

干旱胁迫下紫花苜蓿叶片几种内源激素的变化

韩瑞宏¹, 张亚光², 田 华³, 卢欣石⁴

(1. 华南农业大学 生命科学学院, 广东 广州 510642; 2. 赤峰市红山区园林管理处, 内蒙古 赤峰 024000;

3. 华南农业大学 农学院, 广东 广州 510642; 4. 北京林业大学 资源与环境学院, 北京 100083)

摘要:以陇东(耐旱)、BL202329(不耐旱)2种抗旱性强弱差异较大的紫花苜蓿为试验材料,对干旱胁迫下2种紫花苜蓿叶片中ABA, IAA, GA₃, ZR 4种内源激素的含量变化进行研究,结果表明:在干旱胁迫下,陇东、BL202329两种紫花苜蓿叶片ABA, IAA含量均有不同程度的上升,GA₃和ZR的含量均呈下降趋势。干旱胁迫下4种内源激素之间的协调总趋势是向着气孔关闭、促进根系发展的方向进行。重度干旱时,苜蓿叶片中4种内源激素之间的协调趋势反映出抗旱性强的陇东苜蓿通过减缓生长速率来保证生存方面的调节能力较强,能有效地避免缺水伤害。

关键词:干旱胁迫;紫花苜蓿;叶片;内源激素;变化

中图分类号: S551⁺.7 文献标识码: A 文章编号: 1000- 7091(2008)03- 0081- 04

Study on Changes of Endogenous Hormones in the Leaves of Alfalfa under Drought Stress

HAN Ru2hong¹, ZHANG Ya2guang², TIAN Hua³, LU Xin2sh⁴

(1. College of Life Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2. Gardens Administration Bureau of Hongshan District, Chifeng City, Chifeng 024000, China;

3. College of Agronomy, South China Agriculture University, Guangzhou 510642, China;

4. Institute of Resources and Environment, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: In this study, Longdong (strong drought2resistance) and BL2022329 (weak drought2resistance) were chosen as experimental material to study the change of four endogenous hormones in the leaves of alfalfa under drought stress. The results of study on endogenous hormones content in alfalfa leaves showed: under drought stress the content of ABA and IAA in the leaves of alfalfa increased and the content of GA₃ and ZR decreased at different extent. The general trend of coordination among four endogenous hormones was closing the stoma and promoting the growth of root. Under severe drought stress, the trend of coordination among four endogenous hormones in the leaves of alfalfa indicated Longdong (strong drought2resistance alfalfa) had higher coordination ability in reducing growth rate to ensure surviving to avoid the damage of lack of water effectively.

Key words: Drought resistance; Alfalfa; Leaves; Endogenous hormones; Changes

紫花苜蓿 (*Medicago sativa*) 是世界分布最广的豆科牧草,其营养价值丰富,生物量大、再生性强,是改良土壤的绿肥植物,因而被称为“牧草之王”^[1,2]。但由于干旱的影响,苜蓿进一步发展受到严重制约^[3]。提高苜蓿的抗旱性,了解苜蓿抗旱机制,培育抗旱性强的苜蓿已成为苜蓿业发展的当务之急。植物激素是指在植物体内合成,对生长发育产生显著

作用的微量有机物质。在正常情况下,各种激素间的平衡能够保证植物正常的新陈代谢和生长发育,但在一定的环境胁迫限度内,植物体内各种内源激素会发生不同程度的升高或降低,即通过激素水平的改变来调节其生理机能和生长节律,以适应外界的不利环境,植物激素在植物抗逆性中的作用早已引起人们普遍关注^[4,5]。本研究以2种抗旱性强弱

收稿日期: 2008- 02- 18

基金项目: 教育部博士点基金项目(20060022011); 国家/ 十一五科技支撑计划课题(2006BAD01A19)

