

NaCl 与 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 等渗胁迫对豇豆新老叶光合特性的影响曾文静<sup>1,2</sup>, 汪李平<sup>1\*</sup>, 杨静<sup>1</sup> (1. 华中农业大学园艺林学学院, 湖北武汉 430000; 2. 赣州市农业科学研究所, 江西赣州 341000)

**摘要** [目的]探索 NaCl 和 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 等渗胁迫对豇豆新老叶光合特性的影响。[方法]试验采用营养液基质栽培法,通过测定豇豆新老叶叶绿素和叶绿素荧光参数的动态变化,研究豇豆的光合作用对 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 和 NaCl 等渗胁迫的响应。[结果]2 种盐处理对老叶的叶绿素含量没有明显影响;在新叶中,叶绿素含量在 NaCl 胁迫下降低,在 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 胁迫下则略有升高。NaCl 胁迫明显降低新老叶的 PSII 最大光合效率( $F_v/F_m$ )和 PSII 实际光合效率[Y(II)],对新老叶造成了不可逆光抑制。老叶的光化学淬灭系数(qP)明显降低,新叶 qP 未有降低,表明新老叶的盐害程度和光保护机理可能不同。在 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 胁迫下,新老叶中  $F_v/F_m$  与对照无明显差异,且非光化学淬灭系数(qN)都明显升高。这表明 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 胁迫对豇豆新老叶片没有造成不可逆性光抑制,新老叶都有通过改变光系统 II 激发能分配方式来适应盐胁迫环境。老叶 Y(II)和 qP 处理后略低于对照,而新叶则无明显变化,老叶受到的盐害较新叶严重。[结论]2 种盐胁迫未影响老叶叶绿素含量,但老叶的光系统 II 在盐胁迫下受到的伤害较新叶严重,且 NaCl 胁迫对豇豆幼苗的伤害要大于等渗 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>。

**关键词** 等渗胁迫;豇豆;光合作用;叶绿素荧光参数

**中图分类号** S643.4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)19-0003-04

Effects of NaCl and Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> Isotonic Stress on Photosynthetic Characteristics in New Leaves and Old Leaves of Cowpea

ZENG Wen-jing<sup>1,2</sup>, WANG Li-ping<sup>1\*</sup>, YANG Jing<sup>1</sup> (1. College of Horticulture and Forestry, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430000; 2. Ganzhou Agricultural Science Institute, Ganzhou, Jiangxi 341000)

**Abstract** [Objective] To discuss the effects of isotonic stress of NaCl and Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> on photosynthetic characteristics in new leaves and old leaves of cowpea. [Method] Taking nutrient solution culture method, the response of the photosynthesis of cowpea to Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> and NaCl isotonic stress was studied by measuring the dynamic changes of chlorophyll and chlorophyll fluorescence parameters of cowpea in this study. [Result] Two kinds of salt treatments had no significant effect on the chlorophyll content in old leaves. In the new leaves, chlorophyll content decreased under NaCl stress, and increased slightly under Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> stress. NaCl stress significantly reduced  $F_v/F_m$  and Y(II) of the new leaves and old leaves, and caused irreversible photo inhibition to the old and new leaves. qP of the old leaves was significantly reduced, and qP in new leaves was not reduced, indicating that the salt damage degree and the protective mechanism of the new leaves and old leaves might be different. Under the stress of Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, there was no significant difference in  $F_v/F_m$  between the new leaves and old leaves, and qN was significantly increased, indicating that Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> stress did not cause irreversible photo inhibition of the old leaves and new leaves, and all leaves adapted to the salt stress environment by changing the photosystem II excitation energy distribution. Y(II) and qP of the old leaves were slightly lower than that of control at late period, while the new leaves had no obvious changes. The old leaves were more severely damaged than the new leaves. [Conclusion] Two kinds of salt stress did not affect the chlorophyll content in the old leaves, but the damage of the PS II of old leaf under salt stress was more serious than that of the new leaf, and the damage of NaCl stress to cowpea seedlings was greater than that of Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> stress under isotonic conditions.

