

水杨酸和茉莉酸甲酯对丹参幼苗叶片显微结构、光合及非结构糖积累的影响

王春丽^{1,2}, 梁宗锁^{1*}, 李殿荣², 杨建利²

(1. 西北农林科技大学生命科学学院, 陕西杨凌 712100; 2. 陕西省杂交油菜研究中心, 陕西大荔 715105)

摘 要: 研究了水杨酸(SA)和茉莉酸甲酯(MeJA)处理对丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)幼苗叶片显微结构、叶片光合能力及幼苗中非结构糖积累的影响。结果显示:SA处理增加了丹参幼苗叶片气孔密度;叶肉细胞排列紧密、体积减小,叶肉细胞内叶绿体数目减少,但叶绿体体积增大,叶绿体基粒片层结构的数目增加;叶片中叶绿素a、b含量、叶气孔导度、蒸腾速率以及净光合速率均增加;同时,幼苗根中和叶片中酸性转化酶活性降低,幼苗地上部分蔗糖含量及可溶性糖总量显著高于对照。MeJA处理减少了叶片气孔密度,气孔发育畸形;叶肉细胞间隙增大,栅栏细胞层数减少,叶肉细胞内叶绿体数目减少,叶绿体体积减小,叶绿体基粒片层结构被破坏;叶片中叶绿素a及类胡萝卜素含量、叶片的净光合速率低于对照,叶气孔导度、蒸腾速率增强;同时,幼苗根中及叶中酸性转化酶活性增加,幼苗根中蔗糖含量及可溶性糖总量显著低于对照。可见,SA处理能促进植物叶片显微结构发育,增强叶片光合能力,抑制蔗糖降解并促进蔗糖积累;而MeJA处理则破坏了植物叶片显微结构,降低了叶片光合能力,促进了蔗糖降解并减少蔗糖积累。

关键词: 丹参幼苗; 水杨酸; 茉莉酸甲酯; 显微结构; 蔗糖积累

中图分类号: Q945

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2012)05-0501-10

Influence of Salicylic Acid and Methyl Jasmonate on Leaf Microstructure, Leaf Photosynthesis, and Non-structure Sugar Accumulation of *Salvia miltiorrhiza* Bunge Seedlings

WANG Chun-Li^{1,2}, LIANG Zong-Suo^{1*}, LI Dian-Rong², YANG Jian-Li²

(1. College of Life Sciences, Northwest Agriculture & Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. Hybrid Rapeseed Research Center of Shaanxi Province, Dali, Shaanxi 715105, China)

Abstract: We investigated the effects of salicylic acid (SA) and methyl jasmonate (MeJA) foliar applications on photosynthesis and accumulation of non-structure sugar of *Salvia miltiorrhiza* Bunge seedlings. Results showed that SA treatment was favorable in developing leaf microstructure and increased leaf stomata density. Intercellular space in the mesophyll tissue, size of mesophyll cell, and number of chloroplast per mesophyll cell were also reduced, but the size of chloroplast and number of granum in the chloroplast were markedly increased. Correspondingly, contents of chlorophyll a and b in the leaves, net photosynthetic rate of the leaves, and contents of sucrose and soluble sugar in shoots of the SA-treated seedling were together significantly increased following decreased activity of acid invertase in both shoots and roots. The MeJA application to the seedlings resulted in contrary effects in decreasing density of leaf stomata, incurring a number of abnormal stomata, decreasing layer of palisade cell and increasing intercellular space in mesophyll tissue, while number and size of chloroplast was notably

收稿日期: 2012-03-07, 修回日期: 2012-04-19。

基金项目: 国家科技部科技支撑计划项目(2007BAD79B06); 中国科学院知识创新项目(KZCX2-XB2-05-01)。

作者简介: 王春丽(1969-), 女, 博士研究生, 研究方向为药用植物次生代谢(E-mail: wchli226@163.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: liangzs@ms.iswc.ac.cn)。

reduced and granum in the chloroplast was destroyed. The MeJA treatment also decreased contents of chlorophyll a and carotenoid in leaves but significantly increased activity of acid invertase in both shoots and roots of the seedlings; as a consequence leaf net photosynthetic rate, contents of sucrose and total amount of soluble sugar in roots of the seedlings were decreased. In conclusion, the SA application to *S. miltiorrhiza* seedling accelerated sucrose accumulation by promoting the development of leaf microstructure to accelerate photosynthesis and inhibiting sucrose hydrolysis, while MeJA application to the seedlings decreased sucrose accumulation by damaging leaf microstructure to impair photosynthesis and accelerating sucrose hydrolysis.

Key words: *Salvia miltiorrhiza* Bunge seedlings; Salicylic acid; Methyl jasmonate; Microstructure; Sucrose accumulation

高等植物通过光合同化 CO_2 合成并积累葡萄糖、蔗糖等,植物体内的蔗糖在转化酶(invertase)、蔗糖合成酶(sucrose synthase)等作用下,降解生成葡萄糖和果糖^[1,2]。葡萄糖、果糖再经一系列转化生成苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸,并进一步合成萜类、酚酸类等次生物质^[3-5]。前人概括有关碳水化合物含量与次生物质合成的关系为著名的碳/氮比理论,认为增加植物的碳/氮比,则相应增加苯丙素类、异戊烯类等碳基次生物质含量^[6,7],但后来的许多研究结果与该理论并不一致^[8,9]。环境因子如水分^[10]、温度^[11]、UV-B^[12]等不仅诱导植物次生物质的合成,同时也影响植物光合及碳水化合物的积累。近年来相关的研究多集中在环境胁迫影响次生物质合成途径关键酶表达的分子机理方面,而有关环境因子诱导下植物光合、碳水化合物积累对次生物质合成的影响,以及植物初生代谢和次生代谢关系的研究很少。

