

· 研究报告 ·

钼在桃树干旱胁迫响应中的作用解析

郇怀峰, 张亚飞, 王国栋, 孙希武, 贺月, 彭福田*, 肖元松*

山东农业大学园艺科学与工程学院, 作物生物学国家重点实验室, 泰安 271018

摘要 以毛桃(*Amygdalus persica*)实生苗为试材, 研究干旱胁迫下, 钼酸铵处理对钼辅因子硫化酶编码基因(*LOS5/ABA3*)表达量、脱落酸(ABA)含量及抗旱相关生理指标的影响。结果表明, 干旱胁迫下, 喷施不同浓度钼酸铵处理毛桃实生苗叶片, 其含水量及叶绿素和脯氨酸含量显著高于对照, 且以0.04%钼酸铵处理效果最好; 电解质渗漏率显著低于对照。干旱胁迫下, 与对照相比, 喷施0.04%钼酸铵的毛桃实生苗叶片中*LOS5/ABA3*表达量显著提高; ABA含量、水分利用效率和净光合速率均高于对照, 蒸腾速率低于对照, 且差异显著; 叶片抗氧化酶活性显著升高, MDA含量显著降低; 离体处理的叶片质量损失减缓, 且差异显著。研究表明毛桃实生苗在干旱胁迫下喷施钼酸铵可通过上调钼辅因子硫化酶编码基因的表达水平, 提高叶片中ABA和脯氨酸含量及抗氧化酶活性, 从而缓解干旱胁迫下的细胞膜氧化伤害, 降低叶片失水速率, 减轻干旱胁迫对毛桃实生苗的伤害。

关键词 桃实生苗, 钼酸铵, 干旱胁迫, *LOS5/ABA3*, 抗旱性

郇怀峰, 张亚飞, 王国栋, 孙希武, 贺月, 彭福田, 肖元松 (2019). 钼在桃树干旱胁迫响应中的作用解析. 植物学报 54, 227–236.

桃隶属蔷薇科, 李属、桃亚属, 是我国北方种植的四大大果树之一。毛桃(*Amygdalus persica*)是我国应用最为广泛的桃树砧木树种, 其根系发达且生长健壮, 抗寒并耐旱, 与栽培品种嫁接亲和性好, 实生苗长势一致性较好。干旱是非常重要的非生物胁迫因子, 不仅是限制作物产量最重要的环境因素, 也是影响树木成活与生长的限制因子(苏金和朱汝财, 2001; Patnaitk and Khurana, 2002)。1998年, Barker等的统计数据表明, 因干旱造成的损失介于15.6%–48.5%之间, 严重影响了农业生产的可持续发展。在我国尤其是干旱和半干旱地区, 缺水一直是限制农业生产的最主要因子之一, 即使是降水较多的地区也普遍存在季节性或非周期性干旱问题(张士功等, 2001)。目前, 对桃树干旱胁迫的研究尚停留在田间自然条件下干旱处理对果实外形及产量的影响方面, 对其生理生化指标的研究报道较少。因此, 加强钼对桃树干旱胁迫的缓解效果及机制研究显得尤为重要。

钼是高等植物正常生长发育和生理代谢必需的微量元素。前人研究表明, 施钼能够提高小麦(*Triticum aestivum*)叶片脱落酸(ABA)的含量, 影响植物

的抗逆性(Sun et al., 2009), 但钼是否影响桃树的抗逆性尚未见报道。钼能通过含钼酶调控植物体内的碳、氮、激素和活性氧代谢等多种生理过程(武松伟等, 2016), 对植物的生长发育不可或缺。缺钼会使植物的叶绿素含量明显减少且结构异常, 导致叶片发黄, 光合速率降低。钼也与植物的非生物胁迫(如低温(孙学成, 2006)、干旱(Wu et al., 2014)和盐害(Zhang et al., 2012)等)抗性有关。钼不仅能通过含钼酶调控ABA和IAA的合成, 还能调节钼酶(孙学成, 2006)和抗氧化酶活性(Ma et al., 2012)及渗透调节物质的含量(Mahajan and Tuteja, 2005), 从而影响植物的抗性。在生物体内, 钼单独存在时并不能发挥作用, 只有形成钼辅因子(molybdenum cofactor, Moco)结合到钼酶上其才具有生物活性(Hille et al., 2014; Atwal and Scaglia, 2016)。拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中, *LOS5/ABA3*编码钼辅因子硫化酶。硫化酶催化MoCo硫酸化, MoCo是植物中ABA生物合成途径最后一步起关键作用的醛氧化酶(aldehydeoxidases, AO)所必需的辅助因子(Li et al., 2013)。ABA在干旱胁迫下的营养组织中产生, 是植物干旱胁迫响应的必

收稿日期: 2018-06-19; 接受日期: 2018-11-16

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资金(No.CARS-30-2-02)、山东省自然科学基金(No.ZR2017BC017)和山东省“双一流”建设奖补资金(No.SYL2017YSTD10)

* 通讯作者。E-mail: pft@sdaa.edu.cn; ysxiao@sdaa.edu.cn

须信使(Wilkinson and Davies, 2002)。

近年干旱天气时有发生,对桃生产造成了不利影响,因此降低干旱伤害是提高桃产量的重要因素。研究表明,钼可增强玉米(*Zea mays*) (Lu et al., 2013)、大豆(*Glycine max*) (Li et al., 2013)以及野棉花(*Anemone vitifolia*) (Yue et al., 2012)等作物的抗旱性,从而提高作物产量。但钼能否调控钼辅因子硫化酶编码基因的表达进而提高桃树的抗旱性,缓解干旱胁迫伤害,至今未见报道。因此,本研究探讨了干旱胁迫下,钼酸铵对桃叶片钼辅因子硫化酶编码基因表达,及叶片含水量、光合特性、细胞膜氧化伤害、脱落酸与脯氨酸含量的影响,以期生产中桃树抗旱胁迫提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料 with 处理