作者简介: 韩瑞宏(1974-),女,内蒙古牙克石人,博士,主要从事牧草抗逆性研究工作。

通讯作者: 卢欣石(1947-),男,博士,教授,博士生导师,主要从事草地遗传资源与生态方面研究。

差异较大的紫花苜蓿为试验材料,采用酶联免疫法对干旱胁迫下 2 种紫花苜蓿叶片中 ABA, IAA, GA_3 及 ZR 含量进行测定,初步获得一些关于干旱胁迫下苜蓿叶片主要内源激素的变化规律,对苜蓿的抗旱育种及人工激素调控应用于苜蓿抗旱栽培具有重要的理论价值和实践指导意义。

1 材料和方法

1.1 试验材料

根据对多个紫花苜蓿种质资源抗旱性的鉴定结果^[6],选择 2 种抗旱性强弱差异较大的紫花苜蓿即:陇东苜蓿(抗旱性强)和 BL202329(抗旱性弱)为试验材料,采用盆栽方式,选用直径为 40 cm、高 30 cm 的塑料盆,取试验田表层土,粉碎混匀,每盆装入等量土壤(15 kg),每盆播种 20 粒,待苗齐后间苗,去弱小苗,每盆留健苗 10 株,每个试验材料 12 盆。

1.2 试验方法

试验设 4 个土壤水分处理,3 次重复,处理 A(正常供水),分枝期控制土壤水分田间持水量的 75%~80%;处理 B(轻度干旱胁迫),分枝期控制土壤水分田间持水量的 65%~70%;处理 C(中度干旱胁迫),分枝期控制土壤水分田间持水量的 55%~60%;处理 D(重度干旱胁迫)分枝期控制土壤水分田间持水量的 40%~45%,同时测得土壤田间持水量为 26.31%。当各水分梯度形成时开始干旱胁迫,每盆中的水量用称重法控制,于每天 17:00 向盆中插孔补充水分,雨天将花盆搬至塑料大棚中,胁迫的第 15 天采用酶联免疫法对试验材料叶片的四种内源激素含量加以测定。样品取样方法是:于上午将植株顶部叶剪掉,以重复为单位,迅速称重,用纱布包裹后在液氮中冷冻约 10 h,然后移入 -30℃ 的冰箱中保存待测。

1.2 激素的分析测定

按照中国农业大学作物化控中心试剂盒提供的酶联吸附免疫测定法(ELISA)进行 4 种内源激素的测定,测定的激素分别为 ABA, IAA, GA_3 , ZR。

2 结果与分析

2.1 叶片内源激素含量的变化

2.1.1 ABA 含量的变化 脱落酸(Abscissic acid, ABA)是一种对植物生长、发育、抗逆性、气孔运动和基因表达等都有重要调节功能的植物激素,有研究表明,在水分亏缺时,ABA 的一个重要生理功能就是促进离子流出保卫细胞从而降低保卫细胞膨压,诱导气孔关闭,降低水分损耗,增加植物在干旱条件

下的保水能力^[7]。本试验研究结果显示(图 1),干旱胁迫下 2 种紫花苜蓿 ABA 含量均呈增加趋势。其中陇东苜蓿在轻度和中度干旱胁迫下,ABA 含量分别为对照的 11.84 倍和 1.73 倍,上升幅度相对较小,重度干旱胁迫时 ABA 含量大幅度增加,达到 419180 ng/g,为对照的 2.26 倍。BL202329 在正常水分条件下 ABA 含量较陇东苜蓿低,轻度干旱胁迫下 ABA 含量增幅较大,为对照的 2.28 倍,达到 325115 ng/g,中度及重度干旱胁迫下 ABA 含量虽继续增多,但增加的幅度较小,分别为对照的 21.42 倍和 21.62 倍。方差分析表明,陇东苜蓿除轻度与中度干旱胁迫下 ABA 含量差异不显著外($p > 0.05$),其他水分处理之间 ABA 含量差异极显著($p < 0.01$)。BL202329 在轻度与中度、中度与重度干旱胁迫下 ABA 含量差异不显著($p > 0.05$),其他水分处理之间 ABA 含量差异极显著($p < 0.01$)。可见,干旱胁迫能促使抗旱性强弱不同的 2 种紫花苜蓿叶片 ABA 含量增加,最高含量均出现在重度干旱胁迫下。

