

腐植酸对重度干旱胁迫下燕麦叶片可溶性糖组分和内源激素的影响

张志芬^{1,3} 付晓峰³ 赵宝平^{1,2} 刘俊青³ 刘景辉^{1,2*}

(1. 内蒙古农业大学 杂粮产业协同创新中心 呼和浩特 010018;

2. 内蒙古自治区杂粮工程技术研究中心呼和浩特 010018;

3. 内蒙古自治区农牧业科学院 特色作物研究所 呼和浩特 010031)

摘要 为了解腐植酸(HA)对重度干旱胁迫燕麦叶片糖组分和内源激素的影响,以白燕2号为试验材料,利用盆栽设置不同水分和喷施腐植酸4个处理(正常供水,正常供水喷施腐植酸,重度干旱胁迫和重度干旱胁迫喷施腐植酸),利用高效气相色谱和质谱联用技术测定燕麦叶片可溶性糖和内源激素含量。结果表明:1)在燕麦叶片中检测到单糖和衍生物11种,低聚糖5种。通过主成分分析发现,不同处理之间差异主要体现在木糖、核糖、松三糖、葡萄糖、蔗糖和岩藻糖的含量。重度干旱胁迫喷施HA主要影响的是核糖和蔗糖,与CK相比,重度干旱胁迫核糖含量增加5.78%,蔗糖含量增加83.08%,差异显著($P < 0.05$,下同),重度干旱胁迫下喷施HA后,核糖和蔗糖含量均显著下降。2)与对照相比,重度干旱胁迫下,内源性激素脱落酸(ABA)、茉莉酸(JA)和水杨酸(SA)含量显著升高,生长素(IAA)含量显著降低,重度干旱胁迫下喷施HA后ABA、JA和SA含量显著降低。3)蔗糖含量与ABA、IAA含量显著相关,JA含量与细胞结构物质木糖、岩藻糖和核糖等戊糖含量均显著正相关,SA、ABA含量与糖信号物质果糖、葡萄糖含量显著负相关。可见,HA可以通过调控糖组分和内源激素缓解重度干旱胁迫伤害。

关键词 燕麦; 腐植酸; 可溶性糖组分; 内源激素; 干旱胁迫

中图分类号 S512.6

文章编号 1007-4333(2018)09-0011-10

文献标志码 A

Effects of humic acid on soluble sugar and endogenous hormones in oat leaves under severe drought stress

ZHANG Zhifen^{1,3}, FU Xiaofeng³, ZHAO Baoping^{1,2}, LIU Junqing³, LIU Jinghui^{1,2*}

(1. Cooperative Innovation Center of Grain Industry, Inner Mongolia Agricultural University Hohhot 010018 China;

2. Inner Mongolia Grain Engineering Technology Research Center Hohhot 010018 China;

3. Inner Mongolia Academy of Agriculture and Animal Husbandry, Hohhot 010031 China)

Abstract Oat variety Baiyan 2 was used as study object to investigate the effects of humic acid (HA) on the sugar components and endogenous hormones of oats under severe drought stress by HPGC-MS. Using potted plants, four treatments with different amounts of water and spraying humic acid (Normal water condition; Normal water condition spraying humic acid; Severe drought stress; Severe drought stress spraying humic acid) were set up. The results showed that: 1) Ribose and sucrose were the main sugars of humic acid to relieve severe drought stress. Compared with CK, the ribose content of SS increased by 5.78%, sucrose increased by 83.08%, and the difference was significant ($P < 0.05$ the same below). After spraying humic acid severe drought stress, sucrose and ribose decreased significantly. 2) Compared with the control, the contents of ABA, JA and SA were significantly increased and the content of IAA significantly reduced under severe drought stress. Under severe drought stress after spraying humic acid, the contents of ABA, JA and SA were significantly decreased. 3) The content of JA was positively correlated with xylose such as xylose, fucose and ribose. The correlation between SA and sugar was similar to that of ABA and

收稿日期: 2017-09-17

基金项目: 国家燕麦荞麦产业技术体系(CARS-08-B-5、CARS-08-A-5);国家自然科学基金项目(31560373);内蒙古自然科学基金项目(2015MS0343)

第一作者: 张志芬, 博士研究生, E-mail: zzf2663@126.com

通讯作者: 刘景辉, 教授, 主要从事作物栽培研究, E-mail: cauljh@163.com

sugar, and the content of SA was negatively correlated with fructose and glucose content. In conclusion, the humic acid could relieve severe drought stress by regulating soluble sugar components and endogenous hormones.

Keywords oat; humic acid; sugar; endogenous hormone; drought stress

燕麦喜冷凉、耐低温, 抗逆性强, 适应性广, 在中国西北干旱地区农牧交错带种植面积较大^[1], 干旱是限制燕麦产量的主要因素。腐植酸(HA)作为重要的有机和绿色、环保型肥料原料, 受到广泛的关注^[2], 它可以提高水分利用效率、净光合速率和气孔导度^[3], 从而提高作物抗旱能力^[4], 并显著提高生物产量; Adil 等^[5]研究表明, 在 120 mmol/L 盐胁迫下, 菜豆均死亡, 施用 HA 后, 除 CaCl₂ 胁迫之外, 其他所有类型盐胁迫均未死亡; 在水分胁迫条件下施用 HA, 降低水稻组织过氧化物酶活性和 ABA 含量^[6]。为了阐明 HA 提高作物产量和抗逆性的机制, Hattem 等^[7]等在小麦上的研究表明, HA 诱发独特蛋白条带 (5.2 × 10⁴ g/mol), 该带含有 Ribulose 磷酸羧化酶, ADP-葡萄糖合成酶和 NADP 依赖性甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPN), 因此推断 HA 可以通过影响光合酶进而影响作物的光合作用, 增加蔗糖生物合成和淀粉积累酶的活性。HA 可以提高不同水分胁迫处理油菜叶绿素含量, 改善 PSII 和过氧化物酶活性, 降低丙二醛的含量, 从而降低了油菜中的脂质过氧化^[8]。Bakry 等^[9]认为 HA 是通过增强营养元素的吸收改善植物的营养状况, 从而激活植物防御系统, 调节激素水平, 保护光合器官, 增强光合作用, 增加作物碳水化合物、氮含量和生长速率, 进而提高植物对环境胁迫的抵抗力。HA 显著增加小麦可溶性总糖、碳水化合物和多糖的含量^[10], 在玉米叶片的主要光合代谢中也观察到了 HA 的这种积极作用^[11]。喷施 HA 燕麦增产幅度表现为: 重度胁迫 > 中度胁迫 > 正常供水^[12], 但目前关于 AH 提高作物在干旱胁迫下的产量的机制尚不明确。糖是细胞结构物质和能源, 在进化早期即获得抵抗胁迫重要调节功能^[13], 糖在植物中的调节机制相当复杂, 不同部位的糖信号来源于不同类型的糖源, 糖浓度在植物发育过程中有很大的变化, 且与环境信号和生物与非生物逆境胁迫相关^[14]; 尽管在植物体内蔗糖是光合作用的主要产物, 但许多糖信号在生长与代谢中是通过糖水解的产物如葡萄糖和果糖发挥作用^[15]。另外, 在复杂的生物系统中, 糖可与多种激素及生长因子信号相互作用调节代谢和生长^[16]。但 HA 对植物糖

