

短时水分胁迫对水稻叶片光合作用的影响

李俊周, 乔江方, 李梦琪, 杜彦修, 赵全志

(河南粮食作物协同创新中心/河南省水稻生物学重点实验室/

河南农业大学农业部黄淮海作物生理生态与耕作重点实验室, 河南 郑州 450002)

摘要: 为揭示水分胁迫下水稻叶片光合特性下降的生理原因, 以水培的水稻幼苗为材料, 测定 30% PEG-6000 模拟水分胁迫 150 min 过程水稻叶片光合特性、荧光参数和光合机构关键酶活性的变化。结果表明: 短时水分胁迫处理 0~60 min 气孔导度快速下降, 胞间 CO_2 浓度、净光合速率、蒸腾速率和荧光参数均降低; 60~120 min 气孔导度缓慢下降, RuBP 羧化酶活性开始快速下降, 胞间 CO_2 浓度开始上升, 非光化学猝灭仍然是上升趋势, 其它光合荧光参数持续降低。120 min 后, 非光化学猝灭出现下降趋势, RuBP 羧化酶活性和胞间 CO_2 浓度分别保持下降和上升趋势, 其它光合荧光参数持续降低。短时胁迫处理结果暗示, 光合作用 0~60 min 主要受气孔限制, 60~120 min 受气孔限制和非气孔限制共同作用, 120 min 后主要受非气孔限制。

关键词: 水稻; 短时水分胁迫; 光合荧光特性; 非气孔限制; 气孔限制

中图分类号: S512.1⁺2; Q945.79 **文献标志码:** A

The effects of short-term water stress on leaf photosynthesis in rice

LI Jun-zhou, QIAO Jiang-fang, LI Meng-qi, DU Yan-xiu, ZHAO Quan-zhi

(Collaborative Innovation Center of Henan Grain Crops/ Key Laboratory of rice biology and

Key Laboratory of Physiology/ Ecology and Genetics Improvement of Food Crop in Henan Province,

Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: In order to reveal the physiological mechanism of the reduction of photosynthesis under water stress, the change of photosynthetic and chlorophyll fluorescence characteristics and key enzymes activities of photosynthetic apparatus after 150 min 30% PEG-6000 stress were investigated using rice seedling under hydroponic culture. The result indicated that stomatal conductance decreased drastically, while intercellular CO_2 concentration, net photosynthetic rate, transpiration rate, and chlorophyll fluorescence parameters decreased gradually by 0~60 min of stress. During 60~120 min of stress, stomatal conductance decreased slowly, RuBP carboxylase activity began to rapidly decreased, intercellular CO_2 concentration began to rise, non-photochemical quenching continued rise, other photosynthetic fluorescence parameters continued to drop. After 120 min of stress, non-photochemical quenching began to decline, RuBP carboxylase activity and intercellular CO_2 concentration showed a trend of declining and increasing respectively, while other photosynthetic fluorescence parameters declined. These results suggest that photosynthesis during 0~60 min of stress and 60~120 min of stress, and after 120 min of stress were regulated by stomatal limitation, combination of stomatal limitation and non-stomatal limitation, and non-stomatal limitation, respectively.

Keywords: rice; short-term water stress; photosynthetic and chlorophyll fluorescence characteristics; non-stomatal limitation; stomatal limitation

水分胁迫是限制作物生长和产量的主要环境因子之一。水分胁迫对产量的影响主要是通过影响植物叶片的光合机构, 以降低其光合性能^[1]。薛崧等^[2]研究认为水分胁迫对作物光合色素有显著影

响, 会造成叶绿素合成速率降低、叶绿素 (Chl) 分解和类胡萝卜素 (Caro) 含量减少, 引起 Chla/b 和 Chl/Caro 值的改变, 进而影响原初反应和激发能的传递, 导致光能吸收效率的降低。赵丽英等^[3]通过 PEG-