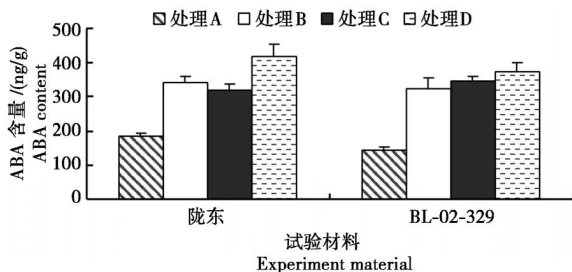


图 1 水分胁迫下紫花苜蓿叶片 ABA 含量变化

Fig. 1 The change of ABA content in alfalfa leaves under water stress

2.1.2 IAA 含量的变化 内源 IAA 作为促进植物生长的激素,是由植物顶端组织和生长的叶片合成的。所以植物在遭遇干旱时,生长受到抑制,由此引起合成 IAA 部位的减少,IAA 与生长组织之间存在着一个互动的平衡反馈关系。按照这种观点,随着干旱胁迫的加重,内源 IAA 应下降,但实际在干旱胁迫下 IAA 含量的变化比较复杂,在不同植物中反应也不尽相同,在一些植物上是增加的,在另外一些植物上是降低的^[8,9]。本试验中,干旱胁迫下 2 种紫花苜蓿叶片 IAA 含量均增加。陇东苜蓿在干旱胁迫下叶片 IAA 的含量虽然增多,但在轻度、中度、重度干旱胁迫程度之间变化不大,方差分析表明,处理 B, C, D 之间 IAA 含量差异不显著($p > 0.05$),但均与处理 A(对照)间差异显著($p < 0.05$)。BL202329 叶片 IAA 含量随胁迫强度的增大逐渐升高,轻度、中度、重度干旱胁迫下 IAA 含量分别为对照的 2.00, 2.13 和 2.79 倍,方差分析显示,处理 B 和处理 C 之间 IAA 含量的差异不显著($p > 0.05$),其他水分

处理间 IAA 含量差异极显著($p < 0.01$)(图 2)。

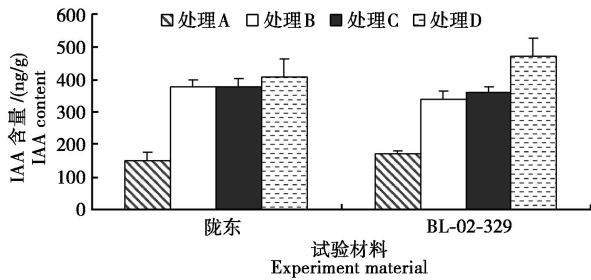


图 2 水分胁迫下紫花苜蓿叶片 IAA 含量变化
Fig. 2 The change of IAA content in alfalfa leaves under water stress

2.1.3 GA_3 含量的变化 赤霉素(GA_3)是与成花和节间伸长有关的生长素类物质,但它的生理作用主要是促进植物生长和促进开花。本试验表明(图 3),干旱胁迫下紫花苜蓿叶片中的 GA_3 含量降低。陇东苜蓿在轻度和中度干旱胁迫条件下 GA_3 含量下降幅度较小,与对照相比分别下降了 10197% 和 15164%,方差分析表明,轻度和中度干旱胁迫下 GA_3 含量差异不显著($p > 0.05$),重度干旱胁迫下 GA_3 下降幅度变大,与对照相比下降了 43137%,与其他处理间差异极显著($p < 0.01$)。BL202329 随干旱胁迫程度的加深 GA_3 含量下降幅度增大,与对照相比,轻度、中度、重度干旱胁迫下 GA_3 含量下降的幅度分别为 15170%, 24102% 和 40166%。与对照差异极显著($p < 0.01$)且各处理间差异极显著($p < 0.01$)。

