

水杨酸对高温强光下小麦抗氧化及光合作用的影响

马培芳, 杨亚军, 赵会杰*

(河南农业大学 生命科学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 以浓度为 0.5 mmol/L 的水杨酸(SA)水溶液喷施灌浆期小麦叶片, 然后进行高温强光胁迫处理, 研究 SA 对高温强光下小麦叶片氧化损伤及光合机构运转的影响。结果表明, SA 能有效防护高温强光所致的氧化损伤, 维持较高的 SOD 和 APX 活性, 减少 H_2O_2 的积累, 抑制脂质过氧化作用。明显减轻高温强光胁迫对光合机构的破坏, 维持较高的 PS II 原初光化学效率(F_v/F_m)、实际光化学效率(Φ_{PSII})、光化学猝灭系数(q_p)和净光合速率(P_n)。

关键词: 水杨酸; 高温强光胁迫; 小麦叶片; 氧化损伤; 光合作用

中图分类号: S512.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2009)04-0026-04

Effects of Salicylic Acid on Antioxidant Metabolism and Photosynthesis of Wheat Leaves under Heat and Irradiance Stress

MA Pei-fang, YANG Ya-jun, ZHAO Hui-jie*

(College of Life Sciences, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The wheat leaves at grain-filling stage were sprayed with 0.5 mmol/L of salicylic acid (SA) and then treated with high temperature and high irradiance to study the effects of salicylic acid (SA) on active oxygen metabolism and operation of photosynthetic apparatus in wheat leaves. The results showed that SA could maintain higher activities of superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX), and reduce the contents of H_2O_2 and malondialdehyde (MDA), indicating that SA protected wheat leaves from oxidative damage caused by heat and high irradiance stress. Meanwhile, SA could alleviate the damage of heat and high irradiance to photosynthetic apparatus, and maintain higher F_v/F_m (maximum photochemical efficiency of PS II), Φ_{PSII} (factual photochemical efficiency of PS II), q_p (non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence) and P_n (net photosynthetic rate).

Key words: Salicylic acid; Heat and high irradiance stress; Wheat leaves; Oxidative damage; Photosynthesis

小麦属喜凉作物, 在灌浆期易受到异常高温强光逆境交叉胁迫, 导致体内 O_2^- 、 H_2O_2 等活性氧大量积累, 脂质过氧化作用加剧, PS II 光化学效率明显

下降, 叶片光合速率和光合量子效率下降, 光合机构甚至发生不可逆的光抑制、光破坏^[1,2]。水杨酸(SA)是一种广泛存在于植物体内的酚类物质, 在诱

收稿日期: 2008-10-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(30671214)

作者简介: 马培芳(1983-), 女, 河南平顶山人, 在读硕士研究生, 研究方向: 植物生理。

通讯作者: 赵会杰(1958-), 男, 河南尉氏人, 教授, 主要从事作物生理生态研究与教学工作。

导植物获得抗性中起信号传导的作用^[3]。我们的研究发现,以较低浓度 SA (0.5 mmol/L) 预先处理灌浆期小麦叶片,可有效防护高温强光所致的氧化损伤,清除活性氧的积累^[4]。但对于在高温强光胁迫过程中 SA 如何调节小麦叶片活性氧代谢及光合机构运转这一系列的动态变化,以及在胁迫结束后对活性氧清除系统和光合机构的修复等后效尚不清楚。基于此,研究了 SA 在高温强光胁迫及暗恢复过程中对小麦叶片活性氧代谢及光合机构运转动态变化的调节,旨在为生产中采取抗逆应变措施,防止光合功能过早衰退提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料与处理

以小麦 (*Triticum aestivum*) 品种豫农 949 为试验材料。采用盆栽方法,盆高 26 cm,内径 25 cm,每盆装耕层潮土 9 kg。10 月 15 日播种,播种后将盆埋入试验田土中,出苗后每盆留苗 3 株,共计 240 盆。采取常规管理措施。于开花后 20 d (灌浆期) 将试验材料分为 2 组,其中一组进行喷施水杨酸预处理,浓度 0.5 mmol/L^[5],每天 1 次,连喷 3 次;另一组喷水作为对照。然后将材料带回人工气候室进行不同的温光处理。

