

长期冷适应对黑皮果蔗光合光能利用的影响*

朱俊杰^{1,2**} 李杨瑞²

(¹广西农业科学院农产品质量安全与检测技术研究所, 南宁 530007; ²农业部广西甘蔗生物技术与遗传改良重点实验室, 南宁 530007)

摘要 以拔地拉(*Saccharum officinarum* L. cv. Badila)幼苗为材料, 研究了长期(28 d)冷适应处理(白天/夜间:12 °C/8 °C)对其光合光能利用的影响。结果表明:无论是常温(25 °C)还是低温(12 °C)测定, 冷适应处理明显降低了蔗苗净光合速率(P_n), 增加了暗呼吸速率(R_d)和电子传递量子效率和碳同化量子效率比值(Φ_{PSII}/Φ_{CO_2});常温下,冷适应处理降低了不同光强下 F_v'/F_m' (和NPQ反向变化)随 Φ_{PSII} 下降而下降的速率,同时增加了光化学淬灭 qP 随 Φ_{PSII} 下降而下降的速率;而低温下,不同光强下 F_v'/F_m' 及 qP 随 Φ_{PSII} 下降而下降的速率与对照没有显著差异;长期冷适应处理通过光化学途径和非光化学途径耗散了光合机构多余激发能,改善了其光合冷敏性,对果蔗抗冷栽培和抗低温育种有重要参考价值。

关键词 拔地拉; 叶绿素荧光; 电子传递; 气体交换; 光能耗散

中图分类号 S181 **文献标识码** A **文章编号** 1000-4890(2014)12-3295-05

Effects of long-time chill acclimation on light use efficiency in photosynthesis of chewing cane *Saccharum officinarum* L. cv. Badila. ZHU Jun-jie^{1,2**}, LI Yang-rui² (¹Agro-products Quality Safety and Testing Technology Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Science, Nanning 530007, China; ²Key Laboratory of Sugarcane Biotechnology and Genetic Improvement (Guangxi), Ministry of Agriculture, Nanning 530007, China). *Chinese Journal of Ecology*, 2014, 33(12): 3295–3299.

Abstract: *Saccharum officinarum* L. cv. Badila seedlings were used to study the effect of long-time chill acclimation (12 °C/8 °C for 28 days) on the light use efficiency in photosynthesis. The results showed that chill acclimation decreased the net photosynthetic rate but increased the dark respiration rate (R_d) and the ratio of PSII operating efficiency to CO_2 assimilation efficiency (Φ_{PSII}/Φ_{CO_2}) compared with the seedlings grown at 25 °C/20 °C (control) regardless at ambient temperature (25 °C) or at low temperature (12 °C). The measurement under ambient temperature showed the chill acclimation decreased the declining rate of F_v'/F_m' (changing reversely to NPQ) declining with Φ_{PSII} while increased the declining rate of photochemical quenching (qP) declining with Φ_{PSII} at different light intensities. The measurements at low temperature, however, showed no significant differences in the declining rates of F_v'/F_m' and qP declining with Φ_{PSII} compared with the control. It was indicated that the long-time chill acclimation treatment dissipated the excessive light energy through both non-photochemical and photochemical quenching pathways, thus improved its photosynthetic sensitivity to chill. The present study provides important references for chilling-resistant breeding and cultivation of chewing cane.

Key words: *Saccharum officinarum* L. cv. Badila; chlorophyll fluorescence; electron transport; gas exchange; light energy dissipation.

