

喷施外源山梨醇及其类似物对桃叶片和果实 离子转运及激素含量的影响

周 平^{1,2}, 马昕怡², 郭 瑞¹, 颜少宾¹, 张小丹³, 林志聪², 金 光^{1*}

(¹福建省农业科学院果树研究所,福州 350013;福建农林大学,福州 350002; ³伊利诺伊大学厄巴纳-香槟分校,厄巴纳 IL 61801)

摘要:【目的】了解喷施山梨醇及其类似物对桃叶片、果实中钾、钠、钙运输积累和对内源激素含量的影响。【方法】使用山梨醇及其结构类似的糖醇类渗透调节物(甘露醇、异山梨醇)喷施桃树体,测定桃叶、桃果实中的钠、钾、钙含量以及内源植物激素含量变化。基于测定结果,Q-PCR检测桃叶、桃幼果中相关离子转运子与特定激素合成通路关键限速酶基因的表达。【结果】喷施处理组中,果实钠、钾、钙含量显著增加(其中异山梨醇处理组中果实钠、钾、钙含量增加的幅度最大);但叶片中钠、钾、钙变化不显著。Q-PCR检测表明:钠离子转运相关的*PpNHX7/SOS1*在处理组叶片、果实中表达增强。钾离子转运相关的*PpKUPs*、*PpKEAs*在处理组叶片中表达趋势增强,在果实中*PpKUPs*表达增强、*PpKEAs*表达减弱。此外,喷施处理组中,桃果实内源性玉米素含量升高,玉米素合成通路关键限速酶基因*PpIPT*和*PpCYP735A*表达上调。【结论】山梨醇及其类似物喷施可能造成渗透胁迫,促使果实积累钠、钾、钙,并促进玉米素的合成以响应胁迫。

关键词:桃;山梨醇;离子;激素;基因表达

中图分类号:S662.1

文献标志码:A

文章编号:1009-9980(2020)04-0502-09

Effects of exogenous sorbitol and its analogs on iron transport and phytohormone contents in peach leaves and fruit

ZHOU Ping^{1,2}, MA Xinyi², GUO Rui¹, YAN Shaobin¹, ZHANG Xiaodan³, LIN Zhicong², JIN Guang^{1*}

(¹Fruit Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013, Fujian, China; ²Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian, China; ³Department of Plant Biology, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, IL 61801, USA)

Abstract:【Objective】Sorbitol, a polyol, is an important carbohydrate metabolite which plays important roles in photoassimilate translocation and carbohydrate storage in species of Rosaceae. In peach, a known sorbitol-synthetizing species, osmotic tolerance can be improved by synthesizing and accumulating polyols. Application of exogenous sorbitol has been shown to alter carbohydrate allocation in peaches. However, the metabolic changes induced by exogenous sorbitol and their physiological relevance in peach are still poorly understood. This study aims to investigate the effects of exogenous sorbitol and its analogs on iron transport and hormone contents in peach, and to uncover the underlying molecular and biochemical mechanisms.【Methods】‘MX14-1’ peach trees cultivated in an orchard located in Da-hu town, Minhou county, Fuzhou, China, were chosen for the study. The peach trees were divided into four groups sprayed twice with 1 mmol·L⁻¹ sorbitol, mannitol, isosorbide solution, or clean water (as control). After the 2nd spray, leaves and fruit were harvested and transported in dry ice to the laboratory within one day. Sodium, potassium and calcium contents and endogenous phytohormones (ZA, ZR,

收稿日期:2019-08-08 接受日期:2019-01-16

基金项目:福建省省属公益类科研院所基本科研专项(2017R1013-1);国家现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-30-Z-07);福建省农业科学院创新团队(STIT2017-1-4)

作者简介:周平,男,助理研究员,研究方向为落叶果树育种与生物技术。Tel:0591-87873356,E-mail:fagaless@163.com

*通信作者 Author for correspondence. Tel:0591-87873356,E-mail:jinguang0591@126.com

GA, IAA and ABA) concentrations in peach leaves and fruit were determined. Based on the results, real-time RT-PCR was performed to quantify and verify the transcriptional changes of genes involved in ion transport and zeatin biosynthesis.【Results】Compared to the control group, the contents of sodium, potassium and calcium in the fruit increased significantly. The highest sodium, potassium and calcium contents were found in the fruit of isosorbide treatment group, being 53.89%, 35.17% and 46.99% higher than in control fruit, respectively. In contrast to the accumulation of sodium, potassium and calcium in the fruit, no significant change in sodium, potassium, or calcium contents were observed in the leaves in various groups. Gene expression analyses using real-time RT-PCR showed that the spraying treatments had triggered an increase in *PpNHX7/SOS1* (a NHX-type Na^+/H^+ antiporter) transcripts in the leaves and in the fruit. On the other hand, potassium uptake- and transport- associated genes (*PpKUPs* and *PpKEAs*) were different in the leaves and fruit. Comparing to the control, the expression of *PpKUPs* and *PpKEAs* were upregulated in the leaves, whereas *PpKUPs* were upregulated and *PpKEAs* was downregulated in the fruit. Notably, among *PpKUPs* and *PpKEAs*, *PpKUP5* and *PpKEA2* genes had the highest expression level and showed significant expression changes in both the leaves and the fruit in the treatment groups, suggesting that these two genes encode dominant potassium transporters in response to exogenous sorbitol or its analogs in peach. *PpNHXs*, *PpKUPs* and *PpKEAs* that responded to sorbitol and analogs treatments were likely involved in maintaining Na^+/K^+ homeostasis to withstand the osmotic stress. In addition, dramatic increases in zeatin contents in the fruit of the treated groups were found. The significant upregulation of the rate-limiting enzyme genes, *PpIPT* and *PpCYP735A*, further confirmed the enhancement of zeatin and zeatin-nucleoside synthesis in the fruit. GA₃ and IAA, also increased to different degrees. However, no similar changes were found in ABA contents.【Conclusion】Sorbitol or its analog treatments enhanced sodium, potassium and calcium accumulation in the fruit, but there were no significant changes in the leaves. The peach leaves may transport sodium and potassium ions from the leaves to the fruit. It is suggested that some members of *PpNHXs* and *PpKUPs* have participated in the transport and homeostasis of sodium and potassium ions and that their absorption and translocation capacity was increased. Meanwhile, the declined expression levels of *PpKEAs* may limit the secretion of potassium ions accumulated in the fruit, thereby maintaining a high potassium ion concentration and significant accumulation of potassium in the fruit. Additionally, we observed a significant rise in expressions of key zeatin synthesis genes (*PpIPT* and *PpCYP735A*), coinciding with the increased contents of zeatin and zeatin nucleoside, which is supposed to be a response of peach fruit to osmotic stress.