**Key words** Isotonic stress; Cowpea; Photosynthesis; Chlorophyll fluorescence parameters

土壤盐渍化是农业发展面临的一个重要问题,特别是随着设施园艺的发展以及设施栽培面积的扩大,土壤次生盐渍化现象已逐渐成为土壤盐渍化中的突出问题。滨海地区土壤中的主要盐分为 NaCl,而大量研究表明大部分的设施土壤次生盐渍化的主要盐分为 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>。关于 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 和 NaCl 等渗胁迫在黄瓜和番茄上的研究较多,而在豇豆上的研究较少。笔者研究 NaCl 和 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 等渗胁迫对豇豆叶绿素及叶绿素荧光参数的影响,旨在探究 NaCl 和 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 这 2 种盐分胁迫对豇豆造成光合系统伤害的机理和伤害程度的异同,为设施土壤改良与品种选育提供理论依据。

## 1 材料与方

**1.1 试验材料及处理** 试验在华中农业大学园艺植物生物学教育部重点实验室进行。选取盐敏感品种卡米罗为试验材料,其种子由武汉市文鼎农业生物技术有限公司提供。先将种子用蒸馏水进行清洗,然后用 5% NaClO 消毒 15 min,再用蒸馏水清洗 3 次,蒸馏水浸种 4 h,放入垫有 2 张湿润滤纸的 9 cm 培养皿中,在(26±2)℃环境下催芽。将浸种出芽的

种子播入装满珍珠岩营养钵中,每个营养钵播种 2 粒,浇灌蒸馏水,2 d 后剔除生长不一致的种苗,保证每个营养钵只留 1 棵幼苗,之后每天浇灌 Hoagland 营养液,待幼苗的子叶完全展开时,选取生长整齐一致的豇豆幼苗分成 3 组,进行如下处理:①对照,全 Hogland 营养液栽培;②NaCl 处理,全 Hogland + 75 mmol/L NaCl 栽培;③Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 处理,全 Hogland + 50 mmol/L Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>。为防止盐激反应的发生,Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 和 NaCl 分 2 次平均加入,此后每个处理每天用相应的溶液浇灌。每个处理 3 次重复。在盐胁迫的 0、2、4、6、7、8、9、10 d 每个处理取 6 株的叶片进行各项指标的测定,测定时将叶片分成老叶(1)、新叶(lp)2 个部分分别进行测定(老叶是处理前长出的 2 片子叶,新叶为处理后长出的第 1 片复叶)。在光照培养室进行试验,环境条件如下:温度(26±2)℃,光通量 100~140 μmmol/(m<sup>2</sup>·s),光照周期为 14L:10D。

## 1.2 测定指标与方法

**1.2.1 叶绿素含量。**参照王学奎<sup>[1]</sup>的方法测定叶绿素含量。

**1.2.2 叶绿素荧光参数。**使用 IMAGING-PAM MAXI 版荧光仪(Walz 公司,德国)测定荧光诱导动力学曲线。叶片经 30 min 充分暗适应后,将叶片放在 x-y 台上,并被其上固定

**基金项目** 湖北省现代农业产业技术体系项目。

**作者简介** 曾文静(1992—),女,江西赣州人,硕士研究生,研究方向:设施蔬菜高效生产体系。\*通讯作者,教授,从事蔬菜栽培生理、设施园艺、农业园区规划设计等研究。

**收稿日期** 2017-05-12

的黑色泡棉橡皮筋压住,以保证叶片平整及镜头与样品间距离固定(18.5 cm)。测定 PSII最大光合效率( $F_v/F_m$ )、PSII实际光合效率[ $Y(II)$ ]、光化学淬灭系数(qP)、非光化学淬灭系数(qN)。

