

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2014.05.025

冯汉青,焦青松. 细胞外 ATP 和水杨酸对烟草光合指标的影响[J]. 广西植物, 2014, 34(5):719-722

Feng HQ, Jiao QS. Effects of extracellular ATP and salicylic acid on photosynthetic index of tobacco[J]. *Guihaia*, 2014, 34(5):719-722

# 细胞外 ATP 和水杨酸对烟草光合指标的影响

冯汉青<sup>\*</sup>, 焦青松

(西北师范大学 生命科学学院, 兰州 730070)

**摘要:** 研究了细胞外 ATP(eATP)和水杨酸(SA)对烟草(*Nicotiana tabacum*)叶片的气孔导度( $G_H_2O$ )、蒸腾速率(E)、光合作用速率(A)与叶绿素荧光参数[包括 PS II 潜在最大光化学量子效率( $F_v/F_m$ )、PS II 光适应下实际光化学效率  $Y(II)$ 、电子传递速率(ETR)、非光化学荧光淬灭(NPQ)和光化学荧光淬灭(qP)]的影响。结果表明:SA 能导致 A、 $G_H_2O$  和 E 的下降,而 eATP 的处理能缓解 SA 造成的 A、 $G_H_2O$  和 E 的下降;但 SA 未对叶绿素荧光参数  $F_v/F_m$ 、 $Y(II)$ 、NPQ、qP 和 ETR 造成显著影响,eATP 的加入也未改变 SA 处理下叶片叶绿素荧光参数的水平。这说明 SA 能导致光合作用的抑制,而 eATP 能明显缓解 SA 对光合作用的抑制,但以上作用可能均和光反应阶段无关。并对其内在机理进行了探讨。

**关键词:** 细胞外 ATP; 水杨酸; 光合速率; 叶绿素荧光参数

**中图分类号:** Q945.11      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-3142(2014)05-0719-04

## Effects of extracellular ATP and salicylic acid on photosynthetic index of tobacco

FENG Han-Qing<sup>\*</sup>, JIAO Qing-Song

(College of Life Sciences, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** The present work studied the effects of extracellular ATP (eATP) and salicylic acid (SA) on transpiration rate (E), stomatal conductance ( $G_H_2O$ ), photosynthesis rate (A) and chlorophyll fluorescence parameters, including maximal photochemical efficiency of PSII ( $F_v/F_m$ ), effective photochemical quantum yield of PSII ( $Y(II)$ ), PSII electron transport rate (ETR), non-photochemical quenching coefficient (NPQ) and the coefficient of photochemical fluorescence (qP) of tobacco (*Nicotiana tabacum*). The results showed that the transpiration rate (E), stomatal conductance ( $G_H_2O$ ) and photosynthesis rate (A) decreased under SA stress, while these decreases were anesised by the addition of eATP. However, SA had no significant effects on the chlorophyll fluorescence parameters, and the addition of eATP did not significantly changed the values of the chlorophyll fluorescence parameters under SA stress. These results indicated that SA could inhibit photosynthesis of tobacco leaves and the addition of eATP could alleviate the inhibition of photosynthesis by SA stress, while these effects were not related to the light reaction. We also discussed the possible mechanism based on these observations.

**Key words:** extracellular ATP; salicylic acid; photosynthesis rate; chlorophyll fluorescence parameter

水杨酸(salicylic acid, SA)是植物体内普遍存在的一种小分子酚类化合物,是一种重要的植物内

源激素。逆境条件(如病原菌侵染和干旱胁迫)会造成植物内源 SA 的含量升高,一定水平 SA 的上升

收稿日期: 2013-10-26      修回日期: 2013-12-06

基金项目: 国家自然科学基金(31260059); 教育部科学技术研究重点项目(211190); 甘肃省财政厅高校基本科研业务费和校级基金(NWNU-kjcxgc-03-77, NWNU-09-31&NWNU-LKQN-10-32)。

作者简介: 冯汉青(1978-), 男, 河北保定人, 副教授, 博士。研究方向为植物生化与分子生物学, (E-mail: fenghanq@nwnu.edu.cn)。

<sup>\*</sup> 通讯作者

可以调节植物的抗逆反应(Yuan *et al.*, 2008); SA在植物体内的生理作用还表现在对植物生长发育、成熟衰老等生理过程的调控(孟雪娇等, 2010)。SA会导致植物光合作用下降(陈志强, 2010), 并被认为是逆境条件导致光合作用下降的重要原因。

