

# 乙烯释放剂对烟草抗氧化系统的影响

胡存彪<sup>1</sup>,葛莎婷<sup>1</sup>,樊超群<sup>1</sup>,彭剑涛<sup>1,2</sup>

(1. 贵州大学 生命科学学院, 贵阳 550025; 2. 贵州省烟草品质研究重点实验室, 贵阳 550025)

**摘 要:**采用不同浓度乙烯利处理烟草 K326 品种幼苗叶片,探索外源乙烯对其叶片中酶促和非酶促活性氧(ROS)清除系统的影响.结果表明,适当浓度的乙烯利处理可提高烟草 K326 品种幼苗叶片内抗坏血酸(AsA)和谷胱甘肽(GSH)含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性.试验证实外源乙烯能够明显增强烟草 K326 的抗氧化能力,为进一步研究乙烯在胁迫应答以及提高植物抗逆性过程中的作用奠定了一定的基础.

**关键词:**乙烯利;烟草;活性氧;清除系统

**中图分类号:**S572

**文献标志码:**A

植物在有氧代谢过程中不可避免地会产生化学性质活泼的活性氧(reactive oxygen species, ROS),其主要存在形式有过氧化氢( $H_2O_2$ )、羟基自由基( $\cdot OH$ )、超氧阴离子自由基( $O_2^-$ )等. ROS 在植物的生命过程中起着有利和有害的双重作用<sup>[1]</sup>. 在正常生长过程中,植物体内 ROS 生成与清除处于动态平衡状态. 当植物遭受胁迫时,产生的过量 ROS 便会对细胞造成氧化伤害. 植物体具有一整套抗氧化系统来抵御活性氧的伤害,主要包括抗坏血酸(AsA)、谷胱甘肽(GSH)、生育酚(Ve)、类黄酮等小分子还原性物质,以及过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)等抗氧化酶类<sup>[2]</sup>.

乙烯合成及乙烯信号途径在调控植物逆境胁迫反应过程中具有重要作用<sup>[3]</sup>. 柯德森等<sup>[4]</sup>认为,乙烯对植物生理过程的调节机制之一是通过影响活性氧清除酶活性来调节植物体内活性氧水平. 常博文<sup>[5]</sup>的研究表明,乙烯利会抑制 ROS 并促进长春花各类抗氧化酶含量增加. 刘子记等<sup>[6]</sup>研究表明,一定浓度的乙烯利水剂可以增强 SOD 和 POD 的活性. 张骁等<sup>[7]</sup>认为,干旱胁迫时采用外源乙烯利处理能够改善植物的水分状况,刺激植物体内保护物质的合成和累积,稳定膜结构. 在玉米幼苗干旱产生前用乙烯利处理能增强玉米幼苗的抗旱性<sup>[8]</sup>. 本文通过外源乙烯释放剂处理烟草 K326 品种幼苗叶片,研究乙烯对叶片中酶促和非酶促活性氧清除系统的影响,探讨其相互关系,为探索提高植物的抗性提供一条有效途径.

## 1 材料和方法

### 1.1 材料培养与处理

供试植物材料为烟草 K326 品种幼苗,采用 1/2Hoagland 营养液于温室中(温度 22 ℃,光期 12 h/暗期 12 h)用育苗盘漂浮培养,试验材料每次育苗 4 盘,每盘 120 株. 株高 20 cm 时分别用 5 00 mg · L<sup>-1</sup>、1 000 mg · L<sup>-1</sup>、1 500 mg · L<sup>-1</sup>的乙烯利溶液 80 mL 叶面喷施处理,对照组以等量蒸馏水代替,每个处理各一盘. 处理后第 1 d、4 d、7 d、10 d 取样测定各项指标. 取样方法为取顶部以下第 5 片叶,每个指标取样 6 片,去主叶脉后剪碎混匀称量,每次 3 个平行,所有试验在相同条件下重复 2 次,试验数据采用 Excel 2003 和 DPS 7.05 软件处理.

收稿日期:2014-11-11

基金项目:贵州大学引进人才基金[贵大人基合字(2010)023 号];贵州省烟草专卖局项目[中烟黔科(2011)02 号].

作者简介:胡存彪(1990-),男,安徽安庆人,贵州大学在读硕士研究生,研究方向:发育生物学.

通信作者:彭剑涛,男,博士,贵州大学副教授,主要从事植物生理学研究,E-mail:jt\_peng@126.com.