有研究发现,作用于植物的环境胁迫,如病菌侵染^[13,14]、重金属铜和镉污染^[15]、机械损伤^[16]等,可分别调节和诱导 SA、JA 等信号物质的产生。另一方面,外源施用 SA、MeJA 也可显著增加植物体内酚酸类及萜类次生物质如花青素^[17]、香豆素^[18]、类胡萝卜素^[19]、紫杉烷^[20]、角鲨烯^[21]、青蒿素^[22]等的合成。同时,植物体内高含量的 SA 能抑制逆境胁迫下叶片中叶绿素含量的降低,提高植物的净光合速率和 CO_2 固定速率,增加同化产物的积累和转运^[23-26]。而 MeJA 可促进植物衰老,降低叶片叶绿素含量,降低光合速率,减少蔗糖等的积累^[27,28]。即 SA、MeJA 作为信号物质,可同时调节植物的光

合、碳水化合物代谢及植物中次生物质的合成和积累。然而迄今为止,SA、MeJA 影响植物光合组织(叶片)显微结构及糖代谢的系统研究、以及基于光合和糖代谢的 SA、MeJA 信号调节植物次生物质合成的研究很少。

丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)是唇形科(Labiatae)鼠尾草属(*Salvia*)多年生草本植物,丹参的根是一种重要的传统中药,具有活血祛瘀,凉血消痈,消炎养血等作用,被广泛用于治疗冠心病、脑梗塞等心、脑血管疾病,疗效显著。由于心、脑血管疾病对人类健康的严重威胁,市场对丹参药材的需求日益增加。丹参药材中含有的中药活性成分主要是脂溶性的丹参酮类和水溶性的丹酚酸类物质。前人的研究表明,SA、JA 及 MeJA 可有效增加丹参中丹参酮和丹酚酸类物质的产生和积累^[29-31]。本研究以丹参幼苗为材料,通过系统研究 SA 和 MeJA 处理对丹参幼苗叶片显微结构、叶片光合能力、蔗糖降解相关酶活性及幼苗地上地下部分非结构糖积累的影响,以期从植物光合、糖代谢角度阐明 SA 和 MeJA 信号影响植物中次生物质合成的机理提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 植物材料

盆栽试验于2010年4-7月在陕西省中药指纹图谱与天然产物库研究中心进行。实验所用紫花商洛丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)种子由天士力陕西商洛丹参种植基地提供。挑选大小一致的健康丹参种子用0.5% KMnO_4 消毒15 min,漂洗干净后,

于2010年4月上旬播种于直径17 cm、高12 cm的花盆中,以砂和蛭石(砂:蛭石=5:2, V/V)作为培养基质。幼苗培养在自然条件下进行,避光条件下发芽后每盆定苗27棵,共栽培20盆。隔天浇水和Hongland营养液。

1.2 试验处理

根据预备试验结果,本研究选择处理效果显著但对植物伤害相对较轻的SA、MeJA实验处理浓度,即SA处理浓度为2 mmol/L (pH 7.0, 含0.01%吐温-20), MeJA处理浓度为0.2 mmol/L (pH 7.0, 含0.01%吐温-20), 对照(Control)为蒸馏水(pH 7.0, 含0.01%吐温-20)。以各处理溶液叶面喷施丹参幼苗(出苗后30 d, 10~11片叶时), 每2 d喷施1次, 每次喷施溶液量50 mL/盆, 每个处理重复5盆, 共处理15盆。连续处理幼苗2周, 共喷施7次, 停止喷施1周后采样测定。处理在气候箱中进行, 温度25℃/22℃(昼/夜); 光周期11 h/13 h(昼/夜), 光强40000 lx。

1.3 叶样品的显微镜观察

对照、SA和MeJA处理各选取5株幼苗(每个处理每个重复选取1株), 每株选择在处理进行期间形成的健康、完全展开的成熟叶2片, 每片叶避开主叶脉在叶片内侧裁取3 mm×4 mm大小叶块, 以2% OsO₄固定, 酒精梯度脱水并包埋于环氧树脂(Epon 812)中, 分别切得半薄切片(600 nm)和超薄切片(50 nm), 所用超薄切片机为Leica-ULTRACUT型(德国)。超薄切片用乙酸双氧铀和柠檬酸铅染色后, 在电子透射显微镜(JEM-1230型, 日本)下观察并照相。各处理随机统计100个叶绿体的横轴和纵轴, 计算平均值。半薄切片用亚甲基蓝(azur-II-methylene blue)染色后, 在光学显微镜(Diaplan型, Leitz, 德国)下观察, 测量并照相。

叶样品的选择及脱水、固定方法同上, 固定后的叶样经干燥、喷金, 在JSM-6360LV型(日本)扫描电镜下观察, 统计气孔密度并照相。计算气孔密度平均值。

1.4 色素含量及光合指标的测定

叶片叶绿素a、b及类胡萝卜素含量测定采用丙酮提取, 紫外-可见分光光度计(UV-2802H型,

UNIC, 中国)比色法测定^[32]。

在处理结束后, 选择丹参幼苗由上至下第3、4片完全展开叶, 用LCpro+植物光合测定仪(L. MAN-LCpro+, ADC BioScientific Ltd., 英国)测定叶片净光合速率、蒸腾速率、气孔导度。测定时使用光合测定系统控制环境因子, 空气CO₂浓度为400±5 μmol/mol, 光合作用有效辐射率为500 μmol·m⁻²·s⁻¹, 空气温度为(30±0.5)℃。每个处理选取6株共12片叶, 于上午9:00~10:00进行测定, 连续测定5 d, 取每天测定结果平均值进行方差分析。

1.5 蔗糖降解相关酶活性、非结构糖含量测定

幼苗叶片(取幼叶和成熟叶的混和样)和根(取幼根和成熟根的混和样)中的酸性、中性蔗糖转化酶活性和蔗糖合成酶活性(包括合成方向和降解方向)按照高俊凤^[32]和Vu等^[33]的方法测定。还原糖测定采用3,5-二硝基水杨酸比色法, 可溶性糖以及淀粉的测定采用硫酸-萘酚比色法^[32]。