和内源激素的含量影响鲜见报道。拔节期是燕麦需要水肥的关键时期, 对产量影响较大, 且燕麦春播区苗期干旱较为严重, 因此, 本研究从燕麦出苗进行重度干旱胁迫处理, 在拔节期前 1 周进行喷施 HA, 研究 HA 对重度干旱胁迫下燕麦叶片糖分、内源激素的影响, 旨在为阐明 HA 缓解植物重度干旱胁迫机理提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料及设计

试验于 2016 年的 5—6 月在内蒙古农牧业科学院温室内进行, 以“白燕 2 号”为材料。所用的盆规格均一致, 盆的直径为 16 cm, 高 15 cm, 装有 2.2 kg 来自田间的土壤, 利用称重法保持土壤含水量, 每天下午 5 点进行称重补充水分, 设置正常供水田间最大持水量的 75% (CK)、正常供水喷施 HA (CKH) 和重度干旱胁迫 (SS 田间最大持水量的 45%), 重度干旱胁迫喷施 HA (SSH) 4 个处理, 每个处理 3 次重复, 每次重复种植 7 盆, 每盆 20 株。5 月 5 日播种, 5 月 12 日出苗, 6 月 1 日喷施 HA, 6 月 6 日 (燕麦处于拔节期) 进行取样。

1.2 取样方法

取植株上部完全展开第二片新鲜的叶片, 立即投入液氮中, 样品采集后, 置预冷的研钵中, 加入液氮研磨至粉末, 然后将粉末迅速装入旋盖 10 mL EP 管, 打开 EP 管盖子, 套 3~4 层擦镜纸, 用皮筋将口扎紧, 放入冻干机中, 抽真空, 冻干 48 h。冻干样品取出后, 旋上原来的盖子, 4 °C 冰箱中干燥保存 (将 EP 管放入密封盒, 盒中加入变色硅胶), 每个处理重复取样 3 次。

1.3 单糖及多糖测定方法

称重 15 mg 冻干的燕麦幼苗材料, 迅速将材料加入 2 mL 离心管中, 用 0.8 mL 80% 甲醇在超声波下, 室温辅助提取 1 h, 并在 4 °C 提取过夜, 再用 0.8 mL 80% 甲醇提取残渣 1 次, 合并 2 次提取液, 气相质谱检测。以上可溶于用 80% (体积比) 甲醇/水的成分, 为燕麦幼苗中可溶性的单糖和二聚糖; 用流动相为水—乙腈—三氟乙酸 (TFA) 法将粗提液进一步水解, 换算成葡萄糖进行定量计算, 为可溶性的低聚

糖^[17-18]，气相质谱条件如下：色谱柱，DB-5 ms(30 m×250 μm×0.1 μm)，进样量 1 μL，不分流，升温程序：80 °C，5 min，80~210 °C，22 min，210~300 °C，1 min，300 °C，5 min。离子源：电子轰击电离(EI)，电离能量为-112×10⁻¹⁹ J。以核糖醇为内标，以常见的高等植物单糖和低聚糖 21 种为标品，检测单糖和低聚糖。

1.4 酸性激素测定方法

准确称量 10 mg 冻干粉末，加入 1 ml 80% 甲醇水，同时加入内标：¹³C₆-IAA、D₄-SA、D₃-JA 和 D₆-ABA。4 °C 冰箱中避光放置过夜，12 000 r/min 离心 15 min，取上清液，干燥后样品经 SPE 柱纯化，加入 Agilent 瓶中，干燥，气相质谱测定^[19]水杨酸(SA)，茉莉酸(JA)，脱落酸(ABA)和生长素(IAA)含量。

1.5 统计分析

用 Microsoft Excel 2007 整理数据和作图，用 SPSS 17.0 软件对数据进行显著性和主成分分析。

2 结果与分析

2.1 不同处理对叶片糖含量的影响

在燕麦叶片中共检测出单糖包括甘露糖、半乳糖、葡萄糖、果糖、葡萄糖-6-磷酸、木糖、来苏糖、阿拉伯糖、核糖、岩藻糖和山梨糖 11 种；寡聚糖包括蔗糖、海藻糖、麦芽糖、松三糖和棉子糖 5 种。如表 1 所示，可溶性糖的主要成分是蔗糖，其次是蜜三糖，再次葡萄糖和松三糖。处理 CKH 和 CK 的蔗糖含量占总糖 64% 左右，蜜三糖为 18% 左右，葡萄糖为

7%~8%，松三糖为 6%~7%，处理 SS 蔗糖含量占总糖比例增加到 79.43%，蜜三糖降为 10.91%，葡萄糖降为 2.74%，松三糖降为 5.22%；处理 SSH 蔗糖占总糖比例含量升高到 82.58%，蜜三糖、葡萄糖和松三糖占总糖比例均降低(表 1)。

表 1 各处理燕麦叶片主要糖分占总糖的比例

Table 1 The proportion of sugar in the oat leaves in each treatment %

处理 Treatment	蔗糖 Sucrose	蜜三糖 Raffinose	葡萄糖 Glucose	松三糖 Melezitose
SSH	82.58 a	8.57 c	2.39 c	4.94 c
SS	79.43 b	10.91 b	2.74 c	5.22 c
CK	64.63 c	18.03 a	8.43 a	6.40 b
CKH	64.52 c	18.51 a	7.14 b	7.26 a

注：字母表示不同处理之间的差异显著性(P<0.05)。

Note: Letters indicate significant difference between different treatments at 0.05 level.