供人们鲜食并作水果消费的甘蔗统称果蔗(李杨瑞, 2010)。华南北回归线附近地区夏秋季水热

条件良好,利于果蔗生长,而秋冬季昼夜温差大,利于糖分积累,是果蔗主产区。随着人们生活水平的提高和消费结构的改变,主产区果蔗供不应求,于是东北、华北等非宜蔗区也陆续出现规模不等的果蔗种植区片(李杨瑞, 2010)。黑皮果蔗(*Saccharum of-*

* 广西自然科学基金面上项目(2011GXNSFA018082)和广西自然科学基金创新团队项目(2011GXNSFF018002)资助。

** 通讯作者 E-mail: zjj@xthbg.ac.cn

收稿日期: 2014-03-22 接受日期: 2014-09-12

ficinarum L.)，俗称拔地拉(Badila)，因产量高、品质佳、营养丰富并具备多种药用价值等优势，种植面积远高于其他果蔗品种(李杨瑞, 2010)。然而，Badila是热起源原种，即使在华南主产区，冬春季频繁发生的低温不但影响蔗苗生长，延迟封行，最终降低产量，还影响成熟蔗糖分积累及收获品质，生产中迫切需要提高其低温耐受力。甘蔗95%干物质来自光合作用，因此，提高果蔗低温耐受力关键要改善其低温光合能力。

低温下植物光合效率下降的根本原因是光能吸收和光能利用的失衡，因为光合碳同化及其他需要酶驱动的光能利用进程对低温敏感，而叶片光能吸收几乎不受温度的影响(Huner et al., 1998)。因此，提高植物低温光合作用效率的关键是提其高光合光能利用效率。研究表明，冷适应处理可以调节和改善光合相关代谢进程，维持光合作用能量平衡(Melis, 1999; Allen & Ort, 2001; Ploschuk et al., 2014)，但冷适应效果植物间差异较大(王照兰等, 2009; Niinemets, 2010; Fanucchi et al., 2012; Pociecha et al., 2013)。目前冷适应对植物光合作用的影响研究报道大多以C₃植物为对象，适应处理时间较短(<4 d)(Huner et al., 1998; Fanucchi et al., 2012; Die & Rowland, 2014)。甘蔗是典型的C₄植物，冷适应对其低温光合有无影响，有怎样的影响等问题尚不清楚。为此，本文以Badila幼苗为材料，研究长期(28 d)冷适应对其光合光能利用的影响机制，为植物低温光合作用研究积累新资料，为果蔗抗低温育种和抗低温栽培提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 研究材料与试验设计

以黑皮果蔗拔地拉(*Saccharum officinarum* L. cv. Badila)为材料，选取中上部芽体完好茎段，单芽种植于温室塑料花盆中(直径15 cm)，微弱自然光，28℃/20℃(白天/夜间)，85%相对湿度下萌发出苗。待所有幼苗第1片完全叶长出后开启人工白光光源，叶片表面平均光量子通量密度(PPFD)为700 μmol·m⁻²·s⁻¹，光周期11 h，温度调为25℃/20℃，相对湿度70%。至所有幼苗均长出4片完全展开叶时分为2组，每组5~10株。第1组为对照，一直保持在上述环境条件下继续生长28 d；第2组为低温处理组，在12℃/7℃生长28 d，其他环境条件同上。处理结束后，每组选取长势均匀的植株

3~5株测定光合参数。整个试验重复2次。

1.2 光合气体交换和叶绿素荧光参数测定

常温和冷适应处理蔗苗经过一个夜晚暗适应，早上5:30用LI-6400(LI-Cor公司，美国)光合测定系统仪(带LCF荧光探头，LI-6400-40)测定最小初始荧光F₀和最大荧光F_m等参数备用。早上8:30对照植株叶片在LCF叶室活化光(PPFD, 1600 μmol·m⁻²·s⁻¹，红光90%，蓝光10%)下活化15~20 min，低温适应处理植株活化30~45 min，各参数稳定后测定荧光光响应曲线，光合气体交换参数和荧光参数同时测量。所用PPFD梯度为500、150、100、50、25、0、25、50、100、150、500、800、1200、1600和2000 μmol·m⁻²·s⁻¹；最小等待时间为2 min，最大等待时间为5 min；叶室测定温度分别控制为25±1℃和12±1℃；蓝光吸收系数为0.92，红光吸收系数0.87。测定完毕后，部分荧光参数需重新计算。

