

刘文鑫, 万贤崇. 杨品种‘84K’光合生理的不同过程对干旱和复水的响应[J]. 植物科学学报, 2019, 37(4): 530–539

Liu WX, Wan XC. Responses of different photosynthetic physiological processes in *Populus alba* × *P. glandulosa* to drought and rehydration[J]. *Plant Science Journal*, 2019, 37(4): 530–539

杨品种‘84K’光合生理的不同过程对干旱和复水的响应

刘文鑫, 万贤崇*

(中国林业科学研究院林业新技术研究所, 北京 100091)

摘要: 以杨品种‘84K’(*Populus alba* × *P. glandulosa*)为材料, 对其干旱胁迫及复水后光合生理特性的变化进行了研究。结果显示, 在干旱胁迫及复水过程中, 杨品种‘84K’光合作用相关的主要反应对此过程响应不同步。在干旱胁迫过程中, ‘84K’的羧化反应速度、气孔导度(G_s)、叶肉导度(G_m)均显著下降, 但前者下降幅度小于后两者, 此时的光合作用主要受 G_s 和 G_m 制约。复水之后, G_m 很快得到恢复, 而光化学淬灭过程、羧化反应速度均没有恢复到对照水平, 此时是光化学淬灭和(或)羧化反应制约了‘84K’的碳固定及光合作用。

关键词: ‘84K’杨; 叶肉导度; 气孔导度; 叶绿素荧光

中图分类号: Q945.17

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2019)04-0530-10

DOI: 10.11913/PSJ.2095-0837.2019.40530

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Responses of different photosynthetic physiological processes in *Populus alba* × *P. glandulosa* to drought and rehydration

Liu Wen-Xin, Wan Xian-Chong*

(Research Institute of Forestry New Technology, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China)

Abstract: *Populus alba* × *P. glandulosa* (‘84K’) was used to study changes in photosynthetic physiological characteristics after drought stress and rehydration. Results showed that the main photosynthetic processes of ‘84K’ were not synchronous during drought stress and rehydration. During drought, the carboxylation rate, stomatal conductance (G_s), and mesophyll conductance (G_m) of ‘84K’ declined significantly, but the former decreased less than the latter two. Thus, at this time, photosynthesis was mainly restricted by G_s and G_m . After rehydration, G_m recovered rapidly; however, the photochemical quenching process and carboxylation rate did not recover to the control level, which may restrict the carbon fixation and photosynthesis of ‘84K’.

Key words: *Populus alba* × *P. glandulosa* ‘84K’; Mesophyll conductance; Stomatal conductance; Chlorophyll fluorescence

干旱引起植物的光合作用下降是导致植物生长缓慢的主要因素。水分胁迫通常会导致植物气孔关闭, 从而影响 CO_2 吸收, 这一现象是干旱导致光

合作用下降的重要原因^[1]。研究发现, 在不同的土壤水分条件下, 植物光合速率下降的幅度和气孔导度下降的幅度不同^[2]。通常把和气孔导度非同

收稿日期: 2018-12-13, 退修日期: 2019-01-21。

基金项目: 中国林业科学研究院林业新技术研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(CAFYBB2018SZ019); 国家自然科学基金项目(31270648)。

This work was supported by grants from the Basic Research Foundation from the Institute of New Forestry Technology from Chinese Academy of Forestry (CAFYBB2018SZ019) and National Natural Science Foundation of China (31270648).

作者简介: 刘文鑫(1990–), 女, 博士研究生, 研究方向为植物生理生态(E-mail: liuwenxin0420@163.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: wxw@caf.ac.cn)。

步的这一部分光合作用下降称为非气孔限制,但其具体的作用机理比较复杂。这部分光合作用响应过程不仅包括光化学反应过程或碳还原过程,还包括 CO_2 在叶片内部的扩散(叶肉导度),这一过程还会导致二磷酸核酮糖羧化酶(Rubisco)对 CO_2 利用率降低^[3],甚至会影响光合器官的结构和功能^[4]。 CO_2 从大气到叶片中的扩散受阻,不仅由于气孔关闭导致了气孔导度(G_s)降低^[5],还因为内部 CO_2 导度(叶肉导度 G_m)的降低使 CO_2 在叶肉内的扩散受阻,不能被有效利用^[6]。有研究把非气孔因素引起的这部分光合作用响应归咎于光合作用的光化学反应或碳还原过程。光化学反应过程,即ATP生产能力,通常用叶绿素荧光来界定,干旱会导致ATP生产能力下降^[7]。而碳还原过程主要包括Rubisco活性等,他们也受到干旱的影响^[8]。近年来,有关叶肉导度的研究已逐渐成为热点^[5, 9-13]。研究发现,在干旱胁迫下,植物 G_m 降低,但 G_m 在其后的复水过程起什么作用尚不明确^[9, 14]。研究表明,在干旱胁迫下植物的光合作用首先受到 G_s 和 G_m 降低的抑制,在更严重的水分胁迫下生物化学限制增强^[5, 9, 14, 15]。

