

低空气湿度对小麦气孔特性的影响

余耀^{1,*}, 王俊斌^{1,2,*}, 丁博¹, 吴天文¹, 余鹏¹, 任柏林¹, 谢晓东^{1,**}

天津农学院¹天津-布里斯托环境变化对农作物影响研究中心,²基础科学学院, 天津300384

摘要: 以小麦为研究材料, 借助精密环控舱系统、红外热成像仪和光合仪, 通过测定叶片温度、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(T_r)、胞间 CO_2 浓度(C_i)和光合速率(P_n)等指标, 研究空气湿度改变对小麦气孔特性的影响。结果表明: 降低空气湿度后, 小麦的叶温比(叶片温度/环境温度)在最初的10 min内迅速降低, 此后小幅度上升并逐渐达到稳定, 而 G_s 、 T_r 、 C_i 和 P_n 的变化趋势则相反, 叶温比适于植物气孔应答空气湿度的研究。与高空气湿度条件相比, 离体小麦叶片在低空气湿度下的失水率显著升高, 表明空气湿度可显著影响小麦气孔的运动状态。

关键词: 小麦; 气孔特性; 叶温比; 空气湿度; 红外热成像

Effect of Low Atmospheric Humidity on Stomatal Features in Wheat

YU Yao^{1,*}, WANG Jun-Bin^{1,2,*}, DING Bo¹, WU Tian-Wen¹, YU Peng¹, REN Bo-Lin¹, XIE Xiao-Dong^{1,**}

¹Tianjin-Bristol Research Center for the Effects of the Environment Change on Crops, ²College of Basic Sciences, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China

Abstract: Stomatal response to changes in low atmospheric humidity was studied in wheat (*Triticum aestivum*). Leaf temperature, stomatal conductance (G_s), transpiration rate (T_r), intercellular CO_2 concentration (C_i) and net photosynthetic rate (P_n) were investigated by the precisely controlled environmental chamber, infrared thermal camera and photosynthetic analyzer. The results showed that the temperature ratio (leaf temperature/environmental temperature) rapidly declined within 10 min after low humidity treatment, and then rose slightly till a plateau level, while G_s , T_r , C_i , and P_n responded conversely. Hence, leaf temperature ratio can be used to monitor wheat stomatal movement under low atmospheric humidity. Water loss of detached wheat leaves under reduced humidity was significantly higher than that under high humidity, indicating wheat stomatal movement is closely related to the condition of air atmospheric humidity.

Key words: wheat; stomatal features; leaf temperature ratio; air atmospheric humidity; infrared thermography

干旱是严重影响农业生产的非生物胁迫因素之一。除了土壤干旱, 大气干旱也是植物受到水分胁迫的主要原因。由于空气湿度降低, 植物蒸腾强烈, 水分平衡失调, 叶片萎蔫, 对生长、发育和结实造成严重的不良影响(黄迪等2012; 李卫民等2008; 薛义霞等2010)。大气干旱(地上水分胁迫因子)和土壤干旱(地下水分胁迫因子)诱导的胁迫信号产生的原初部位不同, 其生理和分子机制方面的差别仍需进一步研究(张岁岐等2001)。

气孔由成对的保卫细胞包围而成, 是植物与外界进行气体和水分交换的通道, 直接影响光合作作用和蒸腾作用(Schroeder等2001)。保卫细胞能够非常灵敏地感知环境变化, 通过改变细胞膨压、调整气孔开度来应答环境的变化, 有利于最大程度地进行光合作用而使蒸腾失水达到最小化。这对于植物减少水分损失和更好地适应环境

具有重要意义(Hetherington和 Woodward 2003)。大多数禾本科植物的保卫细胞为哑铃型, 而双子叶植物和一些单子叶植物的保卫细胞为肾形。哑铃形保卫细胞对环境条件的响应比肾形保卫细胞更敏感。

气孔的开闭状态和水分情况密切相关。人们很早就观察到降低空气湿度会使气孔关闭, 而提高空气湿度会使气孔开放(Darwin 1898; Lange等1971)。气孔对大气湿度的响应是植物水分利用效