ATP不但分布在细胞内, 而且广泛存在于动物和植物的细胞外基质中, 并被称为细胞外ATP(extracellular ATP, eATP), 简称胞外ATP, 通过与植物细胞表面受体的结合并产生细胞内的第二信使(如细胞电信号、活性氧、一氧化氮等)来调节细胞的多种生理反应(Song *et al.*, 2006)。如细胞活力、生长发育(Wolf *et al.*, 2007)、抗病反应(Clark *et al.*, 2010)和细胞的程序性死亡(Sun *et al.*, 2012)等。eATP和SA都是植物的一种信号分子。SA增强植物抗病性的同时也降低了植物eATP的水平(周欣等, 2001); 而且eATP的加入能降低SA所诱导的植物的抗病性(Chivasa *et al.*, 2010)。表明eATP能影响SA所引起的植物生理学变化。但eATP是否也能影响SA所引起的光合作用的变化目前尚无报道。基于此, 本文分别从光反应和暗反应阶段探索了eATP对SA胁迫下烟草叶片光合作用的影响。以期进一步扩展人们对eATP生理学功能的认知及eATP和SA之间的相互关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料的培养

供试烟草(*Nicotiana tabacum*)为K326号, 由云南玉溪烟草有限公司提供。烟草种子用1%的次氯酸钠溶液表面消毒20 min后用蒸馏水充分清洗, 均匀排列在培养皿中并用湿纱布覆盖使其萌发。选取萌发一致的种在直接种子含蛭石的营养土表层(培养基质为营养土: 蛭石: 珍珠岩=3: 1: 1), 置于培养架上进行萌发生长。培养架的昼夜温度变化为25℃/20℃, 光照强度100~110  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , 光周期12 h光照/12 h黑暗。空气湿度为50%, 每天浇水一次保持表层培养介质湿润。40 d后, 选取长势一致的幼苗, 进行以下处理(1.2)。

### 1.2 材料处理

选取长势一致的烟草幼苗作为供试材料。用蒸馏水分别配制浓度为1.0  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的ATP和SA溶液, 用KOH调节pH至6.7; 对照试剂为蒸馏水,

同样用KOH调节pH至6.7。将烟草分为A、B、C3组, 分别用脱脂棉在叶片上下表皮均匀涂抹蒸馏水、SA和SA, 10 min后C组涂抹ATP。处理2 h后进行气体交换和叶绿素荧光参数的测定。

### 1.3 参数测定

采用GFS-3000便携式光合作用仪测定气体交换参数: 光合作用速率(A)、蒸腾速率(E)、气孔导度( $\text{GH}_2\text{O}$ ); 每次测量前将仪器预热60 min, 在ZP模式下调零30 min, 设定流速(Flow)为标准值750  $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1}$ , 叶室风扇的速度为7, 设定光强 $\text{PAR} = 100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , 选用3  $\text{cm}^2$ 叶室, 设定叶室温度20℃, 相对湿度设为50%, 二氧化碳浓度500 ( $\text{V}/\text{V} \times 10^{-6}$ ), 待各组参数稳定后记录数据。

使用PAM-2500叶绿素荧光仪测量叶绿素荧光参数: 测定前对每组供试材料暗适应20 min。照射检测光, 经过一小段时间(1~2 min)荧光水平稳定后得到初始荧光 $F_0$ 。打开饱和脉冲光测得暗适应下叶片的最大荧光( $F_m$ ), 开启作用光, 当所测材料实时荧光达到稳态( $F_s$ )后打开饱和脉冲光测得最大荧光( $F_m'$ ), 再打开远红光(far-red light)测定光适应叶片的最小荧光( $F_0'$ )。根据以上参数计算出暗适应下PSII潜在最大光化学量子效率 $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ 、光化学淬灭系数 $q_p = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_0')$ 、光适应下PSII的实际光化学效率 $Y(\text{II}) = (F_m' - F_s)/F_m'$ 和非光化学淬灭系数 $\text{NPQ} = F_m/F_m' - 1$ (Adams *et al.*, 1996)等。每个处理重复测量3次。

### 1.4 数据分析

将所得数据用Excel预处理, 用Origin 6.0统计软件进行显著性检验(显著 $P < 0.05$ , 极显著 $P < 0.01$ )及绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 eATP和SA对烟草光合作用速率(A)、蒸腾速率(E)和气孔导度( $\text{GH}_2\text{O}$ )的影响