以毛桃(*Amygdalus persica* (L.) Batsch)实生苗为试材,于2017年在山东农业大学南校区试验站进行试验。

选取长势一致且无病虫害的20片叶毛桃实生苗,定植于盆中,每盆1株,盆为圆柱形,内径10 cm,高8 cm,盆内栽培基质按营养土:蛭石=1:1 (v/v)混合,每盆基质重量1.5 kg。试验设5个处理,即CK (喷施清水+中度干旱胁迫)、T1 (喷施0.01%钼酸铵+中度干旱胁迫)、T2 (喷施0.04%钼酸铵+中度干旱胁迫)、T3 (喷施0.08%钼酸铵+中度干旱胁迫)和T4 (喷施0.12%钼酸铵+中度干旱胁迫),每处理9个重复。每个处理喷施50 mL不同浓度的钼酸铵溶液后,浇施200 mL的10% PEG-6000溶液模拟中度干旱胁迫,处理72小时后测定叶片的含水量、电解质渗漏率及叶绿素和脯氨酸含量,选取最佳钼酸铵浓度。

为探索钼酸铵对毛桃实生苗干旱胁迫的缓解作用及内在机制,根据上述试验结果,进一步研究了0.04%钼酸铵对干旱胁迫下桃叶片光合作用、蒸腾速率、水分利用效率、离体叶片质量变化、抗氧化酶活性及丙二醛和脱落酸含量的影响。另选取一批长势一致且无病虫害的20片叶毛桃实生苗进行试验,共设6个处理,即CK (正常条件+清水)、T1 (正常条件+0.04%钼酸铵)、T2 (中度干旱胁迫+清水)、T3 (中度干旱胁迫+0.04%钼酸铵)、T4 (重度干旱胁迫+清水)和T5 (重度干旱胁迫+0.04%钼酸铵)。每个处理喷施

50 mL不同浓度的钼酸铵溶液,处理后CK和T1浇施200 mL清水, T2和T3浇施200 mL的10% PEG-6000溶液模拟中度干旱胁迫, T4和T5浇施200 mL的20% PEG-6000溶液模拟重度干旱胁迫。为研究干旱胁迫下0.04%钼酸铵对钼辅因子硫化酶编码基因(*LOS5/ABA3*)表达的影响,每个处理分别于0、0.5、2、4、6和12小时随机摘取实生苗上、中、下3个部位叶片各1枚混合、取样,3个重复,液氮速冻,−80℃保存,用于检测基因的表达量。处理72小时后测定功能叶片的光合作用、蒸腾速率、水分利用效率、离体叶片质量变化、抗氧化酶活性及丙二醛和脱落酸含量。

1.2 光合指标的测定

于晴天利用CIRAS-3便携式光合仪测定系统(PP-Systems, 英国)测定充分展开的功能叶片的蒸腾速率、水分利用效率以及净光合作用,重复6次,取平均值。

1.3 生理指标的测定

使用分光光度法测定叶绿素含量(赵世杰等, 2002)。SPAD值用SPAD-502型仪器测定。组织含水量采用烘干称重法测定(赵世杰等, 2002)。电解质渗漏率的测定参照张志良等(2009)的方法进行。CAT、POD和SOD活性的测定分别采用紫外吸收法、愈创木酚显色法和氮蓝四唑光化还原法(赵世杰等, 2002)。脯氨酸、MDA和ABA含量分别使用茚三酮比色法(赵世杰等, 2002)、硫代巴比妥酸(TBA)比色法(赵世杰等, 2002)和HPLC法(王尉等, 2018)测定。每处理3个重复,结果取平均值。

1.4 离体叶片失水速率的测定

剪取叶位相同的功能叶,称重后置于室内,固定时间(0、0.5、1、2、4和6小时)称重1次,计算叶片重量百分比变化速率。每处理3个重复,结果取平均值。

1.5 实时荧光定量PCR分析

使用EASYspin Plus植物RNA快速提取试剂盒(北京爱德莱生物科技有限公司)提取样品RNA,利用反转录试剂盒(Perfect Real Time, TaKaRa)获得cDNA。实时荧光定量PCR采用SYBR Green PCR Premix Ex Taq (宝生生物公司)试剂盒,参照使用说明书操作,引物参见表1。用CFX96 Touch Real-Time PCR

表1 本研究所用引物

Table 1 Primers used in this study

Primer name	Primer (5'→3')
PpABA3-F	CAATGGTACTGCAGCATCTATGA
PpABA3-R	TAAGTTATATGCCTCTCCTGTTGG
PpACTIN-F	TGCATTGTGTATGTGTTTCATCTACA
PpACTIN-R	CTTCACCATTCCAGTTCATTGTC

Detection System (Bio-Rad, USA)进行实时荧光定量PCR分析。反应程序为: 95℃预变性30秒, 95℃变性5秒, 58℃退火30秒; 40个循环。所有实时荧光定量PCR反应均设置3次生物学重复和3次技术重复, 所得数据采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算分析。

1.6 数据处理

采用Excel 2007软件绘制图表, 用SPSS 20.0软件对数据进行单因素方差分析及最小差异显著性检验(Duncan's新复极差法, $P<0.05$)。

2 结果与讨论

2.1 钼对叶片含水量和电解质渗漏率的影响

植物受到干旱胁迫时, 叶片含水量会随着胁迫强度的增加而降低, 含水量可在一定程度上反映植物的抗旱能力(李洁等, 2016); 电解质渗漏率是衡量植株体内细胞内容物扩散到细胞外的一项生理指标, 能反映细胞质膜受伤害的程度。如图1A所示, 在中度干旱胁迫下, 与对照相比钼酸铵处理叶片的含水量均显著增加, 0.01%、0.04%、0.08%和0.12%钼酸铵处理含水量分别增加了5.06%、7.35%、6.23%和4.99%; 如图1B所示, 与对照相比钼酸铵处理叶片的电解质渗漏率均显著降低, 0.01%、0.04%、0.08%和0.12%钼酸铵处理含水量分别降低了6.01%、10.21%、8.67%和5.01%。说明钼酸铵能降低叶片的失水量和电解质渗漏率, 减轻细胞膜损伤, 从而缓解干旱胁迫伤害, 其中以0.04%钼酸铵处理的效果最佳。