Key words: Peach; Sorbitol; Iron; Phytohormone; Gene expression

桃是重要的经济果树,中国桃栽培面积与桃产量均位居世界第一,生产出的桃果实在国内市场以鲜食为主。一般认为果实中的可溶性总糖含量高低和各糖分的比例很大程度上决定果实的品质和鲜食口感。研究发现,桃果实中糖分以蔗糖、葡萄糖、果糖、山梨醇为主^[1]。使用高浓度山梨醇处理桃果实可以诱导提高果实中的果糖和蔗糖的含量^[2]。对果实套袋的桃树喷施山梨醇溶液,在山梨醇不直接接触果实的情况下可以提高果实中的蔗糖含量,影响葡萄糖、果糖、山梨醇组分的平衡^[3]。外源山梨

醇喷施有效地提高可溶性固形物含量并增强桃果实着色。

使用外源山梨醇等糖醇类物质可以一定程度上增强了植物对矿质元素的吸收,影响农作物生产。研究表明山梨醇的施用提升硼的摄入、装载和运输的效率^[4]。叶面喷施山梨醇、硼肥混合物(0.2%硼:0.02%山梨醇),提高了棉花吸收硼的效率。山梨醇-硼络合物($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)处理柑橘枳橙砧木叶片提高了硼的吸收,改善生长及各种生理指标^[5]。使用 $150\sim300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 山梨醇叶面喷施小油菜可以促

进生长和对氮、磷、钾的吸收,提高生物量^[6]。山梨醇配合微量肥料使用对烤烟生长及品质提高有积极效果^[7]。一般认为,这是由于山梨醇溶液自身具备的良好渗透性、保湿性和延展性以及具有螯合矿质元素随水分运输等原因造成的。

值得注意的是,在自然界中,山梨醇不仅是蔷薇科果树光合作用的主要产物和运输物质形式之一,它的生成和积累也与逆境下相关果树抵御渗透失水胁迫有关^[4]。尽管前期观察到山梨醇的使用可以影响桃果实品质^[3],但对外源山梨醇施用效果的评价,需要更全面地考虑其本身具有的渗透脱水性质是否会对处理试样带来特定的影响。此前的高通量转录组数据分析已表明,外源喷施山梨醇后,桃成熟叶中出现胁迫响应:一些与金属阳离子跨膜运输相关的ATP酶类和转运子基因表达明显增强以响应相关胁迫信号^[8]。推测此时植物体中矿质元素吸收、转运和积累会出现变化,特别是与胁迫应答密切相关的钠、钾、钙指标可能会出现响应性地改变。因此本研究进一步设计试验,从叶片、果实钠、钾、钙平衡和内源性激素含量角度研究外源山梨醇类物质的使用是否同步引发胁迫响应。

本文证实山梨醇及其结构类似的糖醇类渗透调节液喷施桃树全树,会造成钠、钾、钙元素离子吸收、转运和相应内源激素的改变。从胁迫应答角度重新审视相关物质使用引起的变化,可以认为外源山梨醇及其类似物喷施会带来一定的胁迫效应。相关研究结果将有利于评判外源山梨醇及糖醇类似物施用对桃不同器官组织的影响,也有利于全面评价类似药剂施用对桃生产的适用性。

1 材料和方法

1.1 喷施试剂的选用

试验所用山梨醇、甘露醇、异山梨醇购自国药集团化学试剂有限公司,皆为分析纯。其中山梨醇Sorbitol(CAS#: 50-70-4, C₆H₁₄O₆)与甘露醇 Mannitol (CAS#: 87-78-5, C₆H₁₄O₆)互为同分异构体,异山梨醇 Isosorbitol (CAS#: 652-67-5, C₆H₁₀O₄)是山梨醇的脱水衍生物,三者水溶液均可作为渗透性调节液使用。

1.2 植物材料

选择树体健壮、长势基本一致的12株‘MX14-1’桃为实验材料。‘MX14-1’为前期杂交筛选出的优

选株系,其果实发育期近90 d,在福建福州地区果实在6月中旬成熟。于2016年春嫁接扩繁于福建省闽侯县大湖镇马乾村观察基地(海拔657 m,年平均雨日150 d,年平均降水量为1 673.9 mm),普通毛桃砧木,株行距2 m×5 m,两主枝Y树形,东西行向,常规栽培管理。研究从中随机选取4株作为试验对照组,处理组1喷施山梨醇,处理组2喷施甘露醇,处理组3喷施异山梨醇,单株小区,4次重复,进行对比试验。

