文章编号:1000-7601(2019)04-0146-08 doi:10.7606/j.issn.1000-7601.2019.04.20

外源 H_2O_2 对干旱胁迫下裸燕麦幼苗叶片生理特性的影响

刘建新,欧晓彬,王金成

(甘肃省高校陇东生物资源保护与利用省级重点实验室/陇东学院生命科学与技术学院,甘肃 庆阳 745000)

摘 要:为探讨信号分子过氧化氢(H_2O_2)对干旱胁迫下裸燕麦生理响应的调控机制,以砂培白燕7号幼苗为材料,研究了喷施0.01 mmol·L^{-1} H_2O_2对17.8%聚乙二醇6000模拟的干旱胁迫下叶片光合特性、活性氧代谢、渗透调节物质积累和幼苗生长的影响。结果表明:喷施H_2O_2后,干旱胁迫下的裸燕麦幼苗叶片叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素、类胡萝卜素含量和叶绿素a/b较对照(喷H_2O后干旱胁迫)分别提高了20.0%、12.9%、18.5%、8.1%和24.3%,叶片净光合速率、气孔导度、胞间CO_2浓度和水分利用效率分别提高了20.6%、25.9%、12.0%和33.8%,蒸腾速率降低了9.7%;喷施H_2O_2还使干旱胁迫下裸燕麦幼苗叶片的过氧化氢酶、抗坏血酸过氧化物酶活性和抗坏血酸含量分别提高了113.5%、102.9%和13.8%,而超氧化物歧化酶、过氧化物酶活性及O_2^{-}、H_2O_2、丙二醛含量和细胞膜相对透性分别下降了21.5%、60.4%、29.3%、38.4%、19.7%和14.2%,可溶性蛋白质、可溶性糖、游离氨基酸和脯氨酸含量分别上升了10.5%、40.3%、13.8%和17.2%,幼苗株高、根长、植株鲜重、植株干重和相对含水量分别提高了14.8%、25.0%、20.1%、11.0%和5.93 %,但谷胱甘肽含量没有显著变化。表明外源H_2O_2能够通过降低膜脂过氧化程度和促进渗透溶质积累,改善叶片光合功能和植株水分状况,从而减轻干旱对裸燕麦幼苗生长的抑制,增强裸燕麦的抗旱性。

关键词:过氧化氢;裸燕麦;干旱胁迫;生理特性

中图分类号:S512.6 **文献标志码**:A

Effects of exogenous hydrogen peroxide (H_2O_2) on the physiological characteristics in leaves of *Avena nuda* L. seedlings under drought stress

LIU Jian-xin, OU Xiao-bin, WANG Jin-cheng

(*College of Life Science and Technology, Longdong University; Provincial Key Laboratory for Protection and Utilization of Longdong Bio-resources in Gansu Province, Qingyang, Gansu* 741500, *China*)

Abstract: To explore the regulative mechanism of hydrogen peroxide (H_2O_2), a signaling molecule for the physiological response of *Avena nuda* L. (naked oats) seedlings under drought stress. In this study, a sand culture experiment was conducted to investigate the effect of spraying 0.01 mmol·L^{-1} H_2O_2 on leaves photosynthesis, active oxygen metabolism, osmotic regulation substances accumulation, and growth of 'Baiyan 7' *Avena nuda* L. seedlings under drought stress simulated by 17.8% polyethylene glycol 6000. The results showed that chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoid contents, and chlorophyll a/b in leaves of naked oats seedlings under drought stress after spraying with H_2O_2 increased by 20.0%, 12.9%, 18.5%, 8.1%, and 24.3%, respectively, over the control (drought stress spraying distilled water). In addition, the net photosynthetic rate, stomatal conductance, intercellular CO_2 concentration, and water use efficiency in leaves increased by 20.6%, 25.9%, 12.0%, and 33.8%, respectively, whereas the transpiration rate decreased by 9.7%. Moreover, the catalase, ascorbate peroxidase activities, and ascorbic acid content in the leaves under drought stress after spraying with H_2O_2 increased by 113.5%, 102.9%, and 13.8%, respectively, and the activities of superoxide dismutase, peroxidase, the contents of O_2^{-}, H_2O_2, malondialdehyde (MDA), and relative plasma membrane permeability in leaves decreased by 21.5%, 60.4%, 29.3%, 38.4%, 19.7%, and 14.2%, respectively. The contents of soluble protein, soluble

---

收稿日期:2018-05-18 **修回日期**:2018-09-16

基金项目:国家自然科学基金项目(31560125);甘肃省庆阳市科技计划项目(KZ2014-19)

作者简介:刘建新(1964-),男,甘肃通渭人,教授,主要从事植物逆境生理生态研究。E-mail: liujx1964@163.com

sugar, free amino acid, and proline in leaves increased by 10.5%, 40.3%, 13.8%, and 17.2%, respectively, and plant height, root length, fresh weight, dry weight, and relative water content of naked oats seedlings increased by 14.8%, 25.0%, 20.1%, 11.0%, and 5.93%, respectively, but there were no significant changes in glutathione content. These results indicated that exogenous H_2O_2 reduced the inhibition of drought stress on growth of naked oats seedlings, enhanced the drought resistance by reducing the membrane lipid peroxidation, promoted osmotica accumulation, and improved the photosynthesis and plant water condition.

