

DOI:10.11937/bfy.201622021

# 过氧化氢清除剂对 $H_2O_2$ 处理下中国石竹幼苗不同器官抗氧化系统的影响

张倩倩,蔚潇,贺学勤

(内蒙古农业大学农学院,内蒙古呼和浩特 010019)

**摘要:**以中国石竹为试材,采用  $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  二甲基硫脲 (dimethylthiourea,DMTU) 和  $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  二苯基氯化碘盐 (diphenyleneiodonium chloride,DPI) 对其幼苗预处理 2 h 后再置于  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2$  中处理 6 h,测定 DMTU 和 DPI 预处理对  $H_2O_2$  处理下中国石竹幼苗不同器官的  $H_2O_2$  和  $O_2^-$  含量以及相关清除酶活性的方法,探究减少  $H_2O_2$  含量对氧化胁迫下石竹幼苗生理活性的影响,以期为石竹抗逆栽培提供理论依据。结果表明:  $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  DMTU 和  $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  DPI 预处理降低了正常条件下叶片和根的  $H_2O_2$  和  $O_2^-$  含量,且在根中达显著差异水平 ( $P < 0.5$ );  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的外源  $H_2O_2$  处理显著增加了叶中  $H_2O_2$  含量和根中  $O_2^-$  含量 ( $P < 0.5$ ),  $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  DMTU 和  $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  DPI 预处理则降低了  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2$  处理下叶片和根部的  $H_2O_2$  和  $O_2^-$  含量;  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的外源  $H_2O_2$  处理显著增加了叶片 SOD 活性和根部 SOD、APX 活性 ( $P < 0.5$ ),  $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  DMTU 和  $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  DPI 预处理降低了  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} H_2O_2$  处理下石竹叶中 SOD、APX 活性,且  $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  DMTU 预处理显著降低了根部的 APX 活性 ( $P < 0.5$ ),表明降低  $H_2O_2$  和  $O_2^-$  含量可降低相应清除酶的活性。因此,外施 DMTU 和 DPI 能不同程度缓解  $H_2O_2$  处理导致的内源  $H_2O_2$  和  $O_2^-$  含量的积累,且  $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  DMTU 清除  $H_2O_2$  的效果比  $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  DPI 好。

**关键词:**中国石竹;过氧化氢;DMTU;DPI;清除酶**中图分类号:**S 681.5   **文献标识码:**A   **文章编号:**1001—0009(2016)22—0082—05

活性氧 (reactive oxygen species,ROS) 是植物细胞各种代谢的产物,包括过氧化氢 ( $H_2O_2$ )、超氧阴离子自由基 ( $O_2^-$ )、过氧化自由基 ( $ROO \cdot$ ) 和羟基自由基 ( $\cdot OH$ ) 等<sup>[1-2]</sup>。其中  $H_2O_2$  和  $O_2^-$  作为细胞内的信号分子,在不同细胞代谢中的作用不同<sup>[3-4]</sup>。植物处于不同的胁迫状态下均会引起  $H_2O_2$  和  $O_2^-$  的过量产生,导致氧化胁迫反应的发生。如镉胁迫下蚕豆幼苗、白菜叶片中的  $H_2O_2$  含量增加且  $O_2^-$  产生速率提高<sup>[5-6]</sup>;盐胁迫下大麦和草莓叶片中的  $H_2O_2$  含量上升,且幼苗相对生长量明显低于对照<sup>[7-8]</sup>;PEG 6000 模拟的干旱胁迫下,金心吊兰和野生型全绿吊兰中的  $H_2O_2$  含量随 PEG 浓度增加及

胁迫时间的延长而上升<sup>[9]</sup>,小麦幼苗叶片中的  $O_2^-$  产生速率显著增加,SOD 活性和 CAT 活性显著下降,植株幼苗株高、根长和干质量下降<sup>[10]</sup>;低温胁迫下番茄幼苗根中  $H_2O_2$  含量增加且超氧阴离子产生速率显著升高<sup>[11]</sup>,高温胁迫显著提高了鸭梨果实内  $H_2O_2$  的含量<sup>[12]</sup>。因此,清除植物体内多余的  $H_2O_2$ ,降低  $O_2^-$  产生速率很有必要。