2.2 糖组分的主成分分析

通过处理之间显著性分析发现，在所测的 16 种糖组分中来苏糖和葡萄糖-6-磷酸含量处理之间不显著，未参加主成分分析。4 个处理的 14 个糖组分主成分分析结果见表 2。前 3 个主成分的特征值较大，且特征值>1，即前 3 个主成分对解释变量的贡献最大，提取 3 个主成分最合适，提取其累积方差贡献率为 100%，几乎综合叶片糖组分的所有信息。

表 2 主成分分析解释总变量

Table 2 Total variance explained of PCA (principal component analysis)

主成分数 Component number	特征值 Eigen value	方差 贡献率/% Variance contribution	累积方差 贡献率/% Cumulative variance contribution	主成分数 Component number	特征值 Eigen value	方差 贡献率/% Variance contribution	累积方差 贡献率/% Cumulative variance contribution
1	7.566	54.045	54.045	8	9.725E-17	6.947E-16	100.000
2	4.166	29.756	83.801	9	-7.363E-17	-5.260E-16	100.000
3	2.268	16.199	100.000	10	-1.221E-16	-8.724E-16	100.000
4	7.181E-16	5.129E-15	100.000	11	-2.040E-16	-1.457E-15	100.000
5	2.729E-16	1.949E-15	100.000	12	-3.450E-16	-2.464E-15	100.000
6	2.650E-16	1.893E-15	100.000	13	-6.482E-16	-4.630E-15	100.000
7	1.504E-16	1.074E-15	100.000	14	-1.978E-15	-1.413E-14	100.000

由表3结果可知,第一主成分PC₁主要综合了木糖、葡萄糖、蔗糖和松三糖的信息,在第一主成分上均呈正向分布。第二主成分PC₂主要综合了核糖的信息,呈正向分布。第三主成分PC₃主要综合了

岩藻糖的信息,呈负向分布。以上主成分特征向量的结果分析表明,糖组分4个处理间的差异主要体现在木糖、葡萄糖、蔗糖、松三糖、核糖和岩藻糖。

表3 主成分分析矩阵

Table 3 Principal component analysis

糖组分 Sugar composition	主成分1 PC ₁	主成分2 PC ₂	主成分3 PC ₃	糖组分 Sugar composition	主成分1 PC ₁	主成分2 PC ₂	主成分3 PC ₃
木糖 Xylose	0.942	0.222	0.252	果糖 Fructose	-0.570	0.301	0.764
阿拉伯糖 Arabinose	0.634	0.769	-0.083	葡萄糖 Glucose	-0.916	0.240	0.322
核糖 Ribose	0.367	0.919	-0.147	海藻糖 Trehalose	0.445	0.782	-0.436
岩藻糖 Fucose	-0.500	0.166	-0.850	麦芽糖 Maltose	-0.813	0.571	0.115
山梨糖 Sorbose	-0.807	0.465	-0.364	蔗糖 Sucrose	0.923	-0.376	0.079
甘露醇 Mannitol	0.605	0.796	0.035	松三糖 Melezitose	0.991	-0.043	-0.126
半乳糖 Galactose	0.702	0.423	0.573	蜜三糖 Raffinose	-0.726	0.629	0.280

本研究中PC₁和PC₂分别包含了原来信息量的54.045%和29.785%,累积包含了原来信息的83.801%。由图1能够直观的看出各处理与PC₁和PC₂的关系,处理CK、CKH、SS和SSH分别落在不同区域上,处理SS和SSH落在PC₁的负向区间,CH和CHK落在正向区间,说明干旱胁迫处理主要影响的是PC₁的糖分,主要对木糖、葡萄糖、蔗糖和松三糖含量影响较大;处理SS和CKH落在PC₂的正向区间,SSH和CK落在负向区间,说明喷施腐植酸主要影响PC₂的糖分,主要是核糖。

2.3 不同处理糖组分的显著性分析

在燕麦叶片中发现6种戊糖,含量极低,占总的单糖的含量均<1%,但通过主成分分析发现不同处理之间差异主要体现在木糖、核糖和岩藻糖(表3)。不同处理之间糖含量差异如图2所示,处理SS木糖(图2(b))含量比CK增加12.41%,显著高于CK,CK和CKH差异不显著,SS和SSH之间差异不显著,说明喷施HA对正常水分条件和重度干旱条件下木糖含量均影响不显著。与CK相比,处理SS核糖含量(图2(d))显著增加,增加5.78%;处理CK和CKH之间差异不显著,与SS相比处理SSH降低7.03%,差异显著,处理SSH和CK之间无显著差异,说明在重度干旱胁迫下喷施HA可以降低核糖含量。处理SS和CK岩藻糖含量(图2(c))差异不显著,但CK和CKH之间差异显著,SSH、SS和CK之间无显著差异,说明岩藻糖含量与作物抗逆性不相关。叶片中己糖含量最高的是葡萄糖,其次是果糖,甘露醇和半乳糖含量最低,通过主成分分析发现处理之间差异主要体现在葡萄糖。重度干旱胁迫显著降低葡萄糖含量,降低50.74%。

燕麦叶片中低聚糖含量最高的是蔗糖(图2(a)),其次蜜三糖(图2(e))、松三糖(图2(f)),海藻糖和麦芽糖含量较低。通过主成分分析处理间差异主要表现在蔗糖和松三糖。不同处理之间蔗糖和松三糖含量差异如图2所示,重度干旱胁迫下,蔗糖