Keywords: hydrogen peroxide; naked oats (*Avena nuda* L.); drought stress; physiological characteristics

裸燕麦(*Avena nuda* L.)是我国丘陵沟壑旱作区栽培的一种杂粮作物，具有喜阴凉、耐盐抗旱等生物学特性，主要分布在西南、西北、华北等地区的高海拔冷凉地带，年种植面积约 55 万 hm^2[1]。裸燕麦籽粒不仅蛋白质、脂肪和 β-葡聚糖等营养成分高，而且还具有控制血糖、血压和血脂升高的保健功效[2]。然而，裸燕麦种植区多属于干旱半干旱少雨地区，干旱胁迫成为其生长发育和产量提高的重要限制因子。干旱胁迫下，裸燕麦叶片光合速率下降[3]，活性氧(Reactive oxygen species, ROS)积累导致膜脂过氧化[4]，植株生长发育受阻和产量下降[5]。因此，探索提高裸燕麦抗旱性的技术途径，对减轻裸燕麦旱灾伤害具有重要意义。

过氧化氢(H_2O_2)是植物体中一种重要的信号分子，它参与植物防御系统对逆境响应的调控，能够增强植物对环境胁迫的耐性[6]。研究表明，H_2O_2 参与了脱落酸诱导的拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)气孔关闭过程[7]，外施 H_2O_2 能够缓解干旱胁迫诱导的活性氧积累对黄瓜叶绿体膜的伤害[8]，提高玉米植株对盐胁迫的耐性[9]，增强葡萄对低温[10]和水稻对镉胁迫[11]的适应能力。外源 H_2O_2 在燕麦上也有影响种子活力和提高耐盐性、耐碱性的报道。夏方山等[12]研究表明，高浓度 H_2O_2(3.84 mol·L^{-1})处理会导致燕麦种子活力的丧失。低浓度(0.5 mmol·L^{-1}) H_2O_2 则可缓解盐碱混合胁迫对燕麦种子萌发和成苗的抑制，且这一过程有 Ca^{2+} 参与[13]。根部浇灌和叶面喷施 H_2O_2 均可通过调控活性氧代谢和渗透溶质积累以及维持 K^+、Na^+ 平衡，增强燕麦幼苗的耐盐性[14-15]。外施 H_2O_2 通过促进脯氨酸合成和抑制其降解提高了盐碱混合胁迫下燕麦幼苗脯氨酸的含量[16]。碱胁迫下外源 H_2O_2 能够增强燕麦幼苗的活性氧清除能力，提高渗透调节物质含量，缓解植株生长的受抑制程度[17-18]。渗透胁迫下膜脂过氧化伤害和光合作用受抑是植物普遍的生理响应[3-5,8,14-18]。外施 H_2O_2 能够调控活性氧代谢，缓解盐碱胁迫对燕麦幼苗的氧化伤害[14-18]，且 H_2O_2 参与脱落酸诱导的植物气孔关闭过程[7]。那么，外源 H_2O_2 能否通过对受旱燕麦生理响应的调节，提高燕麦幼苗的抗旱性，目前尚未见研究报道。本试验以白燕 7 号裸燕麦品种为材料，研究了幼苗叶片光合特性、活性氧代谢和渗透溶质积累等生理特性的变化，探讨外源 H_2O_2 预处理对干旱胁迫下裸燕麦幼苗生理响应的调控机制，旨在为应用 H_2O_2 增强裸燕麦耐旱性提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　化学试剂和材料培养

试验于 2016 年 4-7 月在甘肃省高校陇东生物资源保护与利用省级重点实验室日光温室进行。供试 30% H_2O_2 为美国 Sigma 公司产品，其它试剂均为国产分析纯。裸燕麦品种为白燕 7 号，种子购自吉林省白城市农业科学研究院。将裸燕麦种子在培养箱中 25 ℃催芽后选发芽一致的幼苗播种在盛满珍珠岩的塑料盆(口径 20 cm，高 14 cm)中，置于日光温室培养，昼温 22~32℃，夜温 16~20℃，相对湿度 65%±5%，光照强度 400~610 μmol·m^{-2}·s^{-1}，常规管理。待幼苗二叶一心期时每盆选留长势一致的壮苗约 200 株，并浇灌 1 次 1/2 Hoagland 营养液 300 mL，幼苗长至三叶一心期时进行试验处理。

1.2　试验设计

1.2.1　预试验筛选聚乙二醇 6000(PEG)和 H_2O_2 处理浓度　干旱胁迫：分别用含有 PEG 0.0%、11.9%、14.9%、17.8%和 20.2%的 Hoagland 溶液(渗透势分别为 0.0、0.2、0.3、0.4、0.5 MPa)根部浇灌三叶一心期裸燕麦幼苗模拟干旱胁迫，浇灌于每天 8∶00 进行一次，浇灌量 250 mL。H_2O_2 预处理：分别用浓度为 0、0.001、0.01、0.1、1、5 mmol·L^{-1} H_2O_2 溶液(加 2 滴吐温-80 以降低表面张力)对三叶一心期裸燕麦幼苗进行叶面喷施，每盆幼苗喷施量约 10 mL，待叶片吸收 H_2O_2 12 h 后用含 17.8% PEG 的 Hoagland 溶液根部浇灌模拟干旱处理。以上处理每盆作为 1 个重复，3 次重复，随机排列。干旱胁迫 4 d 后测定每盆 10 株幼苗倒数第 2~3 片叶的净光合速率(*Pn*)，

