

DOI: 10.5846/stxb201903290613

司廉邦, 李嘉敏, 黎桂英, 蒋晓煜, 吕丽荣, 杨颖丽. 茶多酚对盐胁迫下小麦幼苗叶片生理特性的影响. 生态学报, 2020, 40(11): 3747-3755.

Si L B, Li J M, Li G Y, Jiang X Y, Lü L R, Yang Y L. Effects of tea polyphenols on physiological characteristics in leaves of wheat seedlings under salt stress. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(11): 3747-3755.

茶多酚对盐胁迫下小麦幼苗叶片生理特性的影响

司廉邦, 李嘉敏, 黎桂英, 蒋晓煜, 吕丽荣, 杨颖丽*

西北师范大学生命科学学院, 兰州 730070

摘要:以春小麦“陇春 30 号”为实验材料, 主要研究了 150 mmol/L NaCl 和不同浓度 (25 mg/L 和 100 mg/L) 茶多酚 (tea polyphenols, TP) 单独或复合处理对小麦幼苗叶片叶绿素含量、叶绿素荧光参数及过氧化氢 (H_2O_2) 产生等生理特性的影响。结果表明: (1) 150 mmol/L NaCl 单独处理导致小麦幼苗叶片叶绿素含量及光适应下实际光量子产量 [actual light quantum yield, $Y(II)$]、光化学淬灭 (photochemical quenching, qP)、光合电子传递效率 (photosynthetic electron transfer efficiency, ETR) 均降低, 非光化学淬灭 (non-photochemical quenching, NPQ) 增大; TP 单独处理不影响这些指标。(2) 盐胁迫诱导细胞壁过氧化物酶 (cell wall-peroxidase, cw-POD)、二胺氧化酶 (diamine oxidase, DAO) 和多胺氧化酶 (polyamine oxidase, PAO) 活性显著增高; 低浓度 TP 使 cw-POD 活性显著增大, 而 DAO 和 PAO 活性无显著变化; 不同的是, 高浓度 TP 不影响 cw-POD 活性, 却使 DAO 和 PAO 活性显著减小。(3) 与 NaCl 单独处理相比, TP 的添加导致 NaCl 处理下小麦幼苗叶片叶绿素含量增加, 最大光化学效率 (maximal photochemical efficiency, F_v/F_m) 和 ETR 值增大, 而 NPQ 值、 H_2O_2 含量及 cw-POD、DAO 和 PAO 三种酶活性均降低。总之, TP 有效地缓解了盐胁迫诱导的小麦幼苗叶绿素含量的减少及对 PS II 光合电子传递效率和光化学反应速率的抑制, 增强了植物的光合能力, 与此同时降低了 cw-POD、DAO 和 PAO 活性, 减少了 H_2O_2 的产生, 从而缓解盐胁迫对小麦幼苗造成的伤害, 提高小麦幼苗对盐环境的耐受性。

关键词: 茶多酚; 盐胁迫; 叶绿素; 叶绿素荧光; 小麦

Effects of tea polyphenols on physiological characteristics in leaves of wheat seedlings under salt stress

SI Lianbang, LI Jiamin, LI Guiying, JIANG Xiaoyu, LÜ Lirong, YANG Yingli*

College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China

Abstract: Soil salinization, which can affect plant growth and agricultural output, is one of the worldwide environmental problems. The salt environment may impair chloroplast structure and decrease photosynthetic pigment content, thereby affecting the photosynthetic efficiency of plants. It may also alter the production of reactive oxygen species and thus affect the physiological characteristics in plants. Extracted from tea, tea polyphenols (TP) is an anti-aging, anti-tumor and anti-bacterial substance. It is mostly employed in animal research, but there are few studies on its effect on plant stress. Wheat cultivar Longchun 30 seedlings were used in present research to explore the effects of 150 mmol/L NaCl and different TP concentrations, in case of being applied or in combination, on such physiological characteristics as chlorophyll content, chlorophyll fluorescence characteristics and hydrogen peroxide (H_2O_2) generation. The results were follows: 1) 150 mmol/L NaCl treatment alone decreased chlorophyll content, actual light quantum yield [$Y(II)$], photochemical quenching (qP) and photosynthetic electron transfer efficiency (ETR) in wheat leaves, but improved non-photochemical quenching (NPQ). However, these indicators did not alter in response to TP treatment alone. 2) Salinity treatment resulted in the

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31470464, 31360094)

收稿日期: 2019-03-29; 网络出版日期: 2020-03-31

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xbsfxbsdyang@163.com

stimulation of cell wall-POD (cw-POD), diamine oxidase (DAO) and polyamine oxidase (PAO); low TP concentration significantly increased the activity of cw-POD, but did not have remarkable effects on DAO and PAO activities; in contrast, high TP concentration did not affect cw-POD activity, but significantly inhibited DAO and PAO activities. 3) Compared with NaCl treatment alone, the application of TP and NaCl in combination led to the increases of chlorophyll content, maximal photochemical efficiency (F_v/F_m) and ETR of photosystem II (PS II) in salinity-stressed seedlings, but the decreases of NPQ value, H_2O_2 content and the activities of cw-POD, DAO and PAO. In conclusion, while effectively alleviating the reduction of chlorophyll content and the inhibition of PSII photosynthetic electron transport rate and photochemical reaction rate in response to salinity stress, TP significantly reduced cw-POD, DAO and PAO activities as well as the incidence of H_2O_2 generation, thereby alleviating the damage on wheat seedlings caused by salt stress and improving their tolerance to salt environment.

Key Words: tea polyphenols; salt stress; chlorophyll; chlorophyll fluorescence; wheat

盐害是影响植物生长发育和限制农业产量的世界性环境问题之一。据统计,世界上盐渍化的土地面积约 9.5 亿 hm^2 , 占全球陆地总面积的 10% 左右^[1]。土壤盐碱化主要是由于气候干燥引起地面蒸发加剧, 导致土壤板结而造成。我国盐渍化土地约有 1 亿 hm^2 , 主要分布在西北、东北和华北的干旱、半干旱地区。叶绿素是植物光合作用过程中吸收光能的重要色素, 叶绿素荧光直接反映光合作用的实际及最大光合效率、反应中心开放程度和植物热耗散等情况^[2]。盐胁迫可能会导致叶绿体结构损伤、光合色素含量减少, 因此抑制植物的生长发育。李学孚等^[3]研究发现, 高浓度 NaCl 处理下葡萄‘鄯’幼苗的叶绿素含量、光系统 II (photosystem II, PS II) 最大光化学效率 (maximal photochemical efficiency, F_v/F_m)、PS II 潜在活性 (potential activities of PS II, F_v/F_0)、光合电子传递效率 (photosynthetic electron transfer efficiency, ETR) 以及光化学淬灭 (photochemical quenching, qP) 均下降, 而非光化学淬灭 (non-photochemical quenching, qN) 增大。盐胁迫也会引起植物细胞水分缺失, 通过渗透胁迫影响各种代谢活动, 造成活性氧如过氧化氢 (hydrogen peroxide, H_2O_2) 等的积累^[4]。例如, 盐胁迫改变了植物组织中多胺代谢过程, 导致二胺氧化酶 (diamine oxidase, DAO) 和多胺氧化酶 (polyamine oxidase, PAO) 活性增强, 通过氧化腐胺和亚精胺产生 H_2O_2 ^[5-6]。