二甲基硫脲 (dimethylthiourea,DMTU) 作为  $H_2O_2$  的猝灭剂<sup>[13]</sup>,可部分清除由外源亚精胺引起的玉米根系  $H_2O_2$  的产生并延缓根系生长所受到的抑制<sup>[14]</sup>;可减少丹参细胞内  $H_2O_2$  含量,且  $700 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 DMTU 可完全抑制其细胞内  $H_2O_2$  的产生<sup>[15]</sup>。ROS 在质膜 NADPH 氧化酶的作用下使  $O_2$  形成  $O_2^-$ ,  $O_2^-$  发生歧化作用进而生成  $H_2O_2$ <sup>[16]</sup>,二苯基氯化碘盐 (diphenyleneiodonium chloride, DPI) 作为 NADPH 酶抑制剂,在植物中已被用于减少 ROS 的产生<sup>[17-18]</sup>,可抑制 ABA 诱导下水稻细胞中  $H_2O_2$  含量的增加<sup>[19]</sup>;减少玉米叶片伸长区  $H_2O_2$  和  $O_2^-$  含量的积累<sup>[20]</sup>。

**第一作者简介:**张倩倩(1992-),女,硕士研究生,研究方向为园艺植物逆境生理。E-mail:280393636@qq.com。

**责任作者:**贺学勤(1970-),女,博士,副教授,现主要从事园艺植物逆境生理等研究工作。E-mail:xueqinhe@imaau.edu.cn。

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(31260486);中国农业大学-内蒙古农业大学合作基金资助项目(ZN201102)。

**收稿日期:**2016—07—26

中国石竹(*Dianthus chinensis* L.)属石竹科石竹属多年生草本植物,由于其观赏价值高且对干旱、盐碱性、重金属等有较强的耐受性<sup>[21~23]</sup>,因此被广泛应用于北方地区园林绿化中<sup>[24~25]</sup>。该试验采用DMTU和DPI对石竹幼苗进行预处理,通过研究不同H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>清除剂预处理后外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理下石竹幼苗不同器官中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量和O<sub>2</sub><sup>-</sup>含量以及相关清除酶活性的变化,探究减少H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量对氧化胁迫下石竹幼苗生理活性的影响,以期为石竹抗逆栽培提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

将子粒饱满的中国石竹种子播于装有蛭石且浇透水的苗钵中,播种深度0.5 cm左右,在植物光照培养箱中进行培养(22℃,16 h光照/20℃,8 h黑暗),待幼苗长出2片真叶后采用1/10 MS营养液和水间隔浇。待幼苗长到6片真叶时,将幼苗根部清洗干净,备用。

### 1.2 试验方法

将根部清洗干净的石竹幼苗置于带有通气装置的1/10 MS营养液中进行平衡培养2 d。然后挑选长势一致的6片石竹幼苗真叶,将根部分别浸入蒸馏水、3 mmol·L<sup>-1</sup> DPI和25 mmol·L<sup>-1</sup> DMTU中预处理2 h,然后用蒸馏水清洗根部,在滤纸上吸取多余水分后放入5 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>中进行处理,6 h后取出幼苗,用蒸馏水冲洗3~5次,分别收集叶片和根部用于以下指标的测定。每处理3次重复,每次重复40株幼苗。

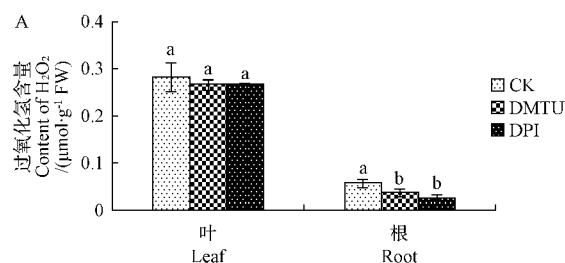


图1 不同清除剂对石竹正常条件下不同器官中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量(A)和超氧阴离子含量(B)的影响

Fig. 1 Effect of hydrogen peroxide traps on contents of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (A) and superoxide anion (B) in different organs of *Dianthus chinensis* L. under normal conditions

### 2.2 不同H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>清除剂对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理下石竹不同器官中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和超氧阴离子含量的影响

与CK相比,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理下石竹幼苗叶片中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量显著高出CK 45.45%;与未预处理的相比,经DMTU、DPI预处理后的石竹幼苗叶片中的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量显著降低,分别低43.75%和31.25%,但DMTU与DPI间差异不显著,DMTU、DPI预处理后与CK相比差异不显著;在根中表现为H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理下最高,DPI次之,DMTU第三,CK最低,但各处理间差异不显著(图2A)。通过比

