

谷胱甘肽对切花月季 ‘Samantha’ 失水胁迫耐性的影响

姜玉东¹, 王子华^{2,*}, 高俊平^{1,**}

(¹中国农业大学观赏园艺与园林系, 北京 100193; ²河北科技师范学院园艺园林系, 河北秦皇岛 066600)

摘要: 采用外源谷胱甘肽 (GSH) 及其生物合成关键酶 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶 (γ -ECS) 的专一抑制剂丁胱亚磺酰胺 (BSO) 分别处理切花月季 ‘Samantha’ 花枝基部, 以提高或降低花瓣中的 GSH 含量, 研究 GSH 对月季切花失水胁迫耐性的影响, 以及花瓣中抗坏血酸-谷胱甘肽 (AsA-GSH) 循环对失水胁迫的响应。结果表明: 提高花瓣中 GSH 的含量, 明显提高了失水胁迫 24 h 后切花的复水率, 延长了瓶插寿命; 相反, BSO 预处理降低了花瓣中的 GSH 含量, 从而降低了切花的失水胁迫耐性。GSH 预处理在明显提高失水胁迫和复水期间花瓣中 GSH 总含量和还原型 GSH 含量的同时也提高了抗坏血酸 (AsA) 的含量; AsA-GSH 循环中两个关键酶抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 和谷胱甘肽还原酶 (GR) 的活性也明显高于胁迫对照, 并且 MDA 的含量明显降低。BSO 预处理则产生相反的效果。这些结果表明, GSH 能够通过提高 AsA-GSH 循环的抗氧化能力来增强月季切花的失水胁迫耐性。

关键词: 月季; 切花; 失水胁迫; 谷胱甘肽; 谷胱甘肽还原酶; 抗坏血酸过氧化物酶

中图分类号: S 685.12

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2010) 04-0597-10

Effects of GSH on Tolerance to Water Deficit Stress in Cut Rose

JIANG Yu-dong¹, WANG Zi-hua^{2,*}, and GAO Jun-ping^{1,**}

(¹Department of Ornamental Horticulture and Landscape, China Agricultural University, Beijing 100193, China;
²Department of Horticulture and Landscape, Hebei Normal University of Science & Technology, Qinhuangdao, Hebei 066600, China)

Abstract: To investigate the effects of GSH on tolerance to water deficit stress (WDS) in cut rose ‘Samantha’ and the response of AsA-GSH cycle to WDS in petals of cut roses, we pretreated the stem bases of cut rose flowers with exogenous GSH and BSO, the specific inhibitor of GSH key biosynthetic enzyme γ -ECS, to increase or decrease GSH content of cut rose petals respectively. The results showed that GSH pretreatment increased water recovery rate after 24 h WDS and prolonged vase life significantly; On the contrary, BSO pretreatment decreased the GSH content of petals and then, reduced the tolerance to WDS in cut roses. GSH pretreatment increased the total GSH content and reduced GSH content of petals substantially during WDS and water recovery, as well as AsA content. GSH pretreatment promoted the activities of APX and GR, which were two key enzymes in AsA-GSH cycle, but MDA content decreased.

收稿日期: 2009-07-21; **修回日期:** 2010-04-02

基金项目: 国家科技攻关计划项目 (2004BA521B02)

****通信作者** Author for correspondence (E-mail: gaojp@cau.edu.cn; Tel: 010-62733848)

* 并列第一作者

Contrary results were obtained in BSO pretreatment. These results suggested that GSH enhanced the tolerance to WDS through the promotion of antioxidant capability of AsA-GSH cycle in cut roses.

Key words: rose; cut flower; water deficit stress; GSH; GR; APX

在采后流通过程中,月季切花经常遭受失水胁迫的伤害,引起切花瓶插寿命缩短、萎蔫、弯头或僵花等现象发生,从而影响切花的商品价值(唐雪梅等,1999)。

研究证明,干旱胁迫能够引起植物组织内的活性氧大量生成,从而造成氧化胁迫(Price & Hendry, 1991b; Smirnoff, 1993; Menconi et al., 1995; Sgherri & Navari-Izzo, 1995)。活性氧主要包括 O_2^- 、 H_2O_2 、 $\cdot OH$ 以及由不饱和脂肪酸过氧化生成的脂质过氧化物等。这些物质具有较强的还原性,能够破坏膜脂、蛋白质、核酸等多种细胞组分(Foyer et al., 1994)。切花在贮运的过程中,经常处于低光照或黑暗的失水胁迫条件下,水分胁迫能够影响呼吸链的电子传递,从而使 O_2^- 大量生成, O_2^- 可以进一步转化成 H_2O_2 (Jimenez, 1997)。在植物细胞中, H_2O_2 主要通过AsA-GSH循环和过氧化氢酶(CAT)分解(Noctor & Foyer, 1998)。其中,AsA-GSH循环是 H_2O_2 分解的主要途径(Willekens et al., 1995)。在该途径中,抗坏血酸过氧化物酶(APX)以抗坏血酸(AsA)为底物催化 H_2O_2 的分解,与此同时,AsA被氧化成单脱氢型抗坏血酸,再进一步转化成脱氢型抗坏血酸,随后被GSH还原成AsA,完成循环途径。

GSH是广泛存在于生物体内的抗氧化剂,不仅能够保护蛋白质中的-SH免遭氧化,而且还能通过AsA-GSH循环或谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)(EC1.11.1.19)、谷胱甘肽-S-转移酶(GST, EC 2.5.1.18)清除 H_2O_2 (Drotar et al., 1985)。GSH处于这些反应的中心地位(May et al., 1998; Noctor et al., 1998b),其含量是通过GR的催化来保障的。只要GSSG能够快速被GR还原,就能实现AsA的有效再生,从而保障APX对活性氧的清除。