收稿 2015-08-10 修定 2015-09-30

资助 天津市国家级大学生创新创业训练计划项目(20141006-1055)、天津市高等学校科技发展基金计划项目(2013-0606)、天津市科委应用基础与前沿技术研究计划项目(14JCYBJC30600)、天津市高校创新团队培养计划(TD12-5017)、天津市学科领军人才计划和天津市131人才工程。

* 共同第一作者。

** 通讯作者(E-mail: xiex@tjau.edu.cn; Tel: 022-23798697)。

率和环境水循环的重要决定因素之一,也是研究植物应对全球环境变化的关键环节(Mott和Peak 2013)。通过对拟南芥和蚕豆等模式植物的研究,已经掌握了气孔响应环境变化的一些规律(Hetherington和Woodward 2003; 高春娟等2012)。小麦是典型的禾本科植物和世界上最主要的粮食作物之一,在其生育期内,经常遇到土壤干旱、空气干燥等水分胁迫,严重影响产量和品质。但目前对小麦气孔功能及其逆境应答的研究还很有限(魏琳等2015)。

本研究从生理水平解析小麦应答低空气湿度过程中气孔调节的作用,并对气孔导度(G_s)与叶片温度、蒸腾速率(T_r)、胞间 CO_2 浓度(C_i)和光合速率(P_n)等方面之间的关系进行探究,同时鉴定气孔在低湿度条件下调节植物水分散失的功能,初步阐明小麦气孔运动与空气湿度的关系,以期深入理解植物气孔应答逆境胁迫的作用机理,为小麦抗旱育种提供有应用价值的参考指标。本研究结

果也有助于理解小麦气孔响应低空气湿度的生理基础,并为其他禾本科作物气孔研究提供参考。

材料与方法

1 实验材料

供试材料为普通六倍体小麦(*Triticum aestivum* L.)品种‘豫18’,由天津-布里斯托环境变化对农作物影响研究中心保存。选取均匀饱满的小麦籽粒,用75%的乙醇消毒1 min,无菌水充分冲洗3~5次,放在有多层湿润滤纸的培养皿中于4 °C冰箱避光层积处理24 h。然后在昼/夜温度为25 °C/20 °C条件下培养2 d后,移栽到含有蛭石和营养土(1:1)的小盆中,培养条件为:16 h光照8 h黑暗,昼/夜温度为25 °C/20 °C,相对湿度50%。以两叶一心期的小麦为实验材料。

2 精密环控舱

精密环控舱(图1,专利号:200930279289.5)由环境控制系统(下半部分)和植物处理室(上半部分)

