

缺磷胁迫加重柑橘叶片光合作用的光抑制及 叶黄素循环的作用

郭延平¹, 陈屏昭², 张良诚¹, 张上隆¹

(1 浙江大学华家池校区园艺系, 浙江杭州 310029; 2 云南昭通师范专科学校, 云南昭通 657000)

摘要: 用营养液培养的方法, 研究了不同光强和磷水平对温州蜜柑叶片光合作用光抑制的影响。结果表明, 在缺磷强光条件下, 叶片的初始荧光 F_0 、最大荧光 F_m 、PSII 光化学效率 (F_v/F_m) 及表观电子传递速率 (ETR) 下降, 叶片非光化学猝灭的慢相 (qN_s) 和叶温升高。用叶黄素循环的抑制剂 DTT 处理叶片后, F_0 升高。这些结果说明, 缺磷胁迫加重了温州蜜柑叶片光合作用的光抑制, 叶黄素循环的非辐射能量耗散在保护光合机构免受强光破坏方面起着重要作用。

关键词: 磷; 温州蜜柑; PSII 光化学效率; 光抑制; 叶黄素循环

中图分类号: S666.1; Q945.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-505X(2003)03-0359-05

Phosphorus deficiency stress aggravate photoinhibition of photosynthesis and function of xanthophyll cycle in citrus leaves

GUO Yan-ping¹, CHEN Ping-zhao², ZHANG Liang-cheng¹, ZHANG Shang-long¹

(1 Department of Horticulture, Zhejiang University Hua Jia Chi Campus, Hangzhou 310029, China;

2 Zhaotong teachers' College, Zhaotong, Yunnan 657000, China)

Abstract: Effects of different light intensities and phosphate levels on photoinhibition of photosynthesis in satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) leaves were studied in the culture solution. The results showed that under high light intensity and the condition of phosphate deficiency, initial fluorescence (F_0), maximal fluorescence (F_m), photochemical efficiency of PSII (F_v/F_m) and apparent electron transport rate (ETR) decrease, on the other hand, slow-phase (qN_s) of non-photochemical quenching and leaf temperature increase. After treated by DTT, F_0 was much higher than control (H_2O). These results indicated that phosphorus deficiency stress aggravate photoinhibition of photosynthesis, xanthophyll cycle-dependent non-radiate energy heat dissipation played an important protective role against photo-damage to the photosynthetic apparatus in satsuma mandarin leaves during phosphate deficiency stress.

Key words: phosphate; *Citrus unshiu* Marc.; photochemical efficiency of PSII; photoinhibition; xanthophyll cycle

光合作用是植物在光的作用下利用 CO_2 和 H_2O 合成碳水化合物过程, 是作物产量形成的基础。光是影响光合作用的重要因子。磷是作物生长发育必需的大量元素之一。在多数土壤中, 磷与铝、铁结合, 作物较难吸收, 从而导致不同程度的缺磷胁迫。

所以研究磷和光对作物光合作用的影响具有重要意义。在强光下许多 C_3 植物容易发生光合作用的光抑制^[1-2], 而且在其它因子存在时会加剧光抑制。我们的研究结果认为, 强光下盆栽柑橘植株容易发生光合作用的光抑制^[3]。柑橘是我国重要果树, 为