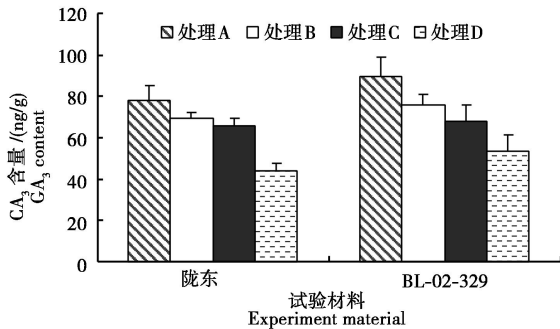


图 3 水分胁迫下紫花苜蓿叶片 GA_3 含量变化
Fig. 3 The change of GA_3 content in alfalfa leaves under water stress

2.1.4 ZR 含量的变化 玉米素核苷(ZR)是植物中最常见的细胞分裂素,它主要促进细胞分裂、扩大,还促进侧芽发育,延迟衰老和促进营养物质移动。干旱胁迫下,苜蓿叶片中 ZR 的含量表现为随干旱胁迫程度的增加逐渐下降。其中,陇东苜蓿随胁迫强度的增加 ZR 下降幅度逐渐增大,与对照相比,轻度、中度和重度干旱胁迫下 ZR 含量的降低幅度分别为 28183%, 41160% 和 60193%,轻度和中度干旱胁迫下 ZR 含量差异不显著($p > 0.05$)其他处理间 ZR 含量差异极显著($p < 0.01$)。BL202329 叶片 ZR

含量的变化趋势和陇东苜蓿相似,随胁迫程度的加深 ZR 含量下降增多,处理 C 与处理 D 间差异不显著($p > 0.05$)其他处理间差异极显著($p < 0.01$)。与对照相比,轻度、中度和重度干旱胁迫下 ZR 下降的幅度分别为 28117%, 46144% 和 54181%(图 4)。

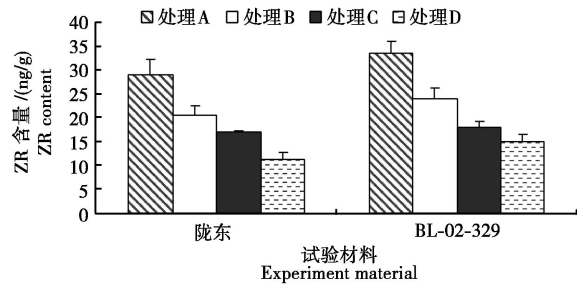


图 4 水分胁迫下紫花苜蓿叶片 ZR 含量变化
Fig. 4 The change of ZR content in alfalfa leaves under water stress

2.2 ZR/ABA, ZR/IAA 与 ABA/(IAA+ GA_3 + ZR) 含量的变化

在植物的生长发育过程中,并非只受 2 种激素简单的增效、拮抗作用的影响。一般的生理过程往往是在多种激素、多种生理作用综合作用下进行的。激素之间存在着对抗性、协同性、同一性^[10]。如细胞分裂素与脱落酸在控制叶片气孔开合方面的作用相拮抗,脱落酸能有效地促进叶片气孔的关闭,而细胞分裂素的作用恰好相反,使气孔在失水时不能迅速关闭,所以 ABA 能缓解植物体内水分亏缺,CTK 却加剧植物体内的水分亏缺^[11]。CTK 在植物组织建成中常与 IAA 协同作用,当 CTK/IAA 较大时,产生叶、芽的分化,当 CTK/IAA 较小时促进根的产生。干旱条件下,CTK/IAA 的值对于植物的抗旱性也具有重要作用,CTK/IAA 的减少可促进根的发展,利于植物体在干旱条件下有发达的根系,吸收更深更广土层中的水^[12]。

由表 1 看出,2 种紫花苜蓿随干旱胁迫强度的增加,ZR/ABA 呈下降趋势,干旱胁迫越严重 ZR/ABA 的值越小,表明干旱胁迫下,随着水分胁迫程度的加深,这 2 种内源激素的拮抗作用是向着气孔关闭的方向进行。总体上,在不同干旱胁迫程度下,抗旱性强的陇东苜蓿 ZR/ABA 值较 BL202329 低。随着干旱胁迫程度的加深,两种紫花苜蓿 ZR/IAA 的值也呈下降趋势,陇东苜蓿在轻、中、重度干旱胁迫下 ZR/IAA 值较 BL202329 低。表明干旱胁迫下,随着水分胁迫程度的加深,这 2 种内源激素的协同作用是向着有利于苜蓿植株体根系发展的方向进行。

