

外源茉莉酸甲酯和水杨酸对盐胁迫下颠茄生理特性和次生代谢的影响

山雨思^{1,2}, 代欢欢^{1,2}, 何潇^{1,2}, 辛正琦^{1,2}, 吴能表^{1,2,*}

¹西南大学生命科学学院, 重庆400715

²三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆400715

摘要: 采用土培的方式, 以颠茄(*Atropa belladonna*)实生苗为试验材料, 外源茉莉酸甲酯(MeJA)和水杨酸(SA)作为调控物质, 研究外源MeJA和SA单独和复合施用对100 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫下颠茄幼苗生理特性、氮代谢及次生代谢的影响。结果表明: 与盐胁迫处理相比, MeJA、SA和MeJA+SA复合处理后, 颠茄叶片光合色素含量增多, 最大荧光(F_m)、最大光化学效率(F_v/F_m)、实际光化学量子产量(Y)、光合电子传递速率(ETR)、光化学淬灭系数(q_p)显著提高, 初始荧光(F_0)、非光化学淬灭系数(NPQ)显著降低, 脯氨酸、可溶性糖含量显著提高, 抗氧化酶(超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶)活性明显增强, 丙二醛含量显著降低, 硝态氮、可溶性蛋白、游离氨基酸含量和氮代谢关键酶(硝酸还原酶、谷氨酰胺合成酶、谷氨酸脱氢酶)的活性均显著升高, 次生代谢产物莨菪碱和东莨菪碱含量显著提升; 且以MeJA+SA复合处理对缓解盐胁迫对颠茄造成的伤害效果最好, 优于MeJA和SA单独处理。由此说明MeJA+SA复合处理更能提高颠茄幼苗对盐胁迫抗性, MeJA与SA在缓解颠茄幼苗盐胁迫中表现出积极的协同作用。

关键词: 颠茄; 盐胁迫; 茉莉酸甲酯; 水杨酸; 次生代谢

颠茄(*Atropa belladonna*)为茄科颠茄属多年生草本植物, 是一种经济价值较大的药用植物, 全草可入药, 是我国药典规定的唯一托品烷类生物碱(tropane alkaloids, TAs)药源植物, 为莨菪碱、东莨菪碱最主要的商业药源(国家药典委员会2010)。莨菪碱和东莨菪碱作为抗胆碱药物在临床上被广泛应用, 主要可用于麻醉、镇痛、抗晕动症、治疗帕金森症、治疗农药中毒、改善微循环、戒毒脱瘾等(Facchini 2001), 但其在颠茄中含量极低。因此, 提高颠茄次生代谢产物莨菪碱和东莨菪碱的合成具有十分重要的医药应用价值。

土壤盐渍化是当今威胁生态安全、制约农业生产的全球性问题。盐胁迫是植物生长时面临的常见逆境, 土壤中盐分过多会对植物产生一定伤害, 直观表现为植物发育迟缓, 生长受抑制, 生物产量降低甚至是植株死亡。盐胁迫下植物体内的生理代谢进程会受到不同程度的影响(程然然2014)。

茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)和水杨酸(salicylic acid, SA)是植物体内广泛存在的两种内源激素和信号分子, 均能够参与植物在生物和非生物胁迫条件下的抗逆反应。研究表明, MeJA能够通过提高盐胁迫下黄芩(*Scutellaria baicalensis*)

种子的发芽势、发芽率, 改善盐胁迫下黄芩幼苗叶片的多种生理生化指标, 缓解盐胁迫对黄芩种子萌发和幼苗的伤害(李小玲和华智锐2016)。扈雪欢等(2017)研究表明, 适宜浓度的外源SA能通过提高盐胁迫下颠茄的光合作用、抗氧化酶活性、渗透调节物质含量等生理指标, 缓解盐胁迫对其造成的伤害, 并通过增强氮代谢进程, 促进颠茄莨菪碱和东莨菪碱的合成与积累。茉莉酸类物质和SA在提高植物抗逆性方面具有相同或相似的作用, 但两者之间的相互作用关系比较复杂。如在调控一些抗逆基因表达方面, MeJA和SA存在着单向的、相互对立的和相互协同的3种不同作用方式(Salzman等2005)。因此这两种植物激素在信号通路间的相互作用一直是研究的热点。

本试验从生理生化和次生代谢两个方面来探究MeJA和SA单独和组合施用对盐胁迫下颠茄的影响, 以探讨两者在颠茄中抗盐胁迫的作用关系, 为提高颠茄耐盐能力和次生代谢产物含量提供一定的理论依据。

收稿 2019-05-14 修定 2019-08-24

资助 国家自然科学基金(30500041)。

* 通讯作者(wunb@swu.edu.cn)。

1 材料与方法

1.1 材料

颠茄(*Atropa belladonna* L.)种子购自湖南永州,经西南大学生命科学学院吴能表教授鉴定为颠茄。挑选颗粒饱满的颠茄种子浸泡于 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的赤霉素溶液中,2 d后取出,然后用蒸馏水反复漂洗干净,置于湿润滤纸上萌发。待种子萌发后移栽到盛有混匀介质(泥炭土、珍珠岩、蛭石体积比为3:1:1)的营养盆(12 cm×13 cm)中,每盆3株,共100盆。幼苗生长条件的室内温度为昼 25°C /夜 20°C ,光强为 $62.5\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,光照时间为 $12\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$,相对湿度为60%~70%。

1.2 试验设计

待颠茄幼苗长至10 cm左右开始进行试验,以稀释10倍的MS营养液为溶剂,配制成 $100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl溶液浇灌颠茄植株以模拟盐胁迫环境。MeJA、SA处理采用每天对叶片喷施MeJA、SA溶液(内含体积分数为0.02% Tween-20)的方式,对照(CK)和仅施NaCl组喷施等量蒸馏水,具体为设5个处理组:

(1) CK ($0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl+ $0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MeJA+ $0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ SA);

(2) T1 ($100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl+ $0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MeJA+ $0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ SA);

(3) T2 ($100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl+ $200\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MeJA+ $0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ SA);

(4) T3 ($100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl+ $0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MeJA+ $0.75\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ SA);

(5) T4 ($100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl+ $200\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MeJA+ $0.75\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ SA)。

每个处理重复3次,处理12 d后进行各项指标的测定。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 光合特性的测定

叶绿素含量的测定参照张宪政(1986)的方法;叶绿素荧光参数测定采用叶绿素荧光仪PAM-2100(WALZ,德国)预先编好的测定程序Run 3进行,将颠茄植株暗处理2 h,然后选择长势一致且较为平展的叶片(避开主叶脉)开始进行测定,重复测定3次。

1.3.2 逆境生理指标的测定

丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量的测定采用硫代巴比妥酸(thiobarbituric thiobarbituric acid, TBA)检测法(赵世杰等1994);脯氨酸含量的测定参照高俊凤(2006)的方法;可溶性糖含量的测定参照张志良等(2009)的苯酚法;超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性的测定参照Giannopolitis和Ries (1977)的方法,通过观察氮蓝四唑(nitro-blue tetrazolium, NBT)的光还原抑制程度,将能够抑制反应酶量的50%定义为一个SOD活力单位(U);过氧化物酶(peroxidase, POD)活性采用愈创木酚法测定(Omran 1980),将每分钟 A_{470} 值升高0.01定义为一个酶活力单位(U);过氧化氢酶(catalase, CAT)活性的测定采用上海优选生物科技有限公司生产的试剂盒,将每克组织在反应体系中每分钟催化1 nmol H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位(U)。

