

# 渗透胁迫下烤烟根和叶片中内源激素含量的变化

汪耀富, 张瑞霞, 胡筱岚, 靖军领

(河南农业大学 农学院, 郑州 450002)

**摘要:** 采用酶联吸附免疫测定(ELISA)技术分析了渗透胁迫下烤烟根和叶片中脱落酸(ABA)、生长素(IAA)、赤霉素(GA<sub>3</sub>)和异戊烯基腺嘌呤(iPA)4种内源激素含量的变化。结果表明,渗透胁迫下烤烟叶片水势降低,蛋白质含量增加,根和叶中ABA和iPA含量升高,IAA和GA<sub>3</sub>含量减少。培养液渗透势-0.5 MPa与-0.25 MPa两处理相比,前者烟叶水势和ABA含量较低,蛋白质及IAA、GA<sub>3</sub>和iPA含量较高,根中iPA和叶中ABA含量达到高峰及根中GA<sub>3</sub>含量出现低谷所需时间较短,其它指标的变化二者同步。根与叶中激素含量相比,在胁迫处理前期(6 h)根中IAA和GA<sub>3</sub>含量的降低幅度较大,ABA含量峰值出现较早,说明烤烟根中的激素对渗透胁迫的反应更加敏感。

**关键词:** 烤烟; 内源激素; 渗透胁迫

**中图分类号:** S572.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-2242(2005)06-0086-04

## Changes of Endogenous Phytohormones Content in Root and Leaf of Flue-cured Tobacco Under Osmotic Stress

WANG Yao-fu, ZHANG Rui-xia, HU Xiao-lan, JING Jun-ling

(College of Agronomy, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002)

**Abstract:** The method of enzyme-linked immunosorbant assay (ELISA) was employed to determine the changes of abscisic acid (ABA), indoleacetic acid (IAA), gibberellin (GA<sub>3</sub>) and zeatin (iPA) contents in flue-cured tobacco roots and leaves under osmotic stress. The results showed that leaf water potential declined and leaf protein content increased under osmotic stress. It was also found that the content of ABA and iPA in the roots and leaves was increased and that of IAA and GA<sub>3</sub> was decreased significantly. Lower leaf water potential and ABA content and higher content of protein and IAA, GA<sub>3</sub>, iPA in the leaves of plants treated with solute osmotic potential at -0.5 MPa was observed as compared to those with solute osmotic potential of -0.25 MPa. Moreover, the time was shorter for the former treatment when iPA content in roots and ABA content in leaves reached the peak, while GA<sub>3</sub> concentration in roots declined to the valley. However, the changes of the other indices in roots and leaves were synchronous. The results also showed that the decrease of IAA and GA<sub>3</sub> content in the roots was more significant and the increase of ABA content was more rapid as compared with the leaves at the early stress stage (6 h). It suggested that the response of endogenous phytohormones in flue-cured tobacco roots to osmotic stress was more susceptible than that in the leaves.

**Key words:** flue-cured tobacco; endogenous phytohormone; osmotic stress

烟草是重要的经济作物,干旱是烟叶适产优质的一大障碍。近年来,在植物内源激素与其抗旱性关系的研究方面已经取得了长足的进展,其中研究较多的是ABA,而对其它激素的研究不多,且在不同作物上的研究结果也不一致<sup>[1]</sup>。不少研究表明,在水分胁迫下植物体内ABA浓度升高,使其渗透调节能力增强,叶片气孔导度下降<sup>[2,3]</sup>。由于植物对干旱的反应常常受多种激素的影响,而不仅仅是一种激素的作用<sup>[4]</sup>,因此系统研究水分胁迫下植物体内激素含量的变化对于揭示植物对干旱的适应机理具有重要意义。目前对水分胁迫下烟草体内激素含量的变化尚少见报道。本试验以烤烟为材料,用聚乙二醇(PEG)作为渗透剂,采用ELISA测定了渗透胁迫下烤烟根系和叶片中ABA、IAA、GA<sub>3</sub>和iPA含量的变化动态,旨在探讨内源激素与烟草抗旱性的关系,以期作为作物抗旱性的深入研究提供依据。

收稿日期:2005-07-24

基金项目:国家烟草专卖局资助项目“烤烟优化灌溉理论和技术的研究与应用”(110200302009)

