

外源茉莉酸甲酯诱导蒙古扁桃物理防御反应的研究

方海涛^{1,2}, 张 乐², 邹明新², 段立清¹

(1. 内蒙古农业大学 林学院, 内蒙古 呼和浩特 010019; 2. 包头师范学院 生物科学与技术学院, 内蒙古 包头 014030)

摘 要:研究了不同浓度的茉莉酸甲酯(MeJA)对蒙古扁桃木质素、晶细胞及水势的诱导作用及其时间效应,探讨了外源茉莉酸甲酯是否对蒙古扁桃产生诱导防御反应。结果表明:茉莉酸甲酯处理使蒙古扁桃叶片木质素含量增加,中脉周围的晶细胞数量增多,水势下降。3种浓度MeJA处理蒙古扁桃,叶片木质素含量均于第3天增幅最大,至第5天木质素含量与对照组无差异;0.10 mmol/L MeJA处理效果显著高于其它2种浓度处理效果($P < 0.05$)。3种浓度MeJA处理蒙古扁桃1 d后,叶片水势显著低于对照($P < 0.05$);处理3、5 d后,叶片水势先升高后降低,水势均低于对照,但差异不显著($P > 0.05$)。3种MeJA处理的蒙古扁桃,叶中脉周围晶细胞数量显著高于对照组。

关键词:蒙古扁桃;茉莉酸甲酯;木质素;晶细胞;水势

中图分类号:S 482.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)02-0155-04

茉莉酸甲酯(Methyl Jasmonate, MeJA)被认为是一种新型的植物激素,参与植物种子萌发、生根和开花、果实成熟、胚胎发育、气孔关闭、色素合成、衰老等各种生长发育过程^[1]。外源茉莉酸甲酯还能够诱导植物的抗虫性, 1×10^{-3} mmol/L的MeJA诱导植物基因表达水平

的变化^[2-3]。施用MeJA能诱导植物体大豆营养贮藏蛋白酸性磷酸酶VspB的表达,引起叶片水势降低,渗透压升高,从而影响取食者的形态、取食行为以及它们的空间、时间分布。另外,植物细胞在受到茉莉酸甲酯作用下,细胞会发生一系列形态、生理上的变化^[4-5]。用MeJA水溶液喷云杉幼苗,木质部导管数目增多,树脂导管中出现萜类物质积累^[6]。MeJA处理烟草(*Nicotiana tabacum* L.)、水稻(*Oryza sativa* L.)、哈密瓜(*Acidovorax subsp.*)幼苗,可明显提高幼苗的木质素含量,而且木质素含量与植物抗病虫能力呈正相关^[6-7]。

蒙古扁桃(*Prunus mongolica*)是蒙古高原特有的古

第一作者简介:方海涛(1973-),男,蒙古族,在读博士,副教授,研究方向为森林保护。

责任作者:段立清(1960-),女,博士,教授,博士生导师,研究方向为害虫综合治理。

基金项目:内蒙古自治区高等学校科学研究资助项目(NJ10168)。

收稿日期:2012-10-10

[7] 姚士岩,王海泉. 曼陀罗有效成分的分析[J]. 辽宁大学学报(自然科学版),1995,21(1):99-102.

[8] 金振国,苏智魁,任有良,等. GC-MS法分析曼陀罗挥发油的化学成分[J]. 西北植物学报,2007,27(9):1905-1908.

[9] 江恒,林开中. 民间毒性草药曼陀罗种子中托烷类生物碱的含量测定[J]. 药物分析杂志,1998,18(增):147-148.

[10] 毛海立,周德超,龙成梅,等. 铁包金中不同部位总黄酮含量比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(9):116.

Effect of Planting Density on Total Flavonoid in Different Parts of *Datura stramonium* L.