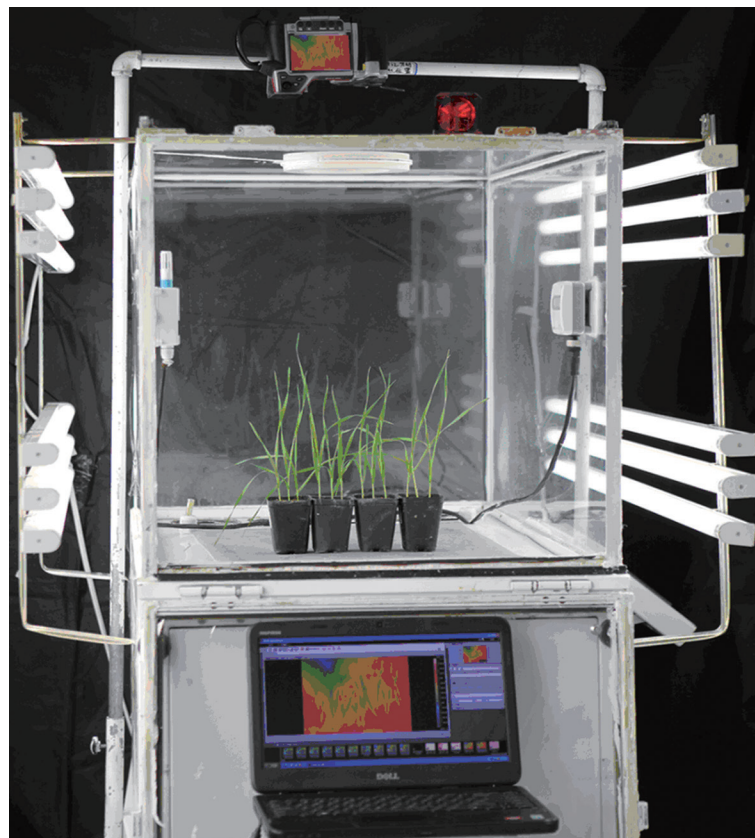


图1 精密环控舱

Fig.1 The precisely controlled environmental chamber

组成。通过智能控制面板设定植物处理室的目标环境参数, 由环境控制系统实现湿度(20%~80%)、温度(10~50 °C)和CO₂浓度(100~1 000 mg·L⁻¹)三项参数的精确调节。当植物放入植物处理室后关闭舱门, 整个植物处理室处于密闭状态。红外热成像仪(FLIR Systems, T400型)通过镶嵌在植物处理室顶部的锗材料窗口实时监测舱内植物叶片温度变化。

3 湿度处理方法

通过环控舱设定界面对目标参数进行设定: 温度为25 °C, CO₂浓度为400 mg·L⁻¹, 湿度为70%。稳定运行10 min后, 将目标湿度更改为20%, 其余目标参数值不变。通过电脑中与红外热像仪配套FLIR R&D软件调整热像仪对植物进行连续拍照, 间隔时间为1 min。在叶片上均匀选取30个点测量温度, 求平均值作为该时刻叶片温度, 文中的温度比值是指叶片温度/环控舱温度, 以抵消环控舱中环境温度导致的误差。用舱内当前湿度除以初始湿度得出湿度比值。

4 采用光合仪测定不同湿度下小麦气体交换参数

G_s 、 T_r 、 C_i 和 P_n 等参数用 CIRAS-2便携式光合系统(PP Systems, 英国)测定。将干旱处理植株于室温及800 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光强下适应30 min, 然后测定气体交换参数。用CIRAS-2的自动控光系统控制光强, 在每个光强下适应5 min。设定参数: 湿度70%, CO₂浓度400 mg·L⁻¹, 温度25 °C, 每10 s记录一次数据。测定10 min后, 将湿度降低到20%, 其他参数不变。

5 不同湿度下小麦离体叶片失水率测定

以两叶一心期小麦为材料, 在温度和湿度可以精确调控的密闭人工气候室内, 分别设定环境湿度为70%和25%, 温度为25 °C。将摄像头对准天平显示屏, 摄像头与电脑连接, 并通过相应软件设置每隔1 min拍照记录数据。快速剪下小麦叶片放到天平上, 记录初始质量并开始计时, 持续记录60 min。通过电脑记录下的每分钟叶片质量来计算小麦叶片失水率(%)=(初始质量-实时质量)/初始质量×100。

实验结果

1 不同空气湿度下小麦叶片温度变化

气孔是叶片与其外界环境进行交流的重要门户和通道, 蒸腾作用也主要通过气孔打开来完成。植物通过气孔蒸腾失水引起叶片表面温度降低, 这意味着气孔开度与叶片温度的趋势相反。红外热成像仪可以检测到叶片表面温度的微小变化(Raskin和Ladyman 1988; Jones 1999)。由图2可以看出, 降低湿度后10 min之内, 叶片温度降低(图2-B)。10 min后, 叶片温度升高并逐渐稳定(图2-C)。图2-D表明, 随着空气湿度下降, 叶温比值也迅速下降, 随后又逐渐上升, 最后达到一个稳定的状态, 与红外热成像图显示的结果一致。这是由于空气湿度降低, 导致细胞表皮水蒸汽压下降, 加快了细胞的失水, 使得保卫细胞、副卫细胞和表皮细胞迅速失水。但是, 表皮细胞比其他细胞更具有机械优势, 使得气孔仍处于短暂打开状态, 叶