2.2 钼对叶片叶绿素及脯氨酸含量的影响

在一定范围内, 叶绿素含量的高低可直接影响叶片的光合能力。干旱胁迫会对叶片的叶绿素造成一定损伤, 钼酸铵处理可缓解这一现象。如图2A所示, 与对照

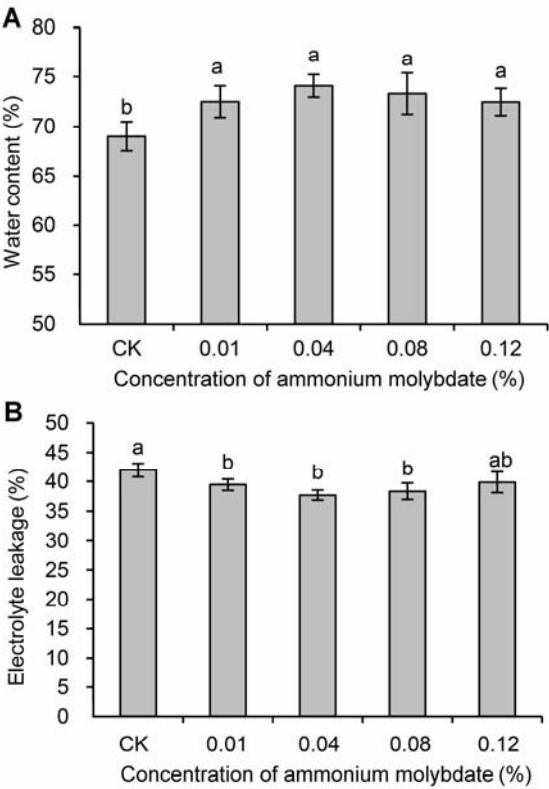


图1 干旱胁迫下不同浓度钼酸铵处理的毛桃实生苗叶片含水量(A)及电解质渗漏率(B)
不同小写字母表示处理间差异达0.05显著水平。

Figure 1 Water content (A) and electrolyte leakage (B) of peach seedlings treated with different concentrations of ammonium molybdate under drought stress
Different lowercase letters above the bars indicate significant differences at 0.05 level.

(CK)相比, 0.01%、0.04%、0.08%和0.12%钼酸铵处理的叶片叶绿素含量下降幅度分别减小2.26%、6.75%、4.23%和2.54%, 且差异显著。对5组处理的叶片脯氨酸含量进行统计分析, 如图2B所示, 与对照(CK)相比, 0.01%、0.04%、0.08%和0.12%钼酸铵处理的叶片脯氨酸含量分别提高了2.70%、6.44%、4.33%和2.87%, 且差异显著。叶片中脯氨酸含量与水分变化关系密切, 一定程度上可以反映出植物对干旱胁迫的耐受能力。本研究表明, 钼酸铵处理可提高桃实生苗的脯氨酸含量并缓解干旱胁迫对叶绿素的破坏, 从而提高植株的抗旱能力, 且以0.04%钼酸铵处理效果最佳。

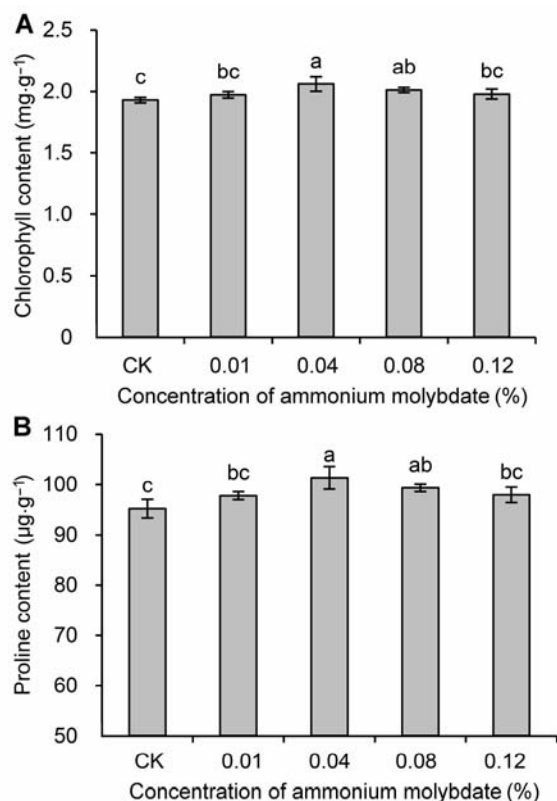


图2 干旱胁迫下不同浓度钼酸铵处理的毛桃实生苗叶片叶绿素(A)及脯氨酸含量(B)

不同小写字母表示处理间差异达0.05显著水平。

Figure 2 Chlorophyll (A) and proline (B) content of peach seedlings treated with different concentrations of ammonium molybdate under drought stress

Different lowercase letters above the bars indicate significant differences at 0.05 level.

2.3 钼对叶片光合特性的影响

本研究显示,随着干旱胁迫程度的增强,毛桃实生苗叶片的SPAD值和净光合速率均呈明显下降趋势。正常条件下,与清水处理相比,0.04%钼酸铵处理叶片SPAD值和净光合速率分别上升了1.94%和10.79%;中度干旱胁迫下,与清水处理相比,0.04%钼酸铵处理叶片SPAD值和净光合速率分别上升了2.32%和15.66%;重度干旱胁迫下,与清水处理相比,0.04%钼酸铵处理叶片SPAD值以及净光合速率分别上升了1.96%和22.45%,且差异显著(图3A, B)。钼酸铵处理显著缓解了干旱胁迫下叶片SPAD值和净光合速率的下降,有利于毛桃实生苗保持较高的光合速率。

水分利用效率(water use efficiency, WUE)指消耗单位水分产出的同化量,反映了植物生产过程中的能量转换效率,是评价水分亏缺条件下植物生长适应能力强弱的指标之一(Hanks, 1983)。如图3C和D所示,随着干旱胁迫程度的增强,毛桃实生苗叶片的蒸腾速率呈明显下降趋势,水分利用效率呈先上升后下降趋势。正常条件下,与清水处理相比,0.04%钼酸铵处理叶片的蒸腾速率下降了1.52%,水分利用效率上升了2.47%;中度干旱胁迫下,与清水处理相比,0.04%钼酸铵处理叶片的蒸腾速率下降了7.56%,水分利用效率上升了8.47%;重度干旱胁迫下,与清水处理相比,0.04%钼酸铵处理叶片的蒸腾速率下降了7.16%,水分利用效率上升了6.97%,且差异显著。干旱胁迫下,植物WUE值越大表明其节水能力越强,消耗单位H₂O所固定的CO₂量越多,对于干旱胁迫的适应性越强。

