

短期干旱对黄连叶片光合作用限制因素的研究

温泉, 张楠, 曹瑞霞, 周心渝, 唐娟, 吴能表*

西南大学生命科学学院 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400715

摘要: **目的** 探讨短期干旱对黄连叶片光合作用的限制因素, 为黄连栽培中抗旱研究提供科学依据。 **方法** 通过测定土壤相对含水量, 设置了 CK (正常水分)、LD (轻度干旱)、MD (中度干旱)、HD (重度干旱) 4 个处理组, 测定了短期干旱下黄连叶片快速光响应曲线, 气孔导度 (Cond)、蒸腾速率 (Tr)、胞间二氧化碳 (Ci) 随光强变化特性。 **结果** 随着光合有效辐射 (PAR) 强度的增加, LD、MD、HD 组的最大荧光产量 (F_m') 下降幅度, 非光化学猝灭系数 (q_N 值) 的上升幅度均低于 CK 组, 且 HD 组 F_m' 下降幅度最低为 54.2%, q_N 值最低为 0.595。相反, LD、MD、HD 组 F_t 值上升幅度, q_N 、有效荧光产量 ($\phi PSII$) 的下降幅度均高于 CK 组, 此外 CK 组的 Cond 和 Tr 高于 LD、MD 组, 但低于 HD 组, 且 Ci 也低于 HD 组。 **结论** 短期重度干旱胁迫对黄连叶片光合作用的限制主要是非气孔因素起主导作用 (PSII 反应中心失活, 热耗散能力降低, 电子传递速率降低等); 短期轻度、中度干旱胁迫对黄连叶片光合作用的限制是非气孔因素和气孔因素共同作用。

关键词: 短期干旱; 黄连; 快速光响应曲线; 限制因素; 光合作用

中图分类号: R282.21 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)07-1407-05

Research on limiting factors of photosynthesis in *Coptis chinensis* leaves under short-term drought

WEN Quan, ZHANG Nan, CAO Rui-xia, ZHOU Xin-yu, TANG Juan, WU Neng-biao

Key Laboratory of Ecoenvironments in Three Gorges Reservoir Region, Ministry of Education, School of Life Science, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: Objective The purpose of this experiment was to study the limiting factors on photosynthesis in *Coptis chinensis* leaves, which could provide a theoretical basis for its planting under drought condition. **Methods** Four groups of drought conditions, control (CK, normal moisture content), light drought (LD), moderate drought (MD), and heavy drought (HD), were set in the experiment through measuring the relative moisture content of soil. The rapid light response curves, stoma conductance (Cond), transpiration rate (Tr), and intercellular CO_2 (Ci) in the leaves of *C. chinensis* under different degrees of short-term drought were determined. **Results** With the increase of photosynthetically active radiation (PAR), the declined range of F_m' and rised range of q_N in the LD, MD, and HD groups were less than those in CK group. Moreover, the lowest declined range of F_m' in the HD group was about 54.2% and the lowest value of q_N was 0.595. On the contrary, the rised range of F_t and declined range of q_N and $\phi PSII$ in the LD, MD, and HD groups were higher than those in CK group. Furthermore, the values of Cond and Tr in CK group were higher than those in LD and MD groups, but the values of Cond, Tr, and Ci in CK group were lower than those in HD group. **Conclusion** The decrease of photosynthesis is mainly due to non-stoma under the short-term HD stress (PSII reaction centre becomes inactive, the ability of heat dissipation decreases, and photosynthetic electron transport rate decreases), while the limiting factors for photosynthesis of *C. chinensis* leaves are due to the stoma and non-stoma combined restriction under the short-term LD and MD stresses.