## 1.2 测定项目与方法

AsA 和 GSH 含量参照陈建勋等<sup>[9]</sup>的方法测定. CAT 活性采用紫外分光光度法<sup>[9]</sup>测定. SOD 活性采用氮蓝四唑(NBT)光还原法<sup>[10]</sup>测定,以能抑制反应 50%的酶量为一个 SOD 酶单位. POD 活性采用愈创木酚比色法<sup>[10]</sup>测定,以每分钟 OD 变化值表示酶活性大小.

## 2 结果与讨论

### 2.1 乙烯利对非酶促 ROS 清除系统的影响

#### 2.1.1 烟草 K326 幼苗叶片 AsA 含量

随乙烯利处理浓度的增加烟草 K326 幼苗叶片内 AsA 含量呈上升趋势,各处理 AsA 含量均高于对照组(见表 1). 处理后 AsA 含量还随时间变化,1 000 mg · L<sup>-1</sup>和 1 500 mg · L<sup>-1</sup>乙烯利处理后 7 d AsA 含量达到最高,分别为对照组的 151.8%和 155.3%;500 mg · L<sup>-1</sup>乙烯利处理后 10 d AsA 含量达到最高水平,为对照组的 141.1%. 何文亮等<sup>[11]</sup>认为,抗坏血酸能减轻 ROS 对植物的伤害、调节抗氧化酶活性,增强植物的抗逆能力. 本试验结果表明外源乙烯能促进烟草 K326 幼苗叶片内 AsA 积累,从而增强其保护功能.

表 1 烟草 K326 幼苗叶片 AsA 含量 mg · g<sup>-1</sup> FW

乙烯利浓度/(mg · L <sup>-1</sup> )	处理天数/d			
	1	4	7	10
0(CK)	1.45 ± 0.06	1.46 ± 0.04	1.45 ± 0.04	1.45 ± 0.04
500	1.79 ± 0.05*	1.71 ± 0.09	1.91 ± 0.12**	2.05 ± 0.09**
1 000	1.83 ± 0.14*	1.88 ± 0.09**	2.21 ± 0.10**	2.02 ± 0.06**
1 500	2.04 ± 0.06**	1.91 ± 0.09**	2.26 ± 0.06**	2.10 ± 0.05**

注:(1)表中数据为 6 组重复数据平均值 ± 标准差;(2)同一列中实验组与对照组相比,\*表示差异显著( $p < 0.05$ ),\*\*表示差异极显著( $p < 0.01$ ).下同.

#### 2.1.2 烟草 K326 幼苗叶片 GSH 含量

随着处理浓度的增加,烟草 K326 幼苗叶片内 GSH 含量呈增加趋势(见表 2). 1 500 mg · L<sup>-1</sup>乙烯利处理后 1 d GSH 含量极显著高于对照组,达到了对照组的 151.1%. 乙烯利处理后叶片内 GSH 含量迅速增加,表明 GSH 响应外源乙烯的速度比 AsA 快. 由于 GSH 在植物胁迫响应中的作用与其胞内浓度、氧化还原状态的比率以及与其生物合成及代谢相关的酶类活性的提高或诱导密切相关<sup>[12]</sup>,初步推断外源乙烯处理后 GSH 含量的增加使得烟草 K326 幼苗抵御胁迫的能力增强. 总体而言,AsA 和 GSH 含量的增加可使 AsA-GSH 抗氧化循环系统能力增强,从而增强了烟草 K326 幼苗抵御逆境的能力.

表 2 烟草 K326 幼苗叶片 GSH 含量 mg · g<sup>-1</sup> FW

乙烯利浓度/(mg · L <sup>-1</sup> )	处理天数/d			
	1	4	7	10
0(CK)	0.48 ± 0.08	0.47 ± 0.13	0.48 ± 0.04	0.49 ± 0.07
500	0.56 ± 0.09	0.48 ± 0.12	0.48 ± 0.08	0.59 ± 0.12
1 000	0.59 ± 0.10	0.49 ± 0.09	0.47 ± 0.07	0.55 ± 0.12
1 500	0.72 ± 0.13**	0.49 ± 0.16	0.52 ± 0.10	0.57 ± 0.10

