

# 水杨酸和草酸对光氧化胁迫下黄瓜叶片光合机构及叶黄素循环的影响

孙 艳 樊爱丽 徐伟君

(西北农林科技大学园艺学院, 杨凌 712100)

**摘 要:** 以  $500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的甲基紫精 (MV) 溶液涂抹叶片, 研究了光氧化胁迫条件下外源水杨酸 (SA) 和草酸 (OA) 对黄瓜叶片光合作用、叶绿素荧光参数和叶黄素循环的影响。结果表明, 在胁迫前 2 d 分别用 SA  $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  和 OA  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  处理叶片, 减小了光氧化胁迫下净光合速率 ( $P_n$ )、蒸腾速率 ( $T_r$ )、PS 光合电子传递量子效率 ( $\text{PS}$ )、叶绿素光化学猝灭系数 ( $q_P$ ) 的下降及胞间  $\text{CO}_2$  浓度 ( $C_i$ )、非光化学猝灭系数 (NPQ) 和叶黄素循环脱环氧化状态  $(A + Z) / (V + A + Z)$  的升高, 而对气孔导度 ( $G_s$ ) 和 PS 原初光能转换效率 ( $F_v/F_m$ ) 影响很小。SA 和 OA 处理可使光氧化胁迫下叶黄素循环库增加, 提高叶绿素、类胡萝卜素含量。这些结果说明, SA 和 OA 对光氧化胁迫下黄瓜叶片光合机构的破坏具有保护作用。

**关键词:** 黄瓜; 水杨酸; 草酸; 光氧化胁迫; 叶绿素荧光; 叶黄素循环

中图分类号: S 642.2; Q 945 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2005) 06-1034-05

## Effects of Salicylic Acid and Oxalate on Photosynthetic System and Xanthophyll Cycle in Cucumber Leaves under Photooxidative Stress

Sun Yan, Fan Aili, and Xu Weijun

(College of Horticulture, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling 712100, China)

**Abstract:** Effects of exogenous salicylic acid (SA) and oxalate (OA) on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and xanthophyll cycle in cucumber leaves under photooxidative stress induced by methyl viologen (MV) were studied. The cucumber leaves were sprayed with SA  $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  and OA  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  solution for 2 days before photooxidative stress by smearing MV  $500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  on leaf surface. The results showed that both SA and OA pretreatment could inhibit the decreases in photosynthetic rate ( $P_n$ ), transpiration rate ( $T_r$ ), quantum yield of PS ( $\text{PS}$ ), chlorophyll photochemical quenching ( $q_P$ ) and the increases in intercellular  $\text{CO}_2$  concentration ( $C_i$ ), chlorophyll non-photochemical quenching (NPQ) and  $(A + Z) / (V + A + Z)$  (the de-epoxidation extent of xanthophyll cycle) caused by photooxidative stress, but had little effect on stomatal conductance ( $G_s$ ) and intrinsic photochemical efficiency of PS ( $F_v/F_m$ ). The decreases in xanthophyll cycle pool size, chlorophyll and carotenoid contents caused by photooxidative stress were also inhibited by SA and OA pretreatment. These results suggested that both SA and OA has the protective role against the damage of photosynthetic system during photooxidative stress.

**Key words:** Cucumber; Salicylic acid; Oxalate; Photooxidative stress; Chlorophyll fluorescence; Xanthophyll cycle

植物的光氧化损伤机理及对光氧化胁迫的抗性是近年来环境生理、分子生物学和作物抗性育种研究中备受关注的课题<sup>[1]</sup>。正常生理条件下, 植物代谢过程产生活性氧是电子传递系统不可避免的结果, 而不良环境条件下, 体内活性氧的产生受到刺激, 从而导致光氧化胁迫<sup>[2]</sup>。甲基紫精 (MV) 在光照条件下产生活性氧, 导致植物的光氧化胁迫<sup>[3]</sup>。光合作用是植物对光氧化胁迫最敏感的生理过程之一<sup>[2]</sup>, 因此, 研究光氧化胁迫下植物光合机构的保护措施, 以提高抗逆性, 对黄瓜生产具有重要意义。

收稿日期: 2005 - 02 - 01; 修回日期: 2005 - 05 - 23

基金项目: 陕西省自然科学基金项目 (2003C128)

