

## 甲基茉莉酸酯对花生种子萌发和贮藏物质降解的影响

宾金华 潘瑞炽

(华南师范大学生物系, 广州 510631)

**摘要** 甲基茉莉酸酯 (Me-Ja) 对花生种子萌发基本没有影响, 但对下胚轴和根的生长有抑制作用, 且与浓度正相关。低浓度 Me-Ja 促进子叶淀粉酶活性和淀粉降解, 高浓度作用相反。Me-Ja 部分抑制脂肪降解、贮藏蛋白降解和内肽酶活性, 明显抑制脂肪酶活性。文中还讨论了 Me-Ja 抑制种子萌发与 ABA 作用的异同。

**关键词** 花生; 种子萌发; 甲基茉莉酸酯; 贮藏物质降解

**中图分类号** Q945.34

## EFFECTS OF METHYL JASMONATE ON THE GERMINATION AND DEGRADATION OF RESERVE SUBSTANCES IN PEANUT (*ARACHIS HYPOGAEA* L.) SEEDS

Bin Jinhua Pan Ruichi

(Department of Biology, South China Normal University, Guangzhou 510631)

**Abstract** Jasmonic acid and its derivative such as methyl jasmonate (Me-Ja) belong to ubiquitous cyclopentanane compounds that are claimed to represent a new type of regulator for plant growth and development. Its physiological activities were similar to those of abscisic acid (ABA). A biological role of Me-Ja was suggested to substitute ABA in the developmental regulation of seeds under desiccation. So we wish to test the idea that it might be involved in seed germination. After peanut seeds germinating in the Me-Ja solution (0.01–5 mmol/L or 0.001–100  $\mu$ mol/L) for 7 days in the dark ( $28 \pm 1$  °C), the germination percentage could hardly be decreased, but the growth of hypocotyl and radicle were much slower in high Me-Ja concentration than that in water. The activities of amylase and endopeptidase in cotyledons were inhibited partially by high concentration of Me-Ja, and promoted by low concentration. But the lipase activity was strongly inhibited in all Me-Ja treatments. The degradation of starch and salt soluble protein were inhibited partially by high Me-Ja concentration, while arachin and lipid degradation were inhibited partially at all Me-Ja concentrations. Our previous experiment showed that the inhibition of peanut seed germination by ABA was mainly via the depression of endopeptidase activity, while in present study, the decrease of germination by Me-Ja was probably due to the inhibition of

lipase activity and lipid degradation. It is suggested that there is an essential difference between ABA and Me-Ja in inhibiting the germination of peanut seeds.

**Key words** Peanut; Seed germination; Methyl jasmonate; Degradation of reserve substances

甲基茉莉酸酯 (Methyl jasmonate, Me-Ja) 是一类新发现的植物生长调节物质, 在植物中普遍存在和具有广泛的生理功能, 一般认为其作用类似于脱落酸 (Abscisic acid, ABA)<sup>[1]</sup>。有报道 Me-Ja 抑制向日葵、莴苣和水稻、亚麻、油菜种子的萌发<sup>[2-5]</sup>, 但抑制机理不清楚。国内尚未见有关 Me-Ja 抑制种子萌发的报道。为深入了解 Me-Ja 的生理作用, 观察了 Me-Ja 对花生种子萌发的影响, 并初步探讨了其原因和比较了与 ABA 作用的异同。

## 1 材料和方法

**材料** 供试花生 (*Arachis hypogaea* L.) 为粤油 211 品种, 由广东省农业科学院经济作物研究所提供。

**种子萌发** 花生种子 (每一处理 25 粒) 用 5% 次氯酸钠表面消毒 5 min, 然后用水冲洗 6 次, 置 Me-Ja 溶液中暗萌发 7 d ( $28 \pm 1$  °C, 直立玻板法)。记录发芽率并测量下胚轴和胚根长度, 萌发的标准为胚根露白 2 mm。种子的两片子叶分别保存于 -80 °C 中, 一片子叶用于贮藏物质测定, 另一片用于酶活性测定。