1.3 喷施处理与采样检测

山梨醇、甘露醇、异山梨醇溶液各喷施2次,喷施时间为2018年5月15日(花后60 d)、6月2日(花后75 d),所用溶液浓度为1 mmol·L⁻¹。全树喷雾喷施,直至叶面药液滴落为止。对照树体喷施清水。6月4日,分别采集选定桃树东、西、南、北四个方位1 a(年)生结果枝上着生的成熟叶片与未成熟果实进行试验。以一株桃树上采集的叶片和果实作为一个叶片样品重复和果实样品重复。样品处理方式如下:(1)叶片样品:随机采集同一株桃树上的成熟叶,混合,包为一个叶片样品重复。(2)果实样品:随机挑选树上发育状态基本一致的12个果实,切取1 g果顶果肉等量混合,包为一个果实样品。所有叶片和果实样品及时干冰保存运输,-80 °C超低温冻存。对照组和山梨醇、甘露醇、异山梨醇处理组各有4个叶片重复和4个果实重复。

1.4 内源激素的测定

使用分析研磨仪(IKA A11 #2900025)于液氮保护下研磨样品至粉末。精确称取0.1 g样本,加入1 mL预冷的提取液,混匀。4 °C过夜浸提。10 000 g离心10 min,移取上清液,加入0.5 mL萃取液脱色3次,氮吹浓缩,定容,移入样品瓶,高效液相色谱HPLC测定内源激素含量。所用高效液相色谱及液相条件如下:Rigol L3000高效液相色谱仪,Kromasil C18反相色谱柱,甲醇:超纯水(体积比2:3)配制流动相,每次自动进样10 μL,流速0.8 mL·min⁻¹,柱温35 °C,运行时间40 min,检测波长254 nm。

1.5 钾、钠、钙含量的测定

参照植物全钾、全钠、全钙含量试剂盒(苏州科铭生物技术有限公司,PQJ-1-Z、PQN-1-Z、PQG-1-Z)说明,浓硫酸高温消解果实果肉样品,火焰光度计测定样品中的钾、钠、钙含量。

1.6 RNA 的提取与基因表达分析

取出冻存样品,液氮研磨,使用 Tripure 试剂抽提 Total RNA。

参考 Phytozome 数据库 (<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>) 中收录的桃基因组和注释文件,根据前期报道的转录组数据^[8],排除低表达基

因,选取部分钠离子转运子基因 *NHXs*、部分钾离子转运子基因 *KUPs* 与 *KEAs*,Q-PCR 验证转录表达量变化。根据内源激素测定结果,选取玉米素、玉米素核苷合成通路中的限速酶基因 *PpIPT* 和 *PpCYP735A1*,Q-PCR 检测基因表达。基因 Q-PCR 引物序列见表 1。

表 1 检测基因以及所用的 Q-PCR 引物
Table 1 The analyzed genes and Q-PCR primers

基因名 Genes	基因号 Genes id	拟南芥同源基因 Genes homologous to <i>Arabidopsis</i>	Q-PCR 引物 Q-PCR primer
<i>PpNhx2</i>	Prupe.6G335800	AT3G05030	CAGGATTCTGAAGGTGATCTGG GGACAGTGTGTAGGAGTTG
<i>PpNhx7/Sos1</i>	Prupe.1G339200	AT2G01980	GCTCCAAGCCTACTGGTATT CCCAAAGTACTCCCATGAGTAAA
<i>PpKup2</i>	Prupe.2G263200	AT2G40540	报道 Report ^[9-11]
<i>PpKup3</i>	Prupe.3G314700	AT3G02050	报道 Report ^[9-11]
<i>PpKup4</i>	Prupe.5G110400	AT4G23640	报道 Report ^[9-11]
<i>PpKup5</i>	Prupe.4G137300	AT2G30070	报道 Report ^[9-11]
<i>PpKup6</i>	Prupe.1G256100	AT1G70300	报道 Report ^[9-11]
<i>PpKt2/3</i>	Prupe.1G572200	AT4G22200	ATGGAGCAGATGTAGCCAATAC CTGTAATACGGTGTCCAACCTC
<i>PpKea1</i>	Prupe.2G162700	AT4G00630	报道 Report ^[12]
<i>PpKea2</i>	Prupe.2G029000	AT3G44900	报道 Report ^[12]
<i>PpKea3</i>	Prupe.8G077000	AT4G04850	报道 Report ^[12]
<i>PpKea4</i>	Prupe.7G212100	AT2G19600	报道 Report ^[12]
<i>PpKea5</i>	Prupe.2G283800	AT5G51710	报道 Report ^[12]
<i>PpKea6</i>	Prupe.1G413300	AT5G11800	报道 Report ^[12]
<i>PpIpt</i>	Prupe.1G151100	AT5G19040	CGAAATCGATCCAAGCTAAC CTTCAGTTCTCTGACCTCATC
<i>PpCyp735A1</i>	Prupe.3G237800	AT5G38450	CGCCATGATGGAAGCTAAGA AATAACGGGAGCATGACGATAA