### 1.3 项目测定

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量测定参照刘俊等<sup>[26]</sup>的方法,在415 nm下测定吸光度值;超氧阴离子含量测定参照王爱国等<sup>[27]</sup>的方法,在530 nm下测定吸光度值;超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑(NBT)还原法测定<sup>[28]</sup>,以抑制NBT光化学还原的50%为一个酶活性单位(U);过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚显色法测定<sup>[29]</sup>,以每分钟内470 nm下的光密度变化0.10为一个酶活性单位(U);抗坏血酸氧化酶(APX)活性参照NAKANO等<sup>[30]</sup>的方法测定,酶活性以 $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$  Pro表示。

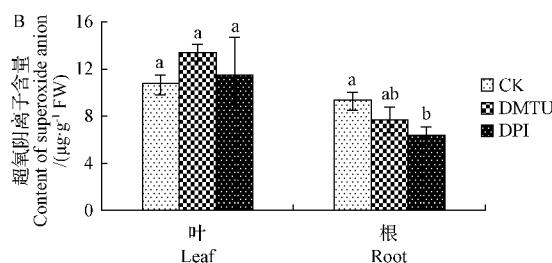
### 1.4 数据分析

试验数据采用Microsoft Excel 2007软件作图,并用SAS软件进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>清除剂对石竹幼苗正常条件下H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和超氧阴离子含量的清除效果

图1A结果表明,在石竹叶片中,DMTU和DPI处理2 h后H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量低于CK,但差异不显著;在根中,与CK相比,DMTU和DPI处理下H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量分别显著下降了33.33%和66.67%。由图1B可知,叶片中DMTU和DPI处理下超氧阴离子含量均高于CK,但差异不显著,而在根中,超氧阴离子含量则表现为DMTU和DPI处理下的均低于CK,其中DPI处理下的差异显著。上述结果表明DMTU和DPI处理对正常生长条件下石竹根中的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和超氧阴离子含量有清除作用,但对叶的作用则不明显。



较超氧阴离子含量发现,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理下叶片中超氧阴离子含量高于CK,与未预处理的相比,DMTU和DPI预处理后的超氧阴离子含量均降低,但差异不显著;与CK相比,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理下根中超氧阴离子含量显著高出CK 65.68%,经DMTU、DPI预处理后其含量均低于未预处理下的,其中DMTU预处理的显著低于未预处理的18.97%,DPI预处理的显著高于CK(图2B)。上述结果表明,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理会导致石竹叶片和根部的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和超氧阴离子含量增加,采用H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>清除剂预处理后均可降

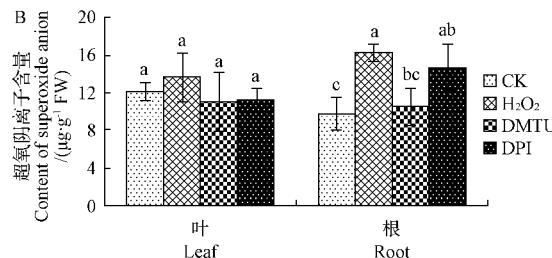
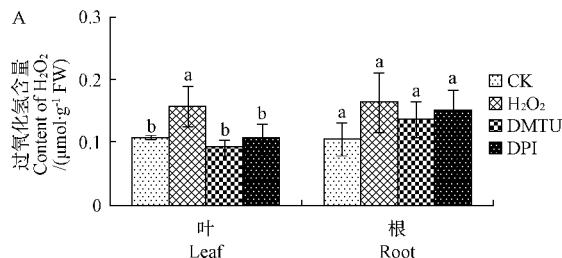
图 2 不同清除剂对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理下石竹不同器官 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量(A)和超氧阴离子(B)含量的影响

Fig. 2 Effect of hydrogen peroxide traps on contents of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (A) and superoxide anion (B) in different organs of *Dianthus chinensis* L. under H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment

低二者的含量,但器官不同降低程度不同,从清除效果看 DMTU 的作用效果优于 DPI 的。

### 2.3 不同 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 清除剂对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理下石竹不同器官 SOD 活性的影响