作者简介:汪耀富,男,生于1964年,博士,副教授。主要从事烟草栽培生理方面的研究,发表论文50余篇。E-mail: yaofuwang@163.com

## 1 材料与方法

### 1.1 材料培养与处理

试验于2004年3~5月份进行。取6叶期健壮幼苗(品种为NC89),移栽于5 L黑色塑料小桶中,用Hongland完全营养液培养,每天以光照强度 $185\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 的培养灯照射14 h,昼夜温度控制在 $26/18\text{C}$ 。50天后,用聚乙二醇(PEG6000)作渗透剂,设渗透势为0 MPa(CK), $-0.25\text{ MPa}$ (T1)和 $-0.5\text{ MPa}$ (T2)3个水分胁迫处理,重复3次,每个处理10株。分别在处理后6,12,18,24 h取样进行测定。其中叶片样品取上部第一片完全展开叶;根系样品取根尖部3 cm的根。

### 1.2 测定方法

烟叶可溶性蛋白质含量用考马斯亮蓝法测定<sup>[5]</sup>;叶片水势用小液流法测定<sup>[5]</sup>;内源激素测定:取0.5 g鲜烟叶或根尖样品,加2 ml预冷的80%甲醇,在冰浴下研磨成匀浆,转入10 ml试管,再用2ml提取液分次将研钵冲洗干净,一并转入试管中,摇匀后放置在冰箱中, $4\text{C}$ 下提取4 h, $1\ 000\text{ g}$ 离心15 min(离心机型号LDZ5-2),取上清液;沉淀中加1 ml提取液,重复提取1 h,合并上清液并记录体积,弃去残渣。吸取上清液过Sep-PakC18胶柱除去色素,转入5 ml塑料离心管中,用氮气吹干,除去提取液中的甲醇,采用ELISA法测定激素含量<sup>[6]</sup>,试剂盒购自中国农业大学。所有指标都按3次重复取样测定,取其平均值,计算标准差。

## 2 结果与分析

### 2.1 渗透胁迫对烤烟叶片水势的影响

渗透胁迫下烟叶水势下降,而且胁迫程度越高、时间越长,烟叶水势降低幅度越大(图1)。在渗透处理前烟叶水势在 $-0.6\text{ MPa}$ 左右,处理6h后烟叶水势即开始明显下降,渗透处理24 h,T1和T2处理烟叶的水势分别降低至 $-1.63\text{ MPa}$ 和 $-1.95\text{ MPa}$ ,分别比对照下降1.7倍和2.3倍。可见烟叶水势对渗透胁迫的反应非常敏感。

### 2.2 渗透胁迫对烤烟叶片蛋白质含量的影响

渗透胁迫下烟叶可溶性蛋白质含量呈现先上升后下降的变化趋势(图2)。胁迫处理6h后烟叶蛋白质含量开始显著增加,而且T2的增加幅度大于T1;至处理18 h烟叶蛋白质含量达到高峰,此时T1和T2分别比对照增加1.3倍和1.6倍;之后烟叶蛋白质显著下降。在胁迫处理24 h时,T1和T2的蛋白质含量差异不大,但仍高于对照。说明烟叶可溶性蛋白质含量对渗透胁迫的反应也是比较敏感的。

### 2.3 渗透胁迫对烤烟根和叶片激素含量的影响

**2.3.1 对ABA含量的影响** 渗透胁迫下烤烟根和叶片中ABA含量的变化趋势一致,均呈现先增加后降低的规律性,但根系中ABA含量高峰出现时间早于叶片(图3)。胁迫处理6h,T1和T2的根中ABA含量都显著增加,二者分别比对照高197.3%和89.2%;之后逐渐下降,到24 h两个胁迫处理ABA含量都降低到接近对照水平。叶中ABA含量表现为T1在处理6h明显增加,18 h达到最大值,然后显著下降,其峰值比对照提高1.4倍;T2在6 h含量变化不大,12 h出现一个高峰,之后有下降的趋势,峰值比对照增加64.6%。胁迫处理24 h,各处理烟叶ABA含量与对照的差异都较小。两个胁迫处理相比较,在6~18 h,T1处理根和叶片中ABA含量均明显高于T2。

