

外源茉莉酸甲酯对 受伤苦瓜幼苗生理特性的影响^①

汤绍虎, 胡 侠

西南大学 生命科学院, 重庆 400715

摘要:以苦瓜幼苗为材料, 对其叶片进行机械伤害后, 用含 0.1~100 $\mu\text{mol/L}$ 茉莉酸甲酯(MeJA)的 Hoagland 营养液培养, 36 h 后测定叶片有关生理指标。结果表明: 1~10 $\mu\text{mol/L}$ MeJA 处理能显著缓解机械伤害, 使受伤幼苗叶片 MDA 含量降低 36%~37.33%, 木质素含量提高 77.08%~81.25%, POD、PPO 和 LOX 活性分别提高 4.42~4.44 倍、2.78~2.89 倍和 52.14%~52.63%; 0.1 和 100 $\mu\text{mol/L}$ MeJA 的有效作用较弱, 100 $\mu\text{mol/L}$ MeJA 促进膜质过氧化, 抑制叶片 PPO 活性。外源 1~10 $\mu\text{mol/L}$ MeJA 能显著降低受伤苦瓜幼苗的氧化损伤, 显著提高 LOX 等防御酶活性, 增强对机械伤害的抵抗力。

关 键 词: 苦瓜; 机械伤害; 茉莉酸甲酯; 氧化损伤; 防御酶

中图分类号: S642.5

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2014)8-0001-05

茉莉酸甲酯(methyl jasmonates, MeJA)和茉莉酸(jasmonate, JA)是茉莉酸类物质(jasmonates, JAs)的主要代表^[1]。JAs 是许多植物体内合成的天然化合物, 化学起源于膜脂^[2], 由 α -亚麻酸经系列酶促反应生成^[3]。1971 年人们从真菌中分离出 JA^[4], 1980 年开始注意到 JAs 的生物活性^[5]。许多研究表明, JAs 对植物有广泛的生理效应, 在代谢和生理功能上具有植物激素的特点, 尤其类似于 ABA 的作用。JAs 不仅调节植物的生长发育, 而且作为内源信号分子参与植物对机械伤害、病虫害、干旱、盐渍和低温等逆境的防御反应^[1]。近年来, 由于 MeJA 人工合成的实现, 促进了 JAs 的基础与应用研究。

植物在遭到机械伤害时, 启动体内适应性机制, 产生相应防御反应。这些防御反应一方面有助于伤口的愈合, 另一方面诱导全身反应进一步阻止伤害的发生^[6]。MeJA 可将创伤信息传递到植物体内的其它部位, 进而引起防御基因的表达^[7]; 伤胁迫下, 膜脂过氧化加剧^[8], MDA 含量提高^[9], SOD, POD, CAT 等膜保护酶^[8-9]以及 LOX, PPO, PAL 等防御酶^[9-12]活性提高; JA/MeJA 能增强豌豆幼苗^[10]和锁阳植株^[13] SOD, PAL 等保护与防御酶活性, 提高植株的抗逆力。

在作物栽培中, 常常伴有间苗、打顶、分株等生产措施。苦瓜幼苗期需搭架引蔓, 结果期要整枝打杈, 这些措施难免使作物枝叶受到机械伤害。在现有对机械伤害和 JAs 作用的研究中, 一般采取的是单因子处理^[10-11, 14], 未作二因子复合处理, 因而对于 JAs 在伤后的修复作用不清楚。机械伤害和 JAs 应用在苦瓜中的研究未见报道。本研究以苦瓜幼苗为试材, 研究其对机械伤害的防御机制, 重点探讨外源 MeJA 对受伤苦瓜幼苗的修复效应, 以期 MeJA 在苦瓜栽培中的应用提供理论依据和剂量参考。

① 收稿日期: 2013-11-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(31370317)基金资助。