每盆取 0.50 g 倒数第 2~3 片叶测定丙二醛(MDA)含量,测定重复 3 次。

1.2.2 H_2O_2和 PEG 交叉试验处理 根据预试验筛选的 PEG 和 H_2O_2浓度,设置如下 4 个处理:CK,蒸馏水喷施三叶一心期裸燕麦幼苗地上部 12 h 后根部浇灌 Hoagland 营养液;H_2O_2处理,用 0.01 mmol·L^{-1} H_2O_2喷施三叶一心期裸燕麦幼苗地上部 12 h 后根部浇灌 Hoagland 营养液;PEG 处理,用蒸馏水喷施三叶一心期裸燕麦幼苗地上部 12 h 后根部浇灌含 17.8% PEG 的 Hoagland 营养液;H_2O_2+PEG 处理,用 0.01 mmol·L^{-1} H_2O_2喷施三叶一心期裸燕麦幼苗地上部 12 h 后根部浇灌含17.8% PEG 的 Hoagland 营养液。喷施液中加 2 滴吐温-80 来降低叶片表面张力,喷施于 20:00 进行,喷至叶面滴液为限,喷施量每盆约 10 mL。根部浇灌于每天 8:00 进行一次,浇灌量 250 mL。每个处理 8 盆,随机排列。根部浇灌处理 4 d 后取幼苗从上向下数第 2~3 片叶测定各项生理指标。细胞膜相对透性和光合参数取鲜叶直接测定,其它生理指标测定用液氮速冻后 -70℃低温冰箱保存材料。根部浇灌处理 12 d 后处理间植株表型差异明显,测定植株生长指标。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 光合色素含量和光合参数 叶片光合色素含量采用高俊凤[19]的方法测定。试验结束当天上午(晴)9:00-11:00 用 CIRAS-2 光合仪(美国 PP Systems 公司)测定幼苗叶片净光合速率(Pn)、气孔导度(Gs)、胞间 CO_2浓度(Ci)和蒸腾速率(Tr)。采用开放式气路,红蓝光源叶室,设定光合有效辐射为 1 000 μmol·m^{-2}·s^{-1},CO_2浓度为 400 μmol·mol^{-1},根据测定结果计算光合水分利用率 $WUE=Pn/Tr$。

1.3.2 ROS 和抗氧化系统相关指标 幼苗叶片细胞膜相对透性、超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)和 MDA 含量测定采用高俊凤[19]的方法,H_2O_2含量测定参照 Sergiev 等[20]的方法,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性及抗坏血酸(ASA)、谷胱甘肽(GSH)含量测定采用陈建勋和王晓峰[21]的方法。

1.3.3 渗透调节物质含量 分别采用李合生[22]的蒽酮比色法、考马斯亮蓝法、茚三酮染色法和磺基水杨酸法测定幼苗叶片中可溶性糖、可溶性蛋白质、游离氨基酸和脯氨酸含量。

1.3.4 植株生长和相对含水量 干旱胁迫 12 d 后取 50 株幼苗用直尺测量株高和根长,100 株幼苗用自来水冲洗干净后吸干表面水分称鲜重,然后在烘箱中 105℃杀青 30 min,70℃烘干至恒重,称干重。取 20 株幼苗采用高俊凤[19]的方法测定植株相对含水量。

1.4 数据统计分析

所有指标测定重复 3 次,结果计算均以单位材料鲜重为基础,结果用平均值±标准差表示。采用 SPSS 20.0 进行单因素方差分析和 Duncan 法多重比较($P<0.05$)。

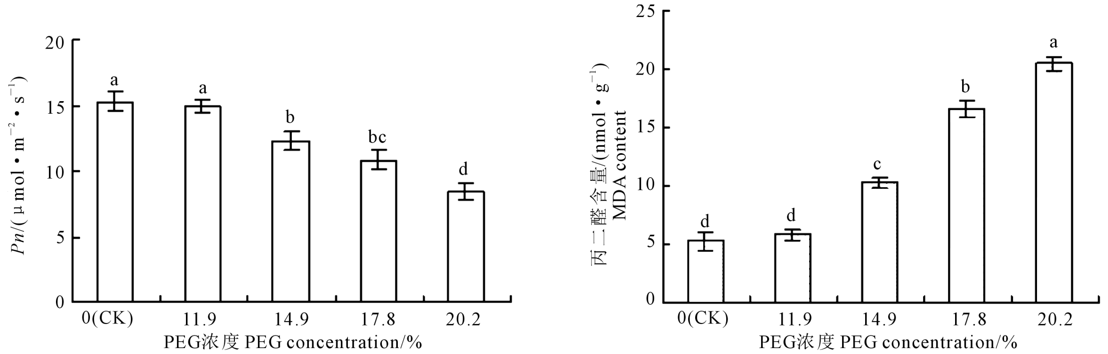
2 结果与分析

2.1 PEG 和 H_2O_2处理浓度的确定

与 CK 相比,11.9% PEG 处理裸燕麦幼苗 4 d 后叶片 Pn 和 MDA 含量无显著变化(图 1),而 14.9%~20.2% PEG 处理下 Pn 显著下降,MDA 含量显著升高,其中 17.8% PEG 处理的 Pn 和 14.9% PEG 处理的 Pn 差异不显著,但 MDA 含量显著提高。另外从幼苗表型观察,11.9%~17.8% PEG 处理的幼苗仍保持绿色,而 20.2% PEG 处理的幼苗萎蔫严重,部分植株叶尖发黄。因此,本试验选用 17.8% PEG 作为干旱胁迫的浓度。以 0、0.001、0.01、0.1、1、5 mmol·L^{-1} H_2O_2喷施预处理裸燕麦幼苗 12 h 后根部浇灌 17.8% PEG 处理 4 d,0.01 和 0.1 mmol·$L^{-1}$$H_2O_2$处理的裸燕麦幼苗叶片 Pn 显著高于 0 mmol·$L^{-1}$$H_2O_2$的对照(CK),且两者的 Pn 差异不显著,而两者的 MDA 含量显著低于 CK,其中 0.01 mmol·L^{-1} H_2O_2处理降低 MDA 含量的作用更加明显;≥1 mmol· $L^{-1}$$H_2O_2$处理的 Pn 显著低于 CK,MDA 含量显著高于 CK(图 2)。因此,H_2O_2浓度选用 0.01 mmol·L^{-1}。

2.2 外源 H_2O_2对干旱胁迫下裸燕麦幼苗叶片光合色素含量的影响

由表 1 可知,与 CK 相比,干旱胁迫显著降低了裸燕麦幼苗叶片的叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素(a+b)、类胡萝卜素含量及叶绿素 a/b 值。外源 H_2O_2显著提高了干旱胁迫下幼苗叶片的叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素(a+b)、类胡萝卜素含量及叶绿素 a/b 值,H_2O_2+ PEG 处理的叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素(a+b)、类胡萝卜素含量及叶绿素 a/b 值比 PEG 处理分别提高了 20.0%、12.9%、18.5%、8.1%和 24.3%。单独 H_2O_2处理的叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素(a+b)、类胡萝卜素含量及叶绿素 a/b 值与 CK 无显著差异。



注：不同字母表示处理间在 $P<0.05$ 水平差异显著，下同。

Note: Different letters indicates significant difference at $P<0.05$ level, the same below.