**2.3.2 对IAA含量的影响** 渗透胁迫下烤烟根和叶片中IAA含量都显著降低,且胁迫程度越大、时间越长,下降幅度越大(图4)。胁迫处理6h,根和叶片中IAA含量都明显减少,但根中下降幅度更大,此时T1和T2根中IAA浓度分别比对照降低39.8%和76.6%,叶片分别下降18.2%和35.8%;胁迫处理12 h,T1和T2根中IAA含量变化都不大,而叶片含量持续下降,IAA浓度分别比对照降低46.2%和56.7%;随胁迫时间进一步延长,T1和T2根中IAA含量有进一步降低的趋势,而叶片的变化幅度较小;胁迫处理24h,T1和T2根中IAA浓度分

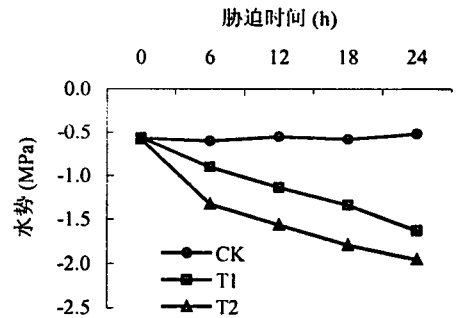


图1 渗透胁迫对烤烟叶片水势的影响

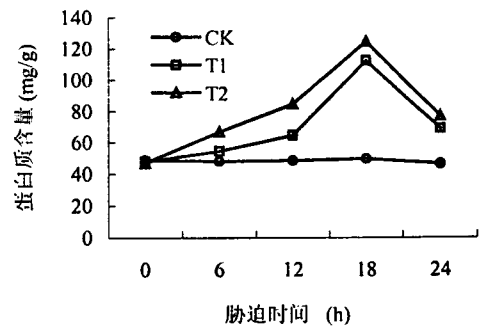


图2 渗透胁迫对烤烟叶片蛋白质含量的影响

别比对照下降75.5%和78.9%，叶片分别减少49.2%和59.7%。说明渗透胁迫下烤烟根和叶片中 IAA 含量的变化趋势基本一致，但根中 IAA 对水分胁迫的反应较叶片敏感。

