

调控活性氧代谢对渗透胁迫时杨树 光合作用光抑制的影响^{*}

冯玉龙 张亚杰

(中国科学院西双版纳热带植物园昆明分部, 昆明 650223; 河北大学生命科学学院, 保定 071002)

朱春全

(中国林业科学研究院林业研究所, 北京 100091)

摘要 根系受渗透胁迫时杨树(*Populus × euramericana* cv. N3016)叶片净光合速率和表观量子效率降低, 出现光合作用的光抑制; O_2^- 产生加快, 超氧化物歧化酶(SOD)活性升高, H_2O_2 生成增加; 过氧化氢酶和抗坏血酸过氧化物酶活性降低, H_2O_2 清除减少, 活性氧代谢平衡受到破坏, 膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)含量增加。胁迫时用 O_2^- 诱导剂百草枯(PQ)或SOD抑制剂二乙基二硫代氨基甲酸铜盐(DDTC)处理使叶片中活性氧和MDA含量升高, 光抑制加剧; 以抗氧化剂抗坏血酸(AsA)处理使胁迫时叶片 O_2^- 生成减少, 保护酶活性升高, H_2O_2 和 O_2^- 的水平降低, 膜脂过氧化受到抑制, MDA含量降低, 同时缓解了光合作用的光抑制。相关分析表明光合作用与活性氧代谢有极显著的关系。推测胁迫时杨树光抑制的发生与活性氧的积累有一定的关系。

关键词 杨树无性系 渗透胁迫 光合作用光抑制 百草枯 二乙基二硫代氨基甲酸铜盐 抗坏血酸

THE EFFECTS OF MANIPULATED ACTIVATED OXYGEN METABOLISM ON PHOTOINHIBITION IN LEAVES OF POPLARS SUFFERING ROOT OSMOTIC STRESS

FENG Yu-Long^{1,2} ZHANG Ya-Jie^{1,2} and ZHU Chun-Quan³

(1 Kunming Section, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223)

(2 College of Life Science, Hebei University, Baoding 071002)

(3 Research Institute of Forestry, the Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091)

Abstract The effects of paraquat, diethyldithiocarbamic acid copper salt and ascorbate on photosynthetic photoinhibition were studied in intact leaves of poplar clone seedlings which were suffering root osmotic stress conditions. Photoinhibition was measured through the decrease of apparent quantum yield and photosynthetic rate. Production of H_2O_2 also increased due to the higher O_2^- generation rate and the activity of superoxide dismutase (SOD) and H_2O_2 -scavenging decreased due to the lower activities of catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX), which disturbed the balance of the reactive oxygen species metabolism. Subsequently, malondialdehyde (MDA), a product of peroxidation of membrane lipids, content also increased. Reactive oxygen species and MDA concentrations increased when treated with paraquat, O_2^- inducer, and diethyldithiocarbamic acid copper salt (SOD inhibitor) and photoinhibition accelerated. H_2O_2 and MDA content decreased when treated with ascorbate (an antioxidant) due to the decrease in O_2^- generation rate and the increased activities of protective enzymes. In turn this acted to alleviate photoinhibition. The content of reactive oxygen species and MDA in poplar leaves was correlated negatively with net photosynthetic rate (P_n) and apparent quantum yield (AQY). The activities of CAT and APX were correlated positively with P_n and AQY. This study suggests that photoinhibition of photosynthesis in the leaves of poplar clone seedlings might be intrinsically related to the accumulation of reactive oxy-

* 收稿日期: 2000-10-08 接受日期: 2001-04-02

基金项目: 国家“九·五”科技攻关项目(96-011-01-02)

E-mail: Fyl@xtbg.ac.cn

gen under root osmotic stress conditions.

Key words Poplar clone, Osmotic stress, Photoinhibition, Paraquat, Diethyldithio-carbamic acid copper salt, Ascorbate

晴天常会发生光合作用光抑制,即使在非胁迫条件下也是如此(Ögren, 1988; 许大全等, 1990)。光抑制不仅会影响到森林生态系统的生产力,光抑制敏感程度的种间差异还会影响到干扰后森林的动态(Whitmore, 1992)。温和条件下光抑制可使碳积累降低 10%,如有其它胁迫同时存在碳积累会降低的更多(Ögren & Sjöström, 1990)。低温、高温和缺氮等胁迫诱导的长期光抑制可抑制植物的生长(Long *et al.*, 1994),导致树木落叶甚至死亡(陶大立等, 1988)。干旱时 CO_2 同化速率降低(Chaves, 1991),光合作用利用的光能减少,此时光合组织吸收的光能必然大量过剩。这些过剩光能若不及时有效地耗散,就会通过多种途径在植物体内形成有毒的活性氧(Elstner & Osswald, 1994; Foyer *et al.*, 1994)。正常条件下植物能通过酶促的(SOD、CAT、APX等)和非酶促的(抗氧化剂,如 AsA)反应及时清除活性氧,使其保持在较低的水平(Bowler *et al.*, 1992)。逆境则会加速活性氧的生成(Elstner & Osswald, 1994; Foyer *et al.*, 1994),使其在体内积累,造成氧化伤害。因此人们将光抑制与活性氧联系起来(Tschiersch & Ohmann, 1993)。研究表明,活性氧可引起光合作用光抑制(林植芳等, 1999; 徐志防等, 1999; 邹琦等, 1995; Baranyi & Krause, 1985),活性氧影响光合作用的机理值得重视,但这方面的报道还不多。初步研究结果表明:杨树光合作用光抑制与叶片中活性氧的积累有关。本文通过叶面施用 O_2^- 诱导剂百草枯、超氧化物歧化酶抑制剂二乙基二硫代氨基甲酸铜盐和抗氧化剂抗坏血酸,研究其对根系渗透胁迫模拟干旱时杨树无性系幼苗光抑制和活性氧代谢的影响,进一步探讨活性氧和光抑制的关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验材料为欧美杨 64 号(*Populus × euramericana* cv. N 3016)。2000 年 4 月初在辽宁省建平县黑水林场选大小一致的插穗 100 个,在河北大学生命科学学院温室(透光率约 60%)中用 Hoagland 培