通过提高抗氧化酶活性或抗氧化剂含量可以提高植物抗性。外源AsA预处理能够保持失水胁迫过程中月季切花的APX活性,从而提高切花对失水胁迫的耐性(金基石等,2006)。外源GSH可以提高水稻(华春等,2003)和大麦(陈沁和刘友良,2000)的抗盐性。在逆境胁迫下,植物可以通过调节GSH含量以及GSH/GSSG比例来适应不利环境(Alscher, 1989; Fadzilla et al., 1996)。一些耐旱植物如某些蕨类在胁迫条件下组织中的GSH合成增加(Kranner, 2002)。在杨树叶片中过量表达GSH合成关键酶 γ -ECS基因后,叶片中的GSH含量增加了两倍,对氧化胁迫的耐性也相应提高(Noctor et al., 1998a)。现已证实,拟南芥中的GSH生物合成代谢,可以在胁迫过程中通过几个信号途径调节抗氧化酶基因的表达水平,从而保护细胞免受胁迫伤害,并且可能起着决定性作用(Ball et al., 2004)。

本研究中通过外源GSH及其生物合成过程中的关键酶 γ -谷氨酰半胱氨肽合成酶(γ -ECS)的专一性抑制剂丁胱亚磺酰胺(BSO)处理月季切花‘Samantha’,以调节GSH的含量,从而研究花瓣中GSH含量的变化对月季切花失水胁迫耐性的影响,以及失水胁迫和复水瓶插过程中花瓣中AsA-GSH循环对胁迫的响应。

1 材料与方法

1.1 试材及其处理

试验于2002—2004年在中国农业大学进行。

试验用月季切花品种‘Samantha’取自北京市十八里店切花基地温室,开花级数为2级。采切

粗细均一的花枝, 立即插入水中, 在 2 h 内运回实验室, 按照花枝长度 30 cm、保留上部 2~3 片复叶的标准修剪。

花枝在蒸馏水中平衡 2 h 后, 在 8 °C 的避光培养箱中用蒸馏水 (胁迫对照)、2 mmol · L⁻¹ GSH 或 2 mmol · L⁻¹ BSO 溶液浸泡花枝基部预处理 12 h, 预处理后将花枝平放于瓶插室内的实验台面上进行失水胁迫处理, 以直接瓶插处理的花枝作为对照。瓶插室环境控制为温度 (20 ± 2) °C, 相对湿度 40%~60%, 荧光灯 80 μmol · m⁻² · s⁻¹ 光照 (每天光照和黑暗各 12 h)。

失水胁迫 24 h 后, 将花枝基部在水中剪去 5 cm 后复水瓶插。记录从瓶插开始到萎蔫前的天数, 即为花枝的瓶插寿命。

选取 10 支切花, 在失水过程中的 0、2、6、12、18、24 h 和复水过程中的 2、6、12、18、24 h 分别称取花枝质量, 用以计算花枝鲜质量变化率, 以与初始质量的差值占初始值的百分率表示。同时在各时间点分别取样, 称取 1.0 g 中层花瓣, 用铝箔纸包裹, 用液氮速冻后贮藏在 -80 °C 冰箱中, 用于测定 MDA 含量、AsA 总含量、还原型 AsA 含量、GSH 总含量和还原型 GSH 含量以及 APX 和 GR 的活性。

生理指标的测定均采用单朵花样本, 5 次重复。

1.2 测定方法

MDA 的测定采用硫代巴比妥酸 (TBAD) 比色法 (林植芳 等, 1984)。

将 1.0 g 花瓣用液氮研磨成细粉, 加入 5 mL 预冷的 5% 偏磷酸提取液摇匀, 4 °C 下提取 30 min 后, 4 °C 下 12 000 × g 离心 20 min, 上清液用于测定 AsA 和 GSH 的含量。

总抗坏血酸含量和脱氢型抗坏血酸含量的测定用 2, 4 - 二硝基苯肼比色法 (Merry et al., 2003): 以抗坏血酸做标准曲线。总 AsA 测定反应体系包括 0.15 mL 上清液, 5% 的偏磷酸, 0.006% 的 2, 6 - 二氯酚 (DCP), 0.8% 的硫脲, 0.4% 的 2, 4 - 二硝基苯肼 (DNP), 以不加 DNP 的作为对照。在 37 °C 下水浴反应 3 h 后, 加入 85% 的浓硫酸, 对照加入等量的 DNP, 显色后在 520 nm 下测定吸光值。氧化型 AsA 测定时, 用 5% 的偏磷酸代替 DCP, 其余同 AsA 测定。还原型抗坏血酸为总抗坏血酸与脱氢抗坏血酸含量的差值。

GSH 总含量的测定采用酶循环法 (Tietze, 1969), 上清液用 NaOH 中和为 pH 7.0, 用酵母 GR 催化反应, 用 DTNB (5, 5 - 二硫代双 (2 - 硝基苯甲酸)) 显色, 在 412 nm 波长下测定吸光值, 用同样的方法绘制 GSSG 标准曲线。用 2 - 乙基基嘧啶把上清液中的 GSH 结合掉, 同上测定 GSSG 的含量。还原型 GSH 的含量为二者的差值。