用1.0  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的SA处理后A值显著下降, SA+ATP处理后叶片的A值低于对照组, 且高于SA处理组(图1:A)。结果显示E(图1:B)和 $\text{GH}_2\text{O}$ (图1:C)的变化趋势一致, SA处理后E和 $\text{GH}_2\text{O}$ 均显著下降; SA+ATP处理后叶片的E和 $\text{GH}_2\text{O}$ 均值均高于对照组, 但升高并不显著。

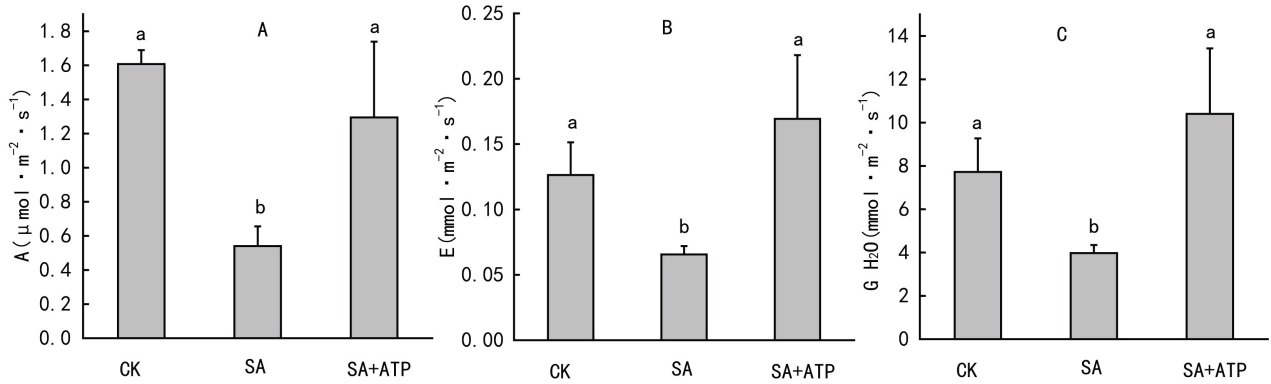


图 1 eATP 和 SA 对烟草光合作用速率(A),蒸腾速率(E)和气孔导度(G H<sub>2</sub>O)的影响

不同字母代表差异显著( $P < 0.05$ ),下同。

Fig. 1 Effects of eATP and SA on photosynthetic rate (A),transpiration rate (E) and stomatal conductance (G H<sub>2</sub>O) of tobacco leaves Significant differences ( $P < 0.05$ ) are denoted by different letters,the same below.

