

聚乙二醇胁迫下的番茄幼苗内 ABA、JA 和多胺含量以及多胺氧化酶活性的变化

张春梅^{1,2}, 邹志荣^{1,*}, 张志新¹, 黄志¹

¹西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌 712100; ²河西学院农学系, 甘肃张掖 734000

摘要: 聚乙二醇模拟的干旱胁迫下, 2个品种番茄幼苗根和叶中脱落酸(ABA)和茉莉酸(JA)含量均迅速积累, 叶中 ABA 累积比根中滞后; 游离态亚精胺(fSpd)、精胺(fSpm)、腐胺(fPut)含量和多胺氧化酶(PAO)活性均先上升, 12 h 时达到峰值后下降, 耐旱性强的品种‘毛粉 802’幼苗根和叶中积累 ABA、JA 和 Spd、Spm 的能力明显强于耐旱性弱的品种‘皇冠’。‘皇冠’的 PAO 活性提高程度大于‘毛粉 802’。番茄根和叶中多胺含量和 PAO 活性呈显著正相关。内源多胺的积累诱导 ABA 和 JA 含量的升高, 从而导致番茄幼苗的耐旱性增强。

关键词: 番茄; 聚乙二醇胁迫; ABA; JA; 多胺; 多胺氧化酶

Changes in ABA, JA, Polyamines Contents and Polyamine Oxidase Activity of Tomato Seedlings under PEG Stress

ZHANG Chun-Mei^{1,2}, ZOU Zhi-Rong^{1,*}, ZHANG Zhi-Xin¹, HUANG Zhi¹

¹Department of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shanxi 712100, China; ²Department of Agricultural Science, Hexi University, Zhangye, Gansu 734000, China

Abstract: The contents of abscisic acid (ABA) and jasmonic acid (JA) in roots and leaves of two different drought-tolerant tomato cultivars seedlings under PEG stress were quickly increased, the accumulation of ABA in leaves lagged behind that in roots. The contents of free polyamines (fPut, fSpd, fSpm) and activity of polyamine oxidase (PAO) were significantly increased in early stage, reached the peak value after 12 h, and then descended. And the capacity of accumulation of ABA, JA, fSpd, fSpm in ‘MaoFen802’ with high drought-resistant were much greater than those in ‘HuangGuan’, increase extent of PAO activity in ‘HuangGuan’ was greater than that in ‘MaoFen802’. There was a significant positive correlation between PAs content and PAO activity in roots and leaves. It was suggested that the accumulation of endogenous PAs in roots and leaves might induced rapid increase of endogenous ABA and JA, which together enhanced drought-resistance of tomato seedlings.

Key words: tomato (*Lycopersicon esculentum*); PEG stress; ABA; JA; polyamines; polyamine oxidase

干旱胁迫下, 植物体内多胺(polyamine, PA)含量显著升高(Yamaguchi 等 2007), 逆境胁迫对植物造成的伤害缓解(Kasukabe 等 2004)。而脱落酸(abscisic acid, ABA)和茉莉酸(jasmonic acid, JA)是植物体内的逆境信号物质, 与干旱胁迫相关(Bell 和 Mullet 1991; 潘瑞炽和古焕庆 1995; 宫长荣等 2003; 兰彦平等 2004; 蔡昆争等 2006)。激素和多胺在植物生长发育过程中均起调节作用(林文雄等 2002; 李良俊等 2006), 多胺通过 ABA 增强豌豆的抗旱性(Upreti 和 Murti 1999), 内源 ABA 参与冷胁迫下水稻体内内源多胺的合成(Lee 等 1997), 还参与调节盐胁迫下玉米叶中多胺含量的增高(刘俊 2004)。外源 ABA 通过增加多胺等物质的含量增强甘蔗抗

旱性, 而 JA 处理则对诱导抗旱性不起作用(Nieves 等 2001)。因此, 系统研究干旱胁迫下植物激素 ABA、JA 和多胺的变化对于揭示植物的抗旱机制很有意义。有关植物内源 ABA、JA 和多胺与干旱胁迫之间关系的研究尚未见报道。本文以耐旱性不同的 2 个品种番茄为试材, 采用向营养液中加入聚乙二醇(PEG 6000)模拟干旱胁迫的方法, 研究干旱胁迫下番茄幼苗根和叶中 ABA、JA 和多胺含量之间的关系, 探讨三者在番茄抗干旱胁迫中的作用。