IAA, GA_3 和 ZR 都是促进植物生长发育(如细胞分裂、伸长等)的植物激素,ABA 是抑制植物生长的

激素,本试验表明,在干旱胁迫条件下抑制生长的激素 ABA 和促进生长的激素 IAA 含量增加,促进生长的激素 GA₃ 和 ZR 含量降低。由表 1 可知,陇东苜蓿 ABA/(IAA+ GA₃+ ZR) 值在轻度干旱胁迫下变化不大,中度干旱胁迫下 ABA/(IAA+ GA₃+ ZR) 降低,表明陇东苜蓿在轻度和中度干旱胁迫下四种内源激素之间的协调是向着生长的方向进行,仍具有生长的潜能。重度干旱胁迫下 ABA/(IAA+ GA₃+ ZR) 有

表 1 水分胁迫下紫花苜蓿内源激素之间比值变化

| | ZR/ABA | | ZR/IAA | | ABA/(IAA+ GA ₃ + ZR) | |
|------------------------------|-------------|----------|-------------|----------|---------------------------------|----------|
| | 陇东 Longdong | BL202329 | 陇东 Longdong | BL202329 | 陇东 Longdong | BL202329 |
| 正常供水 Normal water supply | 0.156 | 0.234 | 0.195 | 0.197 | 0.726 | 0.488 |
| 轻度干旱 Light drought stress | 0.060 | 0.074 | 0.055 | 0.071 | 0.731 | 0.742 |
| 中度干旱 Moderate drought stress | 0.052 | 0.052 | 0.046 | 0.050 | 0.697 | 0.773 |
| 重度干旱 Heavy drought stress | 0.027 | 0.040 | 0.028 | 0.032 | 0.911 | 0.691 |

3 讨论

ABA 是植物各器官间传递信号的重要因子,植物体内存在着 ABA 结合蛋白,它专一地与 ABA 结合而产生适应或抵抗逆境的一系列生理反应。ABA 是抗旱、抗寒、抗盐碱等抗性基因表达的启动因素,对植物抗逆性的调控起着重要作用^[13-16]。干旱条件下,植物体内 ABA 浓度的升高已被众多试验证实^[17]。本试验研究发现,干旱胁迫下,2 种紫花苜蓿 ABA 含量整体呈上升趋势,但上升幅度随品种不同而异。抗旱性强的陇东苜蓿在重度干旱胁迫下 ABA 含量上升的幅度大,而抗旱性差的 BL202329 在轻度干旱胁迫下 ABA 含量上升的幅度大,重度干旱胁迫下 ABA 含量增加的幅度较小,表明抗旱性强的陇东苜蓿在严重干旱胁迫下通过 ABA 的积累来抵御干旱胁迫的能力强于抗旱性差的 BL202329。

干旱胁迫下,2 种紫花苜蓿叶片 IAA 含量上升,可能是干旱胁迫提高了 IAA 的潜在调节能力,苜蓿仍具有生长的潜能。干旱胁迫下 2 种苜蓿的 GA₃ 和 ZR 含量均呈下降趋势,可能是植株通过减慢生长速率,来缓解因水分不足造成的植株完成正常生理活动的压力。陇东苜蓿在重度干旱胁迫下 GA₃ 和 ZR 含量下降的尤为明显,可能是由于抗旱性强的陇东苜蓿在重度干旱胁迫下通过减缓生长来适应逆境的能力更强。