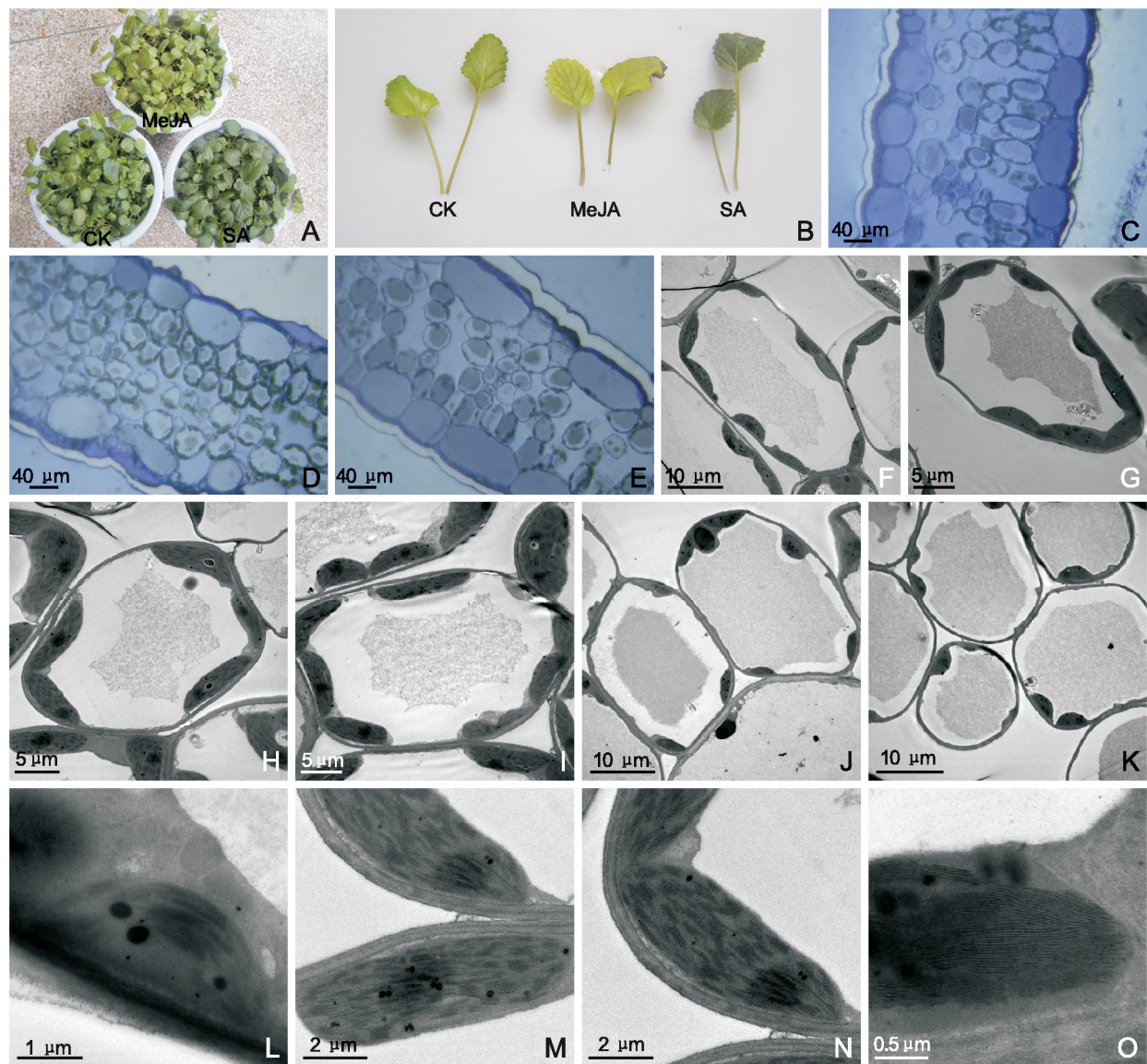
1.6 实验设计及数据分析

整个实验采用随机设计, 叶片显微结构统计结果以实际测定结果的平均值表示, 其余所有测定采用DPS数据分析软件中的邓肯检验(Duncan-test)对实验数据进行统计分析, 结果以均值±标准差表示。

2 实验结果

2.1 SA和MeJA处理对叶片光合色素含量及光合能力的影响

施用SA 2周后, 与对照相比, 幼苗叶色浓绿(图1: A、B), 叶片中叶绿素a、b含量均高于对照($p<0.05$)(表1); 叶片的净光合速率增加到对照的203.8% ($p\leq 0.01$); 叶气孔导度和蒸腾速率增大, 分别是对照的280.0%和328.9% ($p\leq 0.01$)。然而, MeJA处理使幼苗叶片失绿, 叶缘出现少量枯焦(图1: B); 叶片中叶绿素a和类胡萝卜素含量低于对照($p\leq 0.01$)(表1); 叶片的净光合速率降低, 仅为对照的42.5% ($p\leq 0.01$), 气孔导度和蒸腾速率分别增大到对照的200.0%和217.1% ($p\leq 0.01$)。



A,B: 幼苗及叶片; C,D,E: 分别为对照、SA 处理、MeJA 处理叶片的叶肉组织; F,G: 对照的叶肉细胞; H,I: SA 处理的叶肉细胞; J,K: MeJA 处理的叶肉细胞; L: 对照的叶绿体; M,N: SA 处理的叶绿体; O: MeJA 处理的叶绿体。
A,B: Seedlings and leaves; C,D,E: Mesophyll tissue in treatments of the control, the SA and the MeJA; F,G: Mesophyll cells in the control; H,I: Mesophyll cells in the SA treatment; J,K: Mesophyll cells in the MeJA treatment; L: Chloroplast in the control; M,N: Chloroplast in the SA treatment; O: Chloroplast in the MeJA treatment.

