

低温弱光对工艺葫芦幼苗叶绿素荧光特性及光合特性的影响

赵燕, 张雪, 吕童, 呼忠婷 (聊城大学农学院, 山东聊城 252000)

摘要 为了研究低温弱光对工艺葫芦幼苗叶绿素荧光特性及光合特性的影响, 选用大八宝葫芦种子为试验材料, 研究不同程度低温弱光胁迫对葫芦幼苗光合作用和叶绿素荧光特性的影响。结果表明, 低温弱光下, 叶绿素 a+b 含量、 P_n 、 G_s 、 Tr 、 F_v/F_m 、 qP 均下降; 叶绿素 a/b、细胞间 CO_2 浓度随着低温弱光胁迫的加剧呈上升趋势; qN 在中度低温弱光胁迫下, 处理 10 d 后相比处理前增加了 10.3%。

关键词 葫芦幼苗; 低温弱光; 光合作用; 叶绿素荧光特性

中图分类号 S63 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2020)04-0049-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.04.015

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Effects of Low Temperature and Low Light on Chlorophyll Fluorescence and Photosynthetic Characteristics of Calabash Seedlings
ZHAO Yan, ZHANG Xue, LÜ Tong et al. (College of Agronomy, Liaocheng University, Liaocheng, Shandong 252000)

Abstract In order to study the effect of low temperature and low light on chlorophyll fluorescence and photosynthetic characteristics of calabash seedlings, seeds of big babao calabash were selected as experimental materials to study the effects of different degrees of low temperature and low light stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence characteristics of calabash seedlings. The results showed that the content of chlorophyll a+b, P_n , G_s , Tr , F_v/F_m and qP decreased under low temperature and weak light. Chlorophyll a/b and intercellular CO_2 concentration increased with low temperature and low light stress. Under moderate low temperature and low light stress, qN increased by 10.3% 10 days after treatment compared with before treatment.

Key words Calabash seedling; Low temperature and weak light; Photosynthesis; Chlorophyll fluorescence

葫芦(*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl)为葫芦科葫芦属植物, 一年生爬蔓草本植物, 雌雄同株。葫芦喜温, 生育适温为白天 25~33 ℃, 夜晚 13~15 ℃, 昼夜温差 10~19 ℃。地温以 20~25 ℃为宜。种子发芽适温 28~32 ℃, 幼苗期适温为昼 20~30 ℃, 夜 10~15 ℃。健壮植株冻死温度为 0 ℃, 如不经锻炼低于 10 ℃可导致生理失调, 低于 3 ℃即可冻死。葫芦喜强光又耐弱光, 最适光强为 4.6 万 $lx^{[1]}$ 。葫芦, 谐音“福禄”。葫芦的茎称为“蔓”, “蔓”与“万”谐音, “蔓带”与“万代”谐音, 是中华民族传统的吉祥物之一, 深受广大民众喜爱。葫芦经艺人加工, 可形成风格各异的工艺葫芦; 本研究对向为专用于制作工艺品的葫芦, 为突出其特点, 故称其为“工艺葫芦”。“工艺葫芦”在春季定植时易遭受“倒春寒”影响, 造成生育迟缓或低温障碍, 导致其幼苗的生长情况不佳, 继而影响结果质量, 降低生产效益。低温是植物生产力的主要限制因素, 会对植物造成复杂且多方面的影响; 而对低温弱光最为敏感的指标是植物的光合作用和叶绿素荧光特性。低温弱光影响下的光合响应机制和叶绿素荧光特性一直是国内外研究的热点。研究认为低温弱光几乎可以破坏植物中所有参与光合作用和荧光特性的重要组成部分^[2-3]。低温弱光是通过降低植物组织间的电子传递速率和相关酶促反应影响植物的生长发育。因为碳同化过程需要多种酶参与反应才能完成, 故低温弱光是通过抑制生物酶的活性进而影响植物碳同化导致光合和荧光损伤^[4-5]。