图 1　不同浓度 PEG 处理对裸燕麦幼苗叶片净光合速率和丙二醛含量的影响

Fig.1　Effects of different concentrations of PEG on net photosynthetic rate and malondialdehyde (MDA) content in leaves of naked oat seedlings

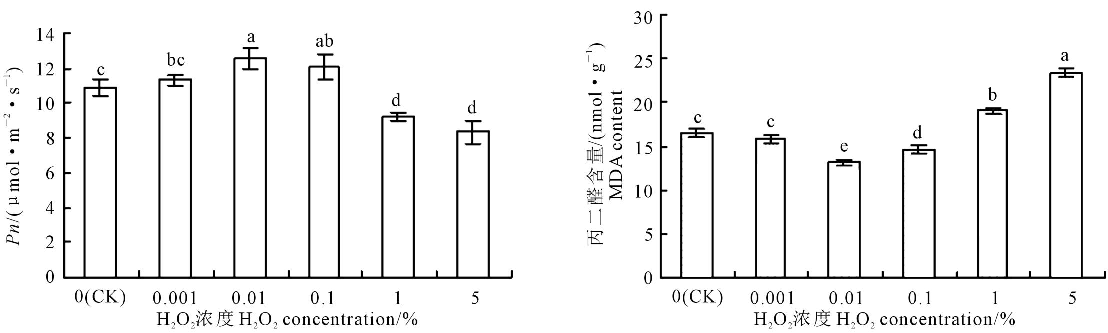


图 2　不同浓度 H_2O_2 对 PEG(17.8%)模拟干旱胁迫下裸燕麦幼苗叶片净光合速率和丙二醛含量的影响

Fig.2　Effects of different concentrations of H_2O_2 on net photosynthetic rate and MDA content in leaves of naked oat seedlings under PEG (17.8%) drought stress

表 1　外源 H_2O_2 对干旱胁迫下裸燕麦幼苗叶片光合色素含量的影响/($mg \cdot g^{-1}$)

Table 1　Effect of exogenous H_2O_2 on the photosynthetic pigments content in leaves of *Avena nuda* L. seedlings under drought stress

处理 Treatment	叶绿素 a Chlorophyll a	叶绿素 b Chlorophyll b	叶绿素(a+b) Chlorophyll (a+b)	叶绿素 a/b Chlorophyll a/b	类胡萝卜素 Carotenoid
CK	1.937±0.008a	0.533±0.002a	2.470±0.006a	3.634±0.028b	0.425±0.012a
H_2O_2	1.950±0.028a	0.534±0.005a	2.484±0.033a	3.651±0.023b	0.419±0.006a
PEG	1.265±0.004c	0.366±0.005c	1.632±0.007c	3.454±0.037c	0.251±0.007c
H_2O_2+PEG	1.581±0.003b	0.421±0.005b	2.002±0.006b	3.758±0.041a	0.331±0.013b

注：同列不同字母表示处理间在 $P<0.05$ 水平差异显著，下同。

Note: Values followed by different letter within a column are significantly different among treatments at $P<0.05$ based on the SSR test. The same below.

2.3　外源 H_2O_2 对干旱胁迫下裸燕麦幼苗叶片光合参数的影响

从表 2 可见，与 CK 相比，干旱胁迫下裸燕麦叶片 *Pn*、*Gs* 和 *Tr* 显著降低，降幅分别为 32.9%、41.3% 和 37.8%；*Ci* 提高 13.7%，差异显著；*WUE* 略有提高，但差异不显著。外施 H_2O_2 处理显著提高了干旱胁迫下的 *Pn*、*Gs* 和 *Ci*，增幅分别为 20.6%、25.9% 和 12.0%，*Tr* 降低 9.7%，*WUE* 升高 33.8%。单一 H_2O_2 处理与 CK 相比除 *Gs* 明显降低外，对 *Pn*、*Tr*、*Ci* 和 *WUE* 无显著影响。

2.4　外源 H_2O_2 对干旱胁迫下裸燕麦幼苗叶片活性氧产生和膜脂过氧化的影响

表 3 显示，PEG 处理的裸燕麦叶片 $O_2^{\overline{\cdot}}$、H_2O_2、MDA 含量和细胞膜相对透性分别比 CK 提高了 2.25、3.59、2.13 倍和 0.99 倍，而 H_2O_2+ PEG 处理的 $O_2^{\overline{\cdot}}$、H_2O_2、MDA 含量和细胞膜相对透性分别比 PEG 处理降低了 29.3%、38.4%、19.7% 和 14.2%，差异显著。单一 H_2O_2 处理与 CK 相比 $O_2^{\overline{\cdot}}$、MDA 含量和细胞膜相对透性

无显著差异,但 H_2O_2 含量提高了 33.5%。

2.5 外源 H_2O_2 对干旱胁迫下裸燕麦幼苗叶片抗氧化防御系统的影响

表 4 表明,与 CK 相比,PEG 处理的裸燕麦幼苗叶片 SOD 和 POD 活性分别提高了 93.0%和 30.6%,CAT、APX 活性和 GSH 含量分别降低了 57.8%、57.6%和 24.7%,ASA 含量变化不大; H_2O_2+ PEG 处理与 PEG 处理相比,SOD、POD 活性分别下降了 21.5%和 60.4%,CAT、APX 活性和 ASA 含量分别提高了 113.5%、102.9%和 13.8%,差异均达显著水平,而 GSH 含量没有显著差异。单一 H_2O_2 处理与 CK 相比,显著降低了 CAT、POD 和 APX 活性及 GSH 含量,降幅分别为 19.6%、27.2%、27.8%和 35.4%,ASA 含量提高了 9.4%,差异达显著水平,SOD 活性则变化不大。