Key words: short-term drought; *Coptis chinensis* Franch.; rapid light response curves; limiting factors; photosynthesis

干旱对世界药材种植及农业生产的威胁日趋严重。黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根茎, 具有极高的药用价值^[1], 在我国许多地方有大面积栽培, 由于气候的原因或栽培中灌溉不及时, 经常受到短期干旱伤害。通常认为, 干旱

通过气孔限制和非气孔限制 (光合色素量的下降, 叶绿体结构的破坏等) 来抑制植物的光合作用, 使得光合速率、光合产物的量下降^[2-3]。而对于短期干旱, 研究认为光合作用受到抑制, 光合速率下降主要是受到气孔限制^[4-5], 也有认为受到非气孔因素的

收稿日期: 2012-02-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30500041); 重庆市科技公关计划项目 (cstc2012gg-yyjs0619)

作者简介: 温泉 (1987—), 男, 硕士研究生, 主要从事植物生理及次生代谢等方面的研究。

*通讯作者 吴能表 Tel: 02368367540 E-mail: wunb@swu.edu.cn

限制^[6], 因此短期干旱胁迫对植物光合作用伤害的机制还不是很明确。本研究通过不同程度的干旱短期处理黄连, 测定黄连叶片的快速光响应曲线和蒸腾速率 (Tr)、胞间 CO_2 浓度 (C_i)、气孔导度 ($Cond$) 的变化特性, 研究不同程度短期干旱处理对黄连光合作用的限制因素, 为阐明短期干旱胁迫对黄连光合作用的影响机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

黄连采自重庆市石柱县黄水镇黄连规范化种植基地。经西南大学生命科学学院植物分类学教研室邓洪平教授鉴定为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch.。德国 WALZ 便携式脉冲调制式叶绿素荧光仪 PAM—2100; LI—6400 便携式光合作用测定仪(美国 LI-COR 公司)。

1.2 黄连的干旱模型的建立

选取发育程度一致的植株移栽于盛有充分混匀的介质(壤土-珍珠岩 3:1)的黑色营养袋(12 cm×13 cm)中, 添加 Hoagland 完全营养液。种植 4 个月, 对长势一致的黄连分为 CK、LD(轻度干旱)、MD(中度干旱)、HD(重度干旱)对各组黄连植株进行模拟短期干旱处理, 干旱程度通过土壤相对含水量(土壤相对含水量=土壤含水量/土壤饱和含水量)来确定, CK 组为自然状态, 含水量保持在(75±2)%, LD 土壤含水量为(62±2)%, MD(土壤含水量为(43±2)%, HD 土壤含水量为(19±2)%, 处理 3 d 后, 测定各项数据。

1.3 黄连叶片快速光响应曲线的测定

采用便携式脉冲调制式叶绿素荧光仪进行测定, 打开内置卤素灯, 将光合有效辐射(PAR)强度设定为 8、107、173、262、382、531、707、1 121、1 761、2 601 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ 的光化光, 每个强度的光化光时间设定为 12 s, 叶片经暗适应 10 s 后, 启动程序对标记的叶片进行测定, 并计算 F_t (实时荧光)、 F_m' (最大荧光产量)、 qP (光化学猝灭系数)和 qN (非光化学猝灭系数)值, 根据公式算出有效荧光产量($\phi PSII$)、相对光合电子传递速率($rETR$), 绘出各自平均值的快速光响应曲线计算公式如下:

$$\phi PSII = (F_m' - F_t) / F_m';$$

$$rETR = \phi PSII \times PAR$$

1.4 叶片光合参数的测定

采用美国 LI-COR 公司生产的 LI—6400 便携式光合作用测定仪对每组标记的叶片进行 $Cond$ 、 C_i 、 Tr

测定。

数据均采用 SPSS 13.0 和 Excel 2003 进行统计分析和绘图。

2 结果分析

2.1 短期干旱胁迫对黄连叶片快速光响应曲线的影响

2.1.1 短期干旱胁迫对黄连叶片 F_t 、 F_m' 曲线的影响
随着 PAR 强度的增加, 各组黄连植株的 F_m' 均迅速下降(图 1), 但在弱光条件下, CK 的 F_m' 低于其他各组。随着 PAR 强度的增加, CK 组和 LD、MD、HD 组 F_m' 分别下降了 75.5%、66.5%、70.3%、54.2%, 表明在短期干旱中, 黄连叶片非光化学荧光淬灭耗散能量的能力均有所下降, 且在短期 HD 条件下, 非光化学荧光淬灭耗散能量的能力下降最大。CK 组通过非光化学猝灭来耗散过剩的光能的能力较强。