### 2.2 乙烯利对酶促 ROS 清除系统的影响

#### 2.2.1 烟草 K326 幼苗叶片 SOD 活性

烟草 K326 幼苗叶片中 SOD 活性随着处理浓度的升高而增加(见表 3). 500 mg · L<sup>-1</sup>乙烯利处理后 10 d SOD 活性极显著高于对照组,1 000 mg · L<sup>-1</sup>和 1 500 mg · L<sup>-1</sup>乙烯利处理后 10 d SOD 活性均显著高于对照组. 且同一处理浓度下,随着处理时间的延长叶片中的 SOD 活性也相应增强. 陈鸿鹏等<sup>[13]</sup>认为逆境条件下植物体内维持较高的 SOD 活性水平有利于提高植物抗性,而 Lee 等<sup>[14]</sup>则认为 SOD 活性的增加会引起 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的积累. 因此 SOD 活性在处理早期的相对稳定,无疑避免了 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的积累,而在处理后期升高较快,则可以和其他系统相互作用,为提高植物的抗逆性提供了得天独厚的条件.

表3 烟草 K326 幼苗叶片 SOD 活性 (U · g<sup>-1</sup> FW)

乙烯利浓度/(mg · L <sup>-1</sup> )	处理天数/d			
	1	4	7	10
0(CK)	61.13 ± 5.29	61.14 ± 3.71	61.10 ± 2.35	61.14 ± 1.36
500	61.24 ± 3.95	64.86 ± 6.20	65.40 ± 2.26	68.32 ± 3.19**
1 000	61.42 ± 4.35	62.65 ± 5.31	65.01 ± 2.39	67.84 ± 3.86*
1 500	64.29 ± 2.41	64.07 ± 8.44	66.97 ± 3.83*	67.73 ± 2.65*

### 2.2.2 烟草 K326 幼苗叶片 POD 活性

随着处理浓度的增加烟草 K326 幼苗叶片中 POD 活性明显上升(见表4),处理4 d后各实验组 POD 活性均极显著高于对照组.其中各浓度乙烯利处理后第4 d POD 活性达到最高水平,分别达到了对照组的230.1%、297.5%和312.4%.所有指标中 POD 活性的变化最明显,这与很多逆境胁迫条件下的研究相似. POD 活性的增强有利于过氧化物的及时清除,无疑增强了植株耐受恶劣环境的能力.

表4 烟草 K326 幼苗叶片 POD 活性 (OD<sub>470</sub> · g<sup>-1</sup> FW · min<sup>-1</sup>)

乙烯利浓度/(mg · L <sup>-1</sup> )	处理天数/d			
	1	4	7	10
0(CK)	17.68 ± 1.64	20.18 ± 3.84	17.00 ± 0.83	19.40 ± 3.50
500	25.89 ± 2.33*	46.43 ± 6.16**	35.96 ± 3.33**	37.99 ± 3.85**
1 000	39.76 ± 5.40**	60.04 ± 9.35**	42.74 ± 3.75**	50.54 ± 3.61**
1 500	44.90 ± 7.86**	63.05 ± 10.84**	58.76 ± 3.78**	56.12 ± 6.02**

### 2.2.3 烟草 K326 幼苗叶片 CAT 活性

同一处理浓度下,烟草 K326 幼苗叶片中的 CAT 活性呈先降后升的趋势(见表5),1 000 mg · L<sup>-1</sup> 乙烯利处理后第7 d CAT 活性降低极显著,仅为第一天的79.2%.各浓度乙烯利处理后10 d实验组 CAT 活性又显著升高. CAT 活性的变化趋势与其他清除酶体系不同,但其先降低后升高的趋势与 SOD 活性的变化以及上述 Lee 等<sup>[14]</sup>所得到的结论很好地吻合,说明只有各个系统相互协调,才能最大限度地保护植物免受逆境伤害.

表5 烟草 K326 幼苗叶片 CAT 活性 (U · g<sup>-1</sup> FW · min<sup>-1</sup>)

乙烯利浓度/(mg · L <sup>-1</sup> )	处理天数/d			
	1	4	7	10
0(CK)	71.29 ± 3.43	71.26 ± 5.11	71.21 ± 6.70	71.31 ± 6.42
500	65.23 ± 5.36	61.43 ± 5.66*	68.62 ± 3.13	86.48 ± 4.24**
1 000	71.92 ± 3.43	65.37 ± 7.93	56.41 ± 3.43**	82.16 ± 3.13*
1 500	62.41 ± 3.13	59.82 ± 5.11*	64.28 ± 5.15	86.77 ± 3.65**

