

不同蜜露分泌类型蝴蝶兰叶片的光合生理特性研究

许申平¹, 王莹博^{1,2}, 张燕¹, 李霞³, 崔波^{1,*}

¹郑州师范学院生物工程研究所, 郑州450044; ²河南农业大学生命科学院, 郑州450002; ³郑州好日子园艺有限公司, 郑州450064

摘要: 为探索蝴蝶兰蜜露形成的生理机理, 以蜜露分泌严重的蝴蝶兰‘大辣椒’和无蜜露分泌的蝴蝶兰‘双龙’两个品种为试验材料, 研究不同叶龄的叶片(新叶、功能叶和老叶)光合生理指标的差异。结果表明: 蝴蝶兰‘大辣椒’不同叶片类型之间的净CO₂吸收速率并没有显著差异, 蝴蝶兰‘双龙’新叶的净CO₂吸收速率显著高于功能叶和老叶, 而且比‘大辣椒’的新叶高64%; 同时, 蝴蝶兰‘双龙’所有类型叶片的可滴定酸含量都高于蝴蝶兰‘大辣椒’。两个蝴蝶兰品种不同叶片类型的叶绿素荧光参数有显著差异。在新叶中, 蝴蝶兰‘双龙’的最大荧光(F_m)、可变荧光(F_v)、PSII的实际光合量子产量(Yield)和光化学淬灭系数(q_p)都显著大于蝴蝶兰‘大辣椒’, 但非光化学淬灭系数(NPQ)小于蝴蝶兰‘大辣椒’; 在功能叶和老叶中, 蝴蝶兰‘双龙’的PSII潜在活性(F_v/F_o)大于蝴蝶兰‘大辣椒’, 但 q_p 和表观光合电子传递速率(ETR)小于‘大辣椒’。与蝴蝶兰‘双龙’不同, 蝴蝶兰‘大辣椒’的碳水化合物含量在3种叶片中呈现老叶>功能叶>新叶的趋势, 其中, 蝴蝶兰‘大辣椒’老叶的可溶性糖和淀粉含量分别比蝴蝶兰‘双龙’高40%和27%。虽然可溶性蛋白在两种蝴蝶兰的3种叶片中的含量呈相似趋势, 都表现为新叶大于功能叶和老叶, 但是蝴蝶兰‘双龙’的叶绿素含量显著高于蝴蝶兰‘大辣椒’。以上数据表明, 叶片中碳水化合物的积累, 可能是蝴蝶兰‘大辣椒’分泌蜜露的主要原因。

关键词: 蝴蝶兰; 蜜露; 光合特性; 碳水化合物

蝴蝶兰又称蝶兰, 为兰科蝴蝶兰属(*Phalaenopsis*)多年生热带附生CAM植物(Endo和Ikusima 1989; 许申平等2015), 常作盆栽或切花, 具有极高的观赏价值。多年来, 蝴蝶兰产业在我国整个兰花产业中所占的比例一直居高不下, 2014蝴蝶兰年宵花产量达到4 000万株, 2016年宵共有约3 000万株蝴蝶兰上市, 虽然总量比往年有所减少(王新悦2016), 但价格有所提升, 以至于今年出现供不应求的局面。最近几年, 蝴蝶兰市场比较严峻, 但对蝴蝶兰产业的影响因不同品种有很大差异。目前特A级蝴蝶兰‘大辣椒’批发单株价平均比大部分品种高出2~3元。这说明, 当蝴蝶兰处于产业低谷之时, 更凸显出品种和品质的重要性。因为蝴蝶兰的营养生长与其开花品质呈显著的正相关(Paradiso和De Pascale 2014), 所以栽培技术的改进和优良品种的选择就显得尤为重要。

蝴蝶兰蜜露是近几年令种植者十分头疼的问题。部分蝴蝶兰品种的叶子背后会分泌透明的粘稠状物, 该物质有甜味, 含糖量很高, 因而被称为蜜露。含糖量很高的蜜露会使蝴蝶兰叶片感染霉菌, 严重情况下整个叶片被霉菌覆盖, 影响蝴蝶兰植株的正常生长。之前, 一些生产者从湿度和通风等种植环境来找原因, 但收效甚微。也有学者认为蜜露的本质是缺钾。钾肥不足, 叶缘栅栏组织失去吞水功能, 导致叶缘细胞坏死, 蜜露流出体

外, 形成烟霉(何连球2014)。但实际生产中, 蜜露的分泌并不仅仅从叶缘流出, 在叶片的整个背面, 都有蜜露的分泌, 不同叶片类型蜜露的分泌情况各不相同, 一般情况下, 蜜露分泌的程度为老叶>功能叶>新叶。Wang (2007)认为, 蝴蝶兰栽培过程中钾肥不足, 首先老叶尖端和边缘出现黄化, 随后蔓延至整个叶片, 而并没有提到有蜜露的分泌。

CAM植物因夜间气孔打开固定CO₂的特殊方式, 一直被认为是光合作用碳同化途径的少数形式, 占高等植物的6%~7% (Nobel 1991), 与C₃植物相比, 关于CAM植物光合生理的研究相对较少, 关于蝴蝶兰的蜜露现象目前尚未见到报道。虽然蜜露形成的真正原因并不明确, 但可以肯定的是这一现象与品种本身密切相关。在相同环境条件下, 以相同的技术进行栽培蝴蝶兰‘大辣椒’和‘双龙’两个品种, 蝴蝶兰‘大辣椒’蜜露分泌严重, 而蝴蝶兰‘双龙’则未见这一现象。因此, 本文以生长习性相同但并没有蜜露分泌的蝴蝶兰‘双龙’为对照, 希望通过品种间生理指标的差异分析, 探索蝴蝶兰‘大辣椒’易形成蜜露的生理机理。

