

网络出版日期:2015-02-07

网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1220.S.20150207.1203.016.html

中午适度遮阴对苹果叶片光合特性的影响

刘颖娇,李国防,王志博,张 雯,郭延平,梁 俊,梅立新,赵政阳

(西北农林科技大学 园艺学院,农业部 西北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室,陕西杨凌 712100)

摘 要 以苹果为试验材料,研究中午全光照和遮阴下苹果叶片的光合生理特征。测定 2 种光强条件下苹果叶片的净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(T_r)和胞间 CO_2 摩尔分数(C_i)等参数以及叶绿素含量,叶绿素荧光参数和抗氧化酶的活性。结果表明,中午强光($\geq 1\,000\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)下,遮阴叶片具有较高的 P_n 、 G_s 、 T_r 和 C_i ,同时,最大光化学效率(F_v/F_m)和通过 PSⅡ 的电子传递能力($\Phi_{\text{PSⅡ}}$)均明显高于全光照的叶片,并且抗氧化酶(SOD、CAT、GPX)活性相对较弱。可见,遮阴叶片在中午强光下优于全光照叶片,适度遮阴减弱了光系统反应中心的光破坏,增强了光合电子传递能力,进而提高了光合效率。

关键词 苹果叶片;光合作用;光破坏;遮阴

中图分类号 S661.1

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2015)02-0091-06

Effect of Moderately Shade on Photosynthetic Characteristic in *Malus domestica* Borkh. Leaves during Middy

LIU Yingjiao, LI Guofang, WANG Zhibo, ZHANG Wen, GUO Yanping,
LIANG Jun, MEI Lixin and ZHAO Zhengyang

(College of Horticulture, Northwest A&F University, Key Laboratory of Horticultural Plant Biology and Germplasm
Innovation in Northwest China, Ministry of Agriculture, Yangling Shaanxi 712100, China)

Abstract With the *Malus domestica* Borkh. trees growing under full sunlight and shade conditions as materials, net photosynthetic rate (P_n), stomatal conductance (G_s), transpiration rate (T_r), intercellular CO_2 molality fraction (C_i), chlorophyll content, Chl a fluorescence parameters and activities of antioxidant enzymes were studied in this paper. The results showed that apple leaves in shade level displayed decreased net photosynthetic rate (P_n), stomatal conductance (G_s), transpiration rate (T_r) and intercellular CO_2 molality fraction (C_i) during forenoon but on the contrary in the afternoon. The maximum quantum yield of PSⅡ photochemistry (F_v/F_m) and effective quantum yield of PSⅡ photochemistry ($\Phi_{\text{PSⅡ}}$) in shade leaves during afternoon were higher than those in full sunlight leaves. Meanwhile, these shade apple leaves decreased the activities of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and guaiacol peroxidase (GPX). The results of the study indicate that moderate shading can alleviate the photodamage of PSⅡ reaction center and then increase the photosynthetic electron transport as well as improve the total photosynthetic efficiency under strong light ($\geq 1\,000\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) during afternoon.

Key words Apple leaves; Photosynthesis; Photodamage; Shade

收稿日期:2014-04-29 修回日期:2014-11-28

基金项目:国家苹果产业体系(CARS-28);优质丰产苹果新品种选育(2011KTZB02-02-01);国家科技支撑计划(2014BAD16B00)。

第一作者:刘颖娇,女,硕士,研究方向为园艺植物种质资源生理生态。E-mail:625768659@qq.com

通信作者:郭延平,男,教授,博士生导师,从事果树生理与分子生物学、果树环境生物学的研究。E-mail:ypguo_nwsuaf@163.com

苹果(*Malus domestica* Borkh.)作为世界性主要水果,也是中国栽培面积最大的水果^[1],一直以来如何提高苹果产量和品质是苹果生产的主要目标,而光合作用是植物产量和品质形成的物质基础,因此,进一步研究苹果光合生理变化具有重要的意义。