温室育苗是保证壮苗的重要手段, 温室育苗对葫芦大小、果皮厚度、加工工艺及观赏价值均有影响, 低温弱光是早

春温室的主要环境特点。目前, 葫芦科植物中, 甜瓜、西瓜等已有较多研究成果并用于实践。然而, 葫芦种植, 尤其是用于加工成工艺葫芦的观赏品种葫芦尚没有切实可行的科学数据来指导种植。因此, 低温下对工艺葫芦幼苗光合特性及叶绿素荧光特性的影响的研究具有现实意义。笔者开展低温弱光对葫芦幼苗光合和荧光特性的影响, 探索葫芦温室育苗过程中的温度和光照条件。通过研究低温弱光下葫芦幼苗叶片光合特性及叶绿素荧光特性的影响, 探究逆境胁迫对葫芦幼苗叶片光合特性及叶绿素荧光特性的生理变化, 从而确定逆境胁迫对葫芦幼苗产生破坏的阈值量, 以期指导生产调控及时采取防治措施减少对葫芦幼苗的危害, 为提高经济产量提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 供试验材料为大八宝葫芦种子。

1.2 试验方法

1.2.1 种子处理。挑选饱满、大小一致且无病虫害的种子, 于 50~55 ℃浸种, 常规催芽, 于人工气温箱中育苗。

1.2.2 试验设计。设轻度低温胁迫(20 ℃/10 ℃)、中度低温胁迫(15 ℃/10 ℃)和重度低温胁迫(10 ℃/5 ℃)3 个昼/夜低温处理, 以 25 ℃/15 ℃为对照。光照强度 200 $\mu mol/(m^2 \cdot s)$, 光周期为 12 h、空气相对湿度 65%~80%。选取各处理 20 株生长健壮的葫芦幼苗, 在 0、2、4、6、8、10 d 测定叶片光合作用和叶绿素荧光参数等指标, 每个处理 3 次重复。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 叶绿素含量。称取 1.5 g 新鲜的葫芦幼苗叶片, 切碎, 加入配制好的提取液(丙酮: 无水乙醇 = 1:1)。提取液和叶片的比例设为 40:1, 过滤, 定容至 50 mL, 用紫外分光光度计(ultrospec2100pro)测定 663 和 645 nm 处吸光值, 测定叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量, 3 次重复。

基金项目 国家级大学生创新项目(201710447075); 聊城大学科研基金(3510801)。

作者简介 赵燕(1977—), 女, 山东阳谷人, 讲师, 硕士, 从事蔬菜栽培生理方面的研究。张雪(1998—), 女, 山东高密人, 从事蔬菜栽培生物方面的研究。赵燕和张雪为共同第一作者。

收稿日期 2019-07-19; **修回日期** 2019-09-03

1.3.2 叶绿素荧光特性。将葫芦幼苗暗适应 30 min 后,将已经充分展开的功能叶剪下,用调制叶绿素荧光成像系统(IMAGING-PAM, WALZ, 德国)测定叶绿素荧光参数。检测用以下数据:光强度 $0.1 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光化学强度 $56 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,饱和脉冲强度 $2700 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,脉冲光时间 0.8 s,每隔 20 s 打开一次。测定光化学淬灭系数(qP)和非化学淬灭系数(qN)、初始荧光(F_0)、最大荧光(F_m)、PSII 最大光化学量子产量(F_v/F_m)等叶绿素荧光参数。

1.3.3 光合特性。用便携式光合测定系统(CD-310, 美国)仪器测定光合特性。采用参数为 $800 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的光量子通量密度,对第 3 片真叶于 09:00—11:00 测定以下指标:净光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)、气孔导度(G_s)、细胞间二氧化碳浓度(C_i),3 次重复。气孔限制值(L_s)利用 Berry 等的方法计算, C_a 为空气中二氧化碳的浓度。 $L_s = 1 - C_i/C_a$ 。

1.4 数据处理 使用 Excel 2007 进行图表制作,使用 SPSS 22.0 进行数据处理和统计分析,各参数数值为 3 次重复试验的平均值。

2 结果与分析

2.1 低温弱光对葫芦幼苗叶片叶绿素含量的影响 低温弱光胁迫处理后(图 1),葫芦幼苗叶绿素 a+b 含量下降。对照条件下,葫芦幼苗叶片叶绿素 a+b 始终在 2.25 左右波动,轻度低温弱光胁迫的葫芦幼苗叶绿素 a+b 含量在 0~8 d 下降分别为 3.9%、6.5%、12.3%、14.0%。10 d 叶片黄化且干枯萎蔫。中度、重度低温弱光胁迫处理 6 d 后叶绿素 a+b 含量相比处理前分别下降 47.9% 和 62.6%,8 d 后叶片黄化干枯易碎。与对照相比,低温弱光胁迫处理的葫芦幼苗叶绿素 a/b 呈增加趋势,轻度、中度和重度低温弱光胁迫后 10 d 幼苗叶片叶绿素 a/b 分别比处理前增加 25.1%、44.9% 和 84.7%(图 2)。结果表明,叶绿素(a+b)含量减少可能是低温胁迫下植物体内叶绿素合成开始降低,也有可能是叶绿素分解加快或者是两者共同产生的结果。而叶绿素 a/b 呈上升趋势说明与弱光条件下低温胁迫中植物的自我调节机制有关。