养液于 2 L 瓷盆中培养,每天上下午各通气 1 次,每次 10 min。6 月初选大小一致的单杆幼苗(平均高 26.4 cm, 平均地径 3.3 mm),于测定的前一天 19:00 移到培养室中,随机分组,进行处理。用含 0.04% 吐温-20(展布剂)的 $0.02 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的百草枯(PQ, O_2^- 的诱导剂)和 $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 抗坏血酸(AsA, 抗氧化剂)溶液于测定前一天 20:00 作叶面喷施,用含 0.04% 吐温-20 的 1% 的二乙基二硫代氨基甲酸铜盐(DDTC, 超氧化物歧化酶抑制剂)于测定当日 7:50 作叶面喷施,以水为对照。于测定当日 8:00 用聚乙二醇-6000 进行 -0.5 MPa 和 -1.0 MPa 的根系渗透胁迫,模拟干旱。测定过程在可控培养室中进行,气温 $32 \sim 36^\circ\text{C}$, 湿度 $35\% \sim 45\%$, 8:00 开始照光,叶片上的光强 $600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,为防止叶片升温,在光源与苗木之间有 8 cm 厚的流动隔热水层。

1.2 实验方法

1.2.1 光合参数的测定

用 LI-6200 便携式光合系统(Li-Cor, Inc, USA)测定不同处理组幼苗的完全展开叶片(约第五片叶) $600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 光下的净光合速率(P_n)、胞间 CO_2 浓度(C_i)等,气孔限制值(L_s)按 Berry 和 Downton(1982)方法计算。表观量子效率(AQY, 即光合效率)由低光强下叶片的光-光合曲线推算出。

1.2.2 活性氧的测定

超氧阴离子自由基(O_2^-)的生成速率:取 0.5 g 鲜叶,用 3 ml 的 $65 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸缓冲液(PBS) (pH 7.8)研磨,4 层纱布过滤,滤液在 5000 g 冷冻离心 10 min。取 1 ml 上清液按王爱国等(1990)的方法测定 O_2^- 的生成速率($\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{min}^{-1}$)。

H_2O_2 含量测定:参照林植芳等(1988)的方法。取 0.5 g 叶片,于 3 ml 冷丙酮充分研磨,1200 g 离心 10 min。取上述提取液 1 ml,加 0.1 ml 20% TiCl_4 的浓盐酸液,0.2 ml 浓氨水。生成的过氧化物—Ti 复合物 1200 g 离心 10 min,用丙酮悬浮洗涤沉淀。最后将沉淀溶于 3 ml 的 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸中,410 nm 比色。根据标准曲线求出 H_2O_2 的浓度

1. 2. 3 丙二醛(MDA)含量的测定

参照王以柔等(1986)的方法。取1g叶片置于研钵中,加10%三氯乙酸(TCA)4ml,研磨至匀浆,1200g离心10min。取提取液2ml,加入0.62%的硫代巴比妥酸(TBA,溶于10%TCA中)溶液2ml,混合后在沸水浴上反应20min,冷却后离心1次。上清液比色测定A₅₃₂和A₆₀₀。MDA的含量按 $\Delta\text{E mol} \cdot \text{L}^{-1} (532\text{ nm} - 600\text{ nm}) = 1.55 \times 10^5 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 换算,以 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$ 表示。

1. 2. 4 保护酶活性的测定

超氧化物歧化酶(SOD)活性测定:取成熟叶片0.5g,加3ml的50mmol·L⁻¹的PBS(pH7.8,含0.1mmol·L⁻¹的EDTA和2%的PVP),冰浴研磨,双层纱布过滤,4℃、15600g离心20min,上清液即为SOD提取液,SOD活性测定按Giannopolitis和Ries(1977)的方法,略加修改。取酶提取液50μl注入3ml反应介质(核黄素1.5μmol·L⁻¹,蛋氨酸13mmol·L⁻¹,NBT(氮蓝四唑)70μmol·L⁻¹,0.1mmol·L⁻¹EDTA,PBS50mmol·L⁻¹,pH7.8),在200μmol·m⁻²·s⁻¹光强下反应20min。用紫外分光光度计测定560nm处OD值,以加热灭活的酶液代替酶液做无酶最大光还原对照。酶活单位定义为单位时间内(1h)1ml反应液中抑制NBT光化还原50%的酶量为一个酶活力单位。

过氧化氢酶(CAT)活性测定:参照Jablonski和Anderson(1981)的方法。于3ml含10mmol·L⁻¹H₂O₂的50mmol·L⁻¹的PBS(pH7.8)中,加入酶液30μl后,立即在紫外分光光度计上测定每分钟OD₂₄₀的变化,酶活力以线性部分H₂O₂的减少速