2.4 钼对叶片离体后质量百分比变化的影响

离体叶片的质量百分比变化可以反映叶片的失水速率。从图4可以看出,随着干旱胁迫程度的增强,离体叶片的失水速率显著降低。中度干旱胁迫下,叶片离体6小时,0.04%钼酸铵处理(T3)比清水处理(T2)的叶片质量百分比提高了4.15%;重度干旱胁迫下,叶片离体6小时,0.04%钼酸铵处理(T5)比清水处理(T4)的叶片质量百分比提高了3.02%,且差异显著。说明0.04%钼酸铵处理显著降低了离体叶片的失水速率。

2.5 钼对叶片MDA含量及CAT、POD和SOD活性的影响

如图5所示,随着干旱胁迫程度的增强,毛桃实生苗叶片MDA (图5A)含量显著增加, CAT (图5B)、POD (图5C)和SOD (图5D)活性显著升高。正常条件下,与清水处理相比,0.04%钼酸铵处理的叶片MDA含量降低了2.72%, CAT、POD和SOD活性分别提高了0.60%、4.21%和4.37%;中度干旱胁迫下,与清水处理相比,0.04%钼酸铵处理的叶片MDA含量降低了9.55%, CAT、POD和SOD活性分别提高了4.68%、6.67%和4.93%;重度干旱胁迫下,与清水处理相比,0.04%钼酸铵处理的叶片MDA含量降低了7.45%, CAT、POD和SOD活性分别提高了4.42%、8.07%和5.56%,且差异显著。水分胁迫下,细胞内因自由基

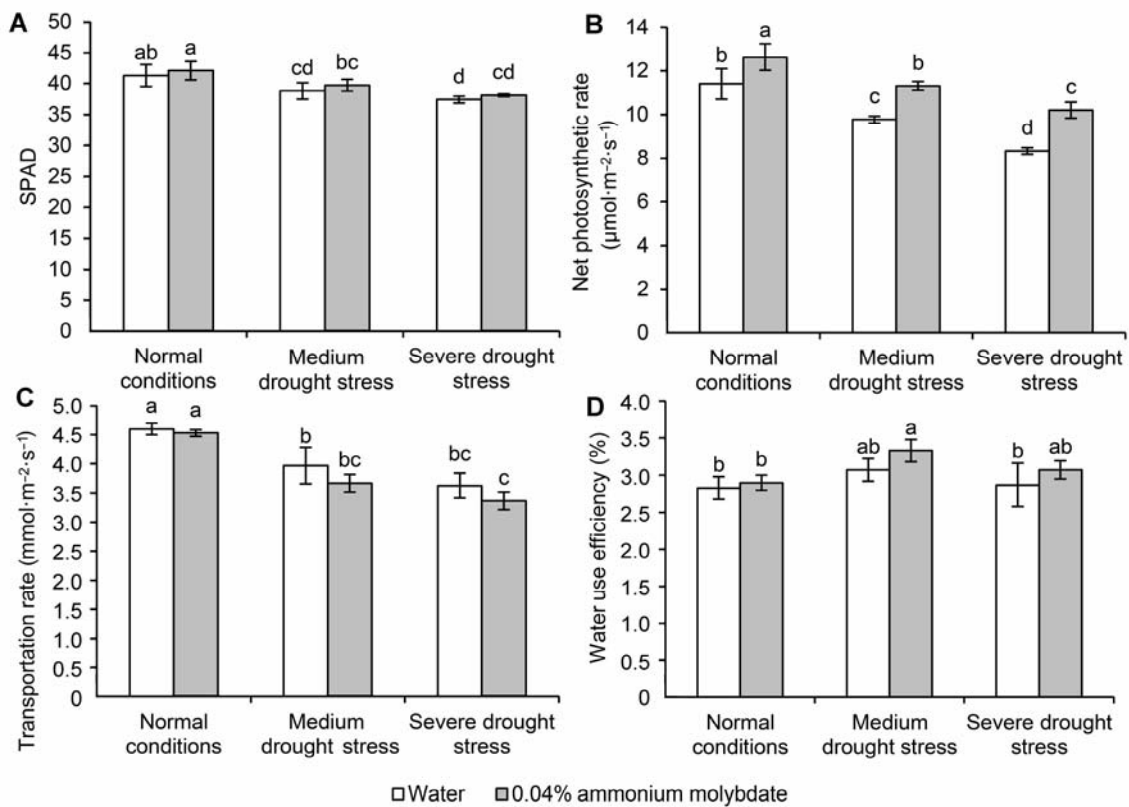


图3 干旱胁迫下钼酸铵处理的毛桃实生苗叶片SPAD值(A)、净光合速率(B)、蒸腾速率(C)和水分利用效率(D)不同小写字母表示处理间差异达0.05显著水平。

Figure 3 The SPAD (A), net photosynthetic rate (B), transpiration rate (C) and water use efficiency (D) of peach seedlings treated with ammonium molybdate under drought stress Different lowercase letters above the bars indicate significant differences at 0.05 level.

