

低温胁迫对油菜叶片光能吸收转换利用的影响

范思静, 王亚男 (安徽金培因科技有限公司, 安徽合肥 230088)

摘要 冬油菜是我国主要的油料来源, 其在生长过程中常常遭受连续零下低温的胁迫。通过模拟连续低温胁迫处理, 探讨低温胁迫对油菜光能吸收转换的影响。结果表明, 低温处理 0~8 h, 对油菜叶片的光能吸收转换利用效率影响不大, 低温处理 8 h 后, 叶片的光能吸收转换利用效率明显降低, 初始荧光参数 F_0 、 F_m 、 F_v/F_m 均明显下降, 光化学猝灭系数 $Y(II)$ 、 qP 、 qL 与非光化学猝灭系数 $Y(NPQ)$ 、 NPQ 和 qN 也均明显降低, 而实时荧光参数 F_0' 、非光化学猝灭系数 $Y(NO)$ 明显上升。经连续低温处理 8 h 以后, 光合系统 II 已经受到破坏, 不能进行正常的光能吸收转换利用。

关键词 冬油菜; 低温胁迫; 光能吸收转换; 叶绿素荧光

中图分类号 S634.3 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2021)24-0053-02

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.24.012



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Effects of Low Temperature on Light Absorption, Conversion and Usage for Rape Leaves

FAN Si-jing, WANG Ya-nan (Anhui Jinpeiying Technology Co., Ltd., Hefei, Anhui 230088)

Abstract Winter rape is the main source of oil in China. It often suffers continuous low temperature stress during the growth process. In the experiment, the effects of low temperature stress on the light energy absorption, transformation and usage of rape by simulating continuous low temperature stress. As a result, the low temperature had weak effects on the changes of light energy absorption, transformation and usage at 0-8 h low temperature treatment. Nevertheless, after 8 h of low temperature treatment, the efficiency of light energy absorption conversion was significantly down-regulated, the initial fluorescence parameters F_0 , F_m and F_v/F_m were significantly decreased. Similarly, the photochemical quenching coefficients ($Y(II)$, qP and qL) and the non-photochemical quenching coefficients ($Y(NPQ)$, NPQ and qN) were significantly decreased too. Otherwise, the real-time fluorescence parameters F_0' and the non-photochemical quenching coefficient $Y(NO)$ were increased significantly. These results indicated that after 8 hours of continuous low temperature treatment, the photosynthetic system II was damaged and could not conduct normal light energy absorption and conversion.

Key words Winter rape; Low temperature stress; Light energy absorption and conversion; Chlorophyll fluorescence

油菜是我国主要的油料作物之一, 种植历史悠久, 我国的油菜种植区域分为冬油菜区域和春油菜区域, 其中冬油菜种植主要集中于长江流域, 春油菜种植主要集中于东北和西北地区^[1]。但就面积和产量而言, 冬油菜面积与产量均占全国油菜种植 90% 以上。由于冬油菜种植集中于长江流域的上、中、下游 3 个区, 相对于长江上游地区, 中、下游地区冬季温度较低, 特别随着近年来极端天气的频发, 中、下游地区连续零下低温的天气时有发生, 严重影响了油菜的生长发育^[2]。

光合作用是一个复杂的生理生化过程, 分为原初反应、同化力形成和碳同化 3 个过程, 包括了光物理、光化学以及生物化学转变的复杂过程^[3]。而在原初反应过程中, 叶片吸收光能进行转换的过程中, 一部分能量被吸收利用转换为化学能, 另一部分光能无法吸收, 转换为波长较长的荧光进行释放^[4]。尤其在逆境条件下, 当植物暴露于强光照条件下, 荧光的能量耗散方式对植物的光合系统起到了重要的保护作用^[5]。叶绿素荧光技术也是在此基础上发展形成的一种应用光合作用研究的技术, 荧光参数变化的检测分析显示, 对叶片对光能的吸收、传递、耗散、分配等进行评估, 可有效评价植物的光合生理状态, 尤其是对逆境条件的响应状况^[6]。该技术已被广泛应用于不同环境条件下植物光能吸收转换效率变化的研究。为了进一步分析光 II 的光能利用效率, 前人根据植物光能耗散的 3 种途径, 即光保护性的热

