

高温胁迫对葡萄幼树叶绿素荧光特性和抗氧化酶活性的影响

查倩, 奚晓军, 蒋爱丽*, 田益华, 黄健

上海市农业科学院林木果树研究所, 上海201403

摘要: 为了探讨短期和长期高温处理后葡萄生理应答反应, 本研究在人工气候室环境中模拟夏季高温发生时间段(10:00~16:00)对一年生盆栽葡萄‘夏黑’进行25°C、35°C、45°C温度处理, 测定处理6 h时(短期)和150 h时(长期)功能叶片的叶绿素荧光动力学及抗氧化酶活性。结果显示: 在35°C处理6 h时‘夏黑’叶片 Ψ_{E_0} 、 Φ_{E_0} 、 ET_0/RC 显著上升; 45°C处理6 h时‘夏黑’各荧光参数表现出显著性差异, 而在150 h时主要荧光参数恢复至原初水平; 高温处理下‘夏黑’的叶绿素含量和SOD酶活增长趋势较不明显; 35°C/45°C处理均导致抗氧化酶活性POD和CAT以及过氧化物产物MDA(丙二醇)表现出较强的增长趋势。综上可知, 短期高温处理(6 h)‘夏黑’叶片PSII活性遭到破坏, 但是长期高温处理(150 h)‘夏黑’的PSII活性得到恢复, 推测‘夏黑’有较强高温逆境适应能力; 高温逆境打破‘夏黑’氧化还原平衡, MDA含量增加。这些结果对于了解葡萄在高温胁迫下的耐受能力具有参考价值。

关键词: 高温胁迫; 葡萄‘夏黑’; 叶绿素荧光; 抗氧化酶活性

葡萄在我国果树生产上具有重要地位, 近年来栽培面积迅速增长, 但是在夏季持续的高温胁迫下, 葡萄叶片卷曲失水干枯, 果实出现日灼现象较为严重, 影响果实的产量和品质(蒯传化等2009)。因此, 研究葡萄高温胁迫的发生机制和缓解措施, 对于提高葡萄植株耐热性, 保证夏季植株生长和果实发育有重要意义。

研究表明, 高温胁迫会导致植物的光合作用下降、细胞膜受到伤害、活性氧平衡被打破等(Thebud和Santarius 1982; 吴韩英等2001)。其中高温胁迫下植物最为敏感的生理过程为光合作用(Walbot 2011), 具体表现在高温处理破坏叶片光化学系统PSII, 尤其表现在抑制了高温胁迫时植物光合电子传递, 降低了叶片的光化学效率, 导致植物不能有效利用吸收的光能, 最终破坏光合中心机构(Camejo等2005)。叶绿素荧光技术是一种研究和探测植物光合生理状况的新型植物活体诊断技术, 其参数变化不仅可以反映出植物的胁迫应答反应, 还可以评价植株抗逆能力(李孟洋等2015)。这一研究手段在近年来应用广泛, 在对植物叶片不造成伤害的前提下, 探知光合机构的运转状况, 探测和分析植物的光合功能(Strasser等2000; 李建建等2008; 金立桥等2015)。高温胁迫还会破坏植物体内活性氧产生和清除的平衡, 从而产生丙二醛等有害物质(黄亚成和秦云霞2012), 所以植物自身通过提高超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)酶活性, 从而减少自由基对植物细胞的伤害(汪炳良等2004; 尚庆茂等2005)。

大部分研究针对葡萄的高温胁迫应答机制, 其中叶绿素荧光特性和抗氧化系统研究较多(孙军利等2014; Luo等2011)。Wang等(2010)发现‘京秀’葡萄在高温胁迫发生后再恢复常温PSII活性恢复至原初水平, 但是没有研究证明持续高温条件下葡萄的自我修复能力。本文对一年生盆栽葡萄‘夏黑’做不同温度处理, 观察高温胁迫发生6 h和150 h时植物叶片的叶绿素荧光特性和抗氧化酶活性变化, 判断葡萄在高温胁迫发生后是如何通过自身生理反应的调节来适应逆境, 为生产中葡萄栽培模式优化和品种优系选育提供一定的参考依据。

材料与方法

1 试验材料与处理设计

本试验于上海市农业科学院进行, 以一年生盆栽‘夏黑’葡萄(*Vitis vinifera* L. cv. Xiahei)植株为试验材料, 盆栽条件为: 盆口直径为30 cm、盆高40 cm的棕色塑料圆锥形盆钵; 盆栽土为椰糠:腐殖土=1:1。于2015年5月13日挑选长势基本一致的植株放入智能人工气候培养箱(杭州钱江仪器设备有限公司制造), 设置可控条件昼/夜为14 h/10 h, 温度为(25±1)°C/(20±1)°C, 相对湿度为70%, 光合有效辐射为100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 左右。

于2015年5月26日选择生长一致的植株(具有

收稿 2015-12-10 修定 2016-04-06

资助 国家葡萄产业技术体系项目(CARS-30-9)。

* 通讯作者(E-mail: putaajal@163.com)。

15~20片功能叶)设置3个温度处理,分别为25°C、35°C、45°C,处理时间段为10:00~16:00,其他时间段温度保持(25±1)°C/(20±1)°C(昼/夜)。单株小区,每个处理5株葡萄,3次生物学重复。于2015年5月26日16时(处理6 h)和6月1日16时(处理150 h)取长势一致的新梢第7~9片功能叶进行叶绿素荧光测定,并取样于液氮速冻保存在-20°C冰箱中。