关于光氧化胁迫对植物产生的伤害作用已有许多报道。水杨酸 (SA) 是植物体内可自身合成的一种类似植物激素的简单酚类化合物, 它可以通过改变活性氧代谢和信号传导途径来提高植物的抗性<sup>[4]</sup>。作者研究发现, SA对光氧化胁迫下黄瓜幼苗的伤害具有缓解作用<sup>[5]</sup>。但 SA在逆境条件下对叶绿素荧光和叶黄素循环的影响目前研究不多。草酸 (OA) 是高等植物组织常见的成分, 在植物体中具有许多重要的功能<sup>[6]</sup>, 近年来发现 OA能增强辣椒叶片的抗热性<sup>[7]</sup>。但目前 OA的研究主要集中在对抗病的作用机制<sup>[8]</sup>方面, 在光氧化胁迫条件下 OA对光合机构的保护研究还未见报道。本文通过研究 SA和 OA对光氧化条件下黄瓜光合机构和叶黄素循环的影响, 以期探讨两者对防御光氧化胁迫的机制, 为生产实践中降低逆境伤害提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料为黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 品种‘农城 3号’, 种子浸种催芽后播种在装有蛭石的培养杯 (高 20 cm, 内径 6 cm) 中, 萌发后以 1/5 的 Hoagland营养液 (pH 6.5) 浇灌, 在光照强度  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , 光周期为 14 h (昼) /10 h (夜), 温度为  $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ , 空气相对湿度为 55% ~ 65%的光照培养箱中培养。

### 1.2 方法

1.2.1 材料处理 当黄瓜苗第 3片真叶展开后, 分别用 SA  $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  和 OA  $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  (pH 均为 6.5) 溶液于每天 18:00时喷洒叶片, 以清水处理为对照, 连续进行 2 d, 第 3天所有处理均对第 2片真叶涂抹  $500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 MV溶液, 在温度为  $(23 \pm 2)^\circ\text{C}$ , 光照强度为  $600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  的人工光源条件下放置 2 h后测定各项指标。每处理重复 5次。

1.2.2 测定方法 用英国 PP Systems公司生产的 CRAS-1型便携式光合测定系统测定叶片的净光合速率 ( $P_n$ )、细胞间隙  $\text{CO}_2$  浓度 ( $C_i$ )、气孔导度 ( $G_s$ ) 和蒸腾速率 ( $T_r$ ) 等, 采用英国 Hansatech公司生产的 HMS2脉冲调制式荧光仪, 并根据 Van等<sup>[9]</sup>的方法测定和计算 PS 原初光能转换效率 ( $F_v/F_m$ )、PS 光合电子传递量子效率 ( $\Phi_{PS}$ )、叶绿素光化学猝灭系数 ( $q_P$ ) 和非光化学猝灭系数 ( $NPQ$ )。用打孔器取 2个叶圆片 ( $2 \text{ cm}^2$ ), 用高效液相色谱仪按照 Cheng<sup>[10]</sup>的方法分析测定叶黄素循环各组分紫黄质 (V)、单环氧玉米黄质 (A)、玉米黄质 (Z) 及叶绿素和类胡萝卜素含量。以  $(A + Z) / (A + Z + V)$  表示脱环氧化状态。各项指标的测定均重复 5次。

## 2 结果与分析

### 2.1 SA和 OA对光氧化胁迫下黄瓜叶片光合作用的影响

由图 1可知, 光氧化胁迫 (MV处理) 导致黄瓜叶片的  $P_n$  和  $T_r$  下降, 分别比对照下降了 46.0% 和 17.8%。SA和 OA处理的黄瓜叶片均显著减小了  $P_n$  和  $T_r$  的下降幅度,  $P_n$  分别比胁迫处理增加了 57.2%和 47.3%,  $T_r$  分别增加了 14.1%和 12.6%。光氧化胁迫使  $C_i$  升高, 比对照上升了 30.9%。SA和 OA处理显著减小了  $C_i$  的上升幅度, 分别比胁迫处理下降了 14.0%和 9.8%。而光氧化对  $G_s$  的影响很小, 仅下降了 4.7%, 与对照及 SA和 OA处理均无显著差异。可见 SA和 OA处理能够减轻光氧化胁迫对黄瓜叶片光合作用的抑制。