## 2 结果与分析

### 2.1 豇豆新老叶在 NaCl 与 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 等渗胁迫下光合色素的动态变化

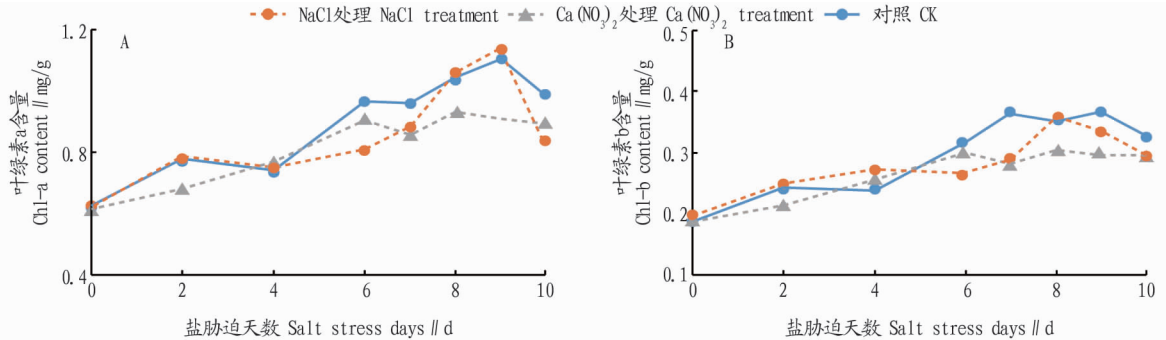


图1 豇豆老叶在 NaCl 与  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  等渗胁迫下叶绿素含量的动态变化

Fig.1 The dynamic changes of chlorophyll content in old leaves of cowpea under isotonic stress of NaCl and  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

从图2可以看出,在豇豆新叶中,NaCl 处理叶绿素 a 和叶绿素 b 含量在 4 d 时明显低于  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  处理和对照,即新叶刚长出时其叶绿素含量明显低于  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  处理和对

中叶绿素含量在处理后期略有下降趋势,这可能是盐胁迫促使叶绿素降解的结果。在  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  胁迫下的叶绿素 a 与叶绿素 b 含量在初期缓慢提高,此后呈平稳变化趋势,说明  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  胁迫下可能有延缓老叶叶绿素降解的作用,而处理后期叶绿素含量比对照略低。对照(CK)叶绿素 a 与叶绿素 b 则呈现先上升后轻微下降的趋势,后期叶绿素下降可能是叶片老化的原因。

照; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  处理下叶绿素 a 与叶绿素 b 含量均略高于对照。这说明 NaCl 胁迫促进新叶叶绿素降解,而  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  胁迫可能有促进叶绿素合成的作用。

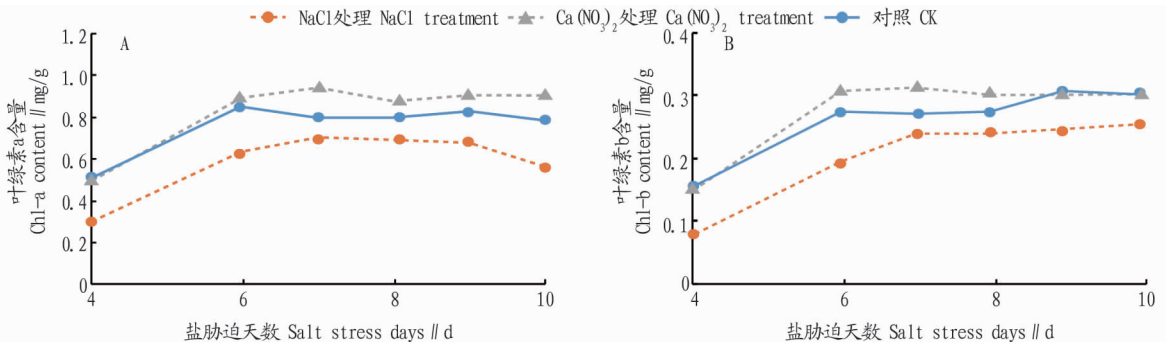
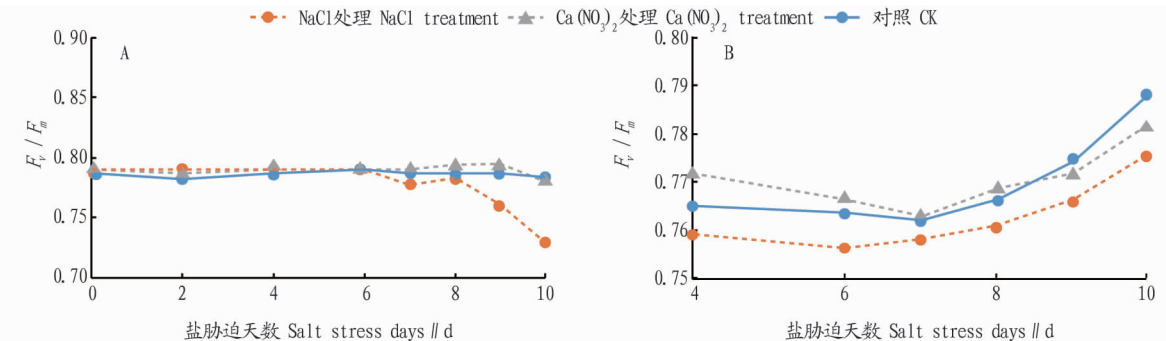