2 叶绿素含量测定

参照李合生(2000)的方法测量葡萄叶片中光合色素含量,使用UV-1800型紫外分光光度计测定并计算叶绿素a、叶绿素b、类胡萝卜素以及总叶绿素含量,每个处理测定5次重复。

3 叶绿素快相荧光动力学参数的测定

利用连续激发式荧光仪(Pocket Plant Efficiency Analyzer, 英国Hansatech公司)测定葡萄叶片叶绿素快相荧光动力学参数,测定前进行20 min暗适应处理,OJIP曲线由3 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 红光诱导,测定时间为1 s,每个处理测定10个重复。

OJIP曲线中O点值(F_0)表示当所有反应中心完全开放时的荧光,级暗适应后的最小荧光强度,J点值(F_j)表示在O-J-I-P荧光诱导曲线2 ms的荧光强度,I点值(F_i)表示在O-J-I-P荧光诱导曲线30 ms的荧光强度,P点值($F_p=F_m$)表示当O-J-I-P荧光诱导曲线的最大荧光处的荧光强度(Hermans等2003)。其他荧光参数定义如表1所示(Strasser等2000)。

表1 叶绿素荧光诱导动力学曲线O-J-I-P荧光参数

Table 1 Polyphasic chlorophyll fluorescence transient (OJIP) test: Summary of indicators and their description

参数	定义
$F_v/F_m=\Phi_{P_0}$	最大光化学效率
PI_{ABS}	以吸收光能为基础的性能指数
Ψ_{E_0}	反应中心捕获的激子中用来推动电子传递时到电子传递链中超过 Q_A 的其他电子受体的激子占用来推动 Q_A 还原激子的比率($t=0$)
Φ_{E_0}	用于电子传递的量子产额($t=0$)
ABS/RC	单位反应中心吸收的光能
TR_0/RC	单位反应中心捕获的用于还原 Q_A 的能量
ET_0/RC	单位反应中心捕获的用于电子传递的能量
DI_0/RC	单位反应中心耗散的能量
W_k	K相可变荧光占J相可变荧光的比例
RC_{QA}	单位反应中心激活PSII反应中心的能量
δ_{R_0}	电子从系统间电子传递体传递给光系统I(PSI)受体侧电子受体的概率

4 抗氧化酶活性及MDA含量测定

超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用氮蓝四唑NBT法(王爱国等1983);过氧化氢酶(CAT)活性参照Patra等(1978)的方法测定,过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法(Omran 1980);MDA含量测定采用硫代巴比妥酸TBA显色法(赵世杰等1994),每个处理测定3个重复。

5 统计分析

所获得数据用平均值±标准偏差(mean±SD)表示,利用SPSS15.0统计学软件对数据进行并进行统计学分析, $P<0.05$ 表示显著性差异。

实验结果

1 温度对叶绿素荧光OJIP曲线和参数影响

图1为不同温度条件下的OJIP曲线变化,其中25°C处理6 h时在OJ相值为510~1 329,与150 h时差异不是很大;但是35°C处理下OJ相(535~1 375)要稍高于正常温度处理,并持续到150 h时;45°C处理6 h时在OJ相值(610~1 511)显著高于其他处理,但是150 h时OJ相值有所下降至35°C处理水平。随后25°C处理、35°C处理和45°C处理150 h时的JI相出现交叉,显著小于45°C处理6 h时JI相值(1 511~2 283)。最终在IP相不同温度处理的值均出现交叉。

不同温度处理‘夏黑’叶片的叶绿素荧光参数测定情况见表2。 PI_{ABS} 被认为是一项灵敏反应光合机构变化的指标,35°C处理6 h时和150 h时 PI_{ABS} 变化没有显著性差异,但是在高温45°C处理6 h时 PI_{ABS} 表现出显著性减少,说明高温处理影响了植物叶片的光能利用效率,温度水平越高造成影响越严重。 PI_{ABS} 由光能的吸收效率(Φ_{P_0})、反应中心对光能的转换效率(Ψ_{E_0})及电子传递效率(Φ_{E_0})组成,由表2所列可知, Ψ_{E_0} 和 Φ_{E_0} 在35°C处理6 h时均有显著性增多,但在150 h时恢复,说明电子传递过程在高温发生短期能敏感地感受温暖变化; Φ_{P_0} 、 Ψ_{E_0} 和 Φ_{E_0} 在45°C处理6 h时表现出显著性的减少,随后在150 h时恢复至原初水平,说明高温处理短期内会减弱葡萄叶片光能吸收效率、反应中心对光能的转换效率和电子传递效率,长期后这些指标均会恢复到正常水平。