LI Min, ZHAO Quan, WU Xiao-lin

(College of Traditional Chinese Medicine, Jilin Agricultural Science and Technology College, Jilin, Jilin 132101)

Abstract: Taking the seed of *Datura stramonium* L. as the material, the total flavonoid in different planting densities of *Datura stramonium* L. were determined by UV spectrophotometric. The results showed that the total flavonoids in *Datura stramonium* L. leaves and flowers were significantly higher than seeds. In B(row, planting spacing of 60 cm × 60 cm) planting density, the total flavonoid in seeds, leaves and flowers were higher than the others planting densities.

Key words: *Datura stramonium* L.; total flavonoid; UV spectrophotometry

老残遗植物,属国家二级濒危保护植物,其种仁具润肠通便、止咳化痰功效。但近年来,自然居群蒙古扁桃害虫危害特别严重,制约种仁的产量且影响农牧民的经济收入,同时也影响了蒙古扁桃自然种群的恢复。如用农药防治害虫必将导致其抗药性的增强,污染环境破坏蒙古扁桃的群落结构,也会降低蒙古扁桃种仁做为中草药的作用,影响人们的身体健康。植物的诱导抗性可长期保护植物免受虫害危害^[8],该试验用茉莉酸甲酯诱导蒙古扁桃,试图探明诱导后蒙古扁桃的物理防御反应,为蒙古扁桃害虫的防治提出新的对策,对森林害虫与树木相互关系的研究具有特殊的意义和作用。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试蒙古扁桃:将蒙古扁桃分批播种于盆内,根据土壤湿度,定期浇水,待蒙古扁桃长至 20 cm 时进行试验。在试验进行的前 1 周将健康蒙古扁桃苗木用自来水清洗干净置于微电脑人工气候箱中($T=(25\pm 1)^{\circ}\text{C}$, $L:D=14:10$),备用。

仪器与试剂:微电脑人工气候箱(上海博迅实业有限公司)、CT14D 离心机(上海天美生化仪器设备工程有限公司)、电热恒温水浴锅(上海医疗器械五厂)、756PC 型紫外可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司)、JJ-2B 组织捣碎匀浆机(金坛市荣华仪器制造有限公司)、WP4 露点水势速测仪(美国华盛顿 Decagon Devices 公司)、Top pipette 手动可调式移液枪(京君龙实验仪器有限公司);95% 茉莉酸甲酯(MeJA)、溴乙酰、羟胺盐酸购于 Sigma 公司,无水乙醇、冰醋酸、三氯乙酸购于上海实验试剂有限公司。

1.2 试验方法

将 114.00 μL 茉莉酸甲酯先溶于 11.00 mL 无水乙醇,然后用蒸馏水配制成所需浓度。在做预试验和查阅相关文献的基础上^[6,9],木质素含量测定设置 0.01、0.10、1.00 mmol/L 3 种浓度,分别处理 1 a 生蒙古扁桃幼苗,每一浓度处理 27 株,试验设 3 次重复;水势测定设

置 0.10 和 1.00 mmol/L 2 种浓度,分别处理 1 a 生蒙古扁桃幼苗,每一浓度处理 27 株,试验设 3 次重复;晶细胞所占比例测定设置 0.10 mmol/L MeJA 处理 1 a 生蒙古扁桃幼苗 9 株,以无水乙醇+蒸馏水(11.00 mL 无水乙醇溶于 500.00 mL 蒸馏水)作为对照。用手持式喷雾器向健康蒙古扁桃苗木均匀喷施茉莉酸甲酯溶液,液滴下流为止,然后放置在气候培养箱培养。

1.3 项目测定

木质素含量的测定参照任琴等^[6]的方法略加改进进行提取和测定。水势测定:从植株的上、中、下取叶各 5 片,用 WP4 露点水势速测仪测定其水势。晶细胞观察:取植株第 5 片叶,过中脉切 5 mm \times 5 mm 的小块放入 FAA 固定液中固定,石蜡切片方法参照李正理^[10],统计装片中脉周围 100 个细胞中晶细胞所占的比例。