收稿日期: 2002-06-17

基金项目: 国家自然科学基金 (39970525, 39730340); 浙江省自然科学基金项目资助。

作者简介: 郭延平 (1963—), 男, 河北邯郸市人, 博士后, 副教授, 主要从事果树生理的研究。

进一步探讨光合机构对光破坏的防御机理,通过溶液培养的方法,研究了缺磷胁迫下柑橘光合作用对强光的响应,为柑橘的合理施肥及无土栽培提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验在浙江大学华家池校区内进行。以 3 年生枳砧温州蜜柑 (*Citrus unshiu* Marc.) 早官川品种为试材。选取生长状态较一致的盆栽苗,将根系洗净,在 25℃ 室内 600~800 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 辐灯下供磷营养液中预培养 7 d 后,分别转移至供磷和缺磷 2 种营养液中及强光和弱光下培养。试验设 4 个处理:供磷强光、缺磷强光、供磷弱光、缺磷弱光,3 次重复。营养液的基本成分 (mmol/L): KNO_3 6.93、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 4.58、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 4.27、 MgSO_4 2.33、 FeSO_4 0.79、 H_3BO_3 0.01、 MnSO_4 4×10^{-3} 、 ZnSO_4 4×10^{-3} 、 CuSO_4 4×10^{-3} 、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ 3×10^{-3} 、EDTA 5.5。供磷处理是在基本成分的基础上加入 1.5 mmol/L KH_2PO_4 和 1.5 mmol/L KHSO_4 , 缺磷处理是用 K_2HSO_4 代替 KH_2PO_4 和 KHSO_4 , 以保持 K 和 S 的平衡, pH 值为 6.0~6.5。每株定量供应 5 L 营养液,每周更换一次,用电动气泵连续抽取室外空气往培养液里通气。根据我们的研究结果^[4],缺磷水培柑橘苗光合速率的饱和和光强低于 400 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,供磷水培柑橘苗的饱和光强在 800~900 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 之间,所以本试验选择强光和弱光的光强分别为 900 和 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,均为树冠上部接受的光强,每日照光 12 h。培养 20 d 后测定各项指标。

1.2 分析测定方法

1.2.1 叶片叶绿素荧光参数 培养苗在室内 (25℃) 暗适应 2 h 后,用 PAM-2000 便携式叶绿素荧光仪 (Walz, Germany) 和与其相配套的叶夹 (2030-B) 分别在光强为 100 和 900 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的可控光卤钨灯 (2050-H, Walz, Germany) 下测定初始荧光 (F_0)、最大荧光 (F_m) 及 PSII 最大的光能转换效率 (F_v/F_m)。测定时,打开检测光 [PFD 小于 0.1 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 频率为 600 Hz] 测定初始荧光参数 F_0 ,再打开一次饱和脉冲光 [PFD 为 3000 ($\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$), 频率为 20 kHz, 0.8 s, 1 个脉冲] 测定最大荧光参数 F_m 以及最大光化学效率 F_v/F_m 。6 次重复。数据处理软件为 DA-2000 (Walz, Germany)。

1.2.2 光合作用非光化学猝灭的快相 (qN_f)、中间相 (qN_m) 和慢相 (qN_s) 测定前,让叶片暗适应至少 2 h。测定时,打开检测光 [PFD 小于 0.1 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 频率为 600 Hz] 测定初始荧光参数 F_0 ,再打一次饱和脉冲光 [PFD 约为 3000 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 0.8 s, 频率为 20 kHz, 1 个脉冲] 测定最大荧光参数 F_m 。参照 Quick 和 Stitt 的方法^[5],让经过照光的叶片在暗中恢复 5 s 后,打开检测光并打一次饱和脉冲光测量 F_m' ,继以一次远红外光 [PFD = 0.9 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 3 s] 以测量 F_0' ,测完后关闭检测光,然后在暗恢复条件下每隔 100 s 测定一次 F_m' 。暗恢复 1800 s 后,改为每隔 200 s 测定

一次 F_m' ,利用暗恢复过程中测得的 F_m' 和 F_0' ,根据叶绿素荧光的非光化学猝灭公式 $qN = 1 - (F_m' - F_0')/(F_m - F_0)$ ^[6] 计算 qN_f 、 qN_m 和 qN_s 。

1.2.3 表观电子传递速率 [ETR, $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$] 和叶温 用带有光量子数和叶温探头 (热电偶) 的叶夹 (型号为 2030 B, Walz, Germany) 与荧光仪连接后,分别在 100 和 900 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 白光下测定。