6000 处理发现水分胁迫对小麦幼苗叶绿素荧光参数影响较大,证实严重水分亏缺或长时间水分亏缺植物叶片的光合机构会受到破坏。PEG-6000 胁迫处理两天会使敏早玉米品种类囊体膜受损、叶绿体超微结构遭受破坏^[4]。卢从明等^[5]采用自然失水法进行不同程度的水分胁迫,发现轻度水分胁迫对叶片光合电子传递速率影响较小,严重水分胁迫会对明显抑制光合电子传递活性,环式与非环式光合磷酸化活性受抑程度更大。RuBP 羧化酶对净光合速率起着决定性的影响,是光合碳同化的关键酶。王仁雷等^[6]通过研究水分胁迫条件下水稻的光合特性,发现随着 NaCl 胁迫时间和浓度的加大,净光合速率、PS II 光化学效率(F_v/F_m)和 RuBP 羧化酶活性下降,气孔导度和胞间 CO_2 浓度减小。前人关于水分胁迫处理后水稻叶片光合特性及关键酶活性的研究主要集中于长时间胁迫处理后的变化,长时间胁迫处理后的结果受植株自身调节的影响。而水稻叶片光合特性及光合机构对短时水分胁迫的影响还不很清楚,本研究采用 PEG-6000 模拟水分胁迫处理,研究短时胁迫处理对光合特性及光合机构的影响,探讨短时胁迫影响水稻叶片光合作用下降的内在机理。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验在河南农业大学室内人工气候室进行。供试水稻品种为籼型杂交稻两优培九、粳型常规稻豫粳六号和 738。种子消毒后,在培养皿中发芽,秧苗 3 叶 1 心时移栽至水培液中,营养液采用国际水稻研究所吉田昌一的配方,氮素浓度一直维持在 $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。水培箱的长、宽和深分别为 33 cm、23 cm 和 10 cm,每箱移栽 9 株。秧苗移栽前先在清水中处理 4 d,以使植株间差异趋于一致,以后开始营养液处理。每 7 d 更换营养液一次,pH 保持 5.0~5.3。试验设置 3 次重复。

1.2 试验方法

水稻生长至 9 叶 1 心,选取生长一致的水稻苗进行测定,水分胁迫采用 PEG-6000 模拟水分胁迫,PEG 浓度设定为 30%,水势比正常水分下降了 1.25 MPa。PEG 处理 0、30、60、90、120、150 min 进行各性状的测定,每重复测定 3 株。

光合特性采用光合测定系统(LI-6400, Li-corporation, Nebraska, USA)进行测定。采用开放式气路,在 10:00—12:00 时采用人工红蓝光源,光强设定为 $1000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。测定的指标包括净光合速率 P_n 、气孔导度 G_s 、胞间 CO_2 浓度 C_i 、蒸腾速率

Tr 和羧化效率 CE (羧化效率为 P_n/C_i)。

叶绿素荧光测定采用 FMS2 型便携调制式叶绿素荧光仪(Hansatech, 英国)。测定前,植株均在 $\text{PAR} = 600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、 $T_a = 25^\circ\text{C}$ 条件下适应 1 h,然后用叶夹夹住叶片(暗适应)15~30 min。测定时,荧光仪按预先设定的程序首先以弱测量光($<0.05 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)照射叶片,测量出 F_0 。然后以饱和脉冲光($12000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)照射,给出 F_v 、 F_m 以及 F_v/F_m 。最后以 AL(光化光, $180 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)持续照射 3 min 后测定 Φ_{PSII} 。其它叶绿素荧光动力学参数如电子传递速率、 qP (光化学猝灭系数)、 NPQ (非光化学猝灭系数)等同时给出。