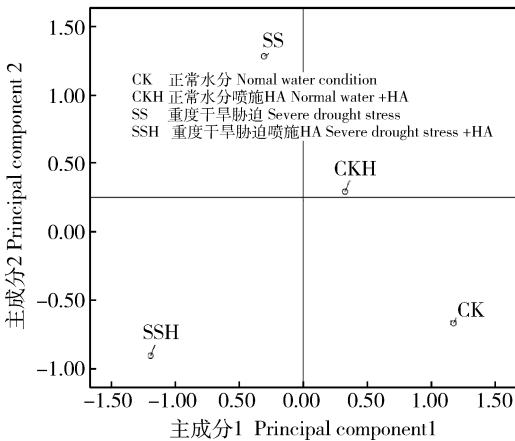


图1 14种糖主成分分析PC₁和PC₂的得分图

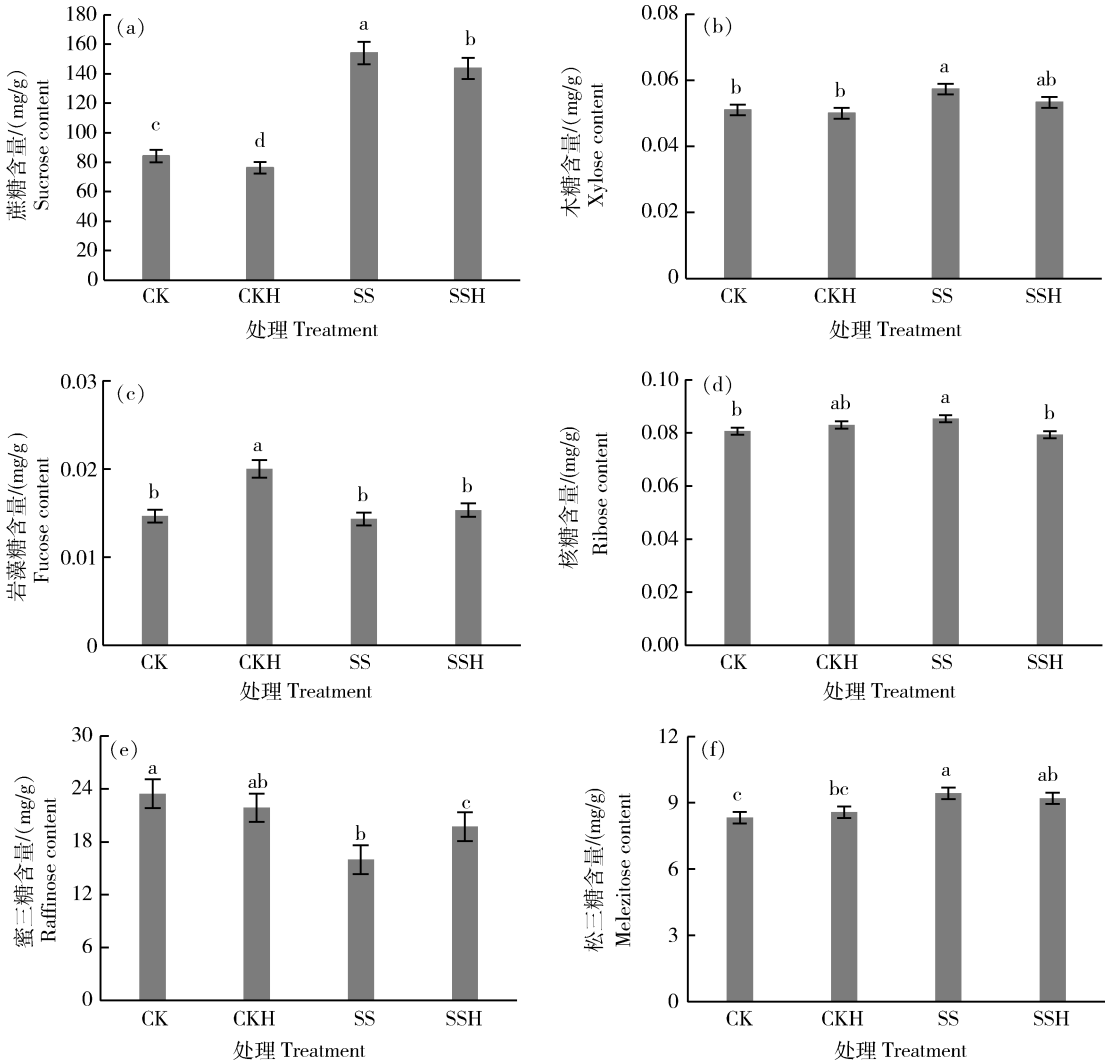
Fig. 1 Principal component analysis scores for 14 sugars on PC₁ and PC₂

含量(图 2 (a))增加了 83.08%，显著高于 CK，在正常和重度干旱胁迫下喷施 HA 后，蔗糖含量均显著下降。重度干旱胁迫下松三糖含量(图 2 (f))增加 13.34%，显著高于 CK，但喷施 HA 后对正常水分和重度干旱胁迫下松三糖含量均影响不显著，由此说明在低聚糖中 HA 主要通过蔗糖缓解干旱胁迫伤害。

2.4 不同处理对叶片内源激素含量的影响

不同处理之间内源激素含量差异如图 3 所示，燕麦叶片内源酸性激素 SA(图 3 (a))、IAA(图 3 (b))、JA(图 3 (c))和 ABA(图 3 (d))中平均含量最高的是

SA，其次是 ABA，含量最低的是 IAA，处理 CKH 和 CK 之间激素含量无显著差异，处理 SS 和 CK、CKH 之间差异达到显著水平。与 CK 相比，处理 SS 的 SA、IAA、JA 和 ABA 含量分别增加 33.13%、36.29%、63.87% 和 67.86%。与 SS 处理相比，处理 SSH 的 JA、SA 和 ABA 含量分别降低 3.19%、7.16% 和 11.17%，均达显著水平；处理 SSH 的 JA、SA 和 ABA 含量均显著高于 CK。处理 CKH 与 CK 差异不显著。处理 SS 的 SA、JA、ABA 与 IAA 比值显著高于 CK，CK 与 CKH 无显著差异，SSH 处理显著低于 SS，但仍高于 CK。

