盐胁迫对甜高粱光合作用和光合机构的影响

颜　坤[1,2]，陈小兵[1,2*]，张立华[1,2]

（1.中国科学院烟台海岸带研究所，山东烟台 264003；2.中国科学院海岸带环境过程重点实验室，山东烟台 264003）

摘　要：以甜高粱为实验材料，研究中度（150mmol・L^{-1} NaCl）和重度（300mmol・L^{-1} NaCl）盐胁迫对天高粱光合作用和光系统 II 的影响，为甜高粱在盐渍地的生产提供理论基础。结果表明，中度盐胁迫显著降低了甜高粱光合速率（Pn），气孔导度（g_s）和胞间 CO_2浓度（Ci），对光系统 II（PSII）的总体性能没有影响。中度胁迫下，甜高粱光合速率的下降主要是气孔关闭引起的。重度盐胁迫显著降低了甜高粱 Pn 和 g_s，但显著增加了 Ci，因此，Pn 下降是由非气孔因素造成的。重度盐胁迫处理 2d 后，甜高粱 PSII 总体性能和受体侧放氧复合体活性显著下降，处理 3d 后，PSII 受体侧电子传递受到抑制，而 PSII 反应中心未受到影响。因此，甜高粱 PSII 受体侧放氧复合体对盐胁迫最为敏感。

关键词：光系统 II；快速叶绿素荧光诱导动力学曲线；盐胁迫

Effect of Salt Stress on Photosynthesis and Photosystem of Sorghum

YAN Kun[1,2]，CHEN Xiao-bing[1,2*]，ZHANG Li-hua[1,2]

(1.Yautai Institute of Coastal Zone Research,CAS,Shangdong Yantai 264003，China；2.Key Lab of Coastal Zone Environmental Processes,Shandong Yantan 264003,China)

Abstract：To provide theoretical basis for sweet sorghum production in saline land, We studied the effects of moderate (150 mmol・L^{-1} NaCl) and severe (300 mmol・L^{-1} NaCl) salt stress on photosynthesis and photosystem II (PSII) by measuring gas exchange parameters and chlorophyll a fluorescence transient. The results suggested that moderate salt stress significantly decreased photosynthetic rate (Pn), stomatal conductance (gs) and intercellular CO_2 concentration (Ci) in sweet sorghum, but had no effects on entire performance of PSII, and the decrease of Pn was mainly attributed to stomatal limitation. Severe salt stress significantly decreased Pn and gs, but significantly increased Ci, and thus, the decrease in Pn was due to non-stomatal limitation.After 2 days of severe salt stress, the entire performance of PSII and the activity ofoxygen evolving complex in PSII donor side decreased significantly,while electron transport in PSII acceptor side was inhibited at the 3 day of severe salt stress, but PSII reaction center was not affected. Therefore, oxygen evolving complex in PSII donor side was the most sensitive to salt stress.

Keywords：photosystem II; chlorophyll a fluorescence transient; salt stress

盐碱土在地球上广泛存在，总面积约为 10 亿 hm^2，约占陆地面积的 10%。伴随着农产品需求的增加、淡水资源减少和土壤盐渍化加重，改良盐碱地，发展盐土农业，成为了当前国内外研究的热点问题[1]。中国滨海盐碱地主要分布在渤海西岸和东南沿海各省市，其面积广大，但开发利用环节还存在诸多难题[2]。人类改良盐碱地的实践活动历史悠久，目前主要有水利工程措施、化学措施和植物改良措施[3]。水利工程措施耗费大量淡水资源，也不能避免土壤返盐，不适宜滨海盐碱土治理。施用石膏等化学添加剂，能够增加土壤 Ca^{2+}含量，促进 Na^+淋洗入下层土壤[4-8]。随着工业生产需要量的增加，这些化学添加剂的成本逐渐上升[9]。植物改良盐碱土不仅投资少、环境友好，还能带来种植收益[10]。