1.4 数据分析

采用 SPSS 17.0 统计软件进行 Duncan 氏分析。

2 结果与分析

2.1 对蒙古扁桃叶片中木质素含量影响

从表 1 可以看出,3 种浓度诱导后蒙古扁桃叶片中木质素含量与对照组相比均提高。诱导第 1 天,MeJA 0.10 mmol/L 诱导蒙古扁桃叶中木质素含量极显著高于对照组,与对照相比提高 0.55 倍。诱导第 3 天,MeJA 0.10、0.01 和 1.00 mmol/L 处理的蒙古扁桃叶片中木质素含量均达最高,木质素含量表现为 MeJA 0.10 mmol/L>MeJA 1.00 mmol/L>MeJA 0.01 mmol/L。从诱导木质素增加量看,MeJA 0.10 mmol/L 处理植株叶片木质素含量高于 MeJA 0.01 mmol/L 和 MeJA 1.00 mmol/L 处理植株木质素含量,因此,茉莉酸甲酯诱导蒙古扁桃后,叶片中木质素含量与茉莉酸甲酯溶液浓度不存在剂量效应关系。MeJA 0.10 mmol/L 处理的植株,叶片中木质素含量第 3 天极显著高于第 5 天,显著高于第 1 天;MeJA 0.01、1.00 mmol/L 和对照组处理的植株,浓度相同,处理时间不同,叶片中木质素含量差异不显著。

表 1 茉莉酸甲酯处理后蒙古扁桃叶木质素含量随时间的变化

Table 1 The changes of the content of lignin as the time after MeJA treatment

MeJA 浓度 /mmol \cdot L ⁻¹	处理时间/d		
	1	3	5
0(CK)	5.650 \pm 1.50bB(Aa)	5.750 \pm 1.30bcdC(Aa)	5.750 \pm 1.50aA(Aa)
0.01	6.300 \pm 2.50bAB(aA)	6.480 \pm 0.40bcdD(aA)	6.060 \pm 0.80aA(aA)
0.10	12.625 \pm 4.20aA(bAB)	19.740 \pm 2.80aA(aA)	6.267 \pm 0.90aA(cB)
1.00	6.967 \pm 1.10bAB(aA)	7.067 \pm 2.10bcdB(aA)	6.070 \pm 0.60aA(aA)

注:表中数据为平均值 \pm 标准差;同列数据后括号外字母表示相同时间不同处理的差异显著性;同行数据后括号内字母表示相同处理不同时间的差异显著性;根据邓肯氏新复极差检验,小写字母不同者为差异显著($P<0.05$),大写字母不同者为差异极显著($P<0.01$)。

Note: Datas are Mean \pm SD; the numbers outside the bracket mean difference under different treatments; the numbers in bracket mean difference at different time; Using Duncan's test, small and capital letters mean significant difference at 0.05 and 0.01 level respectively.

2.2 MeJA 处理蒙古扁桃对蒙古扁桃叶片水势的影响

由图 1 可知,茉莉酸甲酯处理蒙古扁桃后,与对照组相比,叶片水势降低。1 d 叶片水势显著低于对照组

($P<0.05$),3,5 d 后叶片水势虽低于对照组,但与对照组数据相比差异不显著($P>0.05$)。处理时间相同,浓度为 0.10 mmol/L 处理蒙古扁桃,在 1、3、5 d 后水势降

低幅度均显著高于其它 2 种处理蒙古扁桃叶片的水势 ($P < 0.05$), 0.01 mmol/L MeJA 处理蒙古扁桃叶片水势降低幅度高于 1.00 mmol/L 处理蒙古扁桃叶片水势降低, 但二者差异不显著 ($P > 0.05$)。

