

## 干旱和盐胁迫对棉苗光合抑制效应的比较

唐薇<sup>1</sup>, 罗振<sup>1</sup>, 温四民<sup>2</sup>, 董合忠<sup>1\*</sup>, 李维江<sup>1</sup>, 辛承松<sup>1</sup>

(1. 山东省农业科学院棉花研究中心 山东省棉花栽培生理重点实验室, 济南 250100;

2. 东北农业大学生命科学学院, 哈尔滨 150030)

**摘要:**以无盐正常供水为对照,研究了等渗条件下干旱和 NaCl 处理对棉苗光合速率(Pn)、叶绿素荧光参数、过氧化物酶(POD)活性和丙二醛(MDA)与游离脯氨酸(Pro)含量的影响。干旱和盐胁迫都显著降低叶片的 Pn、蒸腾速率(Tr)、气孔导度(Gs)、气孔限制值(Ls)和叶绿素与类胡萝卜素含量。干旱或盐胁迫引起初始荧光( $F_0$ )上升,最大荧光( $F_m$ )、PS II 原初光能转化效率( $F_v/F_m$ )和 PS II 潜在活性( $F_v/F_0$ )显著下降,PS II 实际光化学量子产量( $\Phi$ PS II)略有降低,而 POD 活性、MDA 和 Pro 含量显著提高。棉苗在不同胁迫后的叶绿素含量、POD 活性、MDA 和 Pro 累积等方面存在量上的差异,说明等渗条件下干旱和盐胁迫对光合的抑制效应与机理存在诸多相似性,也有特异性。

**关键词:**棉花; 干旱; 盐胁迫; 光合速率; 叶绿素荧光

**中图分类号:**S562.01 **文献标识码:**A

**文章编号:**1002-7807(2007)01-0028-05

## Comparison of Inhibitory Effects on Leaf Photosynthesis in Cotton Seedlings between Drought and Salinity Stress

TANG Wei<sup>1</sup>, LUO Zhen<sup>1</sup>, WEN Si-min<sup>2</sup>, DONG He-zhong<sup>1\*</sup>, XIN Cheng-song<sup>1</sup>, LI Wei-jiang<sup>1</sup>

(1. Cotton Research Center, Shanong Academy of Agricultural Sciences, Shandong Key Lab for cotton Culture and Physiology, Jinan 250100, China; 2. College of Life Science, Northeast Agricultural University, Ha'erbin 150030, China)

**Abstract:** In order to investigate the similarities and differences in photosynthetic inhibition between drought and salinity stress, seedlings at three-leaf stage of a commercial Bt cotton cultivar, SCRC 16, was grown and treated with either iso-osmotic drought or NaCl in a greenhouse, and the photosynthetic rate (Pn), chlorophyll fluorescence parameters, peroxidase (POD) activity, malondialdehyde (MDA) and free proline (Pro) contents in seedling leaves were examined at 15 d after being treated. The results showed that either drought or salinity significantly reduced Pn, transpiration rate (Tr), stomatal conductance (Gs), chlorophyll and carotenoid contents. Either of the two stresses increased minimum chlorophyll fluorescence ( $F_0$ ), and decreased maximum chlorophyll fluorescence ( $F_m$ ), PS II primary chemical efficiency ( $F_v/F_m$ ) and PS II potential activity ( $F_v/F_0$ ), but did not significantly result in variation in quantum yield of PS II linear electron ( $\Phi$ PS II) relative to the un-stressed control. POD activity, MDA and Pro contents were significantly raised by drought or salinity. Moderately quantitative differences in chlorophyll and Pro contents, and POD activity and Gs in cotton leaves between drought and salinity were also detected. It suggested that there existed considerable similarities and moderate differences in mechanisms of photosynthetic inhibition between the two kinds of stress.

