

碱性盐胁迫对葡萄杂交砧木荧光特性、叶黄素循环与抗氰呼吸的影响

郭淑华, 牛彦杰, 翟衡, 韩宁, 杜远鹏*

山东农业大学园艺科学与工程学院/作物生物学国家重点实验室, 山东泰安271018

摘要: 以葡萄‘左山一’(*Vitis amurensis*)与‘SO4’(*V. berlandieri* × *V. riparia*)杂交后代中耐碱性盐强的A15、A17与引进砧木中耐碱性盐能力较强的‘1103P’(*V. rupestris* × *V. berlandieri*)为试材, 探讨耐碱性盐能力较强的葡萄砧木的荧光特性及光保护机制。将组培苗炼苗7周后每天浇灌100 mmol·L⁻¹ NaHCO₃ (pH 8.62), 测定叶片电导率、丙二醛含量、叶绿素荧光、叶黄素循环及抗氰呼吸速率。NaHCO₃处理8 d后, 各株系的叶片电导率与丙二醛(MDA)含量均有大幅升高; A15、A17的最大光化学效率(F_v/F_m)、光化学淬灭系数(q_p)的降低幅度均小于‘1103P’, 且调节性能量耗散(Y_{NPQ})上升幅度较大, 说明NaHCO₃胁迫下A15、A17的电子传递活性与光抑制程度受影响较小。在NaHCO₃处理下A15、A17和‘1103P’的叶黄素循环($A+Z$)/($A+Z+I$)分别比对照提高46.3%、37.0%、28.0%, A15、A17的抗氰呼吸速率在NaHCO₃处理下分别比对照提高141.5%、95.8%, ‘1103P’则比对照提高63.0%。A15、A17通过依赖叶黄素循环的热耗散与增加抗氰呼吸速率来减轻光抑制以提高其耐碱性盐能力。

关键词: 葡萄; NaHCO₃胁迫; 光系统活性; 叶黄素循环; 抗氰呼吸

土壤盐渍化是制约农业发展、影响作物生长的重要环境问题(Yang等2011)。我国是盐碱大国, 盐碱土地面积约为3 600万hm² (王佳丽等2011), 占亚洲盐碱地总面积的1/3 (王春裕1997), 主要分布于北方干旱、半干旱和半湿润地区, 其中新疆盐碱地的面积约占当地总耕地面积的1/3 (杜远鹏等2015)。自然界的盐碱土壤成分很复杂, 大部分盐渍化土地的主要成分是NaCl、Na₂SO₄、NaHCO₃复合盐, 碱胁迫对植物造成的危害较大(Li等2010)。葡萄(*Vitis* spp.)是果树中耐盐碱性较强的树种(王海英等2000; 马凯等1997), 但美洲种葡萄(*V. labrusca*)砧木的耐盐碱性普遍比欧亚种(*V. vinifera*)差, 且目前大多研究集中于盐胁迫(周万海等2009; 秦红艳等2010; 樊秀彩等2007), 对碱胁迫的研究较少(Yang等2008)。

碱性盐胁迫会降低光合作用效率, 导致叶片吸收的光能大大超过光合作用消耗的光能, 进而引起光损伤(黄伟2012)。叶黄素循环在耗散过剩光能和保护光合机构上起到很大的作用(武海和许大全1993; 颜敏华等2009)。叶黄素类包括3种组分, 分别是紫黄质(violaxanthin, V)、花药黄质(antheraxanthin, A)和玉米黄质(zeaxanthin, Z) (董高峰等1999)。前人指出, 调节性能量耗散(quantum yield of regulated energy dissipation, Y_{NPQ})与高能态淬灭有关, 并参与了叶黄素循环的保护过程(Gilmore 1997), 即 Y_{NPQ} 在一定程度上可以反映叶黄素循环的情况。在高等植物中, 线粒体共有两条呼吸途径, 分

别是细胞色素途径和抗氰呼吸途径, 抗氰呼吸途径的存在使电子在线粒体电子传递链中绕过了除复合物I外另两个ATP形成位点, 直接将电子传递给分子氧, 从而使能量以热的形式释放掉(Vanlerberghe和McIntosh 1997; Millenaar和Lamber 2003)。前人研究表明, 光能够通过影响光受体的表达而直接影响线粒体的电子传递链(Liscum等2003; Escobar等2004), 说明植物的抗氰呼吸和光合作用存在一定的联系。

本试验前期鉴定了以葡萄品种‘左山一’为母本、‘SO4’为父本进行杂交初选出的抗根瘤蚜、抗寒群体中的F₁代株系的耐NaHCO₃能力, 以葡萄砧木‘1103P’为对照, 发现A15的耐碱性较强, A17的耐碱性中等, ‘1103P’的耐碱性较弱(论文已接收)。因此本实验对这三个耐碱能力不同的砧木进行碱性盐胁迫, 测定荧光响应、叶黄素循环与抗氰呼吸速率变化, 对揭示砧木的耐碱性盐机制提供参考。

材料与方法

1 试验材料与处理

试验材料为以‘左山一’(*Vitis amurensis* Rupr. cv.