光是植物生长发育的基础,是植物分布和生产的主要环境因子,遮阴可以改变植物的生长环境,进而影响植物的光合生理特征^[2]。当植物吸收的光能超过自身的需要时,就会引起光合能力下降,并且产生光破坏,进而影响其产量和品质^[3]。前人对光破坏的研究很广泛,但对适度的遮阴可以减少光破坏的研究尚未见报道。植物光合机构发生光破坏的主要原因是活性氧的大量积累,为了避免细胞内活性氧的大量积累,植物自身会产生一系列的抗氧化酶来保护自身免受氧化胁迫^[4]。本研究通过对苹果叶片的气体交换参数、叶绿素含量、叶绿素荧光和抗氧化酶活性的测定和评估,比较全光照和遮阴 2 种光照条件下苹果叶片的光合生理特征,为苹果的栽培提供理论与技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料

本试验在西北农林科技大学苹果试验圃进行。试材为 3 a 生苹果(*Malus domestica* Borkh.)矮化盆栽苗,基砧为八棱海棠(*Malus ro-busta* Rehd.),中间砧为 M26,移栽于高 170 mm,直径 240 mm 的塑料盆中。每盆的盆土约为 10 kg,栽培基质为体积比 2:1 的田间土壤和有机质,将盆栽苗置于塑料温室中生长。研究材料分为全光照(对照)和遮阴 2 种处理方式,从 7 月份开始,每天 12:00—16:00(强光时间段)进行遮阴,遮阴的材料为透光率 50%的遮阴网。生长期间及时充分灌水,以防水分亏缺。

9 月初开始测定各个指标,在晴朗的天气选取生长状态良好、生理状态一致的苹果盆栽苗的树冠外围标记叶片进行测定。

1.2 方法

1.2.1 叶片气体交换参数测定 选择晴朗的天气,于 14:00 开始测定所有的参数。使用便携式光合仪系统(LI-6400T, Li-Cor Inc., USA)测定标记叶片的净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(T_r)和胞间 CO_2 摩尔分数(C_i)等参数。

测定温度为气温,气源为空气,光源为测定系统中的二极管,测定光强为 $1\ 000\ \mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ 。当系统达到稳定时,开始记录所有的参数。

1.2.2 叶绿素含量的测定 于晴朗天气的 14:00 左右选取植株中等部位的新鲜叶片,用打孔器(直径 0.4 cm)打孔 20 片叶圆片,并将其浸泡在 5 mL 80%丙酮溶液中,4 ℃ 条件下置于黑暗中 24 h。浸泡过后,提取后的溶液使用分光光度计(UV-2800, UNICO, China)分别在 645 和 665 nm 处进行比色并计算^[5]。

1.2.3 叶绿素荧光参数的测定 选择晴朗的天气,下午 14:00 开始测定所有的参数。标记的叶片经暗适应 20 min 后,使用便携式叶绿素荧光仪(PAM-2500, Walz, Effeltrich, Germany)测定初始荧光(F_0)。测定时,先打开测量光($PFD < 0.1\ \mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$)测定 F_0 ,再打开一次饱和脉冲光($PFD > 80\ 000\ \mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$,测定最大荧光(F_m)和最大光化学效率(F_v/F_m)。之后,打开作用光($960\ \mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$),当 F_s (光下稳态荧光)稳定之后,再打开饱和脉冲光测定 F_m' ,然后关闭作用光,打开远红光,测定 F_0' (光下初始荧光)。PS II 的量子产量(Φ_{PSII})按公式 $\Phi_{PSII} = (F_m' - F_s)/F_m'$ 计算。数据处理软件为 PAM Win(Walz, Germany)。