**Key words:** cotton, drought, salinity, photosynthesis, chlorophyll fluorescence

干旱与盐胁迫都可通过影响包括光合作用在内的多种生理生化代谢减缓或抑制棉花的生长发育,导致减产<sup>[1-2]</sup>,但干旱和盐胁迫的作用机制有所不同。一般认为,干旱伤害主要是通过渗透胁迫实现的,而盐害则是渗透效应和离子毒害的共同作用<sup>[3-4]</sup>。具体到盐胁迫下渗透效应和离子毒害作用的相对大小则因植物种类而不同。渗透胁迫和离子毒害对棉花伤害的作用大致相当,而在滨藜中则以渗透胁迫效应为主<sup>[5]</sup>。既然干旱伤害和盐害的途径不尽相同<sup>[4]</sup>,那么两类胁迫对棉花光合作用的抑制机理也可能存在差异。为此,本文通过设置等渗的干旱和盐处理,比较研究了两种胁迫对棉苗光合速率、叶绿素荧光等生理学参数的影响,以期加深对旱害和盐害发生机理的认识。

## 1 材料和方法

### 1.1 棉苗培养和胁迫处理

棉苗培养和活体测定在山东棉花研究中心温室(济南)内进行。以携带 Bt(*Bacillus thuringiensis*)基因的陆地棉(*Gossypium hirsutum* L)品种鲁棉研 16 号为材料。充实、饱满的脱绒种子播于装满大田表层土的塑料盆(高 30 cm,直径 25 cm,底部透水孔阻塞)。出苗后每盆留 3 株,在棉苗第 3 片真叶展开后,进行如下处理:以维持土壤含水量为最大持水量的 45%作为干旱处理,测定水势为 -0.6 Mpa;通过在土壤中逐次加入 NaCl 溶液创造盐胁迫处理,使土壤溶液的渗透势达到 -0.6 Mpa 左右(计算含盐量 0.4%左右,  $w_{\text{盐}}/w_{\text{土}}$ );以不加 NaCl 并维持土壤含水量为最大持水量的 72%作为正常供水的对照,测定土壤水势为 -0.01 Mpa 左右。每天清晨 6:00 左右称重,通过及时补水保证各处理的水势或渗透势维持在设计水平。处理 15 d 后,测定相关的生理生化指标。

### 1.2 叶片光合参数的测定

以 LI-6400(美国 LI-COR 公司)测定主茎倒 3 叶的光合速率(Pn)、Gs、Ci、Tr 和 Ls 等光合参数( $Ls = 1 - Ci/Ca$ <sup>[6]</sup>,其中 Ca 代表大气 CO<sub>2</sub> 浓度)。测定时以本仪器携带的人工光源、控温设备和 CO<sub>2</sub> 气源维持光强(1000 ± 50)  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,温度 30℃,CO<sub>2</sub> 浓度 380  $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。每处理测定 5 株棉花。同时选晴天于上午 8:00 至下

午 4:00 测定自然条件下功能叶光合参数的日变化,每 2 h 测 1 次。

### 1.3 叶绿素荧光参数的测定

以德国 Mini-PAM 脉冲调制式叶绿素荧光仪测定主茎倒 3 叶的叶绿素荧光参数。用叶夹夹住待测叶片,暗适应 15 min 后,先照射弱测量光(0.12  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )测初始荧光( $F_0$ ),随后照射强饱和脉冲光(4000  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,脉冲时间 0.8 s)测最大荧光( $F_m$ )。计算出可变荧光  $F_v(F_m - F_0)$ 、PSII 最大光化学效率( $F_v/F_m$ )和 PSII 潜在活性( $F_v/F_0$ );再照射作用光后,分别依次照射测量光和饱和脉冲光,测得作用光存在时的稳态荧光  $F_s$  和最大荧光  $F_m'$ ,并按  $(F_s' - F_s)/F_s'$  计算出 PSII 实际量子产量( $\Phi\text{PSII}$ )。每处理测定 5 株。

### 1.4 其它生理参数测定

参照邹琦<sup>[7]</sup>的方法,称取适量倒 3 叶剪碎,以 96%乙醇提取,放置暗处浸提 48 h 后,用 Tu-1901 型双光束紫外可见分光光度计分别在波长 663 nm、646 nm 和 470 nm 处比色,测定吸光度 D 值,计算出 Chla、Chlb、Chla/Chlb 和 Chla + Chlb 及 Car 的含量。以愈创木酚法测定主茎倒 3 叶的过氧化物酶(POD)活性;采用硫代巴比妥酸反应比色测定丙二醛(MDA)的含量;以酸性印三酮显色—甲苯萃取比色法测定游离脯氨酸(Pro)的含量<sup>[7]</sup>。

光合日变化的测定重复 2 次,其它测定皆重复 3 次,结果以 DPS 软件<sup>[8]</sup>进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 干旱和盐胁迫对棉苗叶片光合参数的影响