设 2 种温度:适温 (25℃) 和高温 (35℃); 2 种光照强度:中光 [PFD 为 600 μmol/(m²·s)] 和强光 [PFD 为 1600 μmol/(m²·s)], 温度、光强按试验要求组合。1600 μmol/(m²·s) 强光用 1000 W 钨灯提供。将钨灯置于一个铁架上,钨灯和试验材料之间设置一个厚度 10 cm 的玻璃流动水槽,以避免光下温度过高。通过调节材料与光源的距离,使旗叶 (取样部位) 接收的光强达到设计要求。

试验共设 8 个处理:

CK: 喷水预处理植株,保持在适温 (25℃)、中光 [600 μmol/(m²·s)] 条件下。

W2: 喷水预处理植株,高温 (35℃)、强光 [1600 μmol/(m²·s)] 处理 2 h。

W4: 喷水预处理植株,高温 (35℃)、强光 [1600 μmol/(m²·s)] 处理 4 h。

W_r: 喷水预处理植株,高温 (35℃)、强光 [1600 μmol/(m²·s)] 处理 4 h,然后在适温 (25℃)、中光 [600 μmol/(m²·s)] 下恢复 3 h。

SA0: 水杨酸预处理植株,保持在适温 (25℃)、中光 [600 μmol/(m²·s)] 条件下。

SA2: 水杨酸预处理植株,高温 (35℃)、强光

[1600 μmol/(m²·s)] 处理 2 h。

SA4: 水杨酸预处理植株,高温 (35℃)、强光 [1600 μmol/(m²·s)] 处理 4 h。

SA_r: 水杨酸预处理植株,高温 (35℃)、强光 [1600 μmol/(m²·s)] 处理 4 h,然后在适温 (25℃)、中光 [600 μmol/(m²·s)] 下恢复 3 h。

处理后立即取旗叶进行生理指标测定。

1.2 测定方法

1.2.1 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性 采用氮蓝四唑 (NBT) 光化还原法测定^[6]。

1.2.2 抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性 采用紫外吸收法测定^[6]。

1.2.3 H₂O₂ 含量 采用四氯化钛比色法^[6]。

1.2.4 光合放氧速率 采用 Chlorolab-2 氧电极系统 (英国 Hansatech 公司产) 测定^[6]。

1.2.5 叶绿素荧光参数的测定^[7] 采用 FMS-2 型脉冲调制式叶绿素荧光分析仪 (英国 Hansatech 公司产) 测定,测定前叶片暗适应 20 min,光化学强度为 400 μmol/(m²·s),饱和闪光强度为 8000 μmol/(m²·s)。

1.3 数据处理

运用 Excel 2003 进行数据处理,测定均重复 5 次,结果以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,利用 DPS 3.01 版软件进行方差分析和多重比较。

2 结果与分析

2.1 SA 对高温强光胁迫下小麦叶片 SOD 及 APX 活性的影响

由图 1 可看出: (1) 在高温强光胁迫下, SOD 活性呈现先增加后降低趋势,暗恢复后, SOD 活性又有所回升。 (2) 叶面喷施 SA 在 SOD 活性上升阶段起促进作用,与暗适应处理相比, SA2 比 SA0 增加 12.22%, 而 W2 仅比 CK 增加 4.23%。 (3) 照光 4 h 时,由于部分酶蛋白因高温强光变性, SOD 活性开始下降, SA 处理小麦叶片有效抑制了 SOD 活性下降。 (4) 暗恢复 3 h 后, SA_r SOD 活性高于 W_r, 有效清除了在高温强光逆境中产生的活性氧自由基。

由图 2 可看出: (1) 在高温强光胁迫下, APX 活性呈现先增加后降低趋势,且增幅较大,暗恢复后 APX 活性又有所回升。叶面喷施 SA 在 APX 活性上升阶段起促进其增加的作用,在 APX 活性下降阶段又起一定的抑制作用。 (2) 暗恢复后,叶面喷施 SA 的处理, APX 活性比对照恢复更快,已达 CK 水平。 SA 处理通过调节高温强光胁迫下小麦叶片