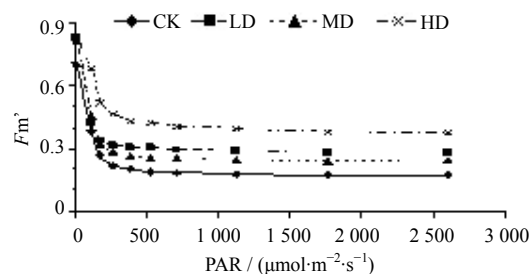


图 1 F_m' 随 PAR 的变化

Fig. 1 Changes of F_m' with PAR

对于 F_t , CK 组在短暂上升之后低于初始值, 降幅为 12.80%, 说明 CK 组随着 PAR 强度的增加, 光化学途径的能力并没有降低。与 CK 组相比, 随着 PAR 强度的增加, 其余各组均较初始值高, LD、MD、HD 上升幅度分别为 12.30%、11.90%、52.80%, 且在 HD 组中, 荧光产量由 0.242 迅速上升到 0.37, 上升幅度为 52.80%, 说明自第 1 个光化光之后, PSII 反应中心部分失活, 电子库容量减小, 没有足够的库容量来转移电子, 使得荧光产量增加, 而且荧光产量的增加一般来说与跨类囊体膜的质子梯度(ΔpH)有关^[7], 因为 ΔpH 是 ATP 产生的推动力, 而卡尔文循环的活力是 ATP 的主要消耗途径, 当 F_t 上升, 且居高不下时, 表明反应中心电子库容量减少了, 固碳能力也就下降。此外, 荧光产量的增加, 认为与反应中心的关闭有关, 在第 2 步光化光后, PSII 反应中心逐渐关闭, 转移光能的能力降低, 在 LD、MD、HD 组中 F_t 值逐渐增加, 当反应中心关闭达到饱和的时候(PAR 为 1 100 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$), F_t 就不再增加, 趋于平稳(图 2)。

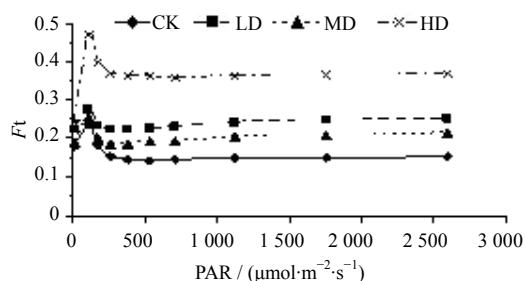


图 2 F_t 随光强的变化

Fig. 2 Changes of F_t with PAR

2.1.2 短期干旱胁迫对黄连叶片 ϕ PSII、rETR 曲线的影响 图 3 表明, 在刚开始时, 4 个组的 ϕ PSII 分别为 0.742、0.729、0.763、0.704, 各组并无显著差异, 当光强增加, F_t 与 F_m' 的值变得越来越接近, ΔF 的值越来越小, 从而导致 ϕ PSII 的降低, CK 组中 ϕ PSII 值的降低, 是由于通过非光化学猝灭能量耗散的增加, 而在 HD 组中, ϕ PSII 迅速降低, 主要因为光化学能量使用率的降低, 一方面可以从 F_t 的增加说明, 一方面可以从非光化学猝灭能量耗散能力的降低说明。