收稿 2017-05-22 修定 2017-09-13

资助 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-29-zp-2)、山东省“双一流”建设奖补资金(SYL2017YSTD10)、国家自然科学基金(31501738)和长江学者和创新团队发展计划(IRT15R42)。

* 通讯作者(E-mail: duyuanpeng001@163.com)。

Zuoshan1, 山葡萄)为母本、‘SO4’ (*V. berlandieri* Planch. × *V. riparia* Michx., 冬葡萄×河岸葡萄)为父本杂交的两个子代株系(A15和A17), 砧木‘1103P’ (*V. rupestris* Scheele. × *V. berlandieri*, 沙地葡萄×冬葡萄)为参照。

组培苗炼苗两周之后挑选长势一致的植株定植于高10 cm、底部直径为7.5 cm的塑料盆中。在光照培养箱[光强 $300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、光照周期(14/10) h (昼/夜)、温度(23/20)°C (昼/夜)、相对湿度50%~60%]内定植5周后每天上午8:00浇灌 $100 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaHCO_3 溶液(pH 8.62), 浇到底部漏水为止, 对照浇灌等量清水, 每个处理8个重复, 共处理8 d。分别于处理后的第2、4、6、8天选功能叶(从上数第2片完全展开叶)的同一部位测定荧光参数。处理结束后, 取植株中间部位的功能叶片测定叶片电导率、丙二醛含量、叶片干鲜重、叶绿素含量、叶黄素循环及抗氰呼吸速率。

2 测定指标与方法

2.1 叶绿素荧光参数的测定

使用Dual-PAM 100叶绿素荧光仪(Walz, 德国)进行光系统I (photosystem I, PSI)反应中心色素(reaction center pigment of PSI, P700)的活体测定, 测定前需要对叶片进行15 min的暗适应。先测定初始荧光产量(F_0)与最大荧光产量(F_m), 之后测定P700中最大光氧化量子产量(P_m), 然后打开光化光, 光强度为 $400 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 待荧光信号达到稳态后(大约4~5 min)打开饱和脉冲光, 测定任意时间的实际荧光产量(F_t)、光下最大量子产量(P_m')和光适应下的最大荧光产量(F_m'), F_s 代表光适应条件下的叶绿素稳定荧光。根据以下公式进行各参数的计算: 光系统II (photosystem II, PSII)最大光化学效率(F_v/F_m)= $(F_m - F_0)/F_m$, PSII光化学量子产量(Y_{II})= $(F_m' - F_0)/F_m'$, 光下初始荧光(F_0')= $F_0/(F_v/F_m + F_0/F_m)$, 光化学淬灭系数(coefficient of photochemical quenching, q_p)= $(F_m' - F_s)/(F_m' - F_0')$, 调节性能量耗散(Y_{NPQ})= $F_s/F_m' - F_s/F_m$ 。

2.2 叶黄素循环的测定

利用高效液相色谱法测定叶黄素相关指标。色素提取在暗处进行: 称取0.5 g鲜叶剪碎放入研钵中, 加少许 CaCO_3 粉末、少量石英砂及5 mL无水丙酮, 研磨匀浆后离心(2 500×g) 10 min, 上清液用

FA 0.45 μm 的微孔滤膜过滤。色谱柱为Kromasil柱(5 μm , $\phi 4.6 \text{mm}\times 250 \text{mm}$), 流动相A液为乙腈:甲醇:Tris-HCl缓冲液(体积比72:8:3、浓度 $0.05 \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、pH 7.5), B液为甲醇:正己烷(体积比5:1), 经过超声波处理5 min, 流速 $1.5 \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 检测波长440 nm, 灵敏度0.6000 AUFS (absorbance unit full scale, 满刻度吸光度单位), 进样体积5 μL ; 梯度洗脱程序: A液洗脱7 min, 2.5 min的线性梯度洗脱, 然后B液洗脱至30 min。叶黄素循环组物质之间的转化按转化百分比表示为 $(A+Z)/(A+Z+V)$ (Robinson和Osmond 1994), 其中A为花药黄质含量, Z为玉米黄质含量, V为紫黄质含量。

2.3 抗氰呼吸速率的测定

根据孟祥龙等(2013)的方法, 利用Oxytherm液相氧电极(Hansatech, 英国)测定葡萄叶片的抗氰呼吸速率。在反应杯中加入2 mL磷酸缓冲液(pH 6.8), 将刚摘取的叶片用去离子水冲洗3遍并用滤纸吸干水分; 千分之一电子天平准确称取0.03 g放入反应杯中; 当耗氧速率达到稳定状态后, 根据5~15 min区间氧气浓度的下降斜率计算叶片总呼吸速率(R_T); R_T 测定完毕后, 重新在反应杯中加入1.4 mL磷酸缓冲液(pH 6.8)和0.6 mL浓度为 $200 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的水杨基氧肟酸(salicylhydroxamic acid, SHAM)溶液, 加入叶片, 测定叶片的耗氧速率(R_S), 抗氰呼吸速率为 $R_T - R_S$ 。

2.4 叶片电导率以及丙二醛与叶绿素含量的测定

叶片电导率、丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量与叶绿素含量测定方法参照赵世杰等(2002)。

2.5 叶片干鲜重的测定

处理结束后, 选取植株功能叶片(从上数第2片完全展开叶)和整株植株用蒸馏水冲洗干净并用滤纸吸干水分后, 测定叶片与植株的鲜重(fresh weight, FW); 之后将叶片与植株放入烘箱, 105°C杀青15 min, 之后80°C烘干至恒重, 称取叶片与植株的干重(dry weight, DW)。叶片与植株含水量的计算公式为: 含水量= $(FW - DW)/FW \times 100\%$ 。

3 数据处理

采用Microsoft Excel软件处理数据和制图, 采用DPS软件的最小显著差异法(least-significant difference, LSD)进行差异显著性检验。

实验结果

1 NaHCO_3 处理对各株系生长表型的影响

对试材进行 $100 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaHCO_3 胁迫处理8 d后, 观察各葡萄株系的表观症状, 结果发现A15、A17叶片表观受伤害程度低于‘1103P’。A15、A17

植株有少部分叶片边缘焦枯, ‘1103P’植株叶片大部分萎蔫干枯。

2 NaHCO_3 处理对各株系叶片电导率和丙二醛含量的影响

生理学上用电导率表示测定植物组织受伤害的程度。如图2-A所示, NaHCO_3 处理下各株系相



图1 NaHCO_3 处理对各株系表观影响

Fig.1 Phenotype of grape plants under NaHCO_3 stress

A、B、C、D、E、F分别代表A15对照、 NaHCO_3 处理A15、A17对照、 NaHCO_3 处理A17、‘1103P’对照、 NaHCO_3 处理‘1103P’。