收稿 2008-04-14 修定 2008-07-21

资助 国家“十一五”攻关项目(2007BAD79B04)。

* 通讯作者(E-mail: zouzhirong2005@163.com; Tel: 029-87087298)。

材料与方法

试验于2007年4月~7月在西北农林科技大学人工培养室内进行。用营养液培养,以PEG 6000为渗透剂模拟干旱胁迫,对分别购自陕西杨凌农城种业公司和广州农业科学院蔬菜研究所的6个具有地域性差异的番茄(*Lycopersicon esculentum* Miller)进行室内品种间耐旱性筛选,确认品种‘毛粉802’的耐旱性比较强,品种‘皇冠’的耐旱性弱。种子经消毒、浸种、催芽后,选取发芽一致的饱满种子点播在带孔的营养钵中育苗,培养室中控制昼温为25~30℃,夜温为15~18℃。光照强度为130 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,每天光照12 h,子叶展平后浇1/2的Hoagland营养液。第4片真叶展开时挑选整齐一致的幼苗定植到水培槽中,调节营养液的pH为(6.5±0.1),营养液浓度为2.2~2.5 $\text{ms}\cdot\text{cm}^{-1}$,用通气泵间歇通气供氧40 $\text{min}\cdot\text{h}^{-1}$,每隔5 d更换一次营养液,幼苗长到六叶一心时进行预培养。预培养7 d后,将2个品种的幼苗分成两部分处理:一部分为正常营养液栽培即对照;另一部分于处理当天18:00向营养液中添加10% PEG 6000进行胁迫处理(程智慧等2002)。处理后,分别于0、6、12、24、36、48 h采集根系和叶片,取第4、5片成熟叶,在根际不同方位取样。不同时间换株取样。用液氮速冻后,贮存于-72℃下备用。

ABA、JA和多胺的提取和分离分别参照兰彦平(2001)和刘怀攀等(2006)文中的方法。ABA含量用高效液相色谱法测定,仪器为Waters公司生产的E600高效液相色谱仪,检测器为UV2487紫外检测器。色谱条件为:柱Spherisorb C₁₈ (4.5 mm×250 mm),峰高法定量(外标法)。JA含量用气相色谱-火焰离子光度检测器法测定,仪器为GC-14A气相色谱仪,检测器为氢火焰离子化光度检测器。色谱条件为:柱温采用程序升温,柱后温度保持15 min,流量为60 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,进样量为0.5 μL ,以峰高外标法定量。游离态多胺(free polyamine, fPA)含量的测定用高效液相色谱法,绘制标准曲线所用的Put、Spd与Spm均购自美国Sigma公司。采用梯度淋洗法,流动相为甲醇和水,流速为0.5~0.7 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,37℃为反应最佳温度,反应时间为20~25 min,或者30℃反应30~40 min,效果与前接近。多胺氧化酶(polyamine oxidase, PAO)活性的测定参照汪天

等(2004)文中方法,用N,N-二甲基苯胺和4-氨基安替吡啉做显色剂,Spm启动反应,记录OD₅₅₅处吸光值的变化,以0.001 $\Delta\text{OD}_{555}\cdot\text{g}(\text{FW})\cdot\text{min}^{-1}$ 为一个酶活单位(U)。

每个处理40株苗,每处理每次取样6株,3次重复,数据用DPS软件进行方差分析,以平均值±标准差反应每个处理各个指标的大小。

结果与讨论

1 PEG胁迫下番茄幼苗根和叶中的ABA和JA含量变化

由图1可见,(1)10% PEG胁迫下,番茄品种‘毛粉802’和‘皇冠’根中JA含量均持续增加,12 h时出现峰值。根中ABA含量也大幅度增加,‘毛粉802’在24 h和‘皇冠’在12 h时出现峰值,耐旱性强的‘毛粉802’比耐旱性弱的‘皇冠’增幅大些。(2)10% PEG胁迫下,两个品种叶中JA含量持续缓慢增加,均呈单峰曲线,24 h时出现峰值。这与葛云侠等(2007)杏中的结果不同,JA只在耐旱品种中积累,而不耐旱的品种并不积累JA,可能是不同植物积累JA对干旱胁迫的反应不同所致。(3)10% PEG胁迫下,‘毛粉802’和‘皇冠’根中ABA含量分别在24 h、12 h时出现峰值,而叶中ABA含量的峰值却分别出现在36 h和24 h,表明叶中ABA累积滞后于根系,这与孟建朝等(2007)在小麦中的结果相似。整个生长过程中二者含量始终高于不作PEG处理的,表明ABA和JA在番茄幼苗抵抗干旱胁迫过程中均起作用。