**Me-Ja 溶液配制** 称适量 Me-Ja, 分别用二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 和 Triton X-100 溶解, 然后用蒸馏水定容。以 DMSO 为溶剂时, Me-Ja 终浓度为 100  $\mu\text{mol/L}$ , DMSO 为 0.5%; 以 Triton X-100 做溶剂时, Me-Ja 终浓度为 5 mmol/L, Triton X-100 为 0.05%。系列低浓度 Me-Ja 溶液采用稀释法配制。分别以水、0.5% DMSO 和 0.05% Triton X-100 为对照。

**还原糖、淀粉含量和淀粉酶活性测定** 还原糖用 80% 乙醇提取 (3 次), 蒸去乙醇用蒸馏水定容, 按 Somogyi 方法<sup>[6]</sup> 测定糖含量。淀粉经盐酸水解后按 Somogyi 法测葡萄糖含量, 然后换算成淀粉含量。以葡萄糖做标准曲线。淀粉酶活性按照 Chrispeel 和 Varner<sup>[7]</sup> 方法测定。

**粗脂肪和脂肪酶活性测定** 粗脂肪含量和脂肪酶活性均按照钟维谨<sup>[8,9]</sup> 的方法测定, 以滴定每消耗 0.05 mol/L 氢氧化钠 0.01 ml 为 1 个酶活性单位。

**游离氨基酸、贮藏蛋白和内肽酶活性测定** 用 80% 乙醇提取游离氨基酸 (3 次), 蒸去乙醇后用蒸馏水定容, 然后和茚满三酮法<sup>[10]</sup> 测定氨基酸含量, 以亮氨酸做标准曲线。盐溶蛋白 (Salt soluble protein, SSP) 和花生球蛋白提取按黄上志和傅家瑞<sup>[11]</sup> 方法进行。蛋白质含量测定按 Bradford<sup>[12]</sup> 方法进行, 用牛血清蛋白做标准曲线。内肽酶活性测定按 Harris 和 Chrispeel<sup>[13]</sup> 方法, 以波长 410 nm 下的 OD 值每分钟增加 0.001 为 1 个酶活性单位。

## 2 实验结果

### 2.1 Me-Ja 对花生种子萌发的影响

从图 1 可见, Me-Ja 对花生种子的萌发率没有影响; 但高浓度 Me-Ja (100, 10  $\mu\text{mol/L}$ ) 明显抑制下胚轴和根的生长, 低浓度 Me-Ja 没有明显影响。DMSO 处理对萌发没有影响 (萌发率

100%), 但部分抑制下胚轴和根的生长(生长量为 62.8 mm)。

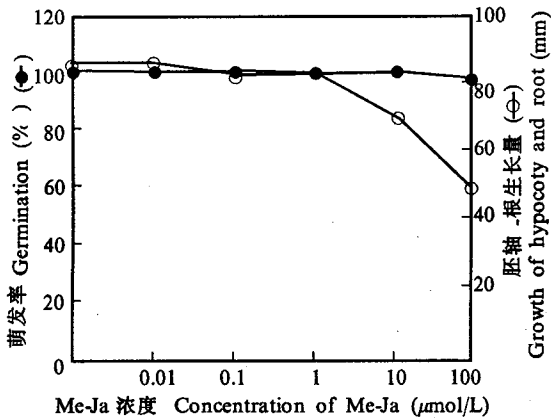


图1 Me-Ja 对花生种子萌发和下胚轴和根生长的影响

Fig. 1 Effect of Me-Ja on the peanut seed germination and the growth of hypocotyl and roots