图 1 SA 及 MeJA 处理对丹参幼苗叶片显微结构的影响

Fig. 1 Effects of the SA and MeJA treatments on leaf microstructure of the *Salvia miltiorrhiza* seedlings

表 1 SA 和 MeJA 处理对丹参叶片光合能力及光合色素含量的影响

Table 1 Photosynthesis capacity and pigment contents of leaves of the *S. miltiorrhiza* seedlings treated by SA or MeJA

处理 Treatments	叶绿素 a Chlorophyll a (mg/gDW)	叶绿素 b Chlorophyll b (mg/gDW)	类胡萝卜素 Carotenoid (mg/gDW)	光合速率 Photosynthetic rate ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	气孔导度 Stomatal conductance ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	蒸腾速率 Transpiration rate ($\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)
对照 Control	5.8 ± 0.414bA	1.5 ± 0.192bAB	1.5 ± 0.177aA	3.46 ± 0.45cC	0.05 ± 0.01cC	0.76 ± 0.03cC
茉莉酸甲酯 MeJA	4.3 ± 0.389cB	1.3 ± 0.107bB	1.1 ± 0.08bB	1.47 ± 0.22dD	0.10 ± 0.01bAB	1.65 ± 0.16bB
水杨酸 SA	6.9 ± 0.47aA	1.9 ± 0.205aA	1.9 ± 0.105aA	7.05 ± 0.78bB	0.14 ± 0.02aA	2.50 ± 0.26aA

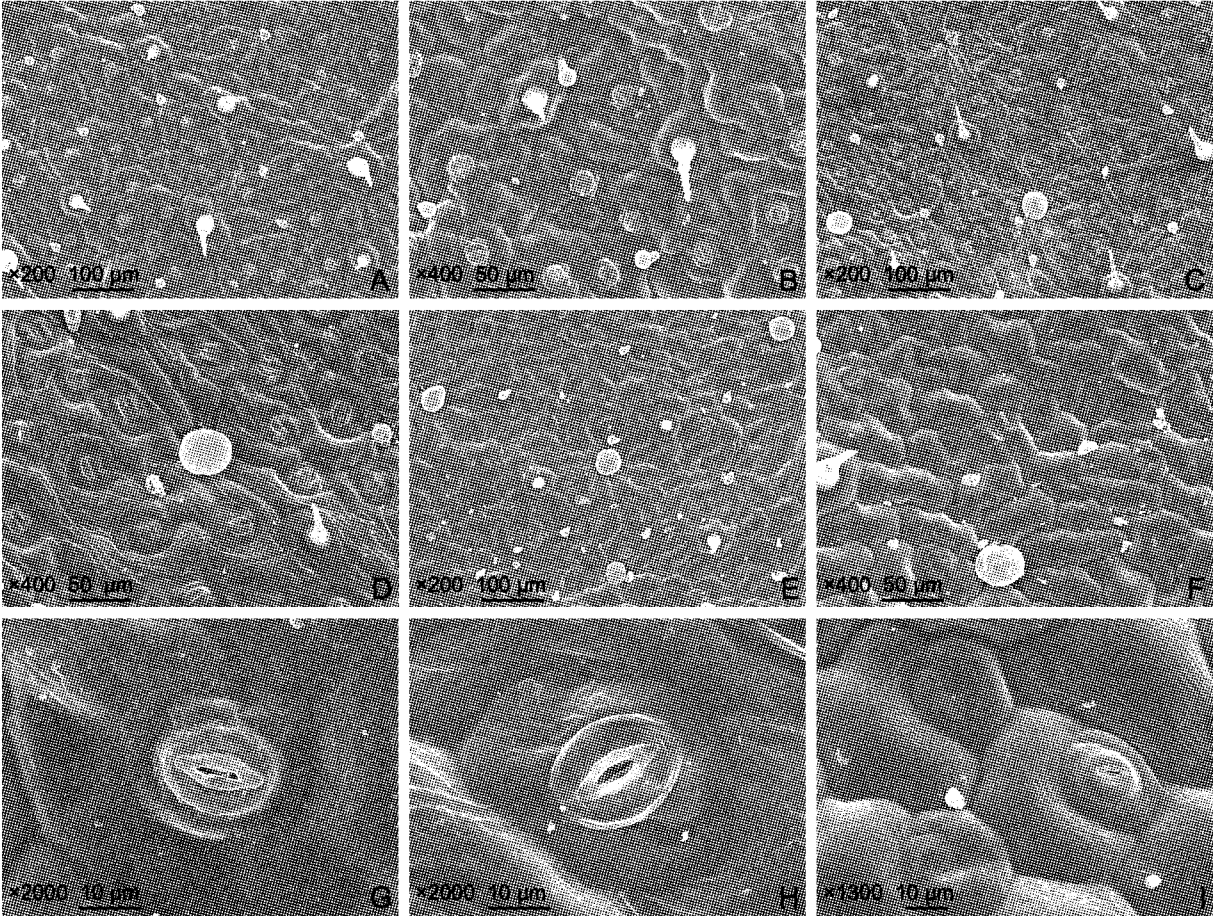
注: 同列数值后大、小写字母分别表示处理间差异达极显著水平($p\leq 0.01$)和显著水平($p\leq 0.05$)。表 2、表 3 同此。
Notes: Values in same column followed by different lowercase letters and capital letters which respectively indicated the significant differences at $p\leq 0.05$ level and at $p\leq 0.01$ level. Same in Table 2 and Table 3.

2.2 SA 和 MeJA 处理对叶片显微结构的影响

丹参叶片气孔仅出现在叶片背轴面上。与对照相比,SA 处理增加了叶表面气孔密度,统计结果显示,气孔密度从对照的 180.7 个/mm² 增加到 231.5 个/mm²(对照见图 2: A、B、G;SA 处理见图 2: C、D、H)。SA 处理后,叶肉组织平均厚度(159.2 μm)略低于对照(174.0 μm);叶肉细胞体积减小,叶肉细胞间隙排列紧密;叶肉细胞内叶绿体数目减少,叶绿体体积增大,叶绿体纵轴、横轴长度分别从对照的 8.03 μm、2.06 μm 增加到 10.6 μm 和 2.99 μm(对照见图 1: C、F、G;SA 处理见图 1: D、H、I)。对照叶绿体内的基粒片层结构较少,轮廓不清晰,而 SA 处理的叶绿体内基粒片层结构数量

