植物学通报 2000，17（4）：360～365
Chinese Bulletin of Botany

NaCl 对小麦光合功能的伤害主要是由离子效应造成的①

朱新广 张其德② 匡廷云

（中国科学院植物所光合作用基础研究开放实验室 北京 100093）

摘要 采用荧光动力学的方法来区分盐胁迫中的渗透因素和离子因素。用五种等渗 Hogland 培养液（分别含（NaCl，KCl，$NaNO_3$，KNO_3 和 PEG）对冬小麦处理两星期。结果，与对照相比，NaCl 处理引起 PSII 受体侧电子库（CA/Fo）变小，PSII 活性（Fv/Fo）、原初光能转化效率（Fv/Fm）、量子产量（Yield）与荧光化学猝灭系数（qP）下降，但使 Q_B-非还原性 PSII 反应中心含量增加。然而，等渗的 PEG 处理并不产生类似的伤害。这表明渗透因素不是盐胁迫对光合作用造成伤害的主要原因。同时，KNO_3 处理对光合作用不产生伤害。由于 NaCl 和 $NaNO_3$ 处理均造成受体侧电子库变小，PSII 活性和原初光能转化效率下降，并使 Q_B-非还原性 PSII 反应中心增加，而等渗的 PEG 和 KCl 处理并不产生类似的伤害，这暗示 Na^+ 可能是盐胁迫影响光合作用的主要毒害离子。

关键词 NaCl 胁迫，离子效应，PSII 原初光化学反应，Fv/Fm，Fv/Fo，Q_B-非还原性 PSII 反应中心

Damage to Photosynthetic Functions of Wheat by NaCl Results Mainly from Its Ionic Effect

ZHU Xin-Guang ZHANG Qi-De KUANG Ting-Yun

（*Laboratary of Photosynthesis Basic Research*, *Institute of Botany*, *The Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100093）

Abstract Means of the fluorescence induction kinetics were used to distinguish the osmotic factor and the ionic factor during NaCl stress. NaCl, KCl, $NaNO_3$, KNO_3, PEG solution of the same osmotic potential were used to treat the winter wheat cultured in Hogland solution for two weeks. The results showed that compared with control, the leaves from the NaCl treatment showed apparent decline in the size of acceptor side electron pool of PSII, PSII activity, the efficiency of primary conversion of light energy, quantum yield and qP; at the same time, NaCl treatment could give rise to great increase in the content of the Q_B-nonreducing reaction center, while the PEG treatment did not cause such changes. This experiment suggested that the osmotic factor might not be a major cause of NaCl stress to harm photosynthesis. In our experiment it was also shown that KNO_3 treatment did not cause obvious damage on photosynthetic properties while NaCl and $NaNO_3$ treatments cause great decline in Fv/Fm, Fv/Fo, the size of acceptor side electron pool and obvious increase in the content of Q_B-nonreducing reaction center. However, PEG and KCl treatment did not caused such changes. These results suggested that Na^+ might be the major toxic ion to harm photosynthesis under salinity

① 本工作为国家重点基础研究发展规划项目（G1998010100）和中科院特别支持项目（KZ95T－02）及光合作用基础研究开放实验室创新资金资助。

② 通讯联系人
作者简介：朱新广，1996 年毕业于山东师范大学，1996 年 9 月～1999 年 7 月在中国科学院植物研究所光合作用研究中心攻读硕士学位。1998 年 8 月赴美国攻读博士学位。张其德，中国科学院植物研究所研究员，博士生导师。现主持国家重点基础研究发展规划项目“光合作用高效光能转化机理及其在农业中的应用”下属的一项三级课题，以及中国科学院特别支持项目中的一项子课题。

收稿日期：1999-08-22 接受日期：1999-09-13 责任编辑：王春茂

stress.

Key words　NaCl stress, Lonic effect, PSII primary photochemical reaction, Fv/Fm, Fv/Fo, Q_B-nonreducing PSII reaction center