甜高粱对环境适应能力较强，其茎秆中富含可发酵糖类，是具有较高开发潜力的能源植物之一。以甜高粱作为材料开发利用滨海盐碱地不仅能够缓解石油、天然气和煤炭等化石燃料日渐枯竭所导致的能源危机，还能够改善滨海盐碱地生态环境，促进盐碱地改良。为此，首先要明确甜高粱对盐渍环境的生理响应，这有

基金项目：国家自然科学基金（41201292）；公益性行业（农业）科研专项经费项目（200903001）；海洋公益性行业科研专项（201105020）；黄河三角洲生态环境重点实验室基金（2008KFJJ03）

作者简介：颜　坤（1983—），男，山东泗水人，博士，研究方向为盐碱地改良、植物生理生态。E-mail: kyan@yic.c.cn

通信作者：陈小兵 E-mail: xbchen@yic.ac.cn

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

助于指导盐碱地改良的实践工作。光合作用是对环境胁迫最为敏感的生理代谢之一，且与作物的生长和产量密切相关。植物光合能力在盐渍生长环境下通常降低，但其机理尚不明确。盐渍环境首先增强了气孔和叶肉细胞对 CO_2 传输的阻力，导致叶绿体内可利用的 CO_2 量减少，从而降低光合速率[11]。光系统 II（PSII）容易受到逆境胁迫的影响。PSII 对于盐渍胁迫的响应目前已有大量研究，但研究结果并不一致。一些研究认为盐渍环境降低了 PSII 的性能[12-14]，但也有研究证实 PSII 具有较高的耐受盐渍环境的能力[15-20]。实验材料的差异以及处理方式的不同可能是导致上述不同研究结果的原因。

快速叶绿素荧光诱导动力学曲线可以灵敏地反映逆境对植物光合作用的影响，是一种有效快捷地诊断植物健康状况的方法，可用于评价植株的耐盐能力[21]。此外，快速叶绿素荧光诱导动力学曲线可以深入的分析 PSII 供体测和受体侧电子传递以及反应中心的变化，并揭示光合能量在光合机构中传递的过程[22]。近期 Kalaji 等[23]提出快速叶绿素荧光诱导动力学配合气体交换参数的测定是研究盐渍环境对植物光合作用影响的有效方式。Almodares 等[24]的研究表明盐处理降低了甜高粱与粒用高粱茎秆产量和可溶性糖含量，但甜高粱的下降幅度较小。Chai 等[25]的研究表明盐处理抑制甜高粱生物量的积累，诱导了抗氧化酶活性和脯氨酸含量的增加。葛江丽等[26]的研究证明，重度盐胁迫显著降低甜高粱 PSII 最大光化学效率，中等程度盐胁迫没有造成 PSII 的损伤。但是，甜高粱 PSII 反应中心，受体侧放氧复合体以及受体侧电子传递链对盐处理的敏感性仍未有报道。本研究利用快速叶绿素荧光诱导动力学方法深入揭示盐渍环境对甜高粱光合机构的影响，为甜高粱在盐渍地的生产提供理论基础。

1. 材料方法

1.1 实验材料与处理

以“雅津一号”甜高粱（*Sorghum bicolor*）作为实验材料。甜高粱种子经催芽后，播种于兰花石中，Hoagland 营养液浇灌，温室中培养。甜高粱幼苗生长 1 个月后（株高约 30cm）用于盐胁迫处理。在 Hoagland 培养液中加入 NaCl 进行盐胁迫处理。培养液中的 NaCl 浓度以每天 25 mmol/L 的速度递增，其 NaCl 最终浓度分别达到 0、150 和 300 mmol/L。选取全展新叶用于以下测定。

1.2 气体交换参数的测定

用便携式光合作用测定系统（LI-6400XT, Li-Cor, Lincoln, NE, USA）测定甜高粱气体交换参数。叶室光强设定为 800 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$，测定时叶室温度和 CO_2 浓度分别约为 25 ℃ 和 360 $\mu mol\ CO_2\ mol^{-1}$。同步记录光合速率、胞间 CO_2 浓度、气孔导度和 PSII 实际光化学效率。