明显增多,且轮廓清晰(对照见图 1: L;SA 处理见图 1: M、N)。总之,SA 处理使叶片显微结构向有利于提高光合能力的方向发育。

然而,与对照相比,MeJA 处理后,叶片气孔密度从对照的 180.7 个/mm² 减少到 145.4 个/mm²,且大部分气孔发育畸形(对照见图 2: A、B、G;MeJA 处理见图 2: E、F、I);栅栏层细胞由对照的 2 层减少为 1 层,叶肉细胞间隙增大,叶肉组织平均厚度由对照的 174.0 μm 减少到 139.3 μm;叶肉细胞内叶绿体数目减少,叶绿体体积减小;电镜下观察叶绿体内部几乎全为囊状膜结构,基粒片层结构几乎完全消失(对照见图 1: C、F、G、L;MeJA 处理见图 1: E、J、K、O)。可见 MeJA 处理破坏了叶片显



A,B: 对照的叶背轴面; C,D: SA 处理的叶背轴面; E,F: MeJA 处理的叶背轴面; G: 对照的叶气孔; H: SA 处理的叶气孔; I: MeJA 处理的叶气孔。
A,B: Leaf abaxial surface in the control; C,D: Leaf abaxial surface in the SA treatment; E,F: Leaf abaxial surface in the MeJA treatment; G: Stomata in the control; H: Stomata in the SA treatment; I: Stomata in the MeJA treatment.

图 2 SA 及 MeJA 处理对丹参叶片气孔的影响
Fig.2 Effects of SA and MeJA on features of leaf stomata of the *S. miltiorrhiza* seedlings

微结构,使其向降低光合能力的方向发育。

2.3 SA 和 MeJA 处理对丹参中蔗糖转化酶和蔗糖合成酶活性的影响

丹参处理组和对照的叶片中酸性转化酶活性远远大于根中的活性(见表2),根中中性转化酶活性未检测到。SA处理后,叶片和根系中酸性转化酶活性分别降至对照的57.5% ($p\leq0.01$)、79.6% ($p\leq0.01$),叶中的中性转化酶活性也降低至对照的77.0% ($p\leq0.01$);根中蔗糖合成酶降解活性也降低($p\leq0.01$)。虽然与对照相比,叶中蔗糖合成酶合成活性降低,但其降低的值远远小于叶中转化酶活性的降低值,故叶中酸性转化酶活性变化是影响蔗糖积累的主要因子,而叶中蔗糖合成酶合成活性变化对蔗糖积累影响较小。总的来说,SA处理抑制了蔗糖降解相关酶活性。

然而,MeJA处理后,幼苗叶片中和根中酸性转化酶分别比对照增加18.8% ($p\leq0.01$)、37.6% ($p\leq0.01$),叶中蔗糖合成酶合成活性比对照显著

降低58.0% ($p<0.01$)。可见,MeJA处理激活了蔗糖降解相关酶的活性(表2)。

2.4 SA 和 MeJA 处理对丹参幼苗中非结构糖含量的影响

对照、SA及MeJA处理的幼苗地上部分还原糖含量都远远高于蔗糖含量,分别是蔗糖的7.38、2.10、2.67倍;而根中蔗糖含量远远高于还原糖含量,分别是还原糖的6.65、6.59、5.75倍(表3)。可见,光合器官中还原糖含量较高,而蔗糖作为储存糖^[34]主要积累在根中。

与对照相比,SA和MeJA处理均使幼苗地上部分和根中还原糖含量增加($p\leq0.01$),但增加幅度都不大。SA处理增加了蔗糖在地上部分的积累,达到对照的3.63倍($p\leq0.01$),可溶性糖总量也相应增加到对照的1.36倍($p\leq0.01$);根中可溶性糖总量和蔗糖含量也有所增加,但未达到 $p\leq0.05$ 显著水平。然而,MeJA处理后幼苗根中蔗糖含量及可溶性糖总量均低于对照($p\leq0.01$)。至于MeJA

表2 SA 和 MeJA 处理对丹参幼苗中酸性和中性转化酶活性 (mg glucose·g⁻¹FW·h⁻¹)、蔗糖合成酶合成活性 (mg sucrose·g⁻¹FW·h⁻¹) 和降解活性 (mg hexose·g⁻¹FW·h⁻¹) 的影响
Table 2 Effects of SA and MeJA treatments on activities of acid and neutral invertase (mg glucose·g⁻¹FW·h⁻¹) and synthesis activity (mg sucrose·g⁻¹FW·h⁻¹), hydrolysis activity (mg hexose·g⁻¹FW·h⁻¹) of sucrose synthase of *S. miltiorrhiza* seedlings

组织 Tissues	酶 Enzymes	酸性转化酶 Acid invertase	中性转化酶 Neutral invertase	蔗糖合成酶(降解) Sucrose synthase (hydrolysis)	蔗糖合成酶(合成) Sucrose synthase (synthesis)
叶 Leaves	对照 Control	54.33 ± 3.14bB	10.71 ± 0.40aA	1.90 ± 0.23a	4.38 ± 0.01aA
	水杨酸 SA	31.24 ± 0.14cC	8.25 ± 0.05bB	1.86 ± 0.24a	2.18 ± 0.51bB
	茉莉酸甲酯 MeJA	64.55 ± 0.99aA	10.74 ± 0.05	2.14 ± 0.10a	1.84 ± 0.02bB
根 Roots	对照 Control	15.26 ± 0.36bB	0	9.77 ± 1.00aA	5.07 ± 1.13a
	水杨酸 SA	12.15 ± 0.09cC	0	7.99 ± 0.62bB	4.29 ± 0.61a
	茉莉酸甲酯 MeJA	21.00 ± 0.40aA	0	9.43 ± 0.41aA	5.12 ± 0.01

表3 SA 和 MeJA 处理对丹参幼苗地上部分和根中非结构糖含量的影响
Table 3 Effects of SA and MeJA treatments on contents of non-structure sugars in roots and shoots of the *S. miltiorrhiza* seedlings

