

# 外源茉莉酸甲酯缓解盐对水稻种子萌发的抑制作用

庞延军, 戎 鑫, 施丽丽

(南京大学生命科学学院, 江苏 南京 210093)

摘要: 在 100 mmol/L NaCl 胁迫下, 经蒸馏水吸胀处理的 LHN(耐盐)和 IR26(盐敏感)水稻种子的发芽势、发芽率和发芽指数均较对照下降, LHN 分别下降 12.2%、12.9%和 3.12, IR26 分别下降 46.6%、33.6%和 9.42, IR26 下降的幅度大于 LHN。吸胀后, 不同质量浓度 ( $2.1 \times 10^{-2}$ 、 $5 \times 10^{-4}$ 和  $5 \times 10^{-6}$  mg/L)的外源茉莉酸甲酯 (Me-Ja)对 LHN 和 IR26 在盐胁迫下发芽势、发芽率和发芽指数影响不同。以相对盐害率判断, 质量浓度为 2 和  $5 \times 10^{-6}$  mg/L 的 Me-Ja 对 LHN 在盐胁迫下萌发的促进作用不显著, 质量浓度为  $5 \times 10^{-2}$ 和  $5 \times 10^{-4}$  mg/L 的 Me-Ja 表现为促进作用, 质量浓度为  $5 \times 10^{-2}$  mg/L 的 Me-Ja 促进作用最大; 而对于 IR26 在盐胁迫下的萌发, 5 种质量浓度的 Me-Ja 的都具有显著的促进作用, 且质量浓度为  $5 \times 10^{-4}$  mg/L 的促进作用最大。

关键词: 水稻; 盐胁迫; 茉莉酸甲酯; 种子萌发

中图分类号: Q945.34 文献标识码: A 文章编号: 1001-411X(2006)01-0113-04

## Ameliorative Effects of Exogenous Methyl Jasmonate on Germination

### of Rice Seeds Under Salt Stress

PANG Yan-jun, RONG Xin, SHI Li-li

(College of Life Science, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Abstract: Pretreated with distilled water inhibition, germination energy (GE), germination rate (GR) and germination index (GI), of LHN (salt tolerant) and IR26 (salt sensitive) all decreased significantly under 100 mmol/L NaCl salt stress, and GE, GR and GI of IR26 decreased more than those of LHN. Effects of exogenous methyl jasmonate (Me-Ja) of 5 concentration levels viz.,  $2.1 \times 10^{-2}$ ,  $5 \times 10^{-4}$  and  $5 \times 10^{-6}$  mg/L on GE, GR and GI of LHN under 100 mmol/L salt stress differed from those of IR26. Judged by relative injury rate,  $1.5 \times 10^{-2}$  and  $5 \times 10^{-4}$  mg/L Me-Ja applied in LHN had significantly ameliorative effect on germination under salt stress and the most ameliorative one was  $5 \times 10^{-2}$  mg/L; while 5 concentration Me-Ja applied in IR26 pretreated with distilled water inhibition all significantly ameliorated the inhibition on germination by salinity, and the most ameliorative concentration was  $5 \times 10^{-4}$  mg/L.

Key words: rice; salt stress; methyl jasmonate; seed germination

茉莉酸类化合物(茉莉素)是一类新确认的植物内源生长物质<sup>[1]</sup>。它们在若干生理功能上与 ABA 相似。它们能抑制种子萌发、幼苗生长、愈伤组织的生长与分化、叶绿素形成和光合作用等生理过程<sup>[2]</sup>;能促进叶片衰老脱落、果实成熟、块茎形成、气孔关闭和插条生根等生理过程<sup>[2-3]</sup>。茉莉酸甲酯 (Me-Ja) 是茉莉酸类化合物中的一种。现已发现 Me-Ja 作为信号分子参与了植物众多的抗性反

应,具有重要的胁迫应答和调控作用<sup>[3]</sup>。但目前关于 Me-Ja 与植物耐盐性关系的研究报道却很少<sup>[4]</sup>。为了深入了解 Me-Ja 对植物耐盐性的影响,阐明 Me-Ja 调节植物抗盐性的机制,促进 Me-Ja 在盐碱地农林业生产方面的应用,本文以不同水稻品种为材料,研究了外源 Me-Ja 对不同水稻品种种子萌发的抗盐性的影响,为 Me-Ja 应用于盐碱地水稻改造提供理论参考。