1.3 快速叶绿素荧光诱导动力学曲线测定

叶片暗适应 30min 后，用 Handy-PEA(Hansatech, UK)测定快速叶绿素荧光诱导动力学曲线。根据 Strasser 等（2011）的方法换算出以下参数：PSII 总体性能指数（PI(abs)）；PSII 最大光化学效率（Fv/Fm）；捕获光能用于 Q_A 以后的电子传递的能量比例（Ψo）；受体侧放氧复合体活性（Fv/Fo）。

2. 结果与分析

2.1 盐胁迫对甜高粱气体交换参数和 PSII 实际光化学效率的影响

150mM Nacl 处理显著降低甜高粱光合速率（Pn）、气孔导度（g_s）和胞间 CO_2 浓度（Ci），这说明甜高粱光合作用受到抑制，光合速率降低的主要因素可能是气孔关闭所导致的结果。300mM Nacl 处理后，甜高粱 Pn 和 gs 显著降低，下降幅度大于 150mM Nacl 处理，但 Ci 却显著上升，这说明重度盐胁迫对甜高粱光合作用具有更强的抑制作用，光合速率的下降来源于非气孔因素。300mM Nacl 处理一天显著降低了甜高粱实际光化学效率（ΦPSII），而 150mM Nacl 处理 4 天后，甜高粱ΦPSII 显著降低（图 1d）。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