收稿 2016-10-14 修定 2017-01-22

资助 河南省科技计划项目(162102110073、152107000071)和郑州市重大科技专项(141PZDZX038)。

* 通讯作者(E-mail: laocuibo@163.com)。

材料与方法

1 试验材料与设计

试验材料选取蝴蝶兰‘大辣椒’ (*Phalaenopsis* ‘Big Chili’)和蝴蝶兰‘双龙’ (*Phalaenopsis* ‘Double Dragon’) 2个品种。2个品种生长习性相同, 皆具生长迅速、花大色艳的优点, 是近年来畅销的大红花蝴蝶兰品种, 其中蝴蝶兰‘大辣椒’蜜露分泌严重, 蝴蝶兰‘双龙’则无蜜露分泌。二者均为长势一致的成熟苗(具4片健康叶), 种植于直径为12 cm的白色透明塑料花钵内, 以水苔为基质。试验于2016年6月在郑州师范学院兰花工程研究中心进行, 蝴蝶兰‘大辣椒’和蝴蝶兰‘双龙’置于遮阳率为50%, 相对湿度为85%的同一玻璃温室, 昼夜温度28°C/26°C, 以花多多1号肥提供肥料供给, 3 000×稀释, 每株200 mL, 1周1次。针对2个蝴蝶兰品种, 分别选择3种不同叶龄的叶片进行相关指标的测定。3种不同叶龄的叶片分别是: 新叶(initiated leaves): 从上往下第一片叶; 功能叶(functional leaves): 从上往下第二片叶; 老叶(old leaves): 从上往下第三片叶。

2 光合作用参数的测定

蝴蝶兰为典型的CAM植物, 其叶片净CO₂吸收速率的日变化呈单峰型曲线, 最大值出现在夜间22:00左右(许申平等2015)。本研究于晚上22:00~24:00, 利用便携式光合作用测定仪Li-6400(美国LI-COR公司)对蝴蝶兰叶片的净CO₂吸收速率进行测定。每个品种测定5个植株, 每个叶片重复3次。

3 叶绿素荧光参数的测定

使用便携式叶绿素荧光分析仪PAM-2500(德国Walz公司)于9:00~11:30之间测定蝴蝶兰叶片的叶绿素荧光诱导动力学参数, 每个品种测定5株, 每个叶片重复3次。测定方法参照Pollet等(2010)进行: 叶片暗适应至少20 min后, 首先用弱测量光($\sim 0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)测定初始荧光(F_0), 随后给一个强闪光($> 1\ 500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 脉冲时间0.8 s), 测定最大荧光(F_m); 然后在自然光下适应20 min, 当荧光基本稳定时测定稳态荧光(F_s), 之后再加一次强闪光($> 1\ 500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 脉冲时间0.8 s), 测定光下最大荧光(F'_m), 将叶片遮光, 暗适应3 s后打开远红光, 5 s后测定光下最小荧光(F'_0)。按Roháček(2002)公式计算如下参数: 可变荧光 $[F_v = F_m - F_0]$; 暗适应下PSII的最大光化学量子产量 $[F_v/F_m = (F_m - F_0)/$

$F_m]$; 最大光化学量子产量 F_v/F_m ; PSII潜在活性 F_v/F_0 ; 光适应下PSII的最大量子产额 $[\text{Yield} = (F'_m - F'_0)/F'_m]$; 光适应下光化学猝灭系数 $[q_p = (F'_m - F'_s)/(F'_m - F'_0)]$; 光适应下的非光化学猝灭系数 $[\text{NPQ} = (F_m - F'_m)/F'_m]$; 表观光合电子传递速率 $[\text{ETR} = \text{PPFD} \times \Phi_{\text{PSII}} \times 0.85 \times 0.5]$ 。

4 各指标测定方法

可滴定酸含量的测定采用指示剂滴定法(Lin和Hsu 2004), 于6:00选取蝴蝶兰上部完全展开功能叶的中部, 液氮速冻, 用于测定; 萘酮比色法测定叶片总可溶性糖(Morris 1948); 淀粉含量的测定参照Zapata等(2004)的方法; 叶片可溶性蛋白的测定参考Bradford(1976)的方法。利用80%丙酮进行叶绿素含量的测定(Harmut和Lichtenthaler 1987)。

5 图表数据处理方法

采用SPSS v15.0进行数据的显著性分析, 使用SigmaPlot 11.0和Excel 2010进行数据图表的绘制。

实验结果

1 不同类型蝴蝶兰叶片净CO₂吸收速率和可滴定酸含量的比较

蝴蝶兰‘大辣椒’和‘双龙’叶片净CO₂吸收速率和可滴定酸含量在不同类型叶片之间有显著差异。由图1-A可知, 蝴蝶兰‘双龙’新叶的净CO₂吸收速率比蝴蝶兰‘大辣椒’的新叶高64%, 也显著高于功能叶和老叶。不同于新叶, 蝴蝶兰‘大辣椒’老叶和功能叶的净CO₂吸收速率都高于蝴蝶兰‘双龙’, 但并没有达到显著水平。就蝴蝶兰‘大辣椒’本身而言, 其新叶、功能叶和老叶之间的净CO₂吸收速率则没有显著差异。

对于CAM植物来说, 可滴定酸含量是植物光合性能的另一表现形式。蝴蝶兰‘双龙’所有类型叶片的可滴定酸含量都高于蝴蝶兰‘大辣椒’, 蝴蝶兰‘双龙’与‘大辣椒’的功能叶和老叶的净CO₂吸收速率虽然相似, 但‘双龙’功能叶和老叶的可滴定酸含量显著高于‘大辣椒’, 这说明, 蝴蝶兰‘大辣椒’的功能叶和老叶的液泡对可滴定酸的储藏能力低于蝴蝶兰‘双龙’, 蝴蝶兰‘大辣椒’功能叶和老叶形成的可滴定酸以很快的速度脱酸进行下一步的光合反应。

