

高温强光下耐热性不同的两个甘蓝品种幼苗光合作用差异的研究

付振书¹ 赵世杰^{1*} 孟庆伟¹ 魏佑营²

(¹ 山东省作物生物学重点实验室, 泰安 27018; ² 山东农业大学园艺学院, 泰安 271018)

摘 要: 以耐热性不同的两个甘蓝 (*B. rassaica oleracea* L. var *capitata*) 品种为材料, 对短期高温强光胁迫下光合作用的差异做了初步探讨, 结果表明: 在叶温 40 °C, 1200 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的光强下, ‘大牛心’净光合速率比 ‘无粉 8 号’高出约 30%, 与 28 °C 叶温下光合速率结果相比较, 两品种分别降低 7% 和 24%, 高温下, 大牛心的光合速率显示较强的耐热性。40 °C 预处理后随着光强的升高, 光系统 II (PSII) 的电子传递效率 (PSII) 和 PSII 的激发能捕获效率 (F_v'/F_m') 持续下降, 而非光化学猝灭 (NPQ) 持续增加, 慢组分 (q_I) 一直维持在 NPQ 的 10% 左右, NPQ 的增加主要是快组分 (q_f) 的迅速增加。可见高温强光胁迫下依赖于叶黄素循环的高能态猝灭是甘蓝幼苗叶片耗散过剩激发能的主要方式。然而两品种之间 PSII F_v'/F_m' 、NPQ 及其 q_I 和 q_f 均无显著性差异, 且最大光化学效率 (F_v/F_m), 细胞间隙 CO_2 浓度 (C_i), 光呼吸速率 (P_r) 也无显著性差异。因此在短期高温强光胁迫下两品种净光合速率差异主要取决于与光反应无关的非气孔限制。

关键词: 甘蓝; 高温强光; 光合速率; PSII NPQ

中图分类号: S 635.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2005) 01-0025-05

Study on Difference of Photosynthesis in Cabbage (*B. rassaica oleracea* L.) Cultivars (Heat-sensitive and Heat-tolerant) at High Temperature in High Light

Fu Zhenshu¹, Zhao Shijie^{1*}, Meng Qingwei¹, and Wei Youying²

(¹ Shandong Key Laboratory of Crop Biology, Tai'an 271018, China; ² College of Horticulture, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

Abstract: Two types of cabbage cultivars (heat-sensitive and heat-tolerant) were used as material to study the difference of photosynthesis under short-term high temperature stress with high light. Results showed that photosynthetic rate of ‘Daniuxin’ was approximately 30% higher than that of ‘Wufen 8’ under 1200 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ PHD when leaf temperature was 40 °C. Compared with at 28 °C, their photosynthetic rates decreased 7% and 24%, respectively. Under 40 °C, the quantum yield of PSII electron transport (PSII) and maximal photochemical efficiency of PSII in the light (F_v'/F_m') decreased with the increase of light, but non-photochemical quenching (NPQ) increased continuously, its slow-component (q_I) remained approximately 10% of NPQ, the increase of fast component (q_f) is the main factor leading to the increase of NPQ, indicating that xanthophyll cycle-dependent ‘high energy’ quenching was the main mechanism for effectively dissipating the excess excitation energy. However, there were no significant differences in PSII, F_v'/F_m' , NPQ, q_f , q_I between two types of cabbage cultivars. In addition, no significant difference was observed in maximal photochemical efficiency of PSII (F_v/F_m), intercellular CO_2 concentration (C_i), photorespiratory rate (P_r). Therefore, the difference of photosynthetic rates between two cultivars under short-term high temperature stress with the high light might result from non-stomatal limitation which had no relation with photoreaction process.

Key words: *B. rassaica oleracea* L. var *capitata* L.; High temperature and high light; Net photosynthetic rate; PSII NPQ

收稿日期: 2003 - 12 - 11; 修回日期: 2004 - 02 - 17

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目 (G1998010100); 山东省自然科学基金项目 (Q99D10)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: sjzhao@sdau.edu.cn)

