

低温对不同磷水平下玉米叶片几种与光合作用有关的生理指标的影响

张可炜, 王贤丽, 王雷, 刘志刚, 张举仁*

山东大学生命科学学院, 济南 250100

摘要: 采用砂培方法检测低温低磷下玉米自交系‘齐319’和‘99038’苗期叶片几种与光合作用有关的生理指标变化。结果表明: 低温(昼/夜, 10 °C/8 °C)胁迫下, 2个自交系的净光合速率(P_n)、作用光下的实际PSII光化学效率(Φ_{PSII})、光系统II(PSII)的原初光能转化效率(F_v/F_m)和PSII潜在活性 F_v/F_o 均下降; 低磷(磷浓度为1.95 mg·L⁻¹)下, 低温对 P_n 、 Φ_{PSII} 、 F_v/F_m 和 F_v/F_o 的影响更明显; 低温胁迫下的叶绿素含量和生物量减少, 可溶性糖含量增加; 多磷(磷浓度为19.50 mg·L⁻¹)下无机磷和总磷含量增加, 低磷下则下降。在相同的条件下, ‘99038’的生物量、 P_n 、 Φ_{PSII} 、 F_v/F_m 和 F_v/F_o 的降幅均小于‘齐319’, 可溶性糖含量增加幅度则比其高。

关键词: 低温; 低磷; 光合作用; 玉米

Effects of Low Temperature on Some Physiological Indices of Photosynthesis of Maize (*Zea mays* L.) Inbred Lines under Different Phosphorus Nutrition Level

ZHANG Ke-Wei, WANG Xian-Li, WANG Lei, LIU Zhi-Gang, ZHANG Ju-Ren*

School of Life Sciences, Shandong University, Jinan 250100, China

Abstract: Using sand culture, maize inbred lines cv. 99038 and cv. Qi-319 were studied for their some physiological indices of photosynthesis at seedling under low level phosphorus and low temperature conditions. The results were shown as follows: Their net photosynthetic rate (P_n), actual PSII efficiency (Φ_{PSII}), F_v/F_m and F_v/F_o were decreased by low temperature stress (day/night, 10 °C/8 °C), which were decreased remarkably by both low level phosphorus and low temperature stress. Under low temperature conditions, the content of chlorophyll and biomass were decreased, while the content of soluble sugar was increased. The content of inorganic phosphate and total phosphate were increased in normal P treatment, which were decreased in low P stress. The reduction of biomass, P_n , Φ_{PSII} , F_v/F_m and F_v/F_o were less and the increment of the content of soluble sugar of cv. 99038 was more than cv. Qi-319 at same treatment.

Key words: low temperature; low phosphorus; photosynthesis; maize

玉米是喜温作物, 尤其是在发育早期对冷害很敏感。当温度低于玉米最适生长温度时, 光合速率和一些与光合作用相关的叶绿体合成、酶促反应、光合产物运输等都会受到负面的影响(Maiti和Wesche-Ebeling 1998)。低温还影响光合作用中光系统的修复能力, 加剧光对光合作用的抑制(Starck等2000)。磷是植物生长发育的必需元素, 它参与光合作用各个环节(包括光能吸收、同化力的形成、卡尔文循环、同化产物的运输以及对一些关键性酶活性的影响等)的调节, 在提高作物光合能力和缓减逆境胁迫中起重要作用。在大田土壤中, 磷往往与铝、铁、钙等结合形成作物难以吸收的难溶性磷, 以致耕地呈现不同程度的缺磷。我国北方广大地区, 特别是东北玉米产

区, 玉米的正常成熟和高产稳产常受到温度因素的制约, 尤其是低温冷害的不利影响。由于各种环境因素如冷热、干旱、盐渍、缺素等都直接或间接地影响光合作用(孙学成等2006; Yamori等2005; 梁秀兰等2005), 玉米在其生长发育过程中, 还有可能遇到低温和营养元素亏缺的共同胁迫。有关低磷或者低温胁迫下的玉米光合作用和叶绿素荧光的研究较多(Janda等1998; Fracheboud等2004; Lootens等2004), 而低温