作者简介: 汤绍虎(1960-), 男, 四川渠县人, 博士, 教授, 主要从事植物生理学研究。

1 材料与方法

试验材料为苦瓜(*Momordica charantia* L.)幼苗, 品种为‘长白山刺苦瓜’, 购于重庆市北碚区农贸市场。

选取大小一致的苦瓜幼苗用 Hoagland 营养液预培养 7 d. 用解剖针针尖迅速在每枚叶片表面共刺 30 个伤口, 然后用含不同浓度 MeJA 的营养液在室内(春季)散射光下进行溶液培养. 共设 6 个处理, M0: Hoagland 营养液(正常对照); M1: Hoagland+机械伤害(伤害对照); M2: Hoagland+机械伤害+0.1 $\mu\text{mol/L}$ MeJA; M3: Hoagland+机械伤害+1 $\mu\text{mol/L}$ MeJA; M4: Hoagland+机械伤害+10 $\mu\text{mol/L}$ MeJA; M5: Hoagland+机械伤害+100 $\mu\text{mol/L}$ MeJA. 处理 36 h 后测定幼苗叶片有关生理指标。

丙二醛(MDA)含量按张志良等的方法^[15]测定; 过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)活性按朱广廉等的方法^[16]测定; 脂氧合酶(LOX)活性按姚锋先等的方法^[17]测定; 木质素含量(干质量, %)参照范鹏程等的方法^[18]测定. 3~4 次重复. 试验结果采用 SPSS 12.0 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同处理对苦瓜幼苗 MDA 含量、POD 活性的影响

由图 1-(a)可知, 不同处理的叶片 MDA 含量, M1 比 M0(0.048 $\mu\text{mol/g}$ FW)提高 56.25%, 且二者间存在显著差异($p \leq 0.05$); M2—M5 比 M1 分别降低 28%, 36%, 37.33% 和 0.04%, 呈先降后升趋势, 但与 M1 之间均存在显著差异. 其中, M3 和 M4 降幅最大, 二者间以及二者与正常对照(M0)之间无显著差异($p > 0.05$). 结果表明, 机械伤害促进了苦瓜幼苗活性氧代谢, 提高了膜脂过氧化水平, 导致叶片 MDA 含量显著提高; 外源 MeJA 能缓解膜脂过氧化, 显著降低叶片 MDA 含量, 提高幼苗抗逆力. MeJA 的作用表现出剂量效应, 其最佳处理浓度为 1~10 $\mu\text{mol/L}$ (M3, M4).

由图 1-(b)可知, 不同处理叶片 POD 活性高低的分布情况与 MDA 含量基本相反. 叶片 POD 活性, M1 比 M0[41.08 U/(g·min)]提高 35.03%, 且二者间差异显著; M2—M5 比 M1 分别提高 71.25%, 4.44 倍, 4.42 倍和 71.98%, 且与 M1 之间均存在差异显著. 其中, M3 和 M4 提高幅度最大, 二者间无显著差异. 结果表明, 苦瓜幼苗受伤后叶片 POD 活性显著提高; 外源 MeJA 能显著提高受伤幼苗的 POD 活性, 使活性氧代谢恢复到正常水平[图 1-(a)]. 其最佳处理浓度也为 1~10 $\mu\text{mol/L}$ (M3, M4).