盐胁迫对植物光合作用有很大的伤害作用。盐胁迫可以提高叶绿素酶的活性，促进叶绿素 b 的分解(Carter 等，1993)，影响藻类 PSII 和 PSI 的含量(Jeanjean 等，1993)，影响类囊体膜的组成(刁丰秋等，1997)，降低类囊体膜垛叠能力(Al-Hasan 等，1987；Liliana 等，1993)等。然而，盐胁迫对光合作用造成伤害的具体途径至今尚未达到统一认识。一种观点认为盐胁迫主要是由于 Na^+ 和 Cl^- 离子胁迫所致。盐胁迫下，叶片中 Na^+ 和 Cl^- 浓度升高，叶肉细胞通过液泡离子区域化作用而使离子积累在液泡中(Walker 等，1993)；在盐敏感植物中，液泡的离子区域化能力比耐盐植物低，叶绿体中过量积累 Na^+ 和 Cl^- 会引起 PSII 的功能紊乱(Marrilyn 和 Jan，1986)。另一种观点认为，盐胁迫中渗透因素起了重要作用。盐胁迫下，叶绿体中大量合成和积累对光合酶系统无毒害的相容性溶质来维持与液泡之间的渗透势平衡，从而避免叶绿体脱水(Demmig 和 Winter，1986；Robison 和 Graham，1986)。Hayashi 等(1997)将合成甘氨酸甜菜碱的酶之一，胆碱氧化酶的基因(Cod A)转移至拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)，使它积累甘氨酸甜菜碱，发现拟南芥耐盐性增强。这暗示盐胁迫中渗透因素起重要作用。还有研究者认为盐胁迫是个两相过程，短期胁迫主要是非 NaCl 特异性的渗透胁迫，长期胁迫则是 NaCl 特异性离子伤害(Muns，1993)。由此可见，盐胁迫影响光合作用的具体途径尚需进一步研究。

目前，关于盐胁迫影响光合作用的研究大多采取追踪研究的方法，即：首先对植物进行盐胁迫，然后，追踪观察植物在整体、器官、组织、细胞、叶绿体及色素蛋白复合体水平上作出的响应，根据植物对盐胁迫作出的响应的先后顺序，从而探究植物受盐胁迫的机理。然而这种实验方法难于区分盐胁迫中的两种胁迫因素，即 Na^+ 和 Cl^- 引起的离子胁迫和 NaCl 引起的渗透胁迫。本研究用等渗的 NaCl、$NaNO_3$、KCl、KNO_3 和 PEG 分别处理冬小麦两星期，比较它们对 PSII 原初反应、光合电子传递链(质醌库大小、Q_A 到 Q_B 的电子传递、电子传递的相对速度)、光合碳固定的影响。PEG 是非离子渗透剂，PEG 处理代表渗透因素对光合作用造成的影响，KNO_3、$NaNO_3$ 和 KCl 处理用于进一步区分 NaCl 是否对光合作用造成伤害的毒害离子。

1　材料和方法

1.1　材料

冬小麦(*Triticum aestivum* L.)京 411 种子经催芽萌发后，置于人工培养箱中，光照强度 400 μmol·quanta·m^{-2}·s^{-1}，温度为 20℃，用 Hogland 培养液培养至一叶一心时，分别用含 300 mmol/L NaCl，$NaNO_3$，KCl，KNO_3 和 36.8 mmol/L PEG-6000(后面 4 种溶液与 300 mmol/L 的 NaCl 溶液等渗)的 Hogland 培养两周后，取小麦叶片作材料。

1.2　CA/Fo 和 Q_B-非还原性反应中心含量测量

用我所和北京林业大学等单位合作研制的程控非调制式 PEM-101 荧光计进行测定。叶片经暗适应 30 min，用测量光强是 50 μmol·quanta·m^{-2}·s^{-1} 和 400 μmol·quanta·m^{-2}·s^{-1} 分别测定 Fvi 及 Fm(= Fo + Fv)。激发光源为 6 只超高亮度发光二极管，中心波长为 660 ±

20 nm,触发信号由微机发出经 A/D 板上的 I/O 电路驱动 LED 发光,开始样品激发和采样。荧光通过 710 nm 的短截止型滤光片,信号用 PIN-光电二极管和以高精密 FET 为输入端的线性运算放大器组成的高灵敏度光电转换电流放大器放大,传给主放大器,信号传给 12 Bit A/D 板,后传给 IBM 兼容型微机,进行分析和计算。Fo 和 Fi 的计算采取曲线最小二乘法以及快速多点数据平均等计算方式。

Q_B-非还原性反应中心含量 = Fvi/Fv

1.3 荧光动力学测量及猝灭分析

叶片经暗适应 30 min 后,用便携式叶绿素荧光计 PAM-2000 和数据采集软件 DA-2000 进行测量。叶片与光导纤维之间距 1 cm,测量光光强 2 μmol·quanta·m^{-2}·s^{-1},光化光强为 400 μmol·quanta·m^{-2}·s^{-1}。测量时,首先用测量光照射测量 Fo,而后饱和脉冲光照射 0.8 秒,测量 Fm,饱和脉冲光结束后,将测量光和光化光同时打开,即时记录 Ft,照射 13.2 秒钟后,照射饱和脉冲光 0.8 秒,测量 Fm',关闭光化光,同时打开远红光,照射 5.5 秒钟,测量 Fo',红外光结束 0.5 秒后,重新打开光化光,开始新的一个循环的测量。各种荧光动力学参数及猝灭系数的计算:

1) qP = (Fm' – Ft)/(Fm' – Fo') 2) Fv:m = (Fm – Fo):Fm

3) Yield = (Fm' – Ft)/Fm'

2 结果与讨论

2.1 不同处理对 Fv/Fo 和 Fv/Fm 的影响

Fv/Fo 代表了 PSII 的潜在活性。从图 1 可以看出,与对照相比,NaCl 处理明显降低了 PSII 的潜在活性,其 Fv/Fo 的比值比对照组降低 28%,差异达 $P < 0.05$ 的水平,而 PEG 处理仅使 Fv/Fo 下降 6%,且 $P = 0.561$,表明 PEG 处理对 PSII 的潜在活性没有明显影响。由于含 36.8 mmol/L PEG 和 300 mmol/L NaCl 的 Hogland 培养液是等渗的,所以 NaCl 胁迫造成的 PSII 潜在活性的下降不是由于培养液中 NaCl 造成的渗透势下降所引起的。从图 1 可以看出,与对照相比,KNO_3 处理对 Fv/Fo 没有明显影响,然而 $NaNO_3$ 和 KCl 处理分别使 Fv/Fo 下降 20%和 15%,这表明与 Cl^- 相比,Na^+ 对 PSII 潜在活性损害更大。

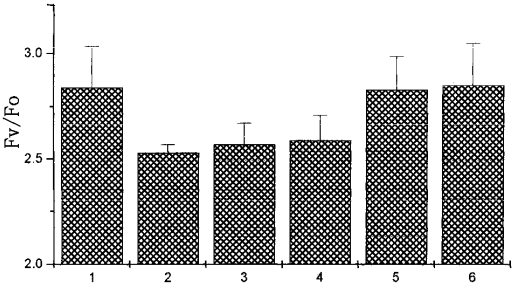


图 1 不同处理对小麦叶片 Fv/Fo 的影响

Fig.1 Effect of different treatments on Fv/Fo in wheat leaves (1 Control; 2 NaCl; 3 $NaNO_3$; 4 KCl; 5 PEG; 6 KNO_3)

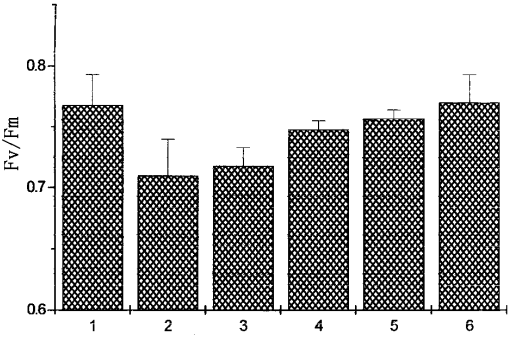


图 2 不同处理对小麦叶片 Fv/Fm 的影响

Fig.2 Effect of different treatments on Fv/Fm in wheat leaves (1 Control; 2 NaCl; 3 $NaNO_3$; 4 KCl; 5 PEG; 6 KNO_3)

http://www.scientific.net/10.1134/S1054325709040129

Fv/Fm 代表 PSII 的原初光能转换效率。与图 1 相似，从图 2 可能明显地看出，NaCl 处理明显降低 PSII 原初光能转换效率，其 Fv/Fm 比对照降低 10%，其差异达 $P < 0.05$ 的水平，PEG 处理对 Fv/Fm 也没有明显影响。可见 NaCl 胁迫造成的 PSII 原初光能转化效率的下降也不是由于 NaCl 产生的渗透胁迫引起的。从图 2 还可以看出 KNO_3 对 Fv/Fm 没有影响，而 $NaNO_3$ 和 KCl 处理分别使 Fv/Fm 下降 8%和 2.8%，这表明与 Cl^- 相比，Na^+ 对 PSII 原初光化学反应损害略大。