2 结果与分析

2.1 外源山梨醇及其类似物对矿质元素含量的影响

与对照组相比,处理组桃叶、果实中的钠、钾、钙含量发生了不同程度的变化(表 2)。试验

结果表明,山梨醇、甘露醇和异山梨醇处理组果实中钠、钾、钙含量相较对照有明显的提升。其中异山梨醇处理组果实中钠、钾、钙含量的增加幅度最大,分别较对照提高 53.89%、35.17% 和 46.99%,其他两个处理也有显著效果。同时,观

表 2 喷施糖醇后桃果实中的 Na、K、Ca 含量

Table 2 Na, K and Ca contents in peach fruit sprayed with polyols

处理 Treatment	<i>b</i> (Na)/(μmol·g ⁻¹)	<i>b</i> (K)/(μmol·g ⁻¹)	<i>b</i> (Ca)/(μmol·g ⁻¹)	Na/K
山梨醇 Sorbitol	54.99±10.01 a	181.04±12.55 a	42.57±6.34 a	0.30±0.04 a
甘露醇 Mannitol	54.25±6.92 a	174.70±10.56 a	42.82±5.34 a	0.31±0.04 a
异山梨醇 Isosorbide	62.54±7.63 a	192.68±21.51 a	46.61±6.46 a	0.32±0.04 a
对照 Control	40.64±6.27 b	142.55±0.62 b	31.71±2.56 b	0.28±0.04 a

注:数值后不同小写字母代表处理间 5% 水平差异显著。下同。

Note: Different small letters represent significant differences among treatments at the 5% level. The same below.

察到各组间 Na/K 比值并未发生显著改变。与桃果不同，在处理组桃叶中并没有观察到 Na、K、

Ca 含量的显著改变，其 Na/K 比值也保持不变（表 3）。

表3 喷施糖醇后桃叶中的Na、K、Ca含量

Table 3 Na, K and Ca contents in peach leaves sprayed with polyols

处理 Treatment	$b(\text{Na})/(\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1})$	$b(\text{K})/(\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1})$	$b(\text{Ca})/(\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1})$	Na/K
山梨醇 Sorbitol	33.73±5.98 a	259.87±19.13 a	313.94±29.76 a	0.13±0.02 a
甘露醇 Mannitol	35.65±4.67 a	270.20±21.00 a	285.12±30.43 a	0.13±0.02 a
异山梨醇 Isosorbide	36.46±5.59 a	256.31±20.12 a	289.90±30.29 a	0.14±0.02 a
对照 Control	32.73±5.66 a	259.87±20.36 a	270.12±24.58 a	0.13±0.02 a

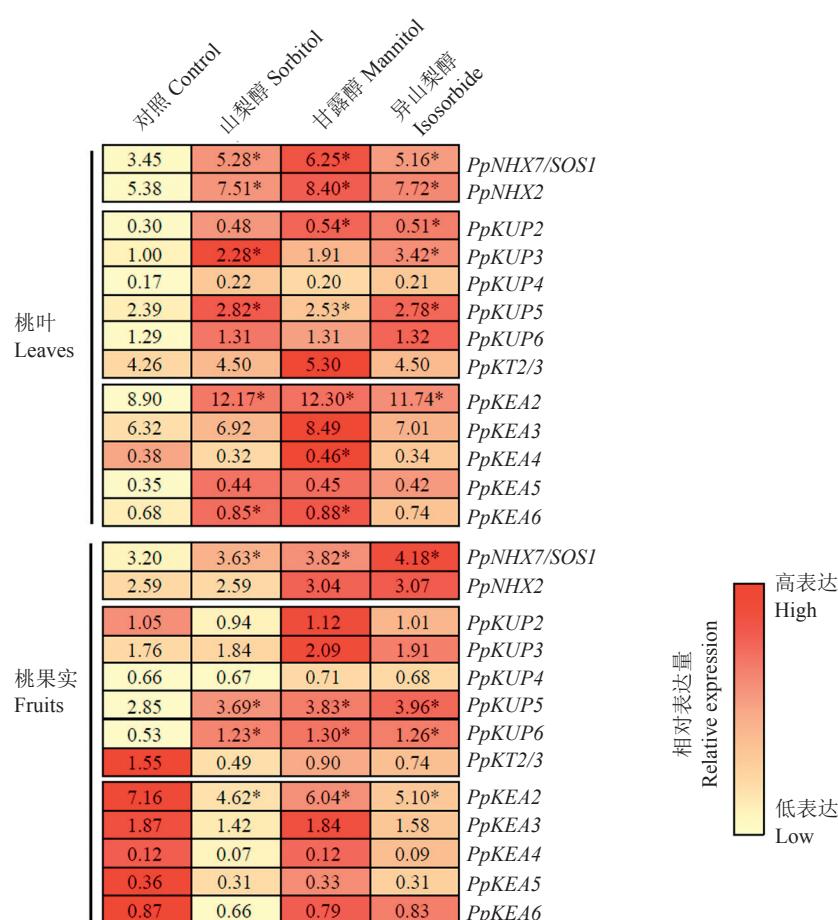
2.2 三类外源糖醇物质对钾、钠运输载体基因表达的影响

检测对照与处理组间叶片、果实钠、钾离子运输载体的基因表达。结果见图 1。

Q-PCR 分析表明处理组桃叶和果实中的钠离子转运载体 *PpNHX7/SOS1* 表达水平均有明显的增

强，而 *PpNHX2* 只在桃叶中表达量显著提高。*PpNHXs* 基因的表达变化说明喷施山梨醇及其类似物使桃叶和果实对相应刺激发生响应，增加钠离子载体蛋白的基因转录，通过钠离子转运重新调节钠离子浓度。

同步检测钾离子运载载体基因表达水平，发现



*代表该基因表达量与对照有统计学差异。

* indicate statistical significance (Student's t-test; $p < 0.05$).