收稿日期:2005-01-25

作者简介:庞延军 (1969-),男,讲师,博士研究生,E-mail:pangyanjun@nju.org.cn

基金项目:国家 863 计划项目 (2003AA209030)



# 1 材料与方法

## 1.1 试验材料

选用2个水稻品种:粳稻李和粘 *Oryza sativa* L. subsp. *japonica* cv. LiHeNian, 为太湖地区中度耐盐品种, 简称 LHN; 国际水稻所籼稻 IR26 *Oryza sativa* L. subsp. *indica* cv. IR26, 为盐敏感品种, 简称 IR26.

1.1.1 试验材料的培养与处理 挑选籽粒饱满的水稻种子经 1 g/L HgCl<sub>2</sub> 消毒 10 min, 用蒸馏水冲洗数次, 沥干. 先用蒸馏水浸种吸胀 24 h, 然后再分别用 100 mmol/L NaCl 溶液、100 mmol/L NaCl + Me-Ja (质量浓度分别为 2、1、5 × 10<sup>-2</sup>、5 × 10<sup>-4</sup> 和 5 × 10<sup>-6</sup> mg/L) 处理, 以蒸馏水为对照.

将种子整齐地摆放在铺有 2 层滤纸的培养皿中, 每个培养皿摆放 20 粒, 加入 10 mL 的处理液. 每个处理 5 个重复, 置于 28 ℃ 左右的恒温培养箱中培养. 每天更换相应的溶液以保证 NaCl 和 Me-Ja 的浓度不变. 以芽长超过种子本身长度的一半或超过根长作为种子发芽的标准, 每天定时观察记录当天的发芽率, 并移去发芽的种子. 在第 7 d (从种子用水浮选当天开始算起) 统计各处理的平均发芽率.

1.1.2 主要试剂 取一定量茉莉酸甲酯 (Me-Ja), 先溶解于尽可能少的无水酒精中, 后用双蒸水定容成所需质量浓度的贮备液, 放于棕色瓶中置冰箱保存. 贮备液中少量的酒精对细胞无影响.

## 1.2 试验方法

发芽势、相对发芽势、发芽率、相对发芽率、发芽指数、相对发芽指数的测定参见文献[5], 相对盐害率计算参见文献[6]. 应用 SAS 统计软件处理试验中所有数据, 百分率数据在方差分析前用反正弦变换公式  $y = \arcsin \sqrt{x/100}$  转换. 用 Duncan's 多范围检验法进行各种数据比较.

# 2 结果与分析

由表 1 可知, 和对照相比, 在盐胁迫下 2 个品种水稻种子的发芽势和发芽率均显著下降. 其中 IR26 的相对发芽势下降了 68%, 相对发芽率下降了 43%, 而 LHN 的相对发芽势下降了 19%, 相对发芽率下降了 16%, IR26 下降的幅度较 LHN 大. 不同浓度的 Me-Ja 对 LHN 和 IR26 在盐胁迫下的发芽势、相对发芽势、发芽率和相对发芽率的影响不同. 最高浓度和最低浓度的 Me-Ja 对 LHN 在盐胁迫下的发芽势、相对发芽势、发芽率和相对发芽率的作用不显著, 适当低浓度的 Me-Ja (1、5 × 10<sup>-2</sup> 和 5 × 10<sup>-4</sup> mg/L) 则显示显著的提高作用, 其中 Me-Ja 质量浓度为 5 × 10<sup>-2</sup> mg/L 的作用最大. 而较低浓度的 Me-Ja 对 IR26 在盐胁迫下的发芽势和相对发芽势有提高作用, 但均未达显著水平; 试验所用的 5 个浓度的 Me-Ja 对 IR26 在盐胁迫下的发芽率和相对发芽率都有显著的提高作用, 其中 Me-Ja 质量浓度为 5 × 10<sup>-4</sup>