RuBP 羧化酶活性测定采用加入 RuBP 底物反应的方法^[7],取水稻叶 1 g,冲洗干净晾干,加入 5 ml 预冷的提取介质,在冰浴上研磨至匀浆,经 4 层纱布过滤,滤液于 4°C 下 20000 g 离心 15 min,弃沉淀;上清液即粗酶提取液置 0°C 保存备用。吸取 Tris 0.3 ml, MgCl_2 20.3 ml, ATP 0.3 ml, DTT 0.3 ml, NADH 0.3 ml, KHCO_3 0.1 ml, EDTA 0.3 ml, 蒸馏水 0.8 ml。取 RuBP 羧化酶液 0.1 ml 于试管, 30°C 保温 10 min, 然后加入 0.1 ml 的三磷酸甘油酸激酶/三磷酸甘油酸脱氢酶,在分光光度计 340 nm 测定光吸收 E_0 , 最后加 0.1 ml 的 RuBP,立刻于 340 nm 每隔 15 sec 至 30 sec 间隔,测光吸收变化 E_1 。

$$\text{酶活力} = (E_0 - E_1) \times V_t / (2 \times d \times \epsilon \times \Delta t \times V_s)$$

式中, E_0 、 E_1 分别为反应前、后反应液的光吸收; Δt 为 E_0 到 E_1 的时间(min); ϵ 为 $1 \mu\text{mol}$ NADH 的吸光系数(6.22); d 为比色杯的光径(cm); V_t 为酶液总量(ml); V_s 为反应液体积(ml);酶活力单位为 $(\text{mmol} \cdot \text{mm}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1})$; 2 表示每固定 1 mol CO_2 有 2 mol NADH 被氧化。

1.3 统计分析

利用 Excel 对数据进行处理及制图。数据分析采用 DPS V9.50 软件,样本平均数的差异显著性测验采用 LSD 法。

2 结果与分析

2.1 短时水分胁迫对水稻光合特性的影响

从图 1 可以看出,胁迫处理后 150 min 内水稻净光合速率呈现下降趋势,处理 0~30 min 下降速率较快,30~90 min 下降相对平缓。胁迫后三个品种叶片气孔导度均呈现 Z 字型的变化趋势,处理 0~30 min 缓慢下降,30~60 min 迅速下降,60 min 后又缓慢下降,150 min 水稻叶片气孔基本关闭。胁迫 150 min 两优培九、豫粳六号和 738 三个品种气孔导度分别下降 86.74%、88.82% 和 87.52%,气孔导度

下降的幅度较净光合速率大。叶片胞间 CO_2 浓度胁迫后呈现倒抛物线的变化趋势,胁迫 0 ~ 60 min 胞间 CO_2 浓度处于下降的变化趋势,60 min 后又呈上升趋势。叶片蒸腾速率胁迫后都有不同程度的下降,处理 0 ~ 60 min 下降速率较快,60 min 后下降速率有所降低。处理 150 min 两优培九、豫粳六号和 738 三个品种分别下降 53.67%、70.89% 和 83.49%。叶片羧化效率胁迫后呈现下降的变化趋势,处理 0 ~ 60 min 变化程度较小,60 min 后快速下降。处理 150 min 两优培九、豫粳六号和 738 三个品种羧化效率分别下降 85.25%、75.29% 和 78.5%。

2.2 短时水分胁迫对水稻叶片荧光诱导动力学参数的影响

由叶片光化学效率 F_v/F_m 的变化可以看出(图 2),胁迫 0 ~ 30 min 迅速下降,随后缓慢下降,但整体仍处于下降的趋势。胁迫 150 min 两优培九、豫粳六号和 738 分别下降 23.96%、22.6% 和 27.62%。实际光化学效率胁迫后三个品种都存在

明显的下降趋势,0 ~ 90 min 平缓下降,90 min 后迅速下降。胁迫 150 min 两优培九、豫粳六号和 738 叶片实际光化学效率分别下降 34.92%、24.75% 和 21.35%。叶片光化学猝灭系数胁迫后三个品种均有不同程度的下降趋势,0 ~ 90 min 缓慢下降,90 min 后迅速下降。胁迫 150 min 两优培九、豫粳六号和 738 分别下降 45.72%、33.74% 和 42.89%。随处理时间延长水稻叶片叶绿体原初反应电子用于光合电子传递的份额逐渐减小。叶片非光化学猝灭胁迫后三个品种呈现先上升而后下降的变化趋势,0 ~ 120 min 缓慢上升,120 min 两优培九、豫粳六号和 738 非光化学猝灭达最大值,分别比处理前上升 48.19%、63.28% 和 63.16%。120 min 后非光化学猝灭缓慢下降。水稻叶片电子传递速率胁迫后都有不同程度的下降,0 ~ 90 min 平缓下降,90 min 后迅速下降。胁迫 150 min 两优培九、豫粳六号和 738 叶片光合电子传递速率分别下降 70.0%、61.13% 和 62.33%。