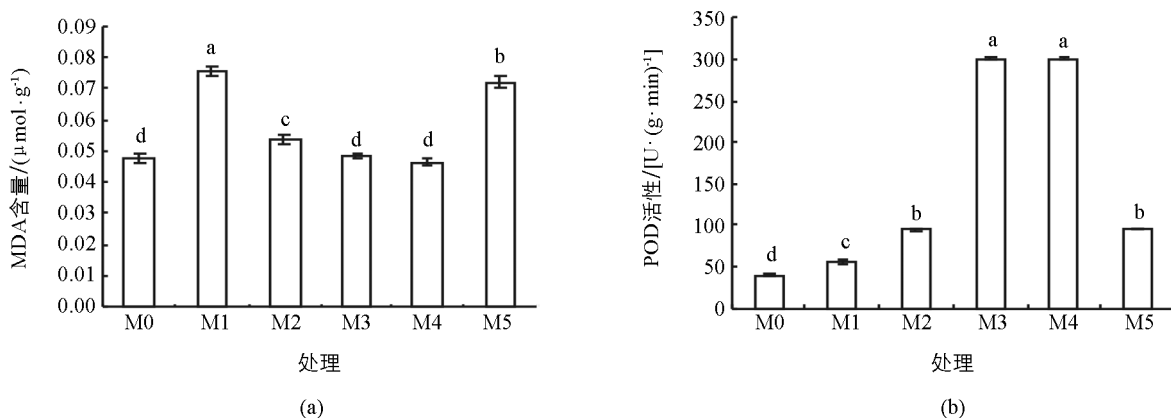


图 1 机械伤害和 MeJA 对苦瓜幼苗 MDA 含量和 POD 活性的影响

2.2 不同处理对苦瓜幼苗 PPO, LOX 活性的影响

由图 2-(a)可知, 不同处理叶片 PPO 活性高低的分布情况与 POD 类似, 且不同处理相互间均存在显著差异. 叶片 PPO 活性, M1 比 M0[49.53 U/(g·min)]提高 53.26%; M2, M3 和 M4 比 M1 分别提高 53.33%, 2.89 倍和 2.78 倍, 而 M5 比 M1 降低 10.89%. 结果表明, 苦瓜幼苗受机械伤害后, 叶片 PPO 活性显著提高; 0.1~10 $\mu\text{mol/L}$ MeJA(M2—M4)可显著提高受伤幼苗的 PPO 活性, 但浓度过高(100 $\mu\text{mol/L}$)时(M5)反而起抑制作用. MeJA 的最佳处理浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$ (M3).

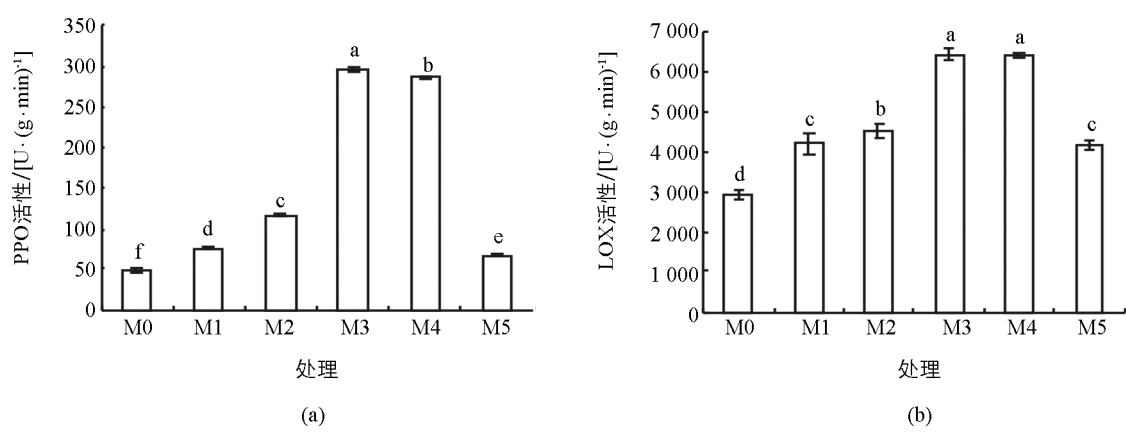


图 2 机械伤害和 MeJA 对苦瓜幼苗 PPO 和 LOX 活性的影响

由图 2-(b)可知,不同处理叶片 LOX 活性高低的分布情况与 PPO 基本相同. 叶片 LOX 活性, M1 比 M0[2916.79 U/(g·min)]提高 44.60%,且二者间差异显著; M2, M3 和 M4 比 M1 分别提高 7.16%, 52.63%和 52.14%,且与 M1 之间均存在显著差异. 其中, M3, M4 的增幅较大,且二者差异不显著;而 M5 比 M1 降低 2.01%,二者无显著差异. 结果表明,苦瓜幼苗受伤后叶片 LOX 活性显著升高;适宜浓度的 MeJA 处理,可显著提高受伤苦瓜幼苗的 LOX 活性,最佳处理浓度为 1~10 μmol/L(M3, M4).