茶多酚 (tea polyphenols, TP) 是茶叶中以儿茶素为主要成分的多酚类化合物, 又名茶鞣质^[7]。TP 的基础结构是 α -苯基苯丙吡喃, 具有抗衰老、抗辐射、抗肿瘤、抗菌等特殊的生理功能, 被广泛应用于动物医学研究^[8]。研究表明, TP 能够清除活性氧, 减少活性氧的生成, 还可通过猝灭活性氧, 增强抗氧化酶活性^[9]。因此, TP 作为一种新型天然的抗氧化剂在食品保鲜和植物抗逆等方面也得以应用。李翠英等^[10]报道, 低浓度的茶多酚处理对杏果实在贮藏期抗氧化酶系统有一定的激活作用, 有利于杏果实的贮藏。于明革^[11]研究发现, TP 处理明显改善了铅处理下茶树的生长发育, 使干物质积累量增加, 而茶树体内铅的含量降低。我们在前期的研究中发现, TP 有效地缓解了盐诱导的小麦根中渗透性调节物的积累和钙元素含量的减少^[12]。

小麦是世界范围种植的重要粮食作物之一。近年来, 由于种植业结构的调整, 小麦种植面积减少, 但小麦的消费量及消费水平有增无减^[13]。土壤盐渍化会引发土壤肥力下降导致土地荒芜, 限制植物生存降低作物产量, 进而制约农业可持续发展。然而, 盐碱地没有被化肥、农药污染, 可作为我国耕地的后备资源。因此, 改良小麦品种, 提高小麦在干旱及盐碱地的生存能力及产量具有重要的现实意义。春小麦新品种“陇春 30 号”由甘肃省农科院小麦研究所选育, 主要种植在甘肃河西走廊酒泉、张掖、武威等部分干旱、盐碱地区^[14]。有关该小麦在盐环境中生存的生理生态特性的相关研究较少。此外, 未见 TP 对盐胁迫植物叶绿素荧光特性及多胺代谢酶 DAO 和 PAO 活性影响的相关报道。本研究主要分析了 TP 与 NaCl 单独或复合胁迫对小麦“陇春 30 号”幼苗叶绿素含量、叶绿素荧光参数等生理特性的影响, 为进一步阐明并揭示 TP 改变盐胁迫植物生理特性的调控机制提供理论依据, 为发现并研究揭示 TP 对植物盐胁迫损害的缓解作用及机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

春小麦 (*Triticum aestivum* L.) “陇春 30 号”购自甘肃省农科院,TP 由甘肃特色植物有效成分制品工程技术研究中心提供。小麦种子用 0.1% 的氯化汞表面消毒 10 min,流水冲洗后置于温度为 25℃ 的黑暗状态下萌发 24 h。挑选萌发一致的种子放入培养皿,置于 25℃、12 h/12 h (300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 光照/黑暗) 的培养箱培养。分别用以下方法处理对照用 1/4 Hoagland 营养液培养,150 mmol/L NaCl、25 mg/L TP、100 mg/L TP、150 mmol/L NaCl+25 mg/L TP 和 150 mmol/L NaCl+100 mg/L TP 的处理用 1/4 Hoagland 营养液配制。每个处理均设置 3 个重复,每两天更换一次处理液,待幼苗生长 6 d 后,取叶片测定各项指标。

1.2 生理指标的测定

1.2.1 叶绿素含量的检测

取 0.5 g 小麦叶片加入 4 mL 95% 的乙醇研磨,11000 g 离心 10 min,取上清液,在沉淀中加入等体积的提取液混匀再次离心,然后将两次的上清液用 25 mL 容量瓶定容。用紫外分光光度计测定 663 nm 和 646 nm 处的吸光值,按 Lichtenhale^[15] 的方法计算叶绿素含量 [mg/g FW (鲜重, fresh weight)]。

1.2.2 叶绿素荧光参数的检测

参考 Demmig-Adams 和 Adams^[16] 的方法并用叶绿素荧光成像仪 IMAGING-PAM 测定。在温度为 25℃ $\pm$ 2℃、湿度为 45% $\pm$ 3% 的环境下,所测幼苗材料暗适应 30 min 后,测量初始荧光 (the minimum fluorescence yield in the dark-adapted state, F_0) 和最大荧光 (the maximum fluorescence yield in the dark-adapted state, F_m), 计算暗适应下 PS II 潜在 $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ 。当所测材料在作用光的实时荧光 (the relative steady-state fluorescence, F_s) 达到稳态后 20 s 打开饱和脉冲光,测得最大荧光 (the maximum fluorescence yield in the light-adapted state, F_m'), 然后在远红光下测定光适应下叶片的最小荧光 (the minimum fluorescence yield in the light-adapted state, F_0')。从仪器中直接导出光适应下 PS II 的实际光量子产量 [actual light quantum yield, $Y(II)$]、 qP 、 NPQ 、ETR 等参数^[2]。

1.2.3 H_2O_2 含量的测定

参照 Yin 等^[17] 的方法。植物材料 0.5 g 加入 5 mL 0.1% (m/V) 的三氯乙酸冰浴研磨,12000 g 离心 30 min,取上清液加入 10 mmol/L 的磷酸缓冲液 (phosphate buffer, PBS) 和 1 mol/L 的碘化钾,测波长在 390 nm 处的吸光值。

1.2.4 细胞壁过氧化物酶 (cell wall-peroxidase, cw-POD)、DAO、PAO 活性的检测

参照 Lee 与 Lin^[18] 的方法提取细胞壁,取小麦叶片 0.5 g,加入 2 mL 50 mmol/L PBS (pH 5.8) 提取液冰浴研磨,1000 g 离心 10 min,沉淀重悬浮洗涤,洗涤 3 次,收集沉淀加入 2 mL 1 mmol/L NaCl 溶液,30℃ 摇床孵育 2 h,1000 g 离心 10 min,取上清酶液备用。