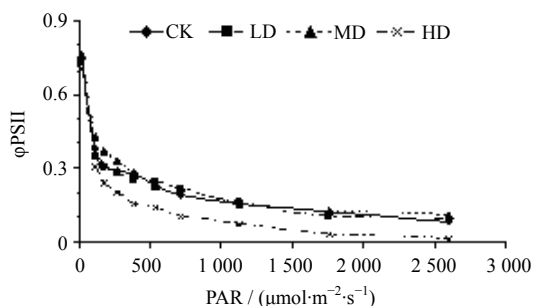


图 3 ϕ PSII 速率随 PAR 的变化

Fig. 3 Changes of ϕ PSII rate with PAR

ϕ PSII 反映的是光合系统的特征, 与叶绿素浓度无关, 而 rETR 与光强的函数与经典的光响应曲线 (P-E) 非常相似, 都可以分为 3 个阶段 (光限制阶段, 饱和阶段, 过饱和阶段), 在饱和阶段, 此时的光合能力达到最高, CK、LD、MD、HD 组的 rETR_{max} 饱和值分别为 87.5、63.1、75.4、55.4, CK 组的值均高于其他各组, 与 HD 组相比是它的 2 倍。CK 组在高强度的光强中, 会有轻微的下降, 这与 P-E 曲线不一样, 其原因并不是发生了光抑制, 而是发生了热耗散以及 PSII 反应中心活性下调, 因为没有足够的时间发生光抑制。随着光强的增加, 而 HD 组中 F_m' 下降较其他组低, 说明热耗散能力降低, 从

rETR 曲线也可以看出, 在光饱和阶段, 其值并没有降低, 曲线较为平稳 (图 4)。这说明当 PAR 显著大于黄连叶片所需要的光能时, 多余的能量并没有被热耗散, 可能会造成光抑制损害。

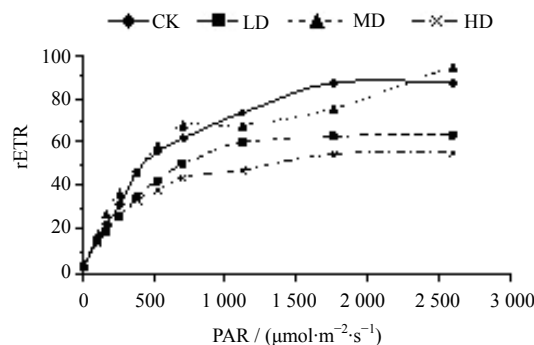


图 4 rETR 随 PAR 的变化

Fig. 4 Changes of rETR with PAR

2.1.3 短期干旱胁迫对黄连叶片 qP 、 qN 曲线的影响 qP 和 qN , 描述了光能耗散途径。从图 5、6 中可见, 随着 PAR 的增加, 两者呈现出相反的变化趋势, qP 随着 PAR 的增加而下降, qN 与之相反, 且 ϕ PSII 反映各组的变化程度不一, CK、LD、MD 组中 qP 的下降程度显著低于 HD 组, 在 PAR 达到饱和时, 各组 qN 值为 0.167、0.168、0.187、0.064, 说明重度干旱条件下, 光化学能力受到损害; 而 HD

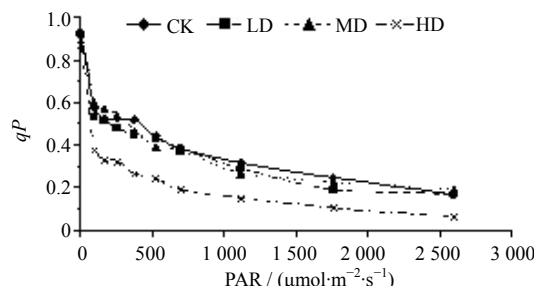


图 5 qP 随 PAR 的变化

Fig. 5 Changes of qP with PAR

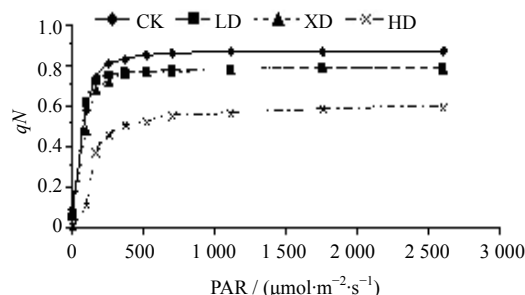


图 6 qN 随 PAR 的变化

Fig. 6 Changes of qN with PAR

组的 qN 值显著高于 CK 组, 表明黄连增加光化学能力来抵御胁迫。对于 qN , CK、LD、MD 组上升幅度均大于 HD 组, 且 CK 组的值上升幅度最大, 说明短期干旱会使得叶片的非光化学猝灭能力降低, 且与干旱程度呈正相关。