率($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW} \cdot \text{h}^{-1}$)表示。
抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的测定:参照沈文彪等(1996)的方法。0.5g叶片加5ml酶提取液(50mmol·L⁻¹PBS,pH7.8,2mmol·L⁻¹AsA(现加),5mmol·L⁻¹EDTA)冰浴研磨匀浆,5400g冷冻离心20min,取上清液测定APX活性。3ml反应液中含50mmol·L⁻¹PBS(pH7.8),0.1mmol·L⁻¹EDTA,0.1mmol·L⁻¹H₂O₂(现加),0.5mmol·L⁻¹AsA(现用现加)。最后加入适量酶液启动反应,以不加H₂O₂作为参照,用紫外分光光度计测定每分钟A₂₉₀的下降($\epsilon = 2.8 (\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)。酶活单位定义为1min催化1μmol抗坏血酸氧化的酶量。
以上参数均于每日上午(9:00)、下午(16:00)各测定1次,每个参数均为3个叶片的3~6次测定结果的平均值。

2 实验结果

2.1 渗透胁迫对杨树无性系幼苗叶片光合参数的影响

胁迫时杨树无性系幼苗叶片P_n明显低于对照,随胁迫时间的延长和强度的加大P_n渐低,差异达到了显著或极显著水平(图1)。渗透胁迫使杨树无性系幼苗叶片AQY极显著降低,上下午间的差异也达显著水平(图1)。短期胁迫(上午)使杨树无性系幼苗叶片L_s增大,随胁迫时间的延长(下午)L_s降低。胁迫处理组内L_s上、下午间的差异达极显著水平,它们与对照上、下午的L_s的差异也分别达到显著或极显著水平(图2)。C_i的变化与L_s正好相反,胁迫处理使C_i上午降低,下午升高(图2)。

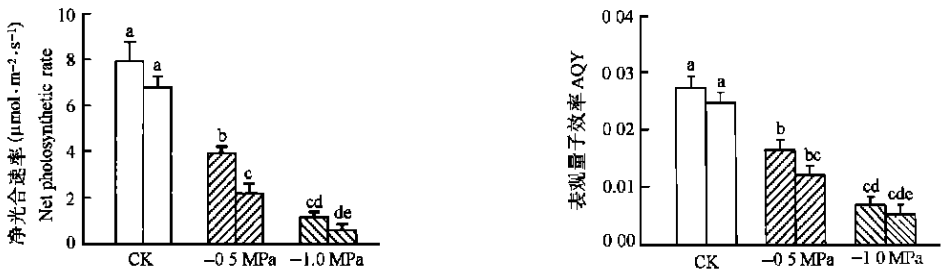


图1 渗透胁迫对杨树无性系幼苗叶片净光合速率和表观量子产量的影响

Fig. 1 The effects of osmotic stress on net photosynthetic rate (P_n) and apparent quantum yield (AQY) in poplar clone seedlings
每对柱中的第一个柱为上午9:00测定平均值,第二个为下午16:00测定平均值。完全不同字母或有两个不同字母标记的柱间有极显著差异, $p < 0.01$;只1个字母相同的柱间有显著差异, $p < 0.05$;完全相同字母或有两个相同字母标记的柱间无显著差异, $p > 0.05$ The first bar of the twin bars is the means $\pm$ SE ($n = 6$) measured at 9:00, while the second bar is the means $\pm$ SE ($n = 6$) measured at 16:00. The bars sharing absolutely different letter or two different letters are different at $p < 0.01$; the bars sharing only one same letter are different at $p < 0.05$; the bars sharing the same letter on two same letters are similar at $p > 0.05$

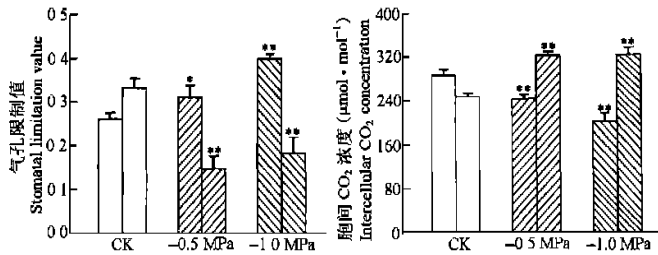


图 2 渗透胁迫对杨树无性系幼苗叶片气孔限制值和胞间 CO₂ 浓度的影响

Fig. 2 The effects of osmotic stress on stomatal limitation value and intercellular CO₂ concentration in poplar clone seedlings

每个柱的含义见图 1 The meanings of the twin bars are the same as those in Fig. 1 处理与对照相应柱间的差异显著性
Significant levels of the corresponding bars between control and treatment * : $p < 0.01$ * : $p < 0.05$

2.2 渗透胁迫对杨树无性系幼苗叶片活性氧含量的影响

随胁迫强度的增大 O₂⁻ 生成速率加快, H₂O₂ 含量升高, 差异均达到了极显著水平(图 3)。随胁迫时间的延长 H₂O₂ 含量显著升高, - 0.5 MPa 处理时 O₂⁻ 生成加快不显著, - 1.0 MPa 处理时 O₂⁻ 生成极显著加快(图 3)。

2.3 渗透胁迫对杨树无性系幼苗叶片丙二醛含量的影响

MDA 含量随胁迫时间的延长和强度的增大而升高(图 4), 其变化趋势与 H₂O₂ 相似。处理间和处理组上、下午间的差异都达到了极显著或显著水平。

2.4 渗透胁迫对杨树无性系幼苗叶片保护酶活性的影响

渗透胁迫时杨树无性系幼苗叶片 SOD 活性增高, CAT 和 APX 活性降低, 且胁迫强度越大 SOD 活性越高, CAT 和 APX 活性越低(图 5)。- 1.0 MPa 处理时上、下午间保护酶活性差异达显著或极显著水平, - 0.5 MPa 处理时下午 SOD 活性显著升高, CAT 和 APX 活性上、下午间差异不明显。