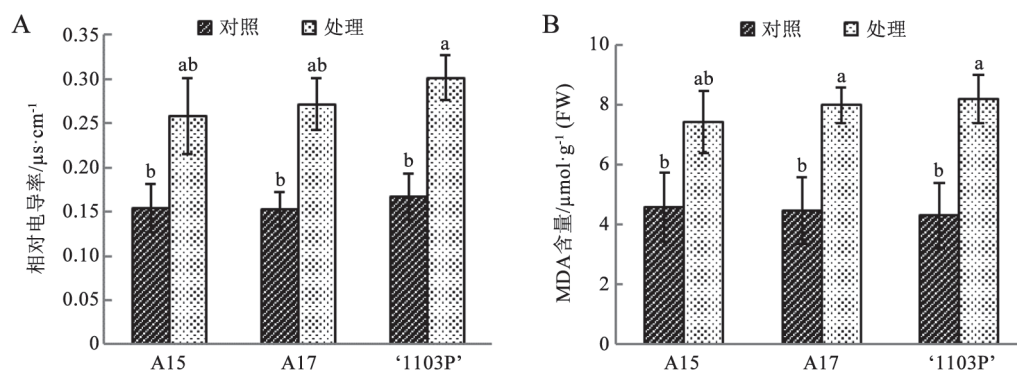


图2 NaHCO_3 处理对各株系叶片相对电导率(A)和MDA含量(B)的影响

Fig.2 Effect of NaHCO_3 on the relative electrical conductivity (A) and MDA content (B) in each strain leaf

不同柱形上用不同小写字母标识表示差异显著($P<0.05$), 图3、5、6同。

对电导率均升高, ‘1103P’升高幅度达显著水平; A15、A17、‘1103P’的相对电导率分别比对照提高67.7%、77.8%、80.3%。

MDA是膜脂过氧化的产物, 其含量与细胞膜系统的伤害程度密切相关(张恩平等2001); 它可以反映植物受胁迫的程度。如图2-B所示, NaHCO_3 处理下各株系MDA含量和对照相比均升高, ‘1103P’升高幅度最大; NaHCO_3 处理后A15、A17、‘1103P’的MDA含量分别比对照提高61.7%、79.4%、90.6%。

3 NaHCO_3 处理对各株系叶片含水量的影响

由葡萄叶片的干鲜重可计算叶片的含水量, 在正常生长条件下, 各株系的叶片含水量均在80%左右, NaHCO_3 处理8 d后各株系叶片与植株含水量均呈显著性降低(图3), 且以‘1103P’降幅较高, A15、A17和‘1103P’的叶片含水量和对照相比分别降低

7.39%、7.86%和8.26%; A15、A17和‘1103P’的植株含水量分别比对照降低8.13%、8.34%和9.77%。

4 NaHCO_3 处理对各株系叶片色素含量的影响

由表1可以看出, NaHCO_3 处理8 d后, 各株系的总叶绿素含量均呈下降趋势, A15、A17、‘1103P’的总叶绿素含量分别比对照下降3.6%、7.9%、18.2%; 各株系的叶绿素a含量与对照相比均降低, 叶绿素b含量也均呈下降趋势, 但与各自对照相比均没有显著差异; A15在 NaHCO_3 处理8 d后类胡萝卜素含量下降显著, 比对照降低20.3%, A17和‘1103P’下降不显著; ‘1103P’的叶绿素a/b比对照降低9.8%, A17与A15与对照没有显著差异。

5 NaHCO_3 处理对各株系荧光参数的影响

q_p 表示荧光淬灭中的光化学淬灭, 由图4-A可知, NaHCO_3 处理下各株系 q_p 呈下降趋势, 且随处理时间的增长, 各株系均明显降低。处理8 d后,

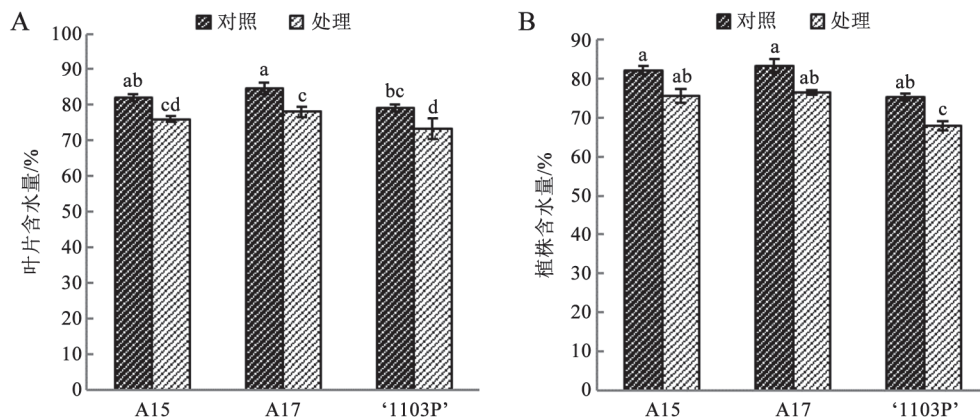


图3 NaHCO_3 处理对各株系叶片含水量(A)与植株含水量(B)的影响

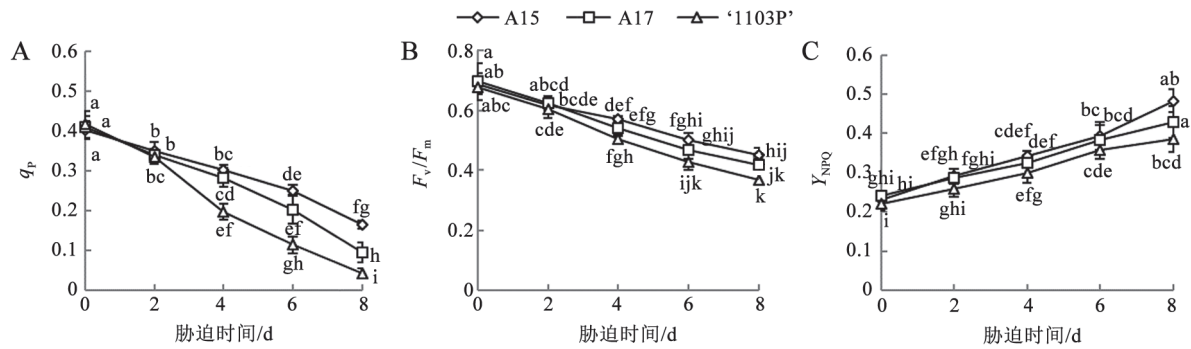
Fig.3 Effect of NaHCO_3 on water contents in leaf (A) and plant (B) of each strain