图2 豇豆新叶在 NaCl 与  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  等渗胁迫下叶绿素含量的动态变化

Fig.2 The dynamic changes of chlorophyll content in new leaves of cowpea under isotonic stress of NaCl and  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

### 2.2 豇豆新老叶在 NaCl 与 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 等渗胁迫下叶绿素荧光参数的动态变化



注:A.老叶;B.新叶

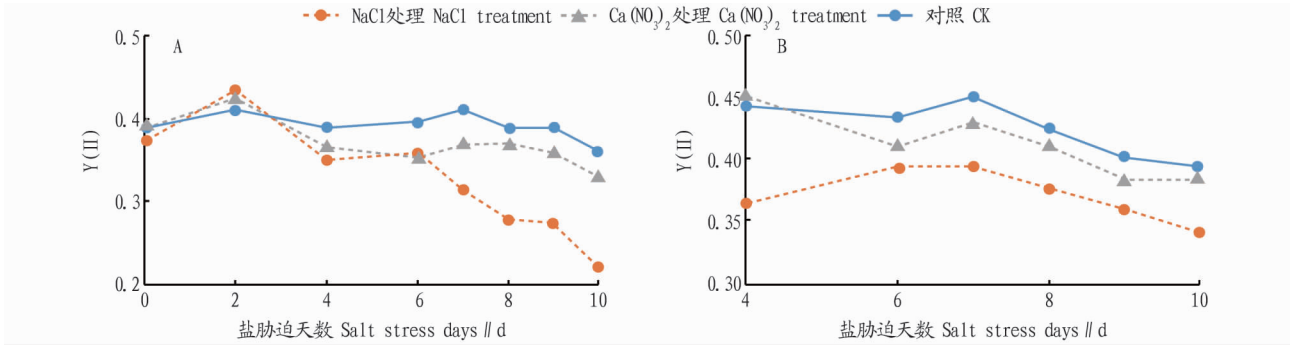
Note: A. old leaves; B. new leaves

图3 NaCl 与  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  等渗胁迫下豇豆叶片  $F_v/F_m$  的动态变化

Fig.3 The dynamic changes of  $F_v/F_m$  in cowpea leaves under isotonic stress of NaCl and  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

于对照,在 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 处理下 4 d 时豇豆新叶中  $F_v/F_m$  高于其他 2 个处理,此后与对照无明显差异。这说明在 50 mmol/L Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 胁迫下未对豇豆叶片的光合系统产生明显危害。各组豇豆新叶的  $F_v/F_m$  都随着处理时间的延长呈先降后升的趋势,可能是因为 4 d 时新叶发育不全的原因。

从图 4 可以看出,在 NaCl 胁迫下,老叶 Y(II) 随着处理时间的延长而逐渐下降,Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 胁迫下 Y(II) 在 4 d 后一直略低于对照。新叶在 NaCl 胁迫下 Y(II) 一直明显低于对照,即在新叶刚长出时的 Y(II) 明显低于对照,并且一直保持此差值;Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 胁迫则与对照无明显差异。