据表2所示的单位反应中心吸收的光能 ABS/RC 值、还原 Q_A 的能量 TR_0/RC 值、耗散掉的能量

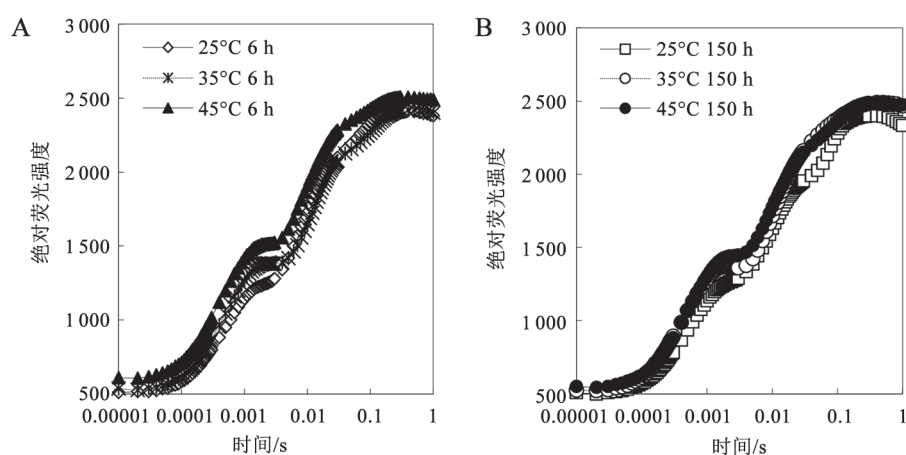


图1 不同温度处理后叶绿素绝对荧光强度变化OJIP曲线

Fig.1 The changes in the OJIP transients under different temperature treatments

A: 处理6 h时; B: 处理150 h时。

表2 不同温度处理6 h和150 h时叶绿素荧光参数比较

Table 2 The changes in chlorophyll fluorescence parameters under different temperature treatments on 6 h and 150 h

参数	处理6 h			处理150 h		
	25°C	35°C	45°C	25°C	35°C	45°C
$F_v/F_m = \Phi_{Po}$	0.80±0.01	0.80±0.02	0.67±0.07*	0.80±0.01	0.79±0.01	0.79±0.01
PI_{ABS}	1.41±0.23	1.35±0.18	0.36±0.24*	1.89±0.49	1.70±0.23	1.45±0.39
Ψ_{Eo}	0.45±0.03	0.56±0.01*	0.32±0.14*	0.55±0.02	0.52±0.03	0.50±0.07
Φ_{Eo}	0.36±0.02	0.45±0.01*	0.21±0.09*	0.44±0.17	0.41±0.02	0.39±0.05
ABS/RC	2.29±0.24	2.17±0.12	2.97±0.42*	1.73±0.14	2.44±0.09*	2.58±0.16*
TR_o/RC	1.83±0.19	1.75±0.13	2.08±0.09*	1.79±0.11	1.93±0.09	2.02±0.12
ET_o/RC	0.82±0.10	0.97±0.07*	0.68±0.31*	0.76±0.03	1.0±0.02	0.57±0.13*
DI_o/RC	0.46±0.05	0.43±0.03	1.06±0.37*	0.45±0.04	0.51±0.01	0.55±0.04
W_k	0.42±0.10	0.38±0.03	0.83±0.12*	0.39±0.04	0.44±0.03	0.59±0.12
RC_{QA}	1 109.89±116.54	1 169.86±52.79	621.98±200.02*	1 160.59±159.12	977.23±36.36	928.38±115.94
δ_{Ro}	0.31±0.08	0.29±0.15	0.53±0.10*	0.33±0.12	0.30±0.09	0.33±0.03

*: $P < 0.05$ 的显著性差异。

DI_o/RC 值这三项指标均是45°C处理>其他处理(25°C/35°C), 并且6 h时变化幅度较150 h时显著大; 而用于电子传递的能量 ET_o/RC 值有所不同: 在35°C处理有所增加, 而在45°C处理有所减少。这从能量分配的角度说明高温处理能影响光能的吸收和耗散, 但是电子传递会因为温度水平而受到抑制。并且随着时间的延续, 植物适应了高温胁迫, 故而相关指标在150 h时恢复到原初水平。

由表2可知, W_k 值为PSII供体侧指标, 35°C处理后 W_k 值与25°C处理无明显差异, 但在45°C处理6 h时显著性增多, 并在150 h时表现出减少趋势。较

25°C处理, 反应中心 RC_{QA} 值在35°C处理后无显著变化, 但在45°C处理6 h时有显著性减少, 随后在150 h时恢复至原初水平。PSII受体侧指标 δ_{Ro} 值在25°C处理和35°C处理中无显著差异, 但在45°C处理6 h时有显著性增高, 随后恢复到原初水平。

2 温度对叶片叶绿素和类胡萝卜素影响

叶绿素a、叶绿素b和类胡萝卜素为植物光合色素的主要成分, 在高温胁迫下表现如下: 与25°C处理相比, 高温35°C处理6 h时‘夏黑’叶片中叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素和类胡萝卜素含量无显著性变化, 而150 h时这四个指标有下降趋势, 没有表现出显著性差异; 45°C处理6 h和150 h时叶绿素a、

