

不同温度对忽地笑光响应曲线及叶绿素荧光参数的影响

王婷¹, 邓波², 张智², 毛志远¹, 公维香¹, 周坚^{1*}

(1. 南京林业大学, 森林资源与环境学院, 江苏南京 210037; 2. 江苏骏马农林科技股份有限公司, 江苏张家港 215600)

摘要 [目的] 研究不同温度对忽地笑光合作用和叶绿素荧光参数的影响。[方法] 将盆栽忽地笑依次置于 5、10、15、20、25、30 ℃ 的恒温培养箱内培养 0.5 h, 选取忽地笑的成熟叶片进行光响应曲线的测量; 将盆栽忽地笑置于 5、10、15、20、25、30 ℃ 的恒温培养箱内黑暗培养 0.5 h, 选取成熟叶片测量各项叶绿素荧光参数。[结果] 在 25 ℃ 条件下, 忽地笑净光合速率、表观量子效率、最大光化学效率最高, 光补偿点最低, 其次为 20 ℃ > 10 ℃ > 15 ℃ > 5 ℃, 在 30 ℃ 条件下净光合速率最低。[结论] 忽地笑在 20~25 ℃ 范围内光能利用率最高。它对光照要求不严, 对弱光和强光均可有效利用, 适应性较强。

关键词 忽地笑 (*Lycoris aurea*); 不同温度; 光响应曲线; 叶绿素荧光

中图分类号 S567; Q945.79 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)18-07739-03

Effects of Different Temperature on Light Response Curves and Chlorophyll Fluorescence Parameters of *Lycoris aurea*
WANG Ting et al (Institute of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing, Jiangsu 210037)
Abstract [Objective] The effects of different temperature on the photosynthesis and chlorophyll fluorescence parameters of potted *Lycoris aurea* were studied. [Method] After turned into the incubator under different temperature (5, 10, 15, 20, 25, 30 ℃, respectively) for half an hour, the mature leaves of potted *Lycoris aurea* for light response curves were selected for measured with the Portable Gas Exchange Fluorescence System (Walz, GFS-3000); After potted *Lycoris aurea* were placed a constant temperature incubator (5, 10, 15, 20, 25, 30 ℃, respectively) in the dark condition for half an hour, the chlorophyll fluorescence parameters were measured with a chlorophyll fluorometer (Walz, Junior-PAM). [Result] *Lycoris aurea* get the highest net photosynthetic rate, apparent quantum yield, F_v/F_m and lowest light compensation point at 25 ℃, followed by 20 ℃ > 10 ℃ > 15 ℃ > 5 ℃, and the net photosynthetic rate is lowest at 30 ℃. [Conclusion] *Lycoris aurea* have the maximum utilization of solar energy in the range of 20–25 ℃, and it is relaxed to light and has strong adaptability to live. Both weak light and strong light can be effectively used.

Key words *Lycoris aurea*; Different temperature; Light response curve; Chlorophyll II fluorescence

忽地笑 (*Lycoris aurea*) 为石蒜科 (Amaryllidaceae) 石蒜属 (*Lycoris*) 植物, 具有“秋出叶”的生物学特性, 有较高的药用、营养保健价值和广阔的开发应用前景。植物光合作用变化是植物生产过程中物质积累与生理代谢的基本单元, 也是分析环境因素影响植物生长和代谢的重要手段^[1]。目前, 在石蒜属植物形态学、栽培、生理生化特性及分子生物学等方面开展了广泛的研究^[2], 但对光合特性方面的研究也逐步开展, 其中包括忽地笑的光合作用特性^[1], 遮荫对忽地笑光合特性的影响^[3], 几种秋出叶型石蒜属植物光合作用的比较^[4]等。但是, 仍有许多问题有待进一步探讨。笔者以忽地笑为试验材料, 主要研究盆栽忽地笑在不同温度条件下光合特性和叶绿素荧光参数的变化, 旨在为林下植物栽培以及规范化种植提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 供试忽地笑于 2013 年 3 月取自江苏骏马农林科技股份有限公司苗圃基地。每盆种植 3 个球, 置于苗圃地内培养 10 个月。