1.2.4 DTT (二硫苏糖醇) 引入叶片 测定前将叶片在水中剪下,浸入 5 mmol/L 的 DTT 溶液中,对照浸水,在弱光下 [10~20 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$] 通过叶片蒸腾将 DTT 引入。

2 结果与分析

2.1 不同光强下缺磷胁迫对柑橘叶片叶绿素荧光参数 F_0 、 F_m 和 F_v/F_m 的影响

缺磷植株不论是生长在强光下还是弱光下,不论是在强光下测定还是弱光下测定,其叶片叶绿素荧光参数 F_0 、 F_v/F_m 及 F_m 均低于供磷植株 (图 1)。

2.2 不同光强下缺磷胁迫对柑橘叶片非光化学猝灭快相 (qN_f)、中间相 (qN_m) 和慢相 (qN_s) 三个组分的影响

在缺磷强光下培养的柑橘植株与供磷强光下培养的柑橘植株相比,其反映类囊体膜质子梯度的 qN_f 变化不大,与状态转化有关的 qN_m 略有升高,反映叶黄素循环的 qN_s 显著升高。在缺磷弱光下培养的柑橘植株与供磷弱光下培养的柑橘植株相比,其叶片 qN_f 下降, qN_m 和 qN_s 变化不大。弱光下生长的植株叶片 qN_f 和 qN_s 明显低于生长在强光下的植株 (表 1)。

2.3 DTT 处理对植株 F_0 和 F_v/F_m 的影响

强光和弱光下培养的柑橘植株均用 DTT 处理后,缺磷植株叶片的 F_0 明显高于供磷植株, F_v/F_m 明显低于供磷植株 (图 2)。

2.4 不同光强下缺磷胁迫对柑橘叶片表观电子传递速率 (ETR) 的影响

弱光下培养的植株在弱光下测定 ETR, 缺磷与供磷差异不大,用 DTT 处理后也差异不大;强光下培养的植株强光下测定 ETR, 缺磷植株明显低于供磷植株,用 DTT 处理后缺磷植株的 ETR 也明显低于对照 (图 3)。

2.5 不同光强下缺磷胁迫对柑橘植株叶温的影响

不论是培养在强光 900 [$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$] 下的植株还是弱光 100 [$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$] 下的植株,不论是在强光下测定还是弱光下测定,缺磷胁迫植株的叶温明显高于供磷植株,尤其是弱光缺磷条件下培养