2.5 PQ, DDTC 和 AsA 对渗透胁迫时杨树叶片 Pn 和 AQY 的影响

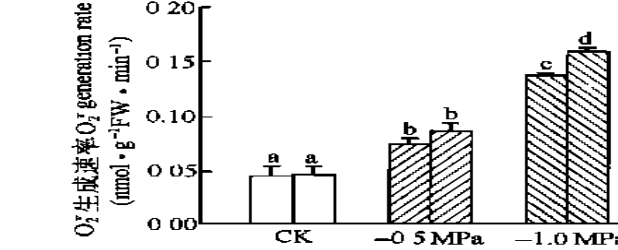


图 3 渗透胁迫对杨树无性系幼苗叶片 O₂⁻ 的生成速率和 H₂O₂ 含量的影响

Fig. 3 The effects of osmotic stress on O₂⁻ generation rate and H₂O₂ content in poplar clone seedlings

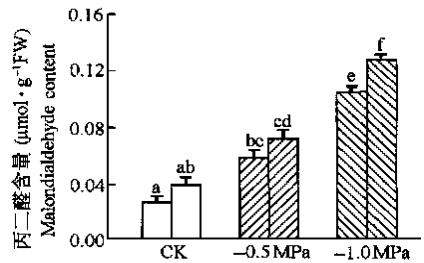


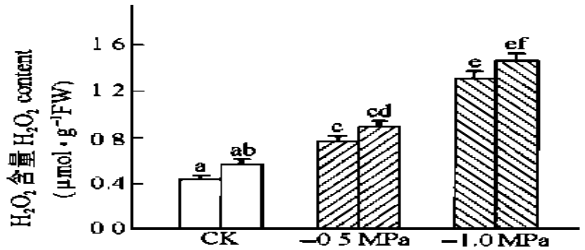
图 4 渗透胁迫对杨树无性系幼苗叶片丙二醛含量的影响

Fig. 4 The effects of osmotic stress on malondialdehyde content in poplar clone seedlings

柱和其上标记字母含义见图 1 The meaning of the twin bars and the letters see Fig. 1

- 0.5 MPa 胁迫时, PQ 处理使杨树无性系幼苗叶片 Pn 和 AQY 降低, AsA 处理使 Pn 和 AQY 升高, 与只胁迫的对照差异分别达极显著和显著水平(图 6), PQ 处理时下午 Pn 和 AQY 明显低于上午, AsA 处理时亦如此。- 1.0 MPa 胁迫时, DDTC 处理使杨树无性系幼苗叶片 Pn 和 AQY 亦降低, 与对照差异达显著水平(图 6), 下午 Pn 和 AQY 低于上午, 差异达到显著水平。

2.6 PQ, DDTC 和 AsA 对渗透胁迫时杨树叶片 O₂⁻ 生成速率和 H₂O₂ 含量的影响



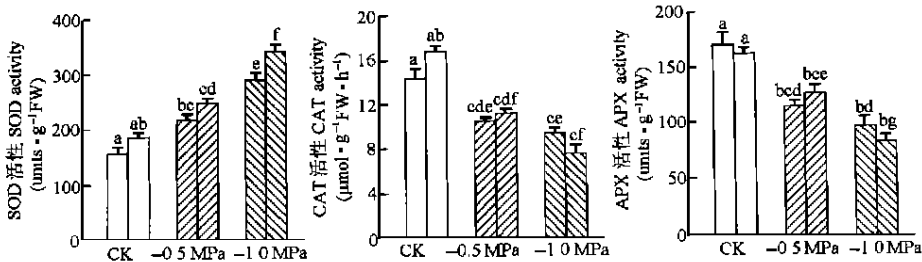


图5 渗透胁迫对杨树无性系幼苗叶片保护酶活性的影响

Fig. 5 The effects of osmotic stress on the activities of protective enzymes in poplar clone seedlings
柱和其上标记字母含义见图1 The meanings of the twin bars and the letters are the same as those in Fig. 1

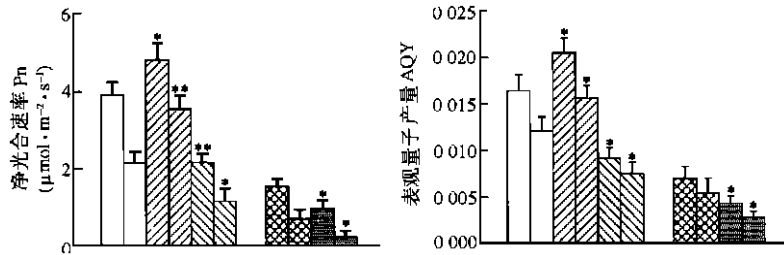


图6 PQ, DDTc 和 AsA 对渗透胁迫时杨树叶片净光合速率和表观量子效率的影响

Fig. 6 The effects of PQ, DDTc and AsA on net photosynthetic rate and apparent quantum yield under osmotic stress of root in poplar leaves

— — — — — 0.5 MPa — — — — — 0.5 MPa-AsA — — — — — 0.5 MPa-PQ — — — — — 1.0 MPa — — — — — 1.0 MPa-DDTC
Pn: Net photosynthetic rate AQY: Apparent quantum yield *, *: 见图2 See Fig. 2