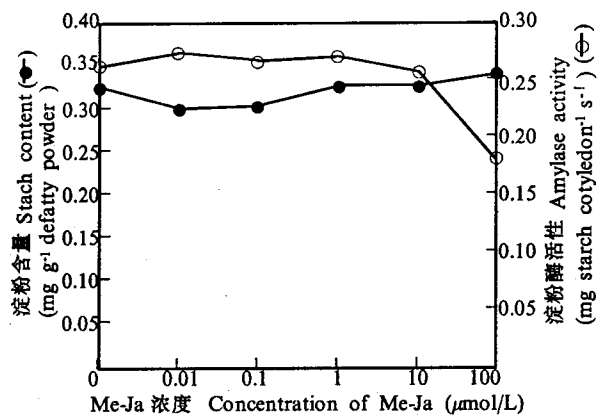


图2 Me-Ja 对萌发花生子叶淀粉酶活性和淀粉降解的影响

Fig. 2 Effect of Me-Ja on amylase activity and starch degradation of peanut cotyledon during germination

## 2.2 Me-Ja 对淀粉酶活性和淀粉降解的影响

低浓度 Me-Ja (0.01、0.1  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理的花生子叶淀粉含量略低于水对照, 高浓度 Me-Ja (100  $\mu\text{mol}$ ) 处理子叶淀粉含量略高, 说明低浓度 Me-Ja 促进花生子叶淀粉降解, 高浓度 Me-Ja 抑制淀粉降解; 淀粉酶活性表现出相反的变化趋势, 低浓度 Me-Ja 促进淀粉酶活性, 高浓度 Me-Ja 明显抑制淀粉酶活性。DMSO 对子叶淀粉降解没有明显影响 ( $0.326 \text{ mg g}^{-1}$  脱脂粉) 而明显抑制淀粉酶活性 ( $0.165 \text{ mg 淀粉子叶}^{-1} \text{ min}^{-1}$ )。因此 100  $\mu\text{mol/L}$  Me-Ja 抑制淀粉酶活性可能是 DMSO 作用的结果。总的来看, Me-Ja 对花生子叶淀粉降解的促进或抑制作用都不明显 (图 2)。

低浓度 Me-Ja (0.01、0.1  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理花生子叶的还原糖含量低于水对照; 1–100  $\mu\text{mol/L}$  Me-Ja 处理子叶的还原糖与水对照相当 (图 3)。DMSO 处理子叶的还原糖含量为  $8.55 \text{ mg g}^{-1}$  脱脂粉, 也低于水对照。子叶还原糖的量决定于生成速度 (淀粉降解) 和利用速度 (呼吸消耗和合成消耗), 处于一种动态平衡中。由于低浓度 Me-Ja 促进淀粉降解而 DMSO 对淀粉降解没有明显影响, 因而低浓度 Me-Ja 和 DMSO 使子叶还原糖含量降低很可能是利用速度提高。

## 2.3 Me-Ja 对花生子叶盐溶蛋白和花生球蛋白降解的影响

Me-Ja 处理后, 花生子叶盐溶蛋白和花生球蛋白含量都高于水对照, 且 Me-Ja 浓度高, 蛋白质含量也高 (图 4), 说明 Me-Ja 处理抑制了花生子叶盐溶蛋白和花生球蛋白降解, 抑制程度正比于 Me-Ja 浓度。内肽酶活性恰相反, Me-Ja 浓度越高, 活性越低, 与贮藏蛋白降解情况有较好的对应关系 (图 4)。DMSO 处理花生子叶的盐溶蛋白和花生球蛋白分别为  $226.3$  和  $69.1 \text{ mg g}^{-1}$  脱脂粉, 而内肽酶活性为  $120.8 \text{ U 子叶}^{-1} \text{ min}^{-1}$ , 因而 DMSO 对花生子叶盐溶蛋白和花生球蛋白降解只有轻微的抑制, 而部分抑制内肽酶活性。

低浓度 Me-Ja (0.01–1  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理子叶的游离氨基酸明显高于水对照, 高浓度 Me-Ja (10、100  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理子叶游离氨基酸没有明显变化。DMSO 处理子叶的游离氨基酸为

70.0 mg g<sup>-1</sup> 脱脂粉, 也高于水对照。子叶游离氨基酸也是处于一种动态平衡中, 由于 Me-Ja 处理没有促进贮藏蛋白降解的增加, 因此它的增加可能是利用速度的降低(图 3)。