较低的 qN 反映 PSII 中开放的反应中心比例和参与 CO_2 固定的电子减少, 图 5 表明随着干旱程度的增加, 黄连植株 qN 值受到胁迫的程度增加, 叶片反应中心开放比例的降低, 降低了参与 CO_2 固定的电子数。结合 qN 的变化可知, 在同一光照强度下, 随着干旱程度的增加, 黄连植株热耗散的能量和光化学反应传递的能量都减少, 植株受到的光抑制程度增大。

2.2 短期干旱胁迫对黄连叶片 Cond、Tr、Ci 曲线的影响

Cond 反应了气孔的开张程度, 直接影响到植物对空气中 CO_2 的利用, 而且 Ci, Tr 也会受到 Cond 的限制, 从图 (7、8) 可以看出, 黄连叶片 Cond、Tr 随着 PAR 强度的增加呈现出缓慢上升的变化趋势, LD、MD 组的 Cond 和 Tr 要小于对照组, 而 HD 组的 Cond 和 Tr 要大于对照组, Cond 值达到 $0.053 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, Tr 值达到 $1.329 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$; 对于 Ci (图 9), 随着 PAR 强度的增加, CK、LD、MD、HD 降幅分别为 97.52%、38.80%、50.13%、48.79%, 在 PAR 强度为 $1\ 220 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, 各组 Ci 趋于平稳, CK 组 Ci 高于 LD、但是小于 MD、HD 组。说明黄连叶片气孔的 Cond、Tr 及 Ci 变化与干旱程度有关, 在 LD 和 MD 条件黄连叶片的气孔会关闭, Tr 会降低, Ci 也会相应降低, 而重度干旱条件下 Cond 和 Tr 反而升高、Ci 也相应较其他组高。