收稿 2006-09-06 修定 2007-01-12

资助 国家自然科学基金(30070487)和国家“863”计划(2006AA10A107)。

*通讯作者(E-mail: jrzhang@sdu.edu.cn; Tel: 0531-88364350)。

低磷协同胁迫对作物光合作用影响的报道则较少(Starck等2000)。因此研究不同磷营养水平下低温胁迫对玉米光合作用相关指标的影响既有理论价值,也有现实意义。我们实验室采用细胞工程技术获得耐低磷植株(张可炜等2000),并经过多代自交获得耐低磷的自交系‘99038’(Li等2007)。本文以自交系‘齐319’和耐低磷自交系‘99038’为材料,研究其在不同磷水平下对低温胁迫的反应。

材料与方 法

实验材料为玉米(*Zea mays* L.)耐低磷自交系‘99038’和用作对照的自交系‘齐319’。耐低磷自交系‘99038’是来自‘齐319’的细胞突变体,通过以下途径获得:以玉米自交系‘齐319’为材料,取其幼胚诱导胚性愈伤组织并继代培养,将继代培养半年左右的胚性愈伤组织转移到不加磷酸盐的培养基上进行筛选,在连续筛选5代后,挑出生长较好的胚性愈伤组织进行分化。再生植株移栽成活后自交结实,子一代通过砂培进行低磷胁迫处理,筛选出耐低磷株系,经多代自交筛选获得耐低磷自交系‘99038’。在低磷胁迫下自交系‘99038’比‘齐319’具有苗期根系发达、从低磷环境中获取磷素能力强的特点(Li等2007)。

自交系‘99038’和‘齐319’的种子分别播于装有洗涤干净沙子的塑料盆中,在自然光照下培养,每盆留3株生长一致的幼苗。植株生长至1叶1心期后,分别浇1/2MS营养液(正常磷处理,记为多磷,营养液磷浓度为 $19.35\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),或1/2MS营养液中去除部分磷元素(少磷处理,记为少磷,磷浓度为 $1.95\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。去除部分磷元素的1/2MS营养液中少加的磷酸盐中的 K^+ 用KCl补齐,保持 K^+ 浓度与1/2MS营养液中的相同。每盆每天浇100 mL营养液,同时用自来水补充秧苗所需水分。玉米幼苗长至四叶一心期时,移至人工气候室中进行低温处理2 d。昼夜温度为 $10\text{ }^\circ\text{C}/8\text{ }^\circ\text{C}$,光周期为12 h/12 h,湿度为70%,光强为 $800\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

实验中温度与磷各设2个水平,以常温下多磷($25\text{ }^\circ\text{C}$ /多磷)为对照,设置常温下少磷($25\text{ }^\circ\text{C}$ /少磷)、低温多磷($10\text{ }^\circ\text{C}$ /多磷)和低温少磷($10\text{ }^\circ\text{C}$ /

少磷)3个处理。

叶绿素的提取参考Arnon(1949)的方法。无机磷测定按Arthur(1989)文中的方法。全磷含量的测定用 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ 消煮,用钼锑抗比色法测定(鲍士旦2002)。以80%乙醇提取可溶性总糖,蒽酮法(Yemm和Willis 1954)测定。用Li-Cor6400型便携式光合系统测定第3全展叶的净光合速率。叶室温度为 $25\text{ }^\circ\text{C}$,光强为 $800\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

在测定叶片净光合速率的同一位置上用FMS-2型调制式荧光仪(英国Hansatech公司)测定荧光参数。测量 F_0 和 F_m 之前叶片暗适应30 min。测量时利用该系统Modfluor软件编程并将测定程序输入荧光仪,由荧光仪自动测量完成整个过程。测量的光强不大于 $1\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,作用光光强($800\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)与材料培养时的光强一致,饱和脉冲光的光强约 $6\text{ }000\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。各参数意义及计算公式如下:PSII最大光化学效率 $F_v/F_m=(F_m-F_0)/F_m$ (Krause和Weis 1991);PSII实际光化学转化率: $\Phi_{\text{PSII}}=(F'_m-F_s)/F'_m$ (Genty等1989)。 F_0 为暗适应时的初始荧光; F_m 为暗适应时的最大荧光; F_v 为暗适应时的最大可变荧光; F_s 为稳态荧光; F'_m 为光适应时的最大荧光。所有数据均用SPSS 11.5软件进行处理。