的植株在强光下测定时,叶温比供磷植株高出 2.7℃(图 4)。

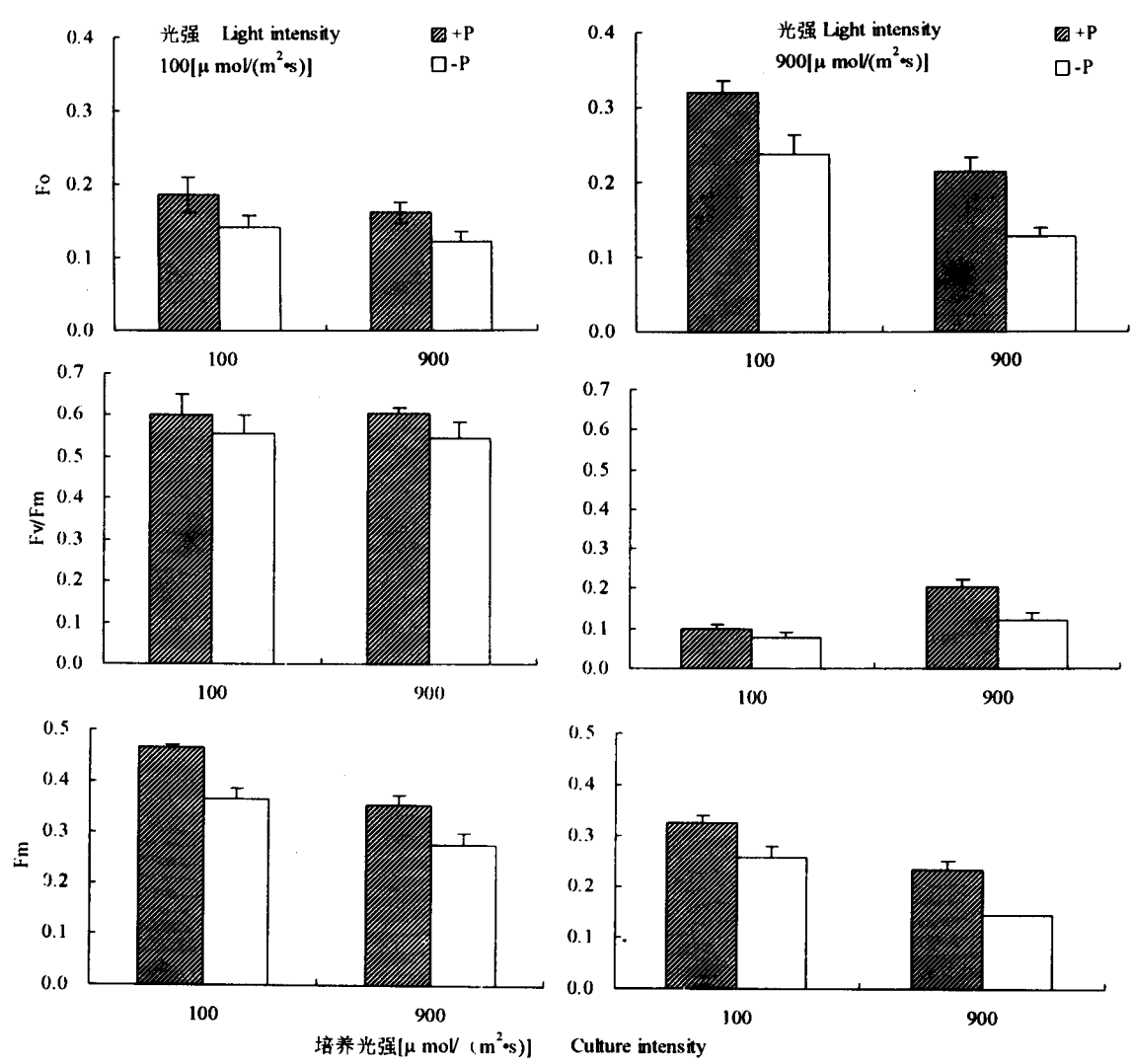


图 1 不同光强下缺磷胁迫对温州蜜柑叶片叶绿素荧光参数 Fo、Fm 和 Fv/Fm 的影响
Fig. 1 Effects of light intensity and phosphate deficiency on chlorophyll fluorescence parameters Fo, Fm and Fv/Fm in satsuma mandarin leaves

表 1 不同光强下缺磷胁迫对温州蜜柑叶片叶非光化学淬灭三个组分(快相、中间相和慢相)的影响
Table 1 Effects of light intensity and phosphate deficiency on the three components (qN_r, qN_m, qN_s) of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in satsuma mandarin leaves

qN 的 3 个组分 Three components of qN	培养光强 Culture light intensity			
	900 [μmol/ (m ² · s)]		100 [μmol/ (m ² · s)]	
	+ P	- P	+ P	- P
qN _r	0.803 ± 0.026 (100.00) ¹⁾	0.797 ± 0.012 (99.25)	0.720 ± 0.022 (89.66)	0.668 ± 0.020(83.19)
qN _m	0.486 ± 0.013 (100.00)	0.533 ± 0.006 (109.67)	0.530 ± 0.025 (109.05)	0.514 ± 0.012 (105.76)
qN _s	0.270 ± 0.029 (100.00)	0.391 ± 0.041 (144.81)	0.070 ± 0.028 (25.93)	0.067 ± 0.019 (24.81)

1) 平均值 ± 标准误 Means ± SE (n = 4); 括号中的数字为相对单位 The numbers in the parentheses represent relative unit.