2.3 不同处理对苦瓜幼苗木质素含量的影响

由图 3 可知,不同处理叶片木质素含量高低的分布情况与 POD 活性基本相同. 叶片木质素含量, M1 比 M0(0.35%)提高 37.14%,且二者间差异显著; M2—M5 比 M1 分别提高 10.42%, 81.25%, 77.08%和 4.17%,仅 M5 与 M1 无显著差异,而 M3, M4 的提高幅度最大,彼此无显著差异. 结果表明,苦瓜幼苗被机械伤害后,叶片木质素含量显著提高;适宜浓度的外源 MeJA 处理,可显著提高受伤幼苗木质素含量. MeJA 的作用效果同样具有剂量效应,最佳处理浓度为 1~10 μmol/L(M3, M4).

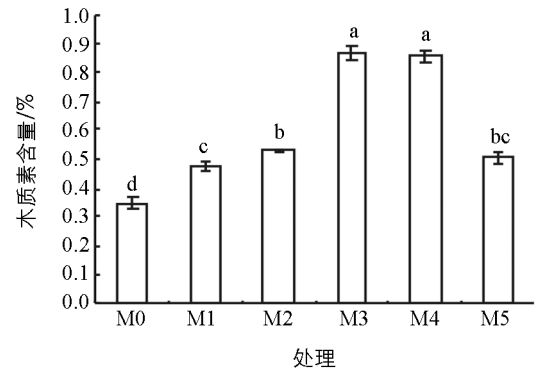


图 3 机械伤害和 MeJA 对苦瓜幼苗木质素含量的影响

3 讨 论

3.1 机械伤害、外施 MeJA 与受伤苦瓜幼苗的膜脂过氧化

MDA 是膜脂过氧化产物,其含量高低表示质膜受伤害程度. POD 是膜保护酶系统的主要成员之一,参与细胞内活性氧的清除,在防止质膜氧化损伤和维持其正常结构与功能中起重要作用. 在本试验中,机械伤害使苦瓜幼苗叶片 MDA 含量和 POD 活性提高,这与黄伟、申琳等的研究结果一致^[8-9];适宜浓度 MeJA 处理,使受伤幼苗叶片 MDA 含量降低,POD 活性提高,这与刘艳、弓德强和杨世勇等用 JA/MeJA 处理的结果相一致^[10,19-20]. 研究结果也表明,适宜浓度 MeJA 处理可维持活性氧代谢平衡,而过高浓度(100 μmol/L)的 MeJA 处理(M5),则引起活性氧代谢失调,膜脂过氧化加剧[图 1-(a)].

3.2 机械伤害、外施 MeJA 与受伤苦瓜幼苗的防御酶

PPO 是植物中广泛存在的催化酚类氧化的酶类,它催化酚类物质氧化成醌. 一方面作为抗营养因子抵御昆虫咬食,另一方面对细菌有抑制作用^[10]. 因此, PPO 活性的高低是植物抵御机械伤害的重要指标. 本试验结果显示,受伤苦瓜幼苗 PPO 活性提高,这与刘艳、孙晓玲等的研究结果一致^[10,14];适宜浓度 MeJA 处理可进一步诱导伤害防御反应,提高受伤幼苗 PPO 活性,这与刘艳、孙晓玲、弓德强和杨世勇等用 JA/MeJA 处理的结果相一致^[10,14,19-20]. 研究结果也显示,适宜浓度 MeJA 处理可提高受伤苦瓜幼苗的 PPO 活性,增强防御力,而高浓度 MeJA 处理(M5)反而抑制 PPO 活性[图 2-(a)].

LOX 是植物受伤反应中 JA 合成的关键酶之一, LOX 活性的高低或 LOX 基因的表达影响植物内源 JAs 水平, 均与植物的防御状态密切相关^[20]. 外源 JA 能诱导巴西橡胶单位树皮组织和乳胶中 LOX 活性升高和玉米 LOX 等防御基因的表达^[21-22]. 在本试验中, 机械伤害使苦瓜幼苗叶片 LOX 活性升高, 这与申琳、Liu 和 Zhao 等的研究结果一致^[9,11-12]; 适宜浓度 MeJA 处理可进一步诱导受伤幼苗 LOX 活性升高, 这与杨世勇等用 JA 处理的结果相一致^[23].