参照 Dos Santos 等^[19] 的方法测定 cw-POD 活性。100 μL 酶液加入 2.9 mL 含 7.2 mmol/L 愈创木酚的 50 mmol/L PBS (pH 8.5),以 11.8 mmol/L H_2O_2 启动反应,在 470 nm 处以 20 s 为时间间隔扫描 2 min。

DAO 活性的检测参照 Naik 等^[20] 的方法。1 g 小麦叶片加入含有 20 mmol/L 愈创木酚的 50 mmol/L PBS (pH 7.0) 提取液,冰浴研磨后 16000 g 离心 20 min,取上清酶液加入含 10 mmol/L 腐胺和 0.1 mmol/L 磷酸吡哆醛的 50 mmol/L PBS (pH 7.8),30℃ 孵育 1 h,然后加入 1 mL 20% 的三氯乙酸终止反应,放置 30 min 后 5000 g 离心 15 min,取上清加入 1 mL 茚三酮复合物 (250 mg 茚三酮溶于 6 mL 乙酸和 4 mL 磷酸),沸水浴 30 min 后加入 1 mL 冰乙酸,测定 510 nm 处吸光值。

参照 Asthir 等^[21] 的方法检测 PAO 活性。取新鲜小麦叶片 1 g 加入 2 mL 含有 5 mmol/L 二硫苏糖醇的 100 mmol/L PBS (pH 7.0) 中冰浴研磨,16000 g 离心 20 min,取沉淀加入含 1 mmol/L NaCl 的 100 mmol/L PBS (pH 7.0) 再次提取后,16000 g 离心 20 min,取 450 μL 酶液加入 300 μL 反应液 [50 U 过氧化氢酶 (catalase,

CAT)和0.1% 2-氨基苯甲醛],以250 μ L 内含10 mmol/L 亚精氨的50 mmol/L PBS (pH6.0)启动反应,30℃ 孵育3 h 后加入1 mL 10%高氯酸终止反应,6500 g 离心10 min,取上清于430 nm 处测定吸光值。

1.3 数据的处理与分析

数据的处理利用SPSS 17.0 进行统计分析,采用单因素(one-way ANOVA)和Duncan 法进行方差分析和多重比较,各处理组均设3 个重复,结果用平均值(X)±标准误(SE)表示。采用Origin 7.5 软件作图,用不同小写字母表示显著性差异($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 不同处理对小麦幼苗叶绿素含量的影响

由表1 可知,150 mmol/L NaCl 处理下小麦幼苗叶片 Chla(叶绿素 a, chlorophyll a)、Chlb(叶绿素 b, chlorophyll b)和总叶绿素含量与对照比,分别降低约34%、60%和42%,叶绿素 a/b (ratio of chlorophyll a and chlorophyll b, Chla/b)值显著增大,不同浓度 TP (25 mg/L 和 100 mg/L) 处理下以上参数与对照比无显著变化。与 NaCl 单独处理相比,25 mg/L TP 的添加不影响 Chlb 的含量与 Chla/b 值,而 Chla 和总叶绿素含量显著增加;不同的是,150 mmol/L NaCl+100 mg/L TP 处理下这些指标较盐单独处理分别增加约28%、50%和34%。同时,25 mg/L TP 不影响盐诱导的 Chla/b 变化,而 100 mg/L TP 则使该比值显著减小。

表1 不同处理下小麦幼苗叶中叶绿素含量(mg/g FW)的变化
Table 1 Changes of chlorophyll content (mg/g FW) in wheat leaves under different treatments

处理 Treatment	叶绿素 a Chlorophyll a	叶绿素 b Chlorophyll b	总叶绿素 Total chlorophyll	叶绿素 a/b Chlorophyll a/b
CK	1.26±0.01c	0.53±0.014c	1.79±0.09c	2.38±0.06a
150 mmol/L NaCl	0.83±0.02a	0.21±0.010a	1.04±0.04a	3.91±0.13c
25 mg/L TP	1.26±0.04c	0.55±0.004c	1.81±0.06c	2.33±0.09a
100 mg/L TP	1.35±0.06d	0.60±0.007c	1.94±0.04c	2.27±0.03a
150 mmol/L NaCl+25 mg/L TP	1.03±0.02b	0.26±0.002a	1.30±0.05b	3.99±0.14c
150 mmol/L NaCl+100 mg/L TP	1.06±0.02b	0.33±0.008b	1.39±0.02b	3.19±0.07b

CK;对照 Control; TP;茶多酚 Tea polyphenols; 同一列不同小写字母之间表示各处理间差异显著($P < 0.05$)

2.2 不同处理对小麦幼苗叶光系统 F_v/F_m 与 $Y(II)$ 的影响

F_v/F_m 是暗适应下植物叶绿体 PS II 潜在的最大光化学效率,是研究光抑制或各种环境胁迫影响光合作用的重要指标^[22]。图1 显示,150 mmol/L NaCl 处理下小麦幼苗叶中的 F_v/F_m 较对照显著降低约25%,而25 mg/L TP 或 100 mg/L TP 单独处理不影响该参数。此外,不同浓度 TP 的添加诱导盐胁迫小麦叶片 F_v/F_m 显著升高,与单独盐处理相比分别增加约1.19 倍和1.18 倍。

$Y(II)$ 表示光化学能量转换的有效量子产量,被称为光适应下 PS II 的实际光量子产量^[22]。从图1 中可以看出, $Y(II)$ 值在150 mmol/L NaCl 处理下与对照相比显著降低约23%,25 mg/L 或 100 mg/L TP 处理下该参数较对照的变化均未达到显著水平。25 mg/L 和 100 mg/L TP 不影响盐处理对小麦幼苗叶片光系统 $Y(II)$ 的抑制作用。

2.3 不同处理对小麦幼苗叶光系统 qP 与 NPQ 的影响

qP 可以反映光合作用反应中心的开放程度^[23]。从图2 中可以看出,150 mmol/L NaCl 处理下 qP 较对照减小约53%,而25 mg/L 或 100 mg/L TP 处理对小麦幼苗叶该参数无影响。与盐单独处理相比,25 mg/L 或 100 mg/L TP 的添加使 NaCl 处理小麦幼苗叶的 qP 均呈显著性增大,分别增加约57%和83%(图2)。