1.3.3 主要含氮物质含量的测定

硝态氮含量测定参照汤绍虎和罗充(2012)的SA法,游离氨基酸含量的测定参照李合生(2000)的茚三酮溶液显色法,可溶性蛋白含量的测定参照高俊凤(2006)的考马斯亮蓝法。

1.3.4 氮代谢关键酶活性测定

采用汤绍虎和罗充(2012)的方法测定谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS)活性,采用上海优选生物科技有限公司生产的试剂盒测定硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)活性,采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定谷氨酸脱氢酶(glutamate dehydrogenase, GDH)活性。

1.3.5 生物碱的提取与测定

颠茄叶片中生物碱提取与测定参照Wang等(2011)的方法。颠茄叶片烘干后研磨成粉,用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)测定莨菪碱、东莨菪碱含量,色谱仪为日本岛津(Shimadzu) LC-60A高效液相色谱仪(泵: LC-20AD; 控制器: SPD-20A; 柱温箱: CTO-10AS vp),色谱柱为Ultimate XB-C18液相色谱柱($5\text{ }\mu\text{m}$, $4.6\times 250\text{ mm}$),流动相为甲醇:乙酸铵缓冲液($20\text{ mmol}\text{ L}^{-1}$ 乙酸铵和体积分数为0.1%甲酸再按体积比2:8混和,氨水调pH至4.0),检测波长226 nm,流速 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温 40°C ,进样量 $10\text{ }\mu\text{L}$ 。

1.4 数据分析

采用Microsoft Excel 2010和SPSS 22.0对数据进行统计与分析, 结果均以平均值±标准偏差($\bar{x}\pm s$)表示, 组间比较采用方差检验, 差异显著性水平为0.05; 采用OriginPro 8.0制图。

2 实验结果

2.1 外源MeJA和SA对盐胁迫下颠茄幼苗叶片光合色素含量的影响

植物叶片中的光合色素含量与植物的光合作用有着密切的关系。从表1可以看出, 盐胁迫(T1)处理使颠茄叶片中叶绿素 a 、叶绿素 b 、总叶绿素及类胡萝卜素含量均显著降低, 与对照(CK)相比分别降低了16.57%、41.87%、37.94%和46.18%。外源MeJA (T2)、SA (T3)以及MeJA+SA (T4)处理后光合色素含量均有明显的提高, 其中以MeJA+SA处理提高的幅度最大, 其叶绿素 a 、叶绿素 b 、总叶绿素及类胡萝卜素的含量较盐胁迫处理分别提高了55.74%、46.33%、66.89%和65.96%; 单独MeJA与SA处理的效果相似, 无显著差异。以上结果表明, 外源MeJA和SA均有助于促进叶绿素和类胡萝卜素的合成, 有效缓解盐胁迫对光合膜的破坏, 尤其以MeJA+SA复合处理对盐胁迫的缓解效果更明显。

2.2 外源MeJA和SA对盐胁迫下颠茄幼苗叶片叶绿素荧光参数的影响

2.2.1 对 F_0 、 F_m 、 F_v/F_m 的影响

叶绿素荧光参数可以比较灵敏地反映出光合作用的变化情况, 被称为研究植物光合功能快速的无损伤的有效探针(张守仁1999)。初始荧光(F_0)

表示光系统II (photosystem II, PSII)反应中心处于完全开放时的荧光产量。由表2可知, 盐胁迫处理下, 颠茄叶片的 F_0 显著升高, 为对照的1.61倍; MeJA、SA和MeJA+SA复合处理后均有缓解作用, 较盐胁迫处理分别降低了13.38%、16.20%、30.05%。最大荧光(F_m)表示PSII反应中心处于完全关闭状态下的荧光产量, 主要反映PSII的电子传递情况。与对照相比, 盐胁迫处理下的 F_m 显著降低了46.64%, 随着外源MeJA、SA的添加, F_m 均有显著的提高, 其中以MeJA和MeJA+SA复合处理的提高作用更明显, 与对照处理组无显著差异(表2)。 F_v/F_m 代表PSII的最大光化学效率, 其参数的降低通常表明植物受到了光抑制。由表2可知, 盐胁迫处理下的 F_v/F_m 显著降低, 较对照降低了25.78%, 表明颠茄幼苗受到了光抑制; 在MeJA、SA及MeJA+SA复合处理下, F_v/F_m 均有显著提高, 其中复合处理组提高幅度最大, MeJA组、SA组次之, 三组分别为胁迫组的1.27、1.16、1.15倍。说明外源MeJA、SA及其复合处理均可减轻盐胁迫对PSII反应中心的损伤, 缓解光抑制现象, 且以复合处理效果更好。

2.2.2 对 Y 、ETR、 q_p 、NPQ的影响

Y 表示实际光化学量子产量, 反映了PSII反应中心部分关闭情况下的实际PSII光能捕获效率, 与碳同化反应的程度密切相关。如表3所示, 在盐胁迫下, 相比对照组 Y 显著降低, 说明盐胁迫阻止颠茄同化力(NADPH、ATP)的形成, 从而影响对碳的固定和同化。随着MeJA、SA的添加, Y 显著升高, MeJA组、SA组、MeJA+SA复合组较盐胁迫组分别升高了12.32%、10.02%、22.76%, 说明MeJA和SA可以减轻盐胁迫对颠茄同化力形成的抑制作

表1 外源MeJA和SA对盐胁迫下颠茄幼苗叶片光合色素含量的影响

Table 1 Effects of exogenous MeJA and SA on photosynthetic pigment contents of *A. belladonna* leaves under NaCl stress

处理	mg·g ⁻¹ (FW)			
	叶绿素 a 含量	叶绿素 b 含量	总叶绿素含量	类胡萝卜素含量
CK	1.159±0.101 ^a	0.609±0.060 ^a	2.127±0.065 ^a	0.262±0.064 ^a
T1	0.967±0.078 ^c	0.354±0.095 ^c	1.320±0.103 ^d	0.141±0.060 ^c
T2	1.384±0.149 ^b	0.473±0.089 ^{abc}	1.857±0.070 ^b	0.187±0.047 ^{abc}
T3	1.366±0.042 ^b	0.439±0.010 ^{bc}	1.804±0.010 ^b	0.176±0.006 ^{bc}
T4	1.506±0.064 ^a	0.518±0.022 ^{ab}	2.203±0.150 ^c	0.234±0.054 ^{ab}

同一指标数据用不同小写字母标识表示差异显著($P<0.05$), 下表同。

表2 外源MeJA和SA对盐胁迫下颠茄幼苗叶片 F_0 、 F_m 、 F_v/F_m 的影响

Table 2 Effects of exogenous MeJA and SA on F_0 , F_m and F_v/F_m of *A. belladonna* leaves under NaCl stress

处理	F_0	F_m	F_v/F_m
CK	0.264±0.010 ^c	2.412±0.150 ^a	0.838±0.044 ^a
T1	0.426±0.041 ^a	1.287±0.154 ^c	0.622±0.029 ^c
T2	0.369±0.037 ^{ab}	2.101±0.176 ^{ab}	0.722±0.021 ^b
T3	0.357±0.036 ^{ab}	2.004±0.243 ^b	0.715±0.028 ^b
T4	0.298±0.062 ^{bc}	2.246±0.164 ^{ab}	0.789±0.044 ^a