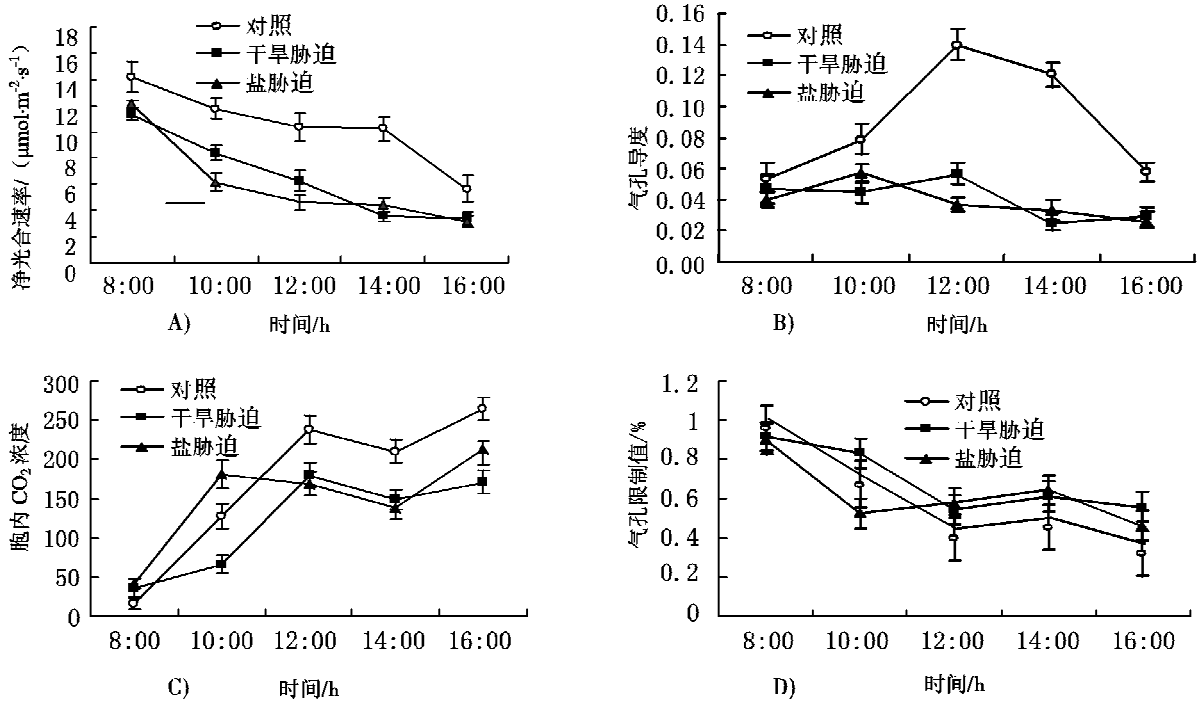
在控制温度、光照和 CO<sub>2</sub> 浓度条件下测定各处理的瞬间光合参数,发现干旱和盐胁迫皆显著降低棉花叶片的净光合速率(Pn)、气孔导度(Gs)、蒸腾速率(Tr)和胞间 CO<sub>2</sub> 浓度(Ci),并且以干旱胁迫下的参数值最低(表 1)。在自然条件下各处理的光合参数自上午到下午皆呈下降趋势,并以干旱和盐胁迫的下降幅度最大(图 1)。从净光合速率变化来看,虽然 10:00 和 12:00 时盐胁迫分别比对照降低了 47.7%和 55.4%,降幅显著高于干旱(28.8%和 39.4%),但两胁迫下净光合速率的总体变化趋势是一致的。

表 1 干旱和盐胁迫对棉苗叶片光合参数的影响

Table 1 Effects of drought and salinity stress on photosynthetic parameters in cotton seedlings

| 处理  | 光合速率( $\text{CO}_2$ )<br>/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$ | 气孔导度<br>/ $(\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$ | 蒸腾速率<br>/ $(\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$ | 胞间 $\text{CO}_2$ 浓度<br>/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$ |
|-----|--|--|---|--|
| 对照  | 12.43a   | 0.139a   | 4.82a   | 221.0a   |
| 干旱  | 5.34b  | 0.016b   | 0.53b   | 173.0b   |
| 盐胁迫 | 9.29c  | 0.080c   | 3.43c   | 181.0c   |

\* 同一栏内标注相同字母者为差异不显著( $P < 0.05$ ), 下同。



A) 光合速率; B) 气孔导度; C) 胞间  $\text{CO}_2$  浓度; D) 气孔限制值 (误差线表示 SD).