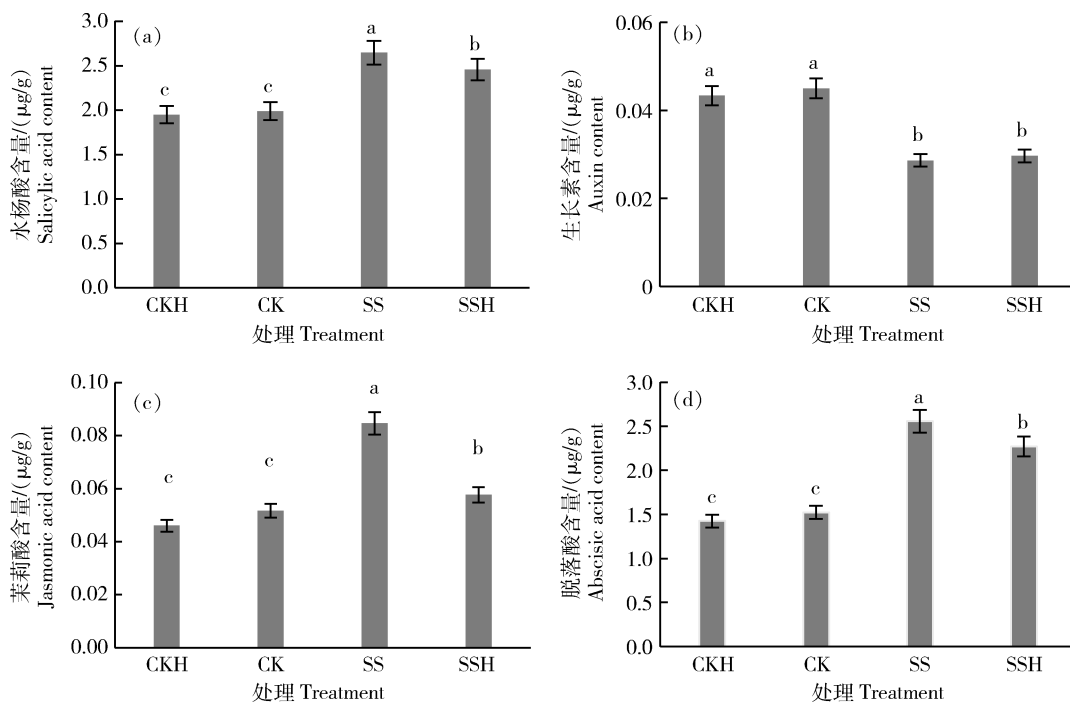


字母表示不同处理之间的差异显著($P < 0.05$)。CK 正常水分,CKH 正常水分喷施 HA,SS 重度干旱胁迫,SSH 重度干旱胁迫喷施 HA。

Letters indicate significant difference between different treatments at the 0.05 level. CK, normal water condition; CKH, normal water + HA; SS, severe drought stress; SSH, severe drought stress + HA.

图 2 不同处理间燕麦叶片蔗糖(a)、木糖(b)、岩藻糖(c)、核糖(d)、蜜三糖(e)和松三糖(f)含量

Fig. 2 Sucrose (a), Xylose (b), Fucose (c), Ribose (d), Raffinose (e) and Melezitose (f) content in oat leaves of different treatment



字母表示不同处理之间的差异显著($P < 0.05$)。CK为正常水分,CKH为正常水分喷施HA,SS为重度干旱胁迫,SSH为重度干旱胁迫喷施HA。

Letters indicate significant difference between different treatments at the 0.05 level. CK, normal water condition; CKH, normal water + HA; SS, severe drought stress; SSH, severe drought stress + HA.

图3 不同处理燕麦叶片酸性内源激素水杨酸(a)、生长素(b)、茉莉酸(c)和脱落酸(d)含量

Fig. 3 Endogenous acidic hormones salicylic acid (a), auxin (b), jasmonic acid (c) and abscisic acid (d) in oat leaves of different treatment

2.5 糖分和内源酸性激素相关性分析

JA和木糖、来苏糖、阿拉伯糖、核糖和葡萄糖-6-磷酸显著正相关,但这些糖和其他3种酸性激素含量的相关性不显著;山梨糖含量和所测内源酸性激素的含量相关性不显著;甘露醇、葡萄糖-6-磷酸含量和JA含量显著正相关,半乳糖和IAA含量显著正相关,果糖、葡萄糖和SA和ABA含量

显著负相关。二聚糖、三聚糖和JA含量相关性不显著,蜜三糖和SA含量显著负相关。麦芽糖、蜜三糖和IAA含量显著正相关,蔗糖和IAA含量显著负相关,麦芽糖和ABA含量显著负相关,蔗糖和ABA含量显著正相关,海藻糖和松三糖含量和所测内源酸性激素含量相关性均不显著(表4)。

表4 燕麦叶片糖组分和酸性激素相关性分析

Table 4 Analysis of the relationship between sugar and acid hormones in oat leaves

糖组分 Sugar	激素 Acid hormones			
	水杨酸 SA	茉莉酸 JA	生长素 IAA	脱落酸 ABA
木糖 Xylose	0.013	0.683 *	-0.18	-0.035
来苏糖 Lyxose	-0.015	0.805 *	-0.075	-0.050
阿拉伯糖 Arabinose	0.039	0.702 *	-0.026	0.055
核糖 Ribose	-0.024	0.727 *	0.014	-0.086

表 4(续)

糖组分 Sugar	激素 Acid hormones			
	水杨酸 SA	茉莉酸 JA	生长素 IAA	脱落酸 ABA
岩藻糖 Fucose	0.303	0.513*	-0.573	0.308
山梨糖 Sorbose	0.016	0.319	0.380	-0.091
甘露醇 Mannitol	-0.090	0.715*	0.113	-0.092
半乳糖 Galactose	-0.547	0.243	0.681*	-0.480
果糖 Fructose	-0.614*	0.058	0.904*	-0.846*
葡萄糖 Glucose	-0.697*	0.149	0.890*	-0.825*
葡萄糖-6-磷酸 Glucose 6-phosphate	-0.047	0.671*	-0.129	0.093
海藻糖 Trehalose	0.222	0.521	-0.171	0.308
麦芽糖 Maltose	-0.550	0.430	0.843*	-0.654*
蔗糖 Sucrose	0.547	-0.363	-0.865*	0.686*
松三糖 Melezitose	0.191	0.445	-0.595	0.465
蜜三糖 Raffinose	-0.724*	0.401	0.731*	-0.552

注: * 表示在 0.05 水平上差异显著。

Note: * indicates significant correlation at the 0.05 level.