用,且以MeJA+SA复合处理减轻效果最为显著,单独添加MeJA和SA处理之间差异不显著。ETR表示光合电子传递速率,盐胁迫下,颠茄叶片的ETR与对照组相比显著降低了18.18%,表明盐胁迫对颠茄叶片光合作用的光合电子传递速率抑制作用显著;经过不同的处理后,ETR均有所提高,MeJA、SA、MeJA+SA处理后分别为盐胁迫下的1.08、

1.03、1.12倍(表3)。 q_p 表示光化学淬灭系数, NPQ表示非光化学淬灭系数。如表3所示,盐胁迫处理下, q_p 显著降低, NPQ显著升高,说明盐胁迫抑制了颠茄叶片PSII反应中心的活性,使其捕获的光能更多用于热耗散。在不同MeJA和SA处理后, q_p 显著升高, NPQ显著降低,说明外源添加MeJA、SA均能缓解盐胁迫导致的PSII反应中心活性降低现象,减少热耗散的份额,且以MeJA+SA复合处理效果最佳,MeJA与SA单独处理之间无显著差异。

2.3 对脯氨酸和可溶性糖含量的影响

脯氨酸作为植物体内一种重要的渗透调节物质,其积累通常被认为是植物抗逆性提高的表现。由图1-A可知,在盐胁迫条件下,脯氨酸含量显著增加,说明颠茄幼苗通过调节体内脯氨酸含量的升高以更好地适应盐胁迫逆境。在MeJA、SA以及MeJA+SA处理后,颠茄幼苗的脯氨酸含量进一步提高,较盐胁迫处理分别提高了30.96%、27.33%、

表3 外源MeJA和SA对盐胁迫下颠茄幼苗叶片 Y 、ETR、 q_p 、NPQ的影响

Table 3 Effects of exogenous MeJA and SA on Y , ETR, q_p and NPQ of *A. belladonna* leaves under NaCl stress

处理	Y	ETR	q_p	NPQ
CK	0.615±0.015 ^a	44.473±4.626 ^a	0.591±0.026 ^a	0.201±0.035 ^c
T1	0.479±0.008 ^c	36.386±1.768 ^c	0.408±0.020 ^c	0.399±0.036 ^a
T2	0.538±0.013 ^b	39.331±1.192 ^{bc}	0.455±0.030 ^b	0.306±0.023 ^b
T3	0.527±0.032 ^b	37.551±1.240 ^{bc}	0.462±0.003 ^b	0.313±0.015 ^b
T4	0.588±0.044 ^a	40.817±3.529 ^{ab}	0.561±0.021 ^a	0.250±0.036 ^c

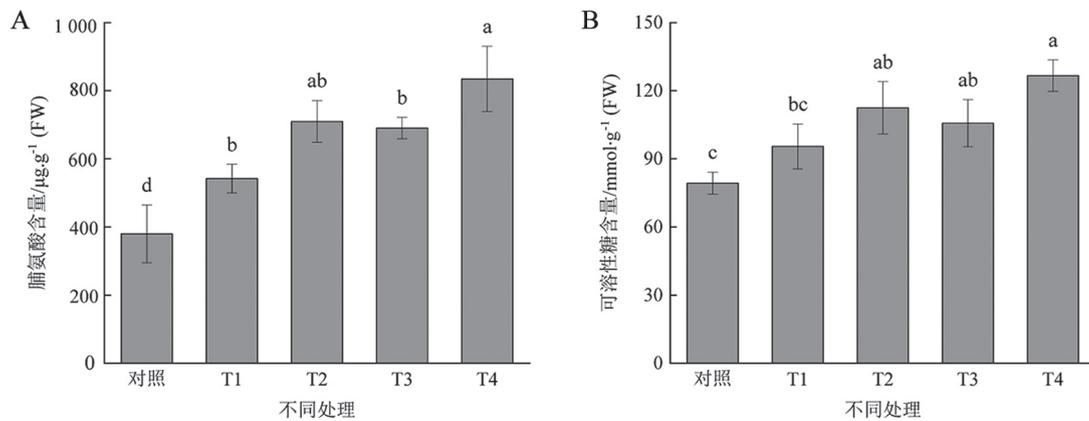


图1 外源MeJA和SA对盐胁迫下颠茄幼苗叶片脯氨酸(A)和可溶性糖(B)含量的影响
Fig.1 Effects of exogenous MeJA and SA on the contents of proline (A) and soluble sugar (B) of *A. belladonna* leaves under NaCl stress

柱形上用不同小写字母标识表示差异显著($P < 0.05$), 下图同。

54.02%, 起到缓解盐害的作用, 其中MeJA+SA复合处理的缓解效应最为明显, 单独MeJA处理次之, 然后是单独SA处理。

可溶性糖是植物体内重要的渗透调节剂。由图1-B可知, 盐胁迫处理使颠茄幼苗可溶性糖含量增加, 为对照组的1.20倍; 外源添加MeJA、SA以及二者复合处理后, 可溶性糖含量进一步提高, 分别为对照的1.42、1.33、1.60倍, 且以二者复合处理的提高作用更好, 单独MeJA和SA处理的效果差异不显著。由此可以说明外源添加MeJA和SA后可增强颠茄在盐胁迫条件下的渗透调节能力, 有利于提高颠茄的抗盐胁迫能力。

2.4 对抗氧化酶活性和MDA含量的影响

图2-A~C所示为颠茄幼苗叶片中SOD、POD和CAT三种抗氧化酶活性的变化趋势, 三者的变化

基本一致, 均为先降后升的趋势。盐胁迫处理后, SOD活性与对照相比显著降低了53.17%, 经MeJA、SA及MeJA+SA复合处理后, SOD活性均显著提高, 较盐胁迫处理分别提高了48.62%、53.97%、78.99%, 说明MeJA+SA复合处理效果最好, SA处理次之, 然后是MeJA处理(图2-A)。盐胁迫处理后, POD活性显著降低, 经MeJA+SA复合处理后其活性相比盐胁迫处理显著提高了62.29%, MeJA和SA单独处理均不显著(图2-B)。盐胁迫处理下, 与对照相比, 颠茄幼苗叶片的CAT活性显著降低了46.57%, 外源MeJA、SA单独和复合处理后均能使盐胁迫下颠茄幼苗CAT活性有不同程度的升高, 较盐胁迫处理分别显著提高了41.03%、61.54%、71.79%, 由此可见二者复合处理和单独SA处理的提高效果要好于单独MeJA处理(图2-C)。