APX 活性测定参照 Nakano 和 Asada (1981) 的方法并稍作改进: 取 1.0 g 花瓣样品, 用液氮研磨, 加入 3 mL 预冷的 50 mmol · L⁻¹ K₂HPO₄-KH₂PO₄ 缓冲液 (pH 7.0, 含 0.1 mmol · L⁻¹ 的 EDTA-Na₂), 4 °C 下提取 30 min 后, 4 °C 下 12 000 × g 离心 15 min, 上清液为酶活性的测定液。测定时 3 mL 反应体系中含 50 mmol · L⁻¹ 的 K₂HPO₄-KH₂PO₄ 缓冲液 (pH 7.0), 0.1 mmol · L⁻¹ EDTA-Na₂, 0.3 mmol · L⁻¹ AsA, 1 mmol · L⁻¹ H₂O₂ 和 40 μL 酶液。用 H₂O₂ 启动反应后立即在 20 °C 下测定 10~30 s 的 OD₂₉₀ 值变化, 计算单位时间内 AsA 减少量。抗坏血酸含量的变化按消光系数 2.8 mmol · L⁻¹ · cm⁻¹ 计算, 酶活性用 AsA μmol · min⁻¹ · g⁻¹ FW 表示。

GR 活性测定采用 Gamble 和 Burble (1984) 的方法: 取 1.0 g 花瓣样品, 用液氮研磨, 加入 3 mL 0.1 mol · L⁻¹ 的 Tricine-NaOH (pH 7.8, 含有 1 mmol · L⁻¹ EDTA-Na₂) 缓冲液摇匀, 4 °C 下提取 30 min 后, 4 °C 下 12 000 × g 离心 15 min, 离心的上清液用于测定, 1 mL 反应体系中含有 40 mmol · L⁻¹ 的 Tricine 缓冲液, 0.1 mmol · L⁻¹ 的 NADPH 和 1 mmol · L⁻¹ 的 GSSG。用 GSSG 启动反应后记录 3 min 内 340 nm 下的 OD 值变化, NADPH 含量按消光系数 6.22 mmol · L⁻¹ · cm⁻¹ 计算, 酶活性用 NADPH μmol · min⁻¹

· g⁻¹ FW表示。

试验药品 GR、BSO、2 - 乙烯基嘧啶、DTNB、DCP 均购于 Sigma 公司。

2 结果与分析

2.1 花枝鲜质量的变化

月季切花预处理 12 h 后进行失水胁迫处理。蒸馏水预处理的对照花枝在胁迫 24 h 后鲜质量损失率达到 35.1%，GSH 和 BSO 预处理后，花枝的鲜质量损失率与胁迫对照没有显著差异。

复水 2 h 后，GSH 预处理的花枝鲜质量恢复到接近初始水平，而胁迫对照仅恢复到胁迫前的约 90%，BSO 预处理比胁迫对照还低约 6%。各处理之间的这种差异在复水过程中并未随着复水时间延长而缩小。复水瓶插 24 h 后，GSH 预处理的花枝质量已增加 10.3%，吸水量明显提高，胁迫对照的花枝鲜质量仅增加 5.3%，BSO 预处理仅增加 1.6%（表 1）。

表 1 GSH 和 BSO 预处理对切花月季 ‘Samantha’ 花枝鲜质量的影响（质量变化占初始值的百分率）
Table 1 Effects of GSH and BSO pretreatment on flower fresh weight of cut rose ‘Samantha’ /%

处理 Treatment	失水过程 Water deficit stress			复水过程 Water recovery			
	0 h	12 h	24 h	2 h	6 h	12 h	24 h
H ₂ O	7.1 a	-23.5 a	-35.1 a	-9.6 b	-6.1 b	-2.9 b	5.3 b
GSH	7.2 a	-22.4 a	-34.0 a	-3.2 a	1.1 a	8.9 a	10.3 a
BSO	6.8 a	-24.8 a	-34.5 a	-15.3 c	-11.8 c	-7.3 c	1.6 c

注：显著性分析采用 Duncan’s 多重检验法，每列中不同字母表示 0.05 水平显著。
Note: The different letters are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan’s multiple range test, $n = 30$.

2.2 花枝复水率和瓶插寿命

蒸馏水预处理的花枝在胁迫 24 h 后仅有 53.3%复水。GSH 预处理后，复水率提高了 26.7%，并且复水花枝瓶插寿命延长了 75%，而 BSO 预处理的花枝复水率比胁迫对照降低 26.6%，大部分花枝复水后表现为僵花或僵蕾，瓶插寿命缩短了 29%（表 2）。

表 2 GSH 和 BSO 预处理对切花月季 ‘Samantha’ 复水率、瓶插至盛开天数、盛开持续天数和瓶插寿命的影响
Table 2 Effects of GSH and BSO pretreatment on water recovery rate, days of vase to full opening, days of full opening to wilting and vase life in cut rose ‘Samantha’

处理 Treatment	复水率/% Water recovery rate	瓶插寿命/d Vase life	瓶插至盛开天数/d Vase to full opening	盛开持续天数/d Full opening to wilting
对照 Control	100.0	6.0 a	2.2 a	3.7 a
H ₂ O	53.3	2.8 c	1.0 b	2.0 b
GSH	80.0	4.9 b	1.1 b	3.8 a
BSO	26.7	2.0 d	1.2 b	0.8 c

注：显著性分析采用 Duncan’s 多重检验法，每列中不同字母表示 0.05 水平显著。
Note: The different letters are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan’s multiple range test, $n = 30$.