3 讨论

本实验研究表明, 黄连在短期干旱胁迫条件下,

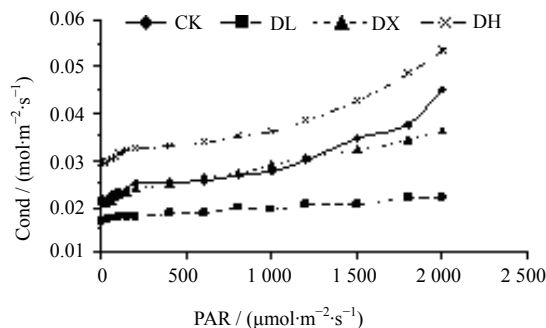


图 7 Cond 随 PAR 的变化

Fig. 7 Changes of Cond with PAR

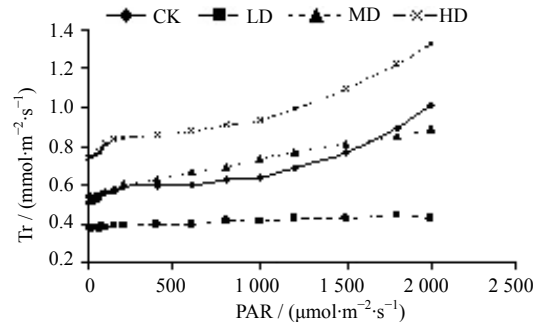


图 8 Tr 随 PAR 的变化

Fig. 8 Changes of Tr with PAR

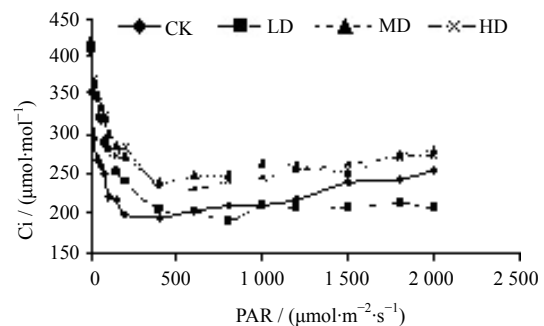


图 9 Ci 随 PAR 的变化

Fig. 9 Changes of Ci with PAR

各组叶绿素荧光 F_m' 、 qN 与 ϕPSII 值随着 PAR 的增加而呈下降的趋势, 而 $r\text{ETR}$ 、 qN 、 F_t 值呈上升趋势, 其中 LD、MD、HD 组的 F_m' 下降幅度均低于 CK 组, 且 qN 的值也均低于 CK 组, 相反, LD、MD、HD 组 F_t 值上升幅度、 qN 、 ϕPSII 的下降幅度均高于 CK 组, 从这些荧光值的变化说明, 短期干旱会使得叶片光合反应中心更容易关闭, 电子库容量减小, 热耗散能力降低, 这可能与叶黄素循环能力降低有关。而且随着干旱强度的增加, 叶片 PSII 反应中心失去活性的比例增大, 这与跨类囊体膜 ΔpH 的累积有关^[7]。 $r\text{ETR}$ 可以反应光化学反应导致碳固定的电子传递情况^[8], 从 $r\text{ETR}$ 变化结果可知, 在 PAR 强度达到饱和状态时, CK 组的光合能力大于其他各组, MD 大于 LD, HD 的 $r\text{ETR}$ 值最低, 表明 HD 会导致黄连叶片光合能力降低, 叶片固碳能力的降低。

早期关于干旱胁迫对光合作用研究多集中于气孔, 认为造成光合速率下降的原因是气孔关闭引起了 CO_2 亏缺^[9], 本研究发现, 随着短期干旱强度的增加, HD 组的 Cond 与 Tr 并没有降低, 反而高于对照组, 且 Ci 值也高于 CK 组, 从快速光响应曲线

表明, LD、MD、HD 组光合能力下降, 并且 HD 组 C_i 、Cond 和 Tr 均高于 CK 组, 说明黄连在短期 HD 胁迫条件下, 光合作用的限制因素主要是非气孔限制, 这与郭连旺等^[10]的研究一致, 但 LD、MD 组 Cond 和 Tr 值均低于 CK 组, 表明 LD、MD 短期干旱条件下, 光合作用的限制因素是气孔限制和非气孔限制共同作用。

综上所述, 短期 HD 胁迫对黄连叶片光合作用的限制主要是非气孔因素起主导作用; 短期 LD、MD 胁迫对黄连叶片光合作用的限制是非气孔因素和气孔因素共同作用。主要表现在 LD、MD、HD 组黄连叶片 PS II 反应中心失活, 热耗散能力降低, 电子传递速率降低, HD 组 C_i 、Cond 和 Tr 升高, 而 LD、MD 组 C_i 、Cond 和 Tr 降低。

参考文献

- [1] 赵中振, 肖培根. 当代药用植物典 [M]. 上海: 世界图书出版社, 2007.
- [2] 郁怡汶, 李三玉, 朱祝军. 草莓光合作用对水分胁迫响应的生理机制研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2003.
- [3] 余叔文, 汤章城. 植物生理与分子生物学 [M]. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 1999.
- [4] 王 磊, 张 彤, 丁圣彦. 开花期土壤短期干旱和复水对大豆光合作用和产量的影响 [J]. 植物学报, 2009, 44(2): 185-190.
- [5] 牛铁泉, 田给林, 薛仿正, 等. 半根及半根交替水分胁迫对苹果幼苗光合作用的影响 [J]. 中国农业科学, 2007, 40(7): 1463-1468.
- [6] 王 磊, 王鹏程, 张 彤, 等. 结荚期短期干旱和复水对大豆叶片光合和产量的影响 [J]. 生态学报, 2009, 29(6): 3329-3334.
- [7] Ralph P J, Gademann R. Rapid light curves: A powerful tool to assess photosynthetic activity [J]. *Aquat Bot*, 2005, 82: 222-237.
- [8] Zhang S. A discussion on chlorophyll fluorescence kinetics parameters and their significance [J]. *Chin Bull Bot*, 1999, 16(4): 444-448.
- [9] 卢从明, 张其德, 匡廷云. 水分胁迫抑制水稻光合作用机理 [J]. 作物学报, 1994, 20(5): 601-606.
- [10] 郭连旺, 沈允钢. 高等植物光合机构避免强光破坏的保护机构 [J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(1): 1-8.