1.2.4 抗氧化酶活性的测定 于晴朗天气 14:00 左右,选取植株中等部位的叶片并将其取下,用液氮速冻后于 -80 ℃ 保存。全光照和遮阴处理各选取 5 株,每株上选取 3 片成熟叶。将保存的叶片去除中脉,称取一定量(0.1 g),加入预冷的提取液和少许石英砂,充分冰浴研磨后,转入离心管中,匀浆最后定容于 1.8 mL。然后 4 ℃ 下 13 000 g 离心 20 min,将上清液分装,液氮冷冻后于 -85 ℃ 保存或直接进行酶活性分析。100 mmol · L⁻¹ 磷酸钾缓冲液(pH 7.0)包括:5%的 PVP, 0.3% Trinton X-100, 1 mmol · L⁻¹ EDTA。

SOD 活性(超氧化物歧化酶, EC 1.15.1.1)的测定:按照 Dhindsa 等^[6]的方法测定 SOD 活性。1 mL 反应混合液中包含 50 mmol · L⁻¹ 磷酸缓冲液(pH 7.8), 6.5 mmol · L⁻¹ 甲硫氨酸, 50 $\mu mol \cdot L^{-1}$ NBT, 100 $\mu mol \cdot L^{-1}$ EDTA, 10 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 核黄素和 20 μL 的酶提取液。加入核黄素后开始反应,放置在光强为 $150\ \mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ 的光下 5 min,然后放在黑暗下

停止反应。使用分光光度计在 560 nm 处测定吸光度并计算。

CAT 活性(过氧化氢酶,EC 1.11.1.6)的测定:依照 Aebi^[7]的方法测定 CAT 活性。1 mL 反应混合液中包含 50 mmol · L⁻¹ 磷酸缓冲液(pH 7.0), 10 mmol · L⁻¹ H₂O₂ 和 40 μL 的酶提取液。加入 H₂O₂ 后开始反应。在 240 nm 处测定吸光度并计算。

GPX 活性(愈创木酚过氧化物酶,EC 1.11.1.7)的测定:GPX 活性的测定依据 Egley 等^[8]的方法。1 mL 反应混合液中包含 50 mmol · L⁻¹ 磷酸缓冲液(pH 7.6), 10 mmol · L⁻¹ H₂O₂, 10 mmol · L⁻¹ 愈创木酚和 5 μL 的酶提取液。加入 H₂O₂ 后开始反应。在 470 nm 处测定吸光度并计算。

1.3 数据处理与分析

采用 Excel 处理数据,Origin 7.5 软件绘图,SPSS 19 软件进行 Duncan's 显著性分析。

2 结果与分析

2.1 光强环境

试验期间全光照和遮阴处理下每天 14:00 的

光合有效辐射(PAR)的记录如图 1 所示,遮阴环境下的 PAR 下降 50%左右。

2.2 全光照和遮阴下苹果叶片气体交换参数的差异

全光照和遮阴处理的苹果叶片气体交换参数的测定结果见图 2。测定期间,遮阴处理的 P_n 、 G_s 、 T_r 和 C_i 均明显高于全光照。

2.3 全光照和遮阴处理苹果叶片叶绿素含量比较

叶绿素含量是评估植物光合作用的重要指标

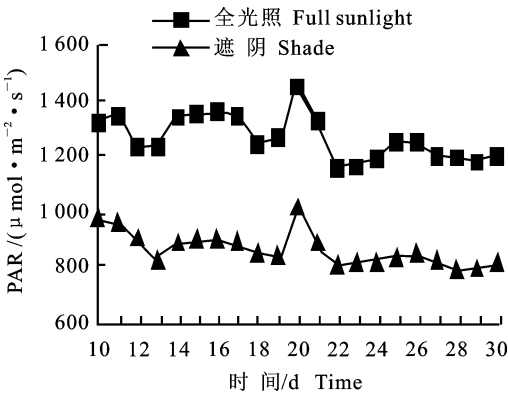


图 1 苹果生长的光强环境

Fig. 1 Photosynthetically active radiation(PAR) of apple trees' growth environment