2.3 花瓣中MDA含量

由图 1 可知，蒸馏水预处理的花枝在失水胁迫 12 h 内，花瓣中的 MDA 含量平缓上升，随着失水胁迫程度加深，MDA 含量迅速上升，至失水 24 h 时达到最高。复水后 MDA 含量迅速下降，复

水 2 h 时降低了 21%, 此后变化平缓。

GSH 预处理后的花枝在胁迫前 12 h 内花瓣 MDA 含量基本没有变化, 此后虽有增加, 但增幅低于胁迫对照, 复水瓶插 24 h 后 MDA 含量恢复接近于没有胁迫的对照。

与 GSH 预处理相反, BSO 预处理的花枝在胁迫开始后, 花瓣中 MDA 含量增加幅度就高于胁迫对照, 到 24 h 时比胁迫对照高出 30%。

上述结果说明 GSH 合成被抑制后, 细胞膜脂过氧化程度增大, 在复水瓶插前期虽有所降低, 但仍保持高于胁迫对照的水平。

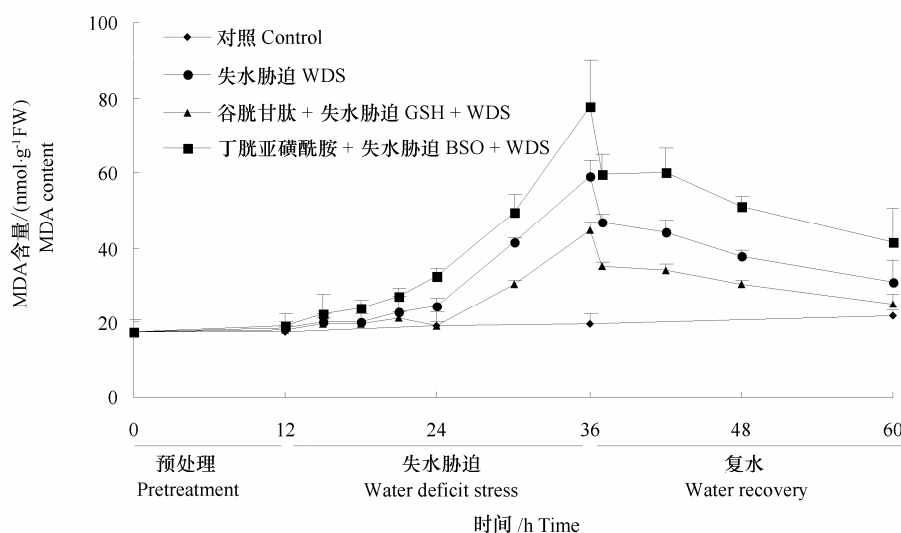


图 1 GSH 和 BSO 预处理对切花月季‘Samantha’失水胁迫和复水过程中花瓣 MDA 含量的影响

Fig. 1 Effects of GSH and BSO pretreatment on MDA content during WDS and WR in petals of cut rose ‘Samantha’

2.4 GSH和AsA含量

GSH 和 BSO 预处理有效调节了花瓣中 GSH 的总含量, 其中 GSH 预处理的花枝花瓣中 GSH 总含量比蒸馏水预处理的增加了 54%, 而 BSO 预处理则降低了 65%。胁迫开始后, 蒸馏水预处理的胁迫对照 GSH 总含量在胁迫后 18 h 后达到高峰, 而在胁迫结束时下降到低于胁迫初始时的水平, 在复水后 24 h 内变化不大。GSH 预处理后, 花瓣中的 GSH 总含量在胁迫前 12 h 内就提前达到高峰, 并且在整个胁迫过程以及瓶插期间均高于胁迫对照; 而 BSO 预处理在整个观测期间都低于胁迫对照 (图 2, A)。

还原性 GSH 的变化趋势和 GSH 总含量变化一致 (图 2, B)。

BSO 预处理和蒸馏水预处理花枝花瓣中 AsA 的总量在胁迫开始后 6 h 内提高了 14%, 而后迅速降低, 至胁迫结束时已降低到胁迫前的 50%, 虽然在复水 6 h 内略有升高, 但随后一直降低, 二者之间差异不大。而 GSH 预处理后胁迫前 9 h 虽低于胁迫对照, 但胁迫结束时比对照高出 42%, 复水过程中也高于胁迫对照 (图 2, C)。