由于激素间存在着协调性、对抗性及同一性等特性,在干旱胁迫下激素之间常常是互相抑制、互相促进的。本研究中,干旱胁迫下 4 种激素之间协调的总趋势是向着气孔关闭,促进根系发展的方向进行。陇东苜蓿在重度干旱情况下,4 种激素趋向以促进根系生长,生长速率减缓来保证生存方面的调节能力更强,减缓生长速度可有效的避免缺水伤害,因此可能在严重干旱胁迫下其适应性方面更有优势。

由于本试验只研究了 4 种内源激素在干旱胁迫

较大幅度的升高,表明重度干旱胁迫时 4 种激素之间的协调是向着抑制生长的方向进行。BL202329 在轻度、中度和重度干旱胁迫时,与对照相比,ABA/(IAA+ GA₃+ ZR) 比值均升高,但随干旱胁迫程度的加深,ABA/(IAA+ GA₃+ ZR) 值升高的幅度降低,表明 BL202329 在轻度、中度和重度干旱胁迫下 4 种内源激素之间的协调是向着抑制生长的方向进行,但抑制作用随胁迫程度的加深而减弱。

下的变化特征,不能代表总体内源激素的变化,关于干旱胁迫下苜蓿植株体其他内源激素的作用还有待于今后进一步深入研究。

参考文献

[1] 韩德梁,王彦荣.紫花苜蓿对干旱胁迫适应性的研究进展[J].草业学报,2005,14(6):7-13.

[2] 张春荣,李红,夏立江,等.镉、锌对紫花苜蓿种子萌发及幼苗的影响[J].华北农学报,2005,20(1):96-99.

[3] 李世雄,王彦荣,孙建华.中国苜蓿品种种子产量性状的遗传多样性[J].草业学报,2003,12(1):23-29.

[4] Davies W J, Metcalf J, Lodge T A. Plant growth substance and the regulation of growth under drought [J]. Aus J Plant siol, 1986, 13: 105-125.

[5] 薛永常,曹敏,李云荫.不同的抑制剂处理对水分胁迫诱导的冬小麦幼苗 ABA 累积的影响[J].华北农学报,1997,12(1):25-29.

[6] 韩瑞宏,卢欣石,高桂娟,等.紫花苜蓿抗旱性主成分及隶属函数分析[J].草地学报,2006,14(2):142-146.

[7] Rock C D, Ng PPF. Dominant Wilty mutants of Zea mays (poaceae) are not in abscisic acid perception or metabolism [J]. Am J Bot, 1999, 86: 1796-1800.

[8] Chan K Y, Heenan D P. Effect of tillage and stubble management on soil water store, crop growth and yield in a wheat lupine rotation southern NSW [J]. Aust J Agric Res, 1996, 47: 479-488.

[9] Tawainga K. Tillage and rotation effects on soil physical characteristics [J]. Agronomy Journal, 2002, 94: 299-304.

[10] 李良勇,崔国贤.营养胁迫下植物内源激素变化研究进展[J].作物研究,2002,5:240-243.

[11] 李建贵,黄俊华,王强.梭梭叶内激素与渗透调节物质对高温胁迫的响应[J].南京林业大学学报,2005,29(6):45-48.

[12] 史齐,萧浪涛,康朵兰.植物生长物质在水稻生长发育研究中的应用[J].生命科学研究,2005,9(4):72-77.

[13] 王成章,潘晓建,张春梅,等.外源 ABA 对不同秋眠型苜蓿品种植物激素含量的影响[J].草业学报,2006,15(2):30-36.

[14] Guy C L. Cold acclimation and freezing stress tolerance: Role of protein metabolism [J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1990, 41: 187-223.

[15] 李智念,王光明,曾之文.植物干旱胁迫中的 ABA 研究[J].干旱地区农业研究,2003,21(2):99-104.

[16] Moons A, Bauw G, Prinsen E, et al. Molecular and physiological responses to abscisic acid and salts in roots of salt sensitive and salt tolerant indica rice varieties [J]. Plant Physiology, 1995, 107: 177-186.

[17] Zhang J, Davies W J. Changes in concentration of ABA in xylem sap as a function of changing soil water status can account for changes in leaf conductance and growth [J]. Plant Cell and Environ, 1990, 13: 277-285.