叶绿素b、全叶绿素和类胡萝卜素含量均有减少趋势,但都不具有显著性差异(图2)。

3 温度对叶片SOD、POD、CAT活性和MDA含量影响

叶片抗氧化酶SOD、POD、CAT活性和膜脂过氧化产物MDA是反映叶片受逆境胁迫程度甚至造成叶片衰老的几项重要指标,为了探究温度

是否影响叶片衰老,对不同温度处理后的叶片样品进行了测定。图3结果发现,35°C处理后的SOD活性与对照无显著差异,45°C处理6 h时SOD酶活减少,却在150 h时恢复至正常水平。POD和CAT酶活水平以及MDA含量在35°C处理和45°C处理的初期和后期均表现出显著性增长趋势,但是POD活性在45°C处理150 h时有所下降。

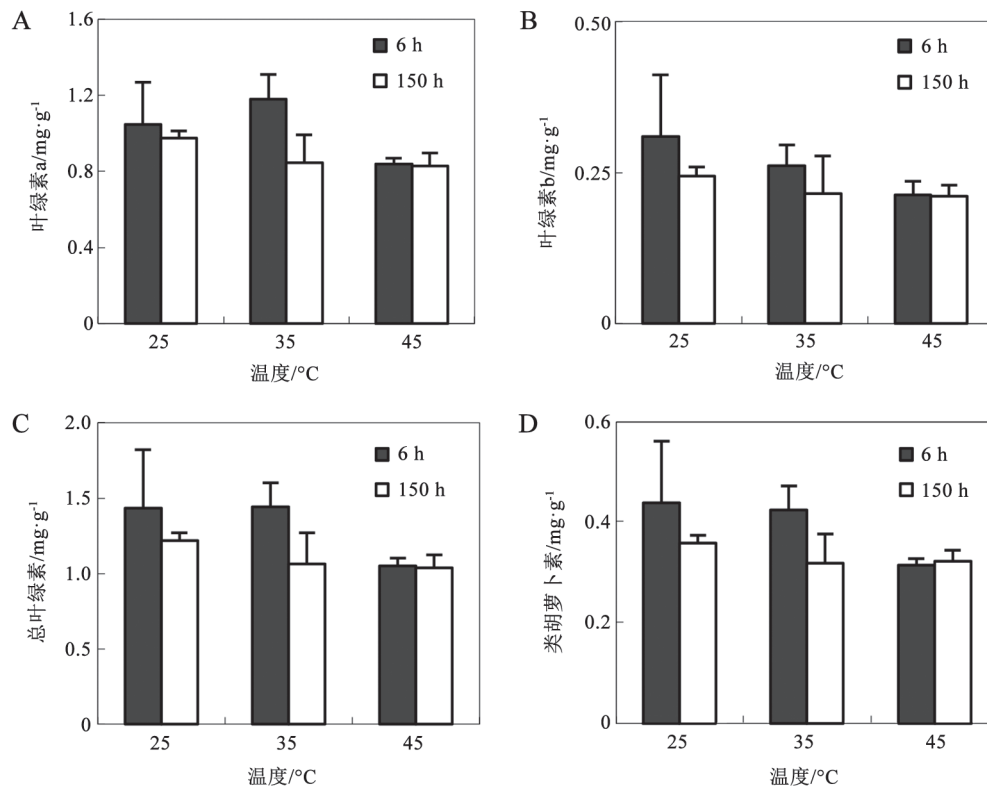


图2 不同温度处理6 h和150 h时叶绿素和类胡萝卜素含量差异

Fig.2 The changes in chlorophyll and carotenoid contents under different temperature treatments on 6 h and 150 h

A: 叶绿素a; B: 叶绿素b; C: 总叶绿素; D: 类胡萝卜素。

讨 论

本研究结果发现45°C处理6 h时 F_v 值最高,而且OI相荧光强度高于其他温度处理,这在其他植物上有一致的发现,高温胁迫下导致叶片 F_v 值上升,其主要原因是PSII反应中心失活(Demmig-Adams和Adams 1992),而在后期IP相与其他处理出现交叉,这与前人报道的结果一致(Baker 2008)。本试验中观察到‘夏黑’的性能指数(PI_{ABS})在高温45°C处理较35°C处理显著降低,这在Appenroth等(2001)研究一致,说明温度水平的提高对PSII光能

的吸收效率影响剧烈。光能的吸收效率 Φ_{po} 、反应中心对光能的转换效率 Ψ_{E_0} 和电子传递效率 Φ_{E_0} 在45°C处理6 h时显著减少说明PSII活性降低,减弱了光能向化学能转化速率和电子传递速率。这与前人在葡萄、柑橘、甜椒等植物上研究一致(孙猛2011; 查倩等2015; 郭延平等2003; 吴韩英等2001)。

叶绿素能量流动一系列指标的功能主要是光合机构捕获光能(ABS/CS)、发生能量转化(TR_0/RC)、热能耗散(DI_0/CS)以及电子传递(ET_0/CS),并且能量分配之间存在竞争关系(Zha等2016)。本研究中发现,在高温45°C处理6 h时植物积极捕获光