1.2 测定方法

1.2.1 光响应曲线的绘制。 将盆栽忽地笑依次置于 5、10、

15、20、25、30 ℃ 的恒温培养箱内培养 0.5 h。选取忽地笑的成熟叶片, 将光源设定一系列光合有效辐射梯度 (PAR) 为 0、50、100、150、200、400、800、1 100、1 400、1 700、2 000 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 用德国 walz 公司生产的 GFS-3000 光合仪自带的红蓝光源进行光响应曲线测定。测定的指标主要有净光合速率 P_n ($\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$)、蒸腾速率 E ($\text{mmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$), 同时记录空气温度 T_a (℃)、叶片温度 T_l (℃)、空气相对湿度 RH (%) 等。每株选取 3 片叶片进行测定, 共测定 3 株。取平均值作为实测数据。光补偿点 (LCP)、光饱和点 (LSP)、表观量子效率 (AQY) 等参数的计算参照叶子飘^[5]对 C_3 植物新光合模型的拟合方法进行。该光响应曲线新模型的表达式^[6]为:

$$I_m = \frac{\sqrt{(\beta + \gamma)/\beta - 1}}{\gamma}$$
$$P_{\max} = \alpha \left(\frac{\sqrt{\beta + \gamma} - \sqrt{\beta}}{\gamma} \right)^2 - R_d$$
$$I_c = \frac{\alpha - \gamma R_d - \sqrt{(\gamma R_d - \alpha)^2 - 4\alpha\beta R_d}}{2\alpha\beta}$$

式中, α 、 β 、 γ 是 3 个系数; I_m 为光饱和点; I_c 为光补偿点; $P_{\max}$ 为最大净光合速率。

1.2.2 叶绿素荧光参数的测定。 将盆栽忽地笑依次置于 5、10、15、20、25、30 ℃ 的恒温培养箱内黑暗培养 0.5 h。采用德国 walz 公司生产的 Junior-PAM 荧光仪, 测定叶片最大光化学效率 (F_v/F_m)、初始荧光 (F_0)、光化学猝灭系数 (qP) 和非光化学猝灭系数 (NPQ) 等指标。每个温度处理设置 3 次重复, 结果取平均值。

1.3 数据处理 应用 Excel 软件, 绘制忽地笑光合作用光响

基金项目 国家林业公益性行业科研专项项目 (201004056); 江苏省林业三项工程项目 (lysx[2010]13); 江苏高校优势学科建设工程资助项目 (PAPD)。

作者简介 王婷 (1988–), 女, 江苏南京人, 硕士研究生, 专业: 植物学。* 通讯作者, 教授, 博士, 博士生导师, 从事植物生长发育及栽培方面的研究工作, E-mail: zhiwu@njfu.edu.cn。

鸣谢 泽泉科技有限公司的韩涛工程师关于 GFS-3000 光合仪使用给予耐心指导以及无私帮助。

收稿日期 2013-05-08

应曲线,并进行相关数据分析。

2 结果与分析

2.1 不同温度对忽地笑光合光响应曲线的影响 由图 1 可知,在不同温度下,忽地笑的光响应曲线不尽相同。25 ℃条件下,忽地笑叶片光强达到饱和后 P_n 最高,其次为20 ℃ > 10 ℃ > 15 ℃ > 5 ℃,30 ℃条件下 P_n 最低,仅为 0.162 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。这与表 1 中通过光合新模型计算出的不同温度下忽地笑 P_{max} 结果一致。在较低光强(低于 400 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$)下, P_n 随着光强的增强而呈线性上升,随着光强的继续增大, P_n 上升幅度逐渐减小,当光强达到 1 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时几乎不再上升。其中,20、25 ℃下的光响应曲线趋势大体相同, P_{max} 相近;5、10 和 15 ℃时忽地笑 P_n 之间略有差异;30 ℃时忽地笑 P_n 较低,当光强超过 400 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时, P_n 仅有微弱变化。该现象表明极低或极高温度都不利于忽地笑叶片进行光合作用。