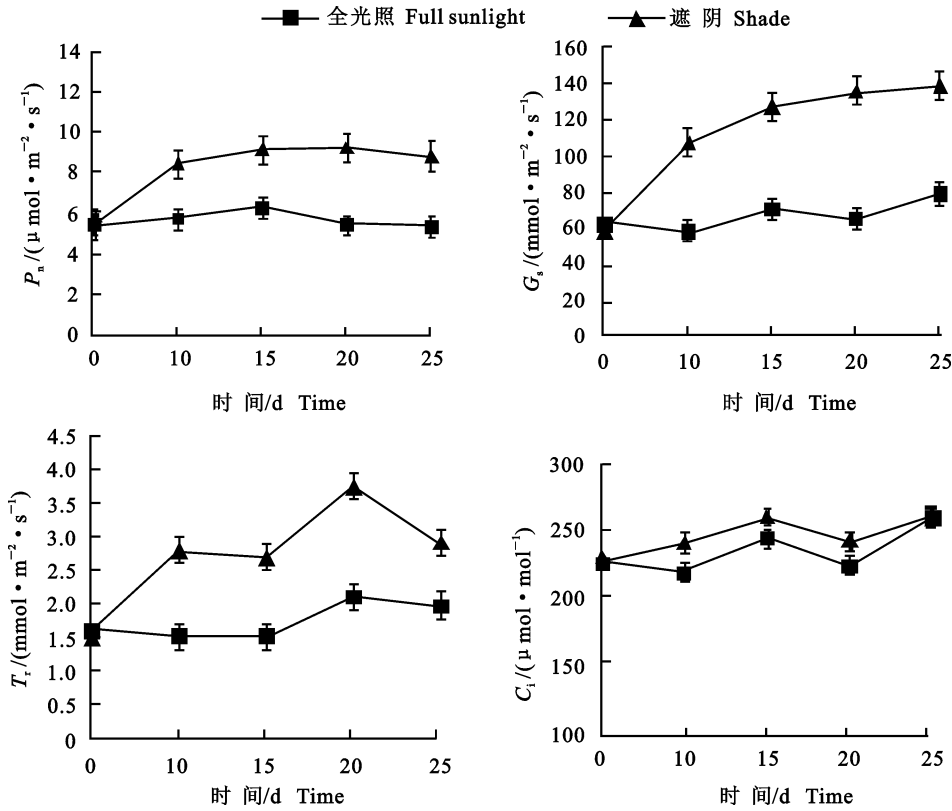


图 2 全光照和遮阴下苹果叶片气体交换参数的变化

Fig. 2 Changes of gas exchange parameters in full sunlight and shade apple leaves

之一。遮阴的苹果叶片具有明显高的叶绿素 a (Chla), Chlb 和 Chlb/a, 只有 Chla/b 值显著低于全光照叶片(图 3)。

2.4 全光照和遮阴处理苹果叶片叶绿素荧光参数比较

为了进一步探讨 PSII 反应中心的活性变化, 对叶绿素荧光参数进行了测定。结果(图 4)表明, 遮阴叶片的 F_v/F_m 和 Φ_{PSII} 值明显高于全光照下的叶片。

2.5 全光照和遮阴处理苹果叶片抗氧化酶活性比较

强光下 SOD、CAT 及 GPX 抗氧化酶活性的增强也表明活性氧含量的大量积累(表 1)。全光照下叶片所含抗氧化酶活性明显高于遮阴叶片, 说明强光加剧活性氧的产生, 抗氧化酶活性的增强有利于清除活性氧; 另一方面也说明遮阴能降低活性氧的积累。