保护酶活性,增强了其在逆境条件下清除自由基的能力,且后效作用明显。

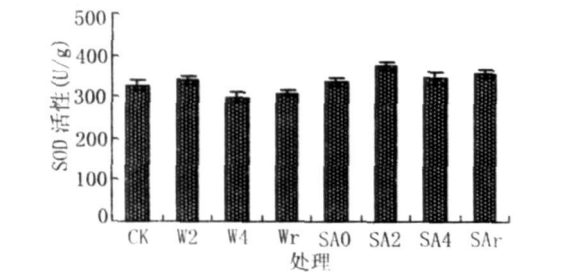


图 1 外源 SA 对不同处理小麦叶片 SOD 活性的影响

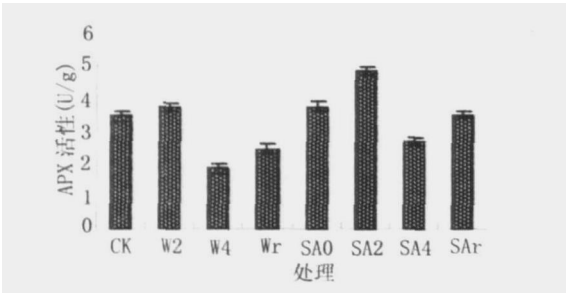


图 2 外源 SA 对不同处理小麦叶片 APX 活性的影响

2.2 SA 对高温强光胁迫下小麦叶片 H₂O₂ 含量的影响

由图 3 可知: (1)在高温强光胁迫下, H₂O₂ 含量呈现先降低后增加趋势, 暗恢复后 H₂O₂ 含量又有所下降。 (2)SA2 比 W2 低 28.07%, SA 处理可有效调节 SOD 和 APX, 增加他们的活性, 消除 H₂O₂ 的积累; 随胁迫时间延长, SOD、APX 活性下降, H₂O₂ 含量随即升高, 但 SA4 仍比 W4 低 29.11%, 暗恢复后, SA 处理 H₂O₂ 含量下降至低于 CK 的水平, 叶面喷施 SA 有效降低了 H₂O₂ 含量, 抑制了活性氧的积累。

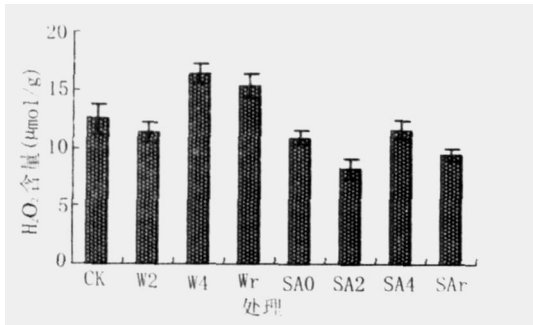


图 3 外源 SA 对不同处理小麦叶片 H₂O₂ 含量的影响

2.3 SA 对高温强光胁迫下小麦叶片质膜氧化损伤的影响

MDA 含量和质膜相对透性均反应膜质受氧化损伤的程度。由图 4、图 5 看出: (1)高温强光下, MDA 含量和相对电导率随胁迫程度加深迅速增加, 暗恢复 3 h 后其均有所下降。 (2)与 CK 相比,