表1 NaHCO_3 处理对不同株系叶片叶绿素和类胡萝卜素的影响

Table 1 Effect of NaHCO_3 on contents of chlorophyll and carotenoid in each strain leaf

| 指标 | 条件 | A15 | A17 | ‘1103P’ |
|--|----|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 叶绿素a含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ | 对照 | 2.10±0.08 ^a | 1.98±0.19 ^{ab} | 1.27±0.13 ^c |
| | 处理 | 2.03±0.02 ^{ab} | 1.78±0.05 ^b | 1.01±0.04 ^{cd} |
| 叶绿素b含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ | 对照 | 0.62±0.04 ^a | 0.60±0.06 ^a | 0.29±0.04 ^b |
| | 处理 | 0.65±0.03 ^a | 0.57±0.05 ^a | 0.25±0.02 ^b |
| 类胡萝卜素含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ | 对照 | 0.59±0.01 ^a | 0.47±0.04 ^b | 0.31±0.02 ^c |
| | 处理 | 0.51±0.01 ^b | 0.46±0.05 ^b | 0.27±0.01 ^c |
| 叶绿素a/b | 对照 | 3.44±0.08 ^b | 3.34±0.13 ^b | 4.61±0.37 ^a |
| | 处理 | 3.13±0.10 ^b | 3.12±0.19 ^b | 4.16±0.31 ^{ab} |
| 总叶绿素含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ | 对照 | 3.31 | 3.05 | 1.87 |
| | 处理 | 3.19 | 2.81 | 1.53 |

同一指标的数据用不同小写字母标识表示差异显著($P<0.05$)。

图4 NaHCO₃处理对各株系 q_p (A)、 F_v/F_m (B)与 Y_{NPQ} (C)的影响Fig.4 Effect of NaHCO₃ on q_p (A), F_v/F_m (B) and Y_{NPQ} (C) in each strain不同数据点旁用小写字母标识表示差异显著($P < 0.05$)。

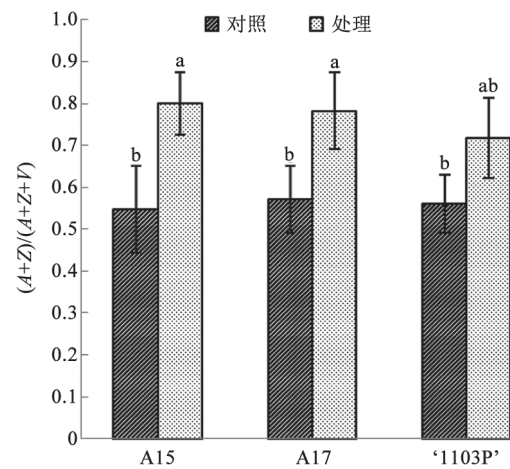
A15、A17、‘1103P’的 q_p 分别为0.17、0.10、0.04, 比对照分别降低58.8%、76.4%、89.6%。以上结果显示,耐碱性盐能力较强的株系A15、A17其 q_p 在NaHCO₃处理下降幅较小,表明其PSII的电子传递活性在碱性盐处理下受影响较小。

可变荧光(F_v)与最大荧光(F_m)的比值(F_v/F_m)可代表PSII光化学最大效率或PSII原初光能转化效率, F_v/F_m 被认为是反映光抑制程度的可靠指标(赵丽英等2005)。由图4-B可以看出,在NaHCO₃处理下各株系 F_v/F_m 呈下降趋势,且随处理时间的增长,各株系均明显降低。处理8 d后,A15、A17、‘1103P’的 F_v/F_m 值分别为0.45、0.42、0.37,比对照分别降低34.2%、39.9%、45.9%;其中耐碱性盐能力较强的株系A15、A17在NaHCO₃处理下其 F_v/F_m 降低幅度较小,表明其光抑制程度较小。

调节性能量耗散(Y_{NPQ})与高能态淬灭有关,是光保护的重要指标,由图4-C可以看出,在NaHCO₃处理下各株系 Y_{NPQ} 呈上升趋势,且随处理时间的增长,各株系均明显提高。处理8 d后,A15、A17、‘1103P’的 Y_{NPQ} 分别为0.48、0.43、0.39,比对照分别提高109.8%、78.6%、74.4%;其中耐碱性盐能力较强的株系A15、A17在NaHCO₃处理下其 Y_{NPQ} 增加较多,表明其热耗散能力较强。

6 NaHCO₃处理对叶黄素循环的影响

叶黄素循环是指叶黄素的三个组分(A、Z和V)依照光条件的改变而相互转化,A和Z均可起到热耗散的作用,而且依赖叶黄素循环的热耗散能力与A和Z的含量成正相关。由图5可以看出,在NaHCO₃处理下,各株系 $(A+Z)/(A+Z+V)$ 升高,且和

图5 NaHCO₃处理对各株系叶黄素循环的影响Fig.5 Effects of NaHCO₃ on xanthophyll cycle in each strain