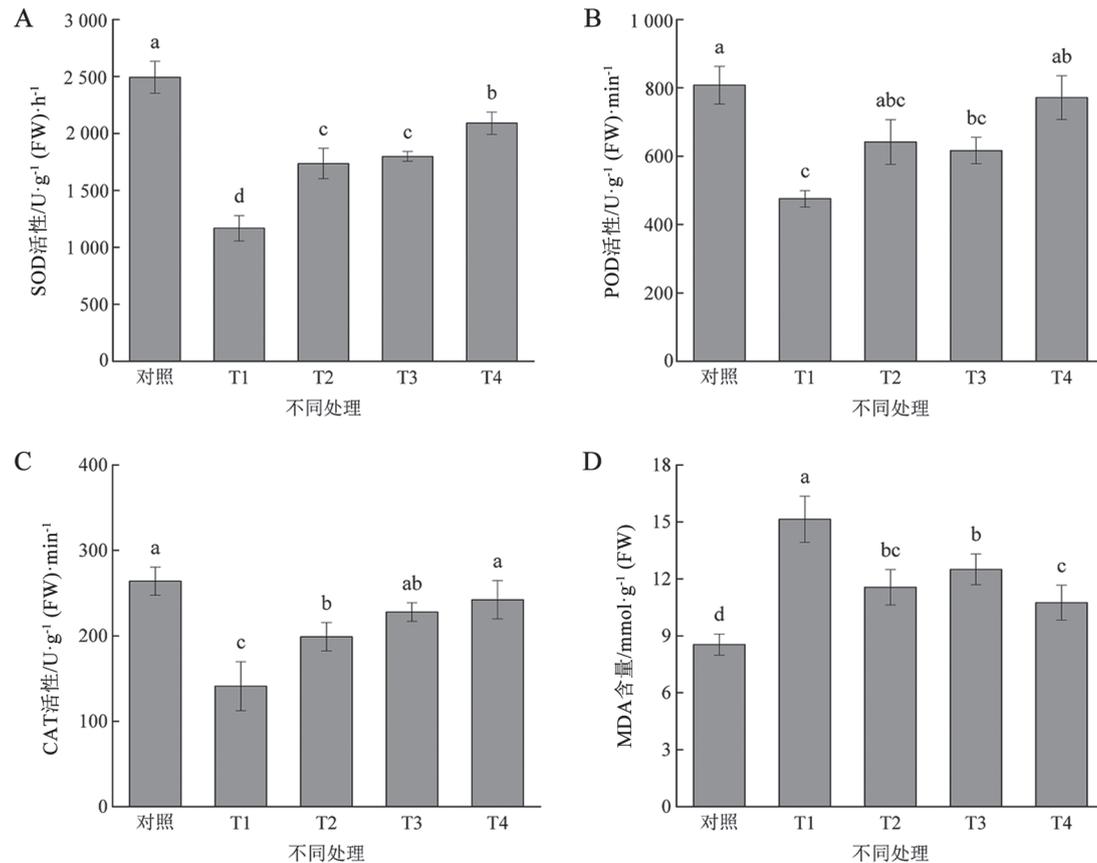


图2 外源MeJA和SA对盐胁迫下颠茄幼苗叶片抗氧化酶活性(A~C)和MDA含量(D)的影响
Fig.2 Effects of exogenous MeJA and SA on antioxidant enzyme activities (A~C) and MDA content (D) of *A. belladonna* leaves under NaCl stress

MDA是细胞膜脂过氧化产物,常作为衡量细胞质膜透性的指标以反映植物逆境胁迫程度(Deng等2012)。从图2-D中可知,与对照相比,盐胁迫处理下MDA含量显著升高了77.36%,说明盐胁迫诱导MDA的积累,促进膜脂过氧化对颠茄幼苗的伤害。与盐胁迫处理相比,外源MeJA、SA单独和复合处理均能使颠茄幼苗MDA含量有不同程度的降低,其中以复合处理效果最明显:复合处理下MDA含量较盐胁迫处理显著降低了29.04%;单独MeJA处理效果也较好,与复合处理之间差异不明显;单独MeJA处理较T1显著降低了23.70%。

2.5 对氮代谢的影响

2.5.1 硝态氮、游离氨基酸和可溶性蛋白含量

硝态氮(NO_3^- -N)、游离氨基酸、可溶性蛋白含量是氮代谢的重要指标,直接反映了氮代谢的基本进程。由图3-A可以看出,盐胁迫处理下硝态

氮含量显著降低,仅为对照的35.86%;外源添加MeJA、SA以及MeJA+SA后,硝态氮含量均显著增加,分别是盐胁迫下硝态氮含量的2.20、1.63、2.49倍,表明外源添加MeJA和SA后,均可提高盐胁迫下颠茄幼苗的硝态氮含量,且以单独添加MeJA和MeJA+SA复合处理效果较好,两种处理间无显著差异。在盐胁迫处理下,游离氨基酸含量较对照显著降低了29.81%;添加MeJA和SA后,游离氨基酸含量均显著提高,与盐胁迫处理组相比,添加MeJA、SA以及MeJA+SA分别提高了11.49%、20.23%、21.63%(图3-B),由此可以看出SA处理和MeJA+SA复合处理对于盐胁迫下颠茄游离氨基酸含量的提高作用更好,MeJA单独处理次之。由图3-C可知,盐胁迫条件下,可溶性蛋白含量显著降低,与对照相比降低了17.71%;但是添加MeJA和SA以及二者复合处理后,可溶性蛋白含量有所提

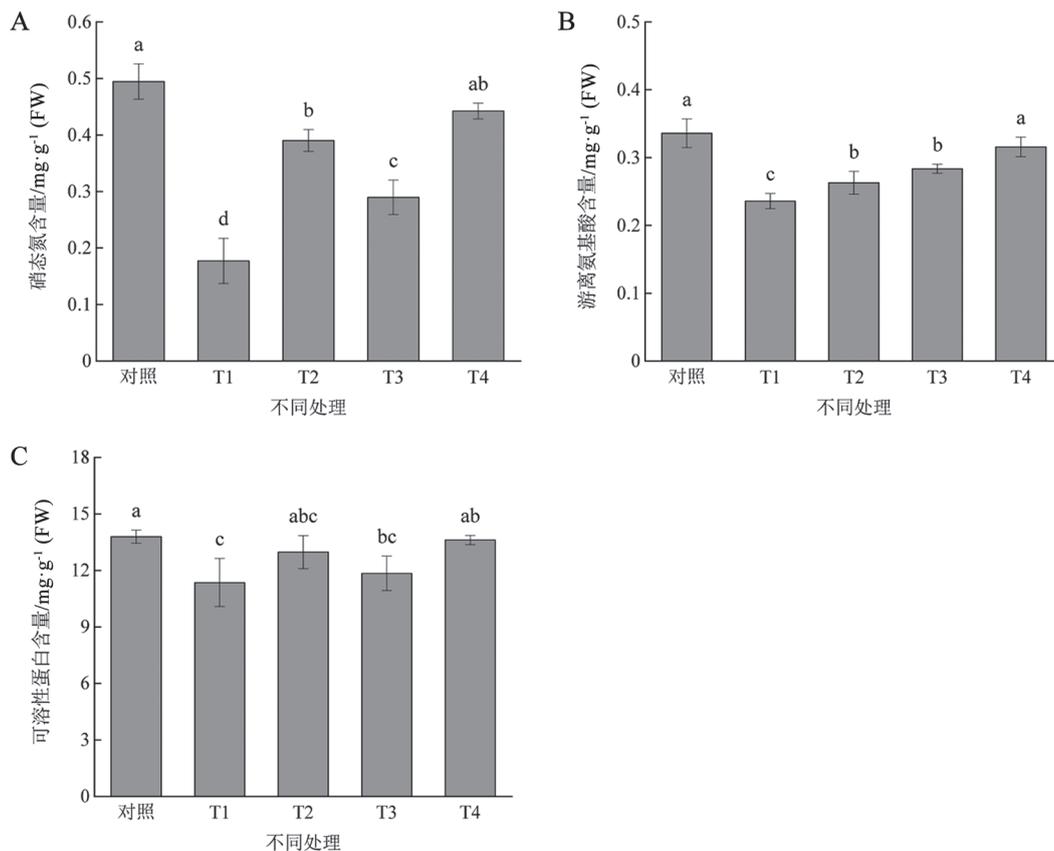


图3 外源MeJA和SA对盐胁迫下颠茄幼苗叶片硝态氮(A)、游离氨基酸(B)和可溶性蛋白(C)含量的影响
Fig.3 Effects of exogenous MeJA and SA on the contents of nitrate nitrogen (A), free amino acid (B) and soluble protein (C) of *A. belladonna* leaves under NaCl stress