2.6 外源 H_2O_2 对干旱胁迫下裸燕麦幼苗叶片渗透调节物质含量的影响

由表 5 可知,与 CK 相比,PEG 处理下裸燕麦幼苗叶片可溶性蛋白质含量降低了 16.1%,而可溶性糖、游离氨基酸和脯氨酸含量分别提高了79.9%、51.0%和 23.9%。H_2O_2+ PEG 处理与 PEG 处理相比,可溶性蛋白质、可溶性糖、游离氨基酸和脯氨酸含量分别提高了 10.5%、40.3%、13.8%和17.2%,差异显著。单一 H_2O_2 处理的可溶性蛋白质和可溶性糖含量与 CK 差异不显著,游离氨基酸和脯氨酸含量分别提高了 34.9%和 29.5%。

表 2 外源 H_2O_2 对干旱胁迫下裸燕麦幼苗叶片光合气体交换参数的影响

Table 2 Effect of exogenous H_2O_2 on photosynthetic gas exchange parameters in leaves of *Avena nuda* L. seedlings under drought stress

处理 Treatment	净光合速率 *Pn* /(μmol·m^{-2}·s^{-1})	气孔导度 *Gs* /(mmol·m^{-2}·s^{-1})	蒸腾速率 *Tr* /(mmol·m^{-2}·s^{-1})	胞间 CO_2 浓度 *Ci* /(μmol·mol^{-1})	水分利用效率 *WUE* /(μmol· mmol^{-1})
CK	15.27±0.201a	0.46±0.026a	3.47±0.021a	222.56±5.541c	4.40±0.055b
H_2O_2	16.32±2.171a	0.42±0.010b	3.47±0.025a	221.45±2.584c	4.70±0.654b
PEG	10.25±0.083c	0.27±0.015d	2.16±0.020b	253.00±7.477b	4.74±0.051b
H_2O_2+PEG	12.36±0.220b	0.34±0.015c	1.95±0.020c	283.40±4.137a	6.34±0.178a

表 3 外源 H_2O_2 对干旱胁迫下裸燕麦幼苗叶片 O_2^-、H_2O_2、丙二醛含量和细胞膜相对透性的影响

Table 3 Effect of exogenous H_2O_2 on the O_2^-, H_2O_2, MDA contents and relative plasma permeability in leaves of *Avena nuda* L. seedlings under drought stress

处理 Treatment	超氧阴离子含量 O_2^- content /(nmol·g^{-1})	过氧化氢含量 H_2O_2 content/(μmol·g^{-1})	丙二醛含量 MDA content/(nmol·g^{-1})	细胞膜相对透性 Relative plasma permeability/%
CK	3.79±0.13c	5.80±0.42d	5.31±0.25c	26.53±1.14c
H_2O_2	3.27±0.04c	7.74±0.97c	5.60±0.28c	27.93±1.88c
PEG	12.32±1.22a	26.63±1.13a	16.60±1.21a	52.73±0.91a
H_2O_2+PEG	8.70±0.97b	16.42±0.23b	13.33±0.71b	45.23±0.91b

表 4 外源 H_2O_2 对干旱胁迫下裸燕麦幼苗叶片中抗氧化防御系统的影响

Table 4. Effect of exogenous H_2O_2 on the antioxidant defense system in leaves of *Avena nuda* L. seedlings under drought stress

处理 Treatment	SOD 活性 SOD activity /(U·g^{-1})	CAT 活性 CAT activity /(U·g^{-1})	POD 活性 POD activity /(U·g^{-1})	APX 活性 APX activity /(U·g^{-1})	ASA 含量 ASA content /(mg·g^{-1})	GSH 含量 GSH content /(mg·g^{-1})
CK	133.2±4.07c	8.08±0.38a	12.25±0.66b	8.24±0.28a	1.40±0.07bc	0.55±0.05a
H_2O_2	135.4±3.95c	6.50±0.90b	8.92±0.63c	5.83±0.38b	1.53±0.04a	0.36±0.04c
PEG	257.1±6.80a	3.41±0.14c	16.00±0.43a	3.49±0.64c	1.32±0.09c	0.41±0.01b
H_2O_2+PEG	201.7±3.42b	7.28±0.87ab	6.33±0.29d	7.08±1.13ab	1.51±0.02ab	0.43±0.02b

表 5 外源 H_2O_2 对干旱胁迫下裸燕麦幼苗叶片渗透调节物质含量的影响

Table 5 Effect of exogenous H_2O_2 on the osmotic regulation substance content in leaves of *Avena nuda* L. seedlings under drought stress

处理 Treatment	可溶性蛋白质 Soluble protein/(mg·g^{-1})	可溶性糖 Soluble sugar/(mg·g^{-1})	游离氨基酸 Free amino acid/(mg·g^{-1})	脯氨酸 Proline/(μg·g^{-1})
CK	48.29±1.410a	3.39±0.215c	1.511±0.052d	151.3±10.89c
H_2O_2	47.55±2.835ab	3.55±0.261c	2.038±0.030c	196.0±0.76b
PEG	40.52±0.930c	6.10±0.291b	2.282±0.139b	187.5±4.72b
H_2O_2+PEG	44.77±0.946b	8.56±0.194a	2.596±0.032a	219.8±7.81a

2.7　外源 H_2O_2 对干旱胁迫下裸燕麦幼苗生长和植株相对含水量的影响

表 6 表明，PEG 处理与 CK 相比，裸燕麦幼苗株高、根长、鲜重、干重和相对含水量分别降低了 23.8%、27.7%、30.6%、26.1%和 17.0%。与 PEG 处理相比，H_2O_2+ PEG 处理的裸燕麦幼苗株高、根长、鲜重、干重和相对含水量分别提高了 14.8%、25.0%、20.1%、11.0%和 5.93 %，差异显著。单一 H_2O_2 处理的上述指标与 CK 相比均无显著差异。