组织 Tissues	处理 Treatments	可溶性糖 Soluble sugar (g/kg)	还原糖 Reducing sugar (g/kg)	蔗糖 Sucrose (g/kg)	淀粉 Starch (g/kg)
地上部分 Shoots	对照 Control	6.6 ± 0.20bB	5.9 ± 0.05cC	0.8 ± 0.23bB	33.6 ± 0.51bA
	水杨酸 SA	9.0 ± 0.14aA	6.1 ± 0.09bB	2.9 ± 0.13aA	34.2 ± 0.73abA
	茉莉酸甲酯 MeJA	8.8 ± 0.43aA	6.4 ± 0.05aA	2.4 ± 0.41aA	35.5 ± 0.91aA
根 Roots	对照 Control	43.6 ± 0.72aA	5.7 ± 0.05cC	37.9 ± 0.76aA	33.1 ± 0.74bA
	水杨酸 SA	44.1 ± 0.54aA	5.8 ± 0.09bB	38.2 ± 0.52aA	36.2 ± 2.54abA
	茉莉酸甲酯 MeJA	41.3 ± 0.46bB	6.1 ± 0.05baA	35.1 ± 0.41bB	37.8 ± 2.41aA

处理后,幼苗地上部分蔗糖含量和可溶性糖总量增加,推测可能是因为 MeJA 诱导了幼苗衰老,抑制了其生长^[28,35],因此降低了蔗糖的消耗和从叶片中的输出,导致蔗糖在光合器官中积累,可溶性糖总量也相应增加。MeJA 处理使幼苗地上部分和根中淀粉含量显著增加($p \leq 0.05$)。总之,SA 和 MeJA 处理均增加丹参幼苗中还原糖含量,SA 处理后,蔗糖积累有增加的趋势,但 MeJA 处理后,蔗糖积累有降低的趋势(表3)。

3 讨论

以前的研究发现,SA 处理能显著抑制重金属离子(Pb,Cd 等)及 UV-B 辐射等胁迫下叶绿素含量的降低,提高植物的净光合速率和 CO_2 固定速率,增加 Rubisco(ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase)活性^[23-25],增加同化产物的积累以及转运,显著增加叶片干重,增加果实产量,改善果实品质^[19]。还发现施用 SA 可降低香蕉果实中转化酶及纤维素酶、果胶酶及木聚糖酶的活性,延缓成熟^[36]。而叶片的显微结构与叶片光合能力直接相关,气孔通过控制 CO_2 的净吸收影响光合作用的强弱^[37,38];伴随叶绿体数目的增加,叶片光合能力也同步增强^[39]。本研究发现,SA 处理增加了丹参幼苗叶片背轴面气孔密度,使叶肉细胞排列紧密,增大叶绿体的体积、增加叶绿体内基粒片层结构数目。光合指标的测定结果显示,施用 SA 增加了叶片叶绿素 a、b 含量,显著增强了丹参幼苗叶片的净光合速率、气孔导度及蒸腾速率。同时,SA 显著降低了丹参幼苗中酸性和中性转化酶活性;结果使幼苗中蔗糖积累有增加趋势,还原糖积累也略有增加。

较高浓度的 JA 可抑制植物生长、促进植物衰老^[27]。Hung 等研究发现 MeJA 处理显著降低了植物叶片叶绿素含量,抑制光合和生长^[28,40,41];Bogatek 等报道 MeJA 增加植物转化酶活性、抑制异柠檬酸(裂合)酶活性(糖异生的关键酶)^[42]。本研究结果显示,MeJA 处理降低了丹参幼苗叶片的气孔密度,使气孔发育畸形;叶肉组织厚度减少,栅栏细胞层数减少,叶肉细胞间隙增大,叶肉细胞内叶绿体数目减少,叶绿体体积变小,叶绿体内基粒结构几

乎消失;叶片中叶绿素 a 和类胡萝卜素含量降低;叶片净光合速率显著降低。同时,MeJA 处理增加了转化酶活性,结果使丹参幼苗中蔗糖积累有降低趋势,而还原糖含量增加。至于本研究中 MeJA 处理增加了丹参叶片的气孔导度及蒸腾速率的原因,可能是由于 MeJA 诱导植物体内乙烯(Et)的产生从而导致细胞壁降解^[43,44],增强了叶片的透水透气性,这有待进一步研究和证实。

蔗糖及其代谢产物影响酚酸类物质的合成及积累,例如苯丙烷代谢途径关键酶苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)的活性及基因表达受底物调节^[45,46];还发现蔗糖温育促进磷酸戊糖途径关键酶葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PDH)蛋白的表达及活性,同时蔗糖、葡萄糖-6-磷酸和葡萄糖等温育可提高桃果肉组织中 PAL 活性,显著增加总酚和总类黄酮含量^[47]。蔗糖也显著影响萜类物质的合成和积累,例如,Wang 等^[48]报道在红豆杉(*Taxus chinensis*)细胞培养过程中添加蔗糖能显著增加紫杉烷^[1]的产量。同时,作为信号物质,SA 和 MeJA 也可诱导植物中次生物质的合成和积累^[29-31],并调节酚酸类和萜类次生物质合成途径中关键酶的基因表达,如 PAL^[49]、1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸还原异构酶^[50]、牻牛儿基牻牛儿基二磷酸合成酶^[51]、二萜合成酶^[52]等。本研究结果显示 SA 和 MeJA 可影响丹参幼苗的光合、蔗糖积累和代谢。因此推测 SA 和 MeJA 不仅可诱导植物中次生物质合成途径关键酶基因的表达及其活性,还可通过调节植物光合作用及糖代谢影响次生物质的产生和积累。至于 SA 和 MeJA 调节下植物体内光合、糖代谢与次生物质合成的关系及其分子机理等还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Weber H, Roitsch T. Invertases and life beyond sucrose cleavage [J]. *Trends Plant Sci*, 2000, 5: 47-48.
- [2] Salerno G L, Curatti L. Origin of sucrose metabolism in higher plants: when, how and why? [J]. *Trends Plant Sci*, 2003, 8: 63-69.
- [3] Yan Q, Shi M, Ng J, Wu J Y. Elicitor-induced rosma-