A) net photosynthetic rate (Pn); B) stomatal conductance (Gs),

C) intercellular  $\text{CO}_2$  (Ci), D) stomatal limitation (Error bars shows SD).

图 1 干旱和盐胁迫下棉苗光合日变化。

Fig. 1 Diurnal changes of leaf photosynthetic parameters in cotton seedlings under drought and salinity stress.

2.2 干旱和盐胁迫对棉苗叶绿素及类胡萝卜素含量的影响

对于干旱或盐胁迫 15 d 棉花功能叶测定发现, 叶绿素 a、叶绿素 b、a/b、总叶绿素和类胡萝卜素含量都比对照低(表 2)。就降幅而言, 盐胁迫大于干旱胁迫, 但两处理间的差异未达到显著水平。

表 2 干旱和盐胁迫对棉苗叶片叶绿素及类胡萝卜素含量( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )的影响

Table 2 Effects of drought and salinity on chlorophyll and carotenoid contents ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) in cotton seedlings

| 处理  | 叶绿素 a  | 叶绿素 b   | 叶绿素 a/b | 总叶绿素   | 类胡萝卜素  |
|-----|--------|---------|---------|--------|--------|
| 对照  | 1.581a | 0.492a  | 3.21a   | 2.073a | 0.589a |
| 干旱  | 1.138b | 0.402ab | 2.83b   | 1.540b | 0.490b |
| 盐胁迫 | 1.078b | 0.354b  | 3.05ab  | 1.433b | 0.471b |

2.3 干旱和盐胁迫对叶绿素荧光动力学参数的影响

叶绿素荧光参数是判断逆境对植物光合系统影响的良好指标。通过测定不同处理的荧光参数发现, 与对照相比, 干旱和盐胁迫皆使棉苗叶片初始荧光  $F_0$  明显上升,  $F_m$ 、 $F_v/F_m$ 、 $F_v/F_0$  却显著下降,  $\Phi\text{PS II}$  变化不大(表 3); 两种胁迫间叶绿素荧光参数值无显著差异。

表 3 干旱和盐胁迫对叶绿素荧光参数的影响

Table 3 Effects of drought and salinity on leaf fluorescence parameters in cotton seedlings

| 处理  | $F_0$ | $F_m$ | $F_v/F_m$ | $\Phi\text{PS II}$ | $F_v/F_0$ |
|-----|-------|-------|-----------|--------------------|-----------|
| 对照  | 339a  | 1890a | 0.820a    | 0.686a             | 5.58a     |
| 干旱  | 376b  | 1805b | 0.789b    | 0.676a             | 4.80b     |
| 盐胁迫 | 377b  | 1779b | 0.786b    | 0.655a             | 4.72b     |

#### 2.4 干旱和盐胁迫对棉苗 POD 活性、MDA 与 Pro 含量的影响

干旱和盐胁迫处理下,棉苗叶片过氧化物酶(POD)活性显著升高,丙二醛(MDA)和游离脯氨酸(Pro)的含量也显著高于对照。两种胁迫间比较,MDA 含量没有显著差异,尽管干旱胁迫下 POD 活性和 Pro 含量比对照的升高幅度(87.1%和 22 倍)显著大于盐胁迫下的升高幅度(60.53%和 5 倍),但基本的变化趋势一致(表 4)。

表 4 干旱和盐胁迫对棉苗 POD 活性、MDA 与 Pro 含量(鲜重)的影响

Table 4 Effect of drought and salinity on POD activity, MDA and Pro contents in cotton seedlings FW

| 处理  | 过氧化物酶<br>/ $(\Delta 470, \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1})$ | 丙二醛<br>/ $(\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1})$ | 脯氨酸<br>/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$ |
|-----|--|--|--|
| 对照  | 172.91a  | 0.091a                                       | 8.36a  |
| 干旱  | 323.52b  | 0.119b                                       | 193.41b                                      |
| 盐胁迫 | 277.57c  | 0.112b                                       | 53.83c                                       |

### 3 讨论

本文发现,无论干旱还是盐胁迫都显著影响棉花叶片的光合作用。具体表现为,干旱和盐胁迫使棉叶净光合速率显著下降,气孔导度、蒸腾速率和胞间  $\text{CO}_2$  浓度也显著降低,这与前人<sup>[9]</sup>和我们以前的研究<sup>[10-11]</sup>基本一致。尽管干旱与盐胁迫在某个时段的光合参数值存在一定程度的差异,但等渗条件下两种胁迫对棉苗光合作用的抑制效应和基本趋势是大致相同的。