高, 尤其是二者复合处理的提高作用更显著, 其可溶性蛋白含量较盐胁迫处理提高了19.95%, MeJA和SA单独处理差异不显著。

2.5.2 氮代谢关键酶活性

NR、GS和GDH高低能够反映植物体内的氮代谢进程。由表4可知, 盐胁迫处理下, 颠茄幼苗叶片NR、GS、GDH活性较对照组分别显著降低了56.62%、17.89%、46.54%; 与盐胁迫处理相比, 外源MeJA、SA及二者复合处理对NR、GS、GDH活性均有不同程度的提高, 其中二者复合处理的提高幅度最显著, 分别提高了75.89%、17.99%、75.51%。以上结果表明, 盐胁迫抑制了颠茄叶片内NR、GS和GDH活性, 不利于颠茄氮代谢的进行, 而外源添加MeJA或SA均能够显著提高这三种酶的活性, 缓解盐胁迫对颠茄氮代谢的抑制作用, 尤其是二者复合处理的缓解效果更明显。

2.6 托品烷类生物碱含量

莨菪碱和东莨菪碱是托品烷类生物碱中药用价值最高的两种成分。如表5所示, 盐胁迫处理后, 颠茄幼苗中的莨菪碱、东莨菪碱含量较对照组分别显著降低了30.37%、55.26%, 说明盐胁迫处理抑制了颠茄幼苗托品烷类生物碱的积累。外源添加MeJA、SA以及二者复合处理后, 莨菪碱、东莨菪碱含量均有一定程度的提高。单独添加MeJA后, 莨菪碱、东莨菪碱含量分别为盐胁迫下的1.21和1.18倍; 单独添加SA后, 莨菪碱、东莨菪碱含量分别为盐胁迫下的1.14和1.10倍; 二者复合处理后, 莨菪碱、东莨菪碱含量显著提高, 分别为盐胁迫下的1.27和1.45倍。以上结果表明, 盐胁迫不利于颠茄幼苗叶片对莨菪碱和东莨菪碱的积累, 而外源添加MeJA、SA

都可以有效解除盐胁迫对托品烷类生物碱积累的限制, 并且二者复合处理的解除效果最好。

3 讨论

3.1 外源MeJA和SA对盐胁迫下颠茄幼苗叶片光合特性的影响

研究表明, 盐胁迫会诱发膜脂过氧化, 破坏类囊体膜的超微结构, 从而引起叶绿体的解体, 导致光合色素含量的下降(常青山等2016)。本研究发现, 盐胁迫下, 颠茄叶片中的光合色素含量降低, 而施用外源MeJA和SA可以缓解这种伤害, 提高颠茄叶片中的光合色素含量, 这与李小玲和华智锐(2016)以及王立红等(2017)的研究结果一致。且MeJA+SA复合处理的缓解效果要优于二者单独处理, 说明适宜浓度的MeJA和SA在提高叶绿素含量上表现出协同效应。由此表明MeJA和SA二者复合处理可以有效延缓盐胁迫下光合色素的降解, 提高光能转化效率, 可能与二者复合处理缓解了膜脂的过氧化程度有关。

光合作用的强弱对植物的生长、产量以及抗逆性都具有十分重要的影响(张春平等2014), 植物体进行光合作用受到伤害的最初部位是与PSII紧密联系的, 而逆境胁迫往往会导致叶绿体光合机构的破坏, 降低PSII原初光能转换效率, 抑制PSII潜在活性, 导致PSII功能下降(Lu和Zhang 1999)。付晴晴等(2017)在葡萄(*Vitis vinifera*)中的研究发现, NaCl胁迫使耐盐性较弱的葡萄株系叶片光化学效率下降, 加剧光合电子传递的抑制。本试验中, 当颠茄幼苗受到盐胁迫时, F_m 、 F_v/F_m 、ETR、 Y 、 q_p 均显著下降, F_0 、NPQ显著升高, 说明盐胁迫

表4 外源MeJA和SA对盐胁迫下颠茄幼苗叶片氮代谢关键酶活性的影响

Table 4 Effects of exogenous MeJA and SA on the key enzyme activities of nitrogen metabolism of *A. belladonna* leaves under NaCl stress

处理	NR活性/ $\mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{h}^{-1}$	GS活性/ $\text{OD}_{340}\cdot\text{mg}^{-1}(\text{蛋白})\cdot\text{h}^{-1}$	GDH活性/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{min}^{-1}$
CK	3.824±0.367 ^a	1.381±0.029 ^a	0.924±0.127 ^a
T1	1.659±0.348 ^d	1.134±0.030 ^c	0.494±0.025 ^c
T2	2.282±0.089 ^c	1.212±0.024 ^b	0.681±0.024 ^b
T3	2.176±0.108 ^c	1.224±0.038 ^b	0.721±0.049 ^b
T4	2.918±0.270 ^b	1.338±0.034 ^a	0.867±0.019 ^a

表5 外源MeJA和SA对盐胁迫下颠茄幼苗叶片托品烷类生物碱含量的影响

Table 5 Effects of exogenous MeJA and SA on the contents of tropane alkaloids of *A. belladonna* leaves under NaCl stress

处理	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)	
	莨菪碱含量	东莨菪碱含量
CK	658.140±64.446 ^a	214.057±36.382 ^a
T1	458.293±95.070 ^c	95.759±20.195 ^c
T2	552.956±28.732 ^{bc}	113.418±31.127 ^{bc}
T3	522.240±35.333 ^{bc}	104.938±15.246 ^{bc}
T4	581.478±80.335 ^{ab}	138.557±24.776 ^b

使颠茄受到了光抑制, PSII遭受了破坏, 光合电子传递受阻, 光能转化效率降低。外源添加MeJA、SA以及二者复合处理后, 以上结果均有不同程度的升高和降低。类似的结果同样出现在常青山等(2016)和刘建新等(2009)的研究中。由此表明外源MeJA和SA能够缓解盐胁迫导致的光抑制现象, 将捕获的光能更多地用于光化学转化, 使其吸收的光能不再大量以热能形式耗散, 提高光能转化效率以应对盐胁迫。

综上, 外源MeJA和SA处理均能够提高盐胁迫下光合色素的含量, 提高光能的传递与吸收能力, 减轻盐胁迫对PSII反应中心的损伤, 降低激发能的非光化学热耗散, 从而增强光合作用, 且以MeJA+SA处理效果最佳, 单独MeJA处理次之, 然后是单独SA处理。

3.2 外源MeJA和SA对盐胁迫下颠茄幼苗叶片逆境生理特性的影响

渗透调节是植物适应盐胁迫的基本特征之一, 在盐胁迫下植物细胞通过积累脯氨酸、可溶性糖、无机离子等来调节细胞内的渗透势, 维持水分平衡, 保护细胞内代谢所需的酶活性, 对细胞的生命物质和生物膜起到保护作用(杨志莹等2011)。盐胁迫下, 银杏(*Ginkgo biloba*)可通过积累渗透调节物质可溶性蛋白、脯氨酸、可溶性糖进行渗透调节以抵御NaCl胁迫(孙聪聪等2017)。本试验中, 盐胁迫下, 外源添加MeJA和SA后, 叶片脯氨酸和可溶性糖含量比对照增加更多, 且MeJA+SA复合处理更能显著提高脯氨酸和可溶性糖含量。至于MeJA和SA处理后更能促进这两种渗透物质含量