3　讨　论

3.1　外源 H_2O_2 对干旱胁迫下裸燕麦幼苗活性氧代谢的影响

Ahmed 等[23]研究表明，干旱会诱导植物 O_2^- 和 H_2O_2 等活性氧大量积累，造成细胞膜系统损伤。抗氧化防御系统在燕麦抵御干旱诱导的活性氧伤害中发挥着重要作用[4-5]，其中 SOD 催化 O_2^- 发生歧化反应生成 H_2O_2 和 O_2，H_2O_2 进一步被 CAT、POD 和 APX 等协同催化生成 H_2O，而 ASA 和 GSH 直接或通过 ASA-GSH 循环途径参与 H_2O_2 的清除[24]。高浓度的 H_2O_2 会对细胞产生伤害作用，但低浓度的 H_2O_2 作为信号分子参与植物抵御氧化伤害过程中生理代谢的调节[6]，能够诱导抗氧化防御机制的建立[9]。据报道，外源 H_2O_2 处理能够增加还原型谷胱甘肽含量和胁迫蛋白表达减轻低温胁迫对绿豆和盐胁迫对小麦幼苗的氧化损伤[25-26]，并通过诱导抗氧化酶活性提高增强水稻的耐盐性[27]和缓解干旱胁迫对黄瓜叶绿体膜的伤害[8]。本试验表明，外源 H_2O_2 能够有效抑制 PEG 模拟的干旱胁迫下裸燕麦幼苗叶片 O_2^- 和 H_2O_2 含量的提高，降低膜脂氧化产物 MDA 积累和细胞膜透性增大。说明外源 H_2O_2 能够缓解干旱胁迫诱导的活性氧积累对裸燕麦细胞膜脂的氧化伤害。干旱胁迫下，裸燕麦幼苗通过提高叶片 SOD 和 POD 活性增强抗氧化防御能力，但 CAT 和 APX 活性及 GSH 含量的下降可能造成了 O_2^-、H_2O_2 的显著提高及膜脂的氧化损伤；外源 H_2O_2 预处理明显降低了干旱胁迫下裸燕麦幼苗叶片的 SOD 和 POD 活性，提高了 CAT、APX 活性及 ASA 含量（表 4），这与外源 H_2O_2 可提高受旱小麦叶片 SOD、CAT、POD 活性和 ASA、GSH 含量[28]及干旱胁迫下黄瓜叶片 SOD、CAT、POD、APX、MDHAR、GR 活性及 ASA 和 GSH 含量[8]来降低幼苗活性氧和 MDA 含量的结果类似。表明外源 H_2O_2 处理能通过 CAT、APX 活性及 ASA 含量提高来降低活性氧的积累，从而缓解干旱胁迫对裸燕麦幼苗的氧化伤害。外源 H_2O_2 能够提高干旱胁迫下裸燕麦幼苗 CAT、APX 活性的原因可能与它能够上调其编码基因表达有关[10]，而 SOD 和 POD 活性下降可能是 H_2O_2 降低干旱条件下 O_2^- 和 H_2O_2 积累后其诱导作用降低所致。

表 6　外源 H_2O_2 对干旱胁迫下裸燕麦幼苗生长和植株相对含水量的影响

Table 6　Effect of exogenous H_2O_2 on the growth and relative water content of *Avena nuda* L. seedlings under drought stress

处理 Treatment	株高/cm Plant height	根长/cm Root length	鲜重/(mg・株$^{-1}$) Fresh weight/(mg・plant^{-1})	干重/(mg・株$^{-1}$) Dry weight/(mg・plant^{-1})	相对含水量/% Relative water content
CK	21.20±0.546a	17.16±0.875a	927.4±6.67a	81.33±1.072a	93.47±0.636a
H_2O_2	21.32±0.929a	17.66±0.580a	933.2±3.07a	82.20±1.158a	93.12±0.210a
PEG	16.15±0.247c	12.40±1.008c	643.7±7.03c	60.09±1.491c	76.49±0.832c
H_2O_2+PEG	18.54±0.414b	15.50±0.342b	772.9±7.45b	66.67±1.072b	82.42±1.032b

3.2　外源 H_2O_2 对干旱胁迫下裸燕麦幼苗渗透调节物质含量的影响

积累可溶性蛋白质、可溶性糖和脯氨酸等渗透调节物质是燕麦适应干旱胁迫的重要特征[4]。张波等[29]研究表明，外源 H_2O_2 能够提高盐胁迫下叶片可溶性糖和 GSH 含量，从而增强小麦幼苗耐盐性。本研究结果显示，PEG 模拟的干旱胁迫下裸燕麦幼苗主要通过增加可溶性糖、游离氨基酸和脯氨酸积累来加强渗透调节，外源 H_2O_2 能够提高干旱胁迫下裸燕麦叶片的可溶性蛋白质、可溶性糖、游离氨基酸和脯氨酸含量。这与外源 H_2O_2 可提高 NaCl 胁迫下燕麦叶片可溶性蛋白质、可溶性糖和脯氨酸含量的结果一致[15]。表明外源 H_2O_2 能够通过提高幼苗叶片的可溶性蛋白质、可溶性糖、游离氨基酸和脯氨酸含量来增强受旱裸燕麦的渗透调节能力。外源 H_2O_2 提高干旱胁迫裸燕麦幼苗游离氨基酸和可溶性蛋白质含量的原因一方面可能与 H_2O_2 能够增强逆境下胁迫蛋白[26]和抗氧化酶基因表达[10,27]有关；另一方面可能是 H_2O_2 作为胁迫信号介导外源水杨酸促进了干旱胁迫下幼苗对氮素的吸收与同化，从而提高了总氮、游离氨基酸和可溶性蛋白质的积累[30]。H_2O_2 能够提高干旱胁迫下裸燕麦可溶