3.3 机械伤害、外施 MeJA 与受伤苦瓜幼苗的木质素含量

木质素是植物细胞壁的主要成分之一. 植物组织遭机械损伤后会迅速合成一系列次生代谢物质, 主要集中在伤口及其附近部位, 参与伤愈合反应^[10]. 这些次生代谢物质包括木质素、酚类、黄酮类、萜类、生物碱等, 主要通过苯丙烷类代谢途径合成. 木质素的合成有利于伤口的愈合和抵抗病虫的侵袭^[13]. POD 在由酚类物质聚合形成木质素的过程中直接参与木栓质的形成. 因此, POD 也参与木质素的合成^[20], 实际上它也是一种防御酶. 本试验结果显示, 机械伤害使苦瓜幼苗叶片木质素含量显著提高, 这与申琳等的研究结果一致^[9]; 适宜浓度 MeJA 处理使受伤幼苗木质素含量显著提高, 这与刘新琼等用 MeJA 处理的结果相一致^[24].

4 结 论

外源 MeJA 能显著降低受伤苦瓜幼苗的氧化损伤, 显著提高 LOX 等防御酶活性和木质素含量, 增强对机械伤害的抵抗力. 其有效作用浓度范围为 $1\sim 10\ \mu\text{mol/L}$.

致谢: 河南利诺生化有限责任公司为本试验免费提供用于 LOX 活性测定的 α -亚麻酸, 特致谢忱!

参考文献:

- [1] 蔡昆争, 董桃杏, 徐 涛. 茉莉酸类物质(JAs)的生理特性及其在逆境胁迫中的抗性作用 [J]. 生态环境, 2006, 15(2): 397—404.
- [2] 张婷婷, 杨春贤, 王宏哲, 等. 茉莉酸羧基甲基转移酶基因的克隆及其高效表达载体的构建 [J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2009, 31(6): 68—72.
- [3] CHEONG J J, YANG D C. Methyl Jasmonate in Plants as a Vital Substance in Plants [J]. Trends in Genetics, 2003, 19(7): 409—413.
- [4] 汪新文. 茉莉酸参与植物逆境胁迫的研究进展 [J]. 安徽农学通报, 2008, 14(6): 29—35, 24.
- [5] UEDA J, KATO J. Isolation and Identification of a Senescence-Promoting Substance from Wormwood (*Artemisia absinthum* L.) [J]. Plant Physiology, 1980, 66(2): 246—249.
- [6] LEÓN J, ROJO E, SANCHEZ-SERRANO J J. Wound Signalling in Plants [J]. Journal of Experimental Botany, 2001, 52(354): 1—9.
- [7] OROZCO-CARDENAS M L, NARVAEZ VASQUEZ J, RYAN C A. Hydrogenperoxide acts as a Second Messenger for the Induction of Defense genes in Tomato Plants in Response to Wounding, Systemin and Methyl Jasmonate [J]. Plant Cell, 2001, 13: 179—191.
- [8] 黄 伟, 安华明, 杨 玉, 等. 机械伤胁迫下刺梨果实的抗氧化反应 [J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2009, 31(8): 109—113.
- [9] 申 琳, 生吉萍, 罗云波. 运输中的机械损伤对贮藏初期苹果活性氧代谢的影响 [J]. 中国农业大学学报, 1999, 4(5): 107—110.
- [10] 刘 艳, 郝燕燕, 刘艳艳, 等. 机械伤害和茉莉酸对豌豆幼苗膜脂过氧化的影响 [J]. 中国农业科学, 2005, 38(2): 388—393.
- [11] LIU Y, PAN Q H, ZHAN J C, et al. Response of Endogenous Salicylic Acid and Jasmonates to Mechanical Wounding in Pea Leaves [J]. Agricultural Sciences in China, 2008, 7(5): 622—629.
- [12] ZHAO Y Y, QIAN C L, CHEN J C, et al. Responses of Phospholipase D and Lipoxygenase to Mechanical Wounding in Postharvest Cucumber Fruits [J]. Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology), 2010, 11(6): 443—450.
- [13] 段园园, 孙窗舒, 陈贵林. 茉莉酸甲酯对锁阳茎切口愈合及抗氧化酶活性的影响 [J]. 植物生理学报, 2013, 49(8): 787—792.
- [14] 孙晓玲, 蔡晓明, 马春雷, 等. 茉莉酸甲酯和机械损伤对茶树叶片多酚氧化酶时序表达的影响 [J]. 西北植物学报, 2011, 31(9): 1805—1810.