图1 不同处理下 *PpNHXs*、*PpKUPs*、*PpKEAs* 相对表达量

Fig. 1 The relative expressions of *PpNHXs*, *PpKUPs* and *PpKEAs* under different treatments

这些基因的表达变化情况在桃叶和桃果中不一致:(1)与对照相比,在处理组叶片中,与钾离子吸收、装载有关的 *PpKUP2*、*PpKUP3*、*PpKUP5*、*PpKUP6*、*PpKT2/3* 表达均有不同程度的提高,但不同处理组中变化显著的 *PpKUPs* 有所差别。 K^+/H^+ 逆向转运体基因 *PpKEAs* 表达量也有所上升(*PpKEA1* 表达量极低,其数据图 1 未列出),其中 *PpKEA2* 表达的提升在 3 个处理组中都是显著的。(2)与对照相比,在处理组桃果中,*PpKUP5* 与 *PpKUP6* 表达量均显著提升,表明这两个 *PpKUPs* 参与了果实中钾离子的摄入与积累。另一方面, K^+/H^+ 逆向转运体基因 *PpKEAs* 表达量在 3 个处理中均表现出不同程度下降的趋势(*PpKEA1* 表达量极低,其数据图 1 未列出),这与桃叶中 *PpKEAs* 表达量上升的趋势明显不同,特别是 *PpKEAs* 中表达水平最高的 *PpKEA2* 在处理组中表达显著降低。果实中 *PpKUP5* 与 *PpKUP6* 表达量增强,表明钾离子吸收、装载能力提高,

再同步通过 *PpKEAs* 表达量的下降限制果实细胞中已积累钾离子的外流,从而保持高水平钾离子浓度,造成果实中钾元素的明显积累。

2.3 山梨醇及其类似物对植物内源性激素含量的影响

植物内源激素含量的变化体现了植物对外界刺激的感知和响应。检测处理组中桃果实玉米素(ZA)、玉米素核苷(ZR)、赤霉素(GA₃)、吲哚乙酸(IAA)和脱落酸ABA的含量,发现喷施处理引发内源激素含量变化(表 4),其中 ZA 含量的增加最为显著,山梨醇、甘露醇和异山梨醇处理组中 ZA 含量较对照组提升了 1.66~2.00 倍。ZR 含量的增加也较明显。其他两种激素 GA₃ 和 IAA 含量在相应处理组中也有不同程度的增加,但不同处理组间存在差异。此次没有发现处理组中 ABA 含量有显著提升,在异山梨醇处理组中甚至检测到 ABA 含量的下降,该结果表明不同处理液喷施对 ABA 的影响存在差异(表 4)。

表 4 不同处理果间内源性植物激素含量

Table 4 Endogenous hormone contents in peach fruit under different treatments

处理 Treatment	w(ZA)/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	w(ZR)/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	w(GA ₃)/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	w(IAA)/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	w(ABA)/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
山梨醇 Sorbitol	9.67±1.62 a	1.04±0.14 bc	2.70±0.36 ab	11.24±1.59 a	3.07±0.32 a
甘露醇 Mannitol	8.47±1.03 a	1.36±0.13 a	3.12±0.50 a	9.77±1.32 a	2.89±0.31 a
异山梨醇 Isosorbide	9.55±1.06 a	1.34±0.17 ab	2.75±0.31 ab	9.45±0.55 ab	1.94±0.13 b
对照 Control	3.18±0.62 b	1.02±0.19 c	2.12±0.26 b	7.50±0.89 b	2.53±0.13 a

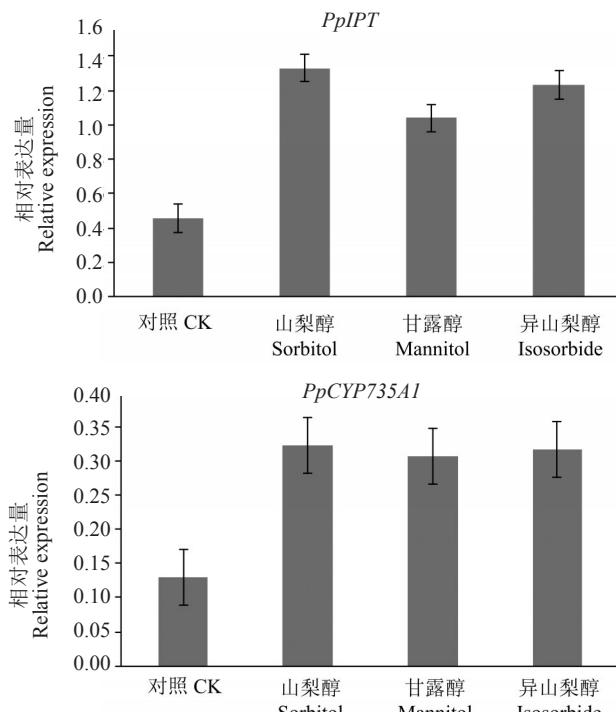
2.4 三类外源糖醇类物质对玉米素合成通路基因表达的影响

通过检测玉米素合成通路的基因表达,在分子水平验证山梨醇及其类似物喷施处理是否能够加速诱导玉米素合成。异戊烯基转移酶(isopentenyltransferase,IPT)是玉米素生物合成的限速酶。甲基丙基焦磷酸酯(dimethylallyl diphosphate,DMAPP)前体在 IPT 和细胞色素 P450 蛋白 735A (Cytochrome P450 protein 735A,CYP735A) 的作用下,催化生成玉米素核苷及玉米素。检测处理组果实中 *Prupe.1G151100* (*PpIPT*) 和 *Prupe.3G237800* (*PpCYP735A1*) 基因表达水平,发现二者转录水平比对照组果实均有大幅地提高(图 2),这进一步证实处理组果实中内源性玉米素核苷及玉米素生物合成增强。

