 倍, 复水后又恢复到对照水平。干旱能诱导山杏 (耐旱基因型) 叶片积累茉莉酸, 而非耐旱基因型龙王帽叶片则不能积累 JA。整个干旱过程中山杏和龙王帽根内源 JA 含量与对照之间无显著性差异 (图 1, B)。但复水 1 d 时山杏根内 JA 突增, 可能是干旱时叶片产生的 JA 下运所致 (Zhang & Baldwin, 1997)。

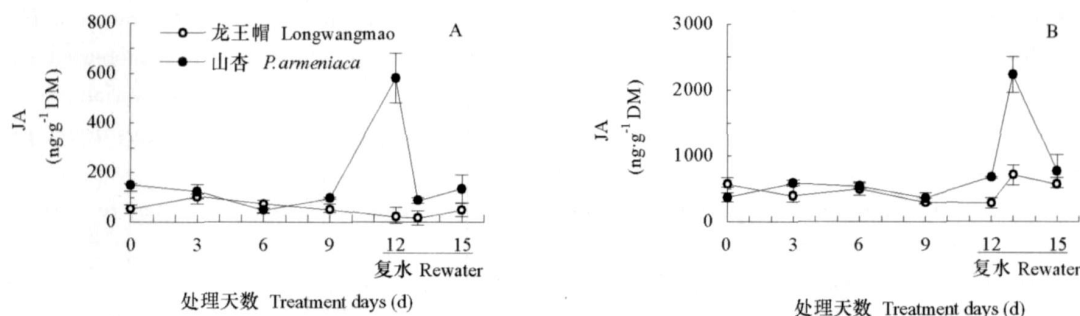


图 1 干旱胁迫下杏叶 (A) 和根 (B) 的 JA 含量变化

Fig. 1 JA concentrations assayed in leaves (A) and roots (B) of apricot plants

2.2 自然干旱对杏幼苗脂氧合酶活性的影响

脂肪氧合酶 (LOX) 影响植物脂肪的氧化, 进而影响衰老、死亡和器官脱落 (Feussner & Wasternack, 2002)。因此 LOX 活性高低也反映了植物不同程度的衰老。如图 2, A 所示, 在停水后第 6 天, 即植株处于中度胁迫时, 山杏叶片 LOX 活性达最高值, 高于对照约 1.5 倍, 之后曲折下降。而龙王帽则在复水 1 d 叶片 LOX 活性达最高值, 高出对照约 0.7 倍。无论是山杏还是龙王帽在干旱过程中根的 LOX 活性与对照之间无显著性差异 (图 2, B), 说明干旱胁迫对山杏和龙王帽根的 LOX 活性影响

不大。从干旱胁迫对 LOX 活性影响来看, 叶片比根更易受旱害。这与干旱时观测的山杏叶片比龙王帽早衰老的现象相符合。但当干旱 12 d 后复水 2 个月时, 发现山杏 (耐旱基因型) 又能长出新叶而复活, 而龙王帽 (非耐旱基因型) 却不能复活, 说明胁迫下山杏叶片早衰是对逆境的主动适应。