NPQ 反映了 PS II 天线色素吸收的光能以热能的形式耗散掉而不能用于光合电子传递的光能^[24]。如图2 所示,与未处理的小麦幼苗相比,150 mmol/L NaCl 处理下 NPQ 显著增加为对照的2.15 倍,而25 mg/L 或 100 mg/L TP 处理下 NPQ 均无明显变化。150 mmol/L NaCl+25mg/L TP 和 150 mmol/L NaCl+100 mg/L TP 处

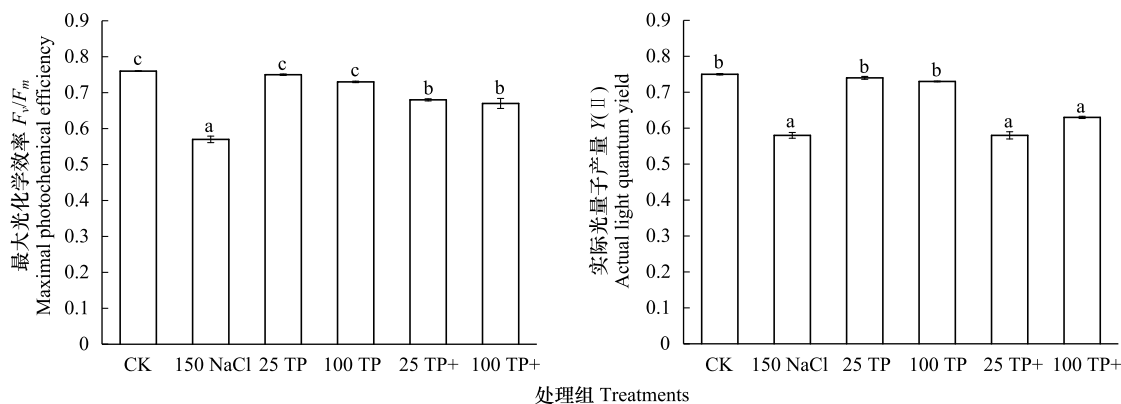


图1 不同处理对小麦幼苗叶 F_v/F_m 与 $Y(II)$ 的变化 (数值为平均数 $\pm$ 标准误差)

Fig.1 Changes of F_v/F_m and $Y(II)$ in wheat leaves under different treatments (mean $\pm$ SE)

F_v/F_m :最大光化学效率 Maximal photochemical efficiency; $Y(II)$:实际光量子产量 Actual light quantum yield; CK:对照 Control; 150 NaCl、25 TP (茶多酚 Tea polyphenols)、100 TP、25 TP+和 100 TP+分别表示: 150 mmol/L NaCl、25 mg/L TP、100 mg/L TP、150 mmol/L NaCl+25 mg/L TP 和 150 mmol/L NaCl+100 mg/L TP; 不同小写字母表示各处理间差异显著 ($P<0.05$)

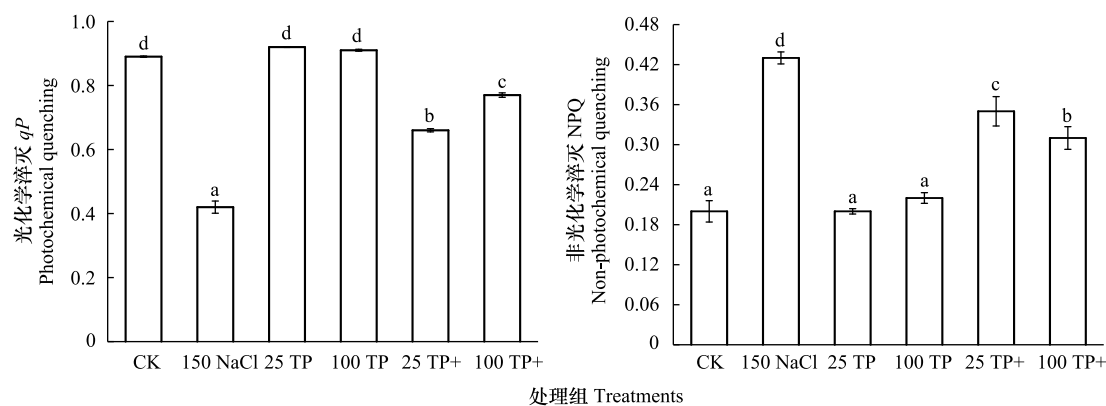


图2 不同处理下小麦幼苗叶 qP 与 NPQ 的变化 (数值为平均 $\pm$ 标准误差)

Fig.2 Changes of qP and NPQ in wheat leaves under different treatments (mean $\pm$ SE)

qP :光化学淬灭 Photochemical quenching; NPQ:非光化学淬灭 Non-photochemical quenching; 150 NaCl、25 TP、100 TP、25 TP+和 100 TP+分别表示: 150 mmol/L NaCl、25 mg/L TP、100 mg/L TP、150 mmol/L NaCl+25 mg/L TP 和 150 mmol/L NaCl+100 mg/L TP; 不同小写字母表示各处理间差异显著 ($P<0.05$)

理下小麦叶片 NPQ 与盐单独处理相比分别减少约 19%和 28%。

2.4 不同处理对小麦幼苗叶光系统 ETR 的影响

ETR 反映的是实际光照条件下表观电子传递速率^[23]。NaCl 处理下小麦幼苗光系统 ETR 与对照比显著降低约 23%,而不同浓度 TP 单独处理不影响小麦叶 ETR (图 3)。与单独盐处理相比,150 mmol/L NaCl+25 mg/L TP 或 150 mmol/L NaCl+100 mg/L TP 处理使 ETR 显著增大约 12%和 15% (图 3)。

2.5 不同处理对小麦幼苗叶 H_2O_2 含量的影响

如图 4 所示,150 mmol/L NaCl 或 25 mg/L TP 处理诱导小麦叶 H_2O_2 含量分别增加为对照的 1.53 倍、1.14 倍,100 mg/L TP 不影响 H_2O_2 含量;25 mg/L 或 100 mg/L TP 缓解了盐诱导的小麦幼苗叶中 H_2O_2 的积累,与 NaCl 单独处理相比使 H_2O_2 产生分别减少约 14%和 25%。