对照相比差异明显,A15、A17、‘1103P’的 $(A+Z)/(A+Z+V)$ 分别比对照提高46.3%、37.0%、28.0%;说明碱性盐胁迫使V向A和Z转化,且耐碱性盐能力较强的株系A15、A17的 $(A+Z)/(A+Z+V)$ 和对照相比增加较多,达显著水平。

7 NaHCO₃处理对抗氰呼吸的影响

植物的抗氰呼吸途径可以帮助叶绿体消耗光合作用中产生的过多的还原力,从而避免叶绿体处于过渡还原的状态(Svensson和Rasmusson 2001; Padmasree等2002)。由图6可见,在正常生长条件下,各葡萄株系的抗氰呼吸速率较低,NaHCO₃处理诱导了抗氰呼吸速率的上升。在NaHCO₃处理下各株系抗氰呼吸速率均明显提高,但幅度不同,胁迫后A15、A17、‘1103P’的抗氰呼吸速率分别为61.13、50.07、41.02 nmol (O₂)·mL⁻¹·min⁻¹,分别

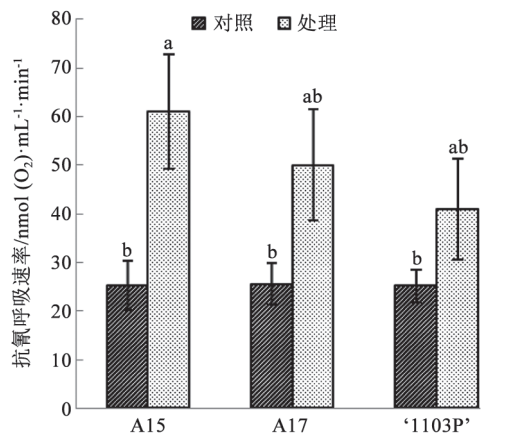


图6 NaHCO₃处理对各株系抗氰呼吸速率的影响

Fig.6 Effect of NaHCO₃ on cyanide-resistant respiration rate in each strain

比对照提高了141.5%、95.8%、63.0%。由此可以看出,在NaHCO₃处理下,耐碱性盐能力较强的株系A15、A17其抗氰呼吸速率提高幅度大于敏感性品种‘1103P’,其通过提高耗散过剩光能的能力抵御碱性盐胁迫。

讨 论

NaHCO₃等碱性盐胁迫会抑制植物的生长发育,短时间内就能明显抑制敏感植物的生长,长时间则会导致植物的死亡(武维华2008)。碱性盐胁迫下,植株在受到Na⁺毒害作用的同时,还受到高pH的危害,不仅会破坏细胞中的离子稳态(周广生等2003),还会破坏核酸、蛋白质等大分子物质,从而破坏植物的生物膜系统,破坏其选择透性。本实验发现,NaHCO₃处理明显增加了叶片电导率和MDA含量,MDA含量的增加导致细胞膜的完整性受到影响,进而导致葡萄叶片边缘干枯,植株生长受抑制,表现为葡萄的叶片含水量与植株含水量明显降低,原因可能在于碱胁迫造成土壤水势降低抑制了根系吸水能力。Hamada和El-Enany (1994)研究表明当植物受到碱胁迫时,叶片中的叶绿素含量会降低。叶绿素a/b可以反映类囊体堆叠的程度,比值越大,类囊体堆叠的程度越高,说明植物的抗逆性越强(杜军华等2001;高奔等2010),本试验中A15与A17的电导率和MDA下降量较低,叶片及植株含水量降低幅度低于‘1103P’,叶片表现伤害程度轻于‘1103P’,叶绿素a/b下降不明显,而‘1103P’

降幅较大,进一步证明碱性盐对葡萄叶片膜系统有伤害作用,且A15与A17膜系统受破坏程度低,叶绿素含量所受影响小于‘1103P’。

当植物吸收的光能超过所能利用的光能时,过剩光能便会导致光合机构的光抑制,甚至光破坏(Reinbothe和Reinbothe 1996)。q_p反映的是PSII天然色素吸收的光能用于光化学电子传递的份额,要保持较高的光化学淬灭,就要使PSII反应中心处于“开放”状态,所以光化学淬灭在一定程度上可以反映PSII反应中心开放程度,q_p越大表示PSII的电子传递活性越大(张守仁1999;赵会杰等2000)。当植株受到伤害后,接受的光强过剩,这时候植物便会通过一系列反应来调节光能的吸收与传递,本试验中葡萄叶片的q_p与F_v/F_m随碱性盐胁迫时间的增长而下降,说明各株系在NaHCO₃处理下PSII活性与电子传递链活性下降。‘1103P’的F_v/F_m与q_p的值低于A15、A17,说明耐碱性盐能力强的植株在NaHCO₃胁迫下其叶片荧光受伤害程度与电子链传递活性受损伤程度较小。

在光保护机制方面,调节性能量耗散(Y_{NPQ})与高能态淬灭有关,启动调节性能量耗散来降低吸收光能的转换效率从而阻止过多的光能传递到PSII,是光保护的重要指标。本试验中,碱胁迫处理后A15与A17的Y_{NPQ}明显高于‘1103P’,说明A15、A17与敏感性品种‘1103P’相比可以更好地启动调节性能量耗散来保护PSII。Y_{NPQ}不仅与高能态淬灭有关,还参与叶黄素循环的保护过程(Gilmore 1997)。叶黄素循环是一种非常重要的耗散机制,在耗散过剩光能和保护光合机构上起到很大的作用(武海和许大全1993;颀敏华等2009)。植物光合器官在强光照射下,叶黄素各成分会发生V→A→Z的转化,前人研究表明,A和Z的含量与能量耗散呈正相关(Yamamoto和Sato 1998)。逆境下热耗散的增加可降低PSII和电子传递链的过还原,防止PSII光氧化破坏(Hunter等1993)。本研究结果表明,各株系在NaHCO₃处理下(A+Z)/(A+Z+V)升高,且耐碱性盐能力较强的株系A15、A17的(A+Z)/(A+Z+V)升高幅度大于‘1103P’,表明耐碱性盐能力强的株系A15、A17与敏感性品种‘1103P’相比可以更有效地通过增加叶黄素循环来帮助消耗过剩光能,从而更好地保护PSII免受伤