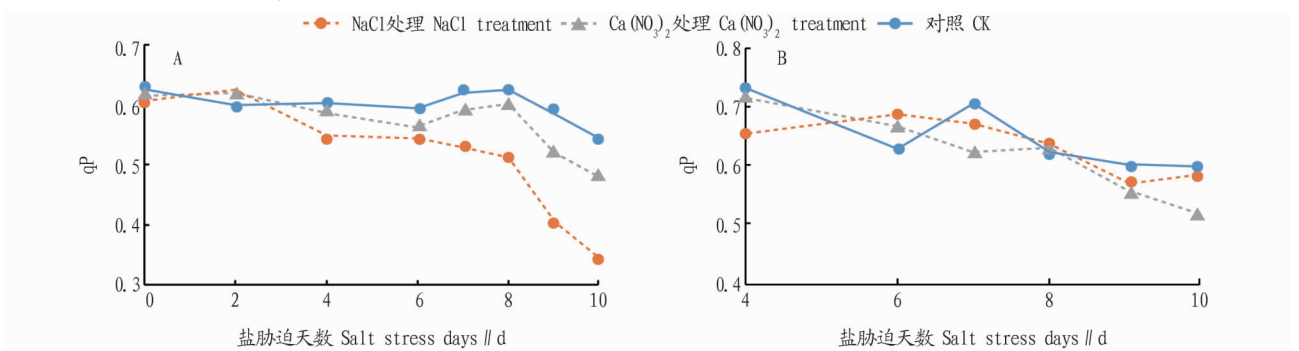
注:A. 老叶;B. 新叶  
Note: A. old leaves; B. new leaves

图 4 NaCl 与 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 等渗胁迫下豇豆叶片 Y(II) 的动态变化

Fig. 4 The dynamic changes of Y(II) in the leaves of cowpea under isotonic stress of NaCl and Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

从图 5 可以看出,在盐胁迫下,老叶 qP 随着处理时间的延长而逐渐下降,且 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 处理的降幅明显小于 NaCl 处

理;在新叶中,各处理间 qP 无明显差异。



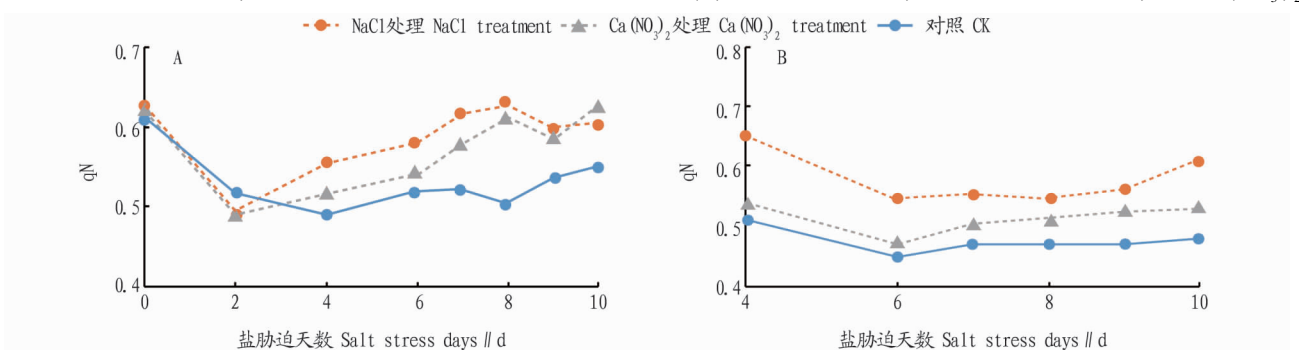
注:A. 老叶;B. 新叶  
Note: A. old leaves; B. new leaves

图 5 NaCl 与 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 等渗胁迫下豇豆叶片 qP 的动态变化