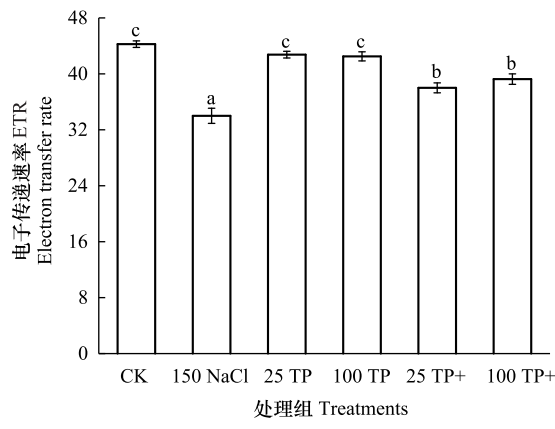


图3 不同处理下小麦幼苗叶光合电子传递效率 (Photosynthetic electron transfer efficiency, ETR) 的变化 (数值为平均数±标准误差)

Fig.3 Change of ETR in wheat leaves under different treatments (mean±SE)

150 NaCl、25 TP、100 TP、25 TP+和 100 TP+分别表示: 150 mmol/L NaCl、25 mg/L TP、100 mg/L TP、150 mmol/L NaCl+25 mg/L TP 和 150 mmol/L NaCl+100 mg/L TP; 不同小写字母表示各处理间差异显著 ($P<0.05$)

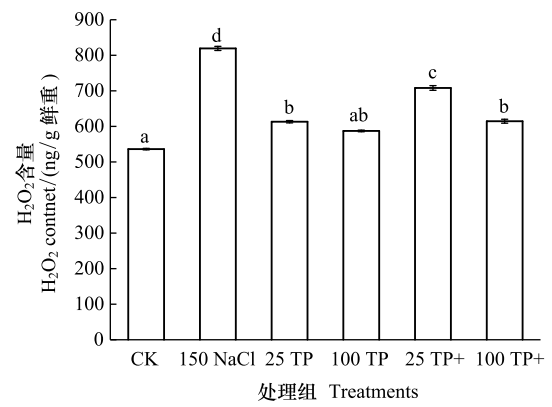


图4 不同处理下小麦叶过氧化氢 (Hydrogen peroxide, H_2O_2) 含量的变化 (数值为平均数±标准误差)

Fig.4 Change of H_2O_2 content in wheat leaves under different treatments (mean±SE)

150 NaCl、25 TP、100 TP、25 TP+和 100 TP+分别表示: 150 mmol/L NaCl、25 mg/L TP、100 mg/L TP、150 mmol/L NaCl+25 mg/L TP 和 150 mmol/L NaCl+100 mg/L TP; 不同小写字母表示各处理间差异显著 ($P<0.05$)

2.6 不同处理对小麦幼苗叶 cw-POD、DAO 和 PAO 活性的影响

如表 2 所示,与未处理幼苗相比,150 mmol/L NaCl 或 25 mg/L TP 处理下小麦叶片 cw-POD 活性显著升高约 189%和 28%,而 100 mg/L TP 处理不影响该酶活性。不同浓度 (25 mg/L 和 100 mg/L) TP 的添加使 NaCl 处理小麦幼苗叶 cw-POD 活性显著降低,与单独 NaCl 处理相比分别降低约 38%和 54%。

与对照相比,盐胁迫诱导小麦幼苗叶片 DAO 和 PAO 活性分别增加约 14%和 31%;25 mg/L TP 处理下 DAO 活性无明显变化,而 PAO 活性升高约 16%;100 mg/L TP 处理下 DAO 和 PAO 活性均降低约为对照的 66%和 73%,且差异均达到显著性水平。低浓度 TP 缓解了盐诱导的 DAO 和 PAO 活性的增加,与单独 NaCl 处理相比分别降低约 33%和 31%,而 100 mg/L TP 的添加不影响盐诱导的两种酶活性的变化。

表 2 不同处理下小麦幼苗叶中 cw-POD、DAO 和 PAO (U/mg protein) 活性的变化
Table 2 Changes of cw-POD, DAO and PAO activities in wheat leaves under different treatments

处理 Treatments	细胞壁-POD cw-POD	二胺氧化酶 DAO	多胺氧化酶 PAO
CK	68.91±1.76a	2.97±0.09c	1.76±0.02bc
150 mmol/L NaCl	199.11±2.39d	3.39±0.01d	2.31±0.01d
25 mg/L TP	88.03±5.80b	2.95±0.04c	2.05±0.04cd
100 mg/L TP	66.09±2.29a	1.95±0.02a	1.28±0.03a
150 mmol/L NaCl+25 mg/L TP	123.82±8.34c	2.27±0.03b	1.60±0.07b
150 mmol/L NaCl+100 mg/L TP	92.53±3.36b	3.38±0.03d	2.08±0.03d

cw-POD: 细胞壁过氧化物酶 Cell wall-peroxidase; DAO: 二胺氧化酶 Diamine oxidase; PAO: 多胺氧化酶 Polyamine oxidase; 同一列不同小写字母表示各处理间差异显著 ($P < 0.05$)

3 讨论

叶绿素是植物进行光合作用的重要色素。盐胁迫使菜豆幼苗叶片和沙枣苗木的叶绿素 a、叶绿素 b 和总

叶绿素含量均降低^[22, 24],这可能是由于 Na^+ 和 Cl^- 直接对叶绿体有一定的损害^[25],或盐胁迫增强了植物体内叶绿素酶的活性从而加剧了叶绿素的降解^[26]。 Chla 和 Chlb 是光系统天线复合体的重要组成成分,大部分 Chla 和全部 Chlb 的作用是吸收与传递光能,只有少部分的 Chla 具有转化光能的作用^[27]。本研究中, NaCl 单独处理导致小麦幼苗叶绿素含量减少,而 Chla/b 值增大,表明盐胁迫造成了叶绿素的降解,且对 Chlb 的破坏作用强于对 Chla 的作用,从而减弱盐胁迫下小麦叶片对光能的吸收和传递。相似,海水结合二硫苏糖醇处理的菠菜叶片^[28]和水分胁迫下地枫皮^[29]叶绿素含量降低,而 Chla/b 值却增大。另据报道,铅锌单独或复合胁迫下山苍子幼苗叶绿素 b、叶绿素 a+b 含量均呈先升后降的趋势,而叶绿素 a/b 值均低于对照^[30]。不同的是,TP 单独处理不影响小麦叶片光合色素含量(表 1)。由此可见,逆境胁迫下叶绿素含量的变化与植物种类、胁迫类型及胁迫程度等因素有关。稳定的光合色素有利于植物正常的光合作用和提高植物的耐盐性^[26]。 Chla/b 值在一定范围内越小,表明对植物光能的吸收率越高^[31]。我们在研究中还发现,不同浓度 TP 能够有效缓解盐胁迫下小麦叶绿素的降解,这有利于增强盐胁迫小麦幼苗对光能的吸收和传递,有利于光合作用的进行,从而提高了小麦对盐环境的适应性。此外,100 mg/L TP 的加入使 NaCl 处理幼苗的 Chla/b 值减小,表明 100 mg/L TP 加入对 Chlb 破坏的缓解作用强于对 Chla 。