2.2　不同处理对 CA/Fo 和 Q_B-非还原性 PSII 反应中心的影响

CA/Fo(荧光上升互补面积)与受体侧电子库的大小有明显的相关性。受体侧电子库是光合电传递链的重要组成部分。由图 3 可以看出，KNO_3 处理对 CA/Fo 没有影响，而 NaCl 和 $NaNO_3$ 处理分别使 CA/Fo 比对照下降 22.3%($P = 0.045$)和 10.1%($P = 0.053$)，而 KCl 和 PEG 处理却使 CA/Fo 比对照分别上升 5%和 11%，可见，NaCl 胁迫降低受体侧电子库也不是以渗透胁迫的途径进行，而可能是通过离子伤害的途径；Na^+ 对受体侧电子库有破坏作用，而 Cl^- 则有利于受体侧电子库的维持或增加。

当植物在逆境条件下，电子从 Q_A 向 Q_B 传递受阻，会导致 Q_B-非还原性 PSII 反应中心含量增加。由于 Q_B-非还原性 PSII 反应中心对很多逆境胁迫因子的伤害作用相对不敏感，所以在逆境条件下，Q_B-非还原性 PSII 反应中心含量的增加可以起到保持和调节 PSII 的作用(Henrysson 和 Sundby，1990)。同理，其含量增加的幅度可以作为一种植物受胁迫程度的标志。从图 4 可以看到，NaCl 处理使 Q_B-非还原性 PSII 反应中心含量增加 49.1%，差异明显；然而在 PEG 处理下，Q_B-非还原性 PSII 反应中心的含量并未增加，甚至有所下降。KNO_3 处理对 Q_B-非还原性 PSII 反应中心的含量增加 38.2%，差异显著；与之相对，KCl 处理则仅使 Q_B-非还原性 PSII 反应中心的含量增加 14.9%，而且未达显著差异水平。可见，在 NaCl 胁迫下，Na^+ 引起的离子伤害可能是 NaCl 胁迫减小受体侧电子库的主要原因，同时也是 NaCl 胁迫阻断电子从 Q_A 向 Q_B 传递，从而导致 Q_B-非还原性 PSII 反应中心增加的主要原因。

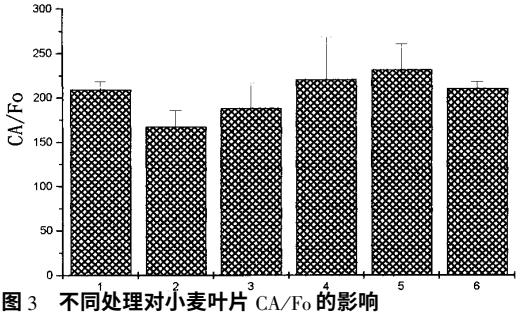


图 3　不同处理对小麦叶片 CA/Fo 的影响

Fig.3　Effect of different treatments on CA/Fo in wheat leaves (1 Control；2 NaCl；3 $NaNO_3$；4 KCl；5 PEG；6 KNO_3)

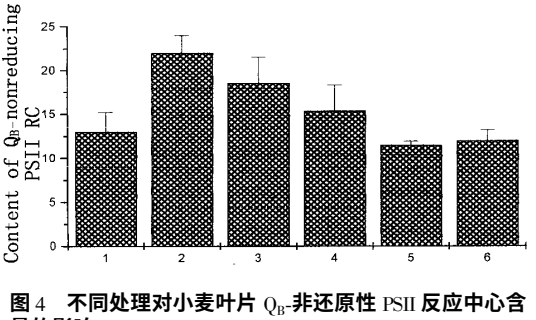


图 4　不同处理对小麦叶片 Q_B-非还原性 PSII 反应中心含量的影响

Fig.4　Effect of different treatments on the content of Q_B- nonreducing PSII reaction center in wheat leaves (1 Control；2 NaCl；3 $NaNO_3$；4 KCl；5 PEG；6 KNO_3)

2.3　不同处理对 qP 和 Yield 的影响

https://www.cnki.com/doi/10.3724/CBB-t99-089

qP 是对 PSII 原初电子受体 Q_A 氧化态的一种量度，代表 PSII 反应中心开放部分的比例，可以反映光合电子链的电子传递速度(Genty 等，1989；Van Kooten 等，1990)。qP 较高表

示 Q_A 处在较高氧化态，即 PSII 反应中心开放部分的比例较大，光合电子传递的速度较快。从图 5 可以明显看到，与对照相比，KNO_3 处理并不引起 qP 的下降，而 NaCl 和 KNO_3 处理使 qP 比对照分别降低 12.1%和 20%，其差异均达 $P < 0.05$ 的水平；而 KCl 和 PEG 处理并不引起 qP 下降。可见，与对 PSII 反应中心、质醌库及从 Q_A 到 Q_B 的电子传递的影响相似，NaCl 处理是通过非渗透因素抑制光合电子传递链的正常运行，而 Na^+ 可能是引起这种抑制作用的毒害离子。