在弱光条件下,光饱和点与光补偿点的高低直接反映出植物的光合能力,并成为决定是否耐荫植物的重要指标^[4]。光补偿点越低,植物利用光能的能力越强;光饱和点越低的植物达到最大净光合速率的时间越短^[7]。由表 1 可知,15 ℃时忽地笑光饱和点最高,30 ℃最低;20 ℃下光补偿点最低,为 20.314 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,30 ℃最高,15、25 ℃下光补偿点也较低,符合阴生植物光补偿点低的特性。

表观量子效率反映了植物利用弱光的能力,间接反映了 Rubisco 酶的活性。表观量子效率越高,表明植物利用光能越强,表观量子效率越低,表示植物利用光能越弱。由表 1 可知,随着温度的升高,忽地笑的表观量子效率逐步增大,在 25 ℃条件下忽地笑表观量子效率达到最高;待温度达到 30 ℃,表观量子效率迅速下降,达到最低值 0.004 7。由此可知,20~25 ℃条件下忽地笑利用弱光能力强,并且净光合速率较高。该温度段是忽地笑进行光合作用的适宜温度。

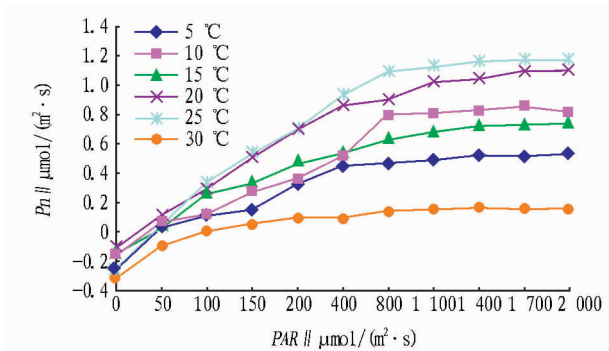


图1 不同温度下忽地笑净光合速率光响应曲线

2.2 不同温度对忽地笑蒸腾速率的影响 由图 2 可知, RH 随着温度的升高逐渐降低,与温度呈负相关关系。由图 3 可知,蒸腾作用一般随着气温和光强的升高而增大,与温度呈正相关关系。在 25 ℃时,蒸腾速率达到最大,随后温度继续上升,蒸腾速率下降。这与蒸腾速率受相对湿度的影响有关。空气相对湿度降低,叶片水分亏缺,导致部分气孔暂时关闭, CO_2 和水内外交换受阻,蒸腾速率的降低导致净光合速率下降。一般地,光合作用速率高,蒸腾速率也较高^[8]。

因此,不同温度下忽地笑光响应曲线的变化与蒸腾速率的变化相一致。

表 1 净光合速率对光强的响应参数

序号	培养箱温度/℃	LSP $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$	LCP $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$	AQY mol/mol	P_{max} $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$
1	5	827.952	50.805	0.007 4	0.446
2	10	975.971	39.484	0.007 5	0.701
3	15	1 141.359	30.379	0.007 4	0.587
4	20	1 109.727	20.314	0.008 1	0.842
5	25	878.605	34.361	0.010 3	1.002
6	30	633.639	107.347	0.004 7	0.102