耗散、光化学作用能量吸收与叶绿素荧光耗散发展了“lake model”和“puddle model”2 种参数模式, 在“lake model”中光合系统 II 反应中心的天线系统是紧密关联的整体, 天线系统通过相互协调进行能量分配, 而“puddle model”则以天线系统单体为模式^[7]。在 2 种模式下从初始的叶绿素荧光参数 F_0 、 F_m 、 F_v/F_m 等衍生了一系列的荧光参数, 如光化学猝灭系数 $Y(II)$ 、非光学猝灭系数 $Y(NO)$ 、非光学猝灭系数 $Y(NPQ)$ 等^[7]。目前, 大量的研究表明, 2 种参数的有效结合使用更能反映植物光系统 II 反应中心在光能吸收、利用上的状态^[7]。鉴于此, 笔者以创杂 8 号油菜幼苗为试验材料, 通过模拟零下连续低温处理, 研究低温胁迫对油菜叶片光能吸收转换的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 试验以安徽金培因公司选育的油菜品种创杂 8 号为试验材料。

1.2 方法 将育苗基质分装至育苗盘, 播种后浇水至育苗基质完全湿润, 而后将育苗盘放置于人工气候培养箱, 温度 20 °C、湿度 70%, 光照强度设置在 500 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 光照时间 10 h, 暗培养 14 h, 连续培养至幼苗长至 3 叶期, 剔除小苗和畸形苗, 选择大小一致的小苗重新移栽, 连续培养至第 4 片叶完全伸展时, 将整盘苗移至人工低温气候室, 温度 -4 °C, 湿度 70%, 光照强度为 200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 分别测定处理前、处理后 4、8、12 和 24 h 油菜叶片叶绿素荧光参数和光合作用参数。

1.3 叶绿素荧光慢诱导参数的测定 选取健康完整、完全伸展的倒三叶, 在 09:00 开始测量。先用暗适应叶夹夹住叶

作者简介 范思静(1991—), 女, 安徽宣城人, 硕士, 农艺师, 从事品种选育与管理工作的。

收稿日期 2021-04-14

片进行暗适应,在暗适应 20 min 以后,采用德国 WALZ 公司 PAM-2500 叶绿素荧光仪按照慢诱导荧光参数测定模式,开始慢诱导荧光参数的测定,先打开测量光,然后饱和脉冲光,打开作用光,连续间断饱和脉冲并记录数据。其中,饱和脉冲光强设置为 $3\ 000\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,脉冲频率 25 s,测量光强为 $150\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,作用光强为 $200\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,监测时长 250 s。初始最小荧光参数 (F_0 , Original minimum fluorescence parameter)、最大荧光参数 (F_m , Original maximum fluorescence parameter) 在慢诱导的启动初始,暗适应后打开测量光和饱和脉冲光时测定;光下的最小荧光参数 F_0' 、最大荧光参数 F_m' 、实时荧光参数 F_s 等在打开作用光和饱和脉冲光时进行测量。

叶绿素荧光参数:光化学猝灭系数 $Y(\text{II})$ 、光化学猝灭系数 qP 、光化学猝灭系数 qL 、非光化学猝灭系数 $Y(\text{NPQ})$ 、非光化学猝灭系数 NPQ 、非光化学猝灭系数 qN 分别按照“lake model”和“puddle model”2 种参数模式计算: $Y(\text{II}) = (F_m' - F_s) / F_m'$, $qP = (F_m' - F) / (F_m' - F_0')$, $\text{NPQ} = F_m / F_m' - 1$, $\text{ETR} = 0.5 \times \text{Yield} \times \text{PAR} \times 0.84$, $qL = [(F_m' - F_s) / (F_m' - F_0')] \times (F_0' / F_s)$, $Y(\text{NPQ}) = 1 - Y(\text{II}) - 1 / [\text{NPQ} + 1 + qL(F_m / F_0 - 1)]$, $Y(\text{NO}) = 1 - Y(\text{II}) - Y(\text{NPQ})$ 。