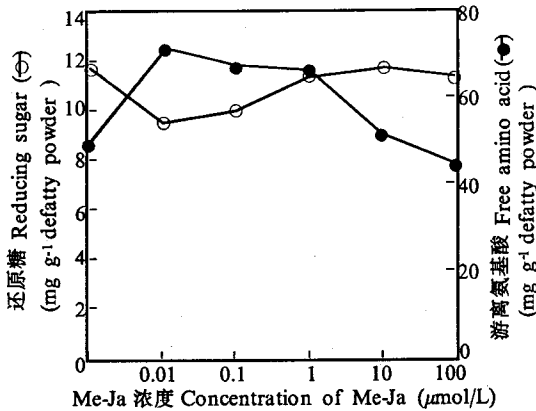


图 3 Me-Ja 对萌发花生子叶游离氨基酸和还原糖的影响  
Fig. 3 Effect of Me-Ja on the content of free amino acid and reducing sugar of peanut cotyledon during germination

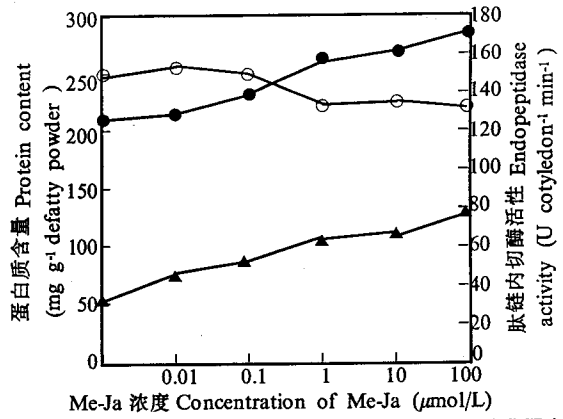


图 4 Me-Ja 对萌发花生子叶肽链内切酶活性和贮藏蛋白降解的影响

Fig. 4 Effect of Me-Ja on endopeptidase activity and degradation of storage protein in peanut cotyledon during germination

● 盐溶蛋白 SSP; ○ 花生球蛋白 Arachin;  
▲ 肽链内切酶 Endopeptidase

### 2.4 Me-Ja 对萌发花生子叶脂肪酶活性和脂肪降解的影响

所有浓度 Me-Ja 处理花生子叶粗脂肪含量都明显高于对照, 且 Me-Ja 浓度越高, 粗脂肪含量越高, 基本上与 Me-Ja 浓度成正比(图 5), DMSO 处理粗脂肪含量(41.1%)与 0.01 μmol/L Me-Ja 相当, 表明 Me-Ja 确实抑制花生子叶脂肪的降解, 抑制程度与浓度成正比。从图 5 可见, DMSO 对脂肪酶活性没有影响(60.1 U 子叶<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), Me-Ja 抑制脂肪酶活性极为明显, 抑制程度与 Me-Ja 浓度成正比, 与脂肪降解受抑制有一致的对应关系。

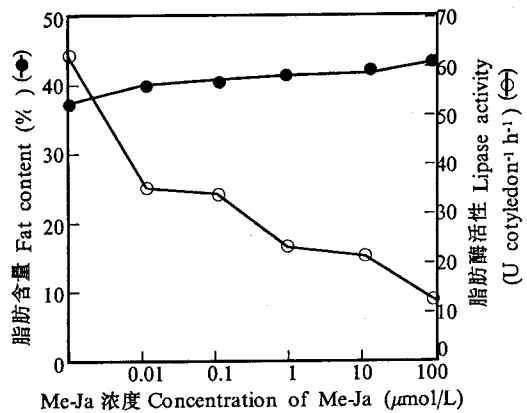


图 5 Me-Ja 对萌发花生子叶脂肪酶活性和脂肪降解的影响

Fig. 5 Effect of Me-Ja on the lipase activity and fat degradation of peanut cotyledon during germination