3 讨论

3.1 山梨醇及其类似物喷施促使桃果实钠、钾、钙的积累

本研究用 Q-PCR 分析钠钾离子摄入、转运相关的转运子基因表达量,发现桃叶、桃果实中相应基因的表达发生不同程度的改变,说明在喷施处理后桃叶、桃果实通过钠、钾离子的主动运输以调节离子浓度。但是处理组叶片中并未观察到钠、钾离子水平的明显变化,而果实中确能积累高水平钠、钾离子,这可能是桃叶将钠、钾离子运输至果实中的结果。分子证据表明处理组桃叶中 *PpKUPs*、*PpKEAs* 表达表现出增强的趋势,说明桃在胁迫压力下增强了钾离子的摄入、暂存与转运。而果实中 *PpKUPs* 表达增强、*PpKEAs* 表达减弱,将使得钾离

图2 *IPT*与*CYP735A1*基因表达变化Fig. 2 Expression changes of *IPT* and *CYP735A1*

子摄入增强,外流减少,提高钾离子浓度,造成钾的积累。

此外,笔者还观察到了处理组果实中钙含量有明显变化。前期试验表明 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的山梨醇喷施对桃造成了渗透胁迫,此时钙离子跨膜转运与钙泵 ATP 酶基因群(GO:0015085)转录表达上调,暗示山梨醇处理可能影响了钙离子的吸收、转运和积累^[8]。本次的山梨醇及其类似物喷施试验证实处理会使果实中钙含量有明显提升。有报道指出钙离子的吸收有利于胁迫环境下植物对钠、钾等阳离子的摄入^[13-14]。此时植物细胞内钠、钾离子水平的提升,可以快速地提高细胞水势,以更好地抵御外界胁迫压力^[15-18]。据此,初步判断上述桃果实中钠、钾水平的显著提升可能也与钙离子的摄入有关。

令人感兴趣的是,植物在遭遇逆境时,体内也会合成积累山梨醇、甘露醇等小分子渗透调节物质来缓解伤害^[19]。在抵御胁迫的过程中植物能主动或被动地提升了对钾、钙离子的吸收能力,提高相应矿质元素的含量^[20]。已有报道指出,通过对叶片喷施山梨醇能提高小油菜对钾的吸收^[6],喷施糖醇能促进小白菜对钙的吸收利用^[21]。使用糖醇为助剂的螯合钙肥,可以加强钙肥的吸收性和应用效果,对樱桃和桃果品质以及养分吸收均有提升效

果^[22-23]。在分子水平上,目前发现桃树钾离子转运子 *KT/HAK/KUP* 启动子上含有 Ca^{2+} 响应顺式元件^[9],说明钙离子的吸收可能会启动钾离子转运子转录,从而增强钾离子摄入。而使用 PEG 处理桃幼苗形成渗透胁迫也可以增强 *KT/HAK/KUP* 的表达^[11]。这些结果表明将山梨醇等物质配制为渗透性溶液施用后有可能促进植物对钙、钾的吸收与积累。但受限于金属阳离子转运机制的复杂性和本次试验设计的局限性,仍需要进一步检测相关跨膜运输与离子交换载体蛋白的基因表达以进一步明确处理组果实样品中钠、钾、钙积累的内在机制。

3.2 山梨醇及其类似物的施用提升桃果实中内源性玉米素水平

在植物体内,细胞分裂素主要以玉米素及其衍生物的形式存在。植物内源性细胞分裂素(玉米素以其衍生物)水平在逆境环境下会明显变化,可以影响或者串联其他植物激素的信号转导,引起下游代谢过程的改变以适应相关环境的刺激和变化^[24-26]。在一定条件下人为喷施细胞分裂素类似物可以提高植物的抗逆性^[25, 27]。在本次试验中,处理组果实均检测到了玉米素、玉米素核苷含量的上升,说明有可能是渗透胁迫加速了玉米素的合成与积累。Q-PCR 试验也检测到玉米素合成通路上关键限速酶基因 *PpIPT* 和 *PpCYP735A* 的表达上升,进一步证实玉米素、玉米素核苷合成的增强。因此,处理组果实中玉米素和玉米素核苷水平的提升应该属于果实对渗透胁迫的正常响应,其所带来的下游代谢过程的改变和果实品质的影响有待进一步研究。

此外,在不同处理组果实中也发现赤霉素和吲哚乙酸含量有不同程度的上升,但处理间差异。这可能是内源玉米素含量变化带来的联动效应,或是由于果实对不同处理液的响应有所差别造成的。由于本次试验设计只在第二次喷施后采样,并不清楚其他时间点内源性激素的变化情况,可能会存在一定的误差,因此需要进一步加大采样密度,更加系统地研究山梨醇及其类似物喷施处理后的果实内源性激素的响应变化过程。