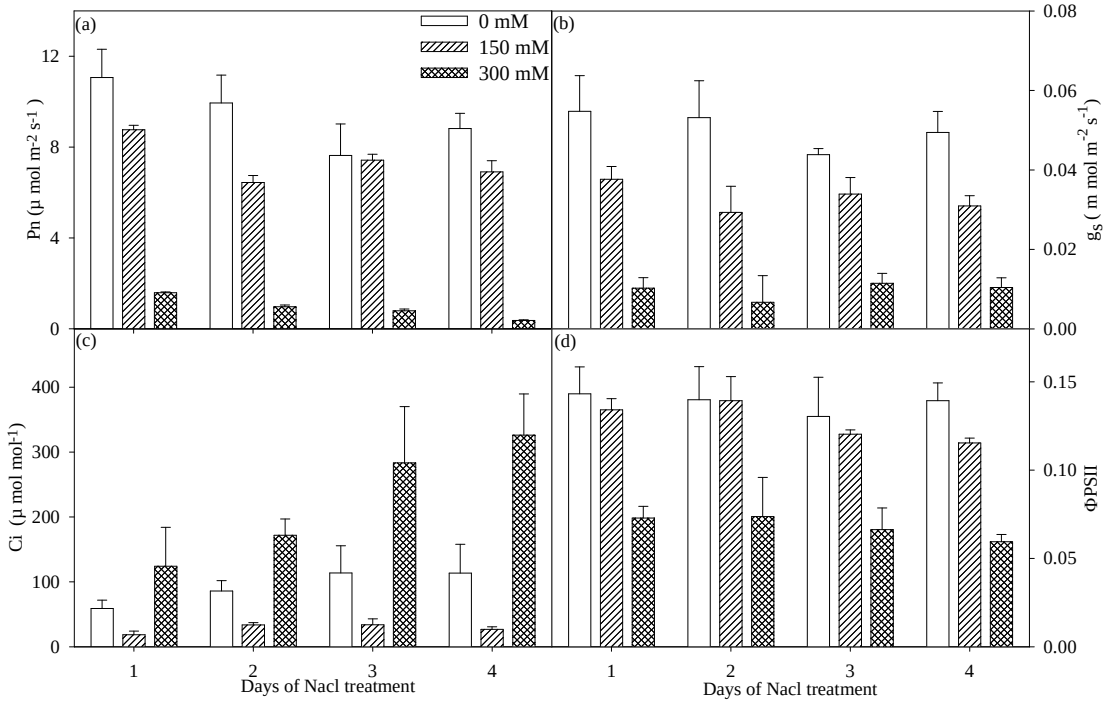

图 1　盐胁迫不同时间对甜高粱（a）光合速率（Pn）、（b）气孔导度（g_s）、（c）胞间 CO_2 浓度（Ci）和（d）实际光化学效率（ΦPSII）的影响

2.2　盐胁迫对甜高粱快速叶绿素荧光诱导动力学参数的影响

PI(abs)、Fv/Fo 和 Fv/Fm 分别反映了光系统 II 的总体性能指数、受体侧放氧复合体活性和光系统 II 的最大光化学效率。300mM Nacl 处理第 2 天显著降低了甜高粱 PI(abs)和 Fv/Fo。300mM Nacl 处理对 Fv/Fm 影响不显著。Ψo 代表反应中心捕获的能量能传输到 Q_A 之后的比率，Ψo 下降说明 PSII 受体侧电子传递受阻。300mM Nacl 处理第 3 天显著降低了甜高粱Ψo。150mM Nacl 处理对甜高粱 PI(abs) 、Fv/Fm 、Ψo 和 Fv/Fo 的影响不显著。

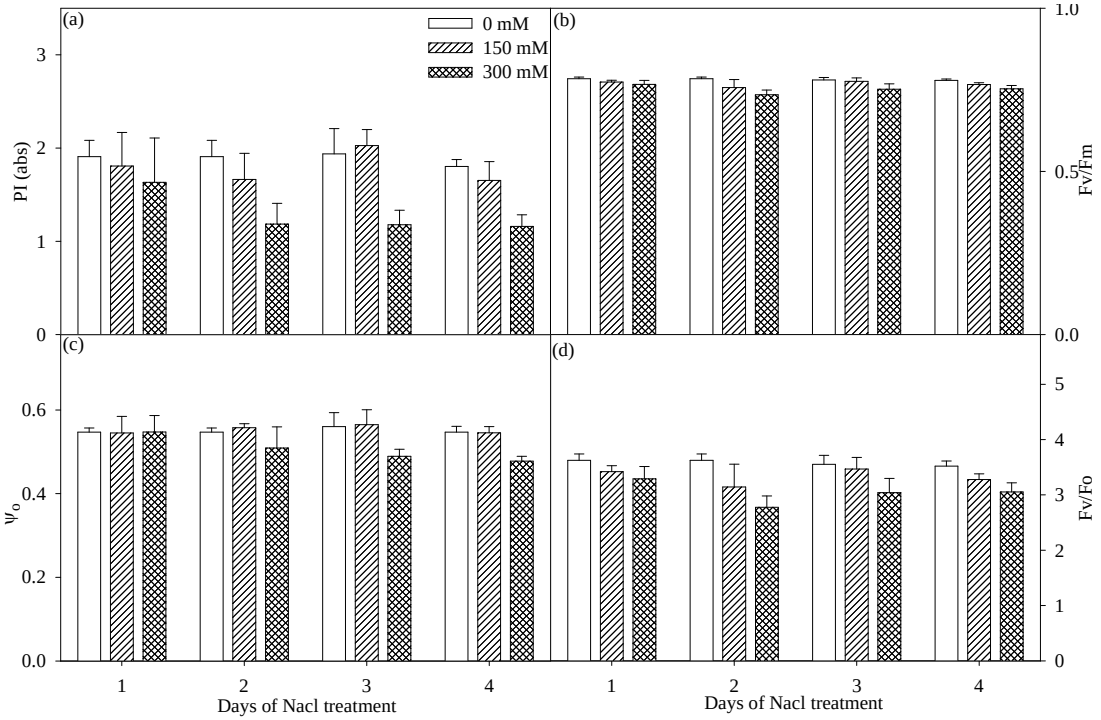

图 2　盐胁迫不同时间对甜高粱（a）PSII 性能指数（PI(abs)）、（b）PSII 最大光化学效率（Fv/Fm）、（c）反应中心捕获的能量能传输到 Q_A 之后的比率（Ψo）和（d）OJIP 曲线中 300us 时的相对荧光强度（V_k）的影响。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2.3 盐胁迫对甜高粱快速叶绿素荧光诱导动力学曲线的影响