结果与讨论

1 低磷低温对玉米幼苗生物量、叶中叶绿素和可溶性糖含量的影响

表1显示,(1)常温少磷、低温多磷、低温少磷条件下自交系‘99038’和‘齐319’的生物量下降。相同的处理下,‘99038’的生物量高于‘齐319’。常温少磷、低温多磷的条件下‘99038’的生物量与‘齐319’间差异显著。说明‘99038’的幼苗生长受低磷低温的影响比‘齐319’小。(2)常温少磷条件下‘99038’和‘齐319’叶中叶绿素的含量增加。在低温多磷、低温少磷条件下二者叶绿素含量显著下降,尤其是低温少磷下的叶绿素含量最低。在相同条件下‘99038’和‘齐319’之间差异不显著。(3)常温少磷、低温多磷、低温少磷条件下‘99038’和‘齐319’玉米幼苗叶中的可溶性糖含量显著增加。在相同处理下,‘99038’的可溶性糖含量高于‘齐319’,尤其在低温多磷时比‘齐319’

高出 34.99%。一般认为可溶性糖含量与植物的抗冷性呈正相关。低温胁迫下‘99038’的幼苗叶中可溶性糖含量显著高于‘齐 319’，表明‘99038’比‘齐 319’可能有更强的抗低温胁迫能力。

2 低磷低温对玉米叶中无机磷和总磷含量的影响

从表(2)可见,(1)低温少磷条件下,‘99038’和‘齐319’叶中无机磷含量与各自常温多磷相比均明显下降,二者的下降幅度相近。低温多磷条件下,自交系‘99038’和‘齐319’叶中无机磷含量变化与低温少磷的不同,均显著升高。常温少磷条件下二者与各自常温多磷差异不显著。在相同处理条件下,‘99038’叶中无机磷含量高于‘齐319’,低温多磷条件下二者之间差异显著。(2)常温少磷、低温少磷条件下,‘99038’和‘齐319’植株叶中总磷含量下降明显,低温多磷时显著增加。在相同条件下,自交系‘99038’叶中总磷含量均高于自交系‘齐319’,但只有低温多磷和低温少磷条件下二者差异显著。

3 低磷低温对玉米幼苗光合速率的影响

常温少磷、低温多磷和低温少磷条件下‘99038’和‘齐319’叶片光合速率都显著下降,各自降低的幅度不同,‘齐319’的下降幅度大于‘99038’,特别是低温少磷条件下二自交系的光合速率值最低。相同条件下‘99038’的净光合速率显著高于‘齐319’(表3)。从低温胁迫下玉米幼苗光合速率的变化看,在不同的磷水平下,‘99038’的耐低温能力较强,低温胁迫下对光的利用率较高。

4 低磷低温对玉米幼苗叶绿素荧光的影响

表3显示,(1)常温少磷、低温多磷、低温少磷条件下,‘99038’和‘齐319’叶片的 F_v/F_m 和 Φ_{PSII} 都显著下降,‘齐319’的下降幅度大于‘99038’,其中低温少磷时 F_v/F_m 和 Φ_{PSII} 值最低。相同条件下‘99038’的 F_v/F_m 和 Φ_{PSII} 显著高于‘齐319’。 F_v/F_m 可反映PSII的最大光化学效率,而 Φ_{PSII} 是表示实际的光化学效率, F_v/F_m 及 Φ_{PSII} 降

表1 低温对玉米幼苗生物量、叶中叶绿素和可溶性糖含量的影响

Table 1 Effects of low temperature on biomass, chlorophyll and soluble sugar contents in leaves of maize seedling

自交系	处理	生物量/g (DW)·植株 ⁻¹	叶绿素含量/mg·g ⁻¹ (FW)	可溶性糖/% (DW)
‘99038’	常温多磷	0.91±0.15 ^a	1.31±0.11 ^b	2.42±0.11 ^f
	常温少磷	0.64±0.05 ^c	1.59±0.15 ^a	3.21±0.12 ^c
	低温多磷	0.82±0.04 ^a	0.78±0.03 ^e	5.23±0.15 ^a
	低温少磷	0.54±0.04 ^e	0.55±0.05 ^d	3.53±0.15 ^b
‘齐319’	常温多磷	0.82±0.06 ^a	1.27±0.15 ^b	2.67±0.12 ^e
	常温少磷	0.59±0.04 ^d	1.59±0.07 ^a	3.40±0.18 ^b
	低温多磷	0.70±0.09 ^b	0.77±0.03 ^e	2.86±0.16 ^d
	低温少磷	0.49±0.05 ^d	0.56±0.06 ^d	2.83±0.17 ^d