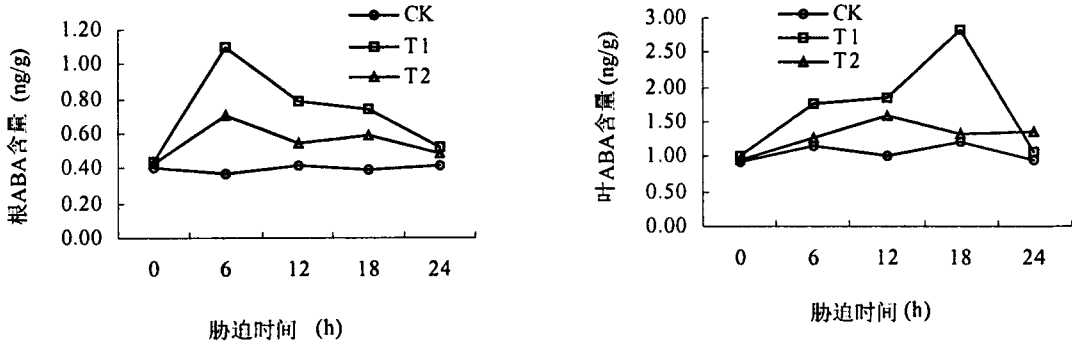


图3 渗透胁迫对烤烟根和叶片中 ABA 含量影响

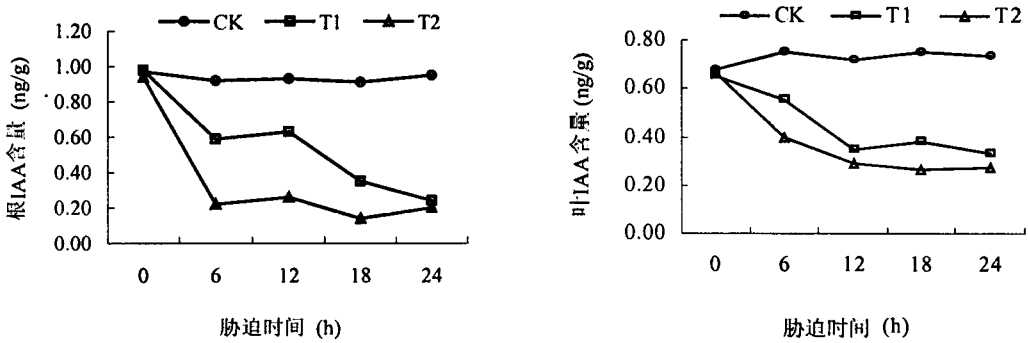


图4 渗透胁迫对烤烟根和叶片中 IAA 含量影响

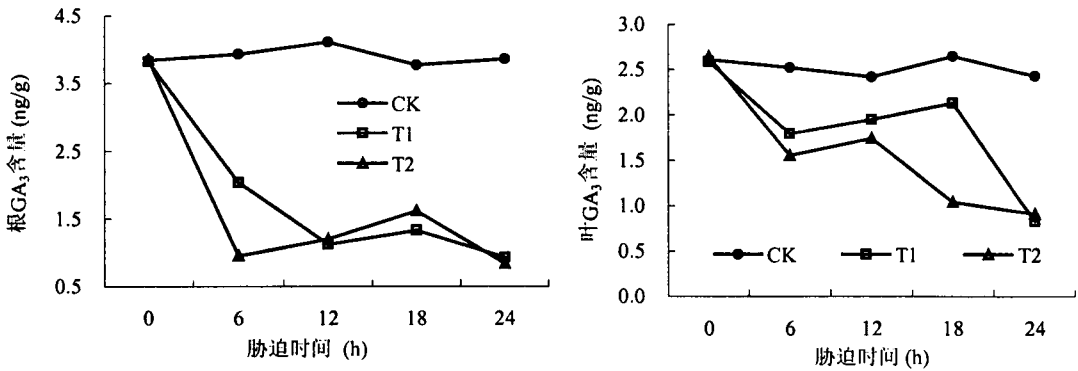


图5 渗透胁迫对烤烟根和叶片中 GA<sub>3</sub> 含量影响

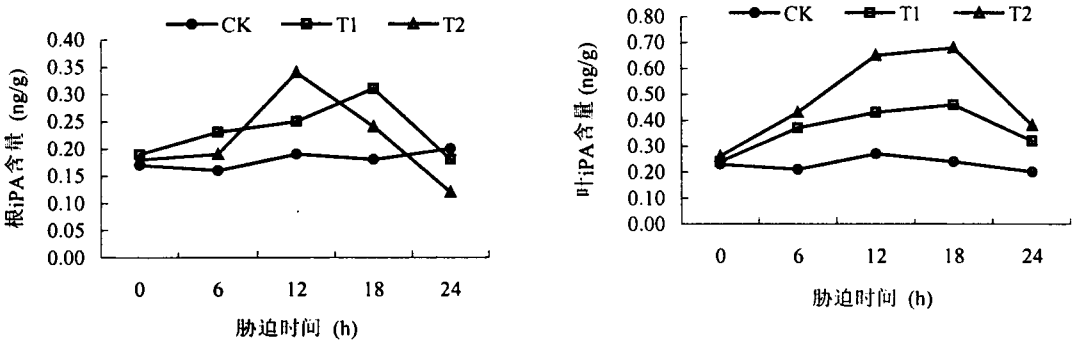


图6 渗透胁迫对烤烟根和叶片中 iPA 含量影响

2.3.3 对 GA<sub>3</sub>含量的影响 不同渗透胁迫处理烟叶根和叶片中 GA<sub>3</sub>的变化趋势与 IAA 基本一致(图5)。T1在胁迫处理12 h内根中 GA<sub>3</sub>浓度显著下降,12 h时比对照降低70.3%,在18h略有增加,但变化幅度较小;T2在胁迫6 h根中 GA<sub>3</sub>浓度就基本降低至最低点,比对照减少75.8%,胁迫处理12~18 h虽有所回升,但变化幅度

不大。胁迫处理12 h以后，T1和 T2的  $GA_3$  含量差异很小。叶片  $GA_3$  含量的变化表现为，胁迫处理6 h时 T1和 T2都明显降低，且 T2的下降幅度略大于 T1；12 h后 T2的  $GA_3$  含量进一步降低，而 T1在18 h后才继续下降；胁迫处理24 h，T1和 T2叶片中  $GA_3$  含量都降低至最低点，且二者数值接近。