荧光参数计算：PS II实际电子传递量子效率Φ_{PSII}=(F_{m'}-F_s)/F_{m'}，公式中F_{m'}和F_s均为仪器测定值(Genty, 1989)，碳同化量子效率Φ_{CO2}=(P_n-R_d)/(PPFD·a)(Naidu & Long, 2004)，其中，P_n为净光合速率，R_d为光下暗呼吸速率，数值上为光响应曲线和纵坐标的交叉点之值，a为吸光系数，其值取0.89；光化学淬灭系数qP=(F_{m'}-F_s)/(F_{m'}-F_{0'})，其中，F_{m'}、F_s和F_{0'}均为仪器测定值(Baker, 2004)。

1.3 数据处理

用Microsoft Excel 2013软件处理数据，用SigmaPlot 12.5软件作图及相关性分析。对照和低温适应组间净光合速率差异用Origin 8.5统计软件作单因素(one-way ANOVA)方差分析。

2 结果与分析

2.1 冷适应对蔗苗碳同化光响应曲线的影响

常温条件下测定时，冷适应蔗苗净光合速率(P_n)在高中光下比对照降低了1/2，低光下它们之间的差别相对较小(图1A)；12℃低温下测定时，对照P_n在高中光下大幅下降，而冷适应处理降幅较小(图1B)；常温和低温条件下测定，冷适应蔗苗暗呼吸速率(R_d)比对照分别增加了13.4%和22.7%。方差分析的结果表明，无论是常温条件下还是低温条件下测定，对照组和低温组P_n均有显著差异。综合这些结果可以认为，长期低温适应已经明显改变了果蔗苗的光合特性。

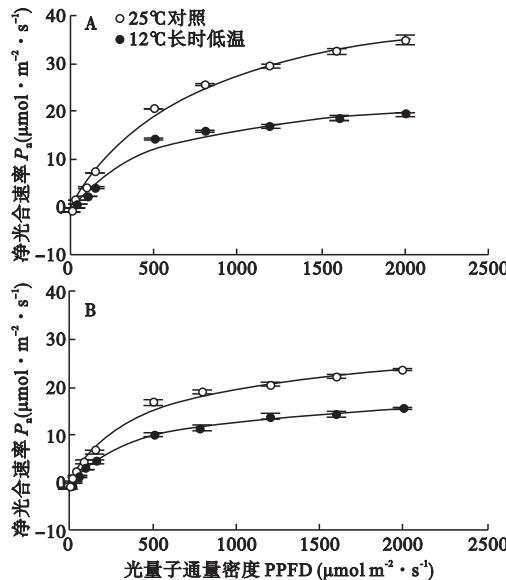


图1 冷适应处理对果蔗幼苗碳同化光响应曲线的影响

Fig. 1 Effects of chill acclimation on the responsive curve of CO_2 assimilation to PPFD in chewing cane Badila seedlings

数据值为平均值±标准误,A:测定时叶室温度控制为 $25 \pm 1^\circ\text{C}$;B:测定时叶室温度控制为 $12 \pm 1^\circ\text{C}$ 。

2.2 冷适应对蔗苗 Φ_{PSII} 和 Φ_{CO_2} 相互关系的影响

常温条件测试时,冷适应蔗苗和对照蔗苗 Φ_{PSII} 和 Φ_{CO_2} 均随着光照强度的增加而下降(光照梯度见材料方法部分,此处光照数据未展示),但 Φ_{PSII} 对 Φ_{CO_2} 相对值的降幅前者高于后者(图2A);低温条件下测定时这种规律没有改变,但冷适应处理和对照差别明显减小(图2B);总体看,冷适应处理增加了蔗苗 Φ_{PSII} 对 Φ_{CO_2} 的相对变幅。这极有可能是部分线性电子传递转向以 O_2 为受体的交替电子传递链中。