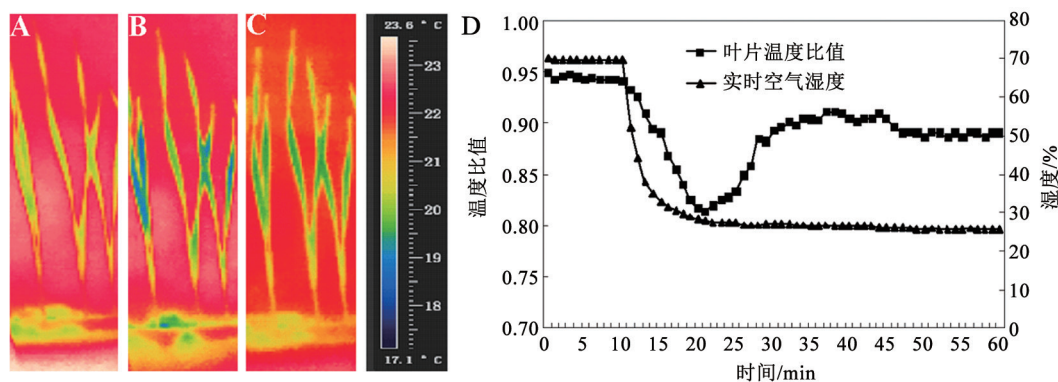


图2 不同空气湿度条件下小麦叶片温度变化

Fig.2 Infrared thermal images of wheat leaves under different atmospheric humidity
A: 70%湿度; B: 25%湿度初期; C: 25%湿度后期; D: 小麦响应低空气湿度叶片温度的变化。

片失水加剧。随着保卫细胞和副卫细胞的代谢调节作用,气孔开度逐渐变小,最后达到一个平衡状态(Meidner 1986; Grantz 1990; Buckley和Mott 2002; Franks和Farquhar 2007)。

2 低湿条件下气孔导度与蒸腾速率的关系

从图3可以看出,降低湿度后, G_s 和 T_r 迅速升高,接着快速下降,最终趋于稳定。 T_r 的迅速上升是由于大气湿度下降,叶片表面水蒸汽压降低,保卫细胞、副卫细胞和表皮细胞失水,但表皮细胞具有韧性,导致气孔保持短暂打开状态,致使 T_r 迅速升高。当植物感应到这种信号后,调节气孔关闭, T_r 下降,其中细胞周围可汽化的水分减少也是 T_r 下降的原因之一。但是气孔关闭会导致 C_i 降低,为了补充 CO_2 ,叶片再次调节气孔打开吸收 CO_2 ,植物通过不断的开闭来实现水分和 CO_2 的供应平衡。因此 G_s 和 T_r 会逐渐调节呈现小幅波动平衡。

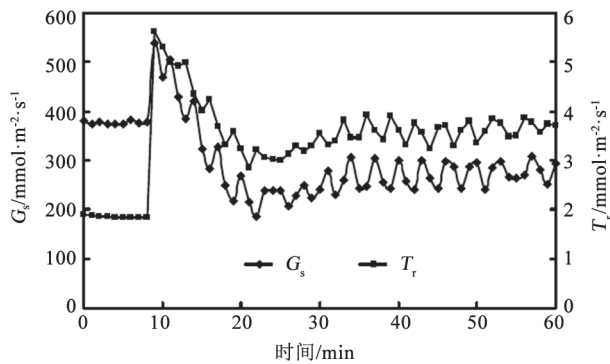


图3 降低湿度后小麦 G_s 与 T_r 的变化

Fig.3 Changes of wheat G_s and T_r in response to low atmospheric humidity

处理时间中前10 min为70%湿度,10 min后为20%湿度。图4、5同。

3 低湿条件下气孔导度与细胞间 CO_2 浓度的关系

从图4可以看出,在10 min时改变条件,使湿度从70%降到20%, G_s 有一个瞬时的上升然后与 C_i 同步下降,在35 min时, G_s 与 C_i 同步趋于平稳波动。在图3中可以看到, T_r 与 G_s 变化趋势也是一致的,进而可以得出 C_i 与 T_r 的变化趋势是一样的。