快速增加的可能原因, 是这两种物质可能作为颠茄的盐胁迫逆境信号, 快速启动相应的逆境应激机制并能促进不同的渗透物质的合成, 使得颠茄幼苗叶片脯氨酸和可溶性糖快速大量积累, 从而降低细胞渗透势, 提高原生质胶体的稳定性, 缓解盐胁迫引起的水分胁迫, 这与宿越等(2009)在番茄(*Solanum lycopersicum*)盐胁迫下经SA处理后的结果一致。在本试验中也发现, 单独MeJA处理效果要优于单独SA处理, 而MeJA+SA复合处理的效果最佳, 这有可能是在植物体内, MeJA和SA有着两种不同的调节途径, 各自可以通过自己的信号通路来提高颠茄对盐胁迫的抗性, 但在MeJA+SA复合处理后, MeJA和SA如何调控颠茄的耐盐性和互作机制还需要深入研究。

SOD、POD、CAT是植物体内活性氧清除系统的重要成员。这几种酶相互协同作用, 共同调节植物体内活性氧的平衡。马婷等研究发现, 一定浓度的盐胁迫可诱导黄花补血草(*Limonium aureum*)幼苗叶片中抗氧化酶活性增强, 提高活性氧的清除力, 从而缓解盐胁迫对植物造成的氧化损伤(马婷等2016)。而在本试验中, 盐胁迫下颠茄叶片SOD、POD、CAT活性均显著降低; 外源施用MeJA、SA后, SOD、POD、CAT活性均有所提高; 当MeJA+SA复合处理后, SOD、POD和CAT活性提高效果更为明显, 能进一步清除过多的超氧阴离子和 H_2O_2 积累, 降低活性氧水平, 减轻对细胞的伤害。这与耶兴元(2015)发现外源MeJA处理能提高猕猴桃(*Actinidia chinensis*)组培苗高温胁迫下的多种抗氧化酶的活性结果一致。SA作为逆境信号物质, 能够诱导植物产生抗盐性状, 如诱导叶片气孔的关闭、降低叶片的蒸腾强度、提高抗氧化酶的活性、降低质膜的过氧化水平等, 进而改善细胞的代谢, 增强对盐胁迫的适应能力(张春平等2010)。因此在盐胁迫条件下, 经过MeJA+SA复合处理后, 可能从不同的信号途径来提高颠茄的抗氧化酶活性, 更能及时有效地清除细胞内积累的活性氧化物质, 降低盐胁迫对叶片的氧化伤害, 提高颠茄对盐胁迫的抗性。但是MeJA和SA如何具体影响颠茄幼苗叶片抗氧化能力的生理和分子机制还需要深入研究。

MDA的含量直接反映了植物在逆境胁迫下植物细胞内膜结构的伤害程度(刘训财等2009)。在本试验中, 颠茄幼苗的MDA含量在盐胁迫处理下显著升高, 说明细胞膜结构受到一定程度的损伤。外源添加MeJA和SA后, MDA含量明显降低, 尤其以二者复合处理效果更优, 说明MeJA和SA可通过降低MDA含量来缓解颠茄叶肉细胞膜受到的伤害, 有效保护细胞膜, 维护膜结构稳定性, 减轻膜脂过氧化程度。

综上, 外源MeJA、SA以及二者复合处理可以通过提高盐胁迫下颠茄幼苗的渗透物质含量、抗氧化酶活性, 降低细胞的膜脂过氧化程度, 缓解盐胁迫对颠茄造成的伤害, 提高颠茄的耐盐能力。

3.3 外源MeJA和SA对盐胁迫下颠茄幼苗叶片氮代谢的影响

植物中的氮代谢和次生代谢密切相关。氮代谢是植物的基本代谢过程之一, 氮代谢合成的许多含氮化合物都能进入到植物的次生代谢中去。在颠茄中, 氮代谢为次生代谢中托品烷类生物碱的合成提供底物氨基酸。本试验结果表明, 在盐胁迫下, 颠茄叶片内的硝态氮、游离氨基酸、可溶性蛋白含量均显著降低, 氮代谢关键酶NR、GS、GDH的活性也都显著降低, 而在外源添加MeJA、SA以及二者复合处理后, 有效缓解了这一现象, 其中二者复合处理的缓解效果更显著。以上结果说明MeJA和SA处理能通过促进颠茄对硝态氮的吸收, 提高硝态氮的含量, 提高氮代谢相关的酶活性, 从而促进植物同化和还原氮素, 利于颠茄合成氨基酸、蛋白质等所需含氮有机物。在番茄中的研究发现, NR活性与硝态氮的变化呈现正相关的关系, 硝酸盐的含量增加, NR的活性也随之增加(鄢如2017), 本研究中也得到了相似的结果。因此, 推测外源MeJA和SA通过提高颠茄中硝态氮的含量, 诱导其产生更多的NR并将其激活, 同时诱导GS酶活性的恢复, 加强对 NH_4^+ 的同化, 使颠茄不受氨毒害作用, 促进氮代谢恢复正常。本试验中, GDH活性变化趋势与NR、GS活性变化趋势相似, 表明GDH可能在颠茄的铵同化过程中起着重要作用。

综上, 添加适宜浓度的MeJA或SA有利于提高颠茄对无机氮的吸收能力, 加速氮代谢进程, 提高

自身含氮物质的积累, 有利于缓解盐胁迫对颠茄的伤害, 增强颠茄幼苗的抗盐能力; 且外源SA和MeJA共同作用时效果要明显优于两者单独作用。

3.4 外源MeJA和SA对盐胁迫下颠茄幼苗叶片次生代谢的影响

有研究表明, 植物内次生代谢产物的积累能够增强其抗逆性, 在正常生长条件下, 植物体内生物碱含量比较低, 但一定的外界胁迫会提高植物在次生代谢的投入, 从而增加生物碱含量(王景艳2009)。然而本研究结果与之相反, 在本试验中, 盐胁迫处理后颠茄叶片中莨菪碱和东莨菪碱含量均显著降低, 表明盐胁迫抑制了TAs合成途径中某种或几种酶的活性, 不利于莨菪碱和东莨菪碱的积累。而外源添加MeJA、SA及二者复合处理后, 莨菪碱和东莨菪碱含量均有所升高, 且以MeJA+SA复合处理效果最佳。胡耀辉等(2010)研究荞麦(*Fagopyrum esculentum*)悬浮细胞黄酮含量发现, MJ和SA协同诱导荞麦细胞的黄酮含量, 且诱导效果要好于其单独处理。本研究也得到了类似的结果, 其原因可能是MeJA和SA作为参与植物次生代谢产物合成调控的两个信号分子, 其信号途径并非完全对立, 在调节颠茄托品烷类生物碱合成代谢途径中可能存在交叉点, 使其协同作用调控某些抗逆基因的表达, 提高颠茄防御反应应答, 促进其次生代谢产物积累, 增强其抗盐性。然而MeJA和SA在抗盐信号传递过程中的调控因子及关键基因还需进一步分离, 明确其间的相互作用及关键基因的功能, 深入揭示MeJA和SA抗盐信号传递机制。

综上, 外源添加MeJA、SA能通过增强氮代谢的进程直接或间接影响颠茄莨菪碱和东莨菪碱的积累, 协助颠茄以更好地应对逆境, 有助于颠茄的生长, 同时外源SA和MeJA在积累生物碱的过程中起协同作用。

本试验中, 盐胁迫下, 颠茄幼苗的叶绿体解体, 光合色素含量降低, 光能转化效率下降; 颠茄细胞内活性氧代谢平衡被打破, 膜脂过氧化程度加剧; 硝态氮吸收受阻, 氮代谢关键酶活性降低, 氮代谢紊乱, 颠茄受到氨毒害作用, 生长受抑制。外源添加MeJA、SA及MeJA+SA复合处理均能提高颠茄幼苗叶绿素含量、抗氧化酶活性、渗透调节物质