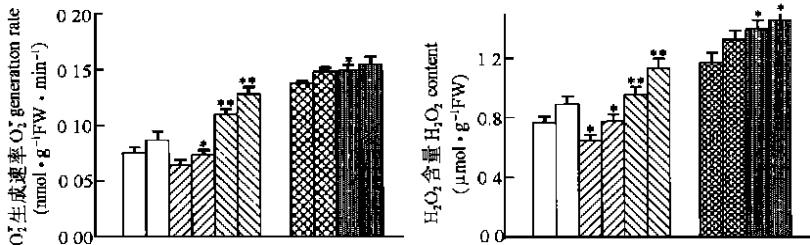


图7 PQ, DDTc 和 AsA 对渗透胁迫时杨树叶片活性氧水平的影响

Fig. 7 The effects of PQ, DDTc and AsA on the levels of reactive oxygen species in poplar leaves under osmotic stress of root
*, *, *: 见图2 See Fig. 2 图7图例同图6 The legends of Fig. 7 are the same as those in Fig. 6

- 0.5 MPa 胁迫时, PQ 处理使杨树无性系幼苗叶片 O₂⁻ 生成速率和 H₂O₂ 含量均极显著升高; AsA 处理使 O₂⁻ 生成速率和 H₂O₂ 含量降低, 除上午 O₂⁻ 生成速率外, 与只胁迫的对照差异均达显著水平(图7)。- 1.0 MPa 胁迫时, DDTc 处理使杨树无性系幼苗叶片 O₂⁻ 生成速率和 H₂O₂ 含量升高, 除下午 O₂⁻ 生成速率外, 与只胁迫的对照差异均达显著水平(图7)。相关分析表明, 胁迫时杨树叶片活性氧水平与 Pn 和 AQY 呈极显著负相关(图8)。

2.7 PQ, DDTc 和 AsA 对渗透胁迫时杨树叶片 MDA 含量的影响

苗叶片 MDA 含量极显著升高; AsA 处理使 MDA 含量显著降低(图9)。- 1.0 MPa 胁迫时, DDTc 处理使杨树无性系幼苗叶片 MDA 含量显著升高(图9)。胁迫时杨树叶片 MDA 含量与 Pn 和 AQY 呈极显著负相关(图10)。

2.8 PQ, DDTc 和 AsA 对渗透胁迫时杨树叶片保护酶活性的影响

- 0.5 MPa 胁迫时, PQ 处理使杨树无性系幼苗叶片 SOD 活性极显著升高, CAT 活性极显著降低, 上午 APX 活性与对照相似, 下午显著低于对照; AsA 处理对 SOD 活性影响不大, 上午 CAT 活性与对照相似, 下午显著高于对照, APX 活性极显

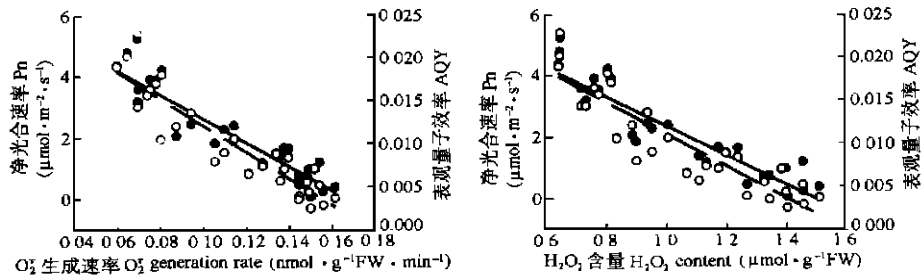


图 8 渗透胁迫时杨树叶片 O_2^- 的生成速率和 H_2O_2 含量与 Pn 和 AQY 的关系

Fig. 8 The relationships between O_2^- generation rate or H_2O_2 content and Pn or AQY in poplar leaves under osmotic stress of root

● Pn ○ AQY Pn, AQY: 同图 6 See Fig. 6 Pn vs. O_2^- 生成速率 Pn vs. O_2^- generation rate $r = 0.85^{**}$
AQY vs. O_2^- 生成速率 AQY vs. O_2^- generation rate $r = 0.86^{**}$ Pn vs. H_2O_2 含量 Pn vs. H_2O_2 content $r = 0.91^{**}$
AQY vs. H_2O_2 含量 AQY vs. H_2O_2 content $r = 0.91^{**}$ ** : $p < 0.01$

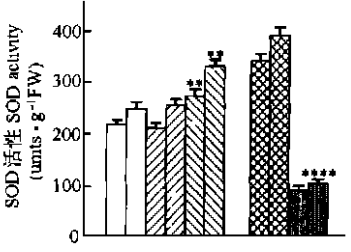
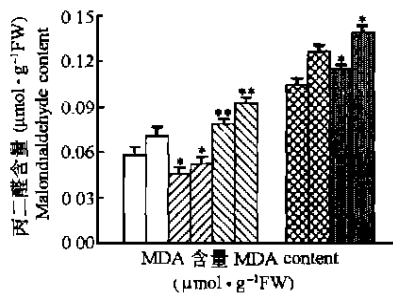


图 9 PQ, DDTC 和 AsA 对渗透胁迫时杨树叶片 MDA 含量的影响

Fig. 9 The effects of PQ, DDTC and AsA on MDA content under osmotic stress of root in poplar leaves

图 9 图例同图 6 The legends of Fig. 9 are the same as those in Fig. 6 ** , * : 同图 2 See Fig. 2