超氧化物歧化酶(SOD)是植物处于逆境中最主要的一种抗氧化酶,它可以及时清除自由基和 ROS,提高植物组织的抗氧化能力。由图 3 可知,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理下石竹叶片 SOD 活性显著高出 CK 68.65%,与未预处理相比,DMTU 和 DPI 预处理均降低了 SOD 活性,其中 DMTU 的显著降低了 35.80%,DMTU、DPI 预处理与 CK 相比差异不显著;在根中 SOD 活性表现为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理显著高出 CK 16.37%,DMTU 和 DPI 预处理高于未预处理的,但差异不显著,与 CK 相比,DMTU 和 DPI 预处理显著提高了 SOD 活性。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理导致石竹幼苗叶片和根部 SOD 活性显著增高,DMTU 和 DPI 预处理可降低叶片中的 SOD 活性,但对根部的 SOD 活性无显著作用。

### 2.4 不同 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 清除剂对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 胁迫下石竹不同器官 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 清除酶活性的影响

从图 4 可以看出,过氧化物酶(POD)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)均是清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的主要酶类。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理下,无论预处理与否,叶中的 POD 活性均高于 CK,但差异不显著;根部除 DMTU 预处理外,其余均略高于

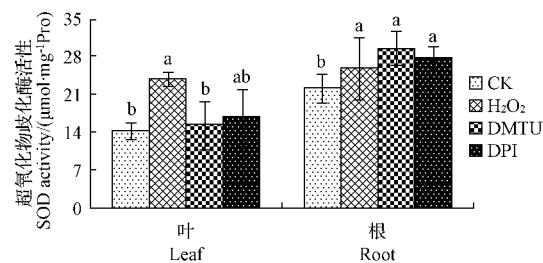
图 3 不同清除剂对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理下石竹不同器官 SOD 活性的影响

Fig. 3 Effect of hydrogen peroxide traps on SOD activity in different organs of *Dianthus chinensis* L. under H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment

CK 活性升高,比 CK 高出 47.64%,DMTU 和 DPI 预处理后的均低于未预处理的,但差异不显著;根部 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理下的 APX 活性显著高出 CK 76.00%,与未预处理的相比,DMTU 预处理显著降低了 APX 活性,DPI 预处理则无明显作用,与 CK 相比,DPI 预处理显著提高了 APX 活性。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理对石竹叶片和根部的 POD 活性无显著影响,且 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 清除剂对 POD 无作用。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理提高了石竹幼苗叶片和根部 APX 活性,DMTU 预处理可显著降低根部的 APX 活性,DPI 预处理对 APX 的作用不显著。

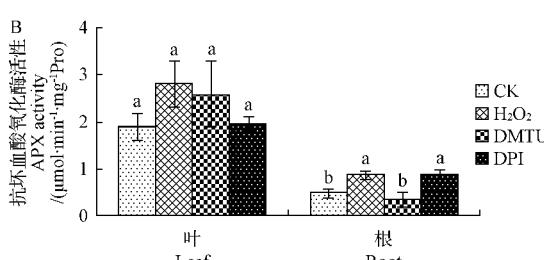
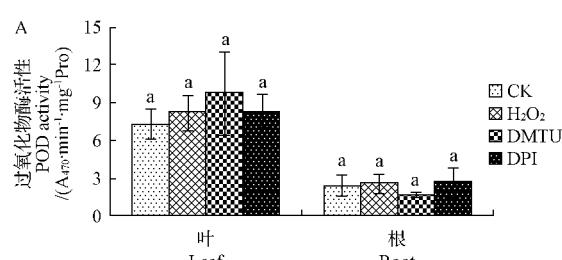
图 4 不同清除剂对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理下石竹不同器官 POD(A)和 APX 活性(B)的影响

Fig. 4 Effect of hydrogen peroxide traps on activities of POD (A) and APX (B) activity in different organs of *Dianthus chinensis* L. under H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment

### 3 讨论

二甲基硫脲(DMTU)和二苯基氯化碘盐(DPI)均可减少H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的产生。随DMTU浓度的增加抑制丹参培养细胞中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>产生的程度加强<sup>[15]</sup>。DPI处理可抑制玉米叶片伸长区H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和O<sub>2</sub><sup>-</sup>的积累<sup>[20]</sup>。表明DMTU和DPI对植物体内的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和O<sub>2</sub><sup>-</sup>的产生有清除作用。该研究也证实DMTU和DPI作为H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的外源清除剂,对正常条件下石竹叶片和根中的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和O<sub>2</sub><sup>-</sup>含量均有清除作用,且在根中的清除效果更为显著。