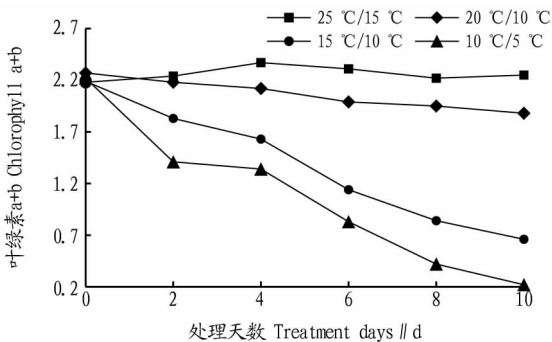


图 1 低温弱光对葫芦幼苗叶绿素 a+b 的影响

Fig.1 Effect of low temperature and weak light on chlorophyll a+b in calabash seedlings

2.2 低温弱光对葫芦幼苗光合特性的影响 由图 3 可知,低温弱光胁迫处理 2 d 后葫芦幼苗叶片的光合作用明显降低,净光合速率(P_n)也下降,随着温度越低,下降幅度越明显。低温弱光胁迫处理 6 d 后,轻度、中度和重度低温弱光处理相

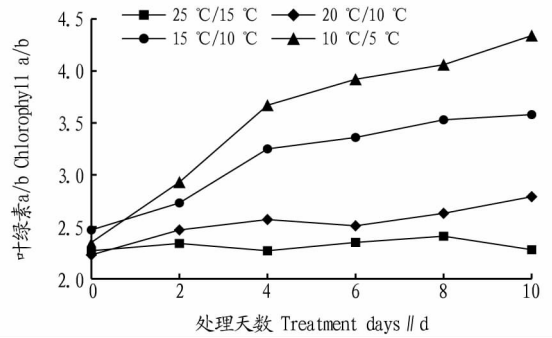


图 2 低温弱光胁迫对葫芦幼苗叶绿素 a/b 的影响

Fig.2 Effects of low temperature and weak light stress on chlorophyll a/b in calabash seedlings

比对照 P_n 分别下降 19.7%、22.7% 和 38.2%。处理 6~10 d,中度、重度低温弱光胁迫处理降幅为 40.3% 和 63.3%。结果表明,低温弱光对葫芦幼苗叶片光合速率的影响随着温度降低而加大,其中重度处理 8 d 已经对其光合系统功能造成严重的破坏。

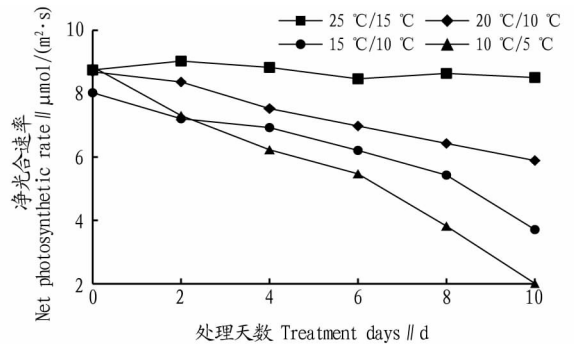


图 3 低温弱光对葫芦幼苗净光合速率(P_n)的影响

Fig.3 Effect of low temperature and weak light on net photosynthetic rate (P_n) of calabash seedlings

低温处理后,葫芦幼苗叶片气孔导度(G_s)、蒸腾速率(T_r)呈下降趋势。轻度、中度和重度低温弱光处理后 6 d, G_s 相比处理前分别下降 25.4%、36.7% 和 54.7%。10 d 后降幅分别为 42.3%、64.5% 和 78.7%(图 4); T_r 在 0~6 d 后较处理前分别下降 16.0%、22.0% 和 53.3%,6~10 d 降幅分别为 20.7%、46.7% 和 71.1%(图 5)。气孔导度和蒸腾速率一直呈下降趋势。