还原型 AsA 的变化趋势和总 AsA 一致 (图 2, D)。

BSO 预处理 AsA 含量低于胁迫对照, 说明 GSH 对维持 AsA 含量具有重要作用。

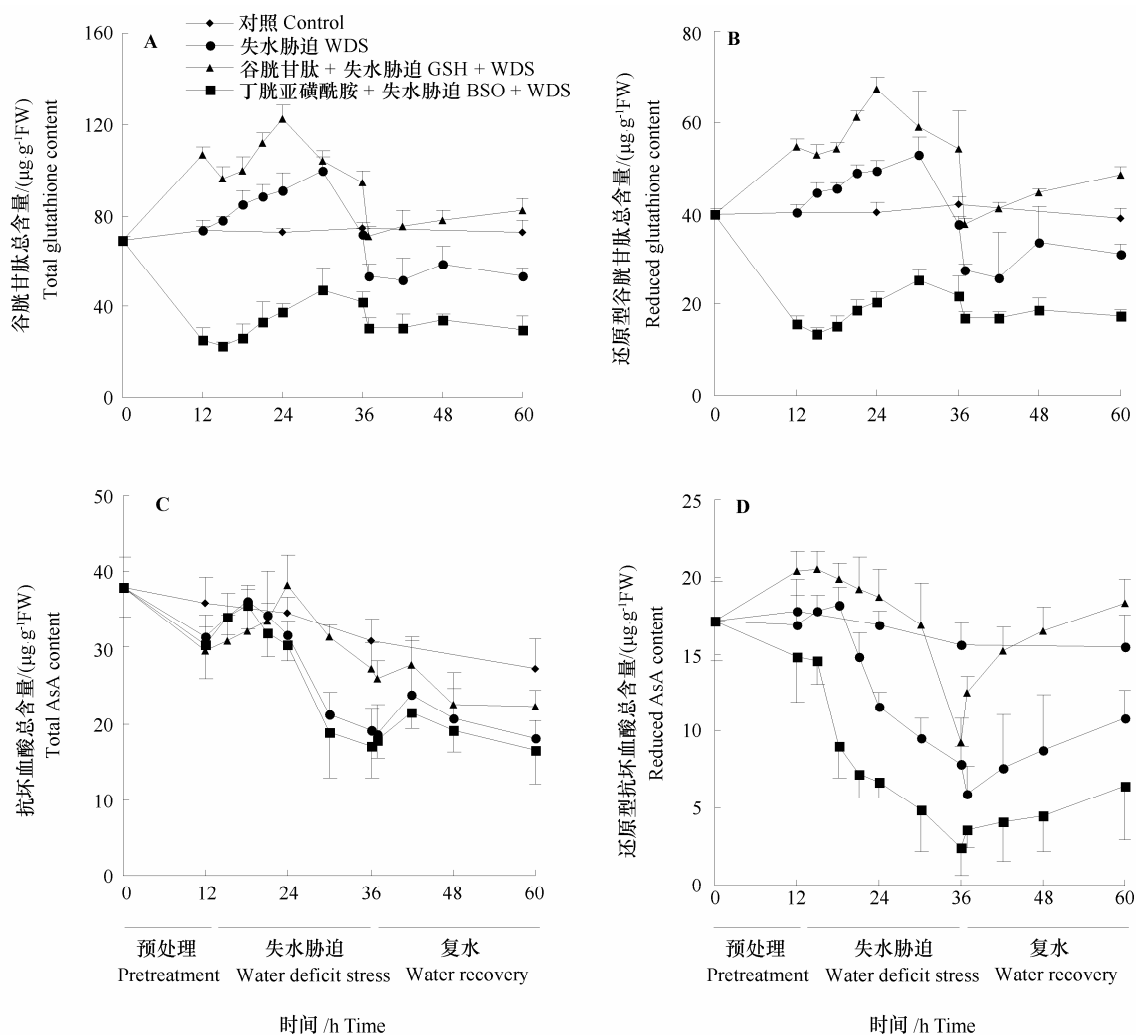


图2 GSH和BSO预处理对切花月季‘Samantha’失水胁迫和复水过程中花瓣GSH总含量(A)、还原型GSH含量(B)、AsA总含量(C)和还原型AsA含量(D)的影响

Fig. 2 Effects of GSH and BSO pretreatment on the content of total GSH (A), reduced GSH (B), total AsA (C) and reduced AsA (D) in petals of cut rose ‘Samantha’ during pretreatment, WDS and WR

2.5 GR和APX活性

预处理12 h后,各处理的GR活性没有明显变化。胁迫开始后,处理之间的GR活性差异逐渐加大,胁迫对照在胁迫开始后12 h内缓慢升高,12 h后的变化不大,复水2 h后略有降低,而后略有升高。GSH预处理的花枝在胁迫开始9 h内GR活性迅速升高到胁迫开始时的1.5倍水平,随后一直保持较高的水平直至胁迫结束,复水后的变化趋势和胁迫对照相同,但高于胁迫对照。而BSO预处理在胁迫期间GR活性一直缓慢增加,并且在胁迫和复水期间均低于胁迫对照(图3, A)。

蒸馏水预处理的对照花枝的花瓣中APX活性在胁迫开始后逐渐升高,12 h后下降,胁迫24 h后已经低于初始水平,复水瓶插24 h后迅速升高。GSH预处理明显提高了APX的活性,在胁迫和复水期间均高于胁迫对照。相反,BSO预处理的花枝复水后花瓣中APX活性在胁迫和复水期间均低于胁迫对照(图3, B)。