3.3 山梨醇及其类似物喷施带来短期的渗透胁迫效应

笔者同时采用了梨醇及其类似物喷施桃树,观察到果实中钠、钾、钙含量一致性地提升。由于喷

施并未引入外源性的钠、钾、钙元素,因此认为处理组果实中钠、钾、钙含量的增加应该是植物从土壤中摄入后经过运输、定位与积累的结果,相关转运子基因表达量的变化也从另一角度证明了这一结论。细胞内钠、钾、钙离子的积累有助于抵御渗透胁迫^[20],笔者认为所使用的外源山梨醇及其类似物发挥了渗透调节作用。综合考虑喷外界环境胁迫常引发的细胞分裂素(玉米素以其衍生物)水平提升,可以认为喷施处理带来了一定的渗透胁迫效应。

4 结 论

山梨醇及其类似物处理组中桃果实钠、钾、钙含量增加。*PpNHXs*、*PpKUPs*、*PpKEAs* 参与了钠、钾离子的运输与平衡。同时,处理组果实中内源性植物激素玉米素与玉米素核苷含量提升明显,玉米素合成关键基因 *PpIPT* 和 *PpCYP735A* 表达显著上调。从胁迫应答角度审视,可以认为喷施处理造成一定的渗透胁迫,促使果实内积累钠、钾、钙,并促进了玉米素的合成以响应胁迫。

参考文献 References:

- [1] 陈昌文,张佳卉,曹珂,朱更瑞,方伟超,王新卫,王力荣.桃地方品种果实糖酸主要组分的遗传关联分析[J].果树学报,2015,32(6): 1036-1046.
CHEN Chuangwen, ZHANG Jiahui, CAO Ke, ZHU Gengrui, FANG Weichao, WANG Xinwei, WANG Lirong. Genetic association of sugar and acid main constituents of China landrace peach (*Prunus persica* L.)[J]. Journal of Fruit Science, 2015, 32 (6): 1036-1046.
- [2] 于雯.桃蛋白激酶 PpSnRK1 调控果实发育和糖代谢的机制及其γ亚基的功能分析[D].泰安:山东农业大学,2018.
YU Wen. Mechanism of a peach protein kinase PpSnRK1 regulates fruit development and sugar metabolism and functional analysis of its γ subunit [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2018.
- [3] 周平,郭瑞,廖汝玉,颜少宾,金光,杨凌,姚启英.喷施外源山梨醇对桃果实可溶性糖含量的影响[J].中国南方果树,2016,45(2):119-121.
ZHOU Ping, GUO Rui, LIAO Ruyu, YAN Shaobin, JIN Gunag, YANG Ling, YAO Qiying. Effect of exogenous sorbitol on the soluble sugar content in peach fruit[J]. South China Fruits, 2016, 45(2):119-121.
- [4] 杨光,李玲玉,黄明丽,杨凡昌,张凤魁,徐荣臣,颜东云.山梨醇对植株抗逆性作用的研究进展[J].土壤,2018,50(3): 14-22.
YANG Guang, LI Lingyun, HUANG Mingli, YANG Fanchang, ZHANG Fengkui, XU Rongchen, YAN Dongyun. Progresses in study on sorbitol effect on plants resistance[J]. Soils, 2018, 50 (3): 14-22.
- [5] ZHANG L, LIU L C, WANG Y H, LU B, YAO Z H, JIANG C C. Different influences of organic and inorganic boron fertilizers on citrange rootstock growth and physiology characters[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2019, 46(1): 135-142.
- [6] 于会丽,林治安,李燕婷,袁亮,赵秉强.喷施小分子有机物对小油菜生长发育和养分吸收的影响[J].植物营养与肥料学报,2014,20(6): 1560-1568.
YU Huili, LIN Zhian, LI Yanting, YUAN Liang, ZHAO Bingqiang. Effects of spraying low molecular organic compounds on growth and nutrients uptake of rape (*Brassica chinensis* L.) [J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2014, 20(6): 1560-1568.
- [7] 熊亚南,韩丹,王发展,马晓寒,金伊楠,陈彪,曹丽君,王晓丽,任志广,许自成.微肥配施小分子有机物对烤烟生长及品质的影响[J].生物技术通报,2019,35(2): 29-38.
XIONG Yanan, HAN Dan, WANG Fazhan, MA Xiaohan, JIN Yinan, CHEN Biao, CAO Lijun, WANG Xiaoli, REN Zhiguang, XU Zicheng. Effects of micro-fertilizer combined with small-molecule organic matter on growth and quality of flue-cured tobacco[J]. Biotechnology Bulletin, 2019, 35(2): 29-38.
- [8] 金光,颜少宾,郭瑞,张小丹,杨凌,廖汝玉,周平.外源山梨醇对桃苗叶片基因表达网络的影响[J].果树学报,2018,35(9): 3-12.
JIN Guang, YAN Shaobin, GUO Rui, ZHANG Xiaodan, YANG Ling, LIAO Ruyu, ZHOU Ping. Effects of exogenous sorbitol spray on gene expression networks of peach leaves[J]. Journal of Fruit Science, 2018, 35(9): 3-12.
- [9] SONG Z Z, MA R J, YU M L. Genome-wide analysis and identification of KT/HAK/KUP potassium transporter gene family in peach (*Prunus persica*) [J]. Genetics & Molecular Research, 2015, 14(1): 774-787.
- [10] SONG Z Z, GUO S L, MA R J, YU M L. Analysis of expression of KT/HAK/KUP family genes and their responses to potassium fertilizer application during peach flowering[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(6): 1177-1185.
- [11] SONG Z Z, YANG Y, MA R J, YU M L. Transcription of potassium transporter genes of KT/HAK/KUP family in peach seedlings and responses to abiotic stresses [J]. Biologia Plantarum, 2015, 59(1): 65-73.
- [12] SONG Z Z, JIANG H, ZHANG B B, MA R J, YU M L. Expression of K⁺/H⁺ antiporter genes (PpeKEA) during peach flowering and response to potassium fertilizer application[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2018, 45(7):1251-1260.
- [13] WU H H, ZHANG X C, GIRALDO J P, SHABALA S. It is not all about sodium: revealing tissue specificity and signaling roles of potassium in plant responses to salt stress[J]. Plant and Soil,