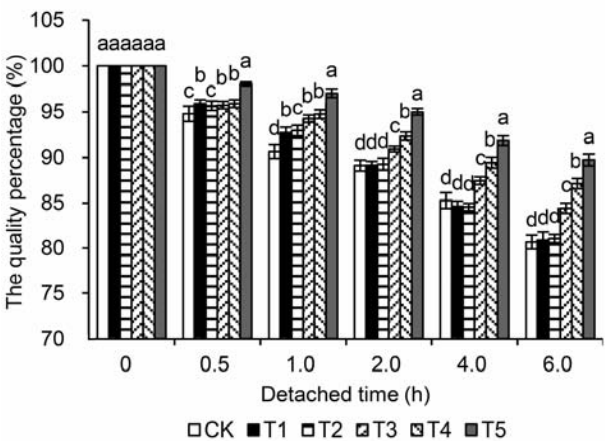


图4 毛桃叶片离体后质量百分比的变化 CK: 正常条件+清水; T1: 正常条件+0.04%钼酸铵; T2: 中度干旱胁迫+清水; T3: 中度干旱胁迫+0.04%钼酸铵; T4: 重度干旱胁迫+清水; T5: 重度干旱胁迫+0.04%钼酸铵。不同小写字母表示处理间差异达0.05显著水平。

早胁迫+清水; T5: 重度干旱胁迫+0.04%钼酸铵。不同小写字母表示处理间差异达0.05显著水平。

Figure 4 The changes of the quality percentage of detached leaves of peach CK: Normal conditions+water; T1: Normal conditions+0.04% ammonium molybdate; T2: Medium drought stress+water; T3: Medium drought stress+0.04% ammonium molybdate; T4: Severe drought stress+water; T5: Severe drought stress+0.04% ammonium molybdate. Different lowercase letters above the bars indicate significant differences at 0.05 level.

代谢平衡失调而产生过剩的活性氧自由基, 进而引起细胞膜的过氧化作用。氧化膜的有序性降低, 结构遭到破坏, 造成细胞膜系统损伤, 膜透性增加, 从而影响细胞的物质代谢, 即吸收与同化作用(邵惠芳等, 2016)。

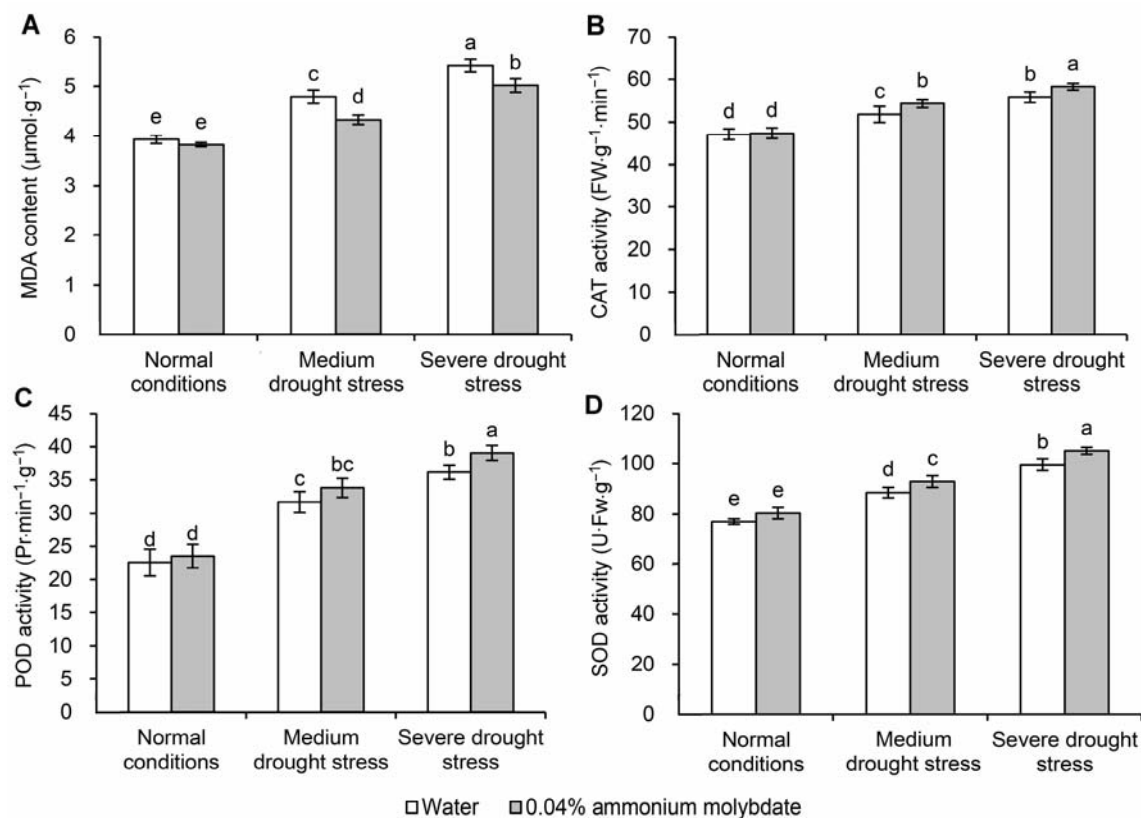


图5 钼酸铵对毛桃叶片丙二醛(A)含量及过氧化氢酶(B)、过氧化物酶(C)和超氧化物歧化酶(D)活性的影响

MDA: 丙二醛; CAT: 过氧化氢酶; POD: 过氧化物酶; SOD: 超氧化物歧化酶。不同小写字母表示处理间差异达0.05显著水平。

Figure 5 The effect of ammonium molybdate on the MDA content (A) and the activity of CAT (B), POD (C) and SOD (D) of peach seedlings

MDA: Malondialdehyde; CAT: Catalase; POD: Peroxidase; SOD: Superoxide dismutase. Different lowercase letters above the bars indicate significant differences at 0.05 level.