3 讨论

3.1 腐植酸缓解重度干旱胁迫伤害的主要糖分

在植物生长发育及代谢过程中,糖为植物生长发育提供碳和能量,增强植物抗逆性^[16]。燕麦叶片可溶性糖的含量随着土壤含水量降低,显著升高^[1,20],李兆伟等^[21]研究表明突变体叶片中的糖水平随着叶片的衰老而下降,糖水平的降低可能加快了叶片的衰老进程,在叶片衰老起始阶段蔗糖和己糖作为信号分子感知叶片衰老信号。通过主成分分析发现,处理间戊糖中差异主要体现在木糖、核糖和岩藻糖,低聚糖中主要是蔗糖和松三糖,其中木糖和岩藻糖是细胞壁的重要组成物质^[22],而核糖是核糖核酸的重要组成成分,也是细胞内核糖体的重要成分^[23],本研究发现干旱胁迫后燕麦叶片内木糖、岩藻糖和松三糖含量显著增加,但重度干旱胁迫下喷施 HA 对其含量影响不显著,因此,HA 缓解重度干旱胁迫伤害的主要糖分是蔗糖和核糖。

3.2 腐植酸对重度干旱胁迫下内源激素的影响

在已经发现的五大类植物激素中,IAA 抑制作物叶片衰老,ABA 促进叶片衰老^[24],另外近几年发现的 JA 和 SA 也被认为会诱发叶片的衰老^[25]。JA

类物质能够增加植物的抗旱性^[26],外源 JA 类物质使幼苗矮化,叶小而厚,叶片贮水细胞变大,蒸腾减弱,内源 ABA 和脯氨酸含量增多^[27],较高浓度的 JA 可抑制植物生长和促进植物衰老^[28]。黄瓜施用 PHA 后,根部 NO、CH₄ 和 IAA 含量显著增加,但不能完全解释根鲜重增加,次生根生长,说明 HA 调节作物生长的机理较复杂,存在多种途径^[29]。本研究与 Andrés 等^[6]对水稻的研究结果一致,在水分胁迫后施用 HA,降低内源 ABA 含量,但充足水分调节下施用 HA 并未引起 ABA 含量的增加。另外本研究发现燕麦叶片内 SA、JA 的变化对 HA 的反应和 ABA 一致,因此推测,HA 并未参加 JA 和 SA 途径。在重度干旱胁迫下,与未喷施 HA 相比,HA 显著降低 JA、SA 和 ABA 含量,由此可见,HA 可以通过调控内源激素缓解重度干旱胁迫伤害。

3.3 糖分与内源激素相关性分析

在植物生长发育过程中,糖不仅是能量来源和结构物质的重要组成元件,糖还可以与植物激素形成复杂的信号网络体系^[13]。近年来,糖信号一直是植物科学研究的热点,迄今已经证明,具有重要作用的糖信号主要是葡萄糖、果糖和蔗糖,且在响应

逆境中发挥重要作用^[30]。已有研究表明,在拟南芥早期幼苗发育阶段糖与激素 ABA 信号之间的相互促进^[31]。本研究发现不同类型的糖和内源激素的相关性不同,重度干旱胁迫下叶片内蔗糖急剧增加,内源 ABA 含量增加,ABA 和蔗糖含量显著相关,因此,在重度干旱胁迫下,主要的糖信号是蔗糖。重度干旱胁迫下喷施 HA 后,蔗糖和 ABA 含量降低,说明伤害程度降低。虽然 JA 和 ABA 的结构和生理作用类似,它们之间也存在协同作用,但 MeJA 对干旱和 ABA 有不同的响应^[32]。JA 能够诱导大麦叶片核糖体失活蛋白表达,导致翻译非活性核糖体积累^[33]。本研究发现重度干旱胁迫下内源 JA 和核糖含量降低,且两者之间显著正相关,因此推测核糖含量的降低与叶片损伤程度的降低有关。大多数研究表明 JA 和 SA 之间存在相互抑制作用^[34],植物通过对 SA 和 JAs 含量的控制,调控它们介导的途径,使植物向更有利于抵御胁迫的方向表达^[35]。本研究发现 JA 含量和 SA 含量相关性不显著,且 JA 含量与其他 3 种激素含量与糖组分的相关性不同,JA 与戊糖含量显著正相关,其中木糖、来苏糖、岩藻糖和阿拉伯糖等戊糖是细胞壁的重要组成成分^[22],说明重度干旱胁迫造成细胞结构的损伤,诱导 JA 含量增加,喷施腐植酸后,损伤程度降低,JA 含量下降;而 SA、ABA 和 IAA 与戊糖相关性均不显著,但 SA、ABA 与葡萄糖、果糖含量显著负相关,因此认为,SA 和 ABA 存在协同作用,与糖信号途径相关,但关于 SA 和糖信号途径之间的关系有待进一步研究。

4 结 论

燕麦叶片中,共检测到常见的单糖和低聚糖 16 种,通过主成分分析发现重度干旱胁迫下,HA 主要影响的是核糖和蔗糖含量。与正常水分条件相比,重度干旱胁迫下蔗糖含量极速增加,且与内源 ABA、IAA 含量显著相关,因此在重度干旱胁迫条件下,蔗糖是作为感知胁迫的主要糖信号。