表中各列数据后小写字母不同表示其差异在5%水平上显著,下同。

表2 低温对玉米幼苗叶中无机磷和总磷含量的影响

Table 2 Effects of low temperature on inorganic and total phosphorus contents in leaves of maize seedling

自交系	处理	无机磷含量/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)	总磷含量/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (DW)
‘99038’	常温多磷	10.57±0.92 ^c	107.82±4.62 ^c
	常温少磷	10.09±0.67 ^c	35.41±2.45 ^e
	低温多磷	26.30±0.38 ^a	154.03±1.90 ^a
	低温少磷	5.43±0.28 ^d	20.81±1.45 ^f
‘齐319’	常温多磷	10.31±0.18 ^c	105.94±5.52 ^{cd}
	常温少磷	9.76±0.67 ^c	25.67±1.43 ^f
	低温多磷	15.09±1.25 ^b	115.65±5.05 ^b
	低温少磷	5.29±0.27 ^e	18.62±0.80 ^f

表3 低温对玉米幼苗光合速率和荧光参数的影响

Table 3 Effects of low temperature on photosynthetic rate and fluorescence parameters of maize seedlings

自交系	处理	光合速率/ $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	F_v/F_o	F_v/F_m	Φ_{PSII}
'99038'	常温多磷	15.40±0.41 ^a	7.47±0.71 ^a	0.881±0.099 ^a	0.671±0.039 ^a
	常温少磷	9.83±0.38 ^c	4.20±0.53 ^c	0.814±0.106 ^e	0.167±0.021 ^d
	低温多磷	10.70±0.42 ^c	4.85±0.05 ^b	0.829±0.015 ^c	0.593±0.029 ^b
	低温少磷	2.15±0.07 ^e	3.32±0.49 ^d	0.767±0.026 ^f	0.146±0.022 ^e
'齐319'	常温多磷	13.65±0.64 ^b	7.42±0.39 ^a	0.861±0.056 ^b	0.592±0.035 ^b
	常温少磷	6.00±0.50 ^d	3.42±0.27 ^d	0.782±0.057 ^d	0.092±0.004 ^f
	低温多磷	6.28±1.03 ^d	4.26±0.20 ^c	0.810±0.073 ^d	0.308±0.011 ^c
	低温少磷	1.60±0.08 ^f	1.15±0.46 ^e	0.521±0.102 ^g	0.025±0.002 ^g

低,表示其光能转换效率降低,这说明在低温胁迫下‘齐319’对光能的利用效率低于‘99038’。(2)常温少磷、低温多磷、低温少磷导致‘99038’和‘齐319’叶片的PSII的潜在活性 F_v/F_o 显著下降,‘99038’的下降幅度比‘齐319’低,其中低温少磷条件下二自交系 F_v/F_o 降到最低值。相同的条件下,‘99038’的PSII的潜在活性 F_v/F_o 高于‘齐319’。研究表明有较强的耐冷性品种在低温胁迫下具有 F_v/F_m 和 F_v/F_o 下降幅度小的特点(Janda等1998),低温胁迫下‘99038’的 F_v/F_m 和 F_v/F_o 的下降幅度低于‘齐319’,表明‘99038’耐低温能力可能强于‘齐319’。

综上所述可以得出以下结论:(1) F_v/F_o 可将低温对植物的伤害以数量的形式表达出来(王可玢等1996), F_v/F_o 则是 F_v/F_m 的另一种表达形式(Krause和Weis 1991)。本文结果显示常温少磷、低温多磷、低温少磷处理引起的 F_v/F_o 的变化幅度比 F_v/F_m 大得多(表3),因此 F_v/F_o 可能是检测实验材料适应低温逆境能力中理想的指标之一。(2)Frachebound等(2004)的研究表明,玉米叶绿素荧光动力学参数可表示光合系统的电子传递能力及光能利用效率,据此可有效地选择出抗冷性强的玉米品种。耐寒品种具有 F_v/F_m 和 Φ_{PSII} 下降幅度小的特点(Frachebound等1999)。本文中 F_v/F_m 、 F_v/F_o 和 Φ_{PSII} 的变化差异,体现了‘99038’与‘齐319’对低温胁迫反应的差异,在相同的条件下‘99038’的 F_v/F_m 、 F_v/F_o 和 Φ_{PSII} 下降幅度小于‘齐319’,表明‘99038’在不同磷水平下比‘齐319’可能有更强的抗衡低温胁迫的能力。‘99038’幼苗在低温胁迫下可维持较高的光能利用率,而‘齐319’则表