在正常环境中,叶绿素吸收的光能主要通过光合电子传递、叶绿素荧光发射和热耗散等途径消耗。叶绿素荧光参数反映了植物叶片吸收、传递、耗散和分配光能的能力^[23],常被用来判断逆境胁迫下植物叶片光系统的受损程度。有文献报道, NaCl 胁迫导致菜豆幼苗和假单胞藻 PS II 的 F_v/F_m 、 $Y(\text{II})$ 、 qP 和 ETR 显著减小,而 NPQ 显著增大^[22, 32]。另据报道,盐胁迫抑制了鞭金藻的光合活性,使 F_v/F_m 、 qP 和 ETR 降低,而 NPQ 在鞭金藻 3011 增加却在鞭金藻 8701 呈先增大后减小的变化趋势^[33]。 F_v/F_m 值的降低是光抑制发生的重要特征^[28], qP 值减小反映了 PS II 天线色素吸收的光能用于光化学电子传递的份额减少^[34]。NPQ 反映了 PS II 天线色素吸收的光能以热能的形式耗散掉而不能用于光合电子传递的光能。未见 TP 影响植物叶绿素荧光特性的相关研究报道。与前人研究部分结果相似, NaCl 单独处理下小麦幼苗 F_v/F_m 、 $Y(\text{II})$ 、 qP 和 ETR 均减小,而 NPQ 显著增大,但 TP 单独处理下这些指标无显著变化。这些结果表明 NaCl 单独处理明显降低了小麦叶片对光能的吸收效率,使 PS II 传递电子的能力下降,部分光能无法用于光反应,以热形式耗散掉的比例显著增高。有研究者认为,盐胁迫诱导 qP 减小而 NPQ 增大,说明在光合作用过程中破坏性过度能量可通过热能的形式耗散^[35],减少对光合机构的损伤。因此,本研究结果同时也表明, NaCl 胁迫下小麦幼苗可能通过提高 NPQ,消耗 PS II 不能利用的过剩光能,从而使 PS II 反应中心免受因吸收过多光能而引起的光氧化和光抑制伤害。此外,TP 的加入使 NaCl 处理小麦幼苗 F_v/F_m 、 qP 和 ETR 显著增大,而 NPQ 显著减小。由上可知, NaCl 胁迫显著降低了小麦幼苗叶片 PS II 对光能的利用率,增大了对光能的热耗散;TP 的添加有效地提高了盐胁迫小麦幼苗 PS II 在光下的运行速率及接受和传递电子的能力,增强了光合活性,减少了光能的热耗散。

植物在逆境胁迫下,由于活性氧代谢加剧导致体内 ROS 过度积累,且植物光合能力的降低可能与 ROS 包括 H_2O_2 的产生有关。因为 H_2O_2 作为一种强氧化剂可以穿过质膜直接攻击叶绿体使其功能受阻^[36]。有文献报道,耐盐品种水稻在盐胁迫下叶绿素含量降低可能与 ROS 介导的叶绿素降解有关^[37]。蒋明义等甚至认为,渗透胁迫降低植株叶片色素含量的主要原因是 ROS 的氧化作用^[38]。本研究中, NaCl 或 25 mg/L TP 单独处理均诱导小麦幼苗叶片 H_2O_2 含量显著增加,且盐胁迫的诱导效应更强,相比较 25 mg/L TP 的诱导效应弱,而 100 mg/L 的 TP 不影响 H_2O_2 的产生。 H_2O_2 产生的这些变化趋势结合相应处理下叶绿素含量的变化似乎表明,盐胁迫诱导过多 H_2O_2 的积累可能与小麦幼苗叶绿素含量的减少有关,而盐胁迫引起的 F_v/F_m 、 $Y(\text{II})$ 、 qP 和 ETR 减小是否涉及 H_2O_2 的积累有待进一步的研究。相似,陈新斌等的研究表明,菠菜叶片中活性氧大量积累,导致光合色素降解加剧^[28]。镉的积累也可通过触发植物体内过量的 ROS 产生,引起重要的细胞结构如膜功能紊乱,破坏叶绿体结构^[39]。我们在本研究中还发现,两种浓度 TP 的加入可缓解 NaCl 处理诱导的小麦叶片 H_2O_2 的积累,与此同时盐胁迫对叶绿素的破坏作用也减弱,这进一步说明盐胁迫诱导的小麦幼苗叶片叶绿素含量减少可能与 H_2O_2 的积累有关。因此,TP 通过抑制 NaCl 处理小麦幼苗叶片 H_2O_2 的产生,进而减弱

NaCl 处理对小麦幼苗叶绿素的破坏及对叶绿体结构的损害,提高 NaCl 处理小麦幼苗的光合能力。逆境胁迫诱导植物 ROS 过多的产生会对植物产生伤害甚至细胞的死亡^[40]。本研究中,TP 的添加缓解了盐胁迫诱导的 H₂O₂ 的产生,从而减弱了因活性氧积累而对植物造成的伤害,增强了小麦幼苗对盐环境的适应能力。