害。叶黄素循环主要依赖线性电子传递, 线性电子传递是把水光解为ATP和NADPH, 为暗反应提供同化力, 但是如果同化力不能被暗反应完全消耗掉, 就会引起同化力积累(姜闯道等2000), 前人发现叶绿体中过剩的NADPH可以被线粒体中的抗氰呼吸途径氧化, 因而推测逆境条件下线粒体的抗氰呼吸途径可以快速氧化叶绿体中过剩的NADPH, 以防止传递链的过度还原, 从而缓解光抑制(张立涛2011)。当光能过剩导致光抑制甚至光破坏时, 抗氰呼吸途径便会起到防御作用来避免植株受到光破坏(孟祥龙等2012)。本研究中, 各株系在碱性盐胁迫下抗氰呼吸速率均增加, 说明抗氰呼吸在缓解碱胁迫中发挥作用, 其中耐碱性盐能力较强的株系A15与A17在NaHCO₃处理下其抗氰呼吸速率高于敏感性品种‘1103P’, 表明耐碱性盐能力强的株系A15、A17与‘1103P’相比可以大幅度提高抗氰呼吸速率来帮助消耗过多还原力, 从而缓解光抑制或光破坏。

参考文献

- Dong GF, Chen YZ, Jiang YM (1999). Plant xanthophyll cycle and radiationless energy dissipation. *Plant Physiol Commun*, 35 (2): 141–144 (in Chinese with English abstract) [董高峰, 陈怡竹, 蒋跃明(1999). 植物叶黄素循环与非辐射能量耗散. *植物生理学通讯*, 35 (2): 141–144]
- Du J, Wu X, Gao R, Wu J (2001). The effect of salt stress on the chlorophyll a/b ratio in the leaf of broad beans and *Koeleria cristata*. *Qinghai Sci Technol*, (2): 32–33 (in Chinese) [杜军华, 吴学明, 高榕, 吴健(2001). 盐胁迫对蚕豆、落草叶片叶绿素a/b比的影响. *青海科技*, (2): 32–33]
- Du YP, Jin XJ, Guo SH, Fu QQ, Zhai H (2015). Effects of different salt and alkali stresses on ion distribution in Red globe/Beta grapevines. *Chin J Appl Ecol*, 26 (6): 1801–1806 (in Chinese with English abstract) [杜远鹏, 晋学娟, 郭淑华, 付晴晴, 翟衡(2015). 不同盐碱类型胁迫对红地球/贝达葡萄植株离子分布的影响. *应用生态学报*, 26 (6): 1801–1806]
- Escobar MA, Franklin KA, Svensson ÅS, Salter MG, Whitlam GC, Rasmusson AG (2004). Light regulation of the *Arabidopsis* respiratory chain. Multiple discrete photo-receptor responses contribute to induction of type II NAD(P)H dehydrogenase genes. *Plant Physiol*, 136: 2710–2721
- Fan XC, Zhang YB, Liu CH, Pan X, Guo JN, Li M, Wang J (2007). Effects of NaCl stress on the contents of organic osmolytes and lipid peroxidation in grape leaves. *J Fruit Sci*, 24 (6): 765–769 (in Chinese with English abstract) [樊秀彩, 张亚冰, 刘崇怀, 潘兴, 郭景南, 李民, 王姣(2007). NaCl胁迫对葡萄幼苗叶片有机渗透调节物质和膜脂过氧化的影响. *果树学报*, 24 (6): 765–769]
- Gao B, Song J, Liu JP, Sui N, Fan H, Wang BS (2010). Effects of salt stress on photosynthesis and ion accumulation patterns of *Suaeda salsa* under different habitats. *Chin J Plant Ecol*, 34 (6): 671–677 (in Chinese with English abstract) [高奔, 宋杰, 刘金萍, 隋娜, 范海, 王宝山(2010). 盐胁迫对不同生境盐地碱蓬光合及离子积累的影响. *植物生态学报*, 34 (6): 671–677]
- Gilmore AM (1997). Mechanistic aspects of xanthophyll cycle-dependent photoprotection in higher plant chloroplasts and leaves. *Physiol Plant*, 99: 197–209
- Hamada AM, El-Enany AE (1994). Effect of NaCl salinity on growth, pigment and mineral element contents, and gas exchange of broad bean and pea plants. *Biol Plant*, 36 (1): 75–81
- Huang W (2012). The significant role of cyclic electron flow in plants' adaptation to environmental stresses (PhD thesis). Hefei: University of Science and Technology of China (in Chinese with English abstract) [黄伟(2012). 环式电子传递在植物抗环境胁迫过程中的重要作用(博士学位论文). 合肥: 中国科学技术大学]
- Hunter NP, Öquist G, Hurry VM, Krol M, Falk S, Griffith M (1993). Photosynthesis, photoinhibition and low temperature acclimation in cold tolerant plants. *Photosynth Res*, 37: 19–39
- Jiang CD, Gao HY, Zou Q (2000). Mechanism of protection of pH gradient in thylakoid membrane for photoinhibition. *Plant Physiol Commun*, 36 (2): 97–102 (in Chinese with English abstract) [姜闯道, 高辉远, 邹琦(2000). 类囊体膜pH梯度在光抑制中的保护机理. *植物生理学通讯*, 36 (2): 97–102]
- Jie MH, Zhang JS, Yu JH, Jie JM (2009). The role of D1 protein turnover and xanthophylls cycle in protecting photosynthetic apparatus of broccoli leaves against photodamage. *Sci Agr Sin*, 42 (5): 1582–1589 (in Chinese with English abstract) [颀敏华, 张继澍, 郁继华, 颀建明(2009). D1蛋白周转和叶黄素循环在青花菜叶片强光破坏防御中的作用. *中国农业科学*, 42 (5): 1582–1589]
- Li RL, Shi FC, Fukuda K (2010). Interactive effects of various salt and alkali stresses on growth, organic solutes, and cation accumulation in a halophyte *Spartina alterniflora* (Poaceae). *Environ Exp Bot*, 68: 66–74
- Liscum E, Hodgson DW, Campbell TJ (2003). Blue light signaling through the cryptochromes and phototropins. So that's what the blues is all about. *Plant Physiol*, 133: 1429–1436
- Ma K, Wang L, Wang Y, Jiang W, Gu P (1997). Study on the symptoms of salt-injury and the tolerance of fruit trees. *J Fruit Sci*, 14 (1): 1–5 (in Chinese with English abstract) [马凯, 汪良驹, 王业遴, 姜卫兵, 顾平(1997). 十八种果树盐害症状与耐盐性研究成果. *果树科学*, 14 (1): 1–5]
- Meng XL, Zhang LT, Zhang ZS, Gao HY, Meng QW (2012). Role of mitochondrial alternative oxidase (AOX) pathway in photoprotection in *Rumex* K-1 leaves. *Chin J Appl Ecol*, 23 (7): 1803–1808 (in Chinese with English abstract) [孟祥龙, 张立涛, 张子山, 高辉远, 孟庆伟(2012). 杂交酸模叶片线粒体交替氧化酶呼吸途径在光破坏防御中的作用. *应用生态学报*, 23 (7): 1803–1808]
- Meng XL, Zhang ZS, Gao HY, Yang C, Meng QW (2013). Temperature rise enhances photo rotection in cucumber leaves via mitochondrial alternative oxidase (AOX) pathway. *Plant Physiol J*, 49 (1): 63–69 (in Chinese with English abstract) [孟祥龙, 张子山, 高辉远, 杨程, 孟庆伟(2013). 温度上升提高了黄瓜叶片线