### 2.2 SA和 OA对光氧化胁迫下黄瓜叶片叶绿素荧光参数的影响

叶绿素荧光参数是评价植物光合器官是否受损伤的良好指标,  $F_v/F_m$  和  $\Phi_{PS}$  分别表示 PS 的原初光能转换效率和光合电子传递量子效率。试验结果表明 (图 2), 光氧化胁迫仅使  $F_v/F_m$  比对照下降了 5.5%, 4种处理之间均无显著差异, 说明光氧化及 SA和 OA处理对原初光能转换效率影响不大。而光氧化使  $\Phi_{PS}$  显著降低, 比对照下降了 18.0%, 表明光氧化胁迫使黄瓜叶片的光合电子传递量子效率受到影响, 导致光合作用下降, 影响了植物对碳的固定和同化。SA和 OA处理减小了光

氧化引起的 PS 下降, 分别比胁迫下提高了 12.4%和 10.6%。表明 SA 和 OA 处理能减轻光氧化胁迫对 PS 电子传递的抑制。qP 和 NPQ 分别表示光化学猝灭系数和非光化学猝灭系数, 光氧化胁迫使 qP 降低, 比对照下降了 29.0%, 而 NPQ 则上升了 88.8%。SA 和 OA 处理则使 qP 的下降和 NPQ 的升高幅度减小, 说明 SA 和 OA 抑制了光氧化导致的光化学猝灭的减小和非光化学猝灭的升高。

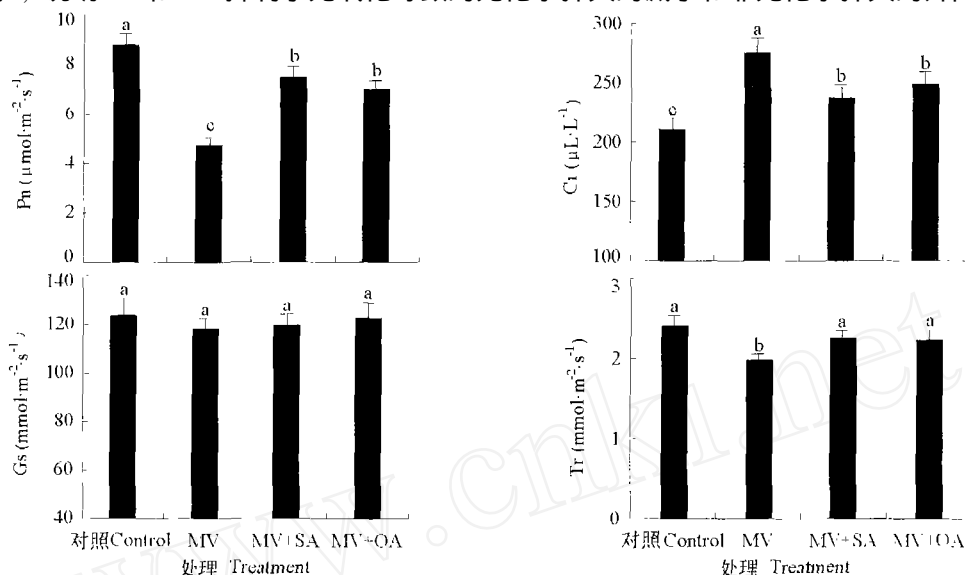


图 1 SA 和 OA 对光氧化胁迫下黄瓜叶片光合作用的影响

小写字母表示经 LSD 显著性检验在 5% 水平上的差异显著性 (下同)。

Fig 1 Effects of SA and OA on photosynthesis in cucumber leaves under photooxidative stress

The small letters indicated the difference is significant at 5% level with the LSD method (the same below).