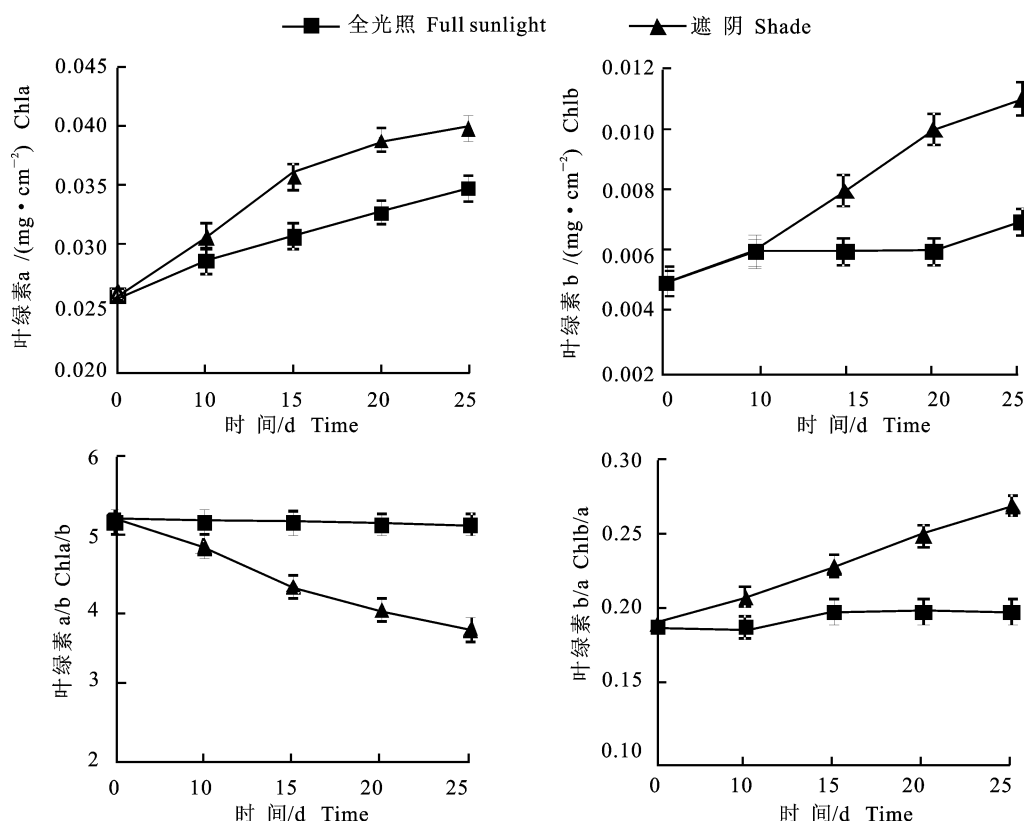


图 3 全光照和遮阴下苹果叶片叶绿素含量变化

Fig. 3 Changes of chlorophyll content of full sunlight and shade apple leaves

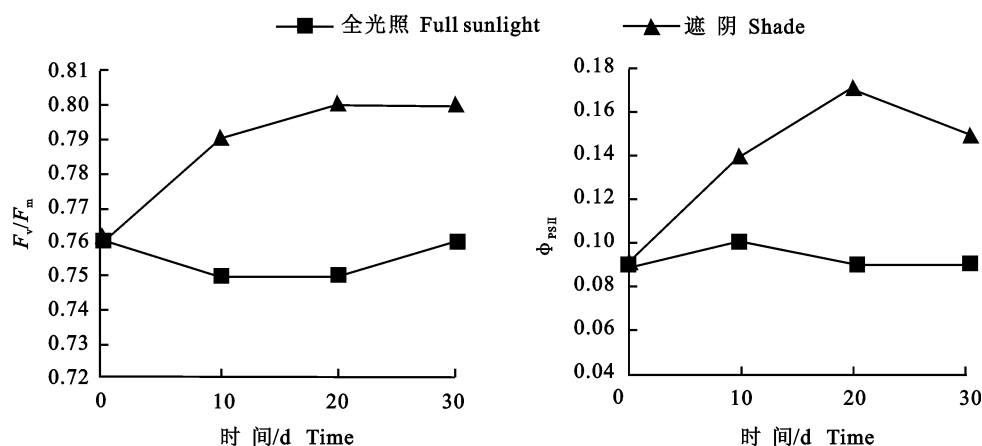


图 4 全光照和遮阴下的苹果叶片叶绿素荧光参数的变化

Fig. 4 Changes of chlorophyll fluorescent parameters of full sunlight and shade apple leaves