性糖含量可能是因为 H_2O_2 提高了抗氧化防护后有效保护了干旱诱导的活性氧对细胞膜系统的伤害，从而提高了光合色素含量（表 1）和光合速率（表 2），使糖类物质得到积累。脯氨酸不仅是细胞内重要的渗透调节物质，还具有稳定细胞膜系统和生物大分子及降低细胞酸性和清除活性氧的功能，脯氨酸水平的高低通常与细胞承受的胁迫程度呈正相关[31]。外源 H_2O_2 提高受旱裸燕麦叶片脯氨酸含量的原因可能与 H_2O_2 能够激活鸟氨酸-δ-氨基转移酶和 Δ^1-吡咯啉-5-羧酸合成酶活性，抑制脯氨酸脱氢酶活性有关[16]。

3.3 外源 H_2O_2 对干旱胁迫下裸燕麦幼苗光合作用和植株生长的影响

干旱胁迫下，植物水分代谢失调导致叶绿体膜结构遭到破坏[8]，叶绿素含量和光合速率降低[3]，植株生长受到抑制[5]。邱宗波等[32]研究发现，激光预处理可通过诱导内源 H_2O_2 产生提高受旱小麦光合色素含量和促进植株生长发育。廖伟彪等报道[33]，外源 H_2O_2 可提高 3 种萱草（*Hemerocallis*）的叶片相对含水量和气孔密度，降低气孔开度。Feng 等[34]认为内源 H_2O_2 通过提高叶片的抗氧化能力增强了小麦的抗旱性，而 Ishibashi 等[35]得出喷施 H_2O_2 提高干旱胁迫下大豆叶片含水量是由 H_2O_2 促进低聚糖生物合成而非气孔快速关闭所致。本研究表明，外源 H_2O_2 可以缓解干旱胁迫下裸燕麦叶片光合色素含量的降幅，并提高叶绿素 a/b 和类胡萝卜素含量。叶绿素 a/b 反映类囊体的垛叠程度，垛叠程度越高，光抑制作用越弱；类胡萝卜素具有提高光合效率、吸收剩余光能和清除活性氧的作用[36]。推测外源 H_2O_2 有助于保护受旱裸燕麦叶绿体膜结构的稳定性，这与外源 H_2O_2 通过提高抗氧化酶活性保护干旱胁迫下黄瓜叶绿体超微结构的结果一致[8]。叶绿体膜结构稳定性的维持使干旱胁迫下裸燕麦幼苗光能吸收和转化效率提高，从而有效提高了叶片的 *Pn*。*Pn* 的提高会增强植株光合产物的积累，促进植株生长。外源 H_2O_2 显著促进干旱胁迫下裸燕麦植株生长和生物量积累（表 6）表明，外源 H_2O_2 能够增强裸燕麦幼苗的耐旱性。

干旱胁迫通过气孔和非气孔因素使光合作用受到抑制，前者 *Ci* 下降，后者 *Ci* 提高[37]。本研究中，干旱胁迫导致裸燕麦叶片 *Pn* 和 *Gs* 同步下降，*Ci* 显著提高，说明 *Pn* 下降主要不是由 *Gs* 降低所致，而可能是由于非气孔因素阻碍了 CO_2 的利用。类囊体垛叠程度降低（叶绿素 a/b 下降，表 1）反映的叶绿体超微结构破坏也佐证了这一点。外源 H_2O_2 提高受旱裸燕麦叶片 *Pn*、*Gs* 和 *Ci* 说明 H_2O_2 主要通过保护叶绿体结构、增加 *Gs* 促进 *Pn* 的提高。水分利用效率（*WUE*）提高是植物耐旱性增强的重要途径。外源 H_2O_2 处理使干旱胁迫下裸燕麦叶片 WUE 显著提高，其原因可能包括两个方面：一方面外源 H_2O_2 提高了干旱胁迫下叶片的 *Pn*，降低了 *Tr*，叶片蒸腾量减少，从而提高了 *WUE*；另一方面外源 H_2O_2 提高了干旱胁迫下可溶性糖和脯氨酸等渗透调节物质含量，增强了细胞保水能力，从而提高了叶片相对含水量，使 *WUE* 增大。综上所述，外源 H_2O_2 在维持干旱胁迫下裸燕麦叶片气孔开放、提高叶片碳同化能力及水分利用效率方面发挥着重要作用。然而，外源 H_2O_2 对干旱胁迫下植物光能吸收、传递、耗散和分配的影响机制尚需进一步探究。需要指出的是本研究是在营养不受限的条件下采用盆栽试验以 PEG 模拟的干旱胁迫下白燕 7 号这一裸燕麦单一品种对外源 H_2O_2 的生理响应特征，试验条件与大田实际的生产条件有较大差异。因此，还需进一步采用大田控水试验探讨外源 H_2O_2 对不同抗旱性裸燕麦品种生理响应的调控机理。

参 考 文 献：

[1] 林叶春，曾昭海，任长忠，等. 局部根区灌溉对裸燕麦光合特征曲线及叶绿素荧光特性的影响[J]. 作物学报，2012，38(6)：1062-1070.

[2] Li C Y, Fang B, Yang C W, et al. Effects of various salt-alkaline mixed stresses on the state of mineral elements in nutrient solutions and the growth of alkali resistant halophyteChloris virgata [J]. Journal of Plant Nutrition, 2009, 174(32):1137-1147.

[3] 林叶春，曾昭海，郭来春，等. 裸燕麦不同生育时期对干旱胁迫后复水的响应[J]. 麦类作物学报，2012，32(2)：284-288.

[4] 刘建新，王金成，王瑞娟，等. 干旱胁迫下一氧化氮对燕麦幼苗生长和生理特性的影响[J]. 中国草地学报，2015，37(2)：41-45.

[5] 胡廷会，李立军，李杨，等. 结瘤因子和苏芸金菌素对干旱胁迫下燕麦产量及其保护酶活性的影响[J]. 西北植物学报，2013，33(12)：2451-2458.

[6] Neill S J, Desikan R, Clarke A, et al. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signaling molecules in plants [J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53(372):1237-1247.