表 1 不同浓度茉莉酸甲酯 (Me-Ja) 对 2 个水稻品种在盐胁迫下种子萌发的影响<sup>1)</sup>

Tab. 1 Effect of different concentrations of methyl jasmonate (Me-Ja) on germination of two rice cultivars under salt stress

| 品 种<br>variety | 处 理<br>treatment                   |                                    | 发芽势<br>germination<br>energy/% | 相对发芽势<br>relative<br>germination<br>energy | 发芽率<br>germination<br>rate/% | 相对发芽率<br>relative<br>germination<br>rate | 发芽指数<br>germination<br>index | 相对发芽指数<br>relative<br>germination<br>index | 相对盐害率<br>relative injury<br>rate/% |
|----------------|------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------------|------------------------------|------------------------------------------|------------------------------|--------------------------------------------|------------------------------------|
|                | NaCl/<br>(mmol · L <sup>-1</sup> ) | Me-Ja /<br>(mg · L <sup>-1</sup> ) |                                |                                            |                              |                                          |                              |                                            |                                    |
| LHN            | 对照 control                         | 0                                  | 63.4 ± 0.9a                    | 1.00 ± 0.01a                               | 78.3 ± 0.9a                  | 1.00 ± 0.01a                             | 15.05 ± 2.75a                | 1.00 ± 0.18a                               | 0.00 ± 1.12a                       |
|                | 100                                | 0                                  | 51.2 ± 8.0b                    | 0.81 ± 0.13b                               | 65.8 ± 2.4d                  | 0.84 ± 0.03d                             | 12.93 ± 2.69ab               | 0.86 ± 0.18ab                              | 16.09 ± 3.05d                      |
|                | 100                                | 2                                  | 54.6 ± 15.8b                   | 0.86 ± 0.25b                               | 64.2 ± 0.4d                  | 0.82 ± 0.01d                             | 10.93 ± 2.22b                | 0.73 ± 0.15d                               | 17.91 ± 0.57d                      |
|                | 100                                | 1                                  | 64.5 ± 19.0a                   | 1.02 ± 0.30a                               | 72.4 ± 1.4bc                 | 0.93 ± 0.02bc                            | 11.56 ± 2.71b                | 0.77 ± 0.18dc                              | 7.49 ± 1.76bc                      |
|                | 100                                | 5 × 10 <sup>-2</sup>               | 64.7 ± 18.9a                   | 1.02 ± 0.30a                               | 75.3 ± 1.1ab                 | 0.96 ± 0.01ab                            | 13.35 ± 2.54ab               | 0.89 ± 0.17ab                              | 3.85 ± 1.36ab                      |
|                | 100                                | 5 × 10 <sup>-4</sup>               | 61.5 ± 17.7a                   | 0.97 ± 0.28a                               | 72.8 ± 0.3bc                 | 0.93 ± 0.00bc                            | 12.23 ± 2.56ab               | 0.81 ± 0.17bc                              | 6.93 ± 0.43bc                      |
|                | 100                                | 5 × 10 <sup>-6</sup>               | 57.5 ± 16.5ab                  | 0.91 ± 0.26ab                              | 68.0 ± 0.3cd                 | 0.87 ± 0.00cd                            | 12.67 ± 2.19ab               | 0.84 ± 0.15bc                              | 13.07 ± 0.43cd                     |
| IR26           | 对照 control                         | 0                                  | 68.3 ± 5.7a                    | 1.00 ± 0.08a                               | 77.6 ± 0.5a                  | 1.00 ± 0.01a                             | 15.59 ± 2.54a                | 1.00 ± 0.16a                               | 0.00 ± 0.60a                       |
|                | 100                                | 0                                  | 21.7 ± 0.7bc                   | 0.32 ± 0.01bc                              | 44.0 ± 9.2d                  | 0.57 ± 0.12d                             | 6.16 ± 1.88b                 | 0.39 ± 0.12c                               | 43.22 ± 11.91d                     |
|                | 100                                | 2                                  | 19.6 ± 4.5c                    | 0.29 ± 0.07c                               | 59.8 ± 1.2c                  | 0.77 ± 0.02c                             | 5.53 ± 1.98b                 | 0.35 ± 0.13c                               | 22.89 ± 0.26c                      |
|                | 100                                | 1                                  | 22.0 ± 7.2bc                   | 0.32 ± 0.11bc                              | 65.2 ± 2.2bc                 | 0.84 ± 0.03bc                            | 6.76 ± 2.21b                 | 0.43 ± 0.14bc                              | 15.99 ± 0.28bc                     |
|                | 100                                | 5 × 10 <sup>-2</sup>               | 24.9 ± 7.6bc                   | 0.36 ± 0.11bc                              | 69.8 ± 3.1ab                 | 0.90 ± 0.04ab                            | 8.86 ± 2.38b                 | 0.57 ± 0.15b                               | 9.99 ± 0.19ab                      |
|                | 100                                | 5 × 10 <sup>-4</sup>               | 24.5 ± 10.3bc                  | 0.36 ± 0.15bc                              | 71.6 ± 4.1ab                 | 0.92 ± 0.05ab                            | 8.74 ± 2.46b                 | 0.56 ± 0.16bc                              | 7.70 ± 0.18ab                      |
|                | 100                                | 5 × 10 <sup>-6</sup>               | 30.8 ± 4.1b                    | 0.45 ± 0.06b                               | 65.7 ± 4.2bc                 | 0.85 ± 0.05bc                            | 8.18 ± 2.29b                 | 0.52 ± 0.15bc                              | 15.28 ± 0.25bc                     |