Brugnoli 和 Lauter<sup>[12]</sup>认为,盐胁迫下棉叶光合速率的降低主要是气孔阻力增大所致,随后的研究则认为是气孔因子和非气孔因子的共同影响<sup>[14-15]</sup>。在干旱或盐胁迫下,叶片气孔导度和蒸腾速率降低是棉花作物常见的生理表现<sup>[10-11,15]</sup>。本文也发现了类似现象,胁迫下光合速率显著低于对照的同时,气孔导度也一直维持较低值,说明气孔导度似乎在某种程度上影响了叶片光合作用。但在 8:00-12:00 时各处理气孔导度不断加大的情况下,光合速率却不断降低,而胞间  $\text{CO}_2$  浓度不断升高、气孔限制值却不断降低,这表明非气孔限制因素是光合速率降低的主要原因。叶绿素含量也是影响光合作用的重要因素<sup>[9,16]</sup>,多种胁迫可使叶绿素含量降低<sup>[17-18]</sup>。盐胁迫下叶片叶绿素含量下降的原因,一方面在于 NaCl 能促进叶绿素酶活性,使叶绿素分解<sup>[19]</sup>,另一方面在于类

胡萝卜素含量的降低,减少了对活性氧的淬灭,导致细胞内积累较多的氧自由基,加速叶绿素的分解<sup>[20]</sup>。本研究发现干旱和盐胁迫皆导致棉花叶片叶绿素和类胡萝卜素含量降低,说明两种胁迫下光合作用的降低与叶绿素衰减也有密切的关系。

叶绿素荧光动力学的发展为进一步揭示逆境对光合作用的抑制机理提供了新手段。 $F_0$  是初始荧光, $F_m$  是 PS II 反应中心处于完全关闭时的荧光水平, $F_v$  是可变荧光, $\Phi\text{PS II}$  代表 PS II 的实际量子产量,而  $F_v/F_m$  和  $F_v/F_0$  则分别是光化学效率和 PS II 的潜在活性。Genty 等<sup>[21]</sup>报道干旱对棉花叶绿素荧光参数基本没有影响,Meloni 等<sup>[9]</sup>发现盐胁迫对水培棉花的  $F_0$  和  $F_v/F_m$  等荧光参数也没有影响。与 Genty 等<sup>[21]</sup>和 Meloni 等<sup>[9]</sup>的报道不同,本研究发现叶绿素荧光动力学参数  $F_m$ 、 $F_v/F_m$ 、 $F_v/F_0$  在干旱和盐胁迫下皆显著降低, $F_0$  显著上升,只有  $\Phi\text{PS II}$  基本不变。胁迫下  $F_0$  上升可能是棉株体热耗散保护机制失去作用,反应中心可逆失活所致; $F_v/F_m$  下降可能是由于激发能由 PS II 向 PS I 传递受阻; $F_v/F_0$  下降表明 PS II 活动中心受干旱或盐胁迫的影响,光合原初反应过程受阻,光合电子由 PS II 反应中心向 QA、QB 及 PQ 库的传递受到抑制<sup>[22]</sup>。这些结果说明,干旱或盐胁迫使 PS II 受到了损伤。而且,叶绿素荧光参数在干旱胁迫下的变化与在盐胁迫下的变化所表现出的一致性,进一步说明两种伤害的机理也存在某种程度的相似性。

过氧化物酶(POD)是植物体内重要的活性氧清除酶<sup>[11]</sup>;丙二醛(MDA)是膜脂伤害程度的重要指标<sup>[9]</sup>;脯氨酸作为渗透调节物质对缓解渗透伤害具有重要作用<sup>[23]</sup>。本研究发现,干旱和盐胁迫条件下棉花功能叶 MDA 的含量显著升高,说明两种胁迫都引起了膜脂过氧化,产生对细胞膜的伤害;两类胁迫下叶片 POD 活性和游离脯氨酸含量皆升高,说明棉株体似乎启动了大致相同的保护系统来抵抗不同的胁迫。但需注意的是,盐处理的 POD 活性和游离脯氨酸累积量较干旱处理低很多,似乎又说明两类胁迫所启动的保护系统在具体组成上不是完全相同的。