2 不同类型蝴蝶兰叶片叶绿素荧光参数的比较

2.1 PSII光化学特性比较

蝴蝶兰‘大辣椒’和‘双龙’叶片的叶绿素荧光参数如图2所示, 在暗处理下, 蝴蝶兰‘双龙’的若干

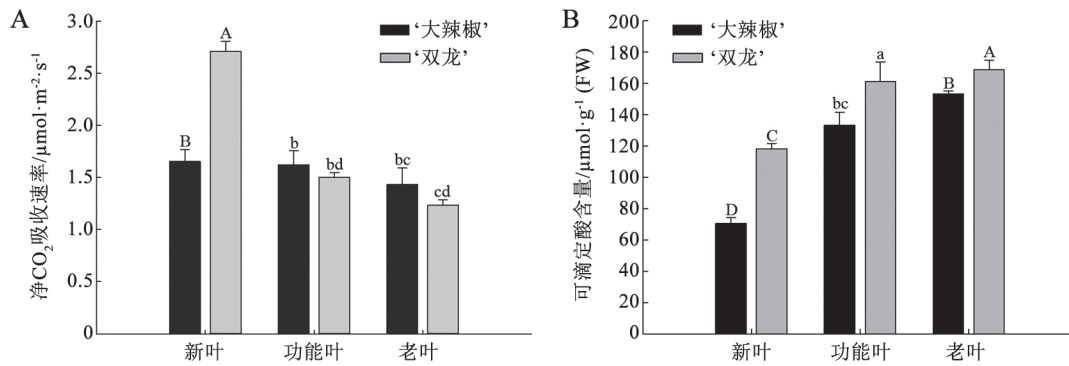


图1 蝴蝶兰‘大辣椒’和‘双龙’叶片净CO₂吸收速率和可滴定酸含量的差异

Fig.1 Differences in net CO₂ uptake rate and titratable acidity content in leaves of *Phalaenopsis* ‘Big Chili’ and ‘Double Dragon’
各柱上不同小写字母表示差异显著(P<0.05), 不同大写字母表示差异极显著(P<0.01)。下图同此。

叶绿素荧光参数都高于蝴蝶兰‘大辣椒’。在新叶中, 蝴蝶兰‘双龙’的初始荧光(F_o)、最大荧光(F_m)和可变荧光(F_v)显著高于蝴蝶兰‘大辣椒’, 而最大光化学量子产量(F_v/F_m)和PSII潜在活性(F_v/F_o)则没有显著差异(图2-A); 在功能叶中, 蝴蝶兰‘双龙’ F_v 和 F_v/F_o 显著高于蝴蝶兰‘大辣椒’ (图2-B); 在老叶中, 除了 F_o , 蝴蝶兰‘双龙’其余的PSII叶绿素荧光参数

都高于蝴蝶兰‘大辣椒’ (图2-C)。 F_v/F_m 是PSII的最大光化学量子产量, 常用于说明植物叶片PSII原初光能转换效率, 当植物处于非逆境条件时, F_v/F_m 值一般为0.75~0.85 (Yamazaki等2011)。在本试验中, 蝴蝶兰‘大辣椒’和‘双龙’所有叶片的 F_v/F_m 并没有显著差异, 都维持在0.79~0.82之间, 这表明两种蝴蝶兰都处于健康的生长状态。

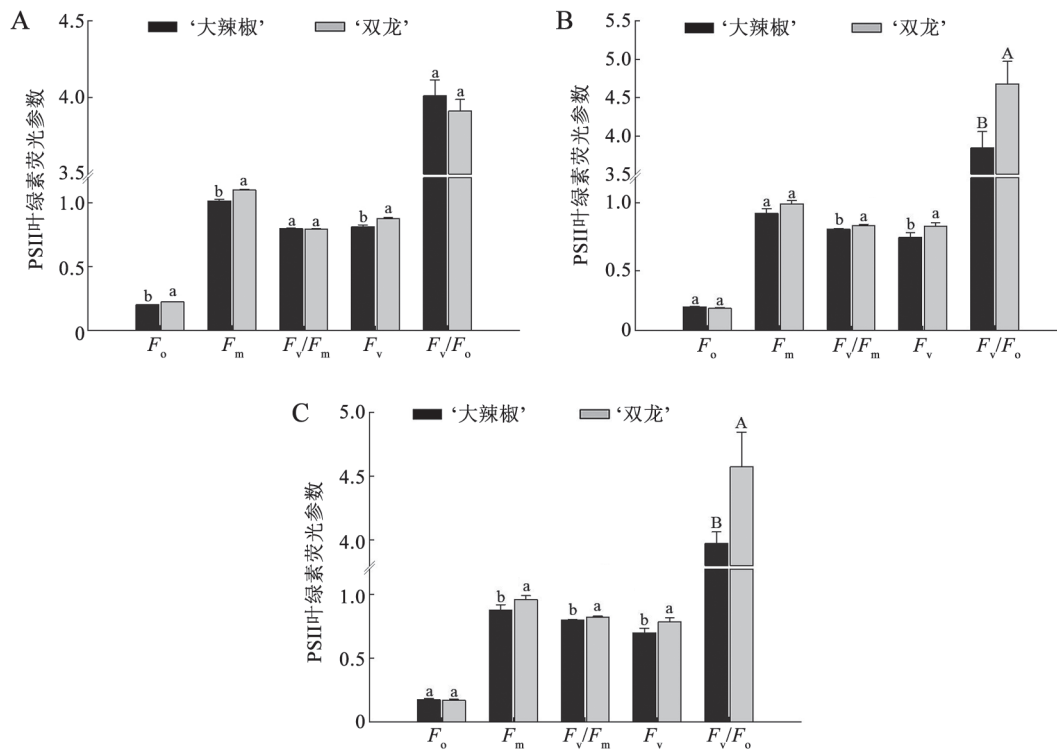


图2 蝴蝶兰‘大辣椒’和‘双龙’叶片PSII光化学特性的差异

Fig.2 Differences in PSII photochemical characteristics in leaves of *Phalaenopsis* ‘Big Chili’ and ‘Double Dragon’

2.2 叶绿素荧光参数的比较

最大量子产额(Yield)反映了光照条件下PSII所吸收的光能实际被利用的比例。蝴蝶兰‘双龙’新叶的Yield显著高于蝴蝶兰‘大辣椒’,但在功能叶和老叶中则没有显著差异(图3-A)。蝴蝶兰‘大辣椒’和‘双龙’叶片的光化学淬灭系数 q_p 在不同类型的叶片中有显著差异(图3-B)。新叶中,蝴蝶兰‘双龙’显著高于‘大辣椒’;但在功能叶和老叶中,蝴蝶兰‘大辣椒’显著高于‘双龙’。非化学淬灭系数NPQ在蝴蝶兰‘大辣椒’和‘双龙’不同类型叶片中也有显著差