1) 同一品种的同列数据后具有不同字母者表示在  $\alpha=0.05$  的水平上差异显著 (Duncan's 法)



mg/L的作用最大,不同于耐盐品种 LHN 中的作用最大的 Me-Ja 的浓度。此外,相同条件下,LHN 的发芽势和发芽率的值相差较小,而 IR26 的发芽势和发芽率的值相差较大。以上结果说明一定浓度范围的 Me-Ja 对耐盐品种的发芽势和发芽率都可以产生显著的提高作用,而对盐敏感品种的提高作用则主要显示在提高发芽率方面。

由表 1 还可知,相同处理下,耐盐品种(LHN)的发芽指数和相对发芽指数均大于盐敏感品种(IR26),说明在相同的盐胁迫和相同的 Me-Ja 作用下,LHN 既有较高的发芽率又有较快的发芽速度。值得注意的是,对于 LHN 和 IR26,不同 Me-Ja 处理之间的发芽指数没有显著差异,说明 Me-Ja 减轻水稻萌发期盐害的作用主要表现在提高水稻种子在盐胁迫下的最终发芽率方面,而对发芽速度方面的作用不显著。相对盐害率的差异与相对发芽率类似。以上结果说明 Me-Ja 的缓解盐胁迫对萌发的抑制作用是一个需要时间的过程。

### 3 讨论

盐胁迫下种子的发芽情况是评价植物品种耐盐性的一个重要方面<sup>[7-8]</sup>。本文结果表明 Me-Ja 改善水稻种子抗盐性与水稻的品种有关。种子萌发吸水的第一阶段是吸胀作用(imbibition)。种子无蒸馏水浸泡直接在盐溶液中吸胀,盐分可能会破坏细胞膜,使膜透性增大导致溶质外渗,于是种子萌发受阻<sup>[9]</sup>。种子经蒸馏水吸胀后再进行盐胁迫处理,可以排除盐分对种子吸胀过程的影响作用,便于直接了解盐分对种子萌发过程的影响。NaCl 胁迫下水稻吸胀后种子发芽率明显降低<sup>[10]</sup>。但实际上盐逆境对种子萌发的影响是极其复杂的。渗透胁迫和盐离子本身的毒害是盐分伤害中既有区别又紧密相关的两个方面<sup>[11]</sup>。而芽期的抗盐性是植物的一种稳定的、可以遗传的特性,不同的品种之间存在着差异<sup>[7]</sup>。在关于盐分对种子萌发影响的问题上,前人已经注意到区分盐分对吸胀过程和对吸胀以后的萌发活动的影响<sup>[9]</sup>,其目的是想了解盐分是否对吸胀后的种子仍然具有重大影响以及盐分对吸胀后的种子如何产生影响的。有关文献指出,吸胀过程中受到盐的伤害不是盐胁迫影响种子萌发的唯一原因<sup>[10]</sup>。基于实践意义的考虑,本文着重研究了吸胀后盐对水稻种子萌发的抑制作用和茉莉酸甲酯的缓解作用。本试验的结果表明,盐胁迫对种子吸胀后萌发的影响因水稻品种的不同而不同。施加相同的盐胁迫,盐敏感品种 IR26 较耐盐品种 LHN 的萌发