- 2018, 43(1): 1-17.
- [14] GARCÍA-MARTÍ M, PIÑERO M C, GARCÍA-SANCHEZ F, MESTRE T C, LÓPEZ- DELACALLE M, MARTÍNEZ V, RIVERO R M. Amelioration of the oxidative stress generated by simple or combined abiotic stress through the K⁺ and Ca²⁺ supplementation in tomato plants[J]. *Antioxidants*, 2019, 8(4): 81.
- [15] SHABALA S, POTTOSIN I. Regulation of potassium transport in plants under hostile conditions: implications for abiotic and biotic stress tolerance[J]. *Physiol Plant*, 2014, 151(3): 257-279.
- [16] SHABALA S, BOSE J, FUGLSANG A T, POTTOSIN I. On a quest for stress tolerance genes: membrane transporters in sensing and adapting to hostile soils [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(4): 1015-1031.
- [17] WANG M, ZHENG Q S, SHEN Q R, GUO S W. The critical role of potassium in plant stress response [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, 14(4): 7370-7390.
- [18] SONG Z Z, DUAN C L, GUO S L, YANG Y, FENG Y F, MA R J, YU M L. Potassium contributes to zinc stress tolerance in peach (*Prunus persica*) seedlings by enhancing photosynthesis and the antioxidant defense system[J]. *Genetics & Molecular Research*, 2015, 14(3): 8338-8351.
- [19] CONDE A, REGALADO A, RODRIGUES D, COSTA J M, BLUMWALD E, CHAVES M M, GERÓS H. Polyols in grape berry: transport and metabolic adjustments as a physiological strategy for water-deficit stress tolerance in grapevine[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(3): 889.
- [20] ROY S, CHAKRABORTY U. Role of sodium ion transporters and osmotic adjustments in stress alleviation of *Cynodon dactylon* under NaCl treatment: a parallel investigation with rice[J]. *Protoplasma*, 2018, 255(1): 175-191.
- [21] 丁双双, 李燕婷, 袁亮, 赵秉强, 林治安, 杨相东, 李娟, 张建君. 糖醇和氨基酸对小白菜钙营养及生长、品质的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2016, 22(3): 744-751.
- DING Shuangshuang, LI Yanting, YUAN Liang, ZHAO Bing-
iang, LIN Zhian, YANG Xiangdong, LI Juan, ZHANG Jianjun.
Effects of sugar alcohols and amino acids on growth, quality
and calcium nutrition of Chinese cabbage[J]. *Plant Nutrition and
Fertilizer Science*, 2016, 22(3): 744-751.
- [22] 于会丽, 司鹏, 邵微, 乔生完, 高登涛, 杨晓静, 王志强. 喷施钙肥对桃钙养分吸收和品质的影响[J]. 中国农学通报, 2016, 33(22): 63-67.
- YU Huili, SI Peng, SHAO Wei, QIAO Xiansheng, GAO Deng-
tao, YANG Xiaojing, WANG Zhiqiang. Effects of spraying calci-
um fertilizer on calcium content and quality of peach[J]. Chi-
nese Agricultural Science Bulletin, 2016, 33(22): 63-67.
- [23] 丁双双, 李燕婷, 袁亮, 赵秉强, 林治安, 李娟, 杨相东, 张建君, 高建昌. 小分子有机物螯合钙肥对樱桃番茄产量、品质和养分吸收的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2015(5): 61-66.
- DING Shuangshuang, LI Yanting, YAN Liang, ZHAO Bingq-
iang, LI Zhian, LI Juan, YANG Xiangdong, ZHANG Jianjun,
GAO Jianchang. Effects of small molecular organics chelated
calcium fertilizer on cherry tomato yield, quality and nutrients
absorption[J]. *Soils and Fertilizers Sciences in China*, 2015(5):
61-66.
- [24] HUANG X, HOU L, MENG J, YOU H, LI Z, GONG Z, YANG S, SHI Y. The antagonistic action of abscisic acid and cytokinin
signaling mediates drought stress response in *Arabidopsis* [J]. *Molecular Plant*, 2018, 11(7): 970-982.
- [25] CORTLEVEN A, LEUENDORF J E, FRANK M, PEZZETTA D, BOLT S, SCHMÜLLING T. Cytokinin action in response to
abiotic and biotic stress in plants[J]. *Plant, Cell & Environment*,
2018, 42(3): 998-1018.
- [26] HARE P D, CRESS W A, STADEN J V. The involvement of cy-
tokinins in plant responses to environmental stress [J]. *Plant
Growth Regulation*, 1997, 23(1/2): 79-103.
- [27] YU L, MA J C, NIU Z M, BAI X T, LEI W L, SHAO X M,
CHEN N N, ZHOU F F, WAN D S. Tissue-specific transcript-
ome analysis reveals multiple responses to salt stress in *Popu-
lus euphratica* seedlings [J]. *Genes*, 2017, 8(12): 372.