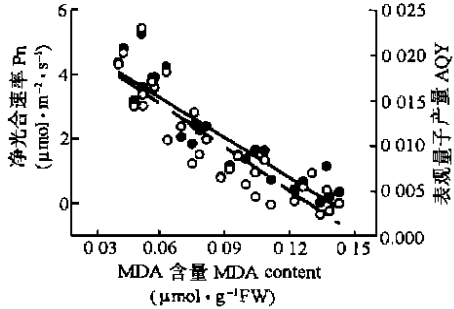


图 10 渗透胁迫时杨树叶片 MDA 含量与 Pn 和 AQY 的关系
Fig. 10 The relationships between MDA content and Pn or AQY in poplar leaves under osmotic stress of root
Pn vs. MDA 含量 Pn vs. MDA content $r = 0.90^{**}$
AQY vs. MDA 含量 AQY vs. MDA content $r = 0.90^{**}$
** : $p < 0.01$ 图 10 图例同图 8 The legends of Fig. 10 are the same as those in Fig. 8 Pn, AQY: 见图 6 See Fig. 6

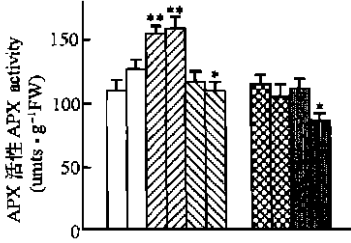
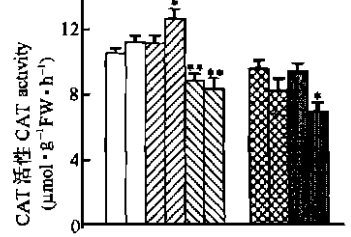


图 11 PQ, DDTC 和 AsA 对渗透胁迫时杨树叶片保护酶活性的影响

Fig. 11 The effects of PQ, DDTC and AsA on protecting enzymes under osmotic stress of root in poplar leaves

图 11 图例同图 6 The legends of Fig. 11 are the same as those in Fig. 6 ** , * : 同图 2 See Fig. 2

胁迫时杨树叶片 CAT 和 APX 活性与 Pn 和 AQY 呈极显著正相关(图 12)。

3 讨 论

依据光合作用气孔限制与非气孔限制的数据 (Farquhar & Sharkey, 1982) 可知渗透胁迫早期 (9:00) 杨树光合作用受气孔限制, 随胁迫处理时间的延长 (14:00), 光合作用由气孔限制转变为非气

著升高。- 1.0 MPa 胁迫时, DDTC 处理使杨树无性系幼苗叶片 SOD 活性极显著降低, 上午 CAT 和 APX 活性与对照相似, 下午显著低于对照(图 11)。

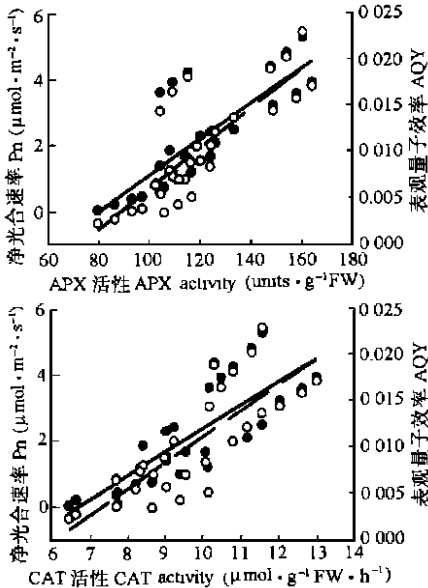


图 12 渗透胁迫时杨树叶片保护酶活性与 Pn 和 AQY 的关系
Fig. 12 The relationships between protective enzymes and Pn or AQY under osmotic stress of root in poplar leaves
图 12 图例同图 8 The legends of Fig. 12 are the same as those in Fig. 8

Pn vs. CAT 活性 Pn vs. CAT activity, $r = 0.80^{**}$
AQY vs. CAT 活性 AQY vs. CAT activity, $r = 0.81^{**}$
Pn vs. APX 活性 Pn vs. APX activity, $r = 0.77^{**}$
AQY vs. APX 活性 AQY vs. APX activity, $r = 0.79^{**}$
* *: $p < 0.01$ Pn, AQY: 同图 6 See Fig. 6

孔限制(图 1 和图 2)。胁迫使杨树无性系幼苗叶片 AQY 降低(图 1), 表明发生了光合作用的光抑制(Long *et al.*, 1994)。Pn 下降, 碳同化利用的光能减少, 过剩光能增加, 引起 O_2^- 生成加快, SOD 活性升高, 歧化反应生成的 H_2O_2 量增多(图 3 和图 5)。但胁迫时 CAT 和 APX 活性降低(图 5), H_2O_2 的清除减少, 使其在植物体内积累(图 3), 或通过 Fenton 反应或 Haber-Weiss 反应产生毒性更大的 $\cdot OH$, 导致膜脂过氧化, MDA 含量升高(图 4)。活性氧可引起叶绿素降解(蒋明义等, 1994; Huff, 1982), 抑制光合酶活性(林植芳等, 2000; Robinson *et al.*, 1980), 膜脂过氧化产物 MDA 亦可抑制光合酶活性(林植芳等, 1989), 导致 Pn 降低。欧美杨 64 号的抗旱性较弱, 干旱时生长减慢可能与活性氧代谢失衡导致的 Pn 降低有关。

根系渗透胁迫时杨树叶片 CAT、APX 活性降低可能与较高的活性氧水平和 MDA 含量有关。研究表明, 活性氧导致 CAT 活性下降, 同时与蛋白构象有关的光谱特性也发生了变化(林植芳, 1991)。MDA 处理菠菜叶片无细胞提取物, CAT 等保护酶活性皆不同程度的下降(林植芳等, 1989)。MDA 对

纯的 CAT、POD 同样具有抑制作用, 其作用是不可逆的。不同种类的胁迫均可导致 CAT、APX 活性降低。水分胁迫使小麦、玉米、豇豆叶片保护酶活性降低导致膜脂过氧化亦有报道(董永华等, 1999; 晏斌等, 1995; Mukherjee & Chouduri, 1983)。