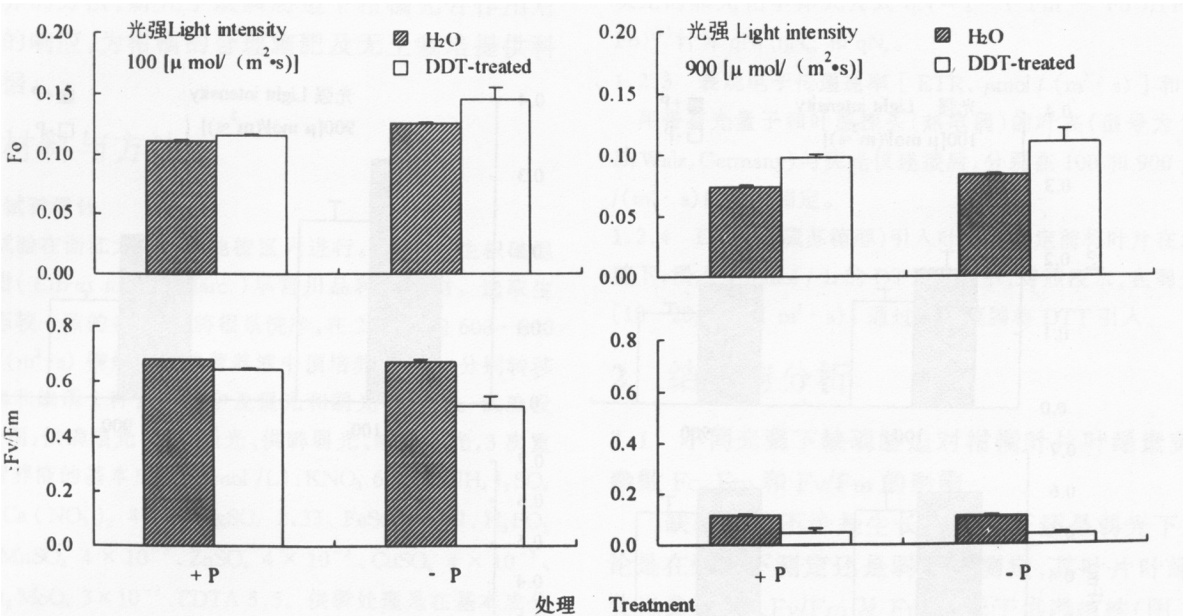


图 2 DTT 处理对温州蜜柑叶片 F_0 和 F_v/F_m 的影响
Fig. 2 Effect of DTT treatment on F_0 and F_v/F_m in satsuma mandarin leaves

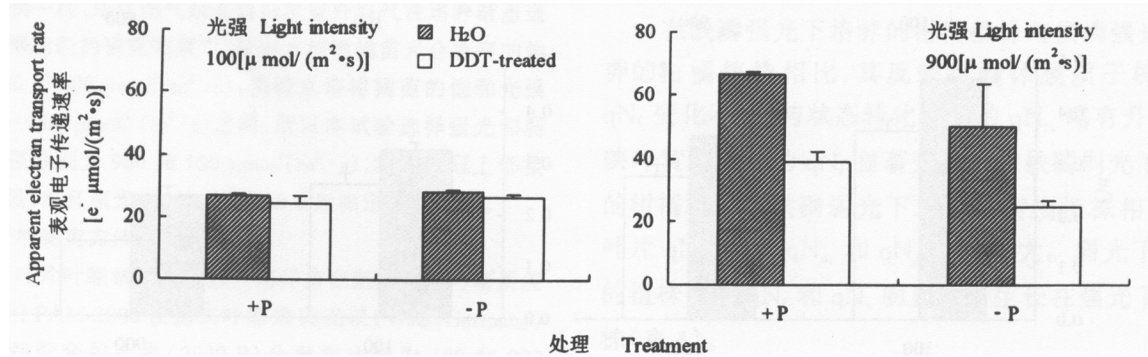


图 3 DTT 处理对温州蜜柑叶片表现电子传递速率的影响
Fig.3 Effect of DTT treatment on apparent electron transport rate in satsuma mandarin leaves