异(图3-C)。在新叶和老叶中,蝴蝶兰‘大辣椒’大于‘双龙’,但在功能叶中,蝴蝶兰‘双龙’则大于‘大辣椒’。表观光合电子传递速率ETR是光合机构吸收光能发生电荷分离产生电子并沿电子传递链向下传递的速率,反映实际光强条件下的表观电子传递效率。如图3-D所示,蝴蝶兰‘大辣椒’新叶的ETR比‘双龙’低,而功能叶和老叶则高于蝴蝶兰‘双龙’。

3 不同类型蝴蝶兰叶片碳水化合物的比较

碳水化合物是植物光合作用的重要产物。如

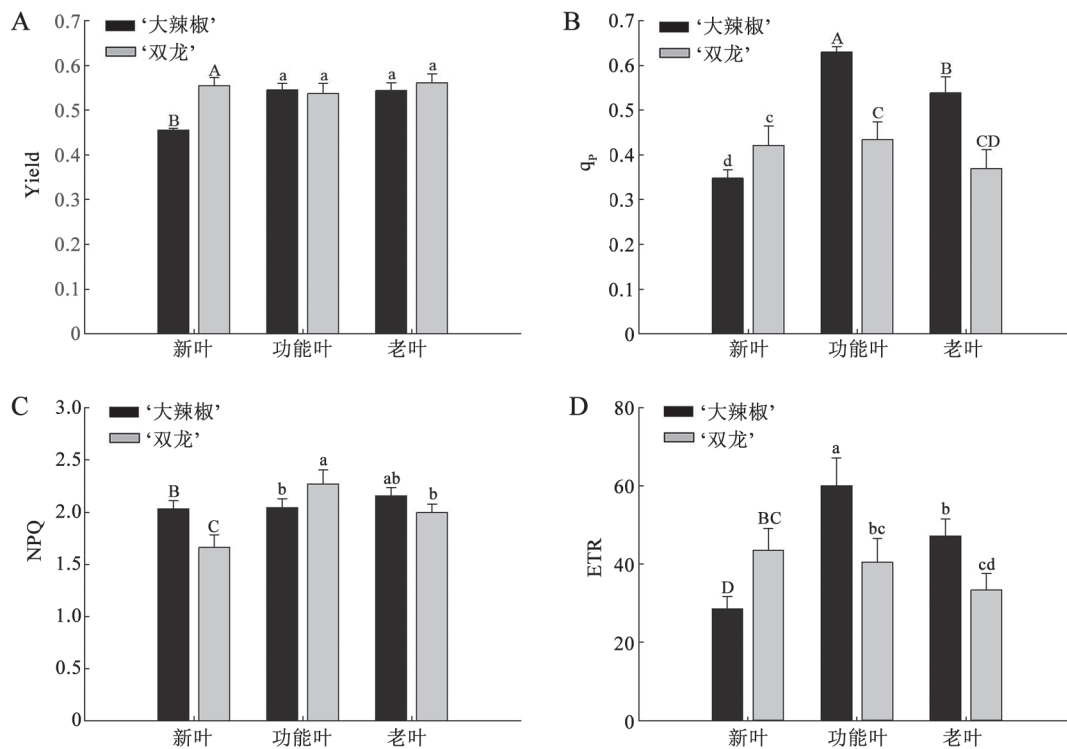


图3 蝴蝶兰‘大辣椒’和‘双龙’叶片叶绿素荧光参数的差异

Fig.3 Differences in chlorophyll fluorescence characteristics in leaves of *Phalaenopsis* ‘Big Chili’ and ‘Double Dragon’

图4所示,蝴蝶兰叶片的碳水化合物含量在不同品种和不同类型叶片中有显著差异。蝴蝶兰‘大辣椒’新叶的可溶性糖含量显著低于蝴蝶兰‘双龙’,而在功能叶和老叶中,蝴蝶兰‘大辣椒’的可溶性糖分别比‘双龙’高16%和40%。另外,蝴蝶兰‘大辣椒’老叶的可溶性糖含量显著高于其新叶。不同于可溶性糖含量,新叶和功能叶中淀粉的含量在蝴蝶兰两个品种中的积累与可溶性糖相反,但在老叶中,蝴蝶兰‘大辣椒’比‘双龙’高27%。由此可见,可溶性糖和

淀粉含量在蝴蝶兰‘大辣椒’的老叶中都显著高于蝴蝶兰‘双龙’,碳水化合物在蝴蝶兰‘大辣椒’老叶中的大量积累有可能是蜜露现象分泌的主要原因。

4 不同类型蝴蝶兰叶片可溶性蛋白含量的比较

可溶性蛋白在两种蝴蝶兰的3种叶片中的含量呈相似趋势,都表现为新叶大于功能叶和老叶。虽然可溶性蛋白含量在蝴蝶兰‘大辣椒’和‘双龙’的新叶中并没有显著差异,但在功能叶和老叶中,蝴蝶兰‘大辣椒’都显著高于蝴蝶兰‘双龙’,特别

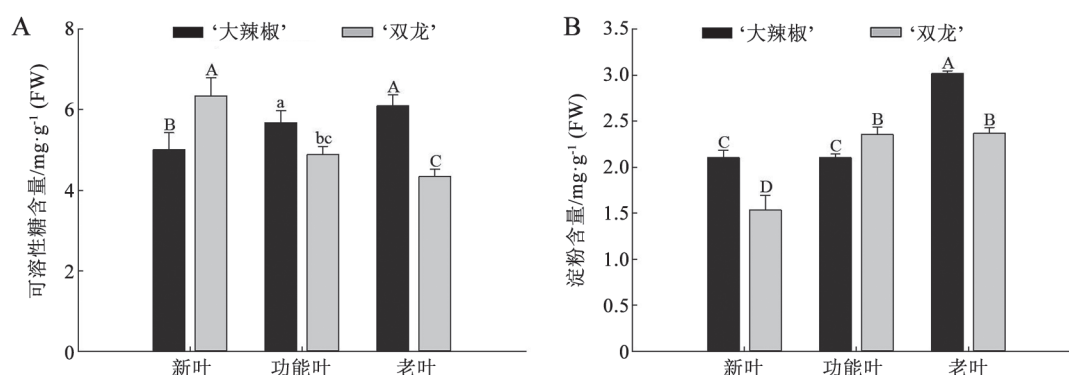


图4 蝴蝶兰‘大辣椒’和‘双龙’叶片碳水化合物含量的差异

Fig.4 Differences in carbohydrate contents in leaves of *Phalaenopsis* ‘Big Chili’ and ‘Double Dragon’