受到较严重的抑制。Me-Ja 在缓解盐胁迫对萌发的抑制方面也因品种的不同而异。外源 Me-Ja(一般在较低浓度时)对耐盐品种 LHN 盐胁迫下的发芽势和发芽率都有缓解作用,对盐敏感品种 IR26 则主要对发芽率有作用,对发芽势的作用不显著。Me-Ja 在缓解萌发期盐胁迫作用的品种差异性 Me-Ja 发挥作用的一个明显特性。这个特性可能与品种的内源性茉莉酸甲酯状态密切相关。由于试验品种有限,这个特性与品种耐盐性之间的确切关系,需要进一步扩大研究才能确定。Me-Ja 通过调节植物体保护性酶以及次生代谢酶类的活性,促进基因表达,诱导蛋白质及次生物质的合成,从而提高植物抗逆能力<sup>[11-12]</sup>。Me-Ja 与 ABA 在结构、生理活性和信号调控方式等方面都很相似<sup>[13]</sup>,两者在植物的抗逆性上都扮演着重要角色<sup>[3,12]</sup>。在盐胁迫条件下,植物内源激素含量发生变化,其中 ABA 的含量随着盐浓度的增加呈上升趋势<sup>[14]</sup>。Me-Ja 也是一种植物内源生长物质<sup>[2]</sup>,与 ABA 相似<sup>[1]</sup>,盐胁迫下水稻内源 Me-Ja 也会发生变化,外源 Me-Ja 能否产生作用与植物内源的 Me-Ja 水平以及与植物对外源 Me-Ja 的感受性有关。本试验的结果表明,2.0 mg/L 的 Me-Ja,对盐敏感品种 IR26 具有显著减轻相对盐害的作用,而对耐盐品种 LHN 则没有明显作用。一个可能的解释是:在相同的盐胁迫下进行萌发,对于耐盐品种 LHN,吸胀后受到盐胁迫,与品种本身固有的较高的耐盐性相关,其种子体内 Me-Ja 水平较高且迅速发挥抗逆调控作用,外源 Me-Ja 对 LHN 的发芽势和发芽率作用的差别不明显。对于盐敏感品种,吸胀后正常的萌发过程突然受到盐胁迫,由于品种本身的盐敏感性,体内 Me-Ja 水平低,Me-Ja 诱导保护性反应不足,胁迫适应不良,盐伤害较严重。外源 Me-Ja 的缓解作用较长时间后作用才明显,结果表现为外源 Me-Ja 对 IR26 的发芽势和发芽率作用明显不同:对发芽势没有显著提高而对发芽率则有显著提高。是否如此尚需通过研究萌发过程中内源 Me-Ja 的变化来证实。完全弄清外源 Me-Ja 的缓解盐胁迫的机制仍有许多问题有待解决。

水稻种子萌发的特性与品种的耐盐性有关。盐胁迫下种子萌发是一个复杂的过程,盐胁迫影响着种子吸胀以后的萌发过程。外源 Me-Ja 在缓解盐胁迫对水稻种子萌发的抑制作用中,与水稻品种以及外源 Me-Ja 的浓度有关。这可能与不同水稻品种种子的耐盐性及其在应答胁迫过程中内源激素的变化有关。



致谢:感谢南京大学杨永华教授对本研究给予的支持和帮助!感谢南京农业大学作物遗传与特异种质创新国家重点开放实验室张红生教授提供水稻种子!感谢由南京农业大学夏凯教授惠赠茉莉酸甲酯!