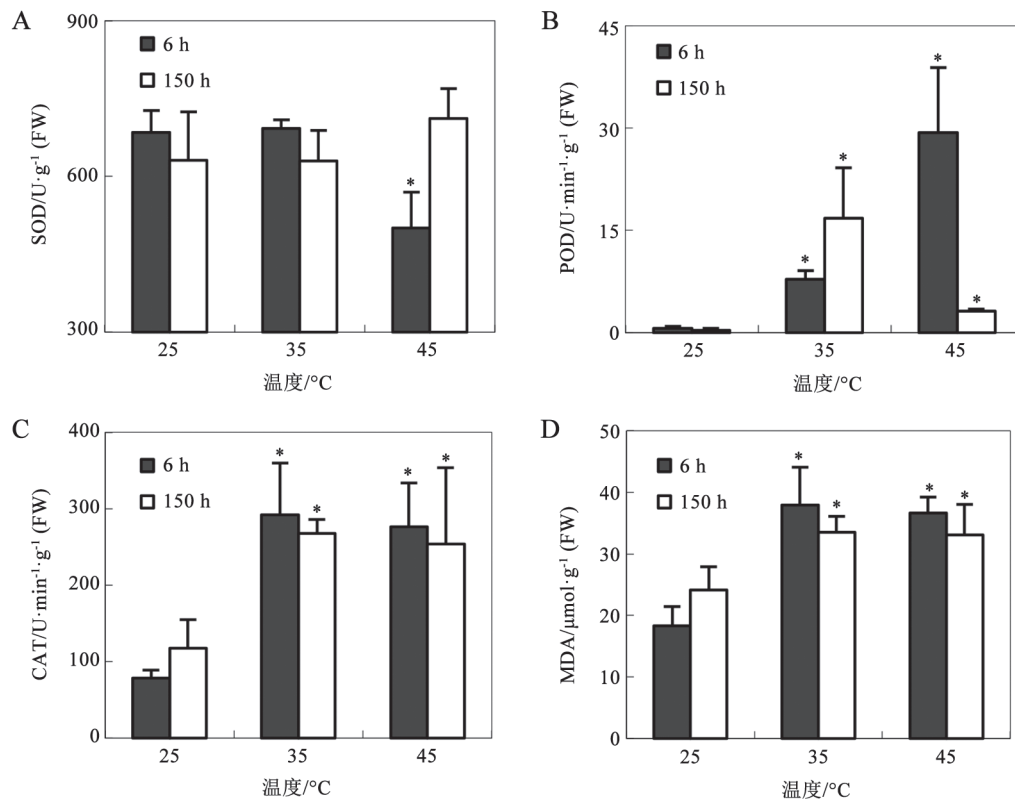


图3 不同温度处理6 h和150 h时抗氧化酶活和MDA含量差异

Fig.3 The changes in antioxidase activity and MDA contents under different temperature treatments on 6 h and 150 h
A: SOD; B: POD; C: CAT; D: MDA.

能, 并积极用于能量转化、热能耗散, 电子传递过程有所抑制; 但在45°C处理150 h时, 植物依旧捕获光能用于能量的转化与耗散, 其电子传递过程依旧被抑制。这在杏上报道有所不同, 孙猛(2011)研究发现高温促使植物吸收较多光能, 并用于电子传递, 以热的形式耗散能量较少; 而‘巨玫瑰’中能量分配的四项指标均在42°C高温处理后增多, 表现为这三方均在高温胁迫后有所加剧(查倩等2015)。可以说明叶绿素能量流动的不平衡现象是植物遭受高温胁迫必然发生事项, 但其中的能量分配细节受物种和遗传背景影响。

通过PSII的供体侧 W_k 、受体侧 δ_{R_0} 及反应中心 RC_{QA} 均在45°C处理6 h时表现出显著性差异, 具体为供体侧和受体侧的指标活跃, 导致反应中心中用于激活PSII化学反应的能量减少。这在‘左优红’和‘京秀’葡萄上也有报道, 高温处理(>40°C) 5 h时 W_k 值和 δ_{R_0} 值显著增多, 而 RC_{QA} 值显著减少(Luo等2011; Wang等2010)。

在35°C处理6 h时反应中心对光能的转换效率 Ψ_{E_0} 值、电子传递效率 Φ_{E_0} 值、电子传递能量 ET_0/RC 值显著增多说明高温短期内‘夏黑’的电子传递过程被激活; 并且35°C处理150 h时单位面积吸收的光能 ABS/RC 值较多, 均说明环境温度的上升对PSII反应中心有影响, 这与Luo等(2011)对‘京秀’35°C处理5 h时光化学反应报道一致。但这些变化对‘夏黑’叶片系统PSII光化学反应破坏是可逆的。因为随着时间的延续, 45°C高温处理150 h时‘夏黑’的PSII光化学反应中一些指标恢复到正常水平值, 比如 Φ_{P_0} 、 Ψ_{E_0} 、 Φ_{E_0} 、 TR_0/RC 、 DI_0/RC 、 W_k 、 δ_{R_0} 和 RC_{QA} 。通过平衡PSII反应中心的能量吸收、分配、耗热以及电子传递过程, 用于提高适应高温胁迫的能力。

此外, 有研究发现高温影响了植物叶片的叶绿素的合成速率, 造成叶绿素降解, 迫使叶片进入功能衰退期(崔海瑞等2001; 杨小飞和郭房庆2014)。但本研究中叶绿素下降幅度不大, 并在研