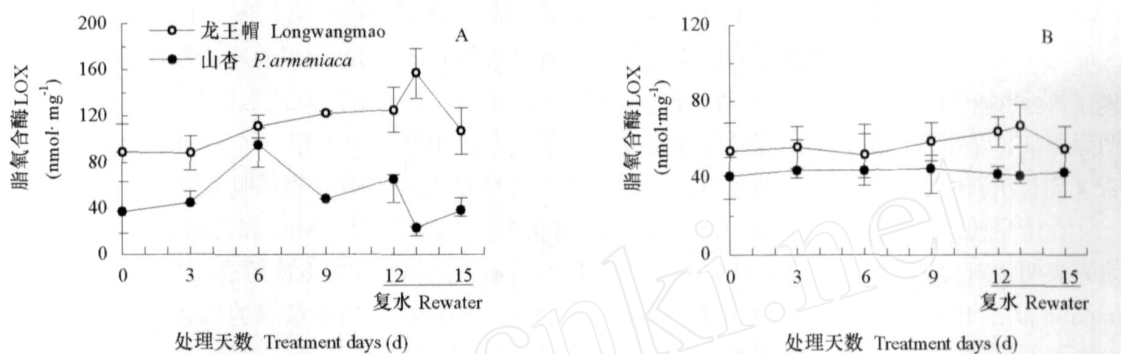


图 2 干旱胁迫下杏叶 (A) 和根 (B) LOX 活性的变化

Fig. 2 LOX activity assayed in leaves (A) and roots (B) of apricot plants

2.3 外施茉莉酸对杏幼苗叶片衰老的影响

叶片衰老最明显的表现是叶绿素逐渐消失 (Weidhase et al, 1987)。本试验将不同浓度的 JA 水溶液喷洒山杏活体叶片 2 d 后测定叶绿素含量。结果表明, 25 ~ 100 mmol · m⁻³ JA 处理的山杏叶片叶绿素水平均显著低于用蒸馏水做相应处理的水平 (图 3), 而且 25 ~ 100 mmol · m⁻³ 浓度范围内, 叶片的叶绿素水平随着 JA 浓度的增加而降低。另外, 50 mmol · m⁻³ 和 100 mmol · m⁻³ 的 JA 对叶片叶绿素含量影响无显著差异, 因此选用 50 mmol · m⁻³ JA 溶液处理山杏叶片来研究 JA 对叶片衰老的作用。

对 3 月苗龄盆栽山杏实生苗叶面喷施 50 mmol · m⁻³ JA 水溶液, 喷施的当天停止浇水, 使盆土自然干旱, 在喷后第 2 天, 处理苗均未受到干旱胁迫时, JA 处理的山杏叶片叶绿素含量就已显著下降, 比非胁迫处理 (充分灌水) 降低 7% (图 4), 而单纯干旱与非胁迫处理之间无显著差异。在喷 JA 后第 4 天, 此时单纯干旱处理的山杏植株处于轻度胁迫, 其叶片叶绿素比非胁迫处理显著下降 16%, 然而 JA 处理的叶片叶绿素水平比非胁迫处理下降幅度更大, 几乎降低 36%, 比单纯干旱处理的叶片叶绿素下降 24%。说明 JA 喷洒山杏叶片后促进了叶绿素降解, 加速了叶片衰老过程。

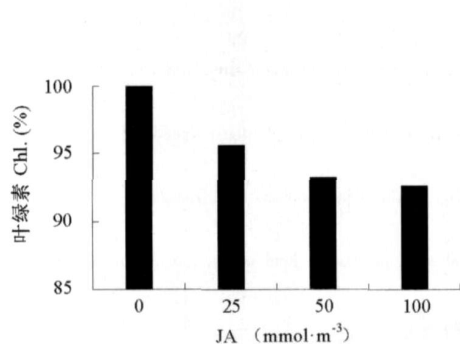


图 3 用不同浓度的茉莉酸喷洒山杏叶片 2 d 后对衰老的影响

Fig. 3 Effects of different concentrations of JA on senescence of apricot leaves 2 days after treatment

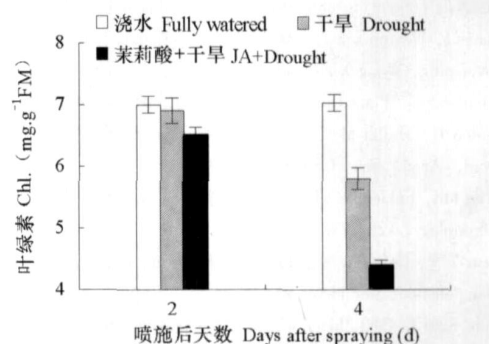


图 4 干旱胁迫下茉莉酸对山杏叶片衰老的影响

Fig. 4 Effects of JA on senescence of apricot leaves during drought stress

3 讨论

He 等 (2002) 对野生型拟南芥外施 JA 能使在体和离体的叶片提早衰老, 但同样处理对 JA 敏感

的卷须植物突变体却不能使叶片早熟和衰老,可见内源 JA 在叶片衰老过程中起着关键作用。本研究发现在停水后第 12 天,即极严重干旱胁迫诱导了山杏(耐旱基因型)叶片积累 JA(图 1, A),而龙王帽(不耐旱基因型)则不能积累 JA。这同文献报道的大豆(Creehan & Mullet, 1995)、玉米(Xin et al, 1997)、梨(Gao et al, 2004)在干旱过程中 JA 增加的结果一致。本试验用外源 $50 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-3}$ JA 喷洒山杏叶片后促进了叶绿素降解,这与多数研究认为 JA 处理的叶片明显缺少叶绿素的结果(Weidhase et al, 1987)相一致,说明外施 JA 能加速叶片衰老。而且本试验中山杏叶片 JA 含量明显增加,是出现在耐旱的山杏叶片即将衰老之前。并且山杏和龙王帽干旱 12 d 后复水 2 个月,山杏又能长出新叶,而龙王帽不能复活,可见干旱产生的 JA 使山杏叶片提早脱落以此躲过胁迫。