2 PEG胁迫下番茄幼苗根和叶中的游离态多胺(fPA)含量变化

由图2可见,PEG胁迫6 h后,2个品种番茄幼苗根和叶中fPut、fSpd和fSpm的含量都显著上升,峰值出现于12 h。耐旱性强的番茄品种‘毛粉802’累积fSpd和fSpm的能力大于耐旱性弱的‘皇冠’,二者fPut含量差别较小。随着胁迫时间的增加,2个品种幼苗中3种fPA含量下降,但其含量在48 h时仍然高于不作PEG处理的,根与叶中的fPA含量变化相似。相关性分析的差异显著($r_{0.01}=0.708$),显示番茄幼苗根和叶中的fPA含量变化是密切关系的。

3 PEG胁迫下番茄幼苗根和叶中的PAO活性变化

正常情况下,耐旱性弱的品种‘皇冠’幼苗根

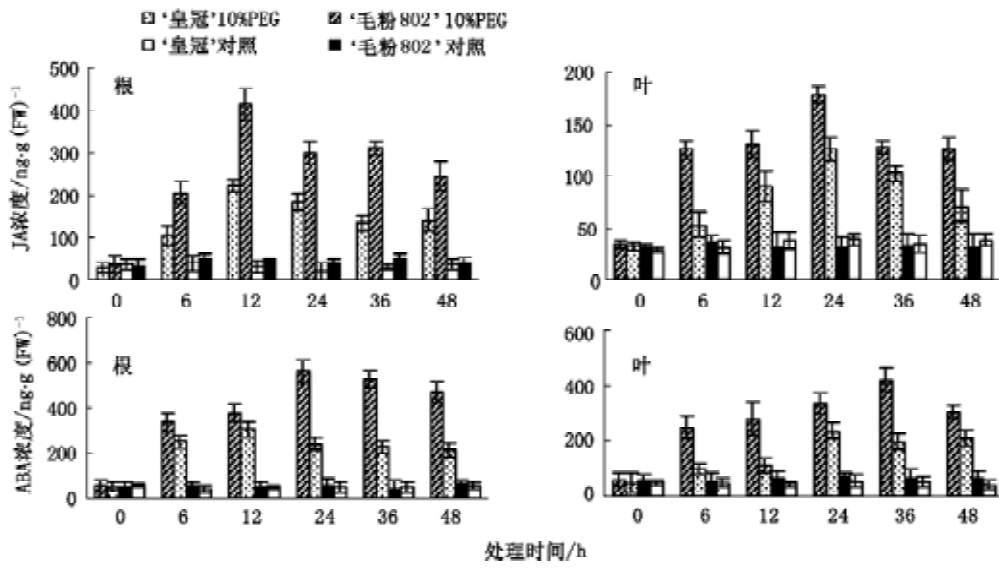


图1 PEG胁迫下2个品种番茄幼苗中JA和ABA含量的变化

Fig.1 Changes in JA and ABA contents of two tomato cultivars seedlings under PEG stress