是在功能叶中, 蝴蝶兰‘大辣椒’的可溶性蛋白含量比蝴蝶兰‘双龙’高11%。

5 不同类型蝴蝶兰叶片叶绿素含量的比较

叶绿素是植物进行光合作用的主要光合色素。如表1所示, 在蝴蝶兰两个品种的不同叶片类型中, 不同类型叶绿素含量的趋势大致相同。在

新叶中, 蝴蝶兰‘双龙’的叶绿素a含量显著大于蝴蝶兰‘大辣椒’, 而叶绿素b、叶绿素a/b、总叶绿素和类胡萝卜素则没有显著差异; 在功能叶和老叶中, 蝴蝶兰‘双龙’的叶绿素a和总叶绿素含量显著大于蝴蝶兰‘大辣椒’, 而叶绿素b只在蝴蝶兰‘大辣椒’和‘双龙’的老叶中有显著差异, 叶绿素a/b和类胡萝卜素在功能叶和老叶中也没有显著差异。

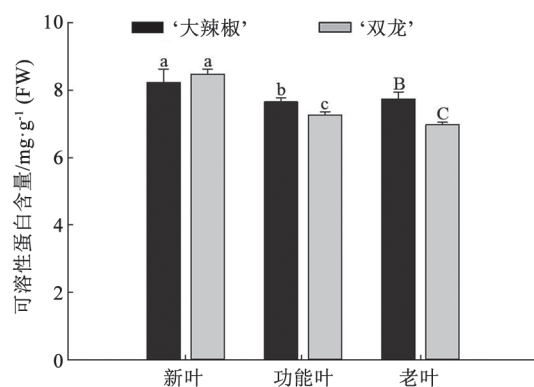


图5 蝴蝶兰‘大辣椒’和‘双龙’叶片可溶性蛋白含量的差异

Fig.5 Differences in soluble protein contents in leaves of *Phalaenopsis* ‘Big Chili’ and ‘Double Dragon’

讨论

叶片是植物进行光合作用的主要器官, 其生长状况的好坏直接影响着光合作用的效率和光合产物的积累(孙艳等2008)。通过对蝴蝶兰‘大辣椒’和‘双龙’不同类型叶片的光合特性的研究发现, 蝴蝶兰‘大辣椒’3种叶片的净CO₂吸收速率之间没有显著差异, 而蝴蝶兰‘双龙’的功能叶和老叶的净CO₂吸收速率与蝴蝶兰‘大辣椒’接近, 但其‘新叶’的净CO₂吸收速率显著高于其他叶片。该数据表明两个方面: 第一, 蝴蝶兰叶片的光合特性并不不同于一般的C₃植物, 叶龄较长的叶片仍具有较强的光

表1 蝴蝶兰‘大辣椒’和‘双龙’叶片叶绿素含量的比较

Table 1 Comparison of chlorophyll contents in leaves of *Phalaenopsis* ‘Big Chili’ and ‘Double Dragon’

叶片类型	蝴蝶兰品种	叶绿素a含量/mg·g ⁻¹	叶绿素b含量/mg·g ⁻¹	叶绿素a/b	总叶绿素含量/mg·g ⁻¹	类胡萝卜素含量/mg·g ⁻¹
新叶	‘大辣椒’	1.25±0.00 ^D	0.55±0.01 ^d	2.28±0.05 ^{ab}	1.79±0.02 ^d	1.11±0.01 ^a
	‘双龙’	1.62±0.03 ^E	0.63±0.02 ^d	2.59±0.13 ^a	1.90±0.17 ^d	1.10±0.22 ^a
功能叶	‘大辣椒’	1.86±0.05 ^e	0.86±0.01 ^c	2.17±0.08 ^b	2.71±0.04 ^C	0.99±0.04 ^a
	‘双龙’	2.19±0.01 ^b	0.93±0.00 ^{bc}	2.36±0.01 ^{ab}	3.12±0.01 ^B	1.03±0.04 ^a
老叶	‘大辣椒’	2.11±0.09 ^B	1.05±0.10 ^b	2.04±0.21 ^b	3.16±0.11 ^B	1.07±0.10 ^a
	‘双龙’	2.81±0.09 ^A	1.28±0.04 ^a	2.19±0.01 ^b	4.10±0.13 ^A	1.22±0.05 ^a

同列的不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。

合能力,并没有衰老现象的出现,这可能与蝴蝶兰生长较慢、叶片肉质多汁的CAM特性相关;第二,蝴蝶兰‘大辣椒’的功能叶和老叶的净CO₂吸收速率与‘双龙’并没有显著差异,但在‘大辣椒’的功能叶和老叶中蜜露现象非常常见,而‘双龙’则未见这一现象,这说明蜜露现象与蝴蝶兰叶片的净CO₂吸收速率没有直接的联系。

虽然可滴定酸含量是CAM植物的另一种光合性能表现形式,与叶片净CO₂吸收速率具有密切相关性,且表现出特异的昼夜节律(Ceusters等2008),但蝴蝶兰‘大辣椒’和‘双龙’叶片的可滴定酸积累并不与其净CO₂吸收速率一致。二者的功能叶和老叶的可滴定酸含量都显著大于各自的新叶,且蝴蝶兰‘双龙’各叶片可滴定酸含量的积累都大于蝴蝶兰‘大辣椒’相应的叶片。这种差异可能主要是液泡储藏能力引起的,在功能叶和老叶中,叶片结构和生化物质已经稳定,液泡的储藏能力相对较大,而新叶处于未完全成熟阶段,此时可滴定酸含量的积累主要受到液泡储藏能力的限制。另一方面,CAM植物的叶片净CO₂吸收速率和可滴定酸含量昼夜都有一定的节律变化,但本文仅测定了一个时间段,也可能是影响造成叶片净CO₂吸收速率和可滴定酸含量不一致的另外一个原因。