与正常水分条件相比,重度干旱胁迫条件下燕麦叶片 ABA、JA 和 SA 含量显著升高,IAA 含量显著降低。正常水分条件下喷施 HA 与未喷施相比,ABA、JA、SA 和 IAA 含量变化不显著;重度干旱胁迫下喷施 HA 与未喷施相比,JA、ABA 和 SA 含量显著下降,因此 HA 并未参与 SA 调控途径。JA 和戊糖含量显著正相关,但这些糖和其他酸性激素含

量的相关性不显著。JA 含量与其他 3 种激素含量相关性不显著,而 SA 分别与 IAA 和 ABA 含量显著相关,并且 SA 含量与糖组分的相关性与 ABA 相似,因此,JA 和 SA 调控作物抗旱性的途径不同,JA 含量与重度干旱胁迫造成的细胞损伤程度相关,而 SA 可能与糖信号途径相关。重度干旱胁迫下喷施 HA 后,蔗糖、SA、JA 和 ABA 含量均显著下降,表明 HA 可以通过调控糖组分和内源激素缓解重度干旱胁迫伤害。

参考文献 References

- [1] 刘景辉,赵海超,任永峰,张向前,王,莹. 土壤水分胁迫对燕麦叶片渗透调节物质含量的影响[J]. 西北植物学报, 2009, 29(7):1432-1436
Liu J H, Zhao H C, Ren Y F, Zhang X Q, Zhang Y. Change of osmotica in oat leaf under soil moisture stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalisinica*, 2009, 29(7): 1432-1436 (in Chinese)
- [2] 程亮,张保林,王杰,史亚龙,陈可可. 腐植酸肥料的研究进展[J]. 中国土壤与肥料, 2011(5):1-6
Cheng L, Zhang B L, Wang J, Shi Y L, Chen K K. Research progress of humic-acid containing fertilizer [J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2011, (5):1-6(in Chinese)
- [3] 王东方,丁炳春,杜红梅,安爱祖,路永贵. 大豆叶面喷施腐植酸钾增产效应研究[J]. 大豆学, 2002, 21(4):305-307
Wang D F, Ding H C, Du H M, An A Z, Lu Y H. Study on effects of applying potassium humate to soybean leaf for increase yield [J]. *Soybean Science*, 2002, 21(4):305-307(in Chinese)
- [4] 梁太波,王振林,刘娟,陈晓光,史春余. 灌溉和旱作条件下腐植酸复合肥料对小麦生理特性及产量的影响[J]. 中国生态农业学报, 2009, 17(5):900-904
Liang T B, Wang Z L, Liu J, Chen X G, Shi C Y. Effect of humate compound fertilizer on physiological characteristics and yield of wheat under irrigated and rain-fed conditions [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2009, 17(5):900-904(in Chinese)
- [5] Kant A, Turan C, Humic M. Acid application alleviates salinity stress of bean (*Phaseolus vulgaris* L) plants decreasing membrane leakage[J]. *African Journal of Agricultural Research*, 2012, 7(7):1073-1086
- [6] García A G, Santos L A, Izquierdo F G, Rumjanek V M, Castro R N, Santos F S, Souza L G A, Berbara R L L. Potentialities of vermicompost humic acids to alleviate water stress in rice plants (*Oryza sativa* L) [J]. *Journal of Geochemical Exploration*, 2013, 136: 48-54
- [7] El-Shabrawi H M, Bakry B A, Ahmed M A, Abou-El-Lail M. Humic and oxalic acid stimulates grain yield and induces

