

# 通过 $\beta$ -氨基丁酸激发效应增强烟草 对干旱和低温胁迫的耐受能力

张丽娜<sup>1</sup>, 董建江<sup>1</sup>, 刘炎红<sup>1</sup>, 邵伏文<sup>1</sup>, 陈学平<sup>2\*</sup>

(1. 安徽省烟草公司, 合肥 230071; 2. 中国科学技术大学烟草与健康研究中心, 合肥 230026)

**摘要:**为研究外源  $\beta$ -氨基丁酸(BABA)处理对烟草幼苗抗低温和抗干旱的调节作用,通过使用不同浓度 BABA 对烟草幼苗进行喷叶和灌根处理后,再进行干旱和低温胁迫处理,最后进行存活率的测定。结果表明,在受到干旱胁迫时,通过  $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  外源 BABA 分别进行喷施和灌根处理后,烟草幼苗的存活率出现大幅升高;而在受到低温胁迫时,通过  $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  外源 BABA 分别进行喷施和灌根处理后,其存活率也出现较大幅度的提高。分析认为,通过外源 BABA 处理后,可以有效提高烟草幼苗对于干旱和低温胁迫的耐受能力。

**关键词:**  $\beta$ -氨基丁酸; 烟草; 干旱胁迫; 低温胁迫

中图分类号: S572

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2018)01-0171-04

## Priming effect of $\beta$ -aminobutyric acid in alleviating drought and low-temperature stress in tobacco

ZHANG Lina<sup>1</sup>, DONG Jianjiang<sup>1</sup>, LIU Yanhong<sup>1</sup>, SHAO Fuwen<sup>1</sup>, CHEN Xueping<sup>2</sup>

(1. Anhui Tobacco Company, Hefei 230071;

2. Tobacco and Health Research Center, University of Science and Technology of China, Hefei 230026)

**Abstract:** In order to study the effect of exogenous BABA ( $\beta$ -aminobutyric acid) on alleviating low temperature and drought stress, tobacco seedlings were treated with different concentrations of BABA by spraying leaves and filling roots, and followed by drought and low temperature stress. After that, the survival rate of the tobacco seedlings was measured. The results showed that the survival rate of the tobacco seedlings was significantly increased when spraying the leaf with  $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  and irrigating the root with  $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  exogenous BABA, respectively, regardless of drought stress or low temperature stress. The results demonstrated that exogenous BABA can effectively improve the tolerance of tobacco seedlings to drought and low temperature stress.

**Key words:**  $\beta$ -aminobutyric acid; tobacco; drought stress; low temperature stress

植物生长受到诸多的环境胁迫因素的影响,如干旱、低温和高盐胁迫等<sup>[1-2]</sup>。这些胁迫不仅使植物细胞受到伤害,甚至导致植物死亡。由此造成的农作物减产,已成为全球所关注的热点问题。干旱胁迫对全球作物产量影响在诸多因素中占据首位<sup>[3]</sup>。在干旱胁迫条件下,植物会受到渗透胁迫和氧化胁迫伤害,因此提高植物的渗透调节能力和抗氧化能力在提高植物的抗旱性方面具有重要的作用。

低温影响植物的生长发育及其生理<sup>[4]</sup>。植物在

长期适应低温胁迫过程中,逐步形成独特的生理生化特性,例如积累渗透物质,叶绿素含量、抗氧化酶系统发生变化,调整光合特性<sup>[5]</sup>。近年来,人类活动导致气候变化剧烈,低温气候时常发生,限制了植物的生长,因而寒害已经成为植物生长的主要环境胁迫之一。