2.3.4 对 iPA 含量的影响 渗透胁迫下烤烟根和叶片中 iPA 的含量都有所升高，但不同胁迫强度处理的变化趋势有一定差异(图6)。T1处理根中 iPA 浓度在18 h达到高峰，之后快速下降，而 T2在12 h含量达到高峰，此后降低。在胁迫处理12h和18h，T2和 T1的 iPA 含量分别比对照增加78.9%和72.2%。不同胁迫处理叶片中 iPA 含量的变化趋势与可溶性蛋白质含量的变化相一致，在18h前 T1和 T2均呈逐渐增加的趋势，且 T2的含量高于 T1，二者分别比对照增加183.3%和91.7%；18h以后两处理的 iPA 含量明显下降，但在24 h时仍略高于对照。

### 3 讨 论

本试验结果表明，渗透胁迫下烤烟叶片水势显著降低，而且胁迫程度越重、时间越长，水势下降幅度越大。这可能是渗透胁迫下营养液与烟株系统中水分传导阻力增大，运输速度减慢，难以满足叶片蒸腾对水分的需求所造成的，与干旱胁迫下烟叶水势的变化结果是一致的<sup>[7]</sup>。

植物的抗旱能力是由基因表达所控制的，表达的最终效应是一系列形态、生理生化及生物物理等方面的变化，从而显示出抗旱力，而这些效应的发生是受蛋白质(酶)直接控制的<sup>[8]</sup>。张惠研究表明，渗透胁迫下抗旱小麦品种成熟叶蛋白质合成受阻，降解增加，其合成受阻的主要原因是 mRNA 翻译的活性降低<sup>[9]</sup>；而于同泉等认为，小麦幼苗在水分胁迫强度和时间达到一定值时可溶性蛋白质含量明显增加<sup>[8]</sup>。本试验结果与后者相一致，随渗透胁迫程度增大和时间延长，烟叶中可溶性蛋白质含量显著增加(图2)，但胁迫时间过长(24 h)，蛋白质含量下降。表明在一定胁迫条件下烟草叶片也能通过产生应激蛋白(胁迫蛋白)，以增强烟株的渗透调节能力。随胁迫时间延长，烟叶细胞内生理生化代谢活动紊乱，造成蛋白质合成受阻，降解增加。

植物激素在植物抗旱中的作用早已引起人们关注，其中 ABA 的作用尤为突出。Muns 等发现，在水分胁迫下植物体内 ABA 水平迅速上升，ABA 的积累降低了气孔导度，减少了干旱条件下植物的水分散失<sup>[10]</sup>，表明 ABA 可调节叶片气孔开闭，减少植物体内水分蒸腾散失，提高植物的抗旱能力；同时 ABA 还可以启动叶片细胞质膜上的信号传导，促进蛋白质的合成<sup>[3]</sup>，诱导植物产生抗旱能力。本试验结果表明，在渗透势为-0.25MPa时，胁迫处理6h 烟草根中 ABA 含量迅速积累，同时叶片 ABA 含量也开始增加，18h后根中 ABA 浓度有所下降，但叶中 ABA 含量显著升高(图3)。这种根中 ABA 含量高峰出现时间早于叶片的变化特点，说明渗透胁迫促进了根中 ABA 的合成，并且 ABA 可作为干旱信号通过木质部运输到地上部，使叶片 ABA 含量相应增加，从而调节叶片的生理生化代谢过程，以适应胁迫的影响。胁迫处理期间叶片 ABA 含量的增加也可能与其在叶中的合成能力增强有关，需要进一步研究。ABA 含量与烟叶可溶性蛋白质含量呈正相关，与烟叶水势呈负相关，显示 ABA 参与了叶片蛋白合成和水分代谢的调节。有证据表明，干旱胁迫能诱导植物特定的胁迫蛋白产生，而这些蛋白的合成受 ABA 的调节<sup>[11]</sup>。ABA 可以提高植物的渗透调节能力<sup>[1]</sup>，烟草叶片在低水势下高浓度的 ABA 积累反映了其抗旱能力的增强。本试验中渗透势-0.5MPa 处理烟草根和叶中 ABA 浓度较低，T1和 T2在胁迫处理24 h，根和叶片中 ABA 含量都显著下降，说明胁迫程度过重，破坏了烟株的自我调节能力。