叶绿素荧光动力学技术对测定植物叶片光合作用过程中对光能的吸收、传递、耗散、分配等方面具有重要的作用(Papageorgiou等2004)。在功能叶和老叶中(图2-B、C),蝴蝶兰‘双龙’最大光化学量子产量 F_v/F_m 和PSII潜在活性 F_v/F_0 显著高于蝴蝶兰‘大辣椒’, F_v/F_m 和 F_v/F_0 分别用于度量植物叶片PSII原初光能转换效率和PSII潜在活性(李晓等2006),说明蝴蝶兰‘双龙’的老叶和功能叶具有较高的光合电子传递活性,其光合器官能把所捕获的光能较充分并较高效地转化为生物化学能。化学淬灭系数 q_p 代表PSII天线色素吸收的光能用于光化学电子传递的比例,反映了光合效率和光能利用效率, q_p 值高有利于碳同化,提高植物的光合效率(Heraud和Beardall 2000)。新叶中,蝴蝶兰‘双龙’显著高于‘大辣椒’;但在功能叶和老叶中,蝴蝶兰‘大辣椒’显著高于‘双龙’。这一结果与蝴蝶兰‘大辣椒’和‘双龙’叶片的净CO₂吸收速率并不一致,这表明蝴蝶兰的光合效率并不是单一由叶片的

CO₂吸收速率决定,而是与PSII的光能转化和利用紧密相关。NPQ为非化学淬灭系数,反映了PSII天线色素吸收的光能以热的形式耗散的光能,是植物光合机构在过量光强环境下的自我保护的机制(Kramer等2004)。NPQ的高低与植物光合能力的关系目前并没有统一观点。大部分研究认为在同等条件下较高的NPQ值有利于光能的耗散,NPQ愈大, q_p 愈小,所以较好的光合性能一般具有较低NPQ值(贺立红等2006;郑蓉等2008);但也有研究认为 q_p 与NPQ值呈极显著正相关,较高的NPQ值并没有降低 q_p 值(郑淑霞和上官周平2006)。本研究中 q_p 与NPQ的值呈现负相关,说明对蝴蝶兰来说,NPQ值越大, q_p 越小,光合性能越低。表观光合电子传递速率ETR可估算PSII所吸收的光能被转化为化学能的实际量,若不考虑暗反应对其利用效率的情况下,可评估植物的光合能力(Bjorkman和Demmig 1987)。本研究中的ETR与 q_p 呈现一致趋势,这说明与蝴蝶兰‘双龙’相比,蝴蝶兰‘大辣椒’的功能叶和老叶具有较强的光能利用率。

碳水化合物是植物光合作用的重要产物,对于CAM植物来说,碳水化合物的昼夜转化和有效性对CAM植物阶段的划分起关键的作用,并影响夜间CO₂的吸收(Borland和Taybi 2004);另外,由于需要为PEP提供碳骨架,碳水化合物必须分配到其他器官以维持植物的生长和光合作用的完整性(Antony等2008; Hausler等2000)。本研究发现,蝴蝶兰叶片的碳水化合物含量在不同品种和不同类型叶片中有显著差异(图4),其中,可溶性糖和淀粉含量在蝴蝶兰‘大辣椒’的老叶中都显著高于蝴蝶兰‘双龙’。此时,蝴蝶兰‘大辣椒’老叶已停止生长,光合产物在叶片中的大量积累,肯定会影响植物的源-库平衡,从而对叶片光合机构产生反馈抑制,植株为了协调自身的生理代谢,便有蜜露现象的分泌。另外,蝴蝶兰‘大辣椒’叶片的碳水化合物含量在3种叶片中呈现老叶>功能叶>新叶的趋势,这与生产中发现的蜜露分泌的程度(老叶>功能叶>新叶)相一致,这一结果进一步证明了碳水化合物在叶片中的积累是蜜露现象产生的主要原因。植物源叶片的光合作用为库组织的代谢活动和植物的生长发育提供了动力,库组织对光合产物的需求对源叶片的光合作用也有很大的影响(Paul和

Driscoll 1997; Roitsch 1999)。库强和植物生产光合同化物的能力受碳水化合物运输的影响, 库强的强弱是由库细胞蔗糖代谢和贮藏能力决定的, 而库强大小的一个重要生化指标是蔗糖代谢相关酶的活性(Farrar 1993; Graham和Martin 2000), 与蔗糖代谢密切相关的酶主要有蔗糖磷酸合成酶、蔗糖合成酶和蔗糖转化酶, 蔗糖合成酶和转化酶调节蔗糖的分解与合成, 因而蔗糖合成酶和转化酶活性的改变直接影响库强(Roitsch 1999)。本研究中, 碳水化合物在蝴蝶兰‘大辣椒’老叶中的积累, 是否与蔗糖代谢相关酶的活性有关, 还有待于进一步的研究。

可溶性蛋白质含量的高低反映着叶片生理代谢能力的强弱, 含量下降预示着叶片生理机能的衰退(孙艳等2008)。虽然蝴蝶兰‘大辣椒’和‘双龙’功能叶和老叶可溶性蛋白含量比新叶有所降低, 但仍然保持较大值, 蝴蝶兰‘大辣椒’功能叶和老叶的可溶性蛋白含量都高于蝴蝶兰‘双龙’, 这表明, 蝴蝶兰‘大辣椒’的功能叶和老叶仍然具有较强的生理活性, 这与叶绿素荧光参数的测定一致。叶绿素是植物参与光合作用的重要色素和物质载体, 起到捕获光能并驱动电子转移到反应中心的作用(Anderson 1967), 大部分研究认为其含量的高低在一定程度上决定了光合速率的大小。其实, 仅仅在弱光下, 光合速率会随叶绿素含量的增加而增高, 存在良好的线性关系, 而在饱和光下光合速率往往与叶绿素含量的多少无关(许大全2009; Chen和Xu 2006)。本研究发现, 蝴蝶兰‘大辣椒’和‘双龙’的叶绿素含量与其相应叶片的净CO₂吸收速率并没有相关性, 但与其相应叶片的可滴定酸含量呈正相关, 这表明CAM植物的光合性能并不能仅仅用叶片的净CO₂吸收速率来衡量, 需要综合其叶片的可滴定酸含量和叶绿素荧光参数来综合评价。