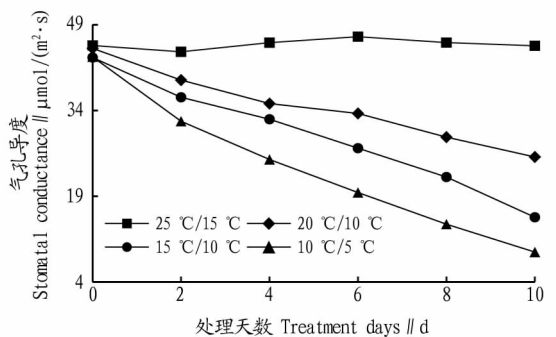
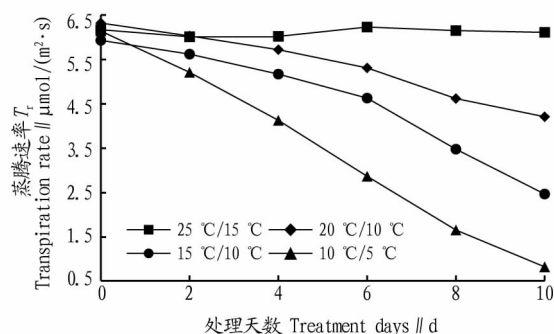
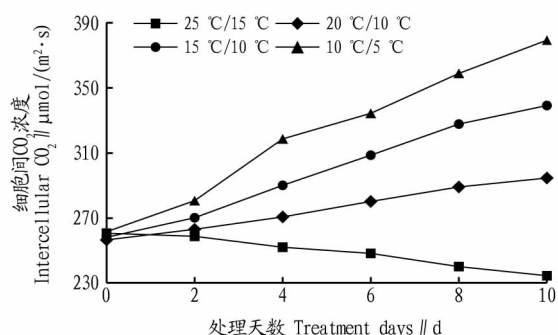


图 4 低温弱光对葫芦幼苗气孔导度(G_s)的影响

Fig.4 Effect of low temperature and weak light on stomatal conductance (G_s) of calabash seedlings

图5 低温弱光对葫芦幼苗蒸腾速率(T_r)的影响Fig.5 Effect of low temperature and weak light on transpiration rate (T_r) of calabash seedlings

细胞间 CO_2 浓度(C_i) (图6)的变化分析表明,随着温度降低, C_i 上升幅度越明显。轻度、中度和重度低温弱光处理后 6 d, C_i 相比处理前上升 9.2%、19.5%、27.8%。对照组则出现下降,10 d 后下降幅度为 7.6%。

图6 低温弱光对葫芦幼苗细胞间 CO_2 (C_i) 的影响Fig.6 Effects of low temperature and weak light on intercellular CO_2 (C_i) of calabash seedlings

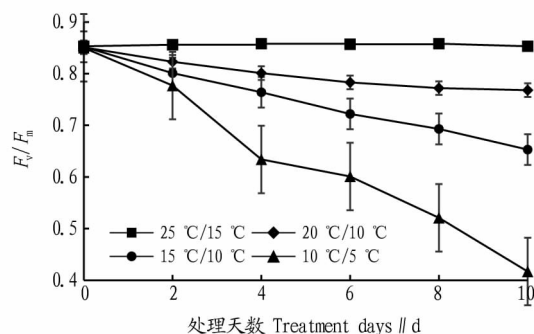
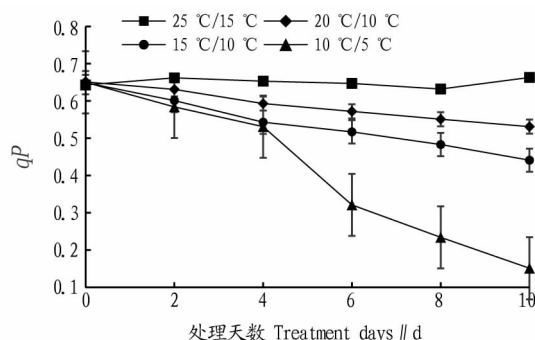
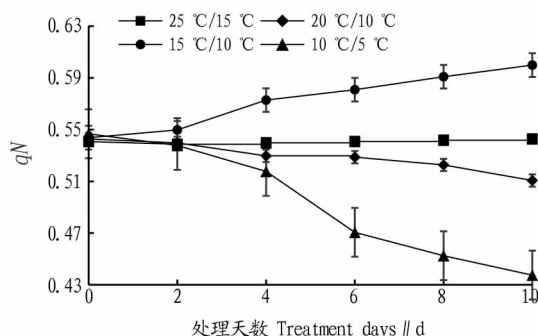
2.3 低温弱光对葫芦幼苗叶绿素荧光参数的影响 低温弱光胁迫致使 PSII 最大光化学量子产量(F_v/F_m) 普遍下降(图7)。常温下,葫芦幼苗 PSII 原初光能转化率(F_v/F_m) 始终保持在 0.853~0.858 的相对稳定区间,轻度低温处理 6 d 后, F_v/F_m 值为 0.783,降幅为 7.9%,6~10 d 变化不大;中度、重度低温胁迫处理,在处理 10 d 后, F_v/F_m 下降 23.2% 和 50.9%。结果表明,反应中心色素蛋白的潜在活性受到损伤,光合作用原初反应产生抑制,且这种抑制随着低温胁迫的加剧而加大。