植物细胞壁上的 cw-POD 是植物体内 H₂O₂ 产生酶之一,主要通过质外体 NADH 的氧化而产生 H₂O₂^[41]。除此之外,植物多胺代谢途径中的 PAO 和 DAO 两种酶也可能参与 H₂O₂ 的产生,其中 DAO 在催化腐胺(Put)去氨基化的过程中生成 H₂O₂,PAO 在催化精胺和亚精胺氧化脱氨最终生成 Put 的过程中产生 H₂O₂^[42]。有文献报道,NaCl 处理下水稻幼苗离子结合态 cw-POD 活性与 H₂O₂ 的产生均增强^[43]。另据报道,盐胁迫使药用参中 DAO 活性显著增加,而 PAO 活性呈现先增强后减弱的变化趋势^[44]。本实验中,NaCl 处理诱导小麦叶片 cw-POD、PAO 和 DAO 活性显著升高,25 mg/L TP 单独处理下 cw-POD 活性增强,而 100 mg/L TP 处理显著抑制 PAO 和 DAO 活性。有研究者通过组织化学染色和电镜观察并结合酶活性分析表明,ABA 处理诱导了玉米叶片 cw-POD 及质外体 PAO 活性的升高,且这两种酶均参与了 ABA 诱导的 H₂O₂ 的积累^[45]。相似的结果在以大蒜幼苗玻璃质化为材料的研究中也被观察到^[46]。另据报道,盐处理下水稻根中 DAO 活性与 H₂O₂ 的积累有关^[43],番茄 H₂O₂ 的产生依赖于 PAO 活性^[5],而 NH₄Cl 处理下水稻 DAO 活性与 H₂O₂ 的积累无关^[43]。更为重要的是,本研究中 NaCl 处理对 cw-POD、PAO 和 DAO 活性的诱导效应更强,且伴随着更多 H₂O₂ 的产生,而 25 mg/L TP 单独处理对 cw-POD 和 PAO 活性的诱导效应较弱。结合他人的研究,可以推测 NaCl 或 25 mg/L TP 单独处理诱导的 cw-POD、PAO 和/或 DAO 活性升高可能与 H₂O₂ 的积累有关。我们在本实验中还发现,25 mg/L TP 的使用显著地减弱了盐胁迫对小麦幼苗叶 cw-POD、PAO 和 DAO 活性的诱导作用,而 100 mg/L TP 只对盐胁迫诱导的 cw-POD 活性的升高有缓解作用,这些可能是 TP 的加入导致 NaCl 处理下小麦叶 H₂O₂ 产生减少的原因。尽管已有的研究表明,逆境胁迫下 cw-POD、DAO 和 PAO 活性可能与 H₂O₂ 积累有关,然而依赖于这三种酶的 H₂O₂ 积累是否涉及逆境胁迫改变植物叶绿素含量及其荧光特性,有待于进一步研究。

综上所述,盐胁迫导致小麦幼苗叶绿素含量减少,光系统 F_v/F_m 、 $Y(II)$ 、 qP 和 ETR 减小,NPQ 增大,而单独 TP 处理不影响这些指标。TP 的添加有效地减弱了盐胁迫诱导的这些效应,导致叶绿素含量增加,光合电子传递效率和光化学反应速率增大,对光能利用率增强而热耗散减弱,增强了 NaCl 处理小麦幼苗的光合活性,同时降低了盐处理小麦幼苗叶片的 cw-POD、DAO 和 PAO 活性,减少了 H₂O₂ 的产生,从而减弱了盐胁迫对小麦幼苗的伤害作用,提高了小麦幼苗对盐环境的耐受性。

参考文献(References):

- [1] 厉书豪,李曼,张文东,李仪曼,艾希珍,刘彬彬,李清明. CO₂ 加富对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片光合特性及活性氧代谢的影响. 生态学报, 2019, 39(6): 2122-2130.
- [2] 樊秦,李彦忠. 苜蓿茎点霉对紫花苜蓿光合生理的影响. 草业学报, 2017, 26(1): 112-121.
- [3] 李学孚,倪智敏,吴月燕,李美芹,刘蓉,饶慧云. 盐胁迫对‘鄞红’葡萄光合特性及叶片细胞结构的影响. 生态学报, 2015, 35(13): 4436-4444.
- [4] Landi S, Hausman J F, Guerriero G, Esposito S. *Poaceae* vs. abiotic stress: focus on drought and salt stress, recent insights and perspectives. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1214.
- [5] Takács Z, Poór P, Szepesi Á, Tari I. *In vivo* inhibition of polyamine oxidase by a spermine analogue, MDL-72527, in tomato exposed to sublethal and lethal salt stress. *Functional Plant Biology*, 2017, 44(5): 480-492.
- [6] Cvikrová M, Gemperlová L, Dobrá J, Martincová O, Prásl I T, Gubis J, Vanková R. Effect of heat stress on polyamine metabolism in proline-over-producing tobacco plants. *Plant Science*, 2012, 182: 49-58.
- [7] Cheng M, Zhang X, Guo X J, Wu Z F, Weng P F. The interaction effect and mechanism between tea polyphenols and intestinal microbiota: role in human health. *Journal of Food Biochemistry*, 2017, 41(6): e12415.
- [8] 孔德栋,赵悦伶,王岳飞,徐平. 茶多酚对肿瘤免疫逃逸的抑制机制研究进展. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2018, 44(5): 539-548.
- [9] 吴佳敏. 茶多酚及其改性衍生物抗氧化性研究. 中国食品添加剂, 2009, (1): 110-113.
- [10] 李翠英,叶新华,黄伟利. 茶多酚处理对杏果实贮藏期主要抗氧化酶活性的影响. 西南大学学报: 自然科学版, 2012, 34(8): 25-29.
- [11] 于明革. 茶多酚对茶树铅生物有效性的调控作用机制[D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- [12] 杨颖丽,马海荣,李晶,李琼,吕丽荣. 茶多酚对盐胁迫下小麦幼苗根渗透调节作用的影响. 西北师范大学学报: 自然科学版, 2017, 53(5): 84-90.