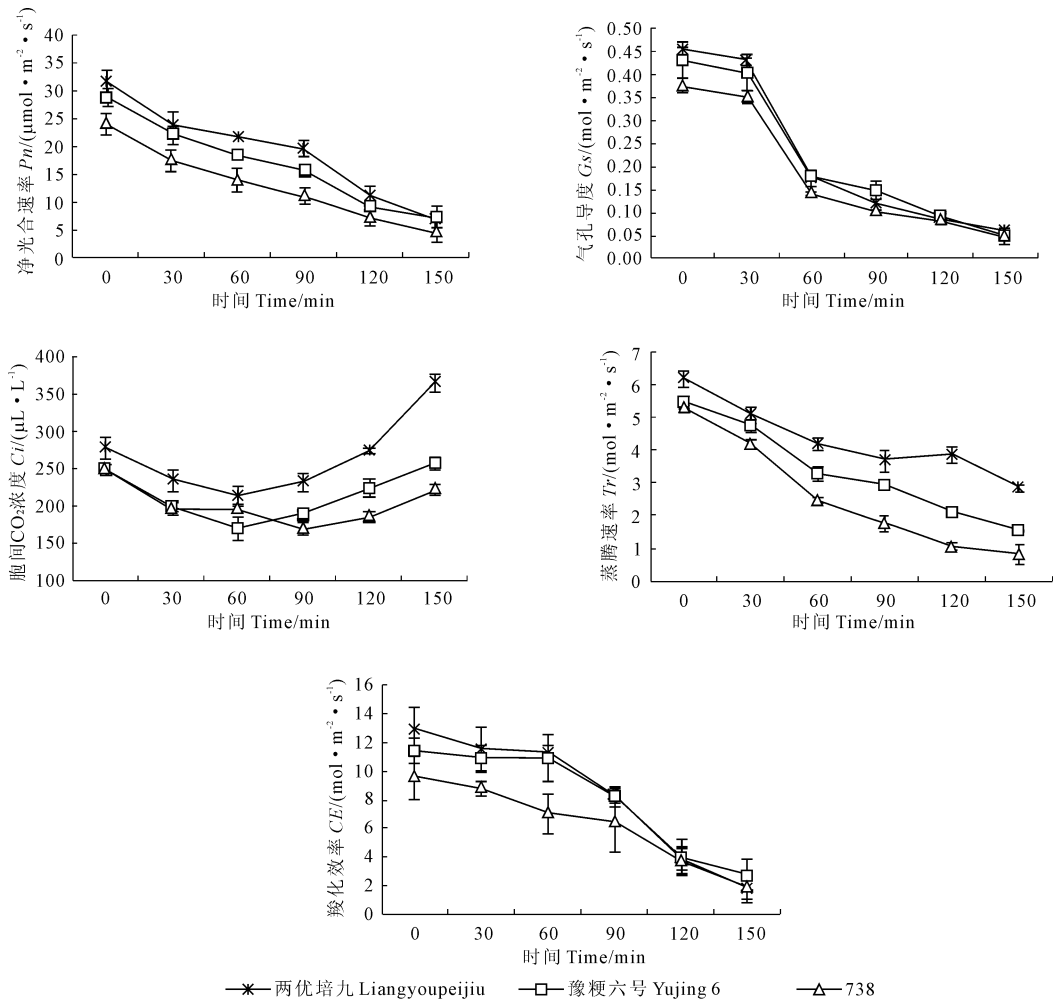


图 1 短时水分胁迫水稻叶片光合特性的变化

Fig.1 Changes of photosynthetic characteristics of rice leaf under short-term water stress