Fig. 5 The dynamic change of qP in the leaves of cowpea under isotonic stress of NaCl and Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

从图 6 可以看出,老叶在盐胁迫下,qN 从 2 d 开始随着处理时间的延长而升高,且 2 种盐胁迫间无明显差异。新叶

在 NaCl 胁迫下一直明显高于对照,即在新叶刚长出时的 Y(II) 就明显高于对照,并且一直保持此差值,而在 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>



注:A. 老叶;B. 新叶  
Note: A. old leaves; B. new leaves

图 6 NaCl 与 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 等渗胁迫下豇豆叶片 qN 的动态变化

Fig. 6 The dynamic changes of qN in the leaves of cowpea under isotonic stress of NaCl and Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

胁迫下  $qN$  随着处理时间的延长逐渐高于对照,增幅略小于 NaCl 胁迫。

### 3 讨论与结论

**3.1 NaCl 与  $Ca(NO_3)_2$  等渗胁迫对豇豆叶片叶绿素的影响** 叶绿素是高等植物进行光合作用的最主要的光合色素。在一定的范围内,增加叶绿素含量可以增强植物对光能的吸收与转化,而盐胁迫诱导产生的活性氧也可使植物光合色素脱色。该试验中,各处理叶绿素 a 与叶绿素 b 含量的动态变化基本一致。在 NaCl 胁迫下,叶绿素含量在老叶中表现不同,NaCl 胁迫只促使新叶叶绿素含量降低,而对老叶影响不大;这可能是因为 NaCl 胁迫下,离子间的拮抗作用导致某些元素的缺乏,抑制了新叶叶绿素的合成,使新叶刚长出时其叶绿素就明显低于对照。在  $Ca(NO_3)_2$  胁迫下,老叶叶绿素在处理后期略低于对照,可能是因为老叶吸收了较多 Ca 质量基数大的原因;在新叶中,叶绿素含量略有提高。研究表明,在一定范围内,硝酸盐胁迫能提高黄瓜叶片和芹菜叶片的叶绿素的含量,表明硝酸盐浓度的增加引起植株全 N 含量上升,可能是  $Ca(NO_3)_2$  胁迫下叶绿素含量提高的原因<sup>[2-3]</sup>。

**3.2 NaCl 与  $Ca(NO_3)_2$  等渗胁迫对豇豆叶片光反应的影响** 经过暗适应后的光系统 II 的最大光合效率  $F_v/F_m$ <sup>[4]</sup> 反映植物的潜在最大光能转换效率。一般认为,  $F_v/F_m$  的下降是植物受到胁迫的标志。C<sub>3</sub> 植物的  $F_v/F_m$  为 0.83 ~ 0.84<sup>[5-6]</sup>。作用光存在时光系统 II 的实际光合效率  $Y(II) = (F_m' - F)/F_m'$ , 它反映了光系统 II 实际的光能转换效率。qP 为光化学淬灭系数,光化学淬灭系数表明光系统 II 吸收的能量用于进行光化学反应的比例,反映了植物光合活性的高低,光化学淬灭系数越大。还原态质体醌重新氧化形成的量越大,也就是说,电子传递活性越大,  $qN$  为非光化学淬灭,反映了植物耗散过剩光能为热量的能力,即光保护能力,热耗散的增加涉及依赖 O<sub>2</sub> 的电子流、PSII 反应中心的失活、叶黄素循环和跨类囊体膜质子梯度的形成等<sup>[7]</sup>。非生物胁迫对光系统 II 的光抑制分为不可逆的光抑制和可逆的光抑制,前者会引起  $F_v/F_m$  下降,往往涉及光合结构的破坏,特别是 D<sub>1</sub> 蛋白的净损失,光合功能不易迅速恢复,这需要蛋白的重新合成并组装;后者则与光合结构的热耗散有关,表现为量子效率的下调,能够得到迅速恢复。