植物能成功的适应非生物胁迫主要依靠早期的感知和响应。例如,植物在遇到病原菌后立即展现出强大而又快速的防御反应,这种现象被称之为激

收稿日期: 2017-03-30

基金项目: 安徽省烟草公司“皖南烟区初烤烟存储质量提升机理及关键技术研究”(20160551011)资助。

作者简介: 张丽娜, 硕士研究生。E-mail: 36062403@qq.com

\* 通信作者: 陈学平, 博士, 教授。E-mail: chenxp08@ustc.edu.cn

发效应 (priming) [6]。激发效应也可以在植物遭受非生物胁迫的时候检测到。如果植物已经经历过非生物胁迫,那么在接下来的胁迫中,它们的响应会更成功[7-9]。非蛋白质氨基酸 BABA 是一个有效的诱导剂,它能够激发 (priming) 水杨酸 (SA) 依赖途径或增强 ABA 依赖防御机制[7, 10-11], 进而增强植株对真菌、细菌、病毒以及线虫病害的系统抗性[12]。最近报道了关于 BABA 能增强拟南芥和春麦对干旱和高盐胁迫的耐受[7, 10], 以及在苹果 (*Malus pumila*) 中通过激发细胞壁酶类的改变和抑制木质素合成酶来启动对干旱胁迫的耐受[12]。鉴于此,本研究中用喷叶和灌根的两种处理方式,检测了不同浓度的 BABA 对烟苗 (4~5 真叶期) 在干旱和低温胁迫下的响应情况。以期为提高烟苗对干旱和低温的耐受性提供理论和实践依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

烟草种子为云烟 87 (*Nicotiana tabacum*. L, yunyan87), 由安徽省农业科学院提供。烟草种子均匀播种于灭菌营养土表面, 润湿, 种子发芽生长 1 周后, 选取生长一致的烟草幼苗移栽于口径为 9 cm 的小花盆中, 在 (25±2) °C, 光照 10 h /24 h 条件

下自然生长。到小苗生长至 4~5 叶真叶期时, 6 个小花盆为一组, 进行外源 BABA 的前处理实验。

### 1.2 方法

**1.2.1 外源 BABA 处理** 外源 BABA 浓度为 6 个梯度: 0、0.2、0.5、1、5 和 10 mmol·L<sup>-1</sup>, 对 4~5 叶期烟苗分别进行喷叶处理和灌根处理: 喷施方式为直接喷淋, 叶片表面形成均匀小液滴后停止喷淋; 灌根方式则是加入到营养液中混匀即可。每组 6 盆, 每盆 4 株, 每隔 24 h 处理 1 次, 均连续处理 3 次。

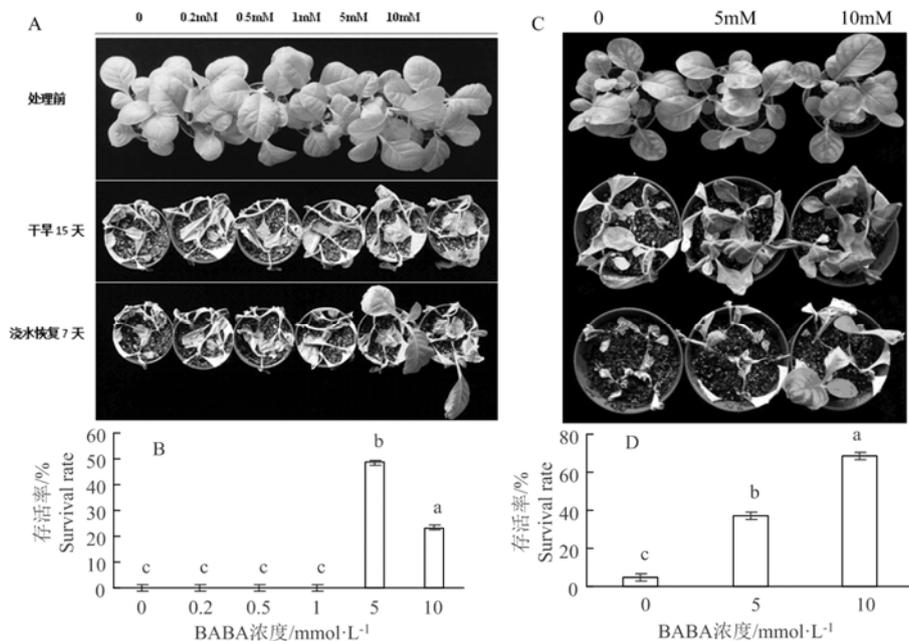
**1.2.2 干旱和低温胁迫处理** BABA 处理 3 次后的烟苗, 吸足水分后, 2 周内不再浇水, 作为干旱处理; BABA 处理后烟苗在 -4 °C 条件下处理 3 h, 作为低温胁迫处理。