有效量子产率(Yield)与 CO_2 的固定有很好的线性关系，它与光子流密度的乘积可以反映线性电子流的量子产量(Genty 等，1989)。由图 6 可以看出，NaCl 处理 yield 比对照减少了 32.4%，差异达极显著水平($P < 0.01$)，这表明 300 mmol/L NaCl 处理使光合碳固定受到了很大的伤害。由图 6 还可以看出，KNO_3 处理对 yield 没有影响，$NaKO_3$ 和 PEG 处理其差异也不显著，而 KCl 处理对 yield 的影响也不大。由此也可以清晰的看到，NaCl 胁迫对光合碳同化的损害中，渗透因素的影响作用不大。由于 $NaNO_3$ 和 KCl 对 yield 都没有表现出损害作用，NaCl 损害光合碳同化可能是两种离子的协同作用或其他作用，其具体机理有待研究。

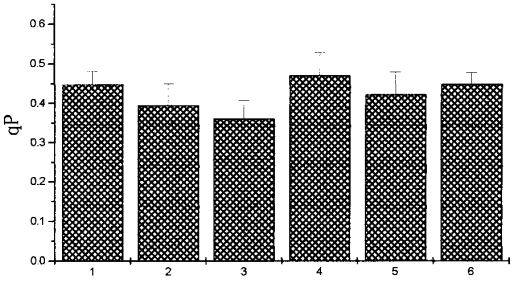


图 5 不同处理对小麦叶片 qP 的影响
Fig.5 Effect of different treatments on qP in wheat leaves
(1 Control；2 NaCl；3 $NaNO_3$；4 KCl；5 PEG；6 KNO_3)

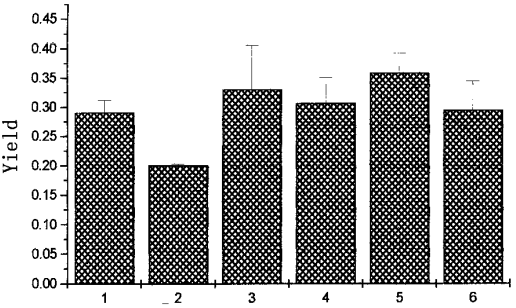


图 6 不同处理对小麦叶片 Yield 的影响
Fig.6 Effect of different treatments on yield in wheat leaves
(1 Control；2 NaCl；3 $NaNO_3$；4 KCl；5 PEG；6 KNO_3)

从所得的结果看，冬小麦经两周 NaCl 处理降低 PSII 的潜在活性、PSII 原初光能转换效率、电子传递链中 PSII 受体侧电子库的大小，阻断电子从 Q_A 向 Q_B 传递，增加 Q_B-非还原性 PSII 反应中心的含量，降低光合电子传递速率，最终降低光合碳固定。然而，与之等渗的 PEG 处理却没有对光合作用产生类似的伤害。这说明 NaCl 胁迫影响光合作用不是通过渗透因素起作用。在实验中，NaCl 和 $NaNO_3$ 处理使 Q_A 氧化态含量、PSII 活性、原初光能转化效率下降和 Q_B-非还原性 PSII 反应中心含量增加，而等渗的 KNO_3、PEG 和 KCl 处理并不产生类似的伤害，这暗示 Na^+ 可能是盐胁迫影响光合作用的毒害离子。

在本研究中，PEG 处理组表现出与对照组相似甚至优于对照组的光合特性，这种影响的实质也有待于进一步研究。

参 考 文 献

刁丰秋，章文华，刘友良，1997. 盐胁迫对大麦叶片类囊体膜组成和功能的影响. 植物生理学报，**23**：105～110

Al-Hasan R H, Ghannoum M A, Sallak A K, Abu-Elteen K H, Radwan S S, 1987. Correlative changes of growth, pigmentation and lipid composition of *Dunaliella salina* in response to halostress. *J Gen Microbiol*, **133**：2607～2616

Carter D R, Cheeseman J M, 1993. The effect of external NaCl on thylakoid stacking in lettuce plants. *Plant Cell Environ*, **16**：215～223

Demmig B, Winter K, 1986. Sodium, potassium, chloride and proling concentration of chloroplast isolated from a halophyte, *Mesembryanthemum crystallium* L. *Planta*, **168**:421 ~ 426