CAT、POD和SOD是植物组织防御系统中的重要保护酶,可以清除细胞内的活性氧,减少脂质过氧化(王华等, 2000)。本研究,钼酸铵处理明显提高了抗氧化酶活性,稳定了膜透性。

2.6 钼对叶片ABA含量的影响

脱落酸(ABA)是将植物适应性反应与非生物胁迫相结合的信号系统关键组分,也参与调控植物的生长发育,包括枝条和根系的生长以及叶片蒸腾作用等(Zhu, 2002)。植物抗旱的一种重要方式是通过ABA调节气孔运动。如图6所示,随着干旱胁迫程度的增强,桃实生苗叶片的ABA含量呈上升趋势,重度干旱胁迫下尤为显著。与正常条件相比,中度干旱胁迫下,清水处理的叶片ABA含量变化不大,0.04%钼酸铵处

理的叶片ABA含量稍有增加,是清水处理的1.17倍;重度干旱胁迫下,清水处理的叶片ABA含量明显增加,但0.04%钼酸铵处理的叶片ABA含量增幅更大,是清水处理的1.59倍,且差异显著。

2.7 钼对叶片LOS5/ABA3表达的影响

干旱胁迫促进植物体内ABA诱导基因的表达和气孔关闭以减少水分蒸腾。如图7所示,随着干旱胁迫程度的增强,钼辅因子硫化酶基因(LOS5/ABA3)的表达量显著升高。正常条件下(图7A),与清水处理0小时相比,清水处理6小时LOS5/ABA3的表达量达到最高水平,提高了0.90倍,0.04%钼酸铵处理6小时LOS5/ABA3的表达量达到最高水平,提高了1.07倍;中度干旱胁迫下(图7B),与清水处理0小时相比,清

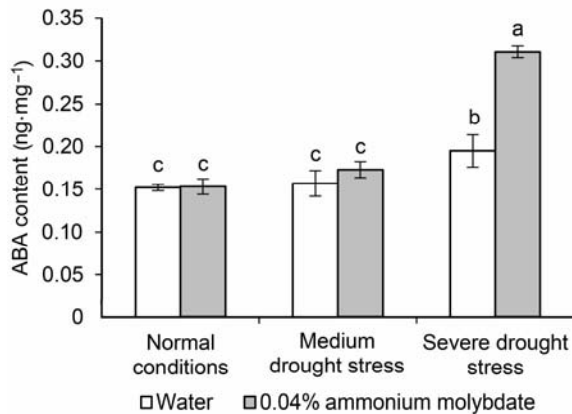


图6 不同干旱胁迫下钼酸铵处理的毛桃实生苗叶片ABA含量
不同小写字母表示各处理间差异达0.05显著水平。

Figure 6 ABA content of peach seedlings treated with ammonium molybdate under drought stress
Different lowercase letters above the bars indicate significant differences at 0.05 level.

水处理4小时 $LOS5/ABA3$ 的表达量达到最高水平, 提高了1.15倍, 0.04%钼酸铵处理4小时 $LOS5/ABA3$ 的表达量提高了4.15倍, 且在处理4–12小时期间保持上升趋势, 处理12小时达到最高水平, 提高了5.02倍; 重度干旱胁迫下(图7C), 与清水处理0小时相比, 清水处理4小时 $LOS5/ABA3$ 的表达量达到最高水平, 提高了2.17倍, 0.04%钼酸铵处理4小时 $LOS5/ABA3$ 的表达量提高了4.36倍, 且在处理4–12小时期间保持上升趋势, 处理12小时达到最高水平, 提高了7.86倍, 且差异显著。

2.8 讨论

钼作为植物体必需的微量元素, 能够调控植物的碳氮代谢及激素合成, 但钼只有结合钼辅因子后才能发挥其生物有效性。 $LOS5/ABA3$ 作为钼辅因子硫化酶的编码基因, 不仅参与调控AO的活性及激素合成, 还进一步调控了植物的抗氧化防御能力及其它抗性基因的表达, 是ABA生物合成、胁迫诱导基因表达和胁迫耐受性的关键调节因子(Xiong and Zhu, 2001)。植株敲除 $LOS5/ABA3$ 基因后对逆境胁迫的敏感性增强, 再次证实该基因与逆境胁迫有关(宋哲等, 2008)。本研究表明, 干旱胁迫下, 0.04%钼酸铵处理上调了

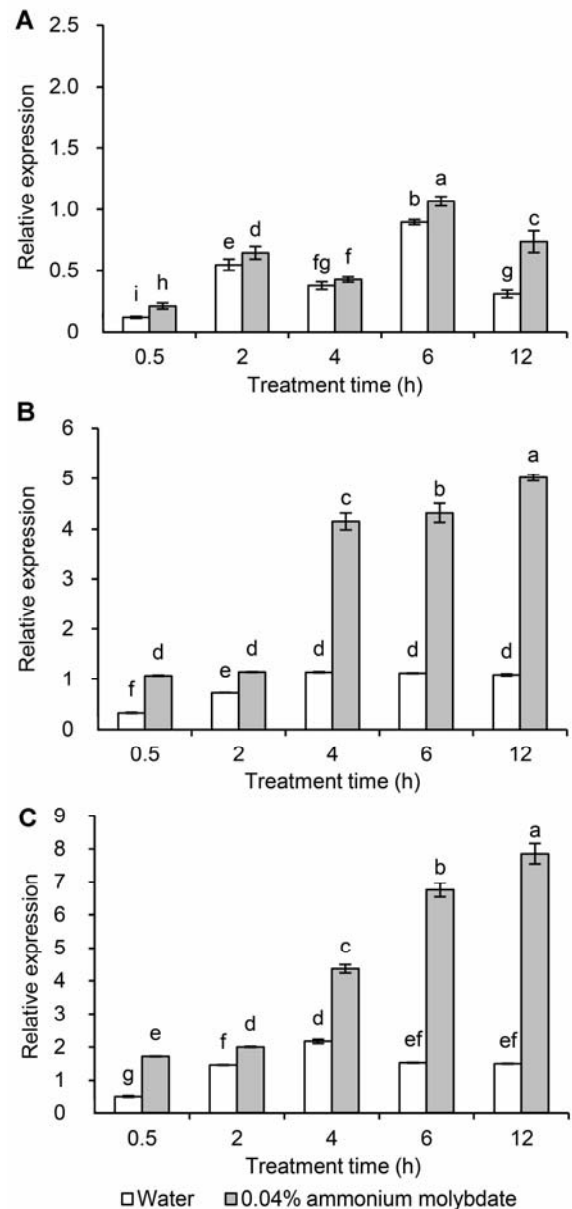


图7 不同干旱胁迫下的毛桃实生苗叶片 $LOS5/ABA3$ 的表达量
(A) 正常条件; (B) 中度干旱胁迫; (C) 重度干旱胁迫。不同小写字母表示各处理间差异达0.05显著水平

Figure 7 The expression of $LOS5/ABA3$ in leaves of peach seedlings under different drought stresses
(A) Normal conditions; (B) Medium drought stress; (C) Severe drought stress. Different lowercase letters above the bars indicate significant differences at 0.05 level.