甘蓝适宜在温和冷凉的气候下生长, 夏季常受到高温、强光的胁迫, 限制甘蓝周年生产。高温伴随着强光胁迫易引起植物蛋白质的变性、膜伤害、光合作用下降等^[1], 导致产量和品质的下降, 而光合作用是植物对高温和强光胁迫最敏感的生理过程之一^[2], 尤其是光系统 (PS) 在高温胁迫时其电子传递很容易受到抑制, PS 的光化学效率降低, 伴随着强光胁迫, 导致植物不能有效利用吸收的光能, 产生大量的过剩激发能, 使 PS 反应中心发生失活甚至不可逆的破坏^[3,4]。因此研究高温强光下植物光合作用的变化有助于更好的了解其对高温强光的适应性。目前有关高温强光对甘蓝光合作用的研究较少, 作者对甘蓝幼苗在短期高温不同光强下光合作用及叶绿素荧光参数的变化进行研究, 探讨高温强光的伤害机理, 以期夏季甘蓝的高产栽培和选育耐热性品种提供有益的参考。

1 材料与方法

1.1 材料及处理

甘蓝育苗期为高温强光的夏季, 通过对大量品种田间生长状况的观察, 选择长势较差的‘无粉 8 号’和长势良好的‘大牛心’, 并对这两个品种进行了高温膜伤害度的测定, 大牛心的半伤害温度为 42, 无粉 8 号的半伤害温度为 38, 说明大牛心耐热性高于无粉 8 号, 两品种耐热性存在差异。

2003 年 5 月中旬将种子播于育苗盆中, 土壤取自山东农业大学教学基地肥沃表土, 自然条件下生长, 常规管理, 以生长 1 个月的幼苗进行试验。选取外形一致的幼苗叶片以英国 PP Systems 公司生产的 CRAS-2 型便携式光合作用测定系统进行叶片高温胁迫处理, 控制叶片温度为 40, 通过调节钨灯光源控制不同的光照强度 (200、500、800、1200、1600 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), 每种光强下均处理 30 min, 然后进行各项指标的测定。

1.2 指标的测定

净光合速率 (Pn) 采用 CRAS-2 便携式光合作用系统测定, 同步测定细胞间隙 CO_2 浓度 (Ci) 和气孔导度 (Gs)。光呼吸速率 (Pr) 的测定是用 N_2 、 CO_2 和空气配制成含 2% O_2 和 360 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ CO_2 的低氧气体, 对同一叶片分别在低氧气体和普通空气 (21% O_2 、360 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ CO_2) 下测定其 Pn, 二者之差即为 P_r 。以英国 Hansatech 科学仪器公司生产的 HMS2 脉冲调制式荧光仪测定荧光参数。测定光适应下的荧光参数时, 荧光仪探头与 CRAS-2 便携式光合作用测定系统的叶室联用, 进行 Pn 测定的同时, 测定光适应下的荧光参数 (F_m' 、 F_s 、 F_o'), 各种参数的计算参见 Demming-Adams 与 Adams^[5]和 HMS2 使用手册 (1998), 然后在室温 (28) 下, 黑暗恢复 10 min, 测定最大光化学效率 (F_v/F_m), 叶绿素荧光非光化学猝灭 (NPQ) 及其组分 (q_f 和 q_i) 的计算参照 Quich 和 Stitt 的方法^[6]。以上每个测定至少重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 高温胁迫下两个甘蓝品种在不同光强下 Pn、Pr 的变化

大牛心和无粉 8 号在室温 (叶片温度 28) 条件下, 经过饱和光强 (1200 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) 适应后测定的 Pn 分别为 18.1 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 和 16.6 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。在 40 叶温不同光强下处理 30 min, 无粉 8 号的 Pn 在光强 500 ~ 1700 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 下皆低于大牛心 (图 1), 当光强为 1200 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, 大牛心的 Pn 比无粉 8 号高出约 30%。与 28 叶温下光合速率结果相

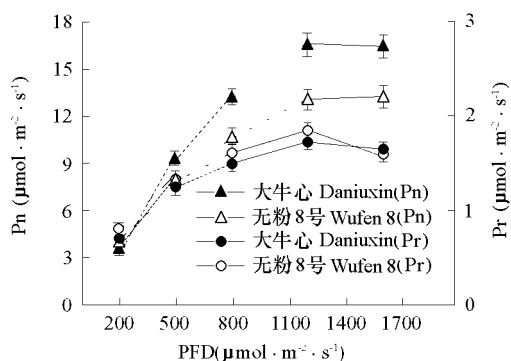


图 1 两个甘蓝品种在 40 不同光强下 Pn 和 Pr 的变化
Fig 1 Changes of Pn and Pr in two types of cabbage cultivars under various light intensities at 40