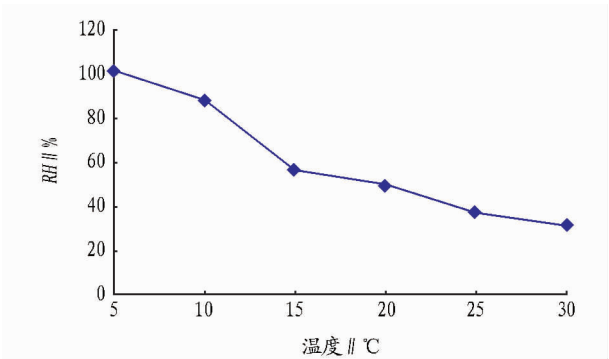


图2 不同温度下忽地笑相对湿度的变化

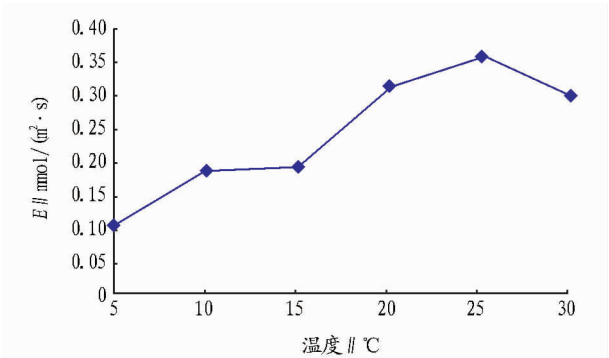


图3 不同温度下蒸腾速率的变化

2.3 不同温度对忽地笑叶绿素荧光参数的影响 光系统II F_v/F_m 是衡量植物光能利用能力的指标。 F_v/F_m 值越大,表明该植物的光能利用潜力越大^[9]。它是植物发生光抑制的敏感指标。从图 4A 可以看出,不同温度处理对忽地笑叶片 F_v/F_m 有显著影响。从 10 ℃开始, F_v/F_m 随着温度的升高而升高,25 ℃时忽地笑最大 F_v/F_m 值为 0.825,当温度达到 30 ℃时, F_v/F_m 值迅速下降,仅为 0.717,表明高温使 PSII 反应中心光能转换效率下降,出现了光抑制现象。 F_0 为初始荧光,是指 PSII 反应中心处于完全开放时的荧光产量,与 PSII 的天线色素内的最初激子密度以及天线色素到 PSII 反应的激发能传递速率的结构状态有关。 F_0 的减少表明天线色素的热耗散增加; F_0 的增加则表明 PSII 反应中心破坏或可逆失活。由图 4B 可知, F_0 的变化与 F_v/F_m 相对应,当温度处于 5~20 ℃之间时, F_0 呈现先升高后下降的趋势,但数值变化不

大;当温度达到 25 ℃时, F_0 明显下降,表明净光合速率增强,导致叶片热耗散增加;当温度为 30 ℃时, F_0 迅速上升,表明高温使忽地笑 PSII反应中心被破坏或可逆失活。 qP 反映 PS II天线色素吸收的光能用于光化学电子传递的份额,是由质体醌类 QA 等再氧化所造成的,与电子传递、光合氧化等过程直接相关。 qP 越大,QA 重新氧化的量越大,即 PSII的电子传递活性越大^[10]。由图 4C 可知, qP 的变化趋势与 F_v/F_m 一致, qP 从 10 ℃开始逐渐上升,25 ℃时达到最高,30 ℃时 qP 降低,但数值与 10~20 ℃时测得的相近,表明高温胁迫下忽地笑 PSII电子传递活性受抑制的程度较小。 NPQ 反映 PS II天线色素吸收的光能不能用于光合电子传递而以热的形式

耗散掉的光能。当 PSII反应中心天线色素吸收过量的光能时,一般会通过非辐射的热耗散及相关途径将过剩的光能耗散掉,若不能及时地耗散则将对光合机构造成破坏,所以非光化学淬灭是一种自我保护机制,对光合机构起一定的保护作用^[11]。由图 4D 可知, NPQ 的变化趋势与 F_0 一致,呈先上升后下降再上升的趋势,表明随着温度的升高,忽地笑吸收的不能用于光合电子传递的光能越来越多,必须通过热能形式消耗掉,当温度达到 25 ℃时, NPQ 下降,表明该温度下忽地笑的光能利用率高,而通过热耗散的光能少,待温度升到 30 ℃, NPQ 又迅速升高,表明在高温胁迫下忽地笑能通过热耗散保护光合机构。