- rinic acid accumulation and secondary metabolism enzyme activities in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots [J]. *Plant Sci*, 2006, 170: 853–858.
- [4] Eisenreich W, Rohdich F, Bacher A. Deoxyxylulose phosphate pathway to terpenoids[J]. *Trends Plant Sci*, 2001, 6: 78–84.
- [5] Bartram S, Jux A, Gleixner G, Boland W. Dynamic pathway allocation in early terpenoid biosynthesis of stress-induced lima bean leaves [J]. *Phytochemistry*, 2006, 67: 1661–1672.
- [6] Iason G R, Duncan A J, Hartley S E, Staines B W. Feeding behaviour of red deer (*Cervus elaphus*) on sitka spruce (*Picea sitchensis*): the role of carbon-nutrient balance [J]. *Forest Ecol Manag*, 1996, 88: 121–129.
- [7] Bryant J P, Chapin F S, Klein D R. Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory[J]. *Oikos*, 1983, 40: 357–368.
- [8] Wassner D F, Ravetta D A. Nitrogen availability, growth, carbon partition and resin content in *Grindelia chiloensis* [J]. *Ind Crop Prod*, 2007, 25: 218–230.
- [9] Mudau F N, Soundy P, du Toit E S, Olivier J. Variation in polyphenolic content of *Athrixia phylicoides* (L.) (bush tea) leaves with season and nitrogen application[J]. *S Afr J Bot*, 2006, 72: 398–402.
- [10] Liu H, Wang X, Wang D, Zou Z, Liang Z. Effect of drought stress on growth and accumulation of active constituents in *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. *Ind Crop Prod*, 2011, 33: 84–88.
- [11] Shohael A M, Ali M B, Yu K W, Hahn E J, Paek K Y. Effect of temperature on secondary metabolites production and antioxidant enzyme activities in *Eleutherococcus senticosus* somatic embryos [J]. *Plant Cell Tiss Org*, 2006, 28(2): 219–228.
- [12] Brechner M L, Albright L D, Weston L A. Effects of UV-B on secondary metabolites of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) grown in controlled environments [J]. *Photochem Photobiol*, 2011, 87(3): 680–684.
- [13] Kubota M, Nishi K. Salicylic acid accumulates in the roots and hypocotyls after inoculation of cucumber leaves with *Colletotrichum lagenarium* [J]. *J Plant Physiol*, 2006, 163: 1111–1117.
- [14] Ueeda M, Kubota M, Nishi K. Contribution of jasmonic acid to resistance against *Phytophthora* Blight in *Capsicum annuum* cv. SCM334 [J]. *Physiol Mol Plant P*, 2006, 67: 149–154.
- [15] Maksymiec W, Wianowska D, Dawidowicz A L, Radkiewicz S, Mardarowicz M, Krupa Z. The level of jasmonic acid in *Arabidopsis thaliana* and *Phaseolus coccineus* plants under heavy metal stress [J]. *J Plant Physiol*, 2005, 162: 1338–1346.
- [16] Wasternack C, Stenzel I, Hause B, Hause G, Kutter C, Maucher H, Neumerkel J, Feussner I, Miersch O. The wound response in tomato—role of jasmonic acid [J]. *J Plant Physiol*, 2006, 163: 297–306.
- [17] Zhang W, Curtin C, Kikuchi M, Franco C. Integration of jasmonic acid and light irradiation for enhancement of anthocyanin biosynthesis in *Vitis vinifera* suspension cultures [J]. *Plant Sci*, 2002, 162: 459–468.
- [18] Pastřiová A, Reččák M, Eliašová A. Salicylic acid induces changes of coumarin metabolites in *Matricaria chamomilla* L. [J]. *Plant Sci*, 2004, 167: 819–824.
- [19] Elwan M W M, El-Hamahmy M A M. Improved productivity and quality associated with salicylic acid application in greenhouse pepper [J]. *Sci Horticulture Amsterdam*, 2009, 122: 521–526.
- [20] Wang Y D, Yuan Y J, Wu J C. Induction studies of methyl jasmonate and salicylic acid on taxane production in suspension cultures of *Taxus chinensis* var. *mairei* [J]. *Biochem Eng J*, 2004, 19: 259–265.
- [21] Yue C J, Jiang Y. Impact of methyl jasmonate on squalene biosynthesis in microalga *Schizochytrium mangrovei* [J]. *Process Biochem*, 2009, 44: 923–927.
- [22] Guo X X, Yang X Q, Yang R Y, Zeng Q P. Salicylic acid and methyl jasmonate but not Rose Bengal enhance artemisinin production through invoking burst of endogenous singlet oxygen [J]. *Plant Sci*, 2010, 178: 390–397.
- [23] 张扬欢, 孙金春, 温泉, 张楠, 马红群, 吴能表. 乙酰水杨酸对增强 UV-B 辐射下长春花光合作用及抗氧化酶活性的影响 [J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2011, 33(2): 17–22.