**1.2.3 数据分析** 实验数据表示为平均值±标准偏差, 数据分析采用单因素方差分析, 置信区间  $P < 0.05$ , 统计分析软件使用 origin 9.1。

## 2 结果与分析

### 2.1 BABA 喷叶和灌根处理都增强了烟苗对干旱胁迫的耐受能力

β-氨基丁酸 (BABA) 作为一种化学诱导剂能激发多种植物自身抗病基因的表达, 增强植株对真菌、细菌、病毒以及线虫病害的系统抗性。在 BABA

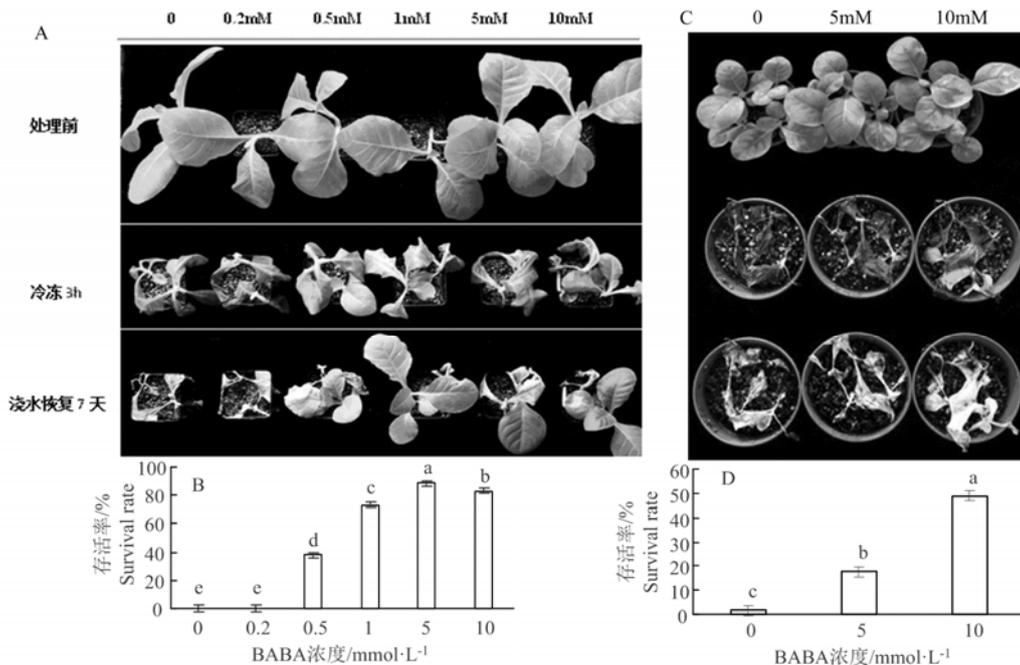


A. 外源 BABA 喷叶处理后干旱胁迫处理 15 d, 浇水恢复 7 d; B. 喷叶处理组烟苗干旱胁迫下存活率; C. 外源 BABA 灌根处理后干旱胁迫处理 15 d, 浇水恢复 7 d; D. 灌根处理组烟苗干旱胁迫下存活率。数据分析采用单因素方差分析, 置信区间  $P < 0.05$ , 字母不同, 代表具有显著性差异