究后期由于细胞抗氧化酶活性处于较高的水平,使活性氧对细胞的损害较轻,叶绿素含量呈缓慢下降,并且发现随着胁迫时间的延长,叶绿素和类胡萝卜素并没有发生迅速下降情况。

植物在遭受高温胁迫后,活性氧会大量产生,从而诱导有关抗氧化酶活性的提高,以减轻高温胁迫伤害。SOD可歧化自由氧离子为 H_2O_2 和 O_2 ,生成的 H_2O_2 会诱导清除酶POD和CAT活性。本研究中 $45^\circ C$ 处理6 h时SOD活性降低,说明当胁迫强度超出植株的耐受能力时, H_2O_2 合成则明显受抑甚至丧失,这与小麦等植物中报道一致(刘萍等2005)。但是随后在150 h时表现出上升趋势的SOD活性表明植物在逆境存在一定时间后的自身应答系统被激发,与持续升高的POD和CAT活性共同作用,增强了植物的抗氧化能力(吴雪霞等2013)。同时可以将 $45^\circ C$ 高温处理150 h时POD酶活下降理解为植物高温胁迫长期发生后的适应性表现。另外,高温处理($35^\circ C/45^\circ C$)后叶片积累大量MDA,是植物细胞通过积累活性氧产生的膜脂过氧化产物,可破坏膜的完整性(Reddy等2004;刘群龙等2011)。由上可知,动态的抗氧化酶活性会帮助植物适合逆境,但伤害(如积累MDA)在6 d时没有减少,故有研究证明温度驯化能提高植物的抗热能力(张俊环和黄卫东2003),这也是增强植物耐高温能力的发展趋势,值得进一步研究。

参考文献

- Appenroth KJ, Stöckel J, Srivastava A, Strasser RJ (2001). Multiple effects of chromate on the photosynthetic apparatus of *Spirodela polyrhiza* as probed by OJIP chlorophyll *a* fluorescence measurements. *Environ Poll*, 115 (1): 49–64
- Baker NR (2008). Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis *in vivo*. *Annu Rev Plant Biol*, 59: 89–113
- Camejo D, Rodríguez P, Morales MA, Amico JMD, Torrecillas A, Alarcón JJ (2005). High temperature effects on photosynthetic activity of two tomato cultivars with different heat susceptibility. *J Plant Physiol*, 162 (3): 281–289
- Cui HR, Xia YW, Gao MW (2001). Effects of temperature on leaf color and chlorophyll biosynthesis of rice mutant *W1*. *Acta Agri Nucl Sin*, 15 (5): 269–273 (in Chinese with English abstract) [崔海瑞, 夏英武, 高明尉(2001). 温度对水稻突变体 $W1$ 叶色及叶绿素生物合成的影响. *核农学报*, 15 (5): 269–273]
- Demmig-Adams B, Adams WW (1992) Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 43 (1): 599–626
- Guo YP, Zhou HF, Zeng GH, Zhang LC (2003). Effects of high temperature stress on net photosynthetic rate and photosystem II activity in *Citrus*. *Chin J App Ecol*, 14 (6): 867–870 (in Chinese with English abstract) [郭延平, 周慧芬, 曾光辉, 张良诚(2003). 高温胁迫对柑橘光合速率和光系统II活性的影响. *应用生态学报*, 14 (6): 867–870]
- Hermans C, Smeyers M, Rodriguez RM, Eyletters M, Strasser RJ, Delhaye JP (2003). Quality assessment of urban trees: a comparative study of physiological characterization, airborne imaging and on site fluorescence monitoring by the OJIP test. *J Plant Physiol*, 160 (1): 81–90
- Huang YC, Qin YX (2012). Advances on reactive oxygen species in plants. *Chin Agric Sci Bull*, 28 (36): 219–226 (in Chinese with English abstract) [黄亚成, 秦云霞(2012). 植物中活性氧的研究进展. *中国农学通报*, 28 (36): 219–226]
- Jin LQ, Che XG, Zhang ZS, Gao HY (2015). The relationship between the changes in W_k and different damage degree of PSII donor side and acceptor side under high temperature with highlight in cucumber. *Plant Physiol J*, 51 (6): 969–976 (in Chinese with English abstract) [金立桥, 车兴凯, 张子山, 高辉远(2015). 高温、强光下黄瓜叶片PSII供体侧和受体侧的伤害程度与快速荧光参数 W_k 变化的关系. *植物生理学报*, 51 (6): 969–976]
- Kuai CH, Liu SJ, Wu GL, Yang CX, Chen YP, Wang P, Liu CH, Yu QL (2009). Analysis of the main factors and threshold temperature on vitis berry sunburn. *Acta Horti Sin*, 36 (8): 1093–1098 (in Chinese with English abstract) [蒯传化, 刘三军, 吴国良, 杨朝选, 陈勇朋, 王鹏, 刘崇怀, 于巧丽(2009). 葡萄日灼病阈值温度及主要影响因子分析. *园艺学报*, 36 (8): 1093–1098]
- Li HS (2000). Principle and Technology of Plant Physiological and Biochemical Experiments. Beijing: Higher Education Press, 167–169 (in Chinese) [李合生(2000). 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 167–169]
- Li JJ, Chang YJ, Yu JH (2008). Changes of some photosynthetic properties and photosystem II photochemical activities in cucumber seedlings under high temperature stress. *Plant Physiol Commun*, 43 (6): 1085–1088 (in Chinese with English abstract) [李建建, 常雅君, 郁继华(2008). 高温胁迫下黄瓜幼苗的某些光合特性和PSII光化学活性的变化. *植物生理学通讯*, 43 (6): 1085–1088]
- Li MY, Chao JG, Gu W, Hou HR (2015). Effects of high temperature stress on chlorophyll fluorescence characteristics of *Atractylodes lancea* from different habitats. *Plant Physiol J*, 51 (11): 1861–1866 (in Chinese with English abstract) [李孟洋, 巢建国, 谷巍, 侯皓然(2015). 高温胁迫对不同产地茅苍术开花前叶片叶绿素荧光特征的影响. *植物生理学报*, 51 (11): 1861–1866]
- Liu P, Guo WS, Pu HC, Feng CN, Zhu XK, Peng YX (2005). Effects of high temperature during grain filling period on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in flag leaves of wheat. *Sci Agric Sin*, 38 (12): 2403–2407 (in Chinese with English abstract) [刘萍, 郭文善, 浦汉春, 封超年, 朱新开, 彭永欣(2005). 灌浆期高温对小麦剑叶抗氧化酶及膜脂过氧化的影响. *中国农业科学*, 38 (12): 2403–2407]
- Liu QL, Wang D, Wu GL, Hao GW, Hao YY, Sun S (2011). Effects of selenium on leaf senescence and antioxidant system in *Pyrus bretschneider* 'Dangshan suli'. *Acta Horti Sin*, 38 (11): 2059–2066 (in Chinese with English abstract) [刘群龙, 王朵, 吴国良,