表 1 全光照和遮阴下的苹果叶片抗氧化酶活性
Table 1 Activities of antioxidant enzymes of full sunlight and shade apple leaves

处 理 Treatment	SOD/ (U · g ⁻¹)	CAT / (U · g ⁻¹)	GPX/ (U · g ⁻¹ · min ⁻¹)
全光照 Full sunlight	8.92±0.13 *	14.02±0.98 *	13.52±0.99 *
遮阴 Shade	4.31±0.11	9.98±0.12	9.00±0.11

注: * 表示 $P=0.05$ 水平差异显著。
Note: * indicate significant differences by the Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

3 讨 论

本试验中,中午强光下遮阴环境中的光照强度接近全光照的 50%(图 1),而此时,生长在这种遮阴环境中的苹果叶片的 G_s 、 T_r 和 C_i 的值明显高于全光照下的叶片,并且 P_n 值也较高(图 2)。强光引起植物叶片出现午休现象^[3],降低 G_s ,导致 T_r 下降。 G_s 降低会限制 CO_2 的固定^[9],所以引起 C_i 连同 P_n 的下降。很多报道表明强光降低植物叶片的光合能力^[10],从本试验结果来看,也有相似的趋势。在全光照条件下生长苹果树,其叶片的光合能力低于遮阴条件下生长苹果树,说明强光胁迫引起的光破坏降低叶片固定 CO_2 的能力。强光下,光能过剩产生的光破坏现象阻碍光能转化成有机能,从而导致光合效率下降^[11]。

叶绿素 b 主要存在于绿色植物的外周天线色素蛋白中,而叶绿素 a 主要存在于核心天线色素蛋白中^[12]。在总叶绿素含量中,如果外周天线叶绿素 b 的含量占较高比例,那么便增加弱光条件下的捕光效率。在本试验中,遮阴下的叶片叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量均增加,即总叶绿素含量升高,其中叶绿素 b 的含量升高比例高于叶绿素 a,也就是 Chlb/a 比值增加(图 3)。对于植物的正常生长来讲,Chlb/a 比值的增加是为了吸收更多的光能,也就是说,虽然遮阴下光有所减弱,但叶片可通过增加 Chlb 的含量来捕获更多的光能,进而提高光合效率,这可能是遮阴下的叶片不会降低光合能力的原因之一。

研究发现,全光照叶片的 F_v/F_m 和 Φ_{PSII} 降低(图 4),是高光胁迫下 PS II 反应中心受到破坏,失活 PS II 反应中心积累^[13],受到破坏的 PS II 反应中心降低光合电子传递能力或者阻断电子传递路径^[5]。这些结果与转基因拟南芥的表现类似^[14]。相反,遮阴可以避免或减轻 PS II 反应中心受到破坏。

SOD 在抗氧化酶防御系统中起重要作用,它可以阻止 O_2^- 形成 H_2O_2 和 $O_2^{[15]}$ 。CAT 和 GPX 可催

化聚集的 H_2O_2 转化成 H_2O 和 $O_2^{[16]}$ 。本试验表明,强光下 SOD、CAT 及 GPX 等抗氧化酶活性增加(表 1),表明对活性氧清除能力的加强,也预示着活性氧的积累增多。另一方面,遮阴的抗氧化酶活性比全光照下苹果叶片中的明显低,说明在遮阴下叶片中活性氧的积累相对较少,再一次表明遮阴可以减轻强光对叶片的氧化破坏。这些结果与之前关于小麦的研究结果相似^[17]。也就是说,由于适度遮阴降低了活性氧的积累和对光合机构的氧化破坏,维持高的电子传递能力、光能利用效率及 CO_2 固定能力。

总之,苹果树在适度遮阴下光合机构可以避免或减轻光破坏,进而可以通过增强光合电子传递能力来提高光合效率。

Reference (参考文献):

[1] Guo Y, Zhou Z, Yuan Y, Yue T. Survey of patulin in apple juice concentrates in Shaanxi (China) and its dietary intake [J]. Food Control, 2013, 34(2): 570-573.