10 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理可显著提高山黧豆叶片中的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量<sup>[31]</sup>,20 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>喷洒香蕉果实能促进香蕉果皮中内源H<sub>2</sub>O含量的积累<sup>[32]</sup>,该试验中石竹幼苗根部经5 mmol·L<sup>-1</sup>的外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理后,叶片和根部中的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量和O<sub>2</sub><sup>-</sup>含量均增加,这与前人研究结果一致。邱宗波等<sup>[10]</sup>、李金亭等<sup>[33]</sup>发现外源施加一定浓度的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可提高水分胁迫下小麦幼苗的SOD、POD活性和盐胁迫下小麦叶片中的SOD、POD、APX活性,该研究结果证明外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>提高了石竹幼苗根部和叶片SOD、POD和APX活性,这与上述结果一致。SOD、POD和APX等是ROS清除系统的重要保护酶,外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>增加了石竹不同器官中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和O<sub>2</sub><sup>-</sup>的含量,进而导致相应清除酶活性增加,但增加的程度与酶的种类有关。

胁迫状态会引起H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和O<sub>2</sub><sup>-</sup>的过量产生,进而导致氧化胁迫反应的发生。因此,有必要对其过量产生的部分进行清除。外源5 mmol·L<sup>-1</sup> DMTU可清除PEG 6000模拟低水势下玉米初生根中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的积累<sup>[34]</sup>。DPI可明显抑制豌豆幼苗由伤害和外施茉莉酸(JA)诱导的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>形成<sup>[35]</sup>;可降低ABA诱导下玉米幼苗中O<sub>2</sub><sup>-</sup>的产生速率<sup>[36]</sup>。5 mmol·L<sup>-1</sup> DMTU处理瓶插月季可显著降低其花瓣的APX和POD活性<sup>[37]</sup>。DPI处理可降低ABA诱导下玉米幼苗的SOD活性和APX活性<sup>[38]</sup>,该试验中,与外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导产生的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量和O<sub>2</sub><sup>-</sup>含量相比,DMTU和DPI预处理均降低了H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量和O<sub>2</sub><sup>-</sup>含量,但器官不同降低程度不同,这与前人结果一致。与未预处理相比,DMTU和DPI预处理后均降低了H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理下石竹叶SOD、APX活性,且DMTU预处理显著降低了根部的APX活性,表明降低H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量和O<sub>2</sub><sup>-</sup>含量可降低相应清除酶的活性。上述结果进一步表明DMTU和DPI对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>有清除作用,可以减轻H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理下植物遭受的伤害。2种清除剂相比,DMTU的清除效果持续更明显。

### 4 结论

该研究结果表明,DMTU和DPI作为H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>清除剂可缓解氧化胁迫导致的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和O<sub>2</sub><sup>-</sup>增加而引起的植株

伤害,其中在H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理下DMTU清除H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的效果较好。