综上所述,干旱和盐胁迫都显著抑制棉苗的光合作用。叶绿素衰减、气孔导度降低和对 PS II 的损伤是两类胁迫下光合作用受抑制的重要原因。在本试验条件下,未见干旱和盐胁迫对光合

抑制效应及抑制机理上的本质差别,只是发现两处理间在叶绿素含量、气孔导度、POD活性和游离脯氨酸积累方面存在一些量上的差异。这一方面说明干旱和盐胁迫对光合的抑制效用存在诸多的相似性,另一方面也暗示两种胁迫对光合的抑制机理并不完全相同。

#### 参考文献:

- [1] 董合忠,郭庆正,唐 薇. 棉花的缺水伤害和抗伤害机理[J]. 棉花学报, 1997, 9(6): 287-291.
- [2] 辛承松,董合忠,唐 薇,等. 棉花盐害与耐盐性的生理和分子机理研究进展[J]. 棉花学报, 2005, 17(5): 309-313.
- [3] PLAUT Z, Federman E. Acclimation of CO<sub>2</sub> assimilation in cotton leaves to water stress and salinity[J]. Plant Physiol, 1991, 97: 515-522.
- [4] MUNNS R. Comparative physiology of salt and water stress[J]. Plant cell Environ, 2002 (25): 239-250.
- [5] 侯旭光,赵可夫. 非盐生植物棉花和盐生植物滨藜的盐害机理[J]. 山东大学学报(自然科学版), 1999 (34): 230-235.
- [6] 张振贤. 蔬菜生理[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1993: 74.
- [7] 邹 奇. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [8] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- [9] MELONI D A, Oliva M A, Martinez C A. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress [J]. Environ Exp Bot, 2003 (49): 69-76.
- [10] 李维江,张冬梅,唐 薇,等. 转 Bt 基因抗虫棉和有色棉苗期耐盐性差异研究[J]. 棉花学报, 2001, 13 (4): 234-239.
- [11] 董合忠,李维江,唐 薇,等. 干旱和淹水对棉苗某些生理特性的影响[J]. 西北植物学报, 2003, 23 (10): 1695-1699.
- [12] BRUGNOLI E, Lauteri M. Effects of salinity on stomatal conductance, photosynthetic capacity and capacity and carbon isotope discrimination of salt-tolerant (*Gossypium hirsutum* L.) and salt-sensitive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) C3 non-halophytes[J]. Plant Physiol., 1991, 95: 628-635.
- [13] DUNN G M, Neales T F. Are the effects of salinity on growth and leaf gas-exchange related? [J]. Photosynthetica, 1993, 29: 33-42.
- [14] ENNAHLI S, Earl H J. Physiological limitations to photosynthetic carbon assimilation in cotton under water stress[J]. Crop Sci, 2005, 45: 2374-2382.
- [15] 董合忠,李维江,王留明,等. 陆地棉不同品种苗期对 NaCl 胁迫的生理反应[J]. 莱阳农学院学报, 1997, 14(2): 85-89.
- [16] 蒲光兰,周兰英,胡学华,等. 干旱胁迫对金太阳杏叶绿素荧光动力学参数的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2005, 23(3): 44-48.
- [17] 薛 蕊,汪沛洪,许大全,等. 水分胁迫对小麦 CO<sub>2</sub> 同化作用的影响[J]. 植物生理学报, 1992, 18(1): 1-7.
- [18] 朱新广,张其德. NaCl 对光合作用影响的研究进展[J]. 植物学通报, 1999, 16(4): 332-338.
- [19] 刁丰秋,张文华,刘友良. 胁迫对大麦叶片类囊体膜脂组成和功能的影响[J]. 植物学通报, 1997, 23 (2): 105-110.
- [20] SAKAKI T, Kondo N, Sugahara K. Breakdown of photosynthetic pigment and lipids in spinach leaves with ozone fumigation Role of active oxygen [J]. Physiol Plant, 1983, 59: 28-34.
- [21] GENTY B, Briantais J M, Silva J B. Effects of drought on primary photosynthetic process of cotton leaves. Plant Physiol, 1987, 83: 360-364.
- [22] DODD I C, Critchley C, Woodall G S. Photoinhibition in differently colored juvenile leaves of syzygium species[J]. Exper Bot, 1998, 49: 1437-1445.
- [23] MARUR C J, Sodek L, Celso A. Free Amino Acids in leaves of cotton plants under water deficit [J]. R Bras Fisiol Veg, 1994, 6: 103-108. ●