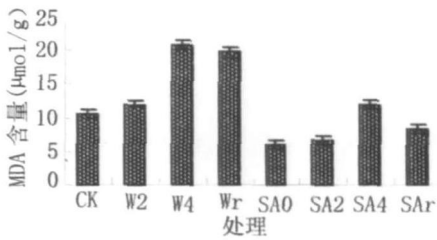


图 4 外源 SA 对不同处理小麦叶片 MDA 含量的影响

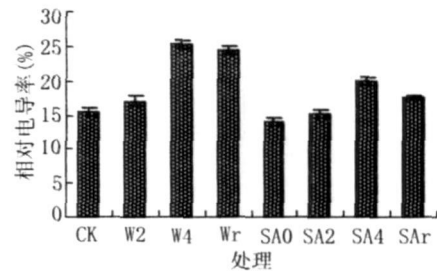


图 5 外源 SA 对不同处理小麦叶片质膜相对透性的影响

SA0 的 MDA 含量极低, 在高温强光胁迫下, 照光 2、4 h SA 预处理的 MDA 含量和相对电导率均显著低于喷水对照, ($P < 0.05$)。 (3)叶面喷施 SA 暗恢复后 MDA 含量和相对电导率迅速下降, SA 处理有效抑制了逆境所致的膜脂过氧化程度, 降低了膜透性, 减小了高温强光引起的质膜氧化损伤程度。

2.4 SA 对高温强光胁迫下小麦叶片光合机构功能的影响

由表 1 知, 小麦叶片的净光合速率随胁迫时间延长呈明显下降趋势, 而叶面喷施 SA 在一定程度上缓解了这种下降趋势, 且暗恢复后效作用明显。

F_v/F_m 代表 PS II 的最大光化学效率, Φ_{PSII} 是实际光能捕获效率, 两者均为反映 PS II 光化学效率的稳定指标, F_v/F_m 比值及 Φ_{PSII} 数值的下降表明 PS II 潜在活性中心受损^[8]。由表 1 看出: 在高温强光胁迫过程中, F_v/F_m 及 Φ_{PSII} 迅速下降, 表明高温强光使小麦叶片的光合机构发生了光抑制现象。SA 处理缓解了 F_v/F_m 及 Φ_{PSII} 的下降, 在高温强光 1 h 时, SA0 与 SA1 差异不大, 说明短时间胁迫下, SA 处理稳定了 PS II 反应中心库, 在暗恢复阶段 SAR F_v/F_m 及 Φ_{PSII} 迅速回升, 超过 CK, 和 SA0 差异并不显著。 q_p 代表 PS II 反应中心开放部分的比例, 主要反映处于激发态的 PS II 反应中心通过电荷分离进行原初光化学反应, 产生去激能力的大小^[9]。由表 1 知: 与水处理相比, SA 处理缓解了 q_p 的下降, 并且经 4 h 暗恢复后, SAR 的 q_p 甚至超过了 SA0 水平。叶面喷施 SA 抑制了高温强光所致光化学猝灭的减小, 促进了正常的光合电子传递。

表 1 外源 SA 对不同处理小麦叶片叶绿素荧光参数及净光合速率的影响

处理	Fv/Fm	Φ_{PSII}	qp	Pn
CK	0.8559±0.0048b B	0.1339±0.0011c B	0.1556±0.0014b B	11.77±1.14ab A
W2	0.6270±0.0127e E	0.1311±0.0009d C	0.1311±0.0009d C	10.20±0.57d B
W4	0.4265±0.0079f F	0.1190±0.0005f E	0.1190±0.0005f E	7.51±0.24f C
W _r	0.7254±0.0088d D	0.1287±0.0004e D	0.1287±0.0004e D	8.23±0.27e C
SA0	0.9299±0.0115a A	0.1418±0.0008a A	0.1418±0.0008a A	11.88±0.32a A
SA2	0.8197±0.0123a C	0.1406±0.0007a B	0.1406±0.0007b A	11.12±0.60bc AB
SA4	0.7202±0.0090d D	0.1329±0.0014c B	0.1329±0.0014c B	10.46±0.29cd B
SAr	0.9175±0.0082a A	0.1411±0.0007ab A	0.1411±0.0007ab A	11.59±0.27ab A

3 讨论

光是植物光合作用的能源,是植物生长的必需因素,但秦岭淮河以北小麦主产区,小麦灌浆期气温异常升高,并伴随强光,对小麦造成双重胁迫。致使光合机构异常,光合电子传递受阻,甚至引发不可逆的光氧化、光破坏^[3]。高温强光下,植物通过 Mehler 反应大量产生 O₂⁻ 转化为 H₂O₂、O₂¹ 等氧化性较强的多种活性氧^[10,11]。这时,如果植物体内 SOD 和 APX 等清除活性氧的酶类活性较强,这些活性氧可及时被清除。如果体内的 SOD 和 APX 等防御酶活性受抑,则会导致 H₂O₂、O₂⁻ 等活性氧的积累^[12,13],加剧膜脂不饱和脂肪酸的过氧化分解,MDA 含量增多,破坏细胞膜,增加其透性;叶绿体内电子传递受阻,光合机构受损,放氧速率降低^[14]。