Genty B E, Briantais J M, Baker N R, 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim Biophys Acta*, **990**:87 ~ 92

Hayashi H A, Alia, Mustardy L, Deshnium P, Ida M, Murata N, 1997. Transformation of *Arabidopsis thaliana* with the codA gene for choline oxidase; accumulation of glycinebetaine and enhanced tolerance to salt and cold stress. *Plant J*, 133 ~ 142

Henrysson T, Sundby C, 1990. Characterization of photosystem II in stroma thylakoid membranes. *Photosynthe Res*, **25**:107 ~ 117

Jeanjean R, Mattijs H C P, 1993. Exposure of *Cyanobacterium synechocystis PCC* 6803 to salt stress induces concerted changes in respiration and photosynthesis. *Plant and Cell physiol*, **34**:1073 ~ 1079

Liliana T M, Yulizanev, Maslenkova L T, Zanev yu, Popova L P, 1993. Adaptation to salinity as monitored by PSII oxygen evolving reactions in barley thylakoids. *J Plant Physiol*, **142**:629 ~ 634

Marrilyn C B, Jan M A, 1986. Sensitivity of PSII to NaCl in relation to salinity tolerance. Comparative studies with thylakoids of the salt-tolerant Mangrove, *Avicennia marina*, and the salt-sensitive Pea, *Pisum sativum*. *Aust J Plant Physiol*, **13**:689 ~ 698

Muns R, 1993. Physiological process limitting plant growth in saline soils. *Plant Cell environ*, **16**:15 ~ 24

Robison S P, Graham P J, 1986. Estimate of solutes accumulation in plants by H nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Aust J Plant Physiol*, **13**:659 ~ 668

Van Kooten O, Snel J F H, 1990. The use of chlorophyll fluorescence nomeclature in plant stress physiology. *Photosyn Res*, **25**:147 ~ 150

Walker R R, Blackmore D H, Sun Qing, 1993. Carbon dioxide assimilition and folia ion concentration in leaves of Leamon (*Citrus limon* L.) trees irrigated with NaCl and Na_2SO_4. *Aust J Plant Physiol*, **20**:173 ~ 185

书讯

《中国植物志》

第 45 卷第 3 分册，中国植物志编委会编著，280 页，1999 年，科学出版社，估价 30 元。本书记载我国产的卫矛科植物共 12 个属。每种植物有形态特征、产地、分布、生态环境、用途。图版 46 幅。

《中国植物志》

第 57 卷第 1 分册，中国植物志编委会编著，260 页，1999 年，科学出版社，估价 35 元。本书记载我国产的杜鹃花科植物的一部分，每种植物有形态描述、产地、分布、生境环境、用途，附图版 46 幅。

《中国淡水藻志》

第 6 卷裸藻门，施之新主编，570 页，1999 年，科学出版社，估价 75 元。本书记载了我国裸藻门植物 27 个属 416 个种 199 个变种，16 个变型。每个种都有形态描述、产地、国内外分布并附有图版。书末附参考文献和索引。

《遗传学》

P.C. Winter **等编著，352 页，1999 年，科学出版社，估价 45 元。本书为《现代生物学精要速览》系列丛书之一的影印版，英文使用最为自然、易懂的语句，是提高专业外语的最佳套书。**

《生物化学》

B.D. Hames **等编著，384 页，1999，科学出版社，估价 48 元。本书是《现代生物学精要速览》系列丛书之一的影印版。本书共 14 个章节。**

《生态学》

Aulay Mackerzie **等编著，337 页，1999，科学出版社，估价 43 元。本书是《现代生物学精要速览》系列丛书之一的影印版。共 16 个章节。**

《花卉资源原色图谱》

金波等编著，240 页，1999，农业出版社，估价 200 元。本书是广谱性花卉专业资料书。以植物的种为基本单元，按植物学分类排列，简介每种花卉的中名、学名、科属地位、产地习性、繁殖栽培要点及应用等内容，共介绍 134 个科的 690 余种花卉，约 1000 余幅彩图。

《中国植物志》

第 6 卷第 1 分册，吴兆洪等编著，310 页，1999，科学出版社，估价 34 元。本卷包括蕨类植物门的叉蕨科、实蕨科、藤蕨科、舌蕨科、肾蕨科、条蕨科、骨碎补科、雨蕨科。

http://www.stzb.com.cn/shu/2024/CBB-189-089

中国科学院植物所图书馆　徐竺声