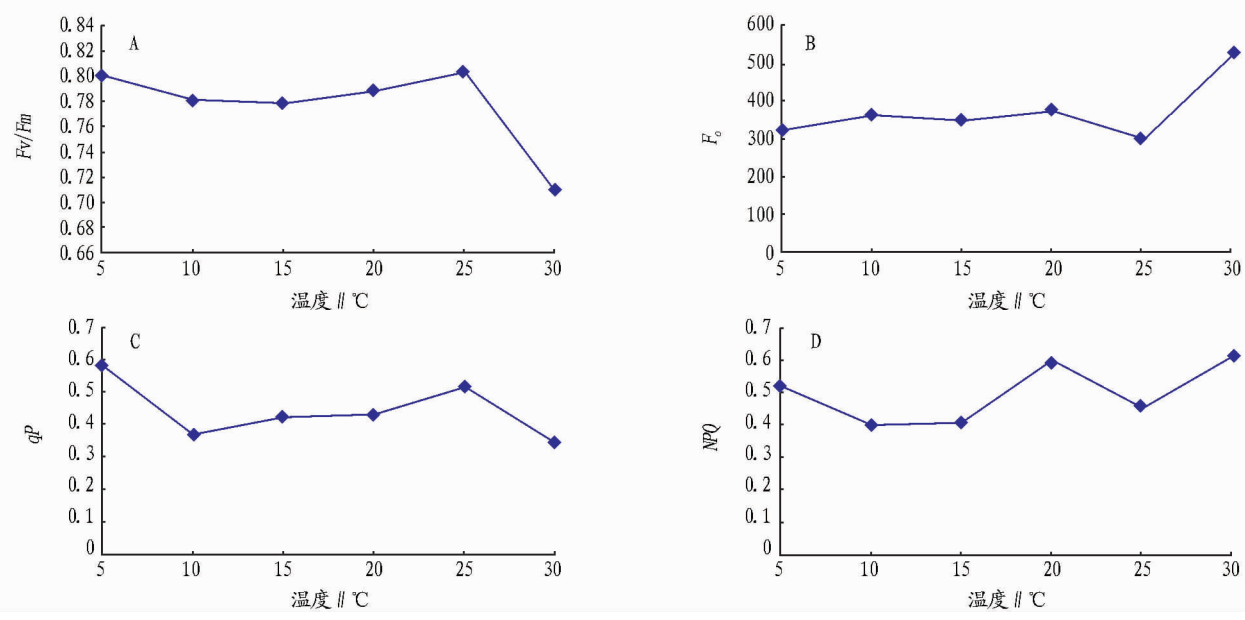


图 4 不同温度下忽地笑叶绿素荧光参数的变化

3 讨论

植物光合作用是植物生理代谢的基础,也是全球碳循环及其他物质循环的基础与重要环节,因此光合作用是植物重要的生理过程,是评价植物第一生产力的标准之一^[12]。许多研究表明,影响植物光合作用的诸多环境因素中光合有效辐射是影响光合速率的最主要因素,对植物光合速率和蒸腾速率影响最大的环境因子是气温,其次是水分和相对湿度^[13]。该研究中忽地笑在不同温度下光合速率表现出明显差异,在同一温度下净光合速率随着光强的增强而增加直至饱和;不同温度下的对比表明,忽地笑在 25 ℃条件下净光合速率最高。通过对光响应曲线的拟合,计算出忽地笑在不同温度下光饱和点、光补偿点、表观量子效率及最大净光合速率。忽地笑光饱和点范围在 633~1 141 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 之间,其中 30 ℃下光饱和点最低,表明该条件下忽地笑利用强光能力弱;忽地笑光补偿点范围在 20~107 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 之间,15、20、25 ℃下光补偿点均较低,表明在此温度下忽地笑利用弱光能力强,符合阴生植物的特点。这与全妙华等^[1]对忽地笑光合特性的研究结果相似。在一定条件下,植物的最大净光合速率标志着植物的最大光合能力,表观量子利用效

率反映植物对光能的利用情况,尤其是对弱光的利用能力^[14]。试验中,在 25 ℃时忽地笑最大净光合速率达到最高值,表观量子效率亦为最高,其次为 20 ℃条件下。忽地笑为典型的秋出叶植物,试验中所测得的光合作用最适温度与其在野外发叶所需环境温度相一致。