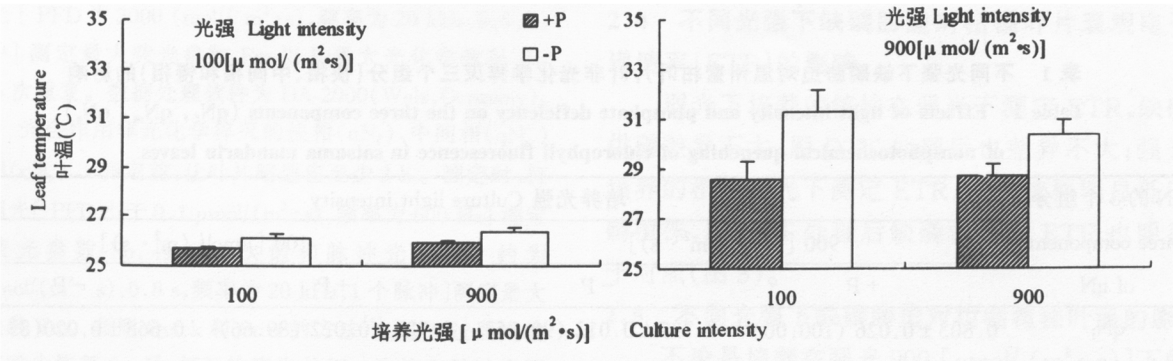


图 4 不同光强下缺磷胁迫对温州蜜柑植株叶温的影响
Fig.4 Effect of light intensity and phosphate deficiency on leaf temperature in satsuma mandarin plants

3 讨论

研究表明,在强光下测定的温州蜜柑叶片的 F_v/F_m 和 F_m 明显低于在弱光下测定的,强光下缺磷胁迫植株叶片的 F_v/F_m 和 F_m 比供磷植株低(图 1),说明 PS II (光系统 II) 的功能发生了光抑制^[7,8],而且缺磷胁迫加重了温州蜜柑叶片光合作用的光抑制。

植物发生光抑制时,往往伴随非辐射能量耗散的增加,这种非辐射能量耗散通常可用荧光参数的 q_N (非光化学猝灭系数)来检测^[9]。在暗适应过程中的非光化学猝灭,其慢相(q_N , >20 min)往往与叶黄素循环有关^[10,11]。我们观察 q_N 的变化时发现,缺磷胁迫使温州蜜柑叶片的 q_N 在强光下明显升高(表 1),这进一步说明强光加剧了缺磷温州蜜柑叶片光合作用的光抑制,并能启动叶黄素循环来耗散过剩的光能。

F_o 上升表明 PS II 反应中心受到破坏或发生可逆失活, F_o 下降表明依赖叶黄素循环的热耗散增强^[10]。本研究表明,缺磷培养的温州蜜柑植株在强光下 F_o 下降,这进一步证实了缺磷胁迫的温州蜜柑植株在强光下确实存在叶黄素循环。Demmig-Adam 和 Adams 认为与叶黄素有关的热耗散可能是防御光破坏的主要途径^[11]。DTT 是叶黄素循环的抑制剂^[12]。在本实验中,当向叶片中引入 DTT 后,与对照(H_2O)相比, F_o 出现明显上升(图 2),说明因叶黄素循环被抑制从而不能耗散过多的光能,导致 PS II 反应中心受到破坏,或发生可逆失活。因此,温州蜜柑在缺磷胁迫条件下,依赖于叶黄素循环的非辐射能量耗散在防御光破坏方面起着重要作用。