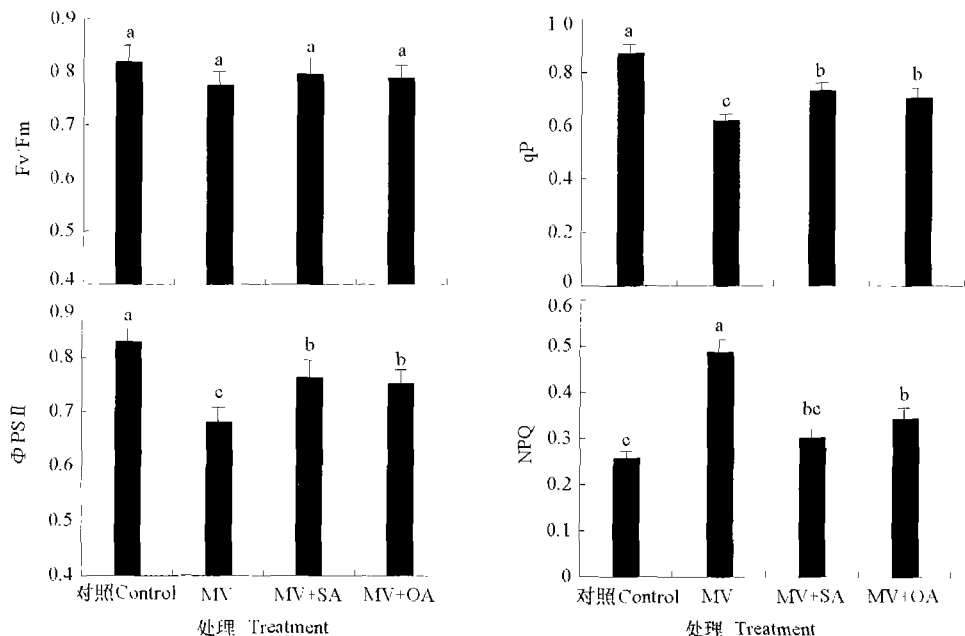


图 2 SA 和 OA 对光氧化胁迫下黄瓜叶片叶绿素荧光参数的影响

Fig 2 Effects of SA and OA on chlorophyll fluorescence parameters in cucumber leaves under photooxidative stress

### 2.3 SA 和 OA 对光氧化胁迫下黄瓜叶片叶黄素循环的影响

叶黄素循环的色素组成  $(A + Z) / (V + A + Z)$  及叶黄素循环库  $(V + A + Z)$  的大小与热耗散能力直接相关。试验结果 (图 3) 表明, 光氧化胁迫导致叶黄素循环库  $(A + V + Z)$  显著降低, 比对照

下降了 13.2%，SA 和 OA 则使叶黄素循环库增加，分别比胁迫处理增加了 12.8% 和 17.9%。光氧化胁迫下  $(A+Z)/(V+A+Z)$  显著升高，叶黄素循环启动以耗散过剩光能，而 SA 和 OA 处理的  $(A+Z)/(V+A+Z)$  低于胁迫处理。

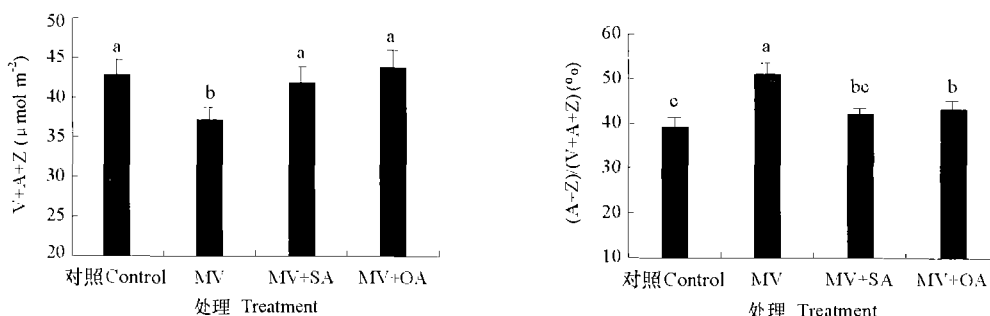


图 3 SA 和 OA 对光氧化胁迫下黄瓜叶片叶黄素循环的影响

Fig 3 Effects of SA and OA on xanthophyll cycle in cucumber leaves under photooxidative stress

#### 2.4 SA 和 OA 对光氧化胁迫下黄瓜叶片叶绿素和类胡萝卜素含量的影响

由图 4 可知，光氧化胁迫使黄瓜叶片内叶绿素和类胡萝卜素的含量显著降低，分别比对照降低了 13.6% 和 12.4%，SA 和 OA 处理抑制了光氧化对叶绿素和类胡萝卜素的破坏，其含量显著高于胁迫处理。说明 SA 和 OA 处理可保持光氧化胁迫下光合色素的稳定性。