比较, 大牛心和无粉 8 号两品种分别降低 7% 和 24%, 表明了高温下大牛心有更高的光合能力。

随着光强的升高, P_r 也略有增加, 但是变化幅度不大 (图 1)。在 $1200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的光强下, P_n 达最大, P_r 也达最大, 随着光强度的进一步增加 P_r 有所下降, 但同一光强下, 经 5% 的显著性极差检验, 两品种间的 P_r 无显著性差异。

2.2 高温胁迫下两个甘蓝品种在不同光强下 C_i 和 G_s 的变化

40 下随着光强的升高, 大牛心和无粉 8 号的 C_i 下降, 而 G_s 则上升 (图 2), 且大牛心的 G_s 显著高于无粉 8 号, 但采用 LSD 法进行 5% 的显著性极差检验, 两品种的 C_i 值无显著性差异。这表明在高温下无粉 8 号的 P_n 低于大牛心, 并非是由于 G_s 降低而导致 C_i 降低的缘故。

2.3 高温胁迫下两个甘蓝品种在不同光强下 NPQ 及其组分 q_f 和 q_I 的变化

图 3 结果表明, 随着光强的升高, 大牛心和无粉 8 号的 NPQ 都大幅度的增加, $500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 下 NPQ 分别为 0.60 和 0.62, $1600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时 NPQ 分别高达 2.45 和 2.61, 但同一光强下, 两品种之间的 NPQ 无显著性差异。说明在高温强光下, 产生了大量过剩激发能^[7]。

从图 3 可以看出, NPQ 的主要组分为 q_f 和 q_I , 当光强在 $1200 \sim 1600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, 两个甘蓝品种的 q_f 均可占到 NPQ 的 80% ~ 90%, 而 q_I 一直维持在 1 个较低的水平, 占 NPQ 的 10% 的左右。

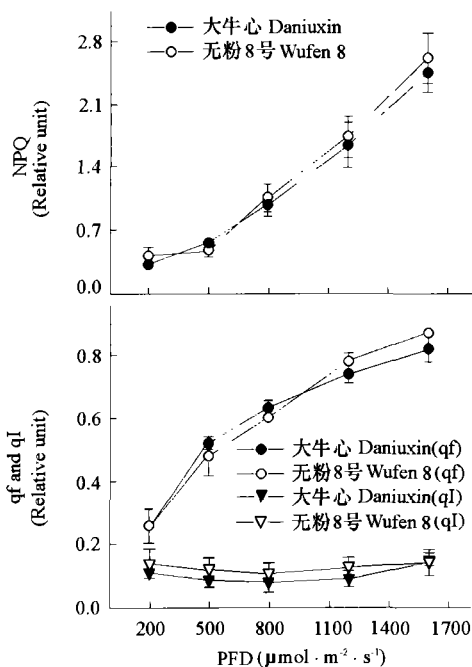


图 3 两个甘蓝品种在 40℃ 不同光强下 NPQ 和 q_f 、 q_I 的变化
Fig. 3 Changes of NPQ and q_f , q_I in two types of cabbage cultivars under various light intensities at 40℃

2.4 高温胁迫下两个甘蓝品种在不同光强下 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 和 F_v'/F_m' 的变化

甘蓝幼苗叶片在高温下进行不同光强度的处理, 在室温下暗适应 10 min, 测定最大光化学效率, 可反映叶片光抑制的情况^[7], 从图 4 可以看出, 在不同的光强下, F_v/F_m 始终在 0.8 ~ 0.85 之间, 随

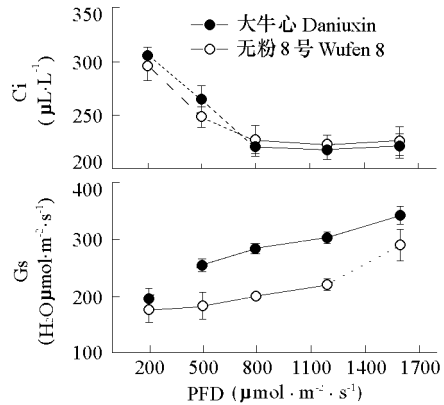


图 2 两个甘蓝品种在 40℃ 不同光强下 C_i 和 G_s 的变化
Fig. 2 Changes of C_i and G_s in two types of cabbage cultivars under various light intensities at 40℃