含量; 增强氮代谢关键酶活性, 促进托品烷类生物碱的合成与积累, 从而缓解盐胁迫对颠茄造成的损伤, 提高颠茄的抗盐能力, 且以MeJA+SA复合处理缓解效果最佳, MeJA与SA在提高颠茄耐盐性中表现出积极的协同作用。因此, 复合施用MeJA和SA能为实际生产应用中缓解盐胁迫对颠茄的伤害、提高托品烷类生物碱含量提供理论参考。

参考文献(References)

- Chang QS, Zhang LX, Yang W, et al (2016). Effects of exogenous nitric oxide on antioxidant activity and photosynthetic characteristics of *Prunella vulgaris* seedlings under NaCl stress. *Acta Pratacult Sin*, 25 (7): 121–130 (in Chinese with English abstract) [常青山, 张利霞, 杨伟等 (2016). 外源NO对NaCl胁迫下夏枯草幼苗抗氧化能力及光合特性的影响. *草业学报*, 25 (7): 121–130]
- Chen R (2014). Study on the photosynthetic capacity and photoprotection mechanisms in *Beta vulgaris* L. under salt stress (dissertation). Jinan: Shandong Normol University (in Chinese with English abstract) [程然然(2014). NaCl胁迫下甜菜光合能力和光保护机制的研究(学位论文). 济南: 山东师范大学]
- Chinese Pharmacopoeia Commission (2010). Chinese Pharmacopoeia. Vol. 1. 9th ed. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 262–264 (in Chinese) [国家药典委员会(2010). 中华人民共和国药典(一部). 第9版. 北京: 中国医药科技出版社, 262–264]
- Deng Y, Shao Q, Li C, et al (2012). Differential responses of double petal and multi petal jasmine to shading: II. Morphology, anatomy and physiology. *Sci Hortic*, 144: 1419–1428
- Facchini PJ (2001). Alkaloid biosynthesis in plants: biochemistry, cell biology, molecular regulation, and metabolic engineering applications. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 52: 29–66
- Feng R (2017). Effect of exogenous silicon on carbon and nitrogen metabolism in tomato under simulated drought stress (dissertation). Yangling, shaanxi: Northwest A&F University (in Chinese with English abstract) [鄂如(2017). 外源硅对水分胁迫下番茄碳氮代谢的影响(学位论文). 陕西杨凌: 西北农林科技大学]
- Fu QQ, Sun YJ, Zhai H, et al (2017). Effect of salt stress on photosynthetic characteristics in grape rootstock of interspecific F_1 hybrids. *Plant Physiol J*, 53 (9): 1640–1648 (in Chinese with English abstract) [付晴晴, 孙永江, 翟衡等 (2017). 盐胁迫对葡萄种间杂交砧木 F_1 株系光合特性的影响. *植物生理学报*, 53 (9): 1640–1648]
- Gao J (2006). *Experimental Guidance for Plant Physiology*. Beijing: Higher Education Press, 228–231 (in Chinese) [高俊凤(2006). *植物生理学实验指导*. 北京: 高等教育出版社, 228–231]
- Giannopolitis CN, Ries SK (1977). Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol*, 59 (2): 309–314
- Hu XH, Ning HH, Liu GZ, et al (2017). Effect of exogenous SA on the physiological biochemistry, nitrogen metabolism and secondary metabolism and secondary metabolism of *Atropa belladonna* under NaCl stress. *Acta Pratacult Sin*, 26 (11): 147–156 (in Chinese with English abstract) [扈雪欢, 宁欢欢, 刘光照等(2017). 外源SA对盐胁迫下颠茄生理生化、氮代谢及次生代谢的影响. *草业学报*, 26 (11): 147–156]
- Hu Y, Yu Y, Yu S (2010). Effects of abiotic elicitors on flavonoids content in buckwheat suspension cells. *Cereals Oils Proc*, (7): 56–58 (in Chinese) [胡耀辉, 于亚桐, 于寒松 (2010). 非生物诱导子对荞麦悬浮细胞黄酮含量的影响. *粮油加工*, (7): 56–58]
- Li H (2000). *Principle and Technology of Plant Physiological and Biochemical Experiments*. Beijing: Higher Education Press, 192–194 (in Chinese) [李合生(2000). *植物生理生化实验原理和技术*. 北京: 高等教育出版社, 192–194]
- Li H (2018). Advances in research on effects of salt stress and exogenous substances on salt tolerance of plants. *Qinghai Agro-Technol Ext*, (4): 48–50 (in Chinese) [李海萍 (2018). 盐胁迫及外源物质对植物抗盐性影响的研究进展. *青海农技推广*, (4): 48–50]
- Li X, Hua Z (2016). Effects of exogenous methyl jasmonate on the *Scutellaria baicalensis* seed germination and seedling physiological characteristics under salt stress. *J Shanxi Agr Sci*, 44 (11): 1603–1607 (in Chinese with English abstract) [李小玲, 华智锐(2016). 外源茉莉酸甲酯对盐胁迫下黄芩种子萌发及幼苗生理特性的影响. *山西农业科学*, 44 (11): 1603–1607]
- Liu JX, Hu HB, Wang X (2009). Effects of exogenous nitric oxide on active oxygen metabolism, polyamine content and photosynthesis of ryegrass (*Lolium perenne* L.) seedlings under salt stress. *Bull Bot Res*, 29 (3): 313–319 (in Chinese with English abstract) [刘建新, 胡浩斌, 王鑫(2009). 外源NO对盐胁迫下黑麦草幼苗活性氧代谢、多胺含量和光合作用的影响. *植物研究*, 29 (3): 313–319]
- Liu XC, Chen HF, Jing LW, et al (2009). Effects of salt stress on SOD/CAT activities and malondialdehyde (MDA) content of *Triticum aestivum* thinopyrum bessarabicum diploid. *Anhui Agr Sci Bull*, 15 (8): 43–46 (in Chinese with English abstract) [刘训财, 陈华锋, 井立文等(2009). 盐胁迫对中国春-百萨燕麦草双二倍体SOD、CAT活性和MDA含量的影响. *安徽农学通报*, 15 (8): 43–46]