现较差。Furbank (1987)认为,低温对光合不良的影响是由于低温胁迫下叶组织中Pi含量下降所致。不同磷水平下‘99038’的叶中无机磷和总磷含量均高于‘齐319’,这可能是其光合作用受低温影响较小造成的。

参考文献

- 鲍士旦(2002). 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社, 270
- 梁秀兰, 林英春, 年海, 解丽霞(2005). 低磷胁迫对不同基因型玉米主要生理生化特性的影响. 作物学报, 31(5): 667~669
- 孙学成, 胡承孝, 谭启玲, 甘巧巧(2006). 低温胁迫下相对冬小麦光合作用特性的影响. 作物学报, 32(9): 1418~1422
- 王可玢, 赵福洪, 王孝宣, 李树德(1996). 用体内叶绿素a荧光诱导动力学鉴定番茄的抗冷性. 植物学通报, 13(2): 29~33
- 张可炜, 尹小燕, 尚梅, 张举仁(2000). 玉米耐低磷细胞的筛选及再生植株后代的研究. 中国农业科学, 33(增刊): 124~131
- Arnon DI (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenol-oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol, 24: 1~15
- Arthur L (1989). Influence of phosphorus nutrition on growth and carbon partition in *Glycine max*. Plant Physiol, 89: 225~230
- Frachebound Y, Haldimann P, Leipner J, Stamp P (1999) Chlorophyll fluorescence as a selection tool for cold tolerance of photosynthesis in maize (*Zea mays* L.). J Exp Bot, 50 (338): 1533~1540
- Frachebound Y, Jompuk C, Ribaut JM, Stamp P, Leipner J (2004). Genetic analysis of cold-tolerance of photosynthesis in maize. Plant Mol Biol, 56: 241~253
- Furbank RT, Foyer CH, Walker DA (1987). Regulation of photosynthesis in isolated spinach chloroplasts during orthophosphate limitation. Biochim Biophys Acta 894: 552~561
- Genty B, Briantais JM, Baker NR (1989). The relationship between quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochim Biophys Acta, 990: 87~92
- Janda T, Szalai G, Ducruet JM, Páldi E (1998). Changes in

- photosynthesis in inbred maize lines with different degrees of chilling tolerance grown at optimum and suboptimum temperatures. *Photosynthetica*, 35 (2): 205~212
- Krause GH, Weis E (1991). Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 42: 313~349
- Li KP, Xu ZP, Zhang KW, Yang AF, Zhang JR (2007). Inbred line with low-phosphorus tolerance of maize (*Zea mays* L.) produced by cellular engineering and analysis of its low-phosphorus tolerant characteristics. *Plant Sci*, 172 (2): 255~264
- Lootens P, van Waas J, Carlier L (2004). Effect of a short photoinhibition stress on photosynthesis, chlorophyll a fluorescence, and pigment contents of different maize cultivars. Can a rapid and objective stress indicator be found? *Photosynthetica*, 42 (2): 187~192
- Maiti RK, Wesche-Ebeling PH (1998). *Maize Science*. Enfield, NH: Science Publishers, Inc.
- Starck ZK, Niemyska B, Bogdan J, Akour Tawalbeh RN (2000). Response of tomato plants to chilling stress in association with nutrient or phosphorus starvation. *Plant Soil*, 226: 99~106
- Yamori W, Noguchi K, Terashima I (2005). Temperature acclimation of photosynthesis in spinach leaves: analyses of photosynthetic components and temperature dependencies of photosynthetic partial reactions. *Plant Cell Environ*, 28 (4): 536~547
- Yemm EW, Willis AJ (1954). The estimation of carbohydrates in plant extracts by the anthrone. *Biochem J*, 57: 508~514