低温胁迫处理致使葫芦幼苗叶片光化学淬灭系数(qP) 持续下降。轻度、中度低温弱光胁迫呈稳定持续下降趋势,处理后 6 d 相比处理前下降 25%;重度低温胁迫处理后 6 d 相比处理前下降了 50.6%,10 d 后下降 76.8%(图8)。

非光化学淬灭系数(qN) 在中度低温弱光胁迫处理期间与光化学淬灭系数(qP) 变化趋势相反呈上升状态,在处理 10 d 后相比处理前增加 10.3%。轻度、重度低温弱光胁迫下 qN 持续下降,其中重度低温弱光胁迫处理在 4~6 d 下降幅度最大为 9.1%,处理后 10 d qN 比处理前下降了 19.9%(图9)。

3 讨论

3.1 低温弱光对葫芦幼苗叶绿素含量的影响 叶绿素是高

图7 低温弱光对葫芦 F_v/F_m 的影响Fig.7 Effect of low temperature and weak light on F_v/F_m of calabash seedlings图8 低温弱光对葫芦 qP 的影响Fig.8 Effect of low temperature and weak light on qP of calabash图9 低温弱光对葫芦 qN 的影响Fig.9 Effect of low temperature and weak light on qN of calabash

等植物进行光合作用最重要的组成元件,也是自然界中最活跃的光量子感受器之一。植物体内的叶绿素主要包括叶绿素 a 和叶绿素 b,其中绝大部分叶绿素 a 和全部叶绿素 b 具有吸收光能的功能,并把光能传递到反应中心色素发生光化学反应^[5-7]。叶绿素含量直接影响植物吸收光能的光合效率,研究表明叶绿素含量与光合速率存在正相关。该研究表明重度低温弱光胁迫显著影响葫芦幼苗叶片叶绿素 a+b,其含量呈显著下降,且是基于叶绿素 a、叶绿素 b 共同减少的基础上,这可能是低温弱光胁迫下葫芦幼苗体内叶绿素合成开始降低,也可能是叶绿体受外界因素的影响而失去活性,或者是两者共同相互影响产生的结果。与此不同,低温弱光胁迫下葫芦幼苗叶片叶绿素 a/b 在中度和重度低温胁迫下呈显著增加趋势,这可能与植物的自我调节机制有关。试验结果与王春萍等^[2]、侯伟等^[3] 研究结果一致。

3.2 低温弱光对葫芦幼苗光合特性的影响 研究表明,叶片净光合速率(P_n)的变化呈下降趋势,说明叶片受低温弱光胁迫致使开始黄化、萎蔫、干枯至易碎。气孔导度(G_s)和蒸腾速率(T_r)等参数均显著下降,表明逆境胁迫下植物叶片气孔开张度变小,气孔密度减少,从而直接导致蒸腾速率下降。细胞间 CO_2 浓度(C_i)与 P_n 和 T_r 变化趋势相反呈上升状态,这表明葫芦幼苗光合特性减弱是由叶绿体等非气孔因素导致的。 G_s 的下降可能是植物光合机构受到严重损害的结果。低温弱光处理直接抑制了葫芦幼苗叶片的光合作用,且温度越低对植物产生的危害越明显,这与前人研究结果基本一致^[8-10]。