$LOS5/ABA3$ 的表达水平, 且随着干旱胁迫程度的增强, 上调幅度更加显著。这可能是由于在干旱等非生

物胁迫下,植物启动了一系列复杂的信号网络调控抗旱基因及蛋白质的表达,进而影响植物体内各种代谢过程,最终增强了植物的抗逆性(武松伟等, 2016)。有研究表明, *LOS5/ABA3*能够提高脯氨酸合成酶基因(*P5CS1*)在转基因植物中的表达量(Yue et al., 2011; Li et al., 2013),通过间接调控脯氨酸合成增强植物的抗旱能力。我们进一步研究发现,干旱胁迫下0.04%钼酸铵处理提高了叶片中的脯氨酸含量,而脯氨酸含量升高可增强细胞渗透势,有利于植株在胁迫下维持细胞正常的生理活动,是植物对逆境条件的一种适应性反应。

植物的耐旱性包括胁迫信号的感知和随后的信号转导,导致各种生理和代谢反应被激活,其中一个重要策略是通过ABA行为调节气孔运动(Lu et al., 2013)。前人研究表明,干旱条件下,转基因大豆中*LOS5/ABA3*基因上调表达,AO活性增强导致ABA的积累显著增加,增强了大豆的抗旱性(Li et al., 2013)。本研究发现,钼酸铵处理的毛桃实生苗叶片蒸腾速率显著降低,水分利用效率和叶片含水量显著增加,离体叶片的失水速率显著降低,减少了植物对水分的消耗;随着干旱胁迫的增强,钼酸铵处理使叶片中ABA含量显著增加,ABA能够通过调节气孔关闭以及诱导编码参与细胞脱水耐受酶和其它蛋白质的基因表达,从而在调节植物的水分状态中起关键作用(Zhu, 2002)。ABA作为一种与逆境胁迫有关的植物激素,可调控多个逆境诱导基因的表达,进而调节多种生理过程,提高植物的抗逆能力(Xiong et al., 2001)。可见,钼作为植物体必需的微量元素,对调节毛桃实生苗脱落酸和脯氨酸等内源物质含量,以及提高植株的抗旱性具有重要意义。

干旱胁迫下,植物发生膜脂和脂质过氧化,产生丙二醛(MDA)、过氧化氢(H_2O_2)和超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)等有害产物。这些产物含量越高,细胞膜的通透性越大,对植物的损伤也越大。细胞膜受到损伤,会导致胞内溶质外漏从而引起电解质渗漏率升高。与对照相比,钼酸铵处理的毛桃实生苗电解质渗漏率显著降低,细胞膜损伤减小;叶片MDA含量显著降低,抗氧化酶CAT、POD和SOD活性显著升高,从而稳定了细胞膜透性,减轻了叶片损伤。前人研究表明,抗氧化酶活性受ABA诱导(Garbero et al., 2011; Ma et al., 2012)。因此,钼酸铵能够通过调控ABA的合成进而

影响植物的抗氧化防御系统,从而提高植株的抗旱能力。有研究表明,钼可使植株的叶绿素含量增加,从而影响其光合作用,钼浓度与叶绿素含量在一定范围内呈正相关(吴明才和肖昌珍, 1994)。本研究发现,干旱胁迫下,钼酸铵处理的桃实生苗叶片SPAD值和净光合速率与对照相比下降幅度减缓,这可能是由于钼酸铵处理使叶绿素含量增加,缓解了干旱胁迫对叶片的损伤,进而增强桃实生苗应对干旱胁迫的能力。

综上,干旱胁迫下,钼酸铵处理的毛桃实生苗中钼辅因子硫化酶编码基因的表达水平上调,叶片中脱落酸和脯氨酸含量及抗氧化酶活性升高,细胞膜氧化伤害得到缓解,叶片失水速率降低,进而减轻干旱胁迫对毛桃实生苗的伤害,从而增强植株的抗旱性。

参考文献

- 李洁, 列志阳, 薛立, 黄威龙, 许建新 (2016). 干旱胁迫对3种园林绿化树种幼苗生理指标的影响. 西南林业大学学报 36(2), 56–61.
- 邵惠芳, 陈征, 许嘉阳, 范艺宽, 黄五星, 张海枫, 许自成 (2016). 两种烟草幼苗叶片对不同强度干旱胁迫的生理响应比较. 植物生理学报 52, 1861–1871.
- 宋哲, 章家长, 褚庆全, 李召虎 (2008). 转*LOS5/ABA3*基因早熟禾(*P. pratensis* L.)的获得及抗旱和抗寒性分析. 中国科技论文在线. <http://www.paper.edu.cn/releasepaper/content/200805-82>.
- 苏金, 朱汝财 (2001). 渗透胁迫调节的转基因表达对植物抗旱耐盐性的影响. 植物学通报 18, 129–136.
- 孙学成 (2006). 钼提高冬小麦抗寒力的生理基础及分子机制. 博士论文. 武汉: 华中农业大学.
- 王华, 王飞, 陈登文, 丁勤 (2000). 低温胁迫对杏花SOD活性和膜脂过氧化的影响. 果树科学 17, 197–201.
- 王尉, 乐胜峰, 贺天雨, 杜宁, 林楠 (2018). 高效液相色谱法测定苜蓿中脱落酸的含量. 分析仪器 53(2), 53–57.
- 吴明才, 肖昌珍 (1994). 大豆钼素研究. 大豆科学 13, 245–251.
- 武松伟, 胡承孝, 谭启玲, 孙学成 (2016). 钼与植物抗寒性研究进展. 湖北农业科学 55, 13–16, 42.
- 张士功, 刘国栋, 刘更另 (2001). 植物营养与作物抗旱性. 植物学通报 18, 64–69, 63.
- 张志良, 瞿伟菁, 李小方 (2009). 植物生理学实验指导(第4版). 北京: 高等教育出版社. pp. 4–5.