### 2.5 毫摩尔浓度 Me-Ja 的抑制作用

为排除外施 Me-Ja 浓度低而不能起相应生理变化的可能性, 我们用 Triton X-100 做为溶剂配制 Me-Ja 溶液可达 5 mmol/L 浓度, 实验结果如表 1 所示。除 5 mmol/L 浓度 Me-Ja 略为降低花生种子萌发率, 其余浓度 Me-Ja 对萌发率没有影响, 但下胚轴和根的生长受到明显抑制。对贮藏物质降解和相应酶活性的影响与 μmol/L 浓度 Me-Ja 处理的情况基本一致, 明显抑制淀粉酶和脂肪酶活性, 对脂肪降解、贮藏蛋白降解和内肽酶活性均有一定的抑制, 而对淀粉降解没有明显影响(表 1)。

表1 毫摩尔浓度 Me-Ja 对萌发花生子叶贮藏物质降解的影响

Table 1 Effects of Me-Ja (mmol/L) on the germination and degradation of storage substances in peanut seeds

	Me-Ja 浓度 Concentration of Me-Ja						Triton X-100
	0	0.001	0.01	0.1	1	5	0.05%
萌发率 Germination (%)	100	100	100	100	100	92	100
生长量 Growth (mm)	85.2	82.8	71.2	52.5	29.7	19.9	85.2
淀粉含量 Starch content (mg g <sup>-1</sup> defatty powder)	0.326	0.292	0.305	0.306	0.317	0.337	0.284
淀粉酶活性 Amylase activity (mg cotyledon <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	15.6	20.3	13.9	13.7	11.2	9.46	12.9
还原糖含量 Reducing sugar (mg g <sup>-1</sup> defatty powder)	11.5	11.8	12.1	13.2	15.5	16.5	14.7
盐溶蛋白含量 Salt soluble protein (mg g <sup>-1</sup> defatty powder)	213.2	201.5	215.5	225.3	293.8	295.7	208.2
花生球蛋白含量 Arachin content (mg g <sup>-1</sup> defatty powder)	69.1	81.5	87.1	97.3	93.4	97.5	106.3
内肽酶活性 Endopeptidase activity (U cotyledon <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	150.8	164.7	165.3	142.4	129.1	129.4	135.3
游离氨基酸含量 Free amino acid (mg g <sup>-1</sup> defatty powder)	50.1	50.9	51.2	50.7	44.2	42.6	47.3
脂肪含量 Fat content (%)	36.7	37.1	39.2	41.4	40.1	43.1	36.2
脂肪酶活性 Lipase activity (U cotyledon <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	36.9	31.1	18.4	16.9	16.9	11.8	28.4

### 3 讨论

控制种子在适当的时间和地点萌发是植物个体发育中重要的一个环节。许多作物的早萌(胎萌)给农林生产造成巨大的经济损失。ABA可以抑制种子早萌和萌发, Me-Ja也有类似的作用。由于Me-Ja不仅可以人工合成,而且能传递抗病信号<sup>[1,14]</sup>,因此在生产中施用既可抑制早萌,又能提高植物的抗病能力,应用前景优于ABA,但至今探讨抑制种子萌发机制的研究并不多。

实验表明, Me-Ja对萌发花生子叶三大类贮藏物质降解和相应酶活性的影响不同。低浓度Me-Ja略为促进淀粉酶活性和淀粉降解,高浓度Me-Ja作用相反,但不管抑制或促进, Me-Ja对淀粉降解作用的影响不很明显。Me-Ja对内肽酶活性的影响类似于对淀粉酶的影响,但盐溶蛋白和花生球蛋白降解均受到Me-Ja部分抑制,可能受到别的因素影响而表现出与内肽酶活性不太一致。Me-Ja对脂肪酶活性和脂肪降解有明显抑制作用,而且抑制程度正比于Me-Ja浓度,说明抑制确实存在。总之, Me-Ja对花生种子萌发抑制能力较弱,主要是抑制下胚轴和根的生长,以及抑制脂肪酶活性和脂肪降解。