- 郝国伟, 郝燕燕, 孙胜(2011). 硒对酥梨叶片衰老及抗氧化酶系统的影响. 园艺学报, 38 (11): 2059–2066]
- Luo HB, Ma L, Xi HF, Duan W, Li SH, Loescher W, Wang JF, Wang LJ (2011). Photosynthetic response to heat treatments at different temperatures and following recovery in grapevine (*Vitis amurensis* L.) leaves. PLoS One, 6 (8): e23033
- Omran RG (1980). Peroxide levels and the activities of catalase, peroxidase, and indoleacetic acid oxidase during and after chilling cucumber seedlings. Plant Physiol, 65 (2): 407–408
- Patra HK, Kar M, Mishra D (1978). Catalase activity in leaves and cotyledons during plant development and senescence. Biochem Physiol Pflanz, 172: 385–390
- Reddy AR, Chaitanya KV, Vivekanandan M (2004). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. J Plant Physiol, 161 (11): 1189–1202
- Shang QM, Chen SF, Zhang ZG (2005). Regulation of selenium on antioxidative enzymes activity in pepper leaves under high temperature stress. Acta Hort Sin, 32 (1): 35–38 (in Chinese with English abstract) [尚庆茂, 陈淑芳, 张志刚(2005). 硒对高温胁迫下辣椒叶片抗氧化酶活性的调节作用. 园艺学报, 32 (1): 35–38]
- Strasser RJ, Srivastava A, Tsimilli-Michael M (2000). The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. Prob Photos Mech Regul Adapt, 445–483
- Sun JL, Zhao BL, Yu SL (2014). Effect of exogenous salicylic acid on antioxidant enzymes activities and antioxidants contents in grape seedlings under high temperature stress. Plant Physiol J, 50 (7): 1014–1018 (in Chinese with English abstract) [孙军利, 赵宝龙, 郁松林(2014). 外源水杨酸对高温胁迫下葡萄几种抗氧化酶活性和抗氧化物含量的影响. 植物生理学报, 50 (7): 1014–1018]
- Sun M, Lü D, Liu WS (2011). Studies on the chlorophyll fluorescent characteristics of 15 apricot cultivars among different variety groups. Chin Agric Sci Bull, 27 (6): 171–176 (in Chinese with English abstract) [孙猛, 吕德国, 刘威生(2011). 不同品种群15个杏品种荧光特性研究初探. 中国农学通报, 27 (6): 171–176]
- Thebud R, Santarius KA (1982). Effects of high-temperature stress on various biomembranes of leaf cells *in situ* and *in vitro*. Plant Physiol, 70 (1): 200–205
- Walbot V (2011). How plants cope with temperature stress. BMC Biol, 9 (1): 79
- Wang AG, Luo GH, Shao CB, Wu SJ, Guo JY (1983). A study on the superoxide dismutase of soybean seed. Plant Physiol J, 9 (1): 77–84 (in Chinese with English abstract) [王爱国, 罗广华, 邵从本, 吴淑君, 郭俊彦(1983). 大豆种子超氧化物歧化酶的研究. 植物生理学报, 9 (1): 77–84]
- Wang BL, Xu M, Shi QH, Cao JS (2004). Effects of high temperature stress on antioxidant systems, chlorophyll and chlorophyll fluorescence parameters in early cauliflower leaves. Sci Agric Sin, 37 (8): 1245–1250 (in Chinese with English abstract) [汪炳良, 徐敏, 史庆华, 曹家树(2004). 高温胁迫对早熟花椰菜叶片抗氧化系统和叶绿素及其荧光参数的影响. 中国农业科学, 37 (8): 1245–1250]
- Wang LJ, Fan L, Loescher W, Duan W, Liu GJ, Cheng JS, Luo HB, Li SH (2010). Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under heat stress and accelerates recovery in grapevine leaves. BMC Plant Biol, 10 (1): 34
- Wu HY, Shou SY, Zhu ZJ, Yang XT (2001). Effects of high temperature stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in sweet pepper (*Capsicum frutescens* L.). Acta Hort Sin, 28 (6): 517–521 (in Chinese with English abstract) [吴韩英, 寿森炎, 朱祝军, 杨信廷(2001). 高温胁迫对甜椒光合作用和叶绿素荧光的影响. 园艺学报, 28 (6): 517–521]
- Wu XX, Zha DS, Zhu ZW, Xu S (2013). Effects of exogenous 24-epibrassinolide on plant growth and antioxidant system in eggplant seedlings under high temperature stress. Plant Physiol J, 49 (9): 929–934 (in Chinese with English abstract) [吴雪霞, 查丁石, 朱宗文, 许爽(2013). 外源24-表油菜素内酯对高温胁迫下茄子幼苗生长和抗氧化系统的影响. 植物生理学报, 49 (9): 929–934]
- Yang XF, Guo FQ (2014). Research advances in mechanisms of plant leaf senescence under heat stress. Plant Physiol J, 50 (9): 1285–1292 (in Chinese with English abstract) [杨小飞, 郭房庆(2014). 高温逆境下植物叶片衰老机理研究进展. 植物生理学报, 50 (9): 1285–1292]
- Zha Q, Xi XJ, Jiang AL, Wang SP, Tian YH (2016). Changes in the protective mechanism of photosystem II and molecular regulation in response to high temperature stress in grapevines. Plant Physiol Biochem, 101: 43–53
- Zha Q, Xi XJ, Jiang AL, Wang SP, Tian YH (2015). Study on leaf phenotype, soluble sugar and chlorophyll fluorescence characteristics response to heat stress in 'Jumeigui' grapes. Chin Agric Sci Bull, 31 (25): 118–123 (in Chinese with English abstract) [查倩, 奚晓军, 蒋爱丽, 王世平, 田益华(2015). 高温条件下'巨玫瑰'葡萄品种叶片表型, 可溶性糖和叶绿素荧光特性的研究. 中国农学通报, 31 (25): 118–123]
- Zhang JH, Huang WD (2003). Research advances on mechanism of cross-adaptation to temperature stresses in plants. Chin Agric Sci Bull, 19 (2): 95–100 (in Chinese with English abstract) [张俊环, 黄卫东(2003). 植物对温度逆境的交叉适应性及其机制研究进展. 中国农学通报, 19 (2): 95–100]
- Zhao SJ, Xu CC, Zou Q, Meng QW (1994). The determination method of malondialdehyde in plant tissue. Plant Physiol Commun, 30 (3): 207–210 (in Chinese with English abstract) [赵世杰, 许长成, 邹琦, 孟庆伟(1994). 植物组织中丙二醛测定方法的改进. 植物生理学通讯, 30 (3): 207–210]