PQ 是广谱除草剂, 在叶绿体和线粒体中诱导 O_2^- 产生。PQ 处理时杨树叶片 O_2^- 生成速率加快, SOD 活性升高, 歧化反应生成的 H_2O_2 增多, CAT 和 APX 活性降低, H_2O_2 分解减少, 在体内积累, 导致膜脂过氧化, MDA 含量增加, 与此同时 Pn、AQY 明显低于对照(图 6, 图 7, 图 9, 图 11)。SOD 抑制剂 DDTc 处理, Pn、AQY 亦明显低于对照(图 6), 说明 SOD 对杨树无性系幼苗叶片光合作用具有保护作用, 抑制 SOD 活性加剧光抑制(邹琦等, 1995)。SOD 活性与植物抗逆性密切相关(严寒静等, 2000)。SOD 属诱导酶, 其活性随细胞内 O_2^- 浓度的增加而增加, 发生光抑制时杨树无性系幼苗叶片 SOD 活性强, 间接说明了细胞内具有高水平的 O_2^- 。对 O_2^- 的直接测定证明了这一点(图 7), 同时 DDTc 导致体内 H_2O_2 和 MDA 含量升高。AsA 是植物体内有效的抗氧化剂(Larson, 1988; Dhindsa, 1991)。AsA 预处理可延缓水分胁迫时叶绿素的降解, 提高叶绿素含量(李双顺等, 1994; 蒋明义等, 1994), 维持较高的光系统 II 活性与 Pn(李双顺等, 1994), 缓解光合作用的光抑制(徐志防等, 1999)。本文结果表明, AsA 预处理使渗透胁迫时杨树叶片 O_2^- 生成速率降低(图 7), CAT 和 APX 活性升高(图 11), 导致 H_2O_2 含量下降(图 9), 膜脂过氧化受到抑制, MDA 含量降低(图 9); 与此同时 Pn 和 AQY 升高(图 6), 缓解了光合作用的光抑制。相关分析表明, 胁迫时 O_2^- 生成速率、 H_2O_2 和 MDA 含量均与 Pn 和 AQY 呈极显著负相关, CAT 和 APX 活性与 Pn 和 AQY 呈极显著正相关(图 8, 图 10, 图 12)。

光抑制是目前光合作用研究中的一个较引人注目的领域, 渗透胁迫时杨树发生了明显的光合作用光抑制。胁迫时活性氧生成增多, 清除减少, 使其平衡受到破坏, 膜脂过氧化, MDA 含量增加。胁迫时 PQ 或 DDTc 处理使叶片中活性氧含量升高, 光抑制加剧, AsA 处理, 使胁迫时叶片 O_2^- 生成减少, 保护酶活性升高, H_2O_2 等活性氧含量降低, 膜脂过氧化受到抑制, MDA 含量降低, 同时缓解了光合作用的光抑制。相关分析亦证明了光合作用与活性氧代