总之, 通过对蝴蝶兰‘大辣椒’和‘双龙’不同叶片类型(新叶、功能叶和老叶)光合生理的研究发现, 光合产物在叶片中的积累是造成其分泌蜜露的主要原因。蝴蝶兰为多年生单茎兰花, 大部分光合同化物应转移到假鳞茎中储备以用于生殖生长, 关于碳水化合物在蝴蝶兰‘大辣椒’老叶中积累的具体原因还有待进一步研究。

参考文献

- Anderson MC (1967). Photon flux, chlorophyll content, and photosynthesis under natural conditions. *Ecology*, 48 (6): 1050–1053
- Antony E, Taybi T, Courbot M, Mugford ST, Smith JA, Borland AM (2008). Cloning, localization and expression analysis of vacuolar sugar transporters in the CAM plant *Ananas comosus* (pineapple). *J Exp Bot*, 59 (7): 1895–1908
- Bjorkman O, Demmig B (1987). Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta*, 170 (4): 489–504
- Borland AM, Taybi T (2004). Synchronization of metabolic processes in plants with crassulacean acid metabolism. *J Exp Bot*, 55 (400): 1255–1265
- Bradford MM (1976). A rapid method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of a protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72 (1-2): 248–254
- Ceusters J, Borland AM, Londers E, Verdoordt V, Godts C, De Proft MP (2008). Diel shifts in carboxylation pathway and metabolite dynamics in the CAM bromeliad *Aechmea* ‘Maya’ in response to elevated CO₂. *Ann Bot*, 102 (3): 389–397
- Chen Y, Xu DQ (2006). Two patterns of leaf photosynthetic response to irradiance transition from saturating to limiting one in some plant species. *New Phytol*, 169 (4): 789–797
- Endo M, Ikusima I (1989). Diurnal rhythm and characteristics of photosynthesis and respiration in the leaf and root of a *Phalaenopsis* plant. *Plant Cell Physiol*, 30 (1): 43–47.
- Farrar JF (1993). Sink strength: what is it and how do we measure it? A summary. *Plant Cell Environ*, 16 (9): 1045–1046
- Graham IA, Martin T (2000). Control of photosynthesis, allocation and partitioning by sugar regulated gene expression. In: Leegood RC, Sharkey TD, von Caemmerer S (eds). *Physiology and Metabolism*. Springer Netherlands, 233–248
- Harmut A, Lichtenthaler K (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Method Enzymol*, 148 (1): 350–383
- Hausler RE, Baur B, Scharfe J, Teichmann T, Eicks M, Fischer KL, Flugge UI, Schubert S, Weber A, Fischer K (2000). Plastidic metabolite transporters and their physiological functions in the inducible crassulacean acid metabolism plant *Mesembryanthemum crystallinum*. *Plant J*, 24 (3): 285–296
- He LH, He LJ, Liang H (2006). Comparisons of the chlorophyll fluorescence parameters in different *Ginkgo biloba* varieties. *J South China Agric Univ*, 27 (4): 43–46 (in Chinese with English abstract) [贺立红, 贺立静, 梁红(2006). 银杏不同品种叶绿素荧光参数的比较. *华南农业大学学报*, 27 (4): 43–46]
- He LQ (2014). A lecture hall in cultivation techniques of *Phalaenopsis*. http://news.china-flower.com/paper/papernewsinfo.asp?n_id=235716 (in Chinese) [何连球(2014). 蝴蝶兰种植技术大讲堂(上). http://news.china-flower.com/paper/papernewsinfo.asp?n_id=235716]
- Heraud P, Beardall J (2000). Changes in chlorophyll fluorescence during exposure of *Dunaliellatertiolectato* UV radiation indicate a dynamic interaction between damage and repair processes.