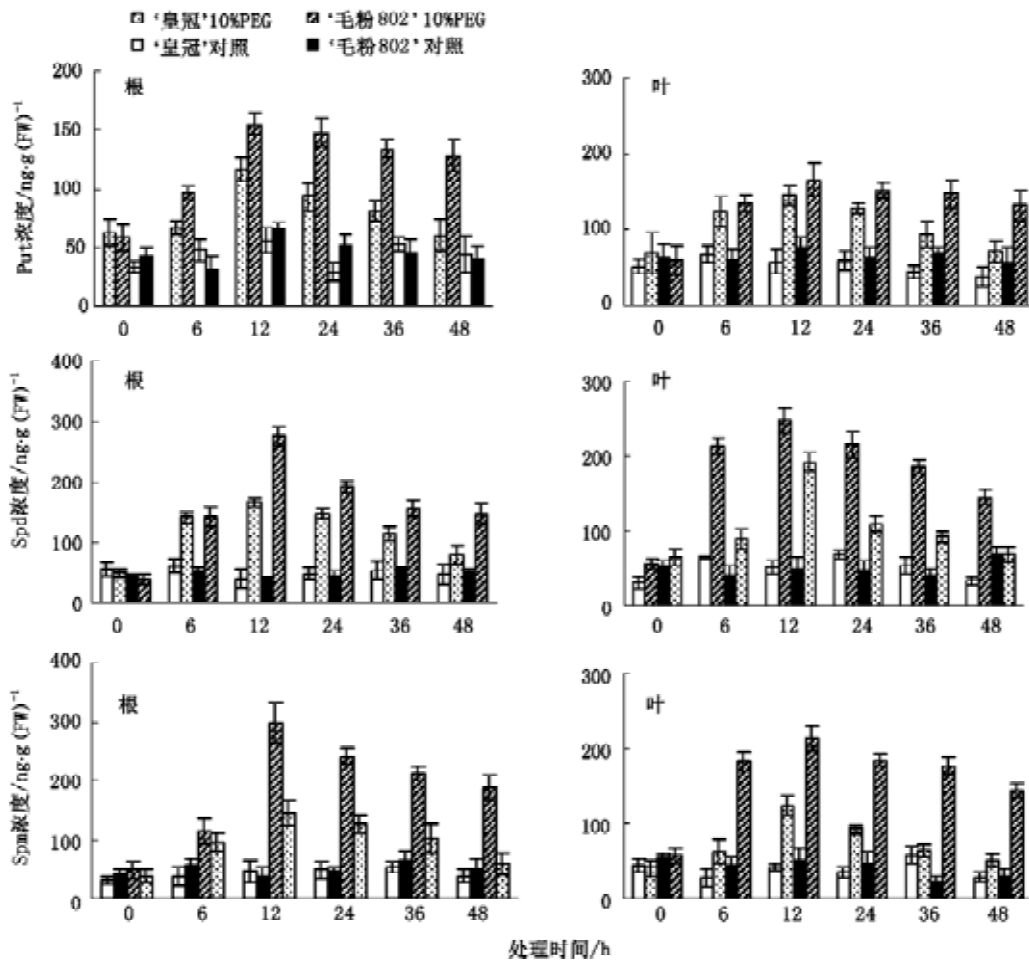


图2 PEG胁迫下2个品种番茄幼苗中游离态多胺含量的变化

Fig.2 Changes in fPA contents of two tomato cultivars seedlings under PEG stress

和叶中PAO的活性高于耐旱性强的品种‘毛粉802’。PEG胁迫初期, 2个品种根和叶中PAO活性均增加, 且与多胺的积累同步, 峰值均出现于处理后12 h, 耐旱性弱的品种‘皇冠’的增幅更为明显。

随着PEG胁迫时间的延长, 2个品种根和叶中PAO的活性下降, 品种间变化趋势一致(图3)。相关性分析的差异显著($r_{0.01}=0.708$), 显示PAO活性与番茄幼苗根和叶中多胺含量呈显著正相关。

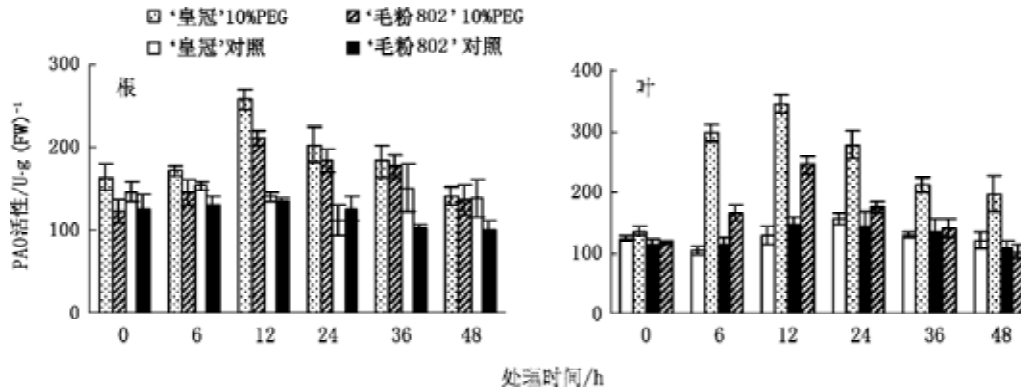


图3 PEG胁迫下2个品种番茄幼苗的PAO活性变化

Fig.3 Changes in PAO activities of two tomato cultivars seedlings under PEG stress