4 低湿条件下气孔导度与光合速率的关系

由图5可以看出,在湿度为70%的条件下, G_s 比较稳定, P_n 也稳定波动。将湿度降到20%时, G_s 先有一个短暂的快速上升,然后迅速的下降,变化的

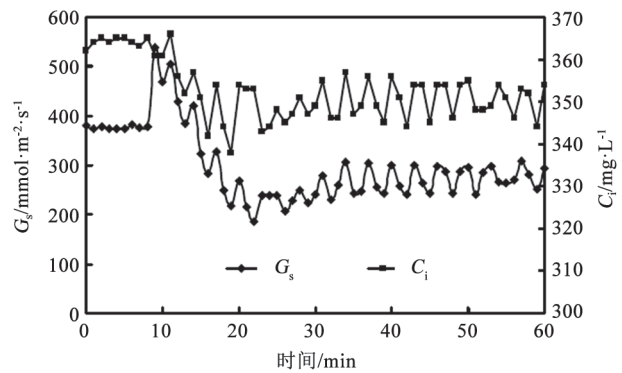


图4 降低湿度后小麦 G_s 与 C_i 的变化

Fig.4 Changes of wheat G_s and C_i in response to low atmospheric humidity

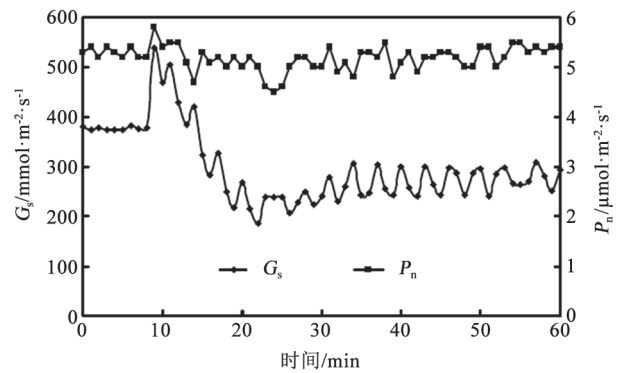


图5 降低湿度后小麦 G_s 与 P_n 的变化

Fig.5 Changes of wheat G_s and P_n in response to low atmospheric humidity

幅度较大并且低于初始值。 P_n 总体变化趋势与 G_s 相似,但是 G_s 的波动幅度更大,与 C_i 的变化趋势更为一致(图4)。

5 不同空气湿度对小麦离体叶片失水率的影响

蒸腾作用是植物叶片水分散失的主要途径,受大气和土壤水分的双重影响。叶片离体后彻底断绝土壤水分供应,因此其失水率主要反映气孔开闭引起的 T_r 的变化。由图6可以看出,降低湿度导致小麦叶片失水率明显高于湿度为70%条件下的失水率。在大气湿度为70%时,离体叶片失水率总体趋势平缓。而在大气湿度为25%时,失水率起始非常快,后逐渐变缓。

讨 论

目前对气孔应答空气湿度的机理研究还没有

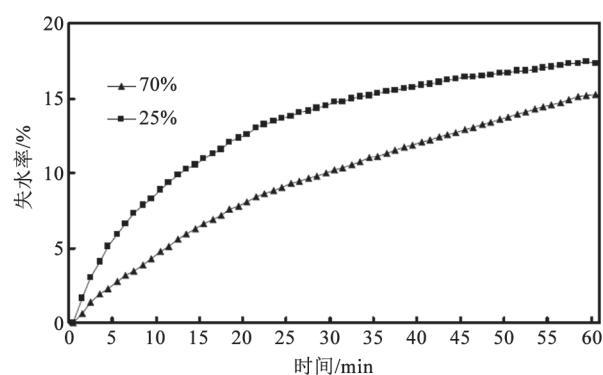


图6 不同空气湿度下的小麦离体叶片失水率动态变化

Fig.6 Dynamic water loss of detached wheat leaves in response to different atmospheric humidity