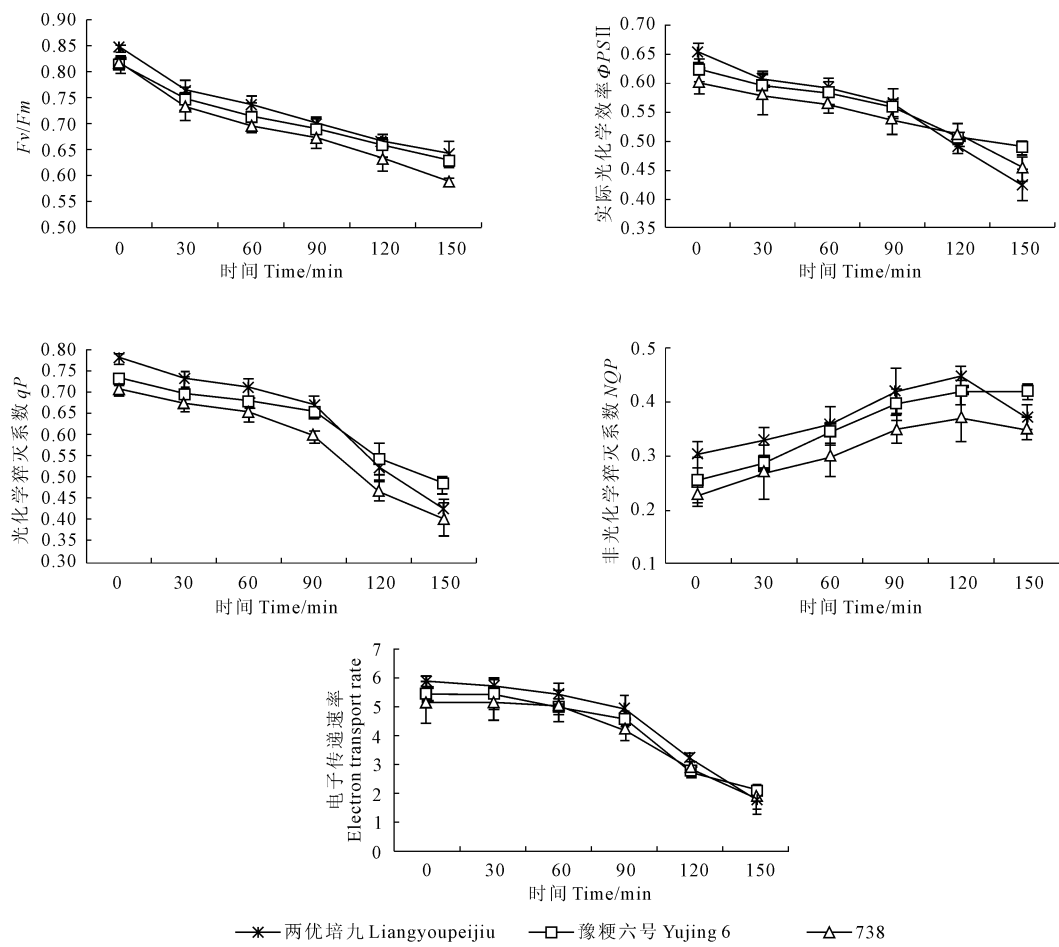


图 2 短时水分胁迫水稻叶片叶绿素荧光特性的变化

Fig.2 Changes of chlorophyll fluorescence characteristics of rice leaf under short-term water stress

2.3 短时水分胁迫对水稻叶片 RuBP 羧化酶活性的影响

RuBP 羧化酶是光合作用光合碳循环中最初的 CO₂ 固定酶,是光合碳同化的关键酶,对净光合速率起决定性作用。从图 3 可以看出,胁迫后水稻叶片中 RuBP 羧化酶活性逐渐下降,处理 0~30 min 明显下降,随后 30~120 min 缓慢下降,120 min 后迅速下降。150 min 两优培九、豫粳六号和 738 分别下降 67.29%、37.59%和 65.43%。