水分胁迫下不同植物内 IAA、 $GA_3$  和 iPA 含量变化不一致。干旱使含羞草和沙棘 IAA 含量下降<sup>[7,11]</sup>，而棉花叶片 IAA 含量显著增加<sup>[12]</sup>。水分胁迫引起荔枝叶片  $GA_3$  含量降低<sup>[13]</sup>；甘薯叶片 iPA 含量减少<sup>[4]</sup>，小麦幼苗 iPA 含量呈高低节奏性变化<sup>[14]</sup>。本试验结果表明，渗透胁迫下烟草根和叶内 IAA、 $GA_3$  含量显著下降，而 iPA 含量明显增加，这与他人的研究结果不同<sup>[5,14]</sup>。在胁迫处理前期(6 h)，根中 IAA 和  $GA_3$  降低幅度大于叶片，说明根中 IAA 和  $GA_3$  对水分胁迫的反应较叶片更加敏感。渗透胁迫下烤烟叶片中 iPA 含量的变化与蛋白质含量的变化趋势完全一致，表明 iPA 也参与了烟草水分胁迫蛋白的合成。因为 iPA 对于识别 mRNA 上的密码是必须的，iPA 的存在可保持 tRNA 的活性，促使蛋白质生物合成的顺利进行<sup>[15]</sup>。由于 IAA、 $GA_3$  和 iPA 的主要生理作用是促进生长，而 ABA 则抑制生长，而且 IAA、 $GA_3$  和 iPA 促进生长的效应可以被 ABA 所抑制，因此，渗透胁迫下烟株体内激素含量的变化与其生长速率降低是吻合的<sup>[15]</sup>。

综上所述，渗透胁迫下烤烟根和叶片中 ABA 和 iPA 含量增加，参与调节烟株体内蛋白质的合成代谢和渗透调节过程，从而增强烟株的抗旱性。根和叶片中 IAA 和  $GA_3$  含量的降低是水分胁迫影响烟株生长的重要原因。渗透胁迫下烟株体内激素含量发生这些变化的机理有待进一步研究。

上接第89页

参考文献:

- [1] 利容千,王建波. 植物逆境细胞及生理学[M]. 武汉: 武汉大学出版社,2002. 11—52.
- [2] Ali M, Jensen C R, Mogensen V O, et al. Root signaling and osmotic adjustment during intermittent soil drying sustain grain yield of field grown wheat[J]. *Field Crop Research*,1999,62,35—52.
- [3] 陈玉玲,曹敏. 干旱条件下 ABA 与气孔导度和叶片生长的关系[J]. *植物生理学通讯*,1999,35(5):233—237.
- [4] 张明生,谢波,谈锋. 水分胁迫下甘薯内源激素的变化与品种抗旱性的关系[J]. *中国农业科学*,2002,35(5):498—501.
- [5] 赵会杰,刘华山,董新纯. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业科技出版社,1998.
- [6] 李宗庭. 植物激素及其免疫检测技术[M]. 南京:江苏科学技术出版社,1996.
- [7] 汪耀富,韩锦峰,林学梧. 烤烟生长前期对干旱胁迫的生理生化响应研究[J]. *作物学报*,1996,22(1):117—121.
- [8] 于同泉,等. 水分胁迫下小麦幼苗可溶性蛋白质的表现与小麦抗旱蛋白之初探[J]. *北京农学院学报*,1995,10(1):26—31.
- [9] 张惠. 渗透胁迫下小麦叶片蛋白质合成与降解的示踪研究[J]. *植物生理学报*,1999,17(3):259—266.
- [10] Muns R, Sharp R E. Involvement of abscisic acid in controlling plant growth in soil of low water potential[J]. *Australia Journal of Plant Physiology*, 1993,20:425—437.
- [11] 刘瑞香,杨 劫,高丽. 中国沙棘和俄罗斯沙棘叶片在不同土壤水分条件下脯氨酸、可溶性糖及内源激素含量的变化[J]. *水土保持学报*,2005,19(3):148—151.
- [12] 袁朝兴,丁静. 水分胁迫对棉花叶片 IAA 含量、IAA 氧化酶和过氧化物酶活性的影响[J]. *植物生理学报*,1990,16(2):179—180.
- [13] 陈立松,刘星辉. 水分胁迫对荔枝叶片内源激素含量的影响[J]. *热带作物学报*,1999, 20(3):31—35.
- [14] 陈玉玲. 黄腐酸对冬小麦幼苗 iPA 和 GA3 含量的影响[J]. *河北师范大学学报(自然科学版)*,1999,23(4):554—557.
- [15] 黄树辉,等. 烤田对土壤中氮素和与氮有关的酶活性影响[J]. *水土保持学报*,2005,19(3):148—151.