在干旱胁迫下,山杏叶片衰老是否只与 JA 有关?因为除 JA 外,ABA 和乙烯也能促进叶片衰老。研究表明,对大麦叶片外施 Me-JA 不能诱导乙烯的增加,但却使叶绿素降解进而加速叶片衰老(Beltrano et al, 1998)。可见乙烯并不是衰老的必需因子。因为在乙烯不敏感的拟南芥突变株中也能引发衰老。另外,ABA 也能促进植物衰老,本研究还发现在干旱过程中山杏叶片 ABA 急剧增加(数据未列出)。Leshem 等(1990)认为,ABA 不是衰老的关键因子,可能是一种抵御胁迫和衰老的激素。例如,每天向小麦叶片喷洒 0.1 mmol 的 ABA,则叶片的寿命反而更长。这可能是由于植物在少量 ABA 的作用下,可提高对其它逆境的胁迫能力,但如果外界胁迫很大,ABA 则变成植物衰老的诱变剂。结合本试验结果,可知 ABA 和 JA 在植物抵抗胁迫过程中都起积极的作用,只不过作用的方式不同:ABA 是通过诱导叶片气孔关闭,进而提高植物对逆境的胁迫能力;JA 则是通过促使叶片衰老而使植物减少水分散失、以此来抵抗逆境的。应该指出,在本试验中,通过检测干旱过程中杏体内内源 JA 含量变化以及外施 JA 对杏树叶片的影响,虽然表现出干旱胁迫下 JA 有促进山杏叶片衰老的作用,但与脱落酸相比,干旱胁迫下 JA 在促进衰老方面是否起最主要作用,尚待进一步研究。

References

- Beltrano J, Ronco M G, Montaldi E R, Carbone A. 1998. Senescence of flag leaves and ears of wheat hastened by methyl jasmonate. *J. Plant Growth Regul*, 17: 53 - 57.
- Creehan R A, Mullet J E. 1995. Jasmonic acid distribution and action in plants: Regulation during development and response to biotic and abiotic stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92: 4114 - 4119.
- Ederli L, Pasqualini S, Batini P, Antonielli M. 1997. Photoinhibition and oxidative stress: effects on xanthophyll cycle, scavenger enzymes and abscisic content in tobacco plants. *Plant Physiol*, 151: 422 - 428.
- Feussner I, Wastemack C. 2002. The lipoxygenase pathway. *Annual Review of Plant Biology*, 53: 275 - 297.
- Gao Xiuping, Wang Xiaofang, Lu Yanfen, Zhang Dapeng. 2004. Jasmonic acid is involved in the water-stress-induced betaine accumulation in pear leaves. *Plant Cell and Environment*, 27: 497 - 507.
- Gundlach H, Muller M J, Kutschan T M, Zenk M H. 1992. Jasmonic acid is a signal transducer in elicitor-induced plant cell cultures. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89: 2389 - 2393.
- He Yuehui, Fukushima H, Hildebrand D F, Gan S S. 2002. Evidence supporting a role of jasmonic acid in *Arabidopsis* leaf senescence. *Plant Physiology*, 128: 876 - 884.
- Leshem Y Y, Cokcaru M, Margel S, Eitanid, Landau E A. 1990. Biophysical study of abscisic acid interaction with membrane phospholipid components. *New Phytologist*, 116: 487 - 490.
- Ueda J, Kato J. 1980. Identification of a senescence-promoting substance from wormwood (*Artemisia absinthum* L.). *Plant Physiol*, 66: 246 - 249.
- Wang S Y. 1999. Methyl jasmonate reduces water stress in strawberry. *Journal of Plant Growth Regulation*, 18 (3): 127 - 134.
- Weidhase R A, Lehmann J, Kramell H, Sembdner G, Parthier B. 1987. Degradation of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase and chlorophyll in senescing barley leaf segments triggered by jasmonic acid methyl ester, and counteraction by cytokinin. *Physiologia Plantarum*, 69: 161 - 166.
- Xin Ze-yu, Zhou Xie, Paul E P. 1997. Level changes of jasmonic, abscisic and indole-3yl-acetic acids in maize under desiccation stress. *J. Plant Physiol*, 151: 120 - 124.
- Zhang Xianzheng. 1994. Experimental technology of plant physiology. Shenyang: Liaoning Science and Technology Press.
- 张宪政. 1994. 植物生理学实验技术. 沈阳: 辽宁科学技术出版社.
- Zhang Zongping, Baldwin I T. 1997. Transport of [$2\text{-}^{14}\text{C}$] jasmonic acid from leaves to roots mimics wound-induced changes in endogenous jasmonic acid pools in *Nicotiana sylvestris*. *Planta*, 203: 436 - 441.