- [24] Popova L P, Maslenskova L T, Yordanova R Y, Ivanova A P, Krantev A P, Szalai G, Janda T. Exogenous treatment with salicylic acid attenuates cadmium toxicity in pea seedlings[J]. *Plant Physiol Biochem*, 2009, 47: 224–231.
- [25] Chen J, Zhu C, Li L, Sun Z, Pan X. Effects of exogenous salicylic acid on growth and H_2O_2 -metabolizing enzymes in rice seedlings under lead stress[J]. *J Environ Sci*, 2007, 19: 44–49.
- [26] 王利军,李家永,战吉成,黄卫东. 水杨酸对受高温胁迫的葡萄幼苗光合作用和同化物分配的影响[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(3): 215–216.
- [27] Ananieva K, Ananiev E D, Mishev K, Georgieva K, Malbeck J, Kamínek M, Staden J V. Methyl jasmonate is a more effective senescence-promoting factor in *Cucurbita pepo* (zucchini) cotyledons when compared with darkness at the early stage of senescence [J]. *J Plant Physiol*, 2007, 164: 1179–1187.
- [28] Hung K T, Kao C H. Nitric oxide acts as an antioxidant and delays methyl jasmonate-induced senescence of rice leaves[J]. *J Plant Physiol*, 2004, 161: 43–52.
- [29] Chen H, Chen F. Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on cell growth and cryptotanshinone formation in Ti transformed *Salvia miltiorrhiza* cell suspension cultures [J]. *Biotechnol Lett*, 1999, 21: 803–807.
- [30] 王学勇,崔光红,黄璐琦,等. 茉莉酸甲酯对丹参毛状根中丹参酮类成分积累和释放的影响[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(4): 300–302.
- [31] 陈兆伟,张金家,赵淑娟,王峰涛,胡之璧. 茉莉酸甲酯对丹参毛状根中水溶性酚酸类化合物积累的影响[J]. 中国药理学杂志, 2010, 45(13): 970–974.
- [32] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [33] Vu J C V, Niedz R P, Yelenosky G. Activities of sucrose metabolism enzymes in glycerol-grown suspension cultures of sweet (*Citrus sinensis* L. osbeck) [J]. *Environ Exp Bot*, 1995, 35: 455–463.
- [34] Sturm A, Tang G Q. The sucrose-cleaving enzymes of plants are crucial for development, growth and carbon partitioning [J]. *Trends Plant Sci*, 1999, 4: 401–407.
- [35] Gould N, Reglinski T, Northcott G L, Spiers M, Taylor J T. Physiological and biochemical responses in *Pinus radiata* seedlings associated with methyl jasmonate-induced resistance to *Diplodia pinea* [J]. *Physiol Mol Plant P*, 2009, 74: 121–128.
- [36] Srivastava M K, Dwivedi U N. Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid[J]. *Plant Sci*, 2000, 158: 87–96.
- [37] Zaharah S S, Razi I M. Growth, stomata aperture, biochemical changes and branch anatomy in mango (*Mangifera indica*) cv. Chokanan in response to root restriction and water stress[J]. *Sci Hortic*, 2009, 123: 58–67.
- [38] Riikonen J, Percy K E, Kivimäenpää M, Kubiske M E, Nelson N D, Vapaavuori E, Karnosky D F. Leaf size and surface characteristics of *Betula papyrifera* exposed to elevated CO_2 and O_3 [J]. *Environ Pollut*, 2010, 158: 1029–1035.
- [39] Wang X, Anderson OR, Griffin K L. Chloroplast numbers, mitochondrion numbers and carbon assimilation physiology of *Nicotiana sylvestris* as affected by CO_2 concentration[J]. *Environ Exp Bot*, 2004, 51: 21–31.
- [40] Yu K W, Gao W Y, Hahn E J, Paek K Y. Jasmonic acid improves ginsenoside accumulation in adventitious root culture of *Panax ginseng* C. A. Meyer [J]. *Biochem Eng J*, 2002, 11: 211–215.
- [41] Maksymiec W, Krupa Z. Jasmonic acid and heavy metals in *Arabidopsis* plants—a similar physiological response to both stressors? [J]. *J Plant Physiol*, 2002, 159: 509–515.
- [42] Bogatek R, Côme D, Corbineau F, Ranjan R, Lewak S. Jasmonic acid affects dormancy and sugar catabolism in germinating apple embryos [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2002, 40: 167–173.
- [43] Hudgins J W, Franceschi V R. Methyl jasmonate-induced ethylene production is responsible for conifer phloem defense responses and reprogramming of stem cambial zone for traumatic resin duct formation[J]. *Plant Physiol*, 2004, 135: 2134–2149.
- [44] Lohani S, Trivedi P K, Nath P. Changes in activities of cell wall hydrolases during ethylene-induced ripening in banana: effect of 1-MCP, ABA and IAA

- [J]. *Postharvest Biol Tec*, 2004, 31: 119–126.
- [45] Cunha A D. The estimation of L-phenylalanine ammonia-lyase shows phenylpropanoid biosynthesis to be regulated by L-phenylalanine supply and availability[J]. *Phytochemistry*, 1987, 26: 2723–2727.
- [46] Noé W, Seitz H U. Induction of mRNA activity for phenylalanine ammonia lyase (PAL) by L- α -aminoxy- β -phenylpropionic acid, a substrate analogue of L-phenylalanine, in cell suspension cultures of *Daucus carota* L. [J]. *Febs lett*, 1982, 146: 52–54.
- [47] 邓科, 孔维府, 战吉晟, 王秀芹, 黄卫东. 糖诱导桃果实园片果实苯丙氨酸解氨酶活性上升和酚类物质积累的研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(25): 162–167.
- [48] Wang H Q, Yu J T, Zhong J J. Significant improvement of taxane production in suspension cultures of *Taxus chinensis* by sucrose feeding strategy [J]. *Process Biochem*, 1999, 35: 479–483.
- [49] Jiang Y, Xia N, Li X, Shen W, Liang L, Wang C, Wang R, Peng F, Xia B. Molecular cloning and characterization of a phenylalanine ammonia-lyase gene (LrPAL) from *Lycoris radiata* [J]. *Mol Biol Rep*, 2011, 38(3): 1935–1940.
- [50] Yan X, Zhang L, Wang J, Liao P, Zhang Y, Zhang R, Kai G. Molecular characterization and expression of 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase (DXR) gene from *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Acta Physiol Plant*, 2009, 31: 1015–1022.
- [51] Kai G, Liao P, Zhang T, Zhou W, Wang J, Xu H, Liu Y, Zhang L. Characterization, expression profiling, and functional identification of a gene encoding geranylgeranyl diphosphate synthase from *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Biotechnol Bioproc E*, 2010, 15: 236–245.
- [52] Fäldt J, Martin D, Miller B, Rawat S, Bohlmann J. Traumatic resin defense in Norway spruce (*Picea abies*): Methyl jasmonate-induced terpene synthase gene expression, and cDNA cloning and functional characterization of (+)-3-carene synthase [J]. *Plant Mol Biol*, 2003, 51: 119–133.

(责任编辑: 张平)