150mM Nacl 处理 4 天后，OJIP 曲线没有显著变化（图 3）。300mM Nacl 处理显著诱导 J 点上升（图 3）。

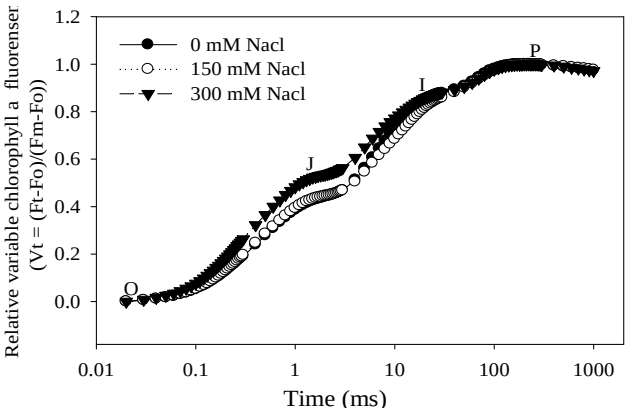

图 3 盐胁迫 3 天对甜高粱荧光动力学曲线的影响

3 讨论

盐胁迫抑制玉米、大豆、高粱和小麦等的光合作用速率，从而影响作物的生长[23, 27-29]。有研究证实盐胁迫诱导植物叶片气孔关闭是导致光合速率下降的首要因素[23,30]。但葛江丽等[26]（2007）报道，甜高粱光合速率在轻度盐胁迫下（50mM Nacl）没有降低，而在中度（100mM Nacl）和重度（200mM Nacl）盐胁迫下显著下降，且光合速率降低是非气孔因素所导致的。本研究也证实，盐胁迫降低了甜高粱光合速率（Fig.1a），但光合速率降低的原因在不同程度盐处理下是不一致的。中度盐胁迫下（150mMNacl），甜高粱 g_s 与 Ci 同步下降（Fig. 1bc），说明气孔限制是光合速率下降的主要原因，ΦPSII 只是在处理 4 天后才显著下降（Fig. 1d）[31]。重度盐胁迫下（300mM Nacl），甜高粱 g_s 与 Ci 变化方向相反，说明光合速率降低主要源于非气孔因素，ΦPSII 只是在处理 4 天后才显著下降（Fig. 1bcd）。不一致的研究结果可能是甜高粱不同品种所导致的。

甜高粱 PI(abs)和 Fv/Fm 在 150mM Nacl 没有显著变化，说明甜高粱具有一定的耐盐能力。300mM Nacl 处理下，甜高粱 Fv/Fm 下降不显著，说明光系统 II 反应中心相对稳定（Fig. 2b）。PI(abs)是对 PSII 总体性能的反映，包含了供体测放氧复合体、反应中心和受体侧电子传递的性能变化[22]。相对于 Fv/Fm，PI(abs)对环境胁迫更加敏感[32]。300mM Nacl 处理 2 天后，甜高粱 PI(abs)显著下降（Fig. 2a），说明 PSII 总体性能受到抑制。在 PSII 蛋白复合体中，由 17KD17kD、23KD23kD 和 33KD33kD 三种外周多肽以及锰簇、氯和钙离子组成的放氧复合体，位于类囊体膜基粒片层的外侧。由于位置上的特殊性，它们对外界环境的变化十分敏感。Fv/Fo 反映受体侧放氧复合体活性[23]，300mM Nacl 处理 2 天显著降低了 Fv/Fo（Fig. 2d），说明甜高粱放氧复合体活性受到抑制。快速叶绿素荧光诱导动力学曲线中的 J 点是 PSII 受体侧电子传递受阻后 Q_A^- 瞬间累计的结果[32]。300mM Nacl 处理 3 天诱导 J 点上升（Fig. 3），说明甜高粱 PSII 受体侧电子传递受到抑制，因此，Ψo 显著降低（Fig. 2c）。这也说明甜高粱 PSII 供体测放氧复合体对盐胁迫的敏感性高于受体侧电子传递链。Mehta 等[32]的研究也表明小麦 PSII 供体测放氧复合体对盐胁迫更加敏感。

总之，中度盐胁迫诱导甜高粱叶片气孔导度下降，导致光合速率降低，而 PSII 未受影响。重度盐胁迫抑制 PSII 总体性能，PSII 供体测放氧复合体对盐胁迫的敏感性高于受体侧电子传递链和反应中心。

参考文献：

[1] Rozema J, Flowers T. Crops for a Salinized World. Science, 2008, 322:1478-1480.