2.3 常温测定条件下 Φ_{PSII} 和 qP 变化

Φ_{PSII} 、 F_v'/F_m' 和 qP 之间的计量关系为 $\Phi_{\text{PSII}} = F_v'/F_m' \times qP$,因此, Φ_{PSII} 的变化既受 F_v'/F_m' (和热耗散参数 NPQ 变化呈反相关) 变化的影响,也受 qP 变化的影响。常温测试条件下,所有蔗苗 Φ_{PSII} 、 F_v'/F_m' 和 qP 均随着光照强度的增加而下降(图3),对照蔗苗 F_v'/F_m' 降幅略高于冷适应蔗苗(图3A),而冷适应蔗苗 qP 降幅则明显高于对照(图3B)。综合看,冷适应处理蔗苗 qP 下降比 F_v'/F_m' 下降对 Φ_{PSII} 下降的贡献大,而对照蔗苗刚好相反。该结果表明,常温条件下,经过长时间冷适应的蔗苗 PS II 通过光化学途径耗能的份额高于没有经过冷处理的蔗苗。植物通过非光化学途径耗能的总量主要受遗传的影响,通过外界调节手段改变其变幅十

分有限(Demming-Adams & Adams, 1996)。因此,经过长期低温适应的蔗苗转入常温条件下后具有比没有经过低温适应的蔗苗有更强的抗过剩光能的能力。自然条件下,低温解除后初晴的气候条件极易引发低温光抑制,这种天气在南方冬春季节比较常见,经过冷适应的蔗苗于是有一定优势,对果蔗最终产量和品质无疑有一定贡献。

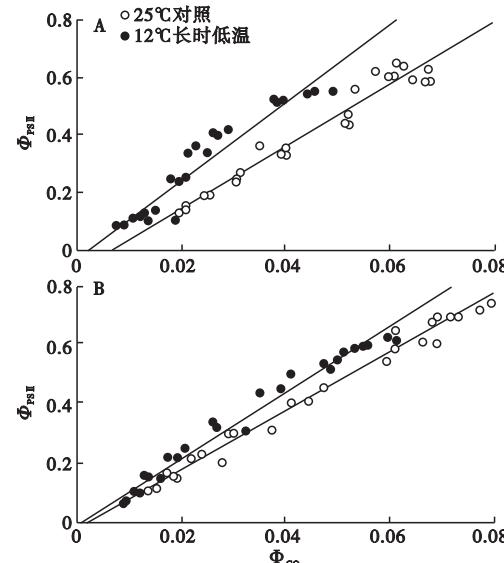
图2 果蔗幼苗 Φ_{PSII} 和 Φ_{CO_2} 相互关系

Fig. 2 Correlation between Φ_{PSII} and Φ_{CO_2} in chewing cane Badila seedlings

A:测定时叶室温度控制为 $25 \pm 1^\circ\text{C}$;B:测定时叶室温度控制为 $12 \pm 1^\circ\text{C}$ 。

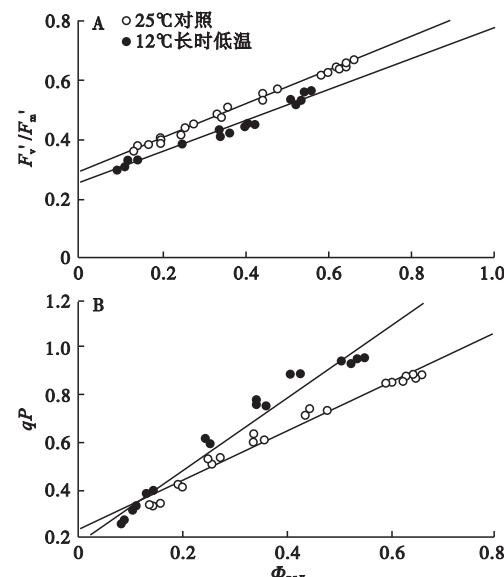
图3 常温测定条件下对照和冷适应蔗苗 F_v'/F_m' 和 qP 的变化

Fig. 3 Changes of F_v'/F_m' (A) and qP (B) in Badila seedlings in the treatments of chill acclimation and control measured at ambient temperature