依赖于类囊体膜质子梯度的热耗散也能消耗过剩光能。暗适应的非光化学快相 q_N 可间接地反映类囊体膜的质子梯度状况^[10,11]。从本试验的结果来看,强光下培养的温州蜜柑植株比弱光下培养的植株的 q_N 高,说明在强光下存在依赖于类囊体膜质子梯度的热耗散。但从缺磷培养与供磷培养植株叶片的 q_N 来看,缺磷植株叶片的 q_N 明显低于供磷植株,说明缺磷胁迫降低了温州蜜柑植株依赖于类囊体膜质子梯度的热耗散,造成这一原因可能是缺磷导致温州蜜柑叶片光合磷酸化下降所致。结合以上有关叶黄素循环的研究结果及光合机构未被强光破坏的事实可见,缺磷胁迫的温州蜜柑植株主要

通过叶黄素循环的热耗散来保护光合机构免遭强光破坏。

在正常情况下,植物通过电子传递用于形成同化力 NADPH 和 ATP,推动光合碳代谢的进行。本研究表明缺磷胁迫下温州蜜柑叶片表观电子传递速率下降(图 3),说明磷限制了光合作用的正常进行。我们观察到叶黄素循环被抑制后表观电子传递速率也明显下降,说明缺磷胁迫下电子传递与叶黄素循环有关。

叶片温度是植物重要的生理指标,其形成机制比较复杂。本实验观察到缺磷胁迫下温州蜜柑叶温明显比供磷植株高(图 4),结合缺磷胁迫下温州蜜柑叶片叶黄素循环增强的事实可以推测,叶黄素循环的热耗散可能是叶温上升的重要因素之一。缺磷胁迫下叶温升高的机制及其生理功能,值得深入研究。

参考文献:

- [1] 许大全,徐宝基,沈允钢. C₃ 植物光合效率的日变化[J]. 植物生理学报, 1990, 16(1): 1-5.
- [2] 许大全. 植物光合作用的光抑制[J]. 植物生理学通讯, 1992, 28(4): 237-243.
- [3] 郭延平,洪双松,张良诚,等. 温州蜜柑叶片光合作用的光抑制[J]. 园艺学报, 1999, 26(5): 281-286.
- [4] 郭延平,陈屏昭,张良诚,等. 不同供磷水平对温州蜜柑叶片光合作用的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2002, 8(2): 186-191.
- [5] Quick W P, Stitt M. An examination of factors contributing to non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in barley leaves[J]. Biochim. Biophys. Acta, 1989, 977: 287-296.
- [6] van Kooten O, Snel J F H. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology[J]. Photosynth Res., 1990, 25(1): 147-150.
- [7] Demmig B, Winter K, Krüger A, Czygan F C. Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves. A possible role of the xanthophyll cycle in the dissipation of excess light energy[J]. Plant Physiol., 1987, 84(2): 218-224.
- [8] Dodd I C, Critchley C, Woodall G S, Stewart G R. Photoinhibition in differently colored juvenile leaves of *Syzygium* species[J]. J. Exp. Bot., 1998, 49(325): 1437-1445.
- [9] Horton P, Ruban A, Walters R G. Regulation of light harvesting in green plants: indication by non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence[J]. Plant Physiol., 1994, 106(2): 415-423.
- [10] Demmig B, Winter K. Characterization of three components of non-photochemical fluorescence quenching and their response to photoinhibition[J]. Aust. J. Plant Physiol., 1988, 15(1): 163-177.
- [11] Demmig-Adams B, Adams III W W. Photoprotection and other responses of plants to high light stress[J]. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 1992, 43: 599-626.
- [12] Demmig-Adams B, Adams W W, Heber U *et al.* Inhibition of zeaxanthin formation and of rapid changes in radiationless energy dissipation by dithiothreitol in spinach leaves and chloroplast[J]. Plant physiol., 1990, 92(1): 293-301.