- Photosynth Res, 63 (2): 123–134
- Kramer DM, Johnson G, Kiirats O, Edwards GE (2004). New fluorescence parameters for the determination of Q_A redox state and excitation energy fluxes. *Photosynth Res*, 79 (2): 209–218
- Li X, Feng W, Zeng XC (2006). Advances in chlorophyll fluorescence analysis and its uses. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, (10): 2186–2196 (in Chinese with English abstract) [李晓, 冯伟, 曾晓春 (2006). 叶绿素荧光分析技术及应用进展. *西北植物学报*, (10): 2186–2196]
- Lin M, Hsu B (2004). Photosynthetic plasticity of *Phalaenopsis* in response to different light environments. *J Plant Physiol*, 161 (11): 1259–1268
- Morris DL (1948). Quantitative determination of carbohydrates with Dreywood's anthrone reagent. *Science*, 107 (107): 254–255
- Nobel PS (1991). Achievable productivities of certain CAM plants: basis for high values compared with C_3 and C_4 plants. *New Phytol*, 119 (2): 183–205
- Papageorgiou GC, Govindjee, Schreiber U (2004). Pulse-amplitude-modulation (PAM) fluorometry and saturation pulse method: an overview. In: Papageorgiou GC, Govindjee (eds). *Chlorophyll a Fluorescence*. Springer Netherlands, 279–319
- Paradiso R, De Pascale S (2014). Effects of plant size, temperature, and light intensity on flowering of *Phalaenopsis* hybrids in Mediterranean greenhouses. *Sci World J*, 2014: 1–9
- Paul MJ, Driscoll SP (1997). Sugar repression of photosynthesis: the role of carbohydrates in signalling nitrogen deficiency through source:sink imbalance. *Plant Cell Environ*, 20 (1): 110–116
- Pollet B, Steppe K, Dambre P, Van Labeke MC, Lemeur R (2010). Seasonal variation of photosynthesis and photosynthetic efficiency in *Phalaenopsis*. *Photosynthetica*, 48 (4): 580–588
- Roháček K (2002). Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. *Photosynthetica*, 40 (1): 13–29
- Roitsch T (1999). Source-sink regulation by sugar and stress. *Curr Opin Plant Biol*, 2 (3): 198–206
- Sun Y, Liang YZ, Chen JD, Ding Q, Xu WJ, Xu XD (2008). Relationships between ascorbic acid content and relative physiologic indices during senescence of cucumber leaves. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, (03): 512–516 (in Chinese with English abstract)
- [孙艳, 梁宇柱, 陈敬东, 丁勤, 徐伟君, 徐向东(2008). 黄瓜叶片衰老过程中抗坏血酸含量与生理指标关系的研究. *西北植物学报*, (03): 512–516]
- Wang XY (2016). *Phalaenopsis*: Due to the decrease of the grain yield with improvement of the opposite price, *Phalaenopsis* market has a good future in china. *China Flowers Hortice*, (01): 14–17 (in Chinese) [王新悦(2016). 蝴蝶兰: 量减价增行情看好. *中国花卉园艺*, (01): 14–17]
- Wang YT (2007). Potassium nutrition affects *Phalaenopsis* growth and flowering. *Hortscience*, 42 (7): 1563–1567
- Xu DQ (2009). Several problems in measurement and application of chlorophyll content. *Plant Physiol Commun*, (09): 896–898 (in Chinese with English abstract) [许大全(2009). 叶绿素含量的测定及其应用中的几个问题. *植物生理学通讯*, (09): 896–898]
- Xu SP, Zeng LT, Ye QS (2015). Effects of long-term elevated CO_2 on growth and flowering in *Phalaenopsis*. *Acta Horti Sin*, (08): 1599–1605 (in Chinese with English abstract) [许申平, 曾兰婷, 叶庆生(2015). 长期增施 CO_2 对蝴蝶兰生长与开花的影响. *园艺学报*, (08): 1599–1605]
- Yamazaki JY, Kamata K, Maruta E (2011). Seasonal changes in the excess energy dissipation from Photosystem II antennae in overwintering evergreen broad-leaved trees *Quercusmyrsinaefolia* and *Machilus thunbergii*. *J Photochem Photobiol B*, 104 (1-2): 348–356
- Zapata CDEE (2004). Partitioning and mobilization of starch and N reserves in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *J Plant Physiol*, 141 (9): 1031–1040
- Zheng R, Huang YH, Lian QX, Zheng QF, Zheng WP (2008). Compared on chlorophyll fluorescence characteristics of thirteen species of *Phyllostachys*. *Acta Agric Univ Jiangxi*, 30 (2): 263–267 (in Chinese with English abstract) [郑蓉, 黄耀华, 连巧霞, 郑清芳, 郑维鹏(2008). 刚竹属13个竹种叶绿素荧光特性比较. *江西农业大学学报*, 30 (2): 263–267]
- Zheng SX, Shangguang ZP (2006). Comparison of leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters in eight broad-leaved tree species. *Acta Ecol Sin*, 26 (4): 1080–1087 (in Chinese with English abstract) [郑淑霞, 上官周平(2006). 8种阔叶树种叶片气体交换特征和叶绿素荧光特性比较. *生态学报*, 26 (04): 1080–1087]

Research of photosynthetic physiological indices of different kinds of honeydew secretion in *Phalaenopsis* leaves

XU Shen-Ping¹, WANG Ying-Bo^{1,2}, ZHANG Yan¹, LI Xia³, CUI Bo^{1,*}

¹Institute of Bioengineering, Zhengzhou Normal University, Zhengzhou 450044, China; ²College of Life Sciences, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; ³Zhengzhou Haorizi Horticulture Co., Ltd, Zhengzhou 450064, China

Abstract: In order to probe the physiological mechanisms of honeydew secretion in *Phalaenopsis* leaves, *Phalaenopsis* 'Big Chili' accompanied by honeydew secretion and *Phalaenopsis* 'Double Dragon' without honeydew secretion were used to the study on the differences of photosynthesis physiological target in different age leaves (initiated leaves, functional leaf, old leaves) under the same conditions. The results showed that no significant differences were observed in the net CO₂ uptake rate among different leaves in *Phalaenopsis* 'Big Chili'. But the net CO₂ uptake rate were higher 64% in new leaves of *Phalaenopsis* 'Double Dragon' than that in *Phalaenopsis* 'Big Chili', which remarkably higher in initiated leaves than that in functional leaves and old leaves in *Phalaenopsis* 'Double Dragon'. There were significant differences in chlorophyll fluorescence parameters. In initiated leaves, the values of maximum fluorescence (F_m), maximum variable fluorescence (F_v), effective photochemical quantum yield of PSII (Yield) and photochemical quenching (q_p) were significantly higher in *Phalaenopsis* 'Double Dragon' than those in *Phalaenopsis* 'Big Chili', but non-photochemical quenching (NPQ) was less than that in *Phalaenopsis* 'Big Chili'. In functional and old leaves, the value of PS II potential activity (F_v/F_o) was higher in *Phalaenopsis* 'Double Dragon' than that in *Phalaenopsis* 'Big Chili', but q_p and apparent photosynthetic electron transport rates (ETR) were less than that in *Phalaenopsis* 'Big Chili'. Different from *Phalaenopsis* 'Double Dragon', the carbohydrate contents in three kinds of leaves of *Phalaenopsis* 'Big Chili' showed a trend of old leaves>functional leaves>initiated leaves, and the contents of carbohydrates and starch were higher 40% and 27% in *Phalaenopsis* 'Big Chili' respectively, than those in *Phalaenopsis* 'Double Dragon'. The above data indicated that the accumulation of carbohydrates in old leaves was the main reason for honeydew secretion in *Phalaenopsis* 'Big Chili'.

Key words: *Phalaenopsis*; honeydew; photosynthesis; carbohydrates

Received 2016-10-14 Accepted 2017-01-22

This work was supported by Science & Technology Project of Henan Province (Grant Nos. 162102110073, 152107000071) and Zhengzhou Key S&T Special Project (Grant No. 141PZDX038).

*Corresponding author (E-mail: laocuibob@163.com).