- 粒体交替氧化酶呼吸途径对光破坏防御作用的贡献. 植物生理学报, 49 (1): 63–69]
- Millenaar FF, Lambers H (2003). The alternative oxidase: *in vivo* regulation and function. *Plant Biol*, 5: 2–15
- Padmasree K, Padmavathi L, Raghavendra AS (2002). Essentiality of mitochondrial oxidative metabolism for photosynthesis: optimization of carbon assimilation and protection against photoinhibition. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 37 (2): 71–119
- Qin H, Shen Y, Ai J, Li C, Wang Z, Yang Y, Fan S (2010). Effects of salt stress on chlorophyll fluorescence parameters of leaf in different grape varieties. *Sino-Overseas Grapevine Wine*, (5): 35–38 (in Chinese with English abstract) [秦红艳, 沈育杰, 艾军, 李昌禹, 王振兴, 杨义明, 范书田(2010). 盐胁迫对不同葡萄品种叶片中叶绿素荧光参数的影响. 中外葡萄与葡萄酒, (5): 35–38]
- Reinbothe S, Reinbothe C (1996). The regulating of enzymes involved in chlorophyll biosynthesis. *Eur J Biochem*, 237 (2): 323–343
- Robinson SA, Osmond CB (1994). Internal gradients of chlorophyll and carotenoid pigments in relation to photoprotection in thick leaves of plants with crassulacean acid metabolism. *Aust J Plant Physiol*, 21 (4): 497–506
- Svensson ÅS, Rasmusson AG (2001). Light-dependent gene expression for proteins in the respiratory chain of potato leaves. *Plant J*, 28 (1): 73–82
- Vanlerberghe GC, McIntosh L (1997). Alternative oxidase: from gene to function. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 48: 703–734
- Wang C (1997). Discussion on ecological control of soil salinization. *Chin J Ecol*, 16 (6): 67–71 (in Chinese with English abstract) [王春裕(1997). 谄议土壤盐渍化的生态防治. 生态学杂志, 16 (6): 67–71]
- Wang HY, Sun JS, Wang XJ, Li YH, Liu DY (2000). The recent study progress on salt tolerance of fruit trees. *J Agr Univ Hebei*, 23 (2): 54–58 (in Chinese with English abstract) [王海英, 孙建设, 王旭静, 李艳华, 刘冬云(2000). 果树耐盐性研究进展. 河北农业大学学报, 23 (2): 54–58]
- Wang J, Huang X, Zhong T, Chen Z (2011). Review on sustainable utilization of salt-affected land. *Acta Geogr Sin*, 66 (5): 673–684 (in Chinese with English abstract) [王佳丽, 黄贤金, 钟太洋, 陈志刚(2011). 盐碱地可持续利用研究综述. 地理学报, 66 (5): 673–684]
- Wu H, Xu DQ (1993). Role of the xanthophyll cycle dependent radiationless energy dissipation in protection against photoinhibitory damage in sweet viburnum (*Viburnum odoratissimum*). *Plant Physiol J*, 19 (2): 181–187 (in Chinese with English abstract) [武海, 许大全(1993). 依赖叶黄素循环的非辐射能量耗散在防御珊瑚树叶片光抑制破坏中的作用. 植物生理学报, 19 (2): 181–187]
- Wu W (2008). *Plant Physiology*. Beijing: Science Press (in Chinese) [武维华(2008). 植物生理学. 北京: 科学出版社]
- Yamamoto Y, Satoh K (1998). Competitive inhibition analysis of the enzyme-substrate interaction in the carboxy-terminal processing of the precursor D1 protein of photosystem II reaction center using substituted oligopeptides. *FEBS Lett*, 430: 261–265
- Yang C, Shi D, Wang D (2008). Comparative effects of salt and alkaline stresses on growth, osmotic adjustment and ionic balance of an alkali-resistant halophyte *Suaeda glauca* (Bge.). *Plant Growth Regul*, 56: 179–190
- Yang JY, Zheng W, Tian Y, Wu Y, Zhou DW (2011). Effects of various mixed salt-alkaline stresses on growth, photosynthesis, and photosynthetic pigment concentrations of *Medicago ruthenium* seedlings. *Photosynthetica*, 49 (2): 275–284
- Zhang EP, Zhang SH, Si LT, Pang JA, Ma DH (2001). Effects of NaCl stress on the membrane lipid peroxidation in cotyledon of cucumber seedlings. *J Shenyang Agr Univ*, 32 (6): 446–448 (in Chinese with English abstract) [张恩平, 张淑红, 司龙亭, 庞金安, 马德华(2001). NaCl胁迫对黄瓜幼苗子叶膜脂过氧化的影响. 沈阳农业大学学报, 32 (6): 446–448]
- Zhang LT (2011). Photo protection mediated by mitochondrial respiratory electron transport and its regulation mechanism in *Rumex K-1* leaves (PhD thesis). Taian, Shandong: Shandong Agricultural University (in Chinese with English abstract) [张立涛(2011). 杂交酸模(*Rumex K-1*)叶片中线粒体呼吸电子传递介导的光破坏防御及其调控机制(博士论文). 山东泰安: 山东农业大学]
- Zhang SR (1999). A discussion on chlorophyll fluorescence kinetics parameters and their significance. *Chin Bull Bot*, 16 (4): 444–448 (in Chinese with English abstract) [张守仁(1999). 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论. 植物学通报, 16 (4): 444–448]
- Zhao HJ, Zou Q, Yu ZW (2000). Chlorophyll fluorescence analysis technique and its application to photosynthesis of plant. *J Henan Agr Univ*, 34 (3): 248–251 (in Chinese with English abstract) [赵会杰, 邹琦, 于振文(2000). 叶绿素荧光分析技术及其在植物光合机理研究中的应用. 河南农业大学学报, 34 (3): 248–251]
- Zhao L, Deng X, Shan L (2005). Effects of osmotic stress on chlorophyll fluorescence parameters of wheat seedling. *Chin J Appl Ecol*, 16 (7): 1261–1264 (in Chinese with English abstract) [赵丽英, 邓西平, 山仑(2005). 渗透胁迫对小麦幼苗叶绿素荧光参数的影响. 应用生态学报, 16 (7): 1261–1264]
- Zhao S, Shi G, Dong X (2002). *Guidance for Experiments in Plant Physiology*. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press (in Chinese) [赵世杰, 史国安, 董新纯(2002). 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业科学技术出版社]
- Zhou GS, Mei FZ, Zhou ZQ, Zhu XT (2003). Comprehensive evaluation and forecast on physiological indices of waterlogging resistance of different wheat varieties. *Sci Agr Sin*, 36 (11): 1378–1382 (in Chinese with English abstract) [周广生, 梅方竹, 周竹青, 朱旭彤(2003). 小麦不同品种耐湿性生理指标综合评价及其预测. 中国农业科学, 36 (11): 1378–1382]
- Zhou WH, Shi XX, Cao ZY (2009). Effect of salt stress on characteristic of growth in seedling of different grape rootstocks. *J Gansu Agr Univ*, 44 (2): 60–63 (in Chinese with English abstract) [周万海, 师希雄, 曹孜义(2009). 盐胁迫对不同葡萄砧木苗期生长特性的影响. 甘肃农业大学学报, 44 (2): 60–63]