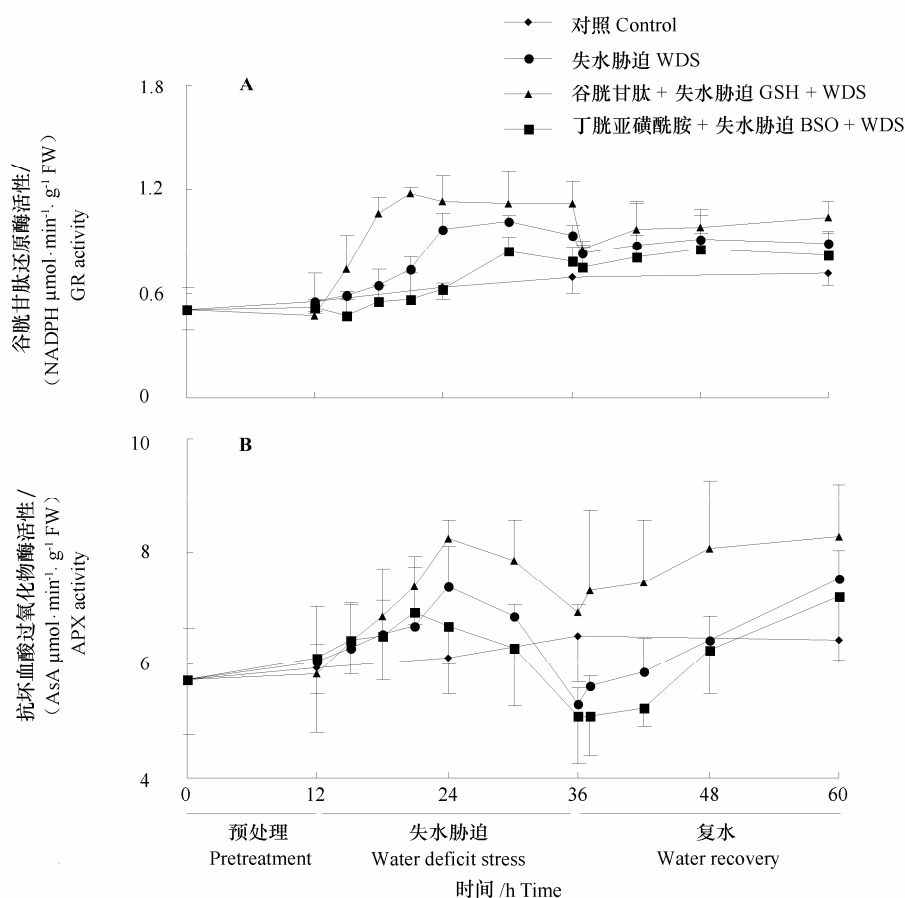


图3 GSH和BSO预处理对切花月季‘Samantha’失水胁迫和复水过程中花瓣GR(A)和APX(B)活性的影响

Fig. 3 Effects of GSH and BSO pretreatment on GR (A) and APX (B) activity in petals of cut rose ‘Samantha’ during WDS and WR

3 讨论

施加抗氧化剂能够提高植物的胁迫耐性。如外源抗坏血酸提高了水稻和大麦叶绿体内的活性氧清除能力，提高了对盐胁迫的耐性 (Chen et al., 1999; 华春 等, 2004)。将拟南芥的 γ -ECS 基因突变后, GSH 的合成受阻, 导致植株对 Cd 毒害的敏感性增强 (Cobbett et al., 1998)。杨树叶片中的 GSH 超量合成后对胁迫的抗性增强 (Noctor et al., 1996)。通过转基因技术将拟南芥叶片中的 GSH 含量比野生型植株降低 5%, 植株高度以及生物量都显著减小, 对胁迫的敏感性增强 (Xiang et al., 2001)。本研究中也发现, 提高月季切花中 GSH 的含量后, 切花对失水胁迫的耐性增强, 促进了花朵的开放, 延长了瓶插寿命。而用 BSO 抑制 GSH 的合成后, 获得了相反的效果, 从而证实了 GSH 的保护作用。

植物对胁迫的适应主要有两个方面, 一是提高胁迫过程的抗性, 降低胁迫的危害; 二是在胁迫解除后, 提高其恢复能力 (Pastroi & Trippi, 1992)。虽然调节 GSH 含量对胁迫过程中的鲜质量变化没有影响, 但经过 GSH 预处理后的花枝, 复水率明显增加, 复水后花枝的水分状况也得到了明显改善, 而 BSO 预处理则降低了复水率, 说明 GSH 预处理能够提高胁迫后的复水能力。

MDA 是膜脂氧化的产物, 是公认的氧化胁迫指标。植物遭受干旱或脱水胁迫后, 组织内的 MDA 含量明显升高 (Dhindsa et al., 1981; Price & Hendry, 1991a, 1991b; Smirnoff, 1993)。本

研究中也得到了同样的结果,失水胁迫处理的花枝花瓣中 MDA 含量随胁迫逐渐升高,复水后则迅速降低。提高花瓣中的 GSH 含量有效地抑制了 MDA 含量的增加,而经 BSO 预处理的花枝花瓣中 MDA 含量超过了胁迫对照。说明 GSH 预处理可以在一定程度上缓解氧化胁迫造成的伤害。

当细胞内活性氧的产生与清除不平衡时,就会发生氧化胁迫。细胞内抗氧化系统的反应程度与胁迫的程度以及品种有关。在轻度胁迫条件下,抗氧化系统清除活性氧的能力一般会有所升高,但在重度胁迫条件下,抗氧化系统的清除能力往往会减弱,导致活性氧的大量生成。SOD是清除 O_2^- 的第一道防线,适时地将 O_2^- 转化成 H_2O_2 。 H_2O_2 由多种过氧化物酶清除,其中,APX在清除 H_2O_2 中发挥重要作用。AsA保护植物细胞免受氧化胁迫的重要功能之一就是通过APX清除 H_2O_2 (Wang et al., 1999)。由于APX在AsA耗尽后的环境中很快失活,因此,保障AsA的较高含量对维持APX的活力相当重要。随着胁迫程度加深,GSH也不可避免地被氧化成GSSG (Irihimoritch & Shapira, 2000)。而GR可以催化GSSG的还原,维持GSH含量的稳定。之前的结果表明,GSH预处理后,GR活性随着GSSG含量的升高明显升高,有利于胁迫耐性的改善 (Srivalli et al., 2003),杨树叶片叶绿体中的GR过量表达,叶片中的AsA含量比对照要高得多 (Foyer et al., 1995)。这些结果表明GR在逆境或正常条件下对于维护AsA库和胁迫耐性是至关重要的。本研究中用GSH处理切花,花瓣中的GSH含量明显提高,同时,GR和APX的活性也明显升高,表明GSH处理可以提高切花月季的抗氧化能力,而且可能是通过影响AsA的含量来实现的。

玉米幼苗用 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的BSO处理,不仅GSH含量降低,而且GR的活性也明显降低,抗寒性也明显降低 (Kocsy et al., 2000)。本研究用BSO抑制GSH的合成后,GSH含量降低,GR和APX的活性也相应降低,从而也降低了切花的失水胁迫耐性。抗氧化剂之间的影响是相互的,将小麦的脱氢型抗坏血酸还原酶 (DHAR) 基因的cDNA转入玉米,促进AsA的循环,GSH的含量也提高了 2~3 倍 (Chen et al., 2003)。本研究中花瓣中的AsA和GSH变化趋势一致,也说明了两种抗氧化剂之间存在着相互影响的关系。