- accumulation of plastidial carbohydrate metabolism enzymes in wheat grown under sandy soil conditions[J]. *Agricultural Sciences*, 2015, 6: 175-185
- [8] Lotfi R, Gharavi-Kouchebagh P, Khoshvaghti H. Biochemical and physiological responses of *Brassica napus* plants to humic acid under water stress [J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2015, 62(4): 480-486
- [9] Bakry A B, Taha M H, Abdelgawad Z A, Abdallah M M S. The role of humic acid and proline on growth, chemical constituents and yield quantity and quality of three flax cultivars grown under saline soil conditions[J]. *Agricultural Sciences*, 2014(5): 1566-1575
- [10] El-Bassiouny H S M, Bakry A B, Attia A A M, Abdallah M M. Physiological role of humic acid and nicotinamide on improving plant growth, yield, and mineral nutrient of wheat (*Triticum durum*) grown under newly reclaimed sandy soil [J]. *Agricultural Sciences*, 2014, 5 (8): 678-700
- [11] Merlo L, Ghisi R, Rascio N, Passera C. Effects of humic substances on carbohydrate metabolism of maize leaves[J]. *Canadian Journal of Plant Science*, 1991, 71(2): 419-425
- [12] 刘伟, 刘景辉, 萨如拉, 王占海, 苏文楠. 腐植酸水溶肥料对燕麦叶片保护酶活性和渗透物质的影响[J]. *灌溉排水学报*, 2014, 33(1): 107-109
- Liu W, Liu J H, Sa R L, Wang Z H, Su W N. Effect of humic acid water-soluble fertilizer on oat leaf protective enzyme activities and osmoregulation substances content [J]. *Journal of Irrigation and Drainage*, 2014, 33(1): 107-109 (in Chinese)
- [13] Balibrea Lara M E, Gonzalez Garcia M C, Fatima T, Ehné R, Lee T K, Proels R, Tanner W, Roitsch T. Extracellular invertase is an essential component of cytokinin-mediated delay of senescence[J]. *Plant Cell*, 2004, 16(5): 1276-1287
- [14] Blasing O E, Gibon Y, Günther M, HOhne M, Morcuende R, Osuna D, Thimm O, Usadel B, Scheible W R, Stitt M. Sugars and circadian regulation make major contributions to the global regulation of diurnal gene expression in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell*, 2005, 17(12): 3257-3281
- [15] 雷美玉, 李辉亮, 刘立元, 彭世清. 糖在植物中的感知与信号传导研究进展[J]. *西北植物学报*, 2007, 27(10): 2118-2127
- Lei M Y, Li H L, Liu L Y, Peng S Q. Sugar sensing and signaling in plants[J]. *Acta Agriculture Boreal-Occidentalis Sinica*, 2007, 27(10): 2118-2127 (in Chinese)
- [16] 孙永梅, 刘丽杰, 冯明芳, 王军虹, 苍晶, 李速, 包雨卓, 王秀田. 植物在低温胁迫下的糖代谢研究进展[J]. *东北农业大学学报*, 2015, 46(7): 95-102
- Sun Y M, Liu L J, Feng M F, Wang J H, Cang J, Li S, Bao Y Z, Wang X T. Research progress of sugar metabolism of plants under cold stress [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2015, 46(7): 95-102 (in Chinese)
- [17] Harborne J B, Dey P M. *Methods in Plant Biochemistry (Part II Carbohydrates)* [M]. New York: America, Academic Press, 1990: 657
- [18] 张兰, 王星明. 衍生化气相色谱法测定亚麻胶单糖组成[J]. *食品与药品*, 2014, 16(4): 275
- Zhang L, Wang X M. Determination of monosaccharide composition in flax seed gum by derivative GC[J]. *Food and Drug*, 2014, 16(4): 275 (in Chinese)
- [19] Muller A, Duchting P, Weiler E. A multiplex GC-MS/MS technique for the sensitive and quantitative single-run analysis of acidic phytohormones and related compounds, and its application to *Arabidopsis thaliana* [J]. *Planta*, 2002, 216(7): 44-56
- [20] 张娜, 赵宝平, 郭若龙, 张艳丽, 刘景辉, 王莹, 李立军. 水分胁迫对不同抗旱性燕麦品种生理特性的影响[J]. *麦类作物学报*, 2012, 32(1): 150-156
- Zhang N, Zhao B P, Guo R L, Zhang Y L, Liu J H, Wang Y, Li L J. Effect of water stress on physiological characteristics of different oat cultivar [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2012, 32(1): 150-156 (in Chinese)
- [21] 张钊. 山梨醇和蔗糖在苹果抵抗干旱胁迫中的作用研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016
- Zhang Z. Study on the role of sorbitol/sucrose in resisting drought stress in apple leaves[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2016 (in Chinese)
- [22] 程小乔, 李科, 陈雪梅, 蒋湘宁, 盖颖. 若干双子叶与单子叶植物细胞壁果胶结构单糖组成特征研究[J]. *北京林业大学学报*, 2012, 34(5): 44-49
- Cheng X Q, Li K, Chen X M, Jiang X N, Gai Y. Comparison of pectin structural monosaccharides in cell wall of dicotyledon and monocotyledon [J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2012, 34(5): 44-49 (in Chinese)
- [23] 张曼夫. 生物化学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002: 120-131
- Zhang M F. *Biochemistry* [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2002: 120-131 (in Chinese)
- [24] 李兆伟. 水稻叶片早衰突变体的糖代谢基因表达与抗氧化生理调控[D]. 杭州: 浙江大学, 2014
- Li Z W. The expression alteration of various genes related to sugar metabolism in senescing leaves and its antioxidation modulation for *esl* mutant [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014 (in Chinese)
- [25] Miao Y, Zentgraf U. The antagonist functions of *Arabidopsis* WRK53 and ESR/ESP in leaf senescence in modulated by the jasmonic and salicylic acid equilibrium [D]. *Plant Cell*, 2007, 19: 819-830
- [26] 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
- Cai K Z, Dong T X, Xu T. The physiological roles and resistance control in stress environment of jasmonates[J]. *Ecology and Environment*, 2006, 15(2): 397-404 (in

- Chinese)
- [27] 潘瑞炽, 古焕庆. 茉莉酸甲酯对花生幼苗生长和抗旱性的影响[J]. 植物学报, 1998, 40(3):256-262
- Pan R C, Gu H Q. Effects of methyl jasmonate on the growth and drought resistance in the peanut seedlings[J]. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 1998, 40(3):256-262 (in Chinese)
- [28] Ananieva K, Ananiev E D, Mishev K. 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]. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164(7):1179-1187
- [29] Mora V, Baigorri R, Bacaicoa E, Zamarreño A M, Garcia-Mina J M. The humic acid-induced changes in the root concentration of nitric oxide, IAA and ethylene do not explain the changes in root architecture caused by humic acid in cucumber[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2012, 76(2), 24-32
- [30] 何亚飞, 李霞, 谢寅峰. 植物中糖信号及其对逆境调控的研究进展[J]. 植物生理学报, 2016, 52(3):241-249
- He Y F, Li X, Xie Y F. Research progress in sugar signal and its regulation of stress in plants[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2016, 52(3):241-249 (in Chinese)
- [31] Eastmond P J, Dijken A V, Selissa M, Kerr A, Tissier A, Dickinson Hugh, Jones J D, Smeekens S, Graham I A. Trehalose-6-phosphatase 1, which catalyses the first step in trehalose synthesis, is essential for Arabidopsis embryo maturation[J]. *Plant Journal*, 2002, 29(2):225-235
- [32] Reinbothe S, Reinbothe C, Lehmann J, Parthier B. Differential accumulation of Methyl jasmonates-induced mRNAs in response to abscisic acid and desiccation in barley (*Hordeum vulgare* L) [J]. *Physiologia Plantarum*, 2006, 86(1):49-56
- [33] 贾海锋. 蔗糖及茉莉酸信号在草莓果实发育中的作用及其机理分析[D]. 北京: 中国农业大学, 2013
- Jia H F. Roles and mechanisms of sucrose and jasmonic acid signals in the regulation of strawberry fruit development[D]. Beijing: China Agriculture University, 2013 (in Chinese)
- [34] 李红利, 孙振元, 赵梁军, 韩蕾, 巨关升. 茉莉酸类物质对植物生长发育及抗性的影响[J]. 中国农学通报 2009, 25(16):167-172
- Li H L, Sun Z Y, Zhao L J, Han L, Ju G S. Effect of jasmonic acid and methyl jasmonate on the plant development and resistance [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2009, 25(16):167-172 (in Chinese)
- [35] 彭金英, 黄勇平. 植物防御反应的两种信号转导途径及其相互作用[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2005, 31(4):347-353
- Peng J Y, Huang Y P. The signaling pathways of plant defense response and their interaction[J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2005, 31(4):347-353 (in Chinese)

责任编辑: 吕晓梅