[2]万建华，徐悦，张莉莉，历超.滨海盐碱土资源化利用的新探索与研究. 国土与自然资源研究,2011, 5:53-55.

WAN Jian-hua, XU Yue, ZHANG li-li. Exploration and study on utilization of seashore saline alkalisoils. Territory and Natural Resources Study, 2011, 5:53-55.

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[3] 张建锋, 张旭东, 周金星, 刘国华, 李冬雪.世界盐碱地资源及其改良利用的基本措施. 水土保持研究,2005, 12:28-30.
ZHANG Jian-feng, ZHANG Xu-dong, ZHOU Jin-xinet al. World resources of saline soil and main amelioration measures.Research of Sooi and Water Conservation, 2005, 12:28-30.

[4]Qadir M, Ghafoor A, Murtaza G. Use of saline-sodic waters through phytoremediation of calcareous saline-sodic soils. *Agricultural Water Management*, 2001, 50:197-210.

[5]Su D, Fan G. The effects of gypsum on high saline soil' s infiltration capability and soil improvement.*Advanced Materials Research*, 2011, 61: 183-185.

[6]Gharaibeh MA, Eltaif NL, Shunnar OF. Leaching and reclamation of calcareous saline-sodic soil by moderately saline and moderate-SAR water using gypsum and calcium chloride. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2009, 172: 713-719.

[7]Gharaibeh MA, EltaifNL, Shraah SH. Reclamation of a calcareous saline-sodic soil using phosphoric acid and by-product gypsum. *Soil Use and Management*, 2010, 26:141-148.

[8]Gharaibeh MA, Eltaif NL, Albalasmeh AA. Reclamation of highly calcareous saline sodic soil using *AtriplexHalimus* and by product gypsum. *International Journal of Phytoremediation*, 2011, 13: 873-883.

[9]Qadir M, Oster JD Vegetative bioremediation of calcareous sodic soils: history, mechanisms, and evaluation. *Irrigation Science*, 2002, 21: 91-101.

[10]Qadir M, Oster JD, Schuber S,et al. Phytoremediation of sodic and saline-sodic soils. *Advances in Agronomy*, 2007, 96:197-247.

[11]Flexas J, Bota J, Loreto F, et al. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology*,2004, 6:269-279.

[12]Belkhodja R, Morales F, Abadia A, et al. Chlorophyll fluorescence as a possible tool for salinity tolerance screening in barley (Hordeumvulgare L). *Plant Physiology*, 1994, 104:667-673.

[13]Everard JD, Gucci R, Kann SC, et al. Gas-exchange and carbon partitioning in the leaves of celery (*Apiumgraveolens* L.) at various levels of root-zone salinity. *Plant Physiology*,1994, 106:281-292.

[14]Netondo GW, Onyango JC, Beck E. Sorghum and salinity: II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress.*Crop Science*,2004, 44:806-811.

[15]Morales F, Abadia A, Gomezaparisi J, et al. Effects of Combined NaCl and $CaCl_2$ salinity on photosynthetic parameters of barley grown in nutrient solution. *PhysiologiaPlantarum*, 1992, 86:419-426.

[16]Lu CM, Qiu NW, Lu QT, et al. Does salt stress lead to increased susceptibility of photosystem II to photoinhibition and changes in photosynthetic pigment composition in halophyte Suaeda salsa grown outdoors? *Plant Science*,2002, 163:1063-1068.

[17]Lu CM, Jiang GM, Wang BS, et al. Photosystem II photochemistry and photosynthetic pigment composition in salt-adapted halophyte *Artimisiaanethifolia* grown under outdoor conditions. *Journal of Plant Physiology*, 2003a, 160:403-408.