A. Drought stress for 15 days and water recover process for 7 days after exogenous BABA leaf spraying treatment, B. Survival rate of tobacco seedlings treated with leaf spraying under drought stress, C. Drought stress for 15 days and water recover process for 7 days after exogenous BABA root watering treatment, D. Survival rate of tobacco seedlings treated with root watering under drought stress. Confidence interval  $P < 0.05$ , and different letters mean significant difference

图 1 外源 BABA 处理后烟苗对干旱胁迫的响应

Figure 1 Responses of tobacco seedlings treated with exogenous BABA under drought stress



A.外源 BABA 喷叶处理后低温胁迫处理 3 h, 浇水恢复 7 d; B.喷叶处理组烟苗低温胁迫下的存活率; C.外源 BABA 灌根处理后低温胁迫处理 3 h, 浇水恢复 7 d; D.灌根处理组烟苗低温胁迫下的存活率。数据分析采用单因素方差分析, 置信区间  $P < 0.05$ , 字母不同, 代表具有显著性差异

A.Low-temperature stress for 3 hours and normal temperature recover process for 7 days after exogenous BABA leaf spraying treatment, B.,Survival rate of tobacco seedlings treated with leaf spraying under low-temperature stress, C.Low-temperature stress for 3 hours and normal temperature recover process for 7 days after exogenous BABA root watering treatment, D.Survival rate of tobacco seedlings treated with root watering under low-temperature stress

图 2 外源 BABA 处理后烟苗对低温胁迫的响应

Figure 2 Responses of tobacco seedlings treated with exogenous BABA under low-temperature stress

预处理抗病原菌实验中, 拟南芥幼苗表现出了对干旱胁迫耐受的增强<sup>[7]</sup>。

为了进一步验证外源 BABA 提高烟苗对干旱胁迫的耐受, 用喷叶和灌根的 2 种处理方式, 检测了不同浓度的 BABA, 对烟苗 (4~5 真叶期) 在干旱胁迫下的情况。如图 1 所示, 以 4~5 叶期烟苗作为实验对象, 外源 BABA 喷叶处理 (黑土湿润), 干旱 15 d 后所有梯度的烟苗均呈现萎蔫致死状态, 浇水恢复 7 d 后, 0~1 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  外源 BABA 处理的烟苗均无存活, 5 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  和 10 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  BABA 处理的烟苗有部分存活, 5 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  BABA 存活率为 48.6%, 10 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  BABA 存活率为 23.3%; 在灌根实验中, 灌水 (CK) 组小苗几乎全部死亡, 存活率仅为 4.7%, 5 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  BABA 存活率为 37.3%, 10 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  BABA 存活率为 68.7%。实验结果说明, 烟苗通过外源 BABA 喷叶或是灌根预处理, 能够增强烟苗对干旱胁迫的耐受。喷叶处理组中, 5 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  BABA 处理烟苗后, 烟苗有最大存活率, 而灌根处理组中, 10 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  BABA 处理烟苗后获得最大存活率, 这说明了 BABA 不仅能通过根来激发烟苗对干旱胁迫的防御, 也能通过对叶子的激发

来获得对干旱胁迫的抗性。

## 2.2 BABA 喷叶和灌根处理都增强了烟苗对低温胁迫的耐受能力

BABA 能够增强植物对非生物胁迫的耐受, 如干旱和高盐胁迫。除了干旱胁迫之外, 低温胁迫也是严重影响农作物产量的环境胁迫因子。目前, BABA 的激发效应能增强植物对低温胁迫的耐受还未见报道。因此以 4~5 叶期烟苗作为实验对象, 外源 BABA 喷叶处理-4 $^{\circ}$ C 条件下处理 3 h, 0 和 0.2 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  外源 BABA 处理的烟苗均无存活, 0.5~10 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  BABA 处理的烟苗大部分存活 (见图 2), 0.5 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  BABA 存活率为 37.8%, 1 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  BABA 存活率为 73.4%, 5 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  BABA 存活率为 88.6%, 10 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  BABA 存活率为 83.3%; 在灌根实验中, 灌水 (CK) 组小苗几乎全部死亡, 存活率仅为 1.5%, 5 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  BABA 存活率为 17.6%, 10 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  BABA 存活率为 48.9%。