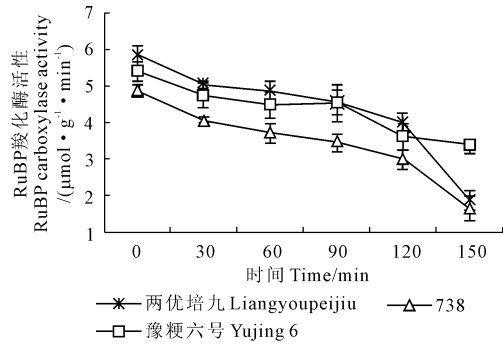


图 3 短时水分胁迫水稻叶片 RuBP 羧化酶活性的变化

Fig.3 Changes of RuBP carboxylase activity of rice leaf under short-term water stress

3 讨论

植物感知胁迫作用后,通常表现出光合作用下降。前人研究发现,PEG 模拟短时水分胁迫后各种色素蛋白复合体含量都会出现不同程度的降低,其中 LHC II 下降幅度最大,从而导致激发能从 LHC II 向光系统 II 传递的降低,表现出光系统 II 荧光发射强度和 F_v/F_m 大幅下降,导致光合作用降低^[8-10]。本试验 30% PEG 模拟水分胁迫 150 min,光合电子传递速率降低,ATP 和 NADPH 形成受阻,Rubisco 的大幅下降直接影响了 C3 途径中 CO₂ 的固定,最终影响光合作用碳同化的进行,导致净光合速率大幅下降以及荧光参数 F_0 、 Φ_{PSII} 、 qP 的降低,NPQ 升高,这都表明光合系统已经受到严重影响,植物启动了相应的水分胁迫适应机制。

植物受到水分胁迫后,光合作用受到气孔限制和非气孔限制的双重调节^[11]。轻度水分胁迫初期光合速率的降低主要是通过气孔限制,即气孔关闭以减少蒸腾作用,进而阻碍 CO₂ 进入叶内;严重水分或者长时间水分处理,限制因素逐渐变为非气孔限制^[12-13]。

(下转第 277 页)

783.

[18] 黄昌勇.土壤学[M].北京:中国农业出版社,2003:192-203.

[19] 李亚娟,曹广民,龙瑞军.青海省海北州不同利用方式草地土壤基本理化性状研究[J].草地学报,2012,20(6):1039-1043.

[20] 伍 星,李辉霞,傅伯杰,等.三江源地区高寒草地不同退化程度土壤特征研究[J].中国草地学报,2013,35(3):77-84.

[21] 魏卫东,李希来.三江源区不同退化程度高寒草地土壤特征分析[J].湖北农业科学,2012,51(6):1102-1106.

[22] 张生楹,张德罡,柳小妮,等.东祁连山不同退化程度高寒草甸土壤养分特征研究[J].草业科学,2012,29(7):1028-1032.

[23] 顾梦鹤,王 涛,杜国祯.施肥对高寒地区多年生人工草地生产力及稳定性的影响[J].兰州大学学报(自然科学版),2010,46(6):59-63.

[24] 苗艳芳,李生秀,扶艳艳,等.旱地土壤铵态氮和硝态氮累积特征及其与小麦产量的关系[J].应用生态学报,2014,25(4):1013-1021.

[25] 李亚娟.青藏高原高寒草地对土地利用格局变化的响应[D].兰州:甘肃农业大学,2013.

[26] 李 荣,何兴东,张 宁,等.沙丘固定过程中土壤铵态氮和硝态氮的时空变化[J].土壤学报,2010,47(2):295-302.

[27] 颜淑云,周志宇,秦 戡,等.玛曲高寒草地不同利用方式下土壤氮素含量特征[J].草业学报,2010,19(2):153-159.

[28] 陈懂懂,孙大帅,张世虎,等.青藏高原东缘高寒草甸土壤氮矿化初探[J].草地学报,2011,19(3):420-424.