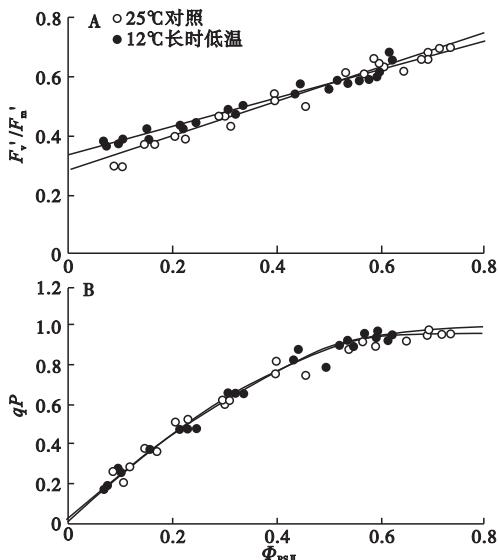


图4 低温测定条件下对照和冷适应蔗苗 F_v'/F_m' 和 qP 的变化

Fig. 4 Changes of F_v'/F_m' (A) and qP (B) in Badila seedlings in the treatments of chill acclimation and control measured at low temperature

2.4 低温测定条件下 Φ_{PSII} 和 qP 变化

低温下测定时,所有蔗苗 Φ_{PSII} 、 F_v'/F_m' 和 qP 同样均随着光照强度的增加而下降(图4),对照和冷适应蔗苗 F_v'/F_m' 变幅相近(图4A);在低光强时,对照和冷适应蔗苗 qP 缓慢下降,但随着光照强度的增加, qP 降幅则明显增大,冷适应蔗苗 qP 一直以相似幅度下降(图4B),2种处理方式 qP 值没有明显差别。低温条件下,无论是对照还是冷适应处理蔗苗(低光除外),光化学途径和热耗散途径对 Φ_{PSII} 降幅都有明显贡献,前者略强于后者。该结果说明,低温条件下冷适应蔗苗和常规生长蔗苗 PS II 光化学途径和非光化学途径耗能比例差别不大,它们的差别主要体现在低温解除之后。

3 讨论

本研究表明,冷适应黑皮果蔗幼苗高中光下 P_n 大幅下降,表明其光合作用对低温敏感,而 PS II 光化学特性的改变及 R_d 升高等现象的出现也说明低温适应明显改变蔗苗光合特性。

无论是在常温还是低温测试条件下,冷适应处理黑皮果蔗幼苗 Φ_{PSII}/Φ_{CO_2} 比值比常温对照的高,说明冷适应处理黑皮果蔗幼苗的 PS II 电子传递的量子效率相对于 CO_2 同化的量子效率是增加的。其他研究者在干旱和低温胁迫植物中也发现类似现象

(Cheeseman, 1994; Massacci *et al.*, 1996; Fryer *et al.*, 1998),他们认为,逆境下经过梅勒反应(mehler reaction)的电子传递比驱动 CO_2 同化的电子传递份额增加。我们先前的研究表明,低温下黑皮果蔗幼苗的部分抗氧化酶,如 SOD、APX 和 GR 活性及非酶抗氧化物质,如抗坏血酸和还原型谷胱甘肽含量明显升高(Zhu *et al.*, 2013),因此,很可能低温下黑皮果蔗幼苗的梅勒反应活性增强,耗散了部分激发能。也有研究者认为, Φ_{PSII}/Φ_{CO_2} 比值的增加与低温下叶片花青素形成有关,因为花青素吸收 500~640 nm 波段的光辐射,降低 Φ_{CO_2} 值,同时增加 Φ_{PSII} 值,最终使 Φ_{PSII}/Φ_{CO_2} 比值增加(Pietrini & Massacci, 1998)。冷适应处理黑皮果蔗幼苗中确实合成了大量花青素,然而 LCF 叶室测定所用红光和蓝光的波长均不在花青素吸收范围之内,因此基本可以排除花青素含量对 Φ_{PSII}/Φ_{CO_2} 比值影响。