参考文献

- 蔡昆争, 董桃杏, 徐涛(2006). 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. 生态环境, 17 (6): 397~404
- 程智慧, 孟焕文, Julie D (2002). 水分胁迫对番茄幼苗转化酶表达及糖代谢的影响. 园艺学报, 29 (3): 278~279
- 葛云侠, 姚允聪, 许雪峰, 张杰, 韩振海(2007). 干旱胁迫下杏叶片中茉莉酸积累的作用. 园艺学报, 34 (3): 575~578
- 宫长荣, 李艳梅, 杨立均(2003). 水分胁迫下离体烟叶中脂氧合酶活性、水杨酸与茉莉酸积累的关系. 中国农业科学, 36 (3): 269~272
- 兰彦平(2001). 水分胁迫下苹果体内信号物质的研究——茉莉酸、脱落酸的作用[博士学位论文]. 北京: 中国农业大学
- 兰彦平, 韩振海, 许雪峰(2004). 水分胁迫下苹果果实生茉莉酸的积累及其与水分的关系. 园艺学报, 31 (1): 16~20
- 李良俊, 潘恩超, 许超, 叶枝荣, 曹砾生(2006). 莲藕膨大过程中内源激素、水杨酸和多胺含量的变化. 园艺学报, 33 (5): 1106~1108
- 林文雄, 吴杏春, 梁康迳, 郭玉春, 何华勤, 陈芳育, 梁义元(2002). UV-B辐射增强对水稻多胺代谢及内源激素含量的影响. 应用生态学报, 13 (7): 807~813
- 刘怀攀, 朱自学, 刘天学(2006). 渗透胁迫对小麦胚芽鞘内多胺的种类、形态和含量的影响. 植物生理与分子生物学报, 32 (3): 293~299
- 刘俊(2004). 植物体内多胺代谢的调节与抗盐性的关系及多胺在其信号转导中的地位[博士学位论文]. 南京: 南京农业大学
- 孟建朝, 刘子会, 李孟军(2007). CaM对渗透胁迫下小麦幼苗ABA

- 合成的介导作用研究. 华北农学报, 22 (2): 106~110
- 潘瑞焱, 古焕庆(1995). 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, 21 (3): 215~220
- 汪天, 郭世荣, 刘俊(2004). 多胺氧化酶检测方法的改进及其在低氧水培黄瓜根系中的应用. 植物生理学通讯, 40 (3): 358~360
- Bell E, Mullet JE (1991). Lipoxygenase gene expression is modulated in plants by water deficit, wounding, and methyl jasmonate. Mol Gen Genet, 230: 456~462
- Kasukabe Y, He L, Nada K, Misawa S, Ihara L, Tachibana S (2004). Overexpression of spermidine synthase enhances tolerance to multiple environmental stresses and up-regulates the expression of various stress-regulated genes in transgenic *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Physiol, 45 (6): 712~722
- Lee TM, Lur HS, Chu C (1997). Role of abscisic acid in chilling tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. II. Modulation of free polyamine levels. Plant Sci, 126: 1~10
- Nieves N, Martinez ME, Castillo R, Blanco MA, González-Olmedo JL (2001). Effect of abscisic acid and jasmonic acid on partial desiccation of encapsulated somatic embryos of sugarcane. Plant Cell Tiss Org Cult, 65 (1): 15~21
- Upreti KK, Murti GSR (1999). Effect of polyamine on the changes in endogenous hormones pea under water stress conditions. Ind J Plant Physiol, 4: 1~5
- Yamaguchi K, Takahashi Y, Berberich T, Imai A, Takahashi T, Michael AJ, Kusano T (2007). A protective role for the polyamine spermine against drought stress in *Arabidopsis*. Biochem Biophys Res Commun, 352: 486~490