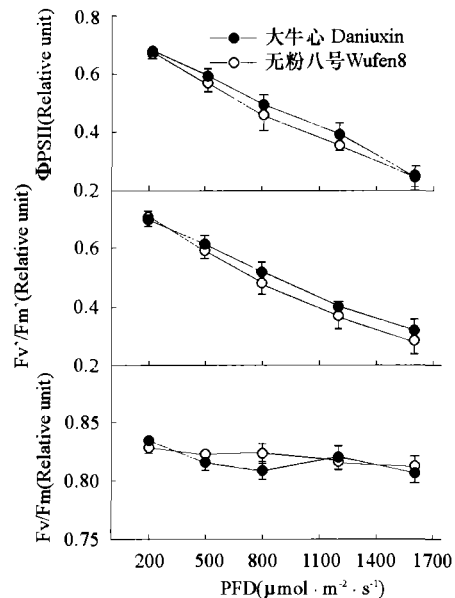


图 4 两个甘蓝品种在 40℃ 不同光强下 Φ_{PSII} , F_v'/F_m' 和 F_v/F_m 的变化

Fig. 4 Changes of Φ_{PSII} , F_v'/F_m' and F_v/F_m in two types of cabbage cultivars under various light intensities at 40℃

着光强的增加,略有下降,表明无明显的光抑制现象发生,这与 q_i 维持较低的水平相一致;PSII表示光下PSII的实际光化学效率, F_v'/F_m' 表示光适应下PSII的最大光化学效率,可看出随着光强的升高,两品种的PSII和 F_v'/F_m' 都有下降的趋势(图4); q_p 表示PSII反应中心的开放程度,PSII为 F_v'/F_m' 与 q_p 的乘积,在处理期间, q_p 变化不大(数据未列),因此PSII的下降主要由于 F_v'/F_m' 的下降引起, F_v'/F_m' 的下降意味着天线捕获激发能的效率下降,用于光化学反应的份额减少,非光化学猝灭(NPQ)增加。但同一光强下,两品种间 F_v/F_m 、PSII和 F_v'/F_m' 无显著性差异。

3 讨论

在夏季,高温往往伴随着强光通过影响作物的光化学反应速率,及光合酶类的活性来影响光合作用,进而导致作物的产量降低。许大全等认为高温对光合作用的抑制是由非气孔因素引起,是Rubisco对 CO_2 的亲合力降低或光合机构关键成分的热稳定性降低等原因所致^[8]。本试验结果表明:大牛心和无粉8号的Pn明显不同(图1),在 $1200 \mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ 的光强下,大牛心的Pn较无粉8号高约30%,Gs也高于无粉8号,但Ci却无显著差异,说明无粉8号的Pn较大牛心低不是由于Gs低导致胞间 CO_2 供应不足引起的。非光化学猝灭(NPQ)在强光下可以耗散过剩的激发能,减少过剩光能对PSII反应中心的破坏^[9],NPQ主要由 q_f 和 q_i 两部分组成,其中 q_f 与高能态的猝灭有关,同时还需要叶黄素循环的参与,叶黄素循环包括3种成分:紫黄质(V)、环氧玉米黄质(A)、玉米黄质(Z),在光下脱环氧化经A形成Z,这一过程可以迅速耗散掉过剩的激发能^[10], q_i 与光抑制和光破坏有关^[11]。高温强光下,NPQ可以有效的保护光合系统不受强光的破坏。本研究结果表明,NPQ的迅速增加主要是 q_f 的迅速增加(图3),可见在处理过程中依赖于叶黄素循环的高能态猝灭是甘蓝幼苗叶片耗散过剩激发能的主要方式。同时非光合代谢的加强也可以耗散一部分过剩的光能,从图1可以看出,随着光强的增加,Pr有增加的趋势,可能在减轻过剩激发能对反应中心的破坏方面起一定的作用,但是与NPQ相比,Pr不是耗散过剩激发能的主要方式。与NPQ的增加相伴产生的往往是PSII光化学效率的下降,高温强光下,两甘蓝品种幼苗叶片PSII下降,主要是由于PSII激发能捕获效率(F_v'/F_m')下降所致(图4),在光能到达反应中心之前,通过保护性的热耗散将过剩的激发能耗散掉^[12],保护PSII反应中心不受伤害。但是,NPQ、Pr、PSII和 F_v'/F_m' 在两个品种之间却无显著差异。