本试验结果表明,小麦经受高温强光胁迫之前叶面喷施低浓度 SA (0.5 mmol/L),在高温强光逆境初期,使 SOD、APX 活性保持了较强的增势,随胁迫时间延长,部分酶蛋白因高温变性失活, SOD、APX 活性下降,SA 处理抑制了活性氧清除酶系活性的下降,暗恢复时,有效清除了在高温强光逆境中产生的活性氧自由基。体内 SOD 和 APX 等清除活性氧酶类活性的增强,减少了 H₂O₂ 的积累,使 MDA 含量和质膜相对透性在高温强光逆境中增势变缓,降低了 MDA 含量及质膜受氧化程度,明显减轻了高温强光胁迫导致的氧化损伤。且对光合机构修复的后效作用明显, F_v/F_m、 Φ_{PSII} 、qp、Pn 在暗恢复阶段较快恢复,使光合机构受损程度降低,维持了 PS II 反应中心结构的稳定及较高的周转速率,尤其是净光合速率的有效回升保证了光合机构的正常运转。但在田间条件下,植物所处的环境条件极为复杂,光抑制现象除与光照有关外,还受温度、水分等条件的影响,而盆栽与大田生长的小麦,其生理状态是有差异的,因此,本试验结果能否适用于大田条件尚需研究。

参考文献:

[1] 徐晓玲,王志敏,张俊平. 灌浆期热胁迫对小麦不同绿色器官光合性能的影响[J]. 植物学报, 2001, 43(6): 571—577.

[2] 许大权. 光系统 II 反应中心的可逆失活及其生理意义[J]. 植物生理通讯, 1999, 35(4): 273—276.

[3] 周欣,陈善娜. 水杨酸在植物诱导抗性方面研究进展[J]. 云南大学学报:自然科学版, 2001, 23(6): 106—108.

[4] 赵会杰,薛延丰. 水杨酸和脱落酸对强光所致小麦叶片氧化损伤的防护效应[J]. 麦类作物学报, 2005, 25(4): 54—58.

[5] 赵会杰,薛延丰. 水杨酸对光抑制条件下小麦叶片光合作用的影响[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(5): 613—615.

[6] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.

[7] 张志良,瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003.

[8] 王利军,李家承,刘允芬,等. 高温干旱胁迫下水杨酸和钙对柑橘光合作用和叶绿素荧光的影响[J]. 中国农学通报, 2003, 19(6): 185—189.

[9] YamaneY, KashinoY, Satoch K, *et al*. Increase of fluorescence Fo level and reversibleinhibition of photo system II reaction center by high temperature treatments in higher plants[J]. Photosyn Res, 1997, 52: 57—64.

[10] 崔香环,李欢庆,郝福顺. 水分胁迫下小麦幼苗的抗氧化机制分析[J]. 河南农业科学, 2007(4): 25—28.

[11] 张玉霞,张立军,王艳树,等. 秋季低温对芦笋渗透调节物质和抗氧化酶活性的影响[J]. 华北农学报, 2006, 21(6): 63—67.

[12] 谭晓荣,吴兴泉,戴媛,等. 小麦幼苗叶片活性氧清除能力对干旱胁迫的响应[J]. 河南农业科学, 2007 (1): 27—30.

[13] 王建林,齐华,房全孝,等. 水稻、大豆、玉米光合速率的日变化及其对光强响应的滞后效应[J]. 华北农学报 2007, 22(2): 119—124.

[14] Anderson J M, Park Y I, Chow W S. Photoinhibition and photo protection of photosystem II in nature[J]. Physiol Plant, 1997, 100: 214—223.