王斌等^[12]研究表明,高温高湿使沼泽小叶桦光合速率下降是由“气孔因素”和“非气孔因素”2 个方面原因造成的,其中“气孔因素”是由高温造成蒸腾作用增强,气孔对蒸腾作用的反馈抑制造成的。研究中,在低温条件下,空气相对湿度较大,导致忽地笑净光合速率较低;随着温度的升高,空气相对湿度降低,忽地笑蒸腾作用逐渐加强,净光合速率上升。当温度超过 25 ℃时,高温使部分气孔关闭,叶片水分缺失,导致蒸腾速率下降,进而影响植物净光合速率。

环境温度对植物生长具有重要的影响。不适的温度会影响植物的光合效率,受温度胁迫时更易发生光抑制现象^[15]。叶绿素荧光反映的是光合作用内在性特点。它能够快速、灵敏地反映植物生理状态及其与环境的关系。其中,最大荧光效率表示叶绿体光系统II受到伤害的指标,对环境

(下转第 7799 页)

分、pH 值变化等原因。变异株 8632 的酶活力较出发菌株 3522 提高了 9.98%,较原始菌株 ZW-1 提高了 125.86%。

表 5 硫酸二乙酯处理时间的诱变效果

菌株	Hc	酶活力//IU/ml
3522	2.30	95.13
3611	1.84	86.41
4532	2.31	56.25
6570	2.53	96.32
8623	1.96	104.62
9621	2.92	82.54
9632	3.01	95.69
1061	2.01	52.18

2.4 突变株 8632 的遗传稳定性 将选育到得突变株 8632 在斜面培养基上连续传代 5 代后,在适宜条件下进行培养,3 次重复,测定酶活,得到 1~5 代的平均酶活分别为 105.20、103.57、108.6、102.34、104.76 IU/ml。SPSS 13.0 统计分析表明:变异株 8632 脂肪酶活力经 5 次连续传代后在 $P=0.05$ 范围内无显著变化,说明变异菌株 8632 具有良好的遗传稳定性。

3 结论

(1)该试验以从自然界中分离出的野生脂肪酶产生菌

ZW-1 为出发菌株,经过紫外线、微波及硫酸二乙酯(DES)复合诱变后,其酶活力有较大提高,在合适条件下发酵,突变株 8632 的酶活力为 104.62 IU/ml,比原始出发菌株 ZW-1 的酶活力(46.32 IU/ml)提高了 125.86%。

(2)将突变株 8632 连续传代 5 代,液体发酵后所得结果经 SPSS 13.0 统计学分析表明,其酶活力在 $P=0.05$ 范围内无显著性差异,说明突变株 8632 的遗传性状稳定。

参考文献

[1] REETZ MANFRED T.Lipases as practical biocatalysts[J]. Current Opinion in Chemical Biology,2002,6(2):145-150.
[2] 胡朝阳,韦晗宁,李春苑.产脂肪酶菌株的筛选及酶学特性研究[J].广西农业生物科学,2006,25(3):261-268.
[3] 吴松刚,谢新东,黄建忠,等.类产碱单胞菌耐热碱性脂肪酶的研究[J].微生物学报,1997,37(1):32-39.
[4] 吴松刚.碱性脂肪酶研究进展及其产业化对策[J].华工科技市场,2001,24(2):18-20.
[5] MAIA M M D,HEASLEY A,CAMARGO DE MORAIS,et al. Effect of culture conditions on production by *fusarium solani* in batch fermentation[J]. Bioresourse Technology,2001,76(1):23-27.
[6] 兰时乐,李立恒,王晶,等.微波诱变结合化学诱变选育纤维素酶高产菌的研究[J].微生物学杂志,2007,27(1):22-25.
[7] 江慧芳,王雅琴,刘春国.三种脂肪酶活力测定方法的比较及改进[J].化学与生物工程,2007(8):72-73.