1.4 数据处理 初始最小荧光参数 F_0 、初始最大荧光参数 F_m 、光合系统 II 潜在光化学效率 F_s / F_m 等参数的测定均按照 3 次重复进行,采用软件 DPS 2000 统计分析软件,按 turkey 多重比较方法进行试验结果差异显著性分析^[8]。

2 结果与分析

2.1 低温处理对叶绿素荧光初始参数的影响 初始荧光参数 F_0 是暗适应后光合系统 II 反应中心全部开放时的荧光强度,而初始最大荧光参数 F_m 则是在暗适应后强光刺激下光合系统 II 反应中心全部关闭的荧光强度。从图 1 可以看出,经连续低温处理后,叶绿素荧光初始参数均发生了明显的变化。连续低温处理 8 h 后,暗适应后叶片的叶绿素初始最小荧光 F_0 、初始最大荧光 F_m 以及光合系统 II 潜在光化学效率 F_s / F_m 均明显下降,而作用光照射后产生的实时荧光参数 F_0' 逐步升高。

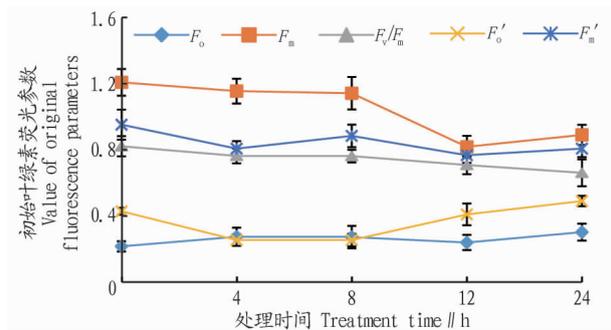


图 1 低温处理对初始叶绿素荧光参数变化的影响

Fig.1 Effects of low temperature treatment on changes of original fluorescence parameters

2.2 低温处理对叶绿素荧光光化学猝灭参数的影响 光化学猝灭系数 $Y(\text{II})$ 是光化学系统 II 的实际光化学量子效率,

其值反映了光下光合系统 II 反应中心部分关闭时的光化学效率,是光化学吸收利用的能量占吸收的光能的比率。从图 2 可以看出,经低温处理后,光化学猝灭系数 $Y(\text{II})$ 逐步降低,处理 24 h 达到最低值。光化学猝灭系数 qP 表示光系统 II 反应中心所占的比例,而光化学猝灭系数 qL 表示光合系统 II 开放的程度。经低温处理后, qP 与 qL 均呈逐步降低趋势。以上结果表明,随着低温处理时间的延长,开放的光合系统 II 反应中心逐步减少。

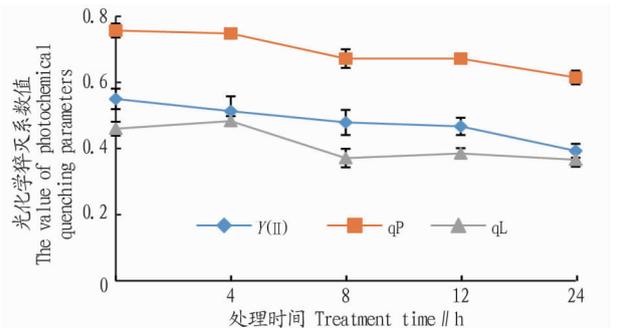


图 2 低温处理对叶绿素荧光光化学猝灭参数的影响

Fig.2 Effects of low temperature treatment on the changes of photochemical quenching parameters