谢的关系。

参 考 文 献

- Bar nyi, B. & G. H. Krause. 1985. Inhibition of photosynthetic reactions by light: a study with isolated spinach chloroplasts. *Planta*, **163**: 218~226.
- Berry, J. A. & W. J. S. Downton. 1982. Environmental regulation of photosynthesis. In: Govindjee, N. Y. ed. *Photosynthesis*. Vol. II. New York: Academic Press. 263~343.
- Bowler, C., M. van Montagu & D. Inz. 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **43**: 83~116.
- Chaves, M. M. 1991. Effects of water deficits on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany*, **42**: 1~16.
- Dhindsa, R. S. 1991. Drought stress, enzymes of glutathione metabolism, oxidation injury, and protein synthesis in *Tortula ruralis*. *Plant Physiology*, **95**: 648~652.
- Dong, Y. H. (董永华), J. P. Shi (史吉平) & H. X. Zhou (周慧欣). 1999. Effect of 6-BA on drought resistance in wheat seedlings. *Plant Nutrition and Fertilizer Sciences (植物营养与肥料学报)*, **5**: 72~75. (in Chinese)
- Elstner, E. F. & W. Osswald. 1994. Mechanism of oxygen activation during plant stress. *Proceedings of Royal Society of Edinburgh*, **10**(B): 131~154.
- Farquhar, S. P. & T. D. Sharkey. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology*, **33**: 317~345.
- Foyer, C. H., M. Lelandais & K. J. Kunert. 1994. Photooxidative stress in plants. *Physiologia Plantarum*, **92**: 696~717.
- Giannopolitis, C. N. & S. K. Ries. 1977. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, **59**: 309~315.
- Huff, A. 1982. Peroxidase-catalysed oxidation of chlorophyll by hydrogen peroxide. *Phytochemistry*, **21**: 261~265.
- Jablonski, P. P. & J. W. Anderson. 1981. Light dependent reduction of dehydroascorbate by ruptured pea chloroplasts. *Plant Physiology*, **67**: 1239~1244.
- Jiang, M. Y. (蒋明义), W. Y. Yang (杨文英), J. Xu (徐江) & Q. Y. Chen (陈巧云). 1994. Active oxygen damage effect of chlorophyll degradation in rice seedlings under osmotic stress. *Acta Botanica Sinica (植物学报)*, **36**: 289~295. (in Chinese)
- Larson, R. A. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, **27**: 969~978.
- Li, S. S. (李双顺) & Z. F. Lin (林植芳). 1994. Effects of antioxidant and 6-BA on the properties of photosynthetic membrane of maize leaves under osmotic stress of root. *Acta Botanica Sinica (植物学报)*, **36**: 871~877. (in Chinese)
- Lin, Z. F. (林植芳), C. L. Peng (彭长连) & G. Z. Lin (林桂珠). 2000. Effect of active oxygen on activity of phosphoenolpyruvate carboxylase from *Amaranthus tricolor*. *Acta Phytophysiological Sinica (植物生理学报)*, **26**: 27~32. (in Chinese)
- Lin, Z. F. (林植芳), C. L. Peng (彭长连) & G. Z. Lin (林桂珠). 1999. Membrane injury and PSII inactivation in some subtropical woody plants induced by photoinhibition. *Acta Botanica Sinica (植物学报)*, **41**: 871~876. (in Chinese)
- Lin, Z. F. (林植芳). 1991. Effect of photosensitization on catalase. *Progress in Biochemistry and Biophysics (生物化学与生物物理进展)*, **18**: 425~438. (in Chinese)
- Lin, Z. F. (林植芳), S. S. Li (李双顺) & G. Z. Lin (林桂珠). 1989. Effect of malondialdehyde on activities of some carboxylases and cell protective enzymes in spinach leaves. *Acta Botanica Sinica (植物学报)*, **31**: 860~866. (in Chinese)
- Lin, Z. F. (林植芳), S. S. Li (李双顺), G. Z. Lin (林桂珠) & J. Y. Guo (郭俊彦). 1988. The accumulation of hydrogen peroxide in senescing leaves and chloroplasts in relation to lipid peroxidation. *Acta Phytophysiological Sinica (植物生理学报)*, **14**: 16~22. (in Chinese)
- Long, S. P., S. Humphries & P. G. Falkowski. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **45**: 633~662.
- Mukherjee, S. P. & M. A. Choudhuri. 1983. Implications of water stress-induced changes in the leaves of endogenous ascorbic acid and hydrogen peroxide in *Vigna* seedlings. *Physiologia Plantarum*, **58**: 166~170.
- Ogren, E. 1988. Photoinhibition of photosynthesis in willow leaves under field conditions. *Planta*, **175**: 229~236.
- Ogren, E. & M. Sjöström. 1990. Estimation of the effect of photoinhibition on the carbon gain in leaves of a willow canopy. *Planta*, **181**: 560~567.
- Robinson, J. M., M. G. Smith & M. Gibbs. 1980. Influence of hydrogen peroxide upon carbon dioxide photoassimilation in spinach chloroplast. *Plant Physiology*, **65**: 755~759.
- Shen, W. B. (沈文飏), L. L. Xu (徐郎莱), M. B. Ye (叶茂炳) & R. X. Zhang (张荣铎). 1996. Study on determination of APX activity. *Plant Physiology Communications (植物生理学通讯)*, **32**: 203~205. (in Chinese)
- Tao, D. L. (陶大立), Y. H. Jin (靳月华) & Y. J. Du (杜英君). 1988. Test of three hypothesis in the cause of winter injury in Korean pine seedlings. *Scientia Silvae Sinicae (林业科学)*, **24**: 148~155. (in Chinese)
- Tschiersch, H. & E. Ohmann. 1993. Photoinhibition in *Euglena gracilis*: involvement of reactive oxygen species. *Planta*, **191**: 316~323.
- Wang, A. G. (王爱国) & G. H. Luo (罗广华). 1990. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants. *Plant Physiology Communications (植物生理学通讯)*, (6): 55~57. (in Chinese)
- Wang, Y. R. (王以柔), H. X. Liu (刘鸿先), P. Li (李平), S. X. Zeng (曾韶西), L. P. Zhen (甄立平) & J. Y. Guo (郭俊彦). 1986. The effect of chilling stress on membrane-lipid peroxidation of photosynthetic apparatus in rice seedlings in the dark and light. *Acta Phytophysiological Sinica (植物生理学报)*, **12**: 244~251. (in Chinese)
- Whitmore, T. C. 1992. An introduction to tropical rainforests. Oxford: Clarendon Press. 226.

Xu, D. Q. (许大全), B. J. Xu (徐宝基) & Y. G. Shen (沈允钢). 1990. Diurnal variation of photosynthetic efficiency in C_3 plants. *Acta Phytophysiological Sinica* (植物生理学报), **16**: 1~5. (in Chinese)

Xu, Z. F. (徐志防), G. H. Luo (罗广华), A. G. Wang (王爱国), Y. Z. Chen (陈贻竹) & J. Y. Guo (郭俊彦). 1999. Effects of strong light and active oxygen on photosynthesis in soybean. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), **41**: 862~866. (in Chinese)

Yan, B. (晏斌), Q. J. Dai (戴秋杰), X. Z. Liu (刘晓忠), S. B. Huang (黄少白) & Z. X. Wang (王志霞). 1995. Accumulation of superoxide radical in corn leaves during water logging. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), **37**: 738~744. (in Chinese)

Yan, H. J. (严寒静) & F. Tan (谈锋). 2000. The relation between the membrane protective system and semilethal temperature of *Gardenia jasminoides* Ellis leaves as temperature fell. *Acta Phytocologica Sinica* (植物生态学报), **24**: 91~95. (in Chinese)

Zou, Q. (邹琦), C. C. Xu (许长成), S. J. Zhao (赵世杰) & Q. W. Meng (孟庆伟). 1995. The role of SOD in protecting the photosynthetic apparatus of soybean leaves from midday high light stress. *Acta Phytophysiological Sinica* (植物生理学报), **21**: 397~401. (in Chinese)

责任编辑: 曹坤芳 责任编辑: 孙冬花