#### 参考文献:

- [1] 李劲,萧浪涛,蔺万煌. 植物内源茉莉酸类生长物质研究进展[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版, 2002, 28(1): 78-84.
- [2] 洪忠,张永忠,陈虎保,等. 天然生理活性物质茉莉酸及其甲酯的生理作用与生物化学合成[J]. 农药, 2000, 39(5): 8-11.
- [3] 吴劲松,种康. 茉莉酸作用的分子生物学研究[J]. 植物学通报, 2002, 19(2): 164-170.
- [4] FEDINA I S, DIMOVA L. Protective effect of methyl jasmonate against salt stress [J]. Dokladi na Bulgarskata Akademiya na Naukite, 1996, 49(5): 87-90.
- [5] 李磊,赵檀方,胡延吉. 大麦芽期耐盐性鉴定指标初探[J]. 莱阳农学院学报, 2000, 17(1): 29-31.
- [6] 王秀萍,张启星,王永新,等. 水稻品种耐盐性的芽期鉴定[J]. 河北农垦科技, 1997, (3): 17-20.
- [7] ASHRAF M, McNEILLY T, BRADSHAW A D. Selection and heritability of tolerance to sodium chloride in four forage species[J]. Crop Sci, 1987, 27: 232-234.
- [8] POWAR S L, MEHTA V B. Salt tolerance of some cultivars of rice (*Oryza sativa* L.) at germination stage[J]. Current Agriculture, 1995, 19(2): 43-45.
- [9] 赵檀方,闫先喜,胡延吉. 盐胁迫对大麦种子吸胀萌发及根尖细胞结构的影响[J]. 大麦科学, 1994(4): 17-20.
- [10] 韩朝红,孙谷畴,林植芳. NaCl 对吸胀后水稻的种子发芽和幼苗生长的影响[J]. 植物生理学通讯, 1998, 34(5): 339-342.
- [11] 利容千,王建波. 植物逆境细胞及生理学[M]. 武昌: 武汉大学出版社, 2002: 1-467.
- [12] CHEONG J J, YANG D C. Methyl jasmonate as a vital substance in plants[J]. Trends in Genetics, 2003, 19(7): 409-413.
- [13] TSAI F Y, LIN C C, KAO C H. A comparative study of the effects of abscisic acid and methyl jasmonate on seedling growth of rice[J]. Plant Growth Regulation, 1997, 21: 37-42.
- [14] 刘桂丰,杨传平,温绍龙,等. 盐逆境条件下三个树种的內源激素变化[J]. 东北林业大学学报, 1998, 26(1): 1-3.

【责任编辑 李晓卉】

(上接第 91 页)

- [8] AMELUNXEN F. Elektronen mikroskopische Untersuchungen an den Drüsenschuppen von *Mentha piperita* L. [J]. Planta Med, 1965, 13: 457-473.
- [9] ASCENSAO L, MARQUES N, PAIS M S. Glandular trichomes on vegetative and reproductive organs of *Leonotis leonurus* (Lamiaceae) [J]. Ann Bot, 1995, 81: 263-271.
- [10] WERKER E, RAVID U, PUTIEVSKY E. Structure of glandular trichomes and identification of the main components of their secreted material in some species of Labiatae[J]. Israel J Bot, 1985, 34: 31-45.
- [11] BLACK R F. The leaf anatomy of Australian members of the genus *Atriplex* L. *Atriplex vesicaria* Heward and *A. nummularia* Lindl [J]. Aust J Bot, 1954, 2: 269-286.
- [12] COWAN M M. Plant products as antimicrobial agents[J]. Clinical Microbiol Rew, 1999, 12: 564-582.
- [13] CROTEAU. Site of monoterpene biosynthesis in *Majorana hortensis* leaves[J]. Plant Physiol, 1977, 59: 519-520.
- [14] LANGE B M, WILDUNG M R, STAUBER E J, et al. Probing essential oil biosynthesis and secretion by functional evaluation of expressed sequence tags from mint glandular trichomes[J]. Proc Nat Acad Sci, 2000, 97: 2 934-2 939.
- [15] WINK M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective[J]. Phytochemistry, 2003, 64: 3-19.
- [16] 伊稍. 种子植物解剖学[M]. 李正理, 译. 北京: 科学出版社, 1962: 120.

【责任编辑 李晓卉】