实验结果说明, 烟苗通过外源 BABA 喷叶或是灌根预处理, 能够增强烟苗对低温胁迫的耐受。喷叶处理组中, 1~10 mmol $\cdot$ L $^{-1}$  BABA 处理烟苗后,

烟苗大部分存活(存活率>73%),而灌根处理组中,仅 10 mmol·L<sup>-1</sup>BABA 处理烟苗后获得最大存活率,且存活率<50%,这说明了 BABA 不仅能通过根来激发烟苗对低温胁迫的防御,也能通过对叶子的激发来获得对低温胁迫的耐受。

### 3 讨论与结论

植物受到胁迫时,细胞中会产生大量活性氧自由基,导致 DNA 突变、蛋白质氧化和脂质过氧化反应等<sup>[13-14]</sup>。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 则是活性氧存在形式之一<sup>[15]</sup>,其含量直接表明植物受氧化胁迫程度<sup>[16]</sup>。MDA 含量直接表明植物受到脂质过氧化作用损伤程度<sup>[15,17]</sup>。而植物可以产生 SOD、POD、CAT 和 APX 等抗氧化酶和抗氧化分子(抗坏血酸、谷胱甘肽等)清除多余的 ROS 以保护自己免受氧化伤害<sup>[18]</sup>。因而植物抗氧化胁迫能力越强,其抗逆性就越好<sup>[19]</sup>。植物受到干旱胁迫时会伴随着渗透胁迫,当植物受到渗透胁迫时会产生可溶性糖、可溶性蛋白等渗透调节物质。王川等认为可溶性糖含量的多少直接反应植物抗旱能力的强弱<sup>[20]</sup>。当烟草细胞受到渗透胁迫时可产生新的可溶性蛋白参与渗透调节<sup>[21]</sup>。

实验结果表明,在受到干旱胁迫时,通过 5 mmol·L<sup>-1</sup>和 10 mmol·L<sup>-1</sup>外源 BABA 喷施处理后,烟草幼苗的存活率由全部死亡分别提高到 48.6%和 23.3%;通过灌根处理后,其存活率由 4.7%分别提高 37.3%和 68.7%。而在受到低温胁迫时,通过喷施, BABA 处理后,烟草幼苗存活率明显提高;而在灌根实验后,灌水组小苗的存活率仅为 1.5%,而在 5 和 10 mmol·L<sup>-1</sup>BABA 处理后,其存活率分别提高到 17.6%和 48.9%。有研究报道过外源 BABA 处理不仅可以通过有效地提高烟草的抗氧化系统活性来提高烟草抗盐胁迫能力<sup>[15]</sup>,还可以促进可溶性蛋白和可溶性糖的合成来有效缓解烟草幼苗在碱环境中所受到的渗透胁迫作用<sup>[22]</sup>。因此,可以分析得到外源 BABA 的可以有效提高烟草幼苗对于干旱和低温的抵御作用主要原因可能是其可以增强烟草幼苗的抗氧化能力以及抗渗透胁迫能力。至于 BABA 对于干旱和低温胁迫的具体作用机理还有待进一步研究。