杨品种‘84K’(*Populus alba* × *P. glandulosa*)是白杨派的一个杂种无性系,具有抗逆性好、材质好及苗期生长快等特点,目前已对其建立了再生和遗传转化体系^[16],也进行了基因转化和抗性机理的研究^[17]。本研究以杨品种‘84K’为材料,进行短期的干旱胁迫及复水实验,检测其光合作用、叶绿素荧光特性及 G_m 的变化,阐明短期干旱胁迫及复水条件下影响光合作用的主要因素,为进一步开展杨光合作用限制因素的研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 植物材料

杨品种‘84K’组培苗在中国林业科学院林木遗传育种国家重点实验室培育。组培苗在培养基中生长40 d后转移至含有混合基质(椰糠:草炭土:珍珠岩 = 1:1:1)的塑料钵中继续培养2个月,进行常规养护管理。

1.2 实验设计

选取生长健壮、长势一致的组培苗转移至体积为2 L的花盆中继续培养15 d,花盆规格19 cm(上口) × 17 cm(下口) × 21 cm(高)。于2017

年12月6日,选取株高(100 ± 4.8) cm的盆栽苗,在温室内进行水分控制。在预试验中,我们发现净光合速率和气孔导度在干旱处理的第5 ~ 6 d趋于稳定,因此本实验进行了6 d的干旱处理,然后复水。共设置2个处理:(1)对照组(CK,正常浇水,保持土壤含水量为田间持水量的80%);(2)胁迫组(不浇水,自然干旱6 d,土壤含水量达到田间持水量的35%,然后复水到80%)。控水期间,对照组保持设定的水分含量,胁迫组在干旱处理6 d后复水至对照持水量。分别于干旱处理后的1 ~ 6 d和复水后1 ~ 3 d测定叶片的相对含水量和光合参数,测定干旱第6 d和复水第1和第3 d的土壤含水量、叶绿素荧光参数。每个处理18盆,重复6次。

1.3 实验方法

1.3.1 叶片相对含水量

选取第4片完全展开叶测定相对含水量(RWC):称取叶片鲜重(FW),然后将其浸泡在水中,于4℃黑暗下处理24 h,得其饱和重(TW)。叶片在72℃烘箱中烘至恒重,获其干重(DW)。计算公式如下: $\text{RWC}(\%) = (\text{FW} - \text{DW}) / (\text{TW} - \text{DW}) \times 100$ ^[18]。

1.3.2 光合参数的测定

使用带有红蓝光源叶室的Li-6400光合测定仪每天测定气体交换参数。选取第4片完全展开叶在1500 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 光强下进行测定,叶室 CO_2 浓度为400 $\mu\text{mol}/\text{mol}$,叶室温度约为25℃。测定期间,自动记录净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、胞间 CO_2 浓度(C_i)、蒸腾速率(T_r)和饱和水汽压差亏缺(VPD)。

1.3.3 CO_2 响应曲线及叶绿素荧光参数的测定

在每个取样日(停止浇水的第6 d及复水的第1 d和第3 d)用Li-6400光合仪测定 CO_2 响应曲线和叶绿素荧光。

在光强为1500 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,大气 CO_2 浓度(C_a)在50 ~ 1800 $\mu\text{mol}/\text{mol}$ 时测定 P_n - C_i 曲线, CO_2 浓度梯度设为400、300、200、100、50、400、600、800、1000、1200、1300、1500、1800 $\mu\text{mol}/\text{mol}$,两个相邻点的时间间隔为2 min。

叶绿素荧光测定:植株暗适应一夜后,于凌晨测定最小初始荧光(F_0)。计算光系统II的最大量子效率: $(F_v/F_m) = (F_m - F_0)/F_m$ 。其中, F_v 为最大可变荧光, F_m 为暗适应叶片的最大荧光。

叶片采用 $1500\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (10% 的蓝光) 的活化光活化 20 min, 直到光合稳定。记录稳态荧光 (F_s)、光下最大荧光 (F_m) 等参数。计算光化学淬灭: $(q_p) = (F_m - F_s) / (F_m - F_o)$; 光系统 II 的实际光化学效率: $(\Phi_{\text{PSII}}) = (F_m - F_s) / F_m$; 电子传递速率: $(J_{\text{flu}}) = \Phi_{\text{PSII}} \times \text{PPFD} \times 0.5 \times 0.85$, PPFD 为光照强度。