2.3 低温处理对叶绿素荧光非光化学猝灭参数的影响 非光化学猝灭系数 $Y(\text{NPQ})$ 、 NPQ 和 qN 是植物光能过剩的情况下,植物通过调节能量转换来进行自身保护的一种重要标志。从图 3 可以看出,低温处理 0~8 h,非光化学猝灭系数略有升高;而在处理 8 h 以后,非光化学猝灭系数显著下降,在处理的 12 h 达到最低水平。而非光化学猝灭系数 $Y(\text{NO})$ 是植物光能过剩的情况下,光合系统 II 不可调节性能量耗散的标志,其值的变化反映了光合系统 II 反应中心能量转换状态。由图 3 可知,经低温处理后,低温处理 0~8 h,非光化学猝灭系数 $Y(\text{NO})$ 缓慢上升,但在处理 8 h 以后, $Y(\text{NO})$ 值快速升高,到处理 24 h 达到最大值,表明连续低温处理对光合系统 II 已经产生了一定的伤害。

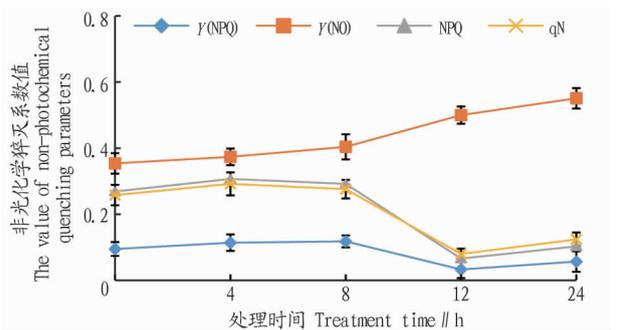


图 3 低温处理对叶绿素荧光非光化学猝灭参数的影响

Fig.3 Effects of low temperature treatment on the changes of non-photochemical quenching parameters

3 结论与讨论

光是植物生长的能量来源,植物对光能的吸收、转换和利用是个复杂的生理生化过程。叶绿素荧光技术作为光合作用能量吸收转换研究的探针,已被广泛用于植物光合特性 (下转第 59 页)

中 Pro、Arg、Asp、Glu、Lys 的含量,特别是 Arg 的含量,由于突变体 *cisc(ta)* 耐冷性功能基因的缺失,其耐冷性极显著弱于 P1211。该研究加深了对水稻苗期耐冷性生理基础的认识,为突变体 *cisc(ta)* 耐冷性功能缺失基因的克隆及水稻耐冷机理研究奠定了基础。

参考文献

[1] KANEDA C, BEACHELL H M. Response of indica-japonica rice hybrids to low temperatures[J]. SABRAO J, 1974, 6: 17-32.

[2] MACKILL D J, LEI X M. Genetic variation for traits related to temperate adaptation of rice cultivars[J]. Crop Sci, 1997, 37(4): 1340-1346.

[3] 李莺歌, 吴俊, 柏斌, 等. 水稻苗期耐冷性研究进展[J]. 杂交水稻, 2015, 30(3): 9-16, 28.

[4] AROCA R, PORCEL R, RUIZ-LOZANO J M. Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions[J]. J Exp Bot, 2012, 63(1): 43-57.

[5] CHEN Y, JIANG J F, CHANG Q S, et al. Cold acclimation induces freezing tolerance via antioxidative enzymes, proline metabolism and gene expression changes in two chrysanthemum species[J]. Mol Biol Rep, 2014, 41(2): 815-822.

[6] SHARKEY T D, ZHANG R. High temperature effects on electron and proton circuits of photosynthesis[J]. J Integr Plant Biol, 2010, 52(8): 712-722.

[7] CORPAS F J, BARROSO J B, DEL RÍO L A. Peroxisomes as a source of reactive oxygen species and nitric oxide signal molecules in plant cells[J]. Trends Plant Sci, 2001, 6(4): 145-150.