广泛认可的模型。本研究应用自主发明的精密环控舱系统, 采用红外热成像技术, 并结合光合仪测定小麦气孔响应低湿度的变化规律。前人的不同研究结果分别支持前馈调节和反馈调节, 并构建了不同的数学模型来解释空气湿度改变条件下气孔的运动机制(郭瑶琳等2014; 陈骏和梁宗锁2013)。本研究表明降低空气湿度导致小麦叶片 G_s 降低, T_r 升高(图3), 属于气孔的反馈应答反应。

G_s 是气孔对水蒸汽、 CO_2 等气体的传导度。干旱胁迫引起 G_s 、 T_r 和 C_i 的下降, 显著抑制小麦的 P_n 。干旱胁迫条件下胞间 CO_2 浓度的降低是由 G_s 的下降引起的, 即气孔限制。在改变湿度条件后, 小麦 G_s 与 T_r 、 P_n 、 C_i 的变化一致, 都存在短暂的上升然后下降的趋势。利用水主动反馈假说解释这一变化的可能的原因是: 低空气湿度处理后, 气孔的蒸腾作用增加, 保卫细胞和表皮细胞被动失水, 由于表皮细胞的机械优势, 会出现短暂的气孔被动张开反应, 随后由于保卫细胞主动进行代谢调节, 气孔导度又降低直至达到稳定状态(Meidner 1986; Grantz 1990; Buckley和Mott 2002; Franks和Farquhar 2007; 郭瑶琳等2014)。通过对比分析发现叶温变化曲线与 T_r 曲线是对应的, T_r 加快, 叶片温度降低, T_r 减慢, 叶片温度升高。由此验证了用叶片温度的变化来反映 T_r 是可靠的。蒸腾作用是植物调节水分运输的有效途径, 提高 T_r 可以有效的降低叶片温度。降低大气湿度会增加植物叶片表面水蒸汽压差, 蒸腾失水加快, 植物通过减小气孔开度, 降低水分散失, 提高耐受水分胁迫的能力(Bunce 1998, Bauer等2013a, b)。

植物作为一个活体生命, 有很强的自我调控功能, 当局部组织器官受到胁迫后, 可以协调附近细胞以及输导组织及时进行应对, 以避免或减轻植物整体受到的伤害。采用光合仪对小麦植株一个叶片进行低湿胁迫处理后, G_s 短暂升高, 然后下降, 最后达到平稳状态, 且低于起始 G_s 。在这一过程中, T_r 升高, C_i 略有降低, 但 P_n 没有明显变化。说明尽管 G_s 降低, CO_2 浓度也略有降低, 但是光合作用所需的 CO_2 和水分等都能充分供应, 因而降低空气湿度后 P_n 最后稳定值和低湿度前没有明显差别。降低湿度之前的 CO_2 浓度可能是冗余的。而通过自主研发的精密环控舱系统, 借助红外热像仪可以连续并且非损伤地记录叶片表面温度, 是对整株活体植物的处理, 更接近实际生长情况, 增强了实验结果的可靠性。

农业生产中, 低空气湿度造成的大气干旱和低土壤湿度造成的土壤干旱都会对农作物生长、发育和结实造成严重的不良影响。为了应对干旱胁迫, 小麦调节气孔关闭减少蒸腾水分损失。空气湿度较低造成植物地上部分缺水, 植物必然需要通过根系更多地从土壤中吸收水分应对缺水环境。因此, 低空气湿度下土壤水分供应至关重要。后续的研究中还应结合土壤水分条件进一步研究空气湿度对植物造成的影响。

通过测定叶片表面温度, 结合 G_s 、 T_r 和叶片失水率等指标, 提供了方便的判断不同空气湿度条件下小麦气孔特性的方法。但是, 这些指标应该是叶片气孔开度与气孔密度的综合反映。未来应该进一步研究干旱条件下小麦气孔开度和气孔密度的变化规律, 并阐明二者在小麦响应干旱过程中的贡献。这些研究有助于深入理解植物适应环境的机制, 对农作物的抗逆遗传改良也有重要的实践意义。