### 参考文献

- [1] GABBITA S P,ROBINSON K A,STEWART C A,et al. Redox regulatory mechanisms of cellular signal transduction[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2000,376(1):1-13.
- [2] HANCOCK J T,DESIKAN R,NEILL S J. Role of reactive oxygen species in cell signalling pathways[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2001,29(2):345-349.
- [3] SCANDALIOS J G. The rise of ROS[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2002,27(9):483-486.
- [4] 张怡,路铁刚.植物中的活性氧研究概述[J].生物技术进展,2011,1(4):242-248.
- [5] 孙光闻,朱祝军,方学智.镉对白菜活性氧代谢及H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>清除系统的影响[J].中国农业科学,2004,37(12):2012-2015.
- [6] 李源,李金娟,魏小红.镉胁迫下蚕豆幼苗抗氧化能力对外源NO和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的响应[J].草业学报,2009,18(6):186-191.
- [7] 陈文利,徐朗来,沈文飚,等.盐胁迫下两品种大麦叶片H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>累积及其清除酶活性的变化[J].南京农业大学学报,1999,22(2):97-100.
- [8] 颜志明,魏跃,贾思振,等.盐胁迫对草莓抗氧化系统和离子吸收的影响[J].北方园艺,2013(9):1-4.
- [9] 贾学静,董立花,丁春邦,等.干旱胁迫对金心吊兰叶片活性氧及其清除系统的影响[J].草业学报,2013,22(5):248-255.
- [10] 邱宗波,孙立,李金亭,等.外源过氧化氢对小麦水分胁迫伤害的防护作用研究[J].植物研究,2010,30(3):294-298.
- [11] 李天来,高晓倩,刘玉凤.夜间低温胁迫下钙对番茄幼苗根系活力及活性氧代谢的调控作用[J].西北农业学报,2011,20(8):127-132.
- [12] 李英丽,李晓光,刘水林,等.高温下光照变化对鸭梨果实抗氧化物质变化规律的影响[J].北方园艺,2016(6):28-31.
- [13] CASANO L M,MARTÍN M,SABATER B. Hydrogen peroxide mediates the induction of chloroplastic Ndh complex under photooxidative stress in barley[J]. *High Performance Polymers*, 2013,26(3):357-363.
- [14] ZACCHINI M D,AGAZIO M D,Dimethylthiourea,a hydrogen peroxide trap,partially prevents stress effects and ascorbate peroxidase increase in spermidine-treated maize roots[J]. *Plant,Cell and Environment*, 2001,24(2):237-244.
- [15] 陈红艳,刘连成,董娟娥,等.H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>参与水杨酸诱导丹参培养细胞中丹酚酸B合成的信号转导[J].生物工程学报,2012,28(7):834-846.
- [16] GEORGIA T,ATHANASSIOS M,GRIGORIOS D. Hydrogen peroxide-and nitric oxide-induced systemic antioxidant prime-like activity under NaCl-stress and stress-free conditions in citrus plants[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2009,166(17):1904-1913.
- [17] FRAHRY G,SCHOPFER P. Inhibition of O<sub>2</sub><sup>-</sup> reducing activity of horseradish peroxidase by diphenyleneiodonium[J]. *Phytochemistry*, 1998,48(2):223-227.
- [18] SCHOPFER P,FRAHRY G P C. Release of reactive oxygen intermediates (superoxide radicals,hydrogen peroxide, and hydroxyl radicals) and peroxidase in germinating radish seeds controlled by light,gibberellin, and abscisic acid[J]. *Plant Physiology*, 2001,125(4):1591-1602.
- [19] HUNG K T,DENG G C,YI T H,et al. Abscisic acid-induced hydrogen peroxide is required for anthocyanin accumulation in leaves of rice seedlings[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2008,165(12):1280-1287.
- [20] RODRIGUEZ A A,GRUNBERG K A,TALEISNIK E L. Reactive oxygen species in the elongation zone of maize leaves are necessary for leaf