[7] Bright J, Desikan R, Hancock J T, et al. ABA-induced NO generation and stomatal closure in Arabidopsis are dependent on H_2O_2 synthesis [J]. Plant Journal, 2006, 45(1): 113-122.

[8] 刘忠静，郭延奎，林少航，等. 外源过氧化氢对干旱胁迫下温室黄瓜叶绿体超微结构和抗氧化酶的影响[J]. 园艺学报，2009，36(8)：1140-1146.

[9] Andre-Diasde A N, Jose-Tarquinio P, Joaquim E F, et al. Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt stress acclimation in maize plants [J]. Journal of Plant Physiology, 2005, 162(10):1114-1122.

[10] 李希东, 侯丽霞, 刘新, 等. H_2O_2与葡萄 $VvIPK_2$基因表达及其低温胁迫响应的关系[J]. 园艺学报, 2011, 38(6): 1052-1062.

[11] 白晓娟, 刘丽娟, 张春华, 等. H_2O_2预处理对不同水稻品种 Cd 耐性的影响[J]. 中国水稻科学, 2010, 24(4): 391-397.

[12] 夏方山, 王婷婷, 董秋丽, 等. 外源 H_2O_2处理对燕麦种子活力的影响[J]. 草业学报, 2018, 27(3): 201-207.

[13] 刘建新, 刘秀丽, 王金成, 等. Ca^{2+}参与 H_2O_2促进盐碱混合胁迫下燕麦种子的萌发和成苗[J]. 植物研究, 2017, 37(6): 855-860, 869.

[14] 刘建新, 王金成, 王瑞娟, 等. 燕麦幼苗对盐胁迫的响应及过氧化氢对响应的调节[J]. 生态学杂志, 2015, 34(9): 2506-2511.

[15] 刘建新, 王金成, 王瑞娟, 等. 外源过氧化氢提高燕麦耐盐性的生理机制[J]. 草业学报, 2016, 25(2): 216-222.

[16] 刘建新, 王金成, 刘秀丽, 等. 外源 H_2O_2对混合盐碱胁迫下燕麦幼苗叶片脯氨酸积累和代谢途径的影响[J]. 植物研究, 2016, 36(3): 427-433.

[17] 刘建新, 王金成, 刘秀丽, 等. 碱胁迫下燕麦幼苗对外源过氧化氢的生理响应[J]. 麦类作物学报, 2017, 37(10): 1383-1389.

[18] 刘建新, 欧晓彬, 王金成, 等. 过氧化氢提高燕麦幼苗耐碱性的活性氧代谢和渗透调节[J]. 草业学报, 2018, 27(2): 97-104.

[19] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006:74-222.

[20] Sergiev I, Alexieva V, Karanov E. Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants [J]. Comptes Rendus de I' Academie Bulgare des Sciences, 1997, 51(2):121-124.

[21] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2002: 68-77.

[22] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2000: 184-261.

[23] Ahmed C B, Rouina B B, Sensoy S, et al. Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes [J]. Environmental and Experimental Botany, 2009, 67(2):345-352.

[24] Gao Y, Guo Y K, Lin S H, et al. Hydrogen peroxide pretreatment alters the activity of antioxidant enzymes and protects chloroplastultrastructure in heat-stressed cucumber leaves [J]. Scientia Horticulturae, 2010, 126(1):20-26.

[25] Yu C W, Murphy T M, Lin C H. Hydrogen peroxide-induced chilling tolerance in mung beans mediated through ABA-independent glutathione accumulation [J]. Functional Plant Biology, 2003, 30(9): 955-963.

[26] Abdul W, Mubaraka P, Sadia G, et al. Pretreatment of seed with H_2O_2 improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins [J]. Journal Plant Physiology, 2007, 164(3):283-294.

[27] Uchida A, Jagendorf A T, Hibino T, et al. Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice [J].Plant Science, 2002, 163(3):515-523.

[28] 邱宗波, 孙立, 李金亭, 等. 外源过氧化氢对小麦水分胁迫伤害的防护作用研究[J]. 植物研究, 2010, 30(3): 294-298.

[29] 张波, 张怀刚. 外源 H_2O_2对小麦幼苗耐盐性的调节作用[J]. 西北植物学报, 2007, 27 (12): 2491-2495.

[30] 郝敬虹, 易旸, 尚庆茂, 等. 水杨酸处理对干旱胁迫下黄瓜幼苗氮素同化及其关键酶活性的影响[J]. 园艺学报, 2012, 39(1): 81-90.

[31] Monreal J A, Jiménez E T, Remesal E, et al. Proline content of sugar beet storage roots: Response to water deficit and nitrogen fertilization at field conditions [J]. Environmental and Experimental Botany, 2007, 60(2):257-267.

[32] 邱宗波, 史静, 张梦梦, 等. 过氧化氢在 CO_2激光预处理提高小麦耐旱性中的作用[J]. 中国激光, 2010, 37(8): 2170-2176.

[33] 廖伟彪, 张美玲. 外源过氧化氢和脱落酸对 3 种萱草抗旱性的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2013, 31(3): 173-177.

[34] Feng H, Duan J, Li H, et al. Alternative respiratory pathway under drought is partially mediated by hydrogen peroxide and contributes to antioxidant protection in wheat leaves [J]. Plant Production Science, 2008, 11(1):59-66.

[35] Ishibashi Y, Yamaguchi H, Yuasa T, et al. Hydrogen peroxide spraying alleviates drought stress in soybean plants [J]. Journal of Plant Physiology, 2011, 168(13):1562-1567.

[36] 胡梦芸, 李辉, 张颖君, 等. 水分胁迫下葡萄糖对小麦幼苗光合作用和相关生理特性的影响[J]. 作物学报, 2009, 35(4): 724-732.

[37] 赵莹, 杨克军, 赵长江, 等. 外源糖调控玉米光合系统和活性氧代谢缓解盐胁迫[J]. 中国农业科学, 2014, 47(20): 3962-3972.