(上接第 7741 页)

胁迫较敏感,其大小可反映植物 PSII 受伤害的程度^[16]。近年来,该指标被逐渐应用到评价耐荫树木、药用植物对光环境的适应性研究^[17]。试验中忽地笑最大荧光效率在 30℃ 下最低,表明高温使 PSII 反应中心光能转换效率下降,出现了光抑制现象,而该温度下初始荧光与非光化学猝灭数值增大,表明忽地笑将过剩光能通过热耗散的形式消耗。这是一种自我保护机制以适应环境变化。综上所述,忽地笑在 20~25℃ 范围内光能利用率最高。它对光照要求不严,对弱光和强光均可有效利用,适应性较强。因此,在选择忽地笑林下栽培环境时,可以选择光照较充足的地块。忽地笑可以充分发挥利用光能的潜力,达到增产、增收的目的。

参考文献

[1] 全妙华,陈东明,何吉.石蒜属植物忽地笑的光合特性研究[J].西南农业学报,2010(3):694-699.
[2] 鲍淳松,张鹏肿,张海珍,等.沙床栽培中施肥对忽地笑生长量及净光合速率的影响[J].南京林业大学学报:自然科学版,2012(5):61-65.
[3] 全妙华,李爱民,陆金婷,等.遮荫对石蒜属植物忽地笑光合特性的影响[J].中国农学通报,2011(10):144-148.
[4] LIU K,TANG C F,ZHOU S B,et al. Comparison of the photosynthetic characteristics of four *Lycoris* species with leaf appearing in autumn under field conditions[J]. Photosynthetica,2012,50(4):570-576.
[5] 叶子飘.光合作用对光响应新模型及其应用[J].生物数学学报,2008(4):710-716.
[6] 叶子飘.光响应模型在超级杂交稻组合-Ⅱ优明 86 中的应用[J].生态学杂志,2007(8):1323-1326.

[7] LIU Y Q,SUN X Y,WANG Y,et al. Effects of shades on the photosynthetic characteristics and chlorophyll fluorescence parameters of *Urtica dioica* [J]. Acta Ecologica Sinica,2007,27(8):3457-3464.
[8] 贺安娜,姚奕.虎耳草冬季净光合速率、蒸腾速率日变化及其影响因子分析[J].西南农业学报,2011(4):1298-1302.
[9] 吴飞燕,伊力塔,李修鹏,等.不同光照强度对石栎幼苗叶绿素含量及叶绿素荧光参数的影响[J].东北农业大学学报,2012(4):88-92.
[10] 宋丽莉,赵华强,朱小倩,等.高温胁迫对水稻光合作用和叶绿素荧光特性的影响[J].安徽农业科学,2011,39(22):13348-13353.
[11] 翟洪波,呼和收仁,周梅,等.不同年龄华北落叶松光合、蒸腾生理生态特征的研究[J].内蒙古农业大学学报:自然科学版,2010(2):66-71.
[12] 王斌,赵慧娟,巨波,等.不同温度、湿度水平下沼泽小叶桦光合日动态初步研究[J].上海交通大学学报:农业科学版,2011(6):42-45.
[13] 宫璇,张如莲,曹红星,等.4 个椰子品种光合、蒸腾作用日变化特征及影响因素[J].热带作物学报,2011(2):221-224.
[14] 王红梅,黄金艳,李凤梅,等.不同西瓜材料光响应曲线特性分析[J].中国瓜菜,2013(1):7-12.
[15] ALLEN D J,ORT D R. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants[J]. Trends in Plant Science,2001,6(1):36-42.
[16] 莫乙伟,郭振飞,谢江辉.温度胁迫对柱花草叶绿素荧光参数和光合速率的影响[J].草业学报,2011(1):96-101.
[17] 杨志玲,杨旭,谭梓峰,等.林药间作系统石蒜叶绿素及其荧光参数日变化特征[J].江西农业大学学报,2011(2):322-327.
[18] WANG X Z,DUAN A G,BAO E J,et al. Dynamic change laws of chlorophyll fluorescence parameters in different parts of leaves of *Ginkgo biloba* [J]. Agricultural Science & Technology,2011,12(4):530-532,536.
[19] 许培磊,焦竹青,王振兴,等.五味子休眠前叶片的叶绿素荧光参数变化研究[J].华北农学报,2012(S1):209-212.
[20] 杨贤松,许晖,谢海伟.温度对银杏叶片叶绿素荧光动力学参数的影响[J].光谱实验室,2012(6):3479-3482.