[15] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导 [M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2003: 304—309, 274—277.

[16] 朱广廉, 钟海文, 张爱琴. 植物生理学实验 [M]. 北京: 北京大学出版社, 1991: 37—40.

[17] 姚锋先, 曾晓春, 蒋海燕, 等. 水稻中以亚麻酸为底物的脂氧合酶活性测定 [J]. 江西农业大学学报, 2006, 28(2): 183—186.

[18] 范鹏程, 田 静, 黄静美, 等. 花生壳中纤维素和木质素含量的测定方法 [J]. 重庆科技学院学报: 自然科学版, 2008, 10(5): 64—67.

[19] 弓德强, 谷 会, 张鲁斌, 等. 杜果采前喷施茉莉酸甲酯对其抗病性和采后品质的影响 [J]. 园艺学报, 2013, 40(1): 49—57.

[20] 杨世勇, 王蒙蒙, 谢建春. 茉莉酸对棉花单宁含量和抗虫相关酶活性的诱导效应 [J]. 生态学报, 2013, 33(5): 1615—1625.

[21] 曾日中, 白先权, 黎 瑜, 等. 外源茉莉酸诱导巴西橡胶树乳管分化的酶学研究(I) [J]. 热带作物学报, 2001, 3(1): 17—23.

[22] 冯远娇, 王建武, 骆世明. 外源茉莉酸处理对 Bt 玉米直接防御物质含量及其相关基因表达的影响 [J]. 中国农业科学, 2007, 40(11): 2481—2487.

[23] 杨世勇, 宋芬芳, 谢建春. 茉莉酸诱导棉花幼苗抗虫性对棉铃虫相对生长率的影响 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2013, 41(5): 66—74.

[24] 刘新琼, 王春台, 叶志杰, 等. 茉莉酸甲酯对 HL-CMS 水稻同核异质系幼苗叶片蛋白质、纤维素及木质素含量的影响 [J]. 中南民族大学学报: 自然科学版, 2007, 26(2): 42—46.

Effect of Exogenous Methyl Jasmonate on Physiological Characters of Balsam Pear Seedlings with Mechanical Injuries

TANG Shao-hu, HU Xia
School of Life Science, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: Balsam pear (*Momordica charantia* L.) seedlings with mechanical injuries on their leaves were cultured in Hoagland solution supplemented with 0.1—100 $\mu\text{mol/L}$ methyl jasmonates (MeJA) for 36 h, and then the contents of malondialdehyde (MDA) and lignin and the activities of POD, PPO and LOX in the leaves were determined. The results showed that the damage to the seedlings caused by mechanical wounding was significantly reduced in the presence of 1—10 $\mu\text{mol/L}$ of MeJA. Specifically, the level of MDA decreased by 36%—37.33%, the content of lignin increased by 77.08%—81.25%, and the activities of POD, PPO and LOX increased by 4.42—4.44-fold, 2.78—2.89-fold and 52.14%—52.63%, respectively. However, a lower concentration (0.1 $\mu\text{mol/L}$) of MeJA and a higher concentration (100 $\mu\text{mol/L}$) were less effective. The higher concentration of MeJA stimulated oxidative damage to leaves and suppressed the activity of PPO. It is concluded that exogenous MeJA elicits a dose-dependent effect on the physiology of mechanically stressed balsam pear seedlings, at 1—10 $\mu\text{mol/L}$ it will significantly alleviate the oxidative damage to the leaves, increase the activity of the defensive enzymes and thus enhance the resistance of seedlings to mechanical damage.

Key words: balsam pear (*Momordica charantia* L.); mechanical wounding; methyl jasmonate (MeJA); oxidative damage; defensive enzyme