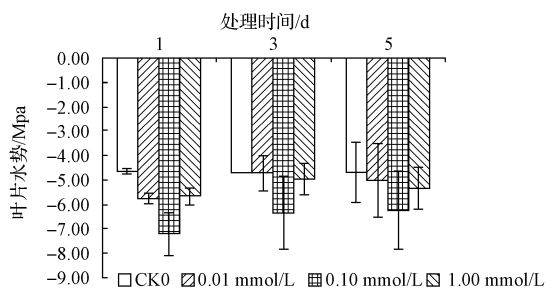


图 1 MeJA 处理蒙古扁桃对叶片水势的影响

Fig. 1 Effect of MeJA treatment on water potential of *Prunus mongolica* leaves

2.3 对蒙古扁桃叶片晶细胞的影响

从图 2 可以看出, 3 种浓度 MeJA 处理蒙古扁桃后, 叶片晶细胞数量均显著高于对照组 ($P < 0.05$)。LSD 多重比较显示 ($P < 0.05$), 与其它 2 种处理相比, 0.10 mmol/L MeJA 处理蒙古扁桃后, 叶片晶细胞数量略有增加, 3 种处理之间对叶片晶细胞数量影响不显著。同一种浓度 MeJA 处理后, 随时间的推移, 叶片晶细胞数量略有升高, 数据间差异不显著 ($P > 0.05$)。

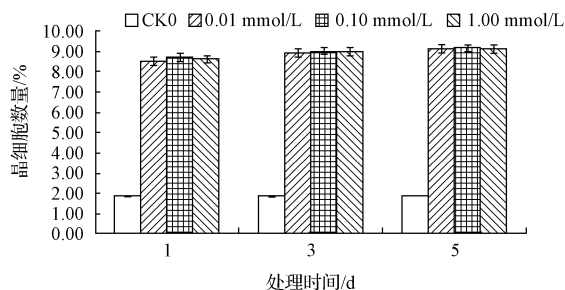


图 2 3 种浓度 MeJA 处理蒙古扁桃对叶片晶细胞数量影响

Fig. 2 Effect of 3 concentrations MeJA treatments on the numbers of crystal cells of *Prunus mongolica* leaves

3 结论与讨论

外源茉莉酸甲酯处理蒙古扁桃苗木使蒙古扁桃叶片木质素含量升高, 中脉周围晶细胞数量增多, 细胞水势降低, 体现了蒙古扁桃叶对茉莉酸甲酯的诱导反应。木质素渗入到细胞壁中填充于细胞壁构架内, 氢键将蛋白质、糖与木质素结合, 使植食者获取营养物质难度增大; 另外, 纤维素、木质素等是不易吸收的聚合体, 能降低植食者对叶片的取食率, 因此, 植物体木质素的含量增加, 可提高植物体抗虫能力。Scriber & Slansky (1981) 认为细胞壁中中性洗涤纤维、木质素、生物硅的含量高的植物能对昆虫取食产生不利影响。木质素和硅是玉米生长后期抗性提高的支配性因子, 其含量均与叶片的取食抗

性呈显著性相关 (Rojanaaridpiched, 1984)。外源茉莉酸甲酯处理蒙古扁桃后, 叶片中木质素含量增加, 诱导第 3 天叶片木质素含量达到最高, 从诱导木质素含量增加情况分析表明, MeJA 0.10 mmol/L > MeJA 1.00 mmol/L > MeJA 0.01 mmol/L。植物并非是水分胁迫的被动受害者, 而是具有快速感知和主动适应的能力, 茉莉酸类物质能够降低植物的水势^[11]。0.70 mmol/L 的 MeJA 处理苹果 (*Malus sieversii*) 幼树, 显著提高了叶片相对含水量、不饱和脂肪酸含量和不饱和脂肪酸指数, 降低了苹果幼树的水势^[12]。施加 JA 能提高梨叶中渗透调节物质甜菜碱的含量, 从而提高梨树渗透压^[13]。刺吸式口器的植食性昆虫能穿刺植物的组织从中抽吸液汁, 昆虫获取食物的难易与植物的液压有关。1.00、0.10 mmol/L MeJA 处理蒙古扁桃 1 d 后, 叶片水势显著低于对照, 可能影响刺吸式口器害虫取食蒙古扁桃。因此, 外源施用茉莉酸甲酯处理蒙古扁桃, 可以增强其抗虫力。