为进一步探讨冷适应蔗苗 Φ_{PSII}/Φ_{CO_2} 比值下降的原因,将 Φ_{PSII}/Φ_{CO_2} 解析为 F_v'/F_m' 及 qP 两个因素,分析 F_v'/F_m' 、 qP 变化对 Φ_{PSII} 的影响。结果表明,在相同 PPFD 和常温条件下测定时,冷适应处理黑皮果蔗幼苗在无论是光化学途径(qP)还是非光化学途径(F_v'/F_m' 和 NPQ 呈反向变化)的能量耗散均比对照高。依赖叶黄素循环的能量耗散被认为是植物非光化学途径耗能的主要方式(Demming-Adams & Adams, 1996),低温下黑皮果蔗幼苗的叶黄素循环转换效率明显提高,极可能是导致冷适应黑皮果蔗幼苗 F_v'/F_m' 降低(NPQ 增加)的主要原因。出乎预料的是,在低温下测定时,冷适应幼苗与常温生长幼苗相比,无论是光化学途径还是非光化学途径能量耗散值差别都很小(图4)。结合 P_n 值变化分析,不难看出,低温条件下黑皮果蔗幼苗 CO_2 同化光能利用率的下降与 PS II 能量转换效率关系不大。冷适应黑皮果蔗幼苗的 PS II 光能耗散优势主要体现在低温解除后,而这种环境条件也正是南方植物最易遭受低温光抑制影响的时候,因此冷适应对果蔗光合生产是有益的,果蔗的抗冷栽培和抗冷育种应充分利用这一特性。

C_4 植物碳同化关键酶 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶(Rubisco)主要位于其叶片独特的花环状维管束鞘中,浓缩进入叶片 CO_2 ,因而其光合效率高于 C_3 植物。然而,正是这一特殊结构使得叶片所能承载的 Rubisco 总量有限,低温下严重限制 CO_2 吸收速率(Kubien *et al.*, 2003; Kubien & Sage, 2004)。

这种限制作用也意味着叶片通过碳同化途径消耗激发能的能力下降,更容易引发光抑制(Farage *et al.*, 2006)。冷适应黑皮果蔗幼苗转入常温测定时,其光化学途径和非光化学途径耗能活性均比未经适应处理的对照高,因而有更高的光能利用率。该结果可用于解释黑皮果蔗幼苗挺住低温胁迫后能正常恢复的现象。有研究表明,黑皮果蔗幼苗经28 h、10 °C低温处理后,NADP苹果酸脱氢酶和丙酮酸磷酸双激酶活性显著下降,限制光合碳同化,削弱电子传递和光合磷酸化效率(Du *et al.*, 1999)。然而,和对照相比,长期冷适应黑皮果蔗幼苗的光化学途径和非光化学途径耗能效率并没有明显差别,表明长期冷适应处理改善了其光合冷敏性,这无疑有助于低温下黑皮果蔗光合生产的维持,最终促进产量的提高和品质的改善。

总之,长期冷适应处理增加黑皮果蔗幼苗的 Φ_{PSII}/Φ_{CO_2} 比值,通过光化学途径和非光化学途径耗散了光合机构的多余激发能,改善了其光合冷敏性。这为果蔗抗冷栽培和抗低温育种提供了重要的参考。当然,果蔗低温光适应涉及十分复杂的生理反应,要在更深、更广层面揭示其机制尚需结合模型拟合、生物物理及分子生物学等手段开展综合研究。

参考文献

- 李杨瑞. 2010. 现代甘蔗学. 北京: 中国农业出版社: 536–537.
- 王照兰, 杨持, 杜建材, 等. 2009. 不同生态型扁蓿豆光合特性和光适应能力. 生态学杂志, 28(6): 1035–1040.
- Allen DJ, Ort DR. 2001. Impact of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. *Trends in Plant Science*, 6: 36–42.
- Baker NR, Rosenqvist E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: An examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, 55: 1607–1621.
- Cheeseman JM. 1994. Depressions of photosynthesis in mangrove canopies// Baker NR, Bowyer JR, eds. Photoinhibition of Photosynthesis: From Molecular Mechanisms to the Field. UK, Oxford: Bios Scientific Publishers.
- Demmig-Adams B, Adams WW III. 1996. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends in Plant Science*, 1: 21–26.
- Die JV, Rowland LJ. 2014. Elucidating cold acclimation pathway in blueberry by transcriptome profiling. *Environmental and Experimental Botany*, 106: 87–98.
- Du YC, Nose A, Wasano K. 1999. Effects of chilling temperature on photosynthetic rates, photosynthetic enzymes activities and metabolite levels in leaves of three sugarcane species. *Plant, Cell and Environment*, 22: 317–324.
- Fanucchi F, Alpi E, Olivieri S, *et al.* 2012. Acclimation increases freezing stress response of *Arabidopsis thaliana* at