从以上分析可以看出:高温强光下,大牛心的Pn显著高于无粉8号,其差别不在光反应,我们推测高温下大牛心的一些碳同化酶类(如Rubisco酶)活性高于无粉8号,可以将捕获的大多数的激发能用于固定 CO_2 ,而无粉8号的一些碳同化酶类在高温下活性较低,因此捕获的大多数激发能可能用于其它的电子传递途径,是不耐热的甘蓝品种在高温下的一种自我保护机制。

参考文献:

- Berry J, Björkman O. Photosynthetic response and adaptation to temperature in high plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 1980, 31: 491~543
- Thebud R, Santarius K A. Effects of high temperature stress on various biomembranes of leaf cells in situ and in vivo. *Plant Physiol.*, 1987, 70: 200~205
- Baker N R. Possible role of photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis. *Physiol. Plant.*, 1991, 81: 563~570
- Havaux M. Short-term responses of photosystem I to heat stress. *Photosynth. Res.*, 1996, 47: 85~97
- Demming-Adams B, Adams W W. Xanthophyll cycle and light stress in nature: uniform response to excess direct sunlight among higher plant species. *Planta*, 1996, 198: 460~470
- Quick W P, Stitt M. An examination of factors contributing to non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in barley leaves. *Biochim. Biophys. Acta*, 1989, 977: 287~296
- Xu C C, Jeon Y A, Lee C H. Relative contributions of photochemical and non-photochemical routes to excitation energy dissipation in rice and barley illuminates at a chilling temperature. *Physiol. Plant.*, 1999, 107: 447~453
- 许大全, 沈允钢. 光合作用的限制因素. 见: 余叔文, 汤章城主编. 植物生理与分子生物学. 北京: 科学出版社, 1998. 262~276
Xu D Q, Shen Y G. Restriction factors of photosynthesis. In: Yu S W, Tang Z C eds. *Plant physiology and molecular biology*. Beijing: Sci-

ence Press, 1998. 262 ~ 276 (in Chinese)

- 9 Horton P, Ruban A V, Walters R G Regulation of light harvesting in green plants Plant Physiol, 1994, 106: 415 ~ 420
- 10 Gimore A M. Mechanistic aspects of xanthophyll cycle-dependent photoprotection in higher plant chloroplasts and leaves Physiol Plant, 1997, 99: 197 ~ 209
- 11 Horton P, Hague A. Studies on the induction of chlorophyll fluorescence in isolated barley protoplasts M. Resolution of non-photochemical quenching Biochim. Biophys. Acta, 1988, 932: 107 ~ 115
- 12 Demming Adams B. Xanthophyll cycle-dependent energy dissipation and flexible PSII efficiency in plants acclimated to light stress Aust. J. Plant Physiol, 1995, 22: 294 ~ 260

扎米莲叶片块茎的诱导及其植株再生

施和平¹ 梁 朋^{1,2} (¹华南师范大学生命科学学院, 广东省植物发育生物工程重点实验室, 广州 510631;

²广东医学院生物学教研室, 湛江 524023)

Tuber Induction of *Zamioculcas zamiifolia* Engl Leaf Explants and Its Plant Regeneration

Shi Heping¹ and Liang Peng^{1,2} (¹Guangdong Key Lab of Biotechnology for Plant Development, College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China; ²Department of General Biology, Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, China)

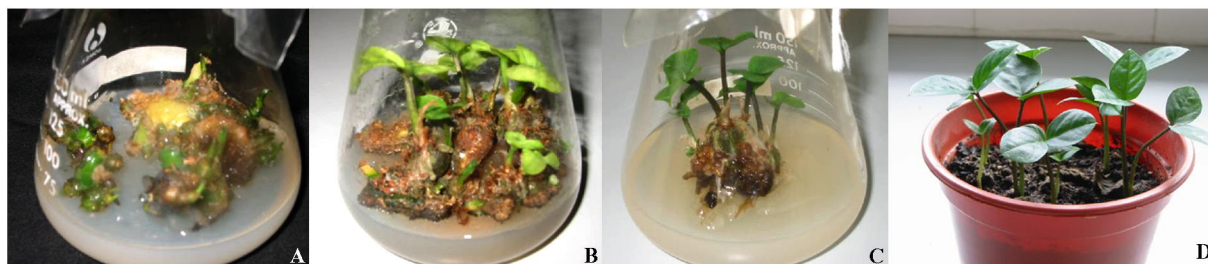
关键词: 扎米莲; 块茎形成; 植株再生; 叶片

中图分类号: S 682 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2005) 01-0029-01