植物在受到外界胁迫的条件下, 细胞内草酸钙 (CaOx) 晶体及其化合物, 会被取食昆虫诱导并在植物体内积累, 影响昆虫进食速度, 也可以降低植物的营养来抑制昆虫获得足够的营养, 从而抵抗昆虫胁迫, 榆属 (*Ulmus*) 树种中叶肉细胞是否含有钙盐结晶是抗虫性树种的重要标志^[14-15]。蒙古扁桃叶肉细胞中的晶体具单一形状, 呈晶簇状排列, 外源茉莉酸甲酯处理蒙古扁桃后, 含晶细胞数量增多, 可能增强蒙古扁桃的抗虫能力, 但对减轻其害虫危害程度还需进一步研究。

参考文献

- [1] Li L, Zhao Y, Cai B C, et al. The tomato homolog of coronatine-insensitive is required for the maternal control of seed maturation, jasmonate-signaled defense responses, and glandular trichome development[J]. *Plant Cell*, 2004, 16(1): 126-143.
- [2] Farmer, Ryan. Octadecanoid precursors of jasmonic acid activate the synthesis of wound-inducible proteinase inhibitors[J]. *Plant Cell*, 1992(4): 129-134.
- [3] 张长河, 梅兴国, 余龙江. 茉莉酸与植物抗性相关基因的表达[J]. *生命的化学*, 2000, 20(3): 118-120.
- [4] Oravcova J, Bohs B. Durg-prote in binding sites, new trends in analytical and experimental methodology[J]. *J Chromatogr B Biomed Appl*, 1996, 677(1): 1-28.
- [5] Kessler A, Baldwin I T. Defensive function of herbivore induced plant volatile emissions in nature[J]. *Science*, 2001, 291(551): 2141-2144.
- [6] 任琴, 胡永建, 李镇宇, 等. 受害马尾松木质素含量及其过氧化物酶活性[J]. *生态学报*, 2007, 27(11): 4896-4899.
- [7] 郑喜清, 王国, 宋青山. 不同哈密瓜品种对细菌性果斑病的抗性与木质素之间的关系[J]. *河套大学学报*, 2010, 7(2): 42-45.
- [8] Constabel C P, Ryan C A. A survey of wound and methyl jasmonate-induced leaf polyphenol oxidase in crop plants[J]. *Phytochemistry*, 1998, 47: 507-511.
- [9] 宫玉艳, 段立清, 王爱清. 茉莉酸诱导对枸杞叶生化物质及酶活性的影响[J]. *植物保护*, 2010, 36(2): 61-65.
- [10] 李正理. 植物制片技术[M]. 北京: 科学出版社, 1973: 35-47, 94-99.

- [11] 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.
- [12] 姚允聪,张大鹏,王有年. MJ 提高苹果幼树抗旱性的研究初报[J].园艺学报,1999,26(5):333-334.
- [13] Gao X P, Wang X F, Lu Y F, et al. Jasmonic acid is involved in the water-stress-induced betaine accumulation in pear leaves[J]. Plant Cell and Environment, 2004, 27: 497-507.
- [14] Korth K, Doege S, Park S, et al. Medicago truncatula mutants demonstrate the role of plant calcium oxalate crystals as an effective defense against chewing insects[J]. Plant Physiol, 2006, 141(1): 188-195.
- [15] Wei H R, Li F L. Some relationships between leaf structure and

- resistance to insects of elms[J]. Journal of Beijing Forestry University (English Ed.), 1995, 4(1): 17-26.
- [16] 宾金华,潘瑞焱.茉莉酸甲酯诱导烟草幼苗抗病与过氧化物酶活性和木质素含量的关系[J].应用与环境生物学报,1999,5(2):160-164.
- [17] 金丽萍,崔世茂,杜金伟,等.干旱胁迫对不同生态条件下蒙古扁桃叶片 PAL 和 C4H 活性的影响[J].华北农学报,2009,24(5):118-122.
- [18] 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,2007,23(2):23-25.
- [19] 娄永根,程家安.植物的诱导抗性[J].昆虫学报,1997,40(3):320-331.
- [20] 钦俊德.昆虫与植物的关系[M].北京:科学出版社,1986:51-53,84-95.