### 参考文献:

- [1] BROWSE J, XIN Z. Temperature sensing and cold acclimation[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2001, 4(3): 241-246.
- [2] HOLMSTRÖM K, MÄNTYLÄ E, WELLIN B, et al. Drought tolerance in tobacco[J]. *Nature*, 1996, 379(6567): 683-684.
- [3] BOYER J S. Plant productivity and environment[J]. *Science*, 1982, 218(4571): 443-448.
- [4] 郭淑红, 薛立, 张柔, 等. 4 种幼苗对低温胁迫的光合生理响应[J]. *华南农业大学学报*, 2012, 33(3): 373-377.
- [5] 何跃君, 薛立, 任向荣, 等. 低温胁迫对六种苗木生理特性的影响[J]. *生态学杂志*, 2008, 27(4): 524-531.
- [6] CONRATH U, PIETERSE C M J, MAUCH-MANI B. Priming in plant-pathogen interactions[J]. *Trends Plant Sci*, 2002, 7(5): 210-216.
- [7] JAKAB G, TON J, FLORS V, et al. Enhancing Arabidopsis salt and drought stress tolerance by chemical priming for its abscisic acid responses[J]. *Plant Physiol*, 2005, 139(1): 267-274.
- [8] KNIGHT H, BRANDT S, KNIGHT M R. A history of stress alters drought calcium signalling pathways in *Arabidopsis*[J]. *Plant J*, 1998, 16(6): 681-687.
- [9] LÄNG V, PALVA E T. The expression of a *rab*-related gene, *rab18*, is induced by abscisic acid during the cold acclimation process of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh[J]. *Plant Mol Biol*, 1992, 20(5): 951-962.
- [10] DU Y L, WANG Z Y, FAN J W, et al.  $\beta$ -Aminobutyric acid increases abscisic acid accumulation and desiccation tolerance and decreases water use but fails to improve grain yield in two spring wheat cultivars under soil drying[J]. *J Exp Bot*, 2012, 63(13): 4849-4860.
- [11] MACARISIN D, WISNIEWSKI M E, BASSETT C, et al. Proteomic analysis of  $\beta$ -aminobutyric acid priming and abscisic acid - induction of drought resistance in crabapple (*Malus pumila*): effect on general metabolism, the phenylpropanoid pathway and cell wall enzymes[J]. *Plant Cell Environ*, 2009, 32(11): 1612-1631.
- [12] JAKAB G, COTTIER V, TOQUIN V, et al.  $\beta$ -Aminobutyric acid-induced resistance in plants[J]. *Eur J Plant Pathol*, 2001, 107(1): 29-37.
- [13] AGARWAL A, SALEH R A, BEDAIWY M A. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction[J]. *Fertil Steril*, 2003, 79(4): 829-843.
- [14] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance[J]. *Trends Plant Sci*, 2002, 7(9): 405-410.
- [15] 张清莉, 刘再强, 钟玉德, 等. BABA 诱导烟草抵御高盐胁迫的初步研究[J]. *中国烟草学报*, 2015, 21(3): 72-81.
- [16] 向丽霞, 胡立盼, 胡晓辉, 等. 外源  $\gamma$ -氨基丁酸调控甜瓜叶绿体活性氧代谢应对短期盐碱胁迫[J]. *应用生态学报*, 2015, 26(12): 3746-3752.
- [17] ASHRAF M A, ASHRAF M, ALI Q. Response of two genetically diverse wheat cultivars to salt stress at different growth stages: leaf lipid peroxidation and phenolic contents[J]. *Pak J Bot*, 2010, 42(1): 559-565.
- [18] MITTLER R, VANDERAUWERA S, GOLLERY M, et al. Reactive oxygen gene network of plants[J]. *Trends Plant Sci*, 2004, 9(10): 490-498.
- [19] JIANG M, ZHANG J. Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves[J]. *J Exp Bot*, 2002, 53(379): 2401-2410.
- [20] 王川, 谢惠民, 王娜, 等. 小麦品种可溶性糖和保护性酶与抗旱性关系研究[J]. *干旱地区农业研究*, 2011, 29(5): 94-99.
- [21] SINGH N K, BRACKER C A, HASEGAWA P M, et al. Characterization of osmotin A thaumatin-like protein associated with osmotic adaptation in plant cells[J]. *Plant Physiology*, 1987, 85(2): 529-536.
- [22] 尤本武, 董建江, 刘紫薇, 等.  $\beta$ -氨基丁酸诱导烟草抗碱初步研究[J]. *中国烟草学报*, 2017, 23(1): 86-94.