Effect of alkaline salt stress on fluorescence characteristics, xanthophyll cycle and cyanide-resistant respiration of grape hybrid rootstocks

GUO Shu-Hua, NIU Yan-Jie, ZHAI Heng, HAN Ning, DU Yuan-Peng*

College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University / State Key Laboratory of Crop Biology, Taian, Shandong 271018, China

Abstract: A15 and A17 [*Vitis amurensis* × ‘SO4’ (*V. berlandieri* × *V. riparia*)] with strong alkaline salt resistance and rootstock ‘1103P’ (*V. rupestris* × *V. berlandieri*) with strong alkali resistance in introduced rootstocks were used as materials to study the fluorescence characteristics and photoprotective mechanism under alkaline salt stress. The tissue culture seedlings were irrigated with 100 mmol·L⁻¹ NaHCO₃ (pH 8.62) every morning after 7 weeks of acclimatization. Leaf relative electrical conductivity, MDA content, chlorophyll fluorescence, xanthophyll cycle, cyanide-resistant respiration rate were determined. After 8 days of NaHCO₃ treatment, leaf relative electrical conductivity and MDA content of each strain increased significantly. The decrease of F_v/F_m and q_p in A15 and A17 were less than that in ‘1103P’, and the increase of Y_{NPQ} in A15 and A17 were more than that in ‘1103P’, indicating the electron transport activities and the degrees of photoinhibition of A15 and A17 were less affected under NaHCO₃ treatment. $(A+Z)/(A+Z+V)$ of A15, A17 and ‘1103P’ were increased by 46.3%, 37.0% and 28.0%, respectively, under NaHCO₃ treatment. The cyanide-resistant respiration rates of A15 and A17 were increased by 141.5% and 95.8%, respectively, under NaHCO₃ stress. ‘1103P’ was increased by 63.0% compared to the control. The strong alkali resistance of A15 and A17 relies on the reduction of photoinhibition caused by the increase of heat dissipation of xanthophyll cycle and the cyanide-resistant respiration rate.

Key words: grape; NaHCO₃ stress; photosystem activity; xanthophyll cycle; cyanide-resistant respiration

Received 2017-05-22 Accepted 2017-09-13

This work was supported by China Agriculture Research System (Grant No. CARS-29-zp-2), Funds of Shandong “Double Tops” Program (Grant No. SYL2017YSTD10), National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31501738), and the Changjiang Scholars and Innovative Research Team in University Project (Grant No. IRT15R42).

*Corresponding author (E-mail: duyuanpeng001@163.com).