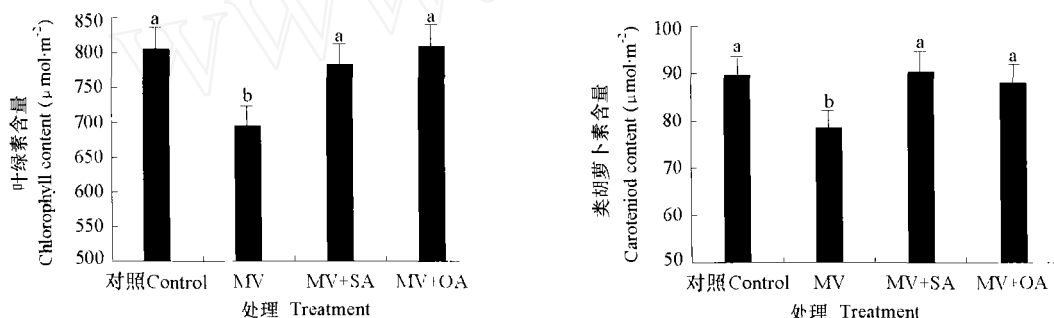


图 4 SA 和 OA 对光氧化胁迫下黄瓜叶片叶绿素和类胡萝卜素含量的影响

Fig 4 Effects of SA and OA on chlorophyll and carotenoid contents in cucumber leaves under photooxidative stress

### 3 讨论

本试验结果表明，光氧化胁迫抑制了黄瓜叶片的光合作用，由于  $C_i$  升高，而对  $G_s$  的影响很小（图 1），因而光合作用下降的原因主要是非气孔因素。光氧化胁迫明显降低了 PS 光合电子传递量子效率 PS 和叶绿素光化学猝灭系数  $qP$ （图 2），这与一些作物在逆境胁迫下的研究结果一致<sup>[11,12]</sup>，说明光氧化胁迫抑制了光合碳代谢的电子供应。光氧化胁迫下非化学猝灭系数  $NPQ$  升高，说明非辐射能量消耗增加，以保护光合机构免受过量光能的危害，与叶黄素循环中脱环氧化状态  $(A+Z)/(A+Z+V)$  的增加（图 3）相对应，进一步证明了  $NPQ$  的增加与  $Z$  的增加有关<sup>[13]</sup>。光氧化胁迫还导致了黄瓜叶片叶绿素、类胡萝卜素含量和叶黄素循环库的明显下降（图 4），其原因是活性氧的积累发生了氧化破坏，加速了这些色素的降解。

SA 对植物抗性的作用已有很多研究，而 OA 虽然是最早发现的一种代谢产物，但它在植物体内的生理作用特别是对环境胁迫的影响研究仍较少<sup>[14]</sup>。从本试验结果可以看出，SA 和 OA 处理减小了光氧化胁迫下黄瓜叶片光合作用的下降，保持了叶绿素和类胡萝卜素的稳定性。SA 和 OA 处理抑制了光氧化导致的叶黄素循环库和光化学猝灭的减小，但也抑制了非光化学猝灭和叶黄素循环中脱环氧化状态  $(A+Z)/(A+Z+V)$  的增加，说明 SA 和 OA 在光氧化胁迫下保护光合机构的原因并不是由于增加了非辐射能量消耗过程。据报道<sup>[15,16]</sup>，SA 和 OA 处理均能诱导黄瓜叶片过氧化物酶活性升高，

增强细胞对活性氧的清除能力, 这可能是 SA 和 OA 处理能在光氧化胁迫下保护光合机构的原因之一。关于 SA 和 OA 在光氧化胁迫下对光合机构的保护机理有待于进一步研究。