[2] TANG Ning(唐 宁), ZHANG Bianjiang(张边江), CHEN Quanzhan(陈全战), et al. Photosynthetic performance of *Mentha canadensis* L. leaves growing in sun and shade conditions [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica (西北农业学报), 2014, 23(1): 187-191 (in Chinses with English abstract).

[3] Guo Y P, Guo D P, Zhou H F, et al. Photoinhibition and xanthophyll cycle activity in bayberry (*Myrica rubra*) leaves induced by high irradiance [J]. Photosynthetica, 2006, 44(3): 439-446.

[4] Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction [J]. Annu Rev Plant Biol, 2004, 55: 373-399.

[5] Zai X M, Zhu S N, Qin P, et al. Effect of Glomus mosseae on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence parameters, and chloroplast ultrastructure of beach plum (*Prunus maritima*) under NaCl stress [J]. Photosynthetica, 2012, 50(3): 323-328.

[6] Dhindsa R S, Plumb-Dhindsa P, Throne T A. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase [J]. J Exp Bot, 1981, 32: 93-101.

[7] Aebi H. Catalase in vitro[J]. Methods Enzymol,1984,105: 121-126.

[8] Egley G H,Paul R N,Vaughn K C,*et al.* Role of peroxidase in the development of water impermeable seed coats in *Sida spinosa* L[J]. Planta,1983,157:224-232.

[9] Pires M V,Almeida A A F,Figueiredo A L,*et al.* Photosynthetic characteristics of ornamental passion flowers grown under different light intensities[J]. Photosynthetica,2011, 49(4):593-602.

[10] Miyata K,Noguchi K,Terashima I. Cost and benefit of the repair of photodamaged photosystem II in spinach leaves: roles of acclimation to growth light[J]. Photosynth Res, 2012,113(1/3):165-180.

[11] Laing W A,Greer D H,Schnell T A. Photoinhibition of photosynthesis causes a reduction in vegetative growth rates of dwarf bean (*Phaseolus vulgaris*) plants[J]. Aust J Plant Physiol,1995,22(4):511-520.

[12] Sakuraba Y,Yokono M,Akimoto S,*et al.* Deregulated Chlorophyll b Synthesis Reduces the Energy Transfer Rate between Photosynthetic Pigments and Induces Photodamage in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Cell Physiol,2010, 51(6):1055-1065.

[13] Kalaji H M,Govindjee,Bosa K,*et al.* Effects of salt stress on photosystem II efficiency and CO₂ assimilation of two Syrian barley landraces[J]. Environ Exp Bot,2011,73:64-72.

[14] Sakuraba Y,Yokono M,Akimoto S,*et al.* Deregulated Chlorophyll b Synthesis Reduces the Energy Transfer Rate between Photosynthetic Pigments and Induces Photodamage in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Cell Physiol,2010, 51(6):1055-1065.

[15] Meloni D A,Oliva M A,Martinez C A,*et al.* Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress[J]. Environ Exp Bot,2003,49(1):69-76.

[16] Liu B,Li M,Cheng L,*et al.* Influence of rootstock on antioxidant system in leaves and roots of young apple trees in response to drought stress[J]. Plant Growth Regul,2012, 67(3):247-256.

[17] Špundová M,Sloukova K,Hunkova M,*et al.* Plant shading increases lipid peroxidation and intensifies senescence-induced changes in photosynthesis and activities of ascorbate peroxidase and glutathione reductase in wheat[J]. Photosynthetica,2005,43(3):403-409.



文献类型和标志代码

文献类型	标志代码
普通图书	M
会议录	C
汇编	G
报纸	N
期刊	J
学位论文	D
报告	R
标准	S
专利	P
数据库	DB
计算机程序	CP
电子公告	EB