该试验中,NaCl 胁迫明显降低新老叶的  $F_v/F_m$  和  $Y(II)$ , 明显对新老叶造成了不可逆光抑制<sup>[8]</sup>,这与水稻中的研究结果相似<sup>[9]</sup>。老叶的 qP 明显降低,而叶绿素含量并没有降低,说明光合组织结构遭到严重破坏可能是老叶产生不可逆光抑制的原因。黄瓜受 NaCl 胁迫后,Na 损伤叶绿体的膜系统,基粒片层数目减少,内部结构有降解趋势<sup>[10]</sup>;新叶 qP 未有明显降低,而叶绿素含量明显降低,表明光系统 II 吸收的能量用于进行光化学反应的比例可能没有改变,因此新叶叶绿素含量的降低可能是导致新叶光系统 II 吸收的绝对激发能下降,光系统 II 的实际光能转化效率下降,产生不可逆光抑制的原因。而新老叶  $qN$  明显下降,表明新老叶都耗散了过剩的光能为热量进行光保护。在  $Ca(NO_3)_2$  胁迫下,新叶中  $F_v/F_m$ 、 $Y(II)$ 、qP 与对照无明显差异,  $qN$  明显升高;老叶中  $F_v/F_m$  与对照无明显差异,  $Y(II)$  和 qP 处理后期略低于对照;  $qN$  明显升高。这表明  $Ca(NO_3)_2$  胁迫对豇豆新老叶片没有造成不可逆性光抑制,且老叶受到的盐害较新叶严重,新老叶可通过改变光系统 II 激发能分配方式,提高热耗散消耗过多激发能来适应盐胁迫环境。

### 参考文献

- [1] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [2] 王玉英, 徐慧妮, 陈丽梅, 等. 硝酸盐水平对芹菜幼苗生理及生长特性的影响[J]. 西北植物学报, 2012, 32(6): 1171 - 1178.
- [3] 王素平, 郭世荣, 胡晓辉, 等. 盐胁迫对黄瓜幼苗叶片光合色素含量的影响[J]. 江西农业大学学报, 2006, 28(1): 32 - 38.
- [4] KITAJIMA M, BUTLER W L. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone[J]. Biochimica et biophysica acta, 1975, 376(1): 105 - 115.
- [5] BJÖRKMAN O, DEMMIG B. Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins[J]. Planta, 1987, 170(4): 489 - 504.
- [6] PFÜNDEL E. Estimating the contribution of Photosystem I to total leaf chlorophyll fluorescence[J]. Photosynthesis research, 1998, 56(2): 185 - 195.
- [7] 许大全. 光合作用效率[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002.
- [8] 史庆华, 朱祝军, AL-AGHABARY K, 等. 等渗  $Ca(NO_3)_2$  和 NaCl 胁迫对番茄光合作用的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2004, 10(2): 188 - 191.
- [9] LEE M H, CHO E J, WI S G, et al. Divergences in morphological changes and antioxidant responses in salt-tolerant and salt-sensitive rice seedlings after salt stress[J]. Plant physiology and biochemistry, 2013, 70: 325 - 335.
- [10] 张景云, 吴凤芝. 盐胁迫对黄瓜不同耐盐品种叶绿素含量和叶绿体超微结构的影响[J]. 中国蔬菜, 2009(10): 13 - 16.
- [1] 郭贵林, 邓启妍. 黑龙江植物检索表[M]. 哈尔滨: 黑龙江人民出版社, 1990.
- [2] 傅沛云. 东北植物检索表[M]. 北京: 科学出版社, 1995.
- [3] 吴征镒. 中国种子植物属的分布区类型[J]. 云南植物研究, 1991(增 XII): 1 - 139.
- [4] 吴征镒. 中国植被[M]. 北京: 科学出版社, 1995.

(上接第 2 页)

### 参考文献

- [1] 杨洪升, 王长宝, 程海涛, 等. 抚远东极机场植物资源调查及鸟击防范策略[J]. 北方农业学报, 2016, 44(2): 131 - 134.
- [2] 罗志文, 伊焕峰, 栾雪, 等. 抚远东极机场传粉昆虫资源调查及分类[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(34): 20 - 21.