到目前为止,在保鲜剂中使用 GSH 以改善切花失水胁迫耐性还未见报道。本研究中为 GSH 在保鲜剂中的应用提供了参考。

综上所述,花瓣中 GSH 含量升高,提高了 GR 的活性,保证了 AsA 的含量,促进了 APX 的活性,从而提高了月季切花的失水胁迫耐性。

References

- Alscher R G. 1989. Biosynthesis and antioxidant function of glutathione in plants. *Physiologia Plantarum*, 77: 457 - 464.
- Ball L, Accotto G P, Bechtold U. 2004. Evidence for a direct link between glutathione biosynthesis and stress defense gene expression in *Arabidopsis* (W). *The Plant Cell*, 16 (9): 2448 - 2462.
- Chen Q, Zhang W, Liu Y L. 1999. Effect of NaCl, glutathione and ascorbic acid on function of tonoplast vesicles isolated from barley leaves. *Journal of Plant Physiology*, 155: 685 - 690.
- Chen Qin, Liu You-liang. 2000. Effect of glutathione on active oxygen scavenging system in leaves of barley seedlings under salt stress. *Acta Agronomica Sinica*, 26: 365 - 371. (in Chinese)
- 陈沁, 刘友良. 2000. 谷胱甘肽对盐胁迫大麦叶片活性氧清除系统的保护作用. *作物学报*, 26: 365 - 371.
- Chen Z, Todd E, Ling J, Chang S C, Gallie D R. 2003. Increasing vitamin C content of plants through enhanced ascorbate recycling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100: 3525 - 3530.
- Cobbett C S, May M J, Howden R, Rolfs B. 1988. The glutathione deficient, cadmium-sensitive mutant, *Cad2-1* of *Arabidopsis thaliana* is deficient in γ -glutamylcysteine synthetase. *Plant Journal*, 16, 73 - 78.
- Dhindsa R S, Dhindsa P P, Thorpe T A. 1981. Leaf senescence: Correlated with increased level of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32: 93 - 101.

- Drotar A, Phelps P, Fall R. 1985. Evidence for glutathione peroxidase activities in cultured plant cells. *Plant Science*, 4: 35 – 40.
- Fadzilla N M, Gill V, Pinch R P, Burdon R H. 1996. Chilling, oxidative stress and antioxidant responses in shoot cultures of rice. *Planta*, 199: 552 – 556.
- Foyer C H, Descourvieres P, Kunert K J. 1994. Protection against radicals: An important defense mechanism studied in transgenic plants. *Plant Cell Environment*, 17: 507 – 523.
- Foyer C H, Souriau N, Erret S, Lelandais M, Kunert K J, Provost C, Jouanin L. 1995. Overexpression of glutathione reductase but not glutathione synthetase leads to increase in antioxidant capacity and resistance to photoinhibition in poplar trees. *Plant Physiology*, 109: 1047 – 1057.
- Gamble P E, Burk J J. 1984. Effect of water stress on the chloroplast antioxidant system. I. Alteration in glutathione reductase activity. *Plant Physiology*, 76: 615 – 621.
- Hua Chun, Wang Ren-lei, Liu You-liang. 2003. Effects of exogenous glutathione on active oxygen scavenging system in chloroplasts of rice under salt stress. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 29: 415 – 420. (in Chinese)
- 华 春, 王仁雷, 刘友良. 2003. 外源 GSH 对盐胁迫下水稻叶绿体活性氧清除系统的影响. *植物生理与分子生物学学报*, 29: 415 – 420.
- Hua Chun, Wang Ren-lei, Liu You-liang. 2004. Effect of exogenous ascorbic acid on active oxygen scavenging system in chloroplasts of rice under salt stress. *Acta Agronomica Sinica*, 30: 692 – 696. (in Chinese)
- 华 春, 王仁雷, 刘友良. 2004. 外源 AsA 对盐胁迫下水稻叶绿体活性氧清除系统的影响. *作物学报*, 30: 692 – 696.
- Irihimovitch V, Shapira M. 2000. Glutathione redox potential modulated by reactive oxygen species regulates translation of Rubisco large subunit in the chloroplast. *The Journal of Biological Chemistry*, 275: 16289 – 16295.
- Jiménez A, Hernández J A, del Río L A, Sevilla F. 1997. Evidence for the presence of the ascorbate-glutathione cycle in mitochondrial and peroxisomes of pea leaves. *Plant physiology*, 114: 275 – 284.
- Jin Ji-shi, Li Yong-hong, Shan Ning-wei, Gao Jun-ping. 2006. Ascorbate acid increases tolerance to water deficit stress in flowers of cut roses (*Rosa hybrida* L.) caused by enhanced ascorbate peroxidase activity. *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (2): 333 – 337. (in Chinese)
- 金基石, 李永红, 单宁伟, 高俊平. 2006. 抗坏血酸提高月季切花失水胁迫耐性与增加 APX 活性的关系. *园艺学报*, 33 (2): 333 – 337.
- Kocsy G, Ballmoos P V, Suter M, Rueggsegger A, Galli U, Szalai G, Galiba G, Brunold C. 2000. Inhibition of glutathione synthesis reduces chilling tolerance in maize. *Planta*, 211: 528 – 536.
- Kranner I. 2002. Glutathione status correlates with different degrees of desiccation tolerance in three lichens. *New Phytologist*, 154: 451 – 460.
- Lin Zhi-fang, Li Shuang-shun, Lin Gui-zhu, Sun Gu-chou, Guo Jun-yan. 1984. Superoxide dismutase activity and lipid peroxidation in relation to senescence of rice leaves. *Acta Botanica Sinica*, 26: 605 – 615. (in Chinese)
- 林植芳, 李双顺, 林桂珠, 孙谷畴, 郭俊彦. 1984. 水稻叶片的衰老与超氧化物歧化酶活性及脂质过氧化作用的关系. *植物学报*, 26: 605 – 615.
- May M J, Vernoux T, Sanchez-Fernandez R, van Montagu M, Inzé D. 1998. Evidence for posttranscriptional activation of γ -glutamylcysteine synthetase during plant stress response. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95: 12049 – 12054.
- Menconi M, Sgheri C L M, Pinzino C, Navari-Izzo F. 1995. Activated oxygen production and detoxification in wheat plants subjected to a water deficit program. *Journal of Experimental Botany*, 46: 1123 – 1130.
- Merry E A T, Toledo Y U, Yoshihiro I. 2003. L-ascorbate acid metabolism in spinach (*Spinacia oleracea* L.) during postharvest storage in light and dark. *Postharvest Biology and Technology*, 28: 47 – 57.
- Nakano, Y, Asada, K. 1981. Hydrogen peroxidase is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22: 867.
- Noctor G, Arisi A M, Jouanin L, Foyer C H. 1998a. Manipulation of glutathione and amino acid biosynthesis in the chloroplast. *Plant Physiol*, 118: 471 – 482.
- Noctor G, Arisi A M, Jouanin L, Kunert K J, Rennenberg H, Foyer C H. 1998b. Glutathione: Biosynthesis, metabolism and relationship to stress tolerance explored in transformed plants. *Journal of Experimental Botany*, 49: 623 – 647.
- Noctor G, Foyer C H. 1998. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49: 249 – 279.
- Noctor G, Strohm M, Jouanin L, Kunert K J, Foyer C H, Rennenberg H. 1996. Synthesis of glutathione in leaves of transgenic poplar overexpressing