参考文献

- 陈骏, 梁宗锁(2013). 气孔导度对空气湿度的反应的数学概括及其可能的机理. 植物生理学报, 49 (3): 241~246
- 高春娟, 夏晓剑, 师恺, 周艳虹, 喻景权(2012). 植物气孔对全球环境变化的响应及其调控防御机制. 植物生理学报, 48 (1): 19~28
- 郭瑶琳, 王俊斌, 丁博, 李明, 陈帅君, 张卫国, 黄国中, 谢晓东(2014). 低空气湿度下气孔运动的调控. 植物生理学报, 50 (8): 1144~1150
- 黄迪, 张佳宝, 张丛志, 李玮(2012). 不同大气湿度与氮肥水平对夏玉米苗期水分利用效率的影响. 玉米科学, 20 (1): 123~127

- 李卫民, 张佳宝, 朱安宁(2008). 空气温湿度对小麦光合作用的影响. 灌溉排水学报, 27 (3): 90~92
- 魏琳, 张卫国, 任柏林, 丁博, 王俊斌, 李明, 陈帅君, 程乔林, 田秀平, 谢晓东(2015). 小麦离体表皮上气孔对若干关键生理因子的应答反应. 植物生理学报, 51 (5): 649~654
- 薛义霞, 李亚灵, 温祥珍(2010). 空气湿度对高温下番茄光合作用及坐果率的影响. 园艺学报, 37 (3): 397~404
- 张岁岐, 李金虎, 山仑(2001). 干旱下植物气孔运动的调控. 西北植物学报, 21 (6): 1263~1270
- Bauer H, Ache P, Wohlfart F, Al-Rasheid, KA, Sonnewald S, Sonnewald U, Kneitz S, Hetherington AM, Hedrich R (2013a). How do stomata sense reductions in atmospheric relative humidity? *Mol Plant*, 6: 1703~1706
- Bauer H, Ache P, Lautner S, Fromm J, Hartung W, Al-Rasheid KA, Sonnewald S, Sonnewald U, Kneitz S, Lachmann N et al (2013b). The stomatal response to reduced relative humidity requires guard cell-autonomous ABA synthesis. *Curr Biol*, 23: 53~57
- Buckley TN, Mott KA (2002). Stomatal water relations and the control of hydraulic supply and demand. *Prog Bot*, 63: 309~325
- Bunce JA (1998). Effects of humidity on short-term responses of stomatal conductance to an increase in carbon dioxide concentration. *Plant Cell Environ*, 21: 115~120
- Darwin F (1898). Observations on stomata. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 190: 531~622
- Grantz DA (1990). Plant response to atmospheric humidity. *Plant Cell Environ*, 13: 667~679
- Franks PJ, Farquhar GD (2007). The mechanical diversity of stomata and its significance in gas-exchange control. *Plant Physiol*, 143: 78~87
- Hetherington AM, Woodward FI (2003). The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature*, 424: 901~908
- Jones HG (1999). Use of thermography for quantitative studies of spatial and temporal variation of stomatal conductance over leaf surfaces. *Plant Cell Environ*, 22: 1043~1055
- Lange OL, Löscher R, Schulze ED, Kappen L (1971). Responses of stomata to changes in humidity. *Planta*, 100: 76~86
- Meidner H (1986). Cuticular conductance and the humidity response of stomata. *J Exp Bot*, 37: 517~525
- Mott KA, Peak D (2013). Testing a vapour-phase model of stomatal responses to humidity. *Plant Cell Environ*, 36: 936~944
- Raskin I, Ladyman JAR (1988). Isolation and characterization of a barley mutant with abscisic-acid-insensitive stomata. *Planta*, 173: 73~78
- Schroeder JI, Allen GJ, Hugouvieux V, Kwak JM, Waner D (2001). Guard cell signal transduction. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 52: 627~658