- [13] 于振文, 田奇卓, 潘庆民, 岳寿松, 王东, 段藏禄, 段玲玲, 王志军, 牛运生. 黄淮海区冬小麦超高产栽培的理论与实践. 作物学报, 2002, (5): 577-585.
- [14] 虎梦霞, 王世红, 刘效华, 杨文雄. 春小麦新品种陇春 30 号选育及栽培技术要点. 农业科技通讯, 2014, (1): 173-174.
- [15] Lichtenthaler H K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology, 1987, 148: 350-382.
- [16] Demmig-Adams B, Adams III W W. Xanthophyll cycle and light stress in nature: uniform response to excess direct sunlight among higher plant species. Planta, 1996, 198(3): 460-470.
- [17] Yin L N, Mano J, Wang S W, Tsuji W, Tanaka K. The involvement of lipid peroxide-derived aldehydes in aluminum toxicity of tobacco roots. Plant Physiology, 2010, 152(3): 1406-1417.
- [18] Lee T M, Lin Y H. Changes in soluble and cell wall-bound peroxidase activities with growth in anoxia-treated rice (*Oryza sativa* L.) coleoptiles and roots. Plant Science, 1995, 106(1): 1-7.
- [19] Dos Santos W D, Ferrarese M L L, Nakamura C V, Mourão K S M, Mangolin C A, Ferrarese-Filho O. Soybean (*Glycine max*) root lignification induced by ferulic acid. The possible mode of action. Journal of Chemical Ecology, 2008, 34(9): 1230-1241.
- [20] Naik B I, Goswami R G, Srivastava S K. A rapid and sensitive colorimetric assay of amine oxidase. Analytical Biochemistry, 1981, 111(1): 146-148.
- [21] Asthir B, Duffus C M, Smith R C, Spoor W. Diamine oxidase is involved in H_2O_2 production in the chalazal cells during barley grain filling. Journal of Experimental Botany, 2002, 53(369): 677-682.
- [22] 芦丽娜, 谢佳佳, 王庆文, 石岱龙, 贾凌云, 冯汉青. NaCl 胁迫下交替呼吸途径对叶绿素含量及其荧光特性的影响. 西北植物学报, 2017, 37(6): 1175-1181.
- [23] 刘建新, 欧晓彬, 王金成. 镧胁迫下外源 H_2O_2 对裸燕麦幼苗叶绿素荧光参数和光合碳同化酶活性的影响. 生态学报, 2019, 39(8): 2833-2841.
- [24] 贾婷婷, 常伟, 范晓旭, 宋福强. 盐胁迫下 AM 真菌对沙枣苗木光合与叶绿素荧光特性的影响. 生态学报, 2018, 38(4): 1337-1347.
- [25] 许振伟, 宋慧佳, 李明燕, 张廷靖, 郭霄, Eller F, Brix H, 杜宁, 侯文轩, 郭卫华. 不同生态型芦苇种群对盐胁迫的生长和光合特性. 生态学报, 2019, 39(2): 542-549.
- [26] Ge H L, Zhang F L. Growth-promoting ability of *Rhodopseudomonas palustris* G5 and its effect on induced resistance in cucumber against salt stress. Journal of Plant Growth Regulation, 2019, 38(1): 180-188.
- [27] 张金玲, 程达, 李玉灵, 陈海鹏. 光和水分胁迫对臭柏实生幼苗光化学效率及色素组成的影响. 植物学报, 2017, 52(3): 278-289.
- [28] 陈新斌, 孙锦, 郭世荣, 陆晓民, 何立中, 严蓓. 二硫苏糖醇对海水胁迫下菠菜活性氧代谢及叶绿素荧光特性的影响. 园艺学报, 2012, 39(12): 2457-2467.
- [29] 王满莲, 唐辉, 韩愈, 张俊杰, 梁惠凌. 水分胁迫与复水对地枫皮生理生态特性的影响. 广西植物, 2017, 37(6): 716-722.
- [30] 胡文俐, 李培旺, 李昌珠, 蒋丽娟, 张良波, 陈景震, 马英姿. 铅锌胁迫对山苍子幼苗生理生化特性的影响. 中南林业科技大学学报, 2019, 39(9): 109-114.
- [31] 杨虎. 水稻冠层叶片氮素分布变化及氮营养状况快速诊断[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- [32] Shawkat M, Nasir M, Chen Q J, Kurban H. Effect of salt stress on photosynthetic gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters in *Alhagi pseudalhagi*. Agricultural Science & Technology, 2017, 18(3): 411-416, 423-423.
- [33] Liang Y, Cao C H, Tian C Y, Sun M H. Changes in cell density and chlorophyll fluorescence with salinity stress in two *Isochrysis galbana* strains (*Prymnesiophyceae*). Algological Studies, 2014, 145-146(1): 81-98.
- [34] 张翠梅, 师尚礼, 陈建纲. 干旱胁迫对苜蓿幼苗叶绿素荧光特性和膜脂过氧化的影响. 草原与草坪, 2019, 39(1): 16-27.
- [35] Khoshbakht D, Asghari M R, Haghighi M. Effects of foliar applications of nitric oxide and spermidine on chlorophyll fluorescence, photosynthesis and antioxidant enzyme activities of citrus seedlings under salinity stress. Photosynthetica, 2018, 56(4): 1313-1325.
- [36] Noreen Z, Ashraf M, Akram N A. Salt-induced regulation of some key antioxidant enzymes and physio-biochemical phenomena in five diverse cultivars of Turnip (*Brassica rapa* L.). Journal of Agronomy and Crop Science, 2010, 196(4): 273-285.
- [37] Kaur N, Dhawan M, Sharma I, Pati P K. Interdependency of reactive oxygen species generating and scavenging system in salt sensitive and salt tolerant cultivars of rice. BMC Plant Biology, 2016, 16: 131.
- [38] 蒋明义, 杨文英, 徐江, 陈巧云. 渗透胁迫下水稻幼苗中叶绿素降解的活性氧损伤作用. 植物学报, 1994, 36(4): 289-295.
- [39] Alyemeni M N, Ahanger M A, Wijaya L, Alam P, Bhardwaj R, Ahmad P. Selenium mitigates cadmium-induced oxidative stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants by modulating chlorophyll fluorescence, osmolyte accumulation, and antioxidant system. Protoplasma, 2018, 255(2): 459-469.
- [40] 朱峰, 简伟, 邓星光, 林宏辉. 细胞自噬在植物应答盐胁迫中的作用研究. 四川大学学报: 自然科学版, 2016, 53(6): 1403-1408.
- [41] Achary V M M, Parinandi N L, Panda B B. Aluminum induces oxidative burst, cell wall NADH peroxidase activity, and DNA damage in root cells of *Allium cepa* L. Environmental and Molecular Mutagenesis, 2012, 53(7): 550-560.
- [42] 李亚栋, 何近刚. 植物多胺代谢与胁迫响应研究进展. 华北农学报, 2012, 27(S1): 240-245.
- [43] Lin C C, Kao C H. Cell wall peroxidase activity, hydrogen peroxide level and NaCl-inhibited root growth of rice seedlings. Plant and Soil, 2001, 230(1): 135-143.
- [44] Parvin S, Lee O R, Sathiyaraj G, Khorolragchaa A, Kim Y J, Yang D C. Spermidine alleviates the growth of saline-stressed ginseng seedlings through antioxidative defense system. Gene, 2014, 537(1): 70-78.
- [45] 朱丹, 蒋明义, 谭明谱. ABA 诱导玉米叶质体 H_2O_2 积累的机制. 植物生理与分子生物学学报, 2006, 32(5): 519-526.
- [46] Tian J, Cheng Y Q, Kong X Y, Liu M, Jiang F L, Wu Z. Induction of reactive oxygen species and the potential role of NADPH oxidase in hyperhydricity of garlic plantlets *in vitro*. Protoplasma, 2017, 254(1): 379-388.