3.3 低温弱光对葫芦叶绿素荧光变化的影响 叶绿素荧光的变化可以反映植物光合作用的变化。荧光参数中 PSII 最大光化学系数(F_v/F_m)指反应中心的最大光能转化效率^[11]。低温弱光处理致使葫芦幼苗叶片 F_v/F_m 在中度胁迫和重度胁迫下显著降低,表明反应中心光能转化率与温度存在(极)显著正相关关系,试验结果表明可能是反应中心色素蛋白的潜在活性受到损伤,也可能是弱光处理影响光能的转换效率,随着低温弱光胁迫的加剧而显著加大。光化学淬灭系数(qP)是光化学反应以光的形式引起的荧光耗散所发生的产额,反映了反应中心色素分子与原初电子受体 A 和次级电子供体 D 氧化还原状态以及反应中心占原初反应的比例^[12-13]。该试验中轻度和中度低温弱光胁迫致使葫芦幼苗 qP 下降不显著,当低温弱光胁迫达到一定程度时, qP 会显著下降。说明电子受体 A 和电子供体 D 的氧化还原能力减弱,PSII 的光化学反应比例降低,电子受体 A 和电子供体 D 重新氧化还原能力减弱,电子传递链受到破坏。非光化学淬灭系数(qN)是反映 PSII 聚光色素所吸收的光能以热能的形式耗散的部分, qN 能在逆境环境中通过非辐射能量耗散的形式来调节植物体内吸收的过多光能,是植物长期进化以来自身的一种保护机制。中度低温弱光胁迫促使葫芦幼苗 qN 持续上升,表明中度低温弱光胁迫下葫芦幼苗叶片吸收多余的能量以热能形式耗散的能量增加,研究表明可能是植物在低温弱光胁迫中叶黄素循环的热耗散作用表达的结果。重度低温弱光胁迫下 qN 持续下降则表明极端低温处理抑制了

植物的热耗散,致使光合色素所吸收的光能远超过其耗散,造成活性氧自由基的产生。这与之之前叶绿素含量变化情况一致。

逆境胁迫对葫芦幼苗光合作用和叶绿素荧光参数影响较大,持续的低温弱光胁迫会直接造成葫芦幼苗叶片光合机构的损伤,包括光合电子传递、 CO_2 固定以及光能的吸收、传递与转化等都会由于低温弱光胁迫而导致严重的伤害。长时间重度低温弱光胁迫对葫芦幼苗的重要光合组成部分可以造成不可逆的损害,也会使葫芦幼苗体内的众多保护组织和调节机能完全丧失。

参考文献

- [1] 葫芦的分类以及文化鉴赏[EB/OL].[2019-04-05].<https://zhuanlan.zhihu.com/p/45854193>.
- [2] 王春萍,黄启中,雷开荣,等.低温弱光下辣椒幼苗叶绿素荧光特性及其与品种耐性的关系[J].园艺学报,2015,42(9):1798-1806.
- [3] 侯伟,孙爱花,杨福孙,等.低温胁迫对西瓜幼苗光合作用与叶绿素荧光特性的影响[J].广东农业科学,2014(13):35-39.
- [4] PLOSHCHUK E L, BADO L A, SALINAS M, et al. Photosynthesis and fluorescence responses of *Jatropha curcas* to chilling and freezing stress during early vegetative stages[J]. Environmental and experimental botany, 2014, 102:18-26.
- [5] MURCHIE E H, LAWSON T. Chlorophyll fluorescence analysis: A guide to good practice and understanding some new application[J]. Journal of experimental botany, 2013, 64(13):3983-3998.
- [6] 张会慧,田祺,刘关君,等.转 2-Cys Prx 基因烟草抗氧化酶和 PSII 电子传递对盐和光胁迫的响应[J].作物学报,2013,39(11):2023-2029.
- [7] 周超凡,吴帼秀,李婷,等.外源 H_2S 对低温下日光温室黄瓜光合作用及抗氧化系统的影响[J].园艺学报,2016,43(3):462-472.
- [8] ZHANG K P, FANG Z J, LIANG Y, et al. Genetic dissection of chlorophyll content at different growth stages in common wheat[J]. Journal of genetics, 2009, 88(2):183-190.
- [9] AVENSON T J, CRUZ J A, KANAZAWA A, et al. Regulating the proton budget of higher plant photosynthesis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(27):9709-9713.
- [10] MOHANTY S, GRIMM B, TRIPATHY B C. Light and dark modulation of chlorophyll biosynthetic genes in response to temperature[J]. Planta, 2006, 224(3):692-699.
- [11] 颜建明,郁继华,黄高宝,等.低温弱光下辣椒叶片 PSII 光能吸收和转换变化及与品种耐性的关系[J].中国农业科学,2011,44(9):1855-1862.
- [12] MÜLLER P, LI X P, NIYOGI K K. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy[J]. Plant physiology, 2001, 125(4):1558-1566.
- [13] TAKAHASHI S, MURATA N. How do environmental stresses accelerate photoinhibition? [J]. Trends in plant science, 2008, 13(4):178-182.