Effects of Exogenous Methyl Jasmonate on Induced Physical Defensive Response of *Prunus mongolica*

FANG Hai-^{1,2}, ZHANG Le², ZOU Ming-xin², DUAN Li-qing¹

(1. College of Forestry, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010019; 2. Department of Biology, Baotou Normal College, Baotou, Inner Mongolia 014030)

Abstract: The inductive and time effect of different concentrations of MeJA on the lignin contents, the crystal cell number and water potential of *Prunus mongolica* leaves were studied, to find out whether MeJA have defence reaction on *Prunus mongolica*. The results showed that the lignin contents and the crystal cell number increased significantly after MeJA treatment, but water potential decreased remarkably. The lignin contents reached the maximum on the 3th day, and it had no difference with CK after treated by 3 concentrations of MeJA; the effect of 0, 10 mmol/L MeJA treatment had more significant difference than the others ($P < 0.05$). MeJA treatment obviously decreased water potential of the leaves than CK ($P < 0.05$) after treated by 3 concentrations of MeJA for 1 day; water potential first increased and then decreased after treated 3 and 5 days, which was lower than CK, but had no significant difference ($P > 0.05$). The crystal cell number of *Prunus mongolica* leaves was obviously higher than CK after treated by 3 concentrations of MeJA.

Key words: *Prunus mongolica*; methyl jasmonate (MeJA); lignin; crystal cells; water potential

食用菌简化制种新方法

该方法可免除传统制种所需要的系列昂贵设备、原料、药物、用品,节省投资数千元。生产的菌种抗性特强,既耐高温也耐低温,用于扩繁接种成功率达 100%,制种周期缩短 20~30 d。

1. 制种原料革新 简化常规法以马铃薯、葡萄糖、琼脂等为原料,混匀配制成的 PDA 培养基,用于接植 1 级试管母种;革新以农家随手可得的麦粒、谷粒、玉米粒、玉米芯、树木枝条等任选一种为原料,并辅以菌种包衣剂包衣后制成的全营养高氮型颗粒状食用菌种通用培养基,用于接植 1 级试管母种、2 级瓶装原种、3 级瓶装栽培种。1 支试管母种培养基的原料成本只需 0.03 元钱,1 瓶原种或 1 瓶栽培种的原料成本也只有 0.2 元钱,既省钱,又实用。

2. 高压灭菌革新 简化母种或原种培养基放入专用高压灭菌锅内,每平方厘米放入 1.2 kg,在蒸汽压力下保持 30~40 min 的灭菌方式;革新为放入做饭用的“苏泊尔”家用压力锅内,当蒸汽从限压阀孔喷射时保持 40~50 min,冷却至常压后取出。

3. 常压灭菌革新 简化栽培种培养基放入常压灭菌锅内灭菌 8~10 h;革新为放入太空灭菌包(自制材料费约 30 元,可容纳 500~800 瓶)内灭菌 3~4 h。

4. 接种方法革新 简化在接种箱或接种室内用甲醛、高锰酸钾等药物熏蒸灭菌后,再辅以酒精灯火焰才能进行封闭式接种的老方法;革新为用“四不型”食用菌无菌接种器,不用电、不用蒸汽、不用酒精、不用药物熏蒸灭菌,直接对各类食用菌进行全流程全开放式接种移植,成品率超过 99%。

5. 熟料制种革新 简化平菇、凤尾菇、红平菇、鸡腿菇、榆黄菇等食用菌的 3 级栽培种生产,用经蒸汽常压灭菌后的“熟料”接种培养;革新为用生料直接装袋接种生产。装料后中间打通气孔呈通透状,接入全营养高氮型颗粒状原种(用种量 15%),适温培养。

(来源:农业知网)