[18]Lu CM, Qiu NW, Wang BS, et al. Salinity treatment shows no effects on photosystem II photochemistry, but increases the resistance of photosystem II to heat stress in halophyte *Suaeda salsa*. *Journal of Experimental Botany*,2003b,54:851-860.

[19]Chen HX, Li WJ, An SZ, et al. Characterization of PSII photochemistry and thermostability in salt-treated Rumex leaves. *Journal of Plant Physiology*, 2004, 161:257-264.

[20]Tarchoune I, Degl' Innocenti E, Kaddour R, et al. Effects of NaCl or Na_2SO_4 salinity on plant growth, ion content and photosynthetic activity in *Ocimumbasilicum*L. *ActaPhysiologiaePlantarum*,2012,34:607-615.

[21]李鹏民, 高辉远, Strasser RJ. 快速叶绿素荧光诱导动力学分析在光合作用研究中的应用. 植物生理与分子生物学学报. 2005, 31:559-566
LI Peng-min, GAO Hui-yuan, Strasser RJ.Application of the fast chlorophyll fluorescence induction dynamics analysis in photosynthesis study.*Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2005, 31(6): 559-566.

[22]Strasser RJ, Tsimilli-Micheal M, Srivastava A (2004) Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: Papageorgiou GC, Govindjee (eds) Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis. Advances in photosynthesis and respiration, vol 19. Springer, Berlin, pp 321-362

[23]Kalaji HM, Govindjeeb, Bosac K, et al.Effects of salt stress on photosystem II efficiency and CO_2 assimilation of twoSyrian barley landraces. *Environmental and Experimental Botany*, 2011,73:64-72.

[24]AlmodaresA, HadiMR,Ahmadpour H.Sorghum stem yield and soluble carbohydrates underdifferent salinity levels. *African Journal of Biotechnology*, 2008, 7 (22):4051-4055.

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[25]Chai YY, Jiang CD, Shi L, et al. Effects of exogenous spermine on sweet sorghum during germination under salinity.*BiologiaPlantarum*, 2010, 54:145–148.

[26]葛江丽,石雷,谷卫彬,等. 盐胁迫条件下甜高粱幼苗的光合特性及光系统Ⅱ功能调节.作物学报, 2007, 33(8): 1272–1278.

GE Jiang–li, SHI Lei, GU Wei, et al. BinPhotosyntheticcharacteristics and the regulation of photosystem II function in salt–stressed sweet sorghum seedlings. ActaAgromomicaSinica, 2007, 33(8): 1272–127.

[27]於丙军, 罗庆云, 刘友良. 盐胁迫对盐生野大豆生长和离子分布的影响. 作物学报,2001, 27: 776–780.

YU Bing–jun, LUO Qing–yun,LIU You–liang.Effects of salt stress on growth and ionic distribution of salt–bornGlycine soja.ActaAgromomicaSinica, 2001, 27: 776–780.

[28]张乃华,高辉远,邹琦. Ca^{2+}缓解 NaCl 胁迫引起的玉米光合能力下降的作用.植物生态学报,2005, 29: 324–330.

ZHANG Nai–hua, GAO Hui–yuan, ZHOU Qi.Effects of calcium on alleviation of decreased photosynthetic ability in salt–stressed maize leaves.*ActaPhytoecologicaSinica*, 2005, 29: 324–330.

[29]Yan K, Chen P, Shao H,et al.Responses of photosynthesis and photosystem II to higher temperature and salt stress in sorghum. *Journal ofAgronomy and Crop Science*, 2012, 198:218–226.

[30]Loreto F, Centritto M, Chartzoulakis K. Photosynthetic limitations in olive cultivars with different sensitivity to salt stress. *Plant Cell and Environment*,2003, 26:595–601.

[31]Farquhar GD, Sharkey TD.Stomatal conductanceand photosynthesis.*Annual Review of Plant Physiology*,1982, 33:317–345.

[32]MehtaP, JajooA, Mathur S, et al. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stresson photosystem II in wheat leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*,2010,48:16–20.

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net