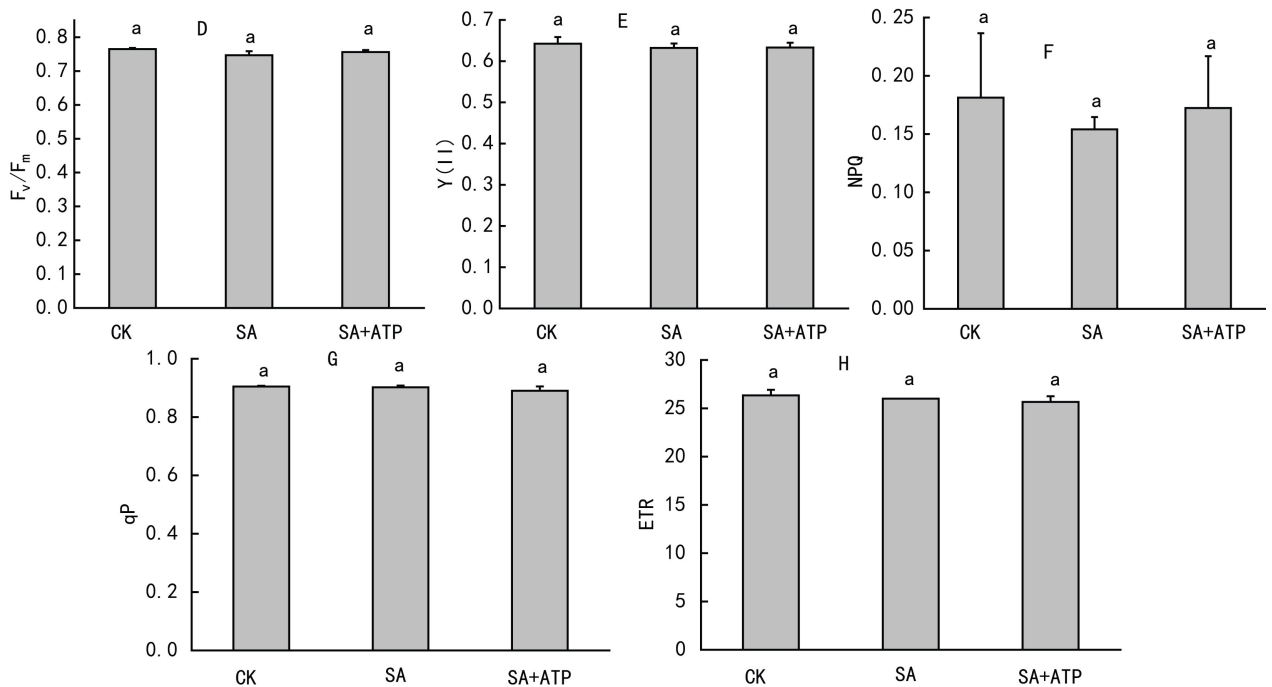


图 2 eATP 和 SA 对烟草叶绿素荧光参数影响

Fig. 2 Effects of eATP and SA on chlorophyll fluorescence of tobacco leaves

## 2.2 eATP 和 SA 对烟草叶绿素荧光参数影响

$F_v/F_m$  和  $Y(II)$  是光反应阶段的重要指标,与对照组相比,SA 胁迫下  $F_v/F_m$  和  $Y(II)$  没有显著变化(图 2:D、图 2:E)。处理组的 NPQ 较对照组略有下降,但下降同样不显著(图 2:F)。 $qP$ (图 2:G)和 ETR(图 2:H)均无变化。

以上结果表明 SA 和 SA+ATP 处理均未对叶绿素荧光参数产生显著影响。

## 3 讨论与结论

eATP 可作为植物的信号分子调节植物的多种生理学变化。本研究表明,与对照相比,SA 处理导致 A 值显著性下降;而 SA+eATP 处理下的 A 值和对照相比无显著性差异(图 1:A)。蒸腾作用在 SA 处理下显著降低,而 eATP 的加入使得蒸腾作用值回到了对照水平(图 1:B)。以上结果表明,

eATP能在一定程度上缓解或抵消SA造成的叶片光合作用和蒸腾作用的下降。

SA能诱导气孔关闭(Jia *et al.*, 2008)。本研究结果表明,与对照组相比,SA处理后GH<sub>2</sub>O显著性下降;而SA预处理再经eATP处理后GH<sub>2</sub>O恢复到了对照水平(图1:C)。气孔控制着植物叶片CO<sub>2</sub>吸收和水分的散失(钟楚等, 2013),故气孔导度与植物的光合速率和蒸腾作用均密切相关(蒿宝珍等, 2011)。因此推测,eATP可能是通过缓解SA造成的气孔关闭而缓解了SA造成的光合及蒸腾作用的下降。

叶绿素荧光参数是反映光反应阶段中光合机构对光能吸收及转化状态的重要指标,而本研究的结果显示,叶绿素荧光参数在SA处理后未发生显著性变化,且eATP的加入也未改变SA处理下叶片叶绿素荧光参数的水平(图2:D-H),表明SA对叶片光合速率的抑制以及eATP对这种抑制的缓解作用可能与光反应阶段无关。

eATP可通过与其胞外受体的结合使细胞内产生钙离子等第二信使,而钙离子被报道能缓解环境胁迫下植物的气孔关闭(Demidchik *et al.*, 2011; 沈竹夏 2010)。此外,除了抑制气孔导度,SA还能通过影响部分光合相关基因的方式对光合作用产生可逆抑制(Bilgin *et al.*, 2010)。钙离子可明显提高Rubisco初始活力、羧化速率、RuBP再生速率和卡尔文循环中的CO<sub>2</sub>同化能力(姜玉萍, 2010)。据此推测,SA导致的气孔关闭及光合作用下降的机理或作用位点和eATP所引起的细胞内变化存在拮抗型的相互作用,因而eATP能在一定程度上缓解了SA造成的光合速率下降,但具体机理仍需进一步研究。