- 赵世杰, 史国安, 董新纯 (2002). 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业科学技术出版社. pp. 164–165.
- Atwal PS, Scaglia F (2016). Molybdenum cofactor deficiency. *Mol Genet Metab* **117**, 1–4.
- Barker R, Dawe D, Tuong TP, Bhuiyan SI, Guerra LC (1998). The outlook for water resources in the Year 2020: challenges for research on water management in rice production. *International Rice Commission Newsletter* **49**, 7–21.
- Garbero M, Pedranzani H, Zirulnik F, Molina A, Pérez-Chaca MV, Vigliocco A, Abdala G (2011). Short-term cold stress in two cultivars of *Digitaria eriantha*: effects on stress-related hormones and antioxidant defense system. *Acta Physiol Plant* **33**, 497–507.
- Hanks RJ (1983). Yield and water-use relationships: an overview. In: Taylor HM, Jordan WR, Sinclair TR, eds. Limitations to Efficient Water Use in Crop Production. Madison: American Society of Agronomy. pp. 393–411.
- Hille R, Hall J, Basu P (2014). The mononuclear molybdenum enzymes. *Chem Rev* **114**, 3963–4038.
- Li YJ, Zhang JC, Zhang J, Hao L, Hua JP, Duan LS, Zhang MC, Li ZH (2013). Expression of an Arabidopsis molybdenum cofactor sulphurase gene in soybean enhances drought tolerance and increases yield under field conditions. *Plant Biotechnol J* **11**, 747–758.
- Lu Y, Li YJ, Zhang JC, Xiao YT, Yue YS, Duan LS, Zhang MC, Li ZH (2013). Overexpression of Arabidopsis molybdenum cofactor sulfurase gene confers drought tolerance in maize (*Zea mays* L.). *PLoS One* **8**, e52126.
- Ma FF, Lu R, Liu HY, Shi B, Zhang JH, Tan MP, Zhang AY, Jiang MY (2012). Nitric oxide-activated calcium/calmodulin-dependent protein kinase regulates the abscisic acid-induced antioxidant defence in maize. *J Exp Bot* **63**, 4835–4847.
- Mahajan S, Tuteja N (2005). Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Arch Biochem Biophys* **444**, 139–158.
- Patnaik D, Khurana P (2002). Wheat biotechnology: a minireview. *Electron J Biotechnol* **4**, 74–102.
- Sun XC, Hu CX, Tan QL, Liu JS, Liu HE (2009). Effects of molybdenum on expression of cold-responsive genes in abscisic acid (ABA)-dependent and ABA-independent pathways in winter wheat under low-temperature stress. *Ann Bot* **104**, 345–356.
- Wilkinson S, Davies WJ (2002). ABA-based chemical signaling: the co-ordination of responses to stress in plants. *Plant Cell Environ* **25**, 195–210.
- Wu SW, Hu CX, Tan QL, Nie ZJ, Sun XC (2014). Effects of molybdenum on water utilization, antioxidative defense system and osmotic-adjustment ability in winter wheat (*Triticum aestivum*) under drought stress. *Plant Physiol Biochem* **83**, 365–374.
- Xiong LM, Ishitani M, Lee H, Zhu JK (2001). The Arabidopsis *LOS5/ABA3* locus encodes a molybdenum cofactor sulfurase and modulates cold stress- and osmotic stress-responsive gene expression. *Plant Cell* **13**, 2063–2084.
- Xiong LM, Zhu JK (2001). Abiotic stress signal transduction in plants: molecular and genetic perspectives. *Physiol Plant* **112**, 152–166.
- Yue SY, Ming CZ, Zhang JC, Tian XL, Duan LS, Li ZH (2012). Overexpression of the *AtLOS5* gene increased abscisic acid level and drought tolerance in transgenic cotton. *J Exp Bot* **63**, 3741–3748.
- Yue YS, Zhang MC, Zhang JC, Duan LS, Li ZH (2011). Arabidopsis *LOS5/ABA3* overexpression in transgenic tobacco (*Nicotiana tabacum* cv. 'Xanthi-nc') results in enhanced drought tolerance. *Plant Sci* **181**, 405–411.
- Zhang M, Hu CX, Zhao XH, Tan QL, Sun XC, Cao AY, Cui M, Zhang Y (2012). Molybdenum improves antioxidant and osmotic-adjustment ability against salt stress in Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis*). *Plant Soil* **355**, 375–383.
- Zhu JK (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Biol* **53**, 247–273.

The Effect of Molybdenum on Drought Stress Response in Peach

Huaifeng Gao, Yafei Zhang, Guodong Wang, Xiwu Sun, Yue He, Futian Peng^{*}, Yuansong Xiao^{*}

State Key Laboratory of Crop Biology, College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University,
Tai'an 271018, China

Abstract Peach (*Amygdalus persica*) seedlings were used to analyze the effect of ammonium molybdate on the expression of molybdenum cofactor sulfurase gene (*LOS5/ABA3*), ABA content and physiological indexes related to drought resistance under drought stress. Water, chlorophyll and proline contents of peach seedling leaves were significantly higher with ammonium molybdate, preferably 0.04%, than control treatment, and electrolyte leakage was lower. Under drought stress, the expression of *LOS5/ABA3* in leaves treated with 0.04% ammonium molybdate was significantly increased and ABA content, water use efficiency, and net photosynthetic rate was higher than with control treatment. Transpiration rate was lower, antioxidant enzyme activity was higher, and malondialdehyde content was lower in leaves; the quality loss of leaves *in vitro* was reduced. Thus, ammonium molybdate treatment of peach seedlings can increase the content of ABA and proline, increase the activity of antioxidant enzymes, relieve cell membrane oxidation damage, decrease the rate of water loss of leaves, and alleviate drought stress damage by regulating the expression of drought-resistant genes, then increase the drought resistance of plants.

Key words peach seedlings, ammonium molybdate, drought stress, *LOS5/ABA3*, drought resistance

Gao HF, Zhang YF, Wang GD, Sun XW, He Y, Peng FT, Xiao YS (2019). The effect of molybdenum on drought stress response in peach. *Chin Bull Bot* **54**, 227–236.

^{*} Authors for correspondence. E-mail: pft@sdau.edu.cn; ysxiao@sdau.edu.cn

(责任编辑: 孙冬花)