扎米莲 (*Zamioculcas zamiifolia* Engl) 为近年从国外引进的天南星科扎米莲属的阴生观叶植物, 适合室内栽培观赏。取扎米莲浅黄绿色叶片用 0.1% HgCl_2 溶液消毒后, 将叶片切成小块, 接入 MS 培养基中, 并添加不同浓度 4-PU [N-苯基-N-(4-吡啶基)脲] 0.2 ~ 2.0 mg/L (单位下同) 或添加 6-BA 2.0 ~ 4.0, NAA 0.02 ~ 1.0, 2,4-D 0 ~ 1.0 和 4-PU 0.2 ~ 1.0, 在光照 14 h, 25 °C 下进行块茎的诱导。每锥形瓶接种 3 ~ 4 个外植体, 3 次重复。

结果表明, 叶片外植体在未添加植物生长调节剂或仅添加 4-PU 0.2 ~ 2.0 的 MS 培养基上培养 8 周后, 未分化出任何幼芽、球形块茎或幼根, 仅观察到叶片外植体不同程度褐化或变黄。而在添加 6-BA 2.0 ~ 4.0, NAA 0.02 ~ 1.0, 2,4-D 0 ~ 1.0 和 4-PU 0.2 ~ 1.0 的 MS 培养基上培养 1 周后, 叶片外植体卷曲肿胀并增厚变宽; 4 周后从增厚变粗的叶片外植体切口附近或叶片表面产生浅绿色的球形小块茎, 分化率约为 85% ~ 90%, 平均每个叶片外植体产生 3 ~ 6 个小块茎 (图版, A); 随着培养时间的延长, 球形小块茎数目也增多, 体积增大; 并从其上部产生可长成具对生小复叶的叶芽 (图版, B)。培养 10 周后, 以叶片外植体在添加 2,4-D 0.5 + 6-BA 3.0 + NAA 0.1 + 4-PU 0.2 的 MS 培养基上的球形块茎分化率最高, 达 100%, 其频率为 10 个/叶片外植体; 而在相同培养基上继代培养 2 周后, 除继续分化出幼小的球状块茎外, 从最先形成的浅绿色球形块茎的上半部产生具叶鞘的小叶芽, 其频率为每球状块茎 4 ~ 6 个; 而在下半部则产生密布白色根毛的浅绿色粗壮根, 生根频率为 3 ~ 6 条/球状块茎 (图版, C)。具根的球状块茎试管苗移栽至由椰糠、泥炭土和菜园土等量混合的基质中 (图版, D), 成活率可达到 100%。

本试验建立的扎米莲叶片快速繁殖系统中, 叶片球状块茎的形成、叶芽的产生和幼根的形成都可在同一种培养基上完成, 且不经愈伤组织阶段; 大规模生产试管苗容易、有效, 而且移栽成活率高。



图版说明: A. 在 MS + 2,4-D 0.5 + 6-BA 3.0 + NAA 0.1 + 4-PU 0.2 上培养 4 周后产生小球茎; B. 在 MS + 2,4-D 1.0 + 6-BA 4.0 + NAA 0.1 + 4-PU 1.0 上培养 10 周后产生具叶芽的球形块茎; C. 具球形块茎、幼叶和幼根的再生植株; D. 盆栽再生植株。

Explanation of plates: A. Tuber formation from leaf explants cultured on MS + 2,4-D 0.5 + 6-BA 3.0 + NAA 0.1 + 4-PU 0.2 for 4 weeks; B. Tuber formation with leafy shoots from leaf explants cultured on MS + 2,4-D 1.0 + 6-BA 4.0 + NAA 0.1 + 4-PU 1.0 for 10 weeks; C. Tuber-regenerated plants with tubers from leaf explants; D. Pot-grown regenerated plants with tubers

收稿日期: 2004 - 08 - 06; 修回日期: 2004 - 11 - 24

基金项目: 广东省自然科学基金项目 (003062)