(上接第 129 页)

表明随着植物叶片水势的降低,植物叶片光合器官遭受破坏和活性降低,光合速率下降从气孔限制逐渐向叶肉细胞光合活性限制进行转变,也就是向非气孔限制的转变^[14-15]。本试验 150 min PEG 模拟水分胁迫过程中荧光诱导动力学参数的变化趋势较复杂,气孔导度 0~30 min 缓慢下降和 30~60 min 快速下降引起胞间 CO₂ 浓度、净光合速率和蒸腾速率的下降,以及各荧光参数的降低,此阶段主要是气孔限制起主要作用。60~120 min 气孔导度缓慢下降,RuBP 羧化酶活性和羧化效率呈现下降趋势,胞间 CO₂ 浓度开始上升,非光化学猝灭仍然是上升趋势,其它光合荧光参数持续降低。这暗示此阶段光合作用的下降不全部是由气孔关闭引起的,叶肉细胞光合活性降低的非气孔限制也开始起作用。120 min 后,非光化学猝灭表现出下降趋势,RuBP 羧化酶活性出现快速下降趋势,胞间 CO₂ 浓度保持上升趋势,其他光合荧光参数持续降低,暗示光合器官与功能受到破坏,非气孔限制成为光合作用的主要限制因素。本研究也证明了轻度水分胁迫初期气孔限制起主要作用,长时间或者严重胁迫是以非气孔限制为主。因此,气孔限制和非气孔限制对光合作用的影响取决于水分胁迫的时间和程度。

参 考 文 献:

[1] Teng K Q, Li J Z, Liu L, et al. Exogenous ABA induces drought tolerance in upland rice: the role of chloroplast and ABA biosynthesis-related gene expression on photosystem II during PEG stress[J]. Acta Physiol Plant, 2014,36:2219-2227.

[2] 薛 崧,汪沛洪,许大全,等.水分胁迫对冬小麦 CO₂ 同化作用的影响[J].植物生理学报,1991,18(1):1-7.

[3] 赵丽英,邓西平,山 仑.渗透胁迫对小麦幼苗叶绿素荧光参数的影响[J].应用生态学报,2005,16(7):1261-1264.

[4] Shao R X, Xin L F, Zheng H F, et al. Changes in chloroplast ultrastructure in leaves of drought-stressed maize inbred lines[J]. Photosynthetica, 2016,54(1):74-80.

[5] 卢从明,张其德,匡延云.水分胁迫对小麦光系统 II 的影响[J].植物学报,1994,36(2):93-98.

[6] 王仁雷,华 春,刘友良.盐胁迫对水稻光合作用的影响[J].南京农业大学学报,2002,25(4):11-14.

[7] 高俊凤.植物生理学试验指导[M].高等教育出版社,2006.

[8] 卢从明,张其德,匡延云.水分胁迫对小麦叶绿体激发能分配的光系统 II 原初光能转化效率的影响[J].生物物理学报,1995,11(1):82-86.

[9] Li J Z, Chen Y P, Teng K Q, et al. Rice leaf heterogeneity in chlorophyll fluorescence parameters under short-term osmotic stress[J]. Biol Plantarum, 2015,59:187-192.

[10] Zhang H, Ni Z, Chen Q, et al. Proteomic responses of drought-tolerant and drought-sensitive cotton varieties to drought stress[J]. Mol Genet Genomics, 2016:1-11.

[11] Earl H J. Stomatal and non-stomatal restrictions to carbon assimilation in soybean (*Glycine max*) lines differing in water use efficiency[J]. Environ Exp Bot, 2002,48(3):237-246.

[12] Cornic G. Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture-not by affecting ATP synthesis[J]. Trends Plant Sci, 2000,5(5):187-188.

[13] Parry M A J, Andralojc P J, Khan S, et al. Rubisco activity: effects of drought stress[J]. Ann Bot, 2002,89(7):833-839.

[14] Ramalho J C, Zlatev Z S, Leitão A E, et al. Moderate water stress causes different stomatal and non-stomatal changes in the photosynthetic functioning of *Phaseolus vulgaris* L. genotypes[J]. Plant Biol, 2014,16(1):133-146.

[15] Campos H, Trejo C, Peña-Valdivia C B, et al. Stomatal and non-stomatal limitations of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) plants under water stress and re-watering: Delayed restoration of photosynthesis during recovery[J]. Environ Exp Bot, 2014,98:56-64.