[8] SATO Y, MASUTA Y, SAITO K, et al. Enhanced chilling tolerance at the booting stage in rice by transgenic overexpression of the ascorbate peroxidase gene, *OsAPXa*[J]. Plant Cell Rep, 2011, 30(3): 399-406.

[9] MITTAL D, MADHYASTHA D A, GROVER A. Genome-wide transcriptional profiles during temperature and oxidative stress reveal coordinated expression patterns and overlapping regulons in rice[J]. PLoS One, 2012, 7(7): 1-15.

[10] PAMPLONA R. Advanced lipoxidation end-products[J]. Chem Biol Interact, 2011, 192(1/2): 14-20.

[11] DUBEY A K, KUMAR N, KUMAR A, et al. Over-expression of *CarMT* gene modulates the physiological performance and antioxidant defense system to provide tolerance against drought stress in *Arabidopsis thaliana* L[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2019, 171: 54-65.

[12] CHINNUSAMY V, ZHU J H, ZHU J K. Cold stress regulation of gene expression in plants[J]. Trends Plant Sci, 2007, 12(10): 444-451.

[13] KAZEMI-SHAHANDASHTI S S, MAALI-AMIRI R, ZEINALI H, et al. Effect of short-term cold stress on oxidative damage and transcript accumulation of defense-related genes in chickpea seedlings[J]. J Plant Physiol, 2014, 171(13): 1106-1116.

[14] 卢太白, 吕金印, 陆和平, 等. 越冬及返青期冬小麦叶片中可溶性蛋白质、氨基酸含量与抗寒性的关系[J]. 西北农业学报, 2009, 18(1): 56-59.

[15] 刘次桃, 王威, 毛毕刚, 等. 水稻耐低温逆境研究: 分子生理机制及育种展望[J]. 遗传, 2018, 40(3): 171-185.

[16] 萧浪涛, 王三根. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 110.

[17] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007: 161-193.

[18] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 2版. 广州: 华南理工大学出版社, 2006: 134.

[19] SHAH K, KUMAR R G, VERMA S, et al. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings[J]. Plant Sci, 2001, 161(6): 1135-1144.

[20] KAR M, MISHRA D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence[J]. Plant Physiol, 1976, 57(2): 315-319.

[21] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 164-167.

[22] 刘伟, 张群, 李志坚, 等. 不同品种黄花菜游离氨基酸组成的主成分分析及聚类分析[J]. 食品科学, 2019, 40(10): 243-250.

[23] 周介雄, 蒋向辉, 余显权. 抗冷水稻的生理生化特性[J]. 种子, 2003(4): 47-50.

[24] BILSKA A, SOWINSKI P. Closure of plasmodesmata in maize (*Zea mays*) at low temperature: A new mechanism for inhibition of photosynthesis[J]. Ann Bot, 2010, 106(5): 675-686.

[25] SHARMA P, SHARMA N, DESWAL R. The molecular biology of the low-temperature response in plants[J]. BioEssays, 2005, 27(10): 1048-1059.

[26] 张成良, 杨军, 陈大洲, 等. 东乡野生稻根系抗氧化系统对冷胁迫的反应[J]. 江西农业学报, 2009, 21(11): 1-3.

[27] 王国骄, 王嘉宇, 马殿荣, 等. 不同耐冷性杂草稻和栽培稻抗氧化系统对冷水胁迫的响应[J]. 中国农业科学, 2015, 48(8): 1660-1668.

[28] 龚明, 刘友良, 朱培仁, 等. 低温下水稻叶片中蛋白质及游离氨基酸的变化[J]. 植物生理学通讯, 1989, 25(4): 18-22.