Corbineau等<sup>[2]</sup>比较了ABA和Me-Ja对向日葵种子萌发、下胚轴和根生长的影响,发现ABA抑制萌发作用强于Me-Ja的抑制作用;抑制下胚轴生长两者相等,但Me-Ja抑制根生长作用强于ABA。Wilén等<sup>[5]</sup>也比较了ABA、茉莉酸和Me-Ja对油菜、亚麻种子萌发的影响,发现ABA的抑制作用最强。我们也发现ABA强烈抑制花生种子萌发、下胚轴和根的生长<sup>[15]</sup>,本实验中, Me-Ja对花生种子萌发基本没有影响,对下胚轴和根的生长有明显抑制作用。但是,即使5 mmol/L的Me-Ja也不能完全抑制花生种子萌发。

Allfrey和Northcote<sup>[16]</sup>报道0.03 mmol/L ABA抑制萌发花生种子子叶脂肪酶活性,促进淀粉酶活性和淀粉降解。我们也曾报道ABA明显抑制花生子叶中内肽酶活性和贮藏蛋白降解<sup>[15]</sup>。由此可见, ABA对花生种子萌发的抑制作用大于Me-Ja,两者对脂肪酶和淀粉降解的抑

制作用相近, 差异在于贮藏蛋白降解和内肽酶活性的影响, ABA 的抑制作用强于 Me-Ja。

### 参考文献

- 1 Sembdner G, Parthier B. The biochemistry and the physiological and the molecular actions of jasmonates. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1993, 44:569-589
- 2 Corbineau F, Rudnicki R M, Come D. The effects of methyl jasmonate on sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed germination and seedling development. *Plant Growth Regulation*, 1988, 7:157-169
- 3 Yamane H, Takagi H, Abe H et al. Identification of jasmonic acid in three species of higher plant and its biological activities. *Plant Cell Physiol*, 1981, 22:689-697
- 4 Yamane H, Sugawara J, Suzuki Y et al. Synthesis of jasmonic acid related compounds and their structure-activity relationship on the growth of rice seedlings. *Arch Biol Chem*, 1980, 44:2857-2864
- 5 Wilen R W, van Rooijen G J H, Pearce D W et al. Effects of jasmonic acid on embryo-specific processes in *Brassica* and *Linum* oilseeds. *Plant Physiol*, 1991, 95:399-405
- 6 北京大学生物系生物化学教研室. Somogyi 比色法测定还原酶. *生物化学实验指导*, 北京: 人民教育出版社, 1979, 36
- 7 Chrispeel M J, Varner J E. Gibberellic acid-enhanced synthesis and release of  $\alpha$ -amylase and ribonuclease by isolated barley aleurone layers. *Plant Physiol*, 1967, 42:398-406
- 8 钟维瑾. 粗脂肪的定量测定. 薛应龙主编. *植物生理学实验手册*. 上海: 上海科学技术出版社, 1985, 199
- 9 钟维瑾. 脂肪酶的测定. 薛应龙主编. *植物生理学实验手册*. 上海: 上海科学技术出版社, 1985, 201
- 10 波钦诺克 X H. 茚满酮法测定氨态氮. 荆家海和丁钟荣译. *植物生物化学分析方法*. 北京: 科学出版社, 1981, 95
- 11 黄上志, 傅家瑞. 花生种子贮藏蛋白质与活力的关系及其在萌发时的降解模式. *植物学报*, 1992, 34:543-550
- 12 Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 1976, 72:248-254
- 13 Harris N, Chrispeel M J. Histochemical and biochemical observation on storage protein metabolism and protein body autolysis in cotyledons of germinating Mung beans. *Plant Physiol*, 1975, 56:292-301
- 14 宾金华, 潘瑞炽. 茉莉酸甲酯的生理生化及在植物抗病中的作用. *植物学通报*, 1995, 12:22-27
- 15 宾金华, 沈芸, 傅家瑞. 脱落酸和抑制剂对萌发花生子叶肽链内切酶和花生球蛋白降解的影响. *热带亚热带植物学报*, 1996, 4(2):63-71
- 16 Alltrey J M, Northcote D H. The effects of the axis and plant hormones on the mobilization of storage materials in the ground-nut (*Arachis hypogaea* L.) during germination. *New Phytol*, 1977, 78:547-563