- γ -glutamylcysteine synthetase. *Plant Physiology*, 112: 1071 – 1078.
- Pastori G M, Trippi V S. 1992. Oxidative stress induces high rate of glutathione reductase synthesis in drought-resistant maize strain. *Plant and Cell Physiology*, 33: 957 – 961.
- Price A H, Hendry G A F. 1991a. Iron-catalysed oxygen radical formation and its possible contribution to drought in nine native grasses and three cereals. *Plant Cell Environment*, 14: 477 – 484.
- Price A H, Hendry G A F. 1991b. Stress and the role of activated oxygen scavengers and protective enzymes in plants subjected to drought. *Biochemical Society Transactions*, 17: 493 – 494.
- Sgherri C L M, Navari-Izzo F. 1995. Sunflower seedlings subjected to increasing water deficit stress: Oxidative stress and defence mechanisms. *Physiologia Plantarum*, 93: 25 – 30.
- Smirnoff N, Colombe S V. 1998. Drought influences the activity of enzymes of the chloroplast hydrogen peroxide scavenging system. *Journal of Experimental Botany*, 39: 1097 – 1108.
- Smirnoff N. 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist*, 125: 27 – 58.
- Srivalli B, Sharma G, Khanna-chopra R. 2003. Antioxidative defense system in an upland rice cultivar subjected to increasing intensity of water stress followed by recovery. *Physiologia Plantarum*, 119: 503 – 512.
- Tang Xue-mei, Gao Jun-ping, Ai Guang-yan, Sun Zi-ran. 1999. Preliminary study on difference and critical value of tolerance to water stress in cut rose cultivars. *Acta Horticulturae Sinica*, 26: 43 – 48. (in Chinese)
- 唐雪梅, 高俊平, 艾光艳, 孙自然. 1999. 切花月季品种水分胁迫耐性差异及忍耐极限初探. *园艺学报*, 26: 43 – 48.
- Tietze F. 1969. Enzymatic method for quantitative determination of nongram amounts of total and oxidized glutathione. *Analytical Biochemistry*, 27: 502 – 522.
- Wang J, Zhang H, Allen R D. 1999. Overexpression of an *Arobidopsis* peroxisomal ascorbate peroxidase gene in tobacco increases protection against oxidative stress. *Plant and Cell Physiology*, 40: 725 – 732.
- Willekens H, Inzé D, van Montagu M, van Camp W. 1995. Catalases in plants. *Molecular Breed*, 1: 207 – 228.
- Xiang C, Werner B L, Christensen E M, Oliver D J. 2001. The biological functions of glutathione revisited in *Arobidopsis* transgenic plants with altered glutathione levels. *Plant Physiology*, 126: 564 – 574.



欢迎订阅《园艺学报》

《园艺学报》是中国园艺学会和中国农业科学院蔬菜花卉研究所主办的学术期刊,创刊于1962年,刊载有关果树、蔬菜、观赏植物、茶及药用植物等方面的学术论文、研究报告、专题文献综述、问题与讨论、新技术新品种以及园艺研究动态与信息,适合园艺科研人员、大专院校师生及农业技术推广部门专业技术人员阅读参考。

《园艺学报》是中文核心期刊,被中国科学引文数据库 Chinese Science Citation Database 等多家重要数据库收录。《园艺学报》2005年荣获第三届国家期刊奖,2008年获中国科技信息所“中国精品科技期刊”称号及武汉大学中国科学评价研究中心“中国权威学术期刊”称号,2009年获中国期刊协会和中国出版科学研究所“新中国60年有影响力的期刊”称号。2008年《园艺学报》总被引频次4591次,影响因子1.075。

《园艺学报》为月刊,每月25日出版。2010年每期定价40.00元,全年480.00元。国内外公开发行,全国各地邮局办理订阅,国内邮发代号82-471,国外发行由中国国际图书贸易总公司承办,代号M448。漏订者可直接寄款至本编辑部订购。

编辑部地址:北京市海淀区中关村南大街12号 中国农业科学院蔬菜花卉研究所《园艺学报》编辑部;

邮政编码:100081;电 话:(010) 82109523。

E-mail:yuanyixuebao@126.com。网址: <http://www.ahs.ac.cn>。