## 3 结 论

乙烯利是一种重要的植物生长调节剂,在农业生产与园艺上的应用十分广泛,常被用于果实催熟.由于乙烯在植物胁迫应答中具有重要作用<sup>[15]</sup>,因此可以利用乙烯利处理诱导植物胁迫相关基因表达,进而影响植物体内活性氧清除系统来调节植物耐受胁迫的能力.本研究发现外源乙烯明显增强了烟草 K326 幼苗的抗氧化能力.因此,适当浓度的外源乙烯处理,既能增强植株抗氧化能力,又能保证其不被高浓度乙烯所伤害,为提高植物的抗性提供了一条有效途径.植物通过一系列复杂的胁迫应答网络调控对环境的适应,活性氧清除系统是其中重要的一环.若要系统而全面地了解乙烯对活性氧清除系统的影响以及他们相互间的作用机制,还必须进一步利用分子生物学手段,从基因表达调控层面入手,探究乙烯与活性氧清除系统之间信号转导途径的关系.

## 参 考 文 献

- [1] 林植芳,刘楠.活性氧调控植物生长发育的研究进展[J].植物学报,2012,47(1):74-86.
- [2] 杜秀敏,殷文璇,赵彦修,等.植物中活性氧的产生及清除机制[J].生物工程学报,2001,17(2):121-125.
- [3] 卢丞文,潘晓琪.乙烯信号转导及其在植物胁迫应答中的作用[J].吉林农业,2012(9):261.
- [4] 柯德森,王爱国,罗广华.活性氧在外源乙烯诱导内源乙烯产生过程中的作用[J].植物生理学报,1997,23(1):67-72.

- [5] 常博文. 外源乙烯对长春花生生长及生物碱积累的影响[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2012.
- [6] 刘子记,牛玉,杨衍,等. 乙烯利对甜椒幼苗植物学性状及生理指标的影响[J]. 广东农业科学,2012,(23):25-29.
- [7] 张骁,荆家海,卜芸华,等. 2,4-D和乙烯利对玉米幼苗抗旱性效应的研究[J]. 西北植物学报,1998,18(1):97-102.
- [8] 郭丽红,王定康,杨晓虹,等. 外源乙烯利对干旱胁迫过程中玉米幼苗某些抗逆生理指标的影响[J]. 云南大学学报:自然科学版,2004,26(4):352-356.
- [9] 陈建勋. 植物生理学实验指导[K]. 2版. 广州:华南理工大学出版社,2006.
- [10] 张志良. 植物生理学实验指导[K]. 4版. 北京:高等教育出版社,2009.
- [11] 何文亮,黄承红,杨颖丽,等. 盐胁迫过程中抗坏血酸对植物的保护功能[J]. 西北植物学报,2004,24(12):2196-2201.
- [12] MAYMJ, VERNOUXT, LEAVERC, et al. Glutathione homeostasis in plant: Implications for environmental sensing and plant development[J]. JExpBot,1998,49(321):649-667.
- [13] 陈鸿鹏,谭晓凤. 超氧化物歧化酶(SOD)研究综述[J]. 经济林研究,2007,25(1):59-65.
- [14] LEEDH,LEECB. Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber; in gel enzyme activity assays[J]. Plant Sci,2000,159(1):75-85.
- [15] MORGAN PW, DREW M C. Ethylene and plant response to stress[J]. PhysiolPlant,1997,100(3):620-630.

## Effects of Ethylene Releasing Agent on Antioxidant Systems of Tobacco

HU Cunbiao<sup>1</sup>, GE Shating<sup>1</sup>, FAN Chaoqun<sup>1</sup>, PENG Jiantao<sup>1,2</sup>

(1. College of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, China;

2. Guizhou Key Laboratory for Tobacco Quality Research, Guiyang 550025, China)

**Abstract:** The effects of exogenous ethylene on enzymatic and non-enzymatic active oxygen scavenging systems in tobacco K 326 seedling leaves were investigated by different concentrations of ethephon. The results showed that the content of AsA and GSH and the activities of SOD, POD and CAT in tobacco K326 seedling leaves increased with the rise of the sprayed ethephon concentrations. Exogenous ethylene significantly enhanced the antioxidant capacity of K326. Moreover, it provided an effective way to improve the resistance of plants.

**Keywords:** ethephon; tobacco; ROS; scavenge systems