(上接第 54 页)

的研究^[9]。例如,在干旱胁迫下,随着干旱胁迫程度的加深,欧李叶片的最大荧光产量、光合系统 II 潜在最大光化学效率、光化学淬灭系数等均呈下降趋势^[10]。而在低温条件下,2 个草莓品种最大光化学效率显著降低,反应中心吸收、捕获的能量随胁迫时间延长大致呈增加趋势^[11]。研究人员以不同浓度梯度的 PbCl₂ 处理阔叶树种木荷和栎树,研究 PbCl₂ 对树叶光合系统 II 反应中心运转情况的影响,结果表明随着作用光强的增加,相对电子传递速率 ETR、可调节性能量耗散非光化学淬灭系数呈上升趋势,非调节性能量耗散非光化学淬灭系数 Y(NO)、光系统 II 实际光化学效率(Y II)以及光化学淬灭系数 qL 呈下降趋势,PbCl₂ 处理在一定程度上抑制了木荷和栎树光合系统 II 反应中心的活性,但并没有对光合系统 II 反应中心产生破坏作用^[12]。而在该试验中,低温处理 0~8 h,叶片的光能吸收转换利用效率变化不大,但在低温处理 8 h 后,叶片的光能吸收转换利用效率明显降低,初始荧光参数 F₀、F_m、F_v/F_m 均明显下降,光化学淬灭系数 Y(II)、qP、qL 与非光化学淬灭系数 Y(NPQ)、NPQ 和 qN 也均明显降低,实时荧光参数 F_v'、非光化学淬灭系数 Y(NO)则明显上升,表明光合系统 II 活性显著降低,已不能进行正常的光能吸收转换利用。

参考文献

[1] 尹天能. 冬油菜种植适宜性及影响因子评价研究[J]. 农业与技术, 2017, 37(6): 18.

[2] 周冬梅, 张仁陟, 孙万仓, 等. 北方旱寒区冬油菜种植气候适宜性研究[J]. 中国农业科学, 2014, 47(13): 2541-2551.

[3] 李晓, 冯伟, 曾晓春. 叶绿素荧光分析技术及应用进展[J]. 西北植物学报, 2006, 26(10): 2186-2196.

[4] 李正华, 李海霞, 李静, 等. 叶绿素荧光分析技术在林木研究中的应用[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(23): 156-158.

[5] 黄光福, 唐巧玲, 唐云鹏, 等. 叶绿素荧光分析技术在水稻研究中的应用[J]. 作物研究, 2013, 27(2): 174-179.

[6] 温国胜, 田海涛, 张明如, 等. 叶绿素荧光分析技术在林木培育中的应用[J]. 应用生态学报, 2006, 17(10): 1973-1977.

[7] KRAMER D M, JOHNSON G, KIIRATS O, et al. New fluorescence parameters for the determination of Q_A redox state and excitation energy fluxes[J]. Photosynthesis research, 2004, 79(2): 209-218.

[8] TANG Q Y, ZHANG C X. Data Processing System (DPS) software with experimental design, statistical analysis and data mining developed for use in entomological research[J]. Insect science, 2013, 20(2): 254-260.

[9] BHAGOOI R, MATTAN-MOORGAWA S, KAULLYSING D, et al. Chlorophyll fluorescence-A tool to assess photosynthetic performance and stress physiology in symbiotic marine invertebrates and seaplants[J/OL]. Marine pollution bulletin, 2021, 165 [2020-11-05]. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112059.

[10] 杨馥霞, 汤玲, 贺欢, 等. 利用叶绿素荧光技术分析 2 个草莓品种的低温适应性[J]. 中国果树, 2021(3): 13-19.

[11] 张芳, 任鹏达, 李连国, 等. 干旱胁迫条件下欧李叶片超微弱发光与叶绿素荧光特性关系[J]. 安徽农业大学学报, 2021, 48(1): 46-51.

[12] 黄鑫浩, 朱凡, 胡丰姣, 等. 基于 Lake 模型的 Pb 胁迫对木荷和栎树幼树叶片叶绿素荧光参数的影响研究[J]. 生态学报, 2018, 38(4): 1284-1292.