- Lu CM, Zhang JH (1999). Effects of water stress on photosystem II photochemistry and its thermostability in wheat plants. *J Exp Bot*, 50 (336): 1199–1206
- Ma T, Teng YJ, Li CX, et al (2016). Changes of ROS metabolizing enzyme activities in *Limonium aureum* seedlings under salinity stress. *Plant Physiol J*, 52 (2): 177–186 (in Chinese with English abstract) [马婷, 滕玉瑾, 李翠祥等 (2016). 盐胁迫下黄花补血草幼苗ROS代谢酶活性的变化. *植物生理学报*, 52 (2): 177–186]
- Omrán RG (1980). Peroxide levels and the activities of catalase, peroxidase, and indoleacetic acid oxidase during and after chilling cucumber seedlings. *Plant Physiol*, 65 (2): 407–408
- Salzman RA, Brady JA, Finlayson SA, et al (2005). Transcriptional profiling of sorghum induced by methyl jasmonate, salicylic acid, and aminocyclopropane carboxylic acid reveals cooperative regulation and novel gene responses. *Plant Physiol*, 138 (1): 352–368
- Su Y, Li TL, Yang FJ, et al (2009). Effects of salicylic acid on activities of protective enzymes and contents of osmotic adjustment substances of tomato seedlings during NaCl stress. *J Shenyang Agr Univ*, 40 (3): 273–276 (in Chinese with English abstract) [宿越, 李天来, 杨凤军等 (2009). 外源水杨酸对NaCl胁迫下番茄幼苗保护酶活性和渗透调节物质含量的影响. *沈阳农业大学学报*, 40 (3): 273–276]
- Sun CC, Zhao HY, Zheng CX (2017). Effects of NaCl stress on osmolyte and proline metabolism in *Ginkgo biloba* seedling. *Plant Physiol J*, 53 (3): 470–476 (in Chinese with English abstract) [孙聪聪, 赵海燕, 郑彩霞 (2017). NaCl胁迫对银杏幼树渗透调节物质及脯氨酸代谢的影响. *植物生理学报*, 53 (3): 470–476]
- Tang S, Luo C (2012). *Plant Physiology Experiment Courses*. Chongqing: Southwest Normal University Press, 49–50 (in Chinese) [汤绍虎, 罗充 (2012). *植物生理学实验教程*. 重庆: 西南师范大学出版社, 49–50]
- Wang J (2009). Effects of salt stress and plant growth substance on the growth and indole alkaloid metabolism of *Catharanthus roseus* (dissertation). Nanjing: Nanjing Agricultural University (in Chinese with English abstract) [王景艳 (2009). 盐胁迫与植物生长物质对长春花生长及生物碱代谢的影响 (学位论文). 南京: 南京农业大学]
- Wang L, Li X, Sun Y, et al (2017). Effects of exogenous salicylic acid on photosynthetic characteristics of cotton seedlings leaves under salt stress. *Arid Zone Res*, 34 (3): 655–662 (in Chinese with English abstract) [王立红, 李星星, 孙影影等 (2017). NaCl胁迫下外源水杨酸对棉花幼苗叶片光合特性的影响. *干旱区研究*, 34 (3): 655–662]
- Wang X, Chen M, Yang C, et al (2011). Enhancing the scopolamine production in transgenic plants of *Atropa belladonna* by overexpressing *pmt* and *h6h* genes. *Physiol Plant*, 143 (4): 309–315
- Yang ZY, Zhao LY, Xu ZD (2011). Impacts of salt stress on the growth and physiological characteristics of *Rosa rugosa*. *Chin J Appl Ecol*, 22 (8): 1993–1998 (in Chinese with English abstract) [杨志莹, 赵兰勇, 徐宗大 (2011). 盐胁迫对玫瑰生长和生理特性的影响. *应用生态学报*, 22 (8): 1993–1998]
- Ye X (2015). Effects of methyl jasmonate on membrane lipid peroxidation and related antioxidant enzymes in kiwifruit seedlings under high temperature stress. *Jiangsu Agr Sci*, 43 (5): 173–175 (in Chinese) [耶兴元 (2015). 茉莉酸甲酯对高温胁迫下猕猴桃苗膜脂过氧化及相关抗氧化酶的影响. *江苏农业科学*, 43 (5): 173–175]
- Zhang C, He P, Yu Z, et al (2010). Effect of exogenous Ca^{2+} , ALA, SA and Spd on seed germination and physiological characteristics of *Perilla frutescens* seedlings under NaCl stress. *China J Chin Mat Med*, 35 (24): 3260–3265 (in Chinese with English abstract) [张春平, 何平, 喻泽莉等 (2010). 外源 Ca^{2+} , ALA, SA和Spd对盐胁迫下紫苏种子萌发及幼苗生理特性的影响. *中国中药杂志*, 35 (24): 3260–3265]
- Zhang C, Zhou H, He P, et al (2014). Effect of exogenous 5-aminolevulinic acid on photosynthesis and chlorophyll fluorescence characteristics of *Coptis chinensis* Franch. seedlings under NaCl stress. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 34 (12): 2515–2524 (in Chinese with English abstract) [张春平, 周慧, 何平等 (2014). 外源5-氨基乙酰丙酸对盐胁迫下黄连幼苗光合参数及其叶绿素荧光特性的影响. *西北植物学报*, 34 (12): 2515–2524]
- Zhang SR (1999). A discussion on chlorophyll fluorescence kinetics parameters and their significance. *Chin Bull Bot*, 16 (4): 444–448 (in Chinese with English abstract) [张守仁 (1999). 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论. *植物学通报*, 16 (4): 444–448]
- Zhang X (1986). Determination of plant chlorophyll content—acetone ethanol mixture method. *Liaoning Agr Sci*, (3): 26–28 (in Chinese) [张宪政 (1986). 植物叶绿素含量测定——丙酮乙醇混合液法. *辽宁农业科学*, (3): 26–28]
- Zhang Z, Qu W, Li X (2009). *Experimental Guidance for Plant Physiology*. 4th ed. Beijing: Higher Education Press, 103–104 (in Chinese) [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, 103–104]
- Zhao SJ, Xu CC, Zhou Q, et al (1994). Improvements of method for measurement of malondialdehyde in plant tissues. *Plant Physiol Commun*, 30 (3): 207–210 (in Chinese with English abstract) [赵世杰, 许长成, 邹琦等 (1994). 植物组织中丙二醛测定方法的改进. *植物生理学通讯*, 30 (3): 207–210]

Effects of exogenous methyl jasmonate and salicylic acid on physiological characteristics and secondary metabolism of *Atropa belladonna* under NaCl stress

SHAN Yu-Si^{1,2}, DAI Huan-Huan^{1,2}, HE Xiao^{1,2}, XIN Zheng-Qi^{1,2}, WU Neng-Biao^{1,2,*}

¹School of Life Science, Southwest University, Chongqing 400715, China

²Key Laboratory of Eco-environments in Three Gorges Region, Ministry of Education, Chongqing 400715, China

Abstract: In this study, the seedlings of *Atropa belladonna* were planted by soil culture and treated with exogenous methyl jasmonate (MeJA) and salicylic acid (SA). By investigating the effects of MeJA and SA alone and in combination on physiological characteristics, nitrogen metabolism and secondary metabolism under 100 mmol·L⁻¹ NaCl stress, we found that compared to NaCl stress treatment, the photosynthetic pigment contents, maximal fluorescence (F_m), maximal photochemical efficiency (F_v/F_m), actual photochemical quantum yield (Y), photosynthetic electron transport rate (ETR) and photochemical quenching coefficient (q_p) greatly increased, but initial fluorescence (F_0) and non-photochemical quenching coefficient (NPQ) significantly decreased under MeJA, SA and MeJA+SA treatments. Moreover, proline content, soluble sugar content, and antioxidant enzyme activities dramatically enhanced, while malondialdehyde content reduced significantly. The contents of nitrate nitrogen, soluble protein, free amino acid, and the activities of nitrogen metabolism key enzymes (nitrate reductase, glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase) significantly increased. The secondary metabolites, scopolamine and hyoscyamine, were increased significantly. The MeJA+SA treatment was the best to alleviate the damage caused by NaCl stress on *A. belladonna*, better than MeJA and SA alone. The result indicates that MeJA+SA treatment could improve the resistance of *A. belladonna* seedlings to NaCl stress. MeJA and SA showed positive synergistic effect in relieving NaCl stress of *A. belladonna* seedlings.

Key words: *Atropa belladonna*; NaCl stress; methyl jasmonate; salicylic acid; secondary metabolism

Received 2019-05-14 Accepted 2019-08-24

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (30500041).

*Corresponding author (wunb@swu.edu.cn).