**致谢** 云南玉溪烟草有限公司提供烟草种子。

## 参考文献:

Adams DB, Adams III WW. 1996. Xanthophyll cycle and light stress in nature: uniform response to excess direct sunlight among higher plant species[J]. *Planta*, **198**(3):460-470

Bilgin DD, Zavala JA, Jin Z. 2010. Biotic stress globally down regulates photosynthesis genes[J]. *Plant Cell Environ*, **33**(10):1597-1613

Chen ZQ(陈志强). 2010. Study on the effects of exogenous salicylic acid on the oxidative burst and on photosynthesis and cell death in *Arabidopsis* leaves(外源水杨酸诱导的活性氧迸发对拟南芥光合作用和细胞死亡的影响研究)[D]. Guangzhou(广州): South China Normal University(华南师范大学)

Chivasa S, Simon WJ, Murphy AM. 2010. The effects of extracellular adenosine 5-triphosphate on the tobacco proteome[J]. *Proteomics*, **10**(2):235-244

Clark G, Torres J, Finlayson S, *et al.* 2010. Apyrase (nucleoside triphosphate diphosphohydrolase) and extracellular nucleotides regulate cotton fiber elongation in cultured ovules[J]. *Plant Physiol*, **152**(2):1073-1083

Demidchik V, Shang Z, Shin R, *et al.* 2011. Receptor-like activity evoked by extracellular ADP in *Arabidopsis thaliana* root epidermal plasma membrane[J]. *Plant Physiol*, **156**(3):1375-1385

Genty B, Briantais JM, Baker NR. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence[J]. *Biochem Biophys Acta*, **990**(1):87-92

Hao BZ(蒿宝珍), Jiang LN(姜丽娜), Zhang H(张菡), *et al.* 2011. Irrigation management effects on photosynthetic characteristics of flag leaf and grain yield of winter wheat in northern henan province(水分运筹对豫北冬小麦生育后期光合特性及产量的影响)[J]. *Chin Agric Sci Bull*(中国农学通报), **27**(18):180-184

Jiang YP(姜玉萍). 2010. Brassinosteroids regulate CO<sub>2</sub> assimilation through redox changes in *Cucumis sativus*(氧化还原信号介导的表油菜素内酯对黄瓜光合作用的调控)[D]. Hangzhou(杭州): Zhejiang University(浙江大学)

Jia WS, Zhang JH. 2008. Stomatal movements and long-distance signaling in plants[J]. *Plant Signal Behav*, **3**(10):772-777

Meng XJ(孟雪娇), Di K(邸昆), Ding GH(丁国华). 2010. Progress of study on the physiological role of salicylic acid in plant(水杨酸在植物体内的生理作用研究进展)[J]. *Chin Agric Sci Bull*(中国农学通报), **26**(15):207-214

Shen ZX(沈竹夏). 2010. The study on the mechanisms of regulation for stomatal movements by calcium signals(钙信号对气孔调控作用机制的探讨)[D]. Hangzhou(杭州): Zhejiang University(浙江大学)

Song CJ, Steinebrunner I, Wang XZ, *et al.* 2006. Extracellular ATP induces the accumulation of superoxide via NADPH oxidases in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol*, **140**(4):1222-1232

Sun J, Zhang CL, Deng SR, *et al.* 2012. An ATP signaling pathway in plant cells: extracellular ATP triggers programmed cell death in *Populus euphratica*[J]. *Plant Cell Environ*, **35**(5):893-916

Wolf C, Hennig M, Romanovicz D, *et al.* 2007. Developmental defects and seedling lethality in apyrase AtAPY1 and AtAPY2 double knockout mutants[J]. *Plant Mol Biol*, **64**(6):657-672

Yuan S, Lin HZ. 2008. Role of salicylic acid in plant abiotic stress[J]. *Z Naturforsch C*, **63**(5/6):313-320

Zhou X(周欣), Chen SN(陈善娜). 2001. Advance in studying of salicylic acid induce resistance in plant(水杨酸在植物诱导抗性方面研究进展)[J]. *J Yunnan Univ: Nat Sci Edit*(云南大学学报·自然科学版), **23**(S1):106-108

Zhong C(钟楚), Zhu Y(朱勇). 2013. Response of stomatal conductance to light in tobacco plants(烟草气孔导度对光强的响应)[J]. *Chin J Eco-Agric*(中国生态农业学报), **21**(8):966-972