## 参考文献:

- 1 彭长连, 林植芳, 林桂珠. 光氧化胁迫下几种植物叶片的超氧自由基产生速率和光合特性. 植物生理学报, 2000, 26 (2): 81 ~ 87  
Peng C L, Lin Z F, Lin G Z. Superoxide production rate and photosynthetic feature in leaves of some plant species under photooxidation. Acta Phytophysiologica Sinica, 2000, 26 (2): 81 ~ 87 (in Chinese)
- 2 Huang X Q, Jiao D M, Li X. Characteristics of chlorophyll fluorescence and membrane-lipid peroxidation of various high-yield rice under photooxidation conditions. Acta Botanica Sinica, 2002, 44 (3): 279 ~ 286
- 3 林植芳, 彭长连, 林桂珠. 光氧化作用引起几种亚热带木本植物膜损伤和 PS 失活. 植物学报, 1999, 41 (8): 871 ~ 876  
Lin Z F, Peng C L, Lin G Z. Membrane injury and PS inactivation in some subtropical woody plants induced by photooxidation. Acta Botanica Sinica, 1999, 41 (8): 871 ~ 876 (in Chinese)
- 4 Shah J. The salicylic acid loop in plant defence. Current Opinion in Plant Biology, 2003, 6: 365 ~ 371
- 5 孙 艳, 王亚娟. 水杨酸对黄瓜幼苗光氧化胁迫的缓解效应. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 2004, 32 (5): 38 ~ 40  
Sun Y, Wang Y J. Mitigative effect of salicylic acid on photooxidative stress in cucumber seedling. Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Natural Science Edition), 2004, 32 (5): 38 ~ 40 (in Chinese)
- 6 Paul A N. Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. Plant Science, 2003, 164: 901 ~ 909
- 7 张宗申, 利容千, 王建波, 阎春兰, 何之常. 草酸预处理对辣椒叶片抗热性的影响. 武汉大学学报, 2001, 47 (2): 238 ~ 242  
Zhang Z S, Li R Q, Wang J B, Yan C L, He Z C. Effects of oxalate pretreatment on the thermotolerance of pepper leaves. Journal of Wuhan University, 2001, 47 (2): 238 ~ 242 (in Chinese)
- 8 景 岚, 康振生. 植物病原真菌致病毒素草酸的研究进展. 西北植物学报, 2003, 23 (12): 2223 ~ 2228  
Jing L, Kang Z S. Research progress on pathotoxin oxalic acid produced by phytopathogenic fungi. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2003, 23 (12): 2223 ~ 2228 (in Chinese)
- 9 Van K O, Snel J F H. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. Photosynthesis Research, 1990, 25: 147 ~ 150
- 10 Cheng L L. Xanthophyll cycle pool size and composition in relation to the nitrogen content of apple leaves. Journal of Experimental Botany, 2003, 24: 385 ~ 393
- 11 汪炳良, 徐 敏, 史庆华, 曹家树. 高温胁迫对早熟花椰菜叶片抗氧化系统和叶绿素及其荧光参数的影响. 中国农业科学, 2004, 37 (8): 1245 ~ 1250  
Wang B L, Xu M, Shi Q H, Cao J S. Effects of high temperature stress on antioxidant systems, chlorophyll and chlorophyll fluorescence parameters in early cauliflower leaves. Scientia Agricultura Sinica, 2004, 37 (8): 1245 ~ 1250 (in Chinese)
- 12 Abdul K, Hiroshi F, Tetsushi H. Photosynthetic performance of *Vigna radiata* L. leaves developed at different temperature and irradiance leaves. Plant Science, 2003, 164: 451 ~ 458
- 13 Ma F W, Cheng L L. The sun-exposed peel of apple fruit has higher xanthophyll cycle-dependent thermal dissipation and antioxidants of the ascorbate-gluthathione pathway than the shaded peel. Plant Science, 2003, 165: 819 ~ 827
- 14 张宗申, 利容千, 王建波. 草酸处理对热胁迫下辣椒叶片膜透性和钙分布的影响. 植物生理学报, 2001, 27 (2): 109 ~ 113  
Zhang Z S, Li R Q, Wang J B. Effects of oxalate treatment on the membrane permeability and calcium distribution in pepper leaves under heat stress. Acta Phytophysiologica Sinica, 2001, 27 (2): 109 ~ 113 (in Chinese)
- 15 史庆华, 朱祝军, 徐 敏, 钱琼秋. 外源水杨酸对黄瓜叶片几种酶活性和抗氧化物质含量的影响. 园艺学报, 2004, 31 (5): 666 ~ 667  
Shi Q H, Zhu Z J, Xu M, Qian Q Q. Effects of exogenous salicylic acid on activities of some enzymes and antioxidants in cucumber leaves. Acta Horticulturae Sinica, 2004, 31 (5): 666 ~ 667 (in Chinese)
- 16 张宗申, 彭新湘, 姜子德, 徐大高, 李明启. 非生物诱抗剂草酸对黄瓜叶片中过氧化物酶的系统诱导作用. 植物病理学报, 1998, 28 (1): 145 ~ 150  
Zhang Z S, Peng X X, Jiang Z D, Xu D G, Li M Q. The systemic induction of peroxidase by oxalate in cucumber leaves. Acta Phytopathologica Sinica, 1998, 28 (1): 145 ~ 150 (in Chinese)