Effects of heat stress on chlorophyll fluorescence characteristics and anti-oxidant activity in grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Xiahei)

ZHA Qian, XI Xiao-Jun, JIANG Ai-Li*, TIAN Yi-Hua, HUANG Jian

Research Institute of Forestry and Pomology, Shanghai Academy of Agricultural Science, Shanghai 201403, China

Abstract: The study investigates the physiological response during short period and long period after high temperature stress in grapevines. Annual grapevines 'Xiahei' were selected and cultured in the artificial climate chamber. 6 h and 150 h of different treatments (25°C, 35°C and 45°C) between time periods (10:00~16:00), which was simulated the high temperature levels in the day of summer, leaf chlorophyll fluorescence and anti-oxidant activity were analyzed. The results showed that Ψ_{E_0} , Φ_{E_0} , and ET_0/RC significantly increased at 6 h of 35°C treatment. Some chlorophyll fluorescence parameters changed significantly at 6 h of 45°C treatment, however, those main parameters recovered to the original levels. The chlorophyll content and SOD did not alert obviously under heat stress. POD, CAT activities and MDA content showed strong growth trend under 35°C/45°C treatments. In conclusion: the damage of PSII at 45°C treatment was more than 35°C treatment, and electron transfer process of PSII was sensitive to high temperature stress. PSII activity was destroyed under 45°C treatment for a short period (6 h), and recovered under 45°C treatment for a long period (150 h), which indicated 'Xiahei' had adjusted primly the heat stress. In addition, heat stress broke the redox balance and accumulated lots of harmful substances. Those results provided the reference value in understanding the grapes in the tolerance ability under heat stress.

Key words: heat stress; *Vitis vinifera* L. cv. Xiahei; chlorophyll fluorescence; antioxidant activity

Received 2015-12-10 Accepted 2016-04-06

This work was supported by the Modern Agricultural Industry Technology System (Grape) (Grant No. CARS-30-9).

*Corresponding author (E-mail: putaojal@163.com).