- extension[J]. Plant Physiology, 2002, 129(4): 1627-1632.
- [21] HE X Q, DU D J, SHAO M Z H, et al. Effect of salt and water stress on germination of *Dianthus chinensis* L. [C]// ZHANG Y. (Ed.), Academic Conference on Horticulture Science and Technology, Academy Service Group Ltd., London, 2009: 60-63.
- [22] HE X Q, ZHUANG L X, GAO X Y, et al. Growth responses to NaCl and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> stress in *Dianthus chinensis* L. seedling[C]// ZHANG Y (Ed.), The 2nd Conference on Horticulture Science and Technology. Academy Service Group Ltd., London, 2010: 126-130.
- [23] 贺靖舒, 丁继军, 潘远智, 等. 石竹对土壤镉胁迫的生理生化响应[J]. 四川农业大学学报, 2013, 31(3): 290-295.
- [24] KANTIA A, KOTHARI S L. High efficiency adventitious shoot bud formation and plant regeneration from leaf explants of *Dianthus chinensis* L. [J]. Scientia Horticulturae, 2002, 96(1-4): 205-212.
- [25] SPARNAAIJ L D, PUTTEN K V. Selection for early flowering in progenies of interspecific crosses of ten species in the genus *Dianthus* [J]. Euphytica, 1990, 50(5): 211-220.
- [26] 刘俊, 吕波, 徐朗莱. 植物叶片中过氧化氢含量测定方法的改进[J]. 生物化学与生物物理进展, 2000, 27(5): 548-551.
- [27] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧物自由基与羟胺反应的定量关系[J]. 植物生理学报, 1990, 31(6): 55-57.
- [28] BEAUCHAMP C, FRIDOVICH I. Superoxide dismutase; improved assays and an assay applicable to acrylamide gels[J]. Analytical Biochemistry, 1971, 44(1): 276-287.
- [29] KURODA M, OAIWA T, IMAGAWA H. Changes in chloroplast peroxidase activities in relation to chlorophyll loss in barley leaf segments[J]. Physiologia Plantarum, 1990, 80(4): 555-560.
- [30] NAKANO Y, ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. Plant and Cell Physiology, 1981, 22(5): 867-880.
- [31] 蒋景龙. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 胁迫对山黧豆生理生化指标的影响[J]. 西北农业学报, 2016, 25(2): 243-248.
- [32] 庞学群, 潘少丽, 王海波, 等. 过氧化氢在香蕉果实采后耐冷性诱导中的作用[J]. 园艺学报, 2007, 34(6): 1373-1378.
- [33] 李金亭, 赵萍萍, 邱宗波, 等. 外源 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对盐胁迫下小麦幼苗生理指标的影响[J]. 西北植物学报, 2012, 32(9): 1796-1801.
- [34] 李晶, 蒋明义, 张阿英, 等. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 参与低水势下 ABA 维持玉米初生根的生长[J]. 南京农业大学学报, 2008, 31(1): 6-10.
- [35] 刘艳, 黄卫东, 戚吉庆, 等. 机械伤害和外源茉莉酸诱导豌豆幼苗 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 系统性产生[J]. 中国科学: 生命科学, 2004, 34(6): 501-509.
- [36] JIANG M Y, ZHANG J H. Cross-talk between calcium and reactive oxygen species originated from NADPH oxidase in abscisic acid-induced antioxidant defence in leaves of maize seedlings[J]. Plant, Cell and Environment, 2003, 26(6): 929-939.
- [37] 贺学勤, 张晓超. DMTU 对瓶插月季花瓣中抗氧化酶和蔗糖代谢酶活性的影响[J]. 作物杂志, 2013, 37(2): 91-95.

## Influence of Hydrogen Peroxide Traps on Antioxidant System in Different Organs of *Dianthus chinensis* L. Under H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Treatment

ZHANG Qianqian, YU Xiao, HE Xueqin

(Agronomy Faculty, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010019)

**Abstract:** Taking *Dianthus chinensis* L. as material, with 25 mmol·L<sup>-1</sup> DMTU and 3 mmol·L<sup>-1</sup> DPI for 2 hours were pretreated and 5 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 6 hours were treated, then the contents of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and O<sub>2</sub><sup>-</sup> and related enzyme activity were measured, the influence of reducing H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content on physiological activity under oxidative stress in *Dianthus chinensis* L. seedlings were studied, in order to provide theoretical basis for cultivation of *Dianthus chinensis* L. under adversity. The results showed that the contents of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and O<sub>2</sub><sup>-</sup> in the leaves and roots were reduced by pretreatment of 25 mmol·L<sup>-1</sup> DMTU and 3 mmol·L<sup>-1</sup> DPI under normal conditions and levels of reduce were significant in the roots ( $P < 0.5$ ); treatment with 5 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> led to the significant increase of the content of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in leaves and the content of O<sub>2</sub><sup>-</sup> in roots ( $P < 0.5$ ), but pretreatment with 25 mmol·L<sup>-1</sup> DMTU and 3 mmol·L<sup>-1</sup> DPI declined both in the two organs; the enzyme activities of SOD in leaves and SOD, APX in roots increased significantly under 5 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment ( $P < 0.5$ ), but the enzyme activities of SOD and APX in leaves were declined by pretreatments of 25 mmol·L<sup>-1</sup> DMTU and 3 mmol·L<sup>-1</sup> DPI and the enzyme activity of APX in roots was significantly declined by pretreatments of 25 mmol·L<sup>-1</sup> DMTU ( $P < 0.5$ ), it suggested that the contents of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and O<sub>2</sub><sup>-</sup> had positive relations with the activities of their scavenger enzymes. Therefore, DMTU and DPI could alleviate the accumulation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and O<sub>2</sub><sup>-</sup> content induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment with different levels, and the former had the better effect of alleviation.

**Keywords:** *Dianthus chinensis* L.; hydrogen peroxide; dimethylthiourea; diphenyleneiodonium chloride; scavenger enzymes