proteome level. *Biochimica et Biophysica Acta: Proteins and Proteomics*, 1824: 813–825.

Farage PK, Blowers D, Long SP, *et al.* 2006. Low growth temperatures modify the efficiency of light use by photosystem II for CO₂ assimilation in leaves of two chilling tolerant C₄ species, *Cyperus longus* L. and *Miscanthus × giganteus*. *Plant, Cell and Environment*, 29: 720–728.

Fryer MJ, Andrews JR, Oxborough K, *et al.* 1998. Relationship between CO₂ assimilation, photosynthetic electron transport, and active O₂ metabolism in leaves of maize in the field during periods of low temperature. *Plant Physiology*, 116: 571–580.

Genty B, Briantais JM, Baker NR. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta*, 99: 87–92.

Huner NPA, Öquist G, Sarhan F. 1998. Energy balance and acclimation to light and cold. *Trends in Plant Science*, 3: 224–230.

Kubien DS, Sage RF. 2004. Low temperature photosynthetic performance of a C₄ grass and a co-occurring C₃ grass native to high latitudes. *Plant, Cell and Environment*, 27: 907–916.

Kubien DS, von Caemmerer S, Furbank RT, *et al.* 2003. C₄ photosynthesis at low temperature: A study using transgenic plants with reduced amounts of Rubisco. *Plant Physiology*, 132: 1577–1585.

Massacci A, Battistelli A, Loreto F. 1996. Effect of drought stress on photosynthetic characteristics, growth and sugar accumulation of field grown sweet sorghum. *Australian Journal of Plant Physiology*, 23: 331–340.

Melis A. 1999. Photosystem II damage and repair cycle in chloroplasts: What modulates the rate of photodamage *in vivo*. *Trends in Plant Science*, 4: 130–135.

Naidu SL, Long SP. 2004. Potential mechanisms of low temperature tolerance of C₄ photosynthesis in *Miscanthus × giganteus*: An *in vivo* analysis. *Planta*, 220: 145–155.

Niinemets Ü. 2010. Responses of forest trees to single and multiple environmental stresses from seedlings to mature plants: Past stress history, stress interactions, tolerance and acclimation. *Forest Ecology and Management*, 260: 1623–1639.

Pietrini F, Massacci A. 1998. Leaf anthocyanin content changes in *Zea mays* L. grown at low temperature: Significance for the relationship between the quantum yield of PS II and the apparent quantum yield of CO₂ assimilation. *Photosynthesis Research*, 58: 213–219.

Ploschuk EL, Bado LA, Salinas M, *et al.* 2014. Photosynthesis and fluorescence responses of *Jatropha curcas* to chilling and freezing stress during early vegetative stages. *Environmental and Experimental Botany*, 102: 18–26.

Pociecha E, Janowiak F, Dubas E, *et al.* 2013. Progress of snow mould infection in crowns of winter rye (*Secale cereale* L.) is related to photosynthetic activity during cold acclimation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 70: 360–367.

Zhu JJ, Li YR, Liao JX. 2013. Involvement of anthocyanins in the resistance to chilling-induced oxidative stress in *Saccharum officinarum* L. leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, 73: 427–433.

作者简介 朱俊杰,男,1973年生,博士,主要从事植物生态学和生理生化研究。E-mail: zjj@xtbg.ac.cn

责任编辑 李凤芹