1.3.4 叶肉导度的计算

采用 Harley 等^[19]的 J 变量方法计算叶肉导度 (G_m), 公式如下:

$$G_m = \frac{P_n}{C_i - \frac{\Gamma^* \times [J_{\text{flu}} + 8(P_n + R_d)]}{J_{\text{flu}} - 4(P_n + R_d)}}$$

式中, P_n 和 C_i 从 P_n - C_i 曲线获得, J_{flu} 为同一叶片的叶绿素荧光数据, Γ^* 为无线粒体呼吸时的 CO_2 补偿点, 25°C 时为 $37.43\ \mu\text{mol}/\text{mol}$ ^[20]。 R_d 为光下线粒体呼吸速率, 即测定对照植株在 3 个不同的光强 (50 、 150 、 $300\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 及 6 个不同浓度的 C_a ($250 \sim 50\ \mu\text{mol}/\text{mol}$) 下的 3 条 P_n/C_i 曲线。曲线交点的横纵坐标分别为表观 CO_2 补偿点 (C_i) 和光呼吸 (R_d)。 C_i 变化范围在 $100 \sim 300\ \mu\text{mol}/\text{mol}$ 时, 用对应的净光合速率计算叶肉导度 (G_m)。根据 G_m 估算叶绿体内 CO_2 浓度, 公式为: $C_c = C_i - (P_n/G_m)$ 。

P_n - C_i 曲线用于估算核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶 (Rubisco) 的最大羧化速率 (V_{cmax}) 和最大电子传递速率 (J_{max})^[21], 用非直角双曲线模型^[22]拟合 P_n - C_i 曲线。

考虑到叶室内、外部 CO_2 浓度差异会导致 CO_2 渗漏, 本研究采用沸水煮叶片法校准 P_n ^[23]。经测定 CO_2 渗漏值较小 ($P_n < 0.5\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), 因此不采用此校准值。

1.3.5 叶片叶绿素含量的测定

叶绿素含量测定采用丙酮浸提比色法^[24]。取新鲜植物叶片, 擦净表面污物, 剪碎混匀。称取 $0.1\ \text{g}$ 叶片放入 $20\ \text{mL}$ 试管中, 加入 80% 丙酮 $10\ \text{mL}$, 黑暗中浸提至叶片完全变白。重复 6 次。测定 646 、 $663\ \text{nm}$ 下的吸光度。公式如下:

叶绿素 a (C_a) = $12.21A_{663} - 2.81A_{646}$;

叶绿素 b (C_b) = $20.13A_{646} - 5.03A_{663}$;

叶绿素含量 (mg/g) = 色素浓度 (C) \times 提取液体积 \times 稀释倍数/样品鲜重。

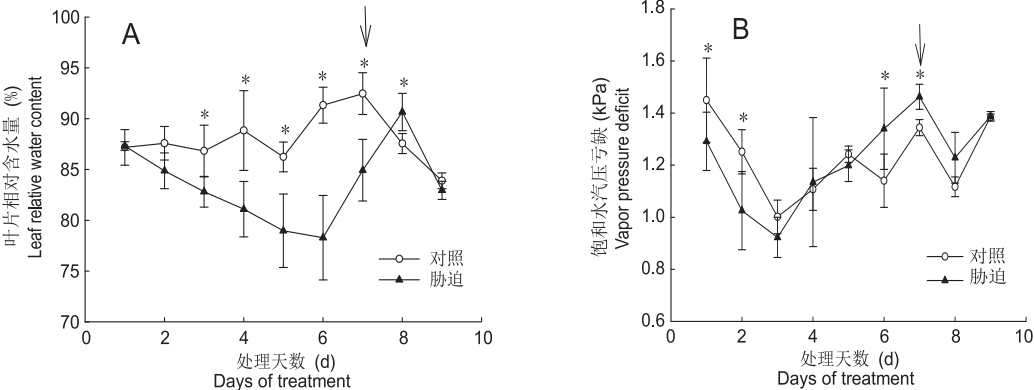
1.4 数据分析

采用 SPSS 21.0 软件进行数据处理、双因子方差分析以及多重比较; 对其他数据进行 t 检验, 在 0.05 水平上检验差异显著性; 采用 Sigmaplot 12.5 软件作图。

2 结果与分析

2.1 干旱复水对植株叶片相对含水量的影响

本研究发现, 实验期间, 胁迫植株和对照的水汽压差亏损 (VPD) 大部分在 $1.0\ \text{kPa}$ 以上 (图 1)。对照相对含水量波动较小, 平均为 92.1% 。干旱胁迫处理 $6\ \text{d}$ 后, 处理组相对含水量降至 75.2% , 显著低于对照 ($P < 0.05$)。复水后, 胁迫植株相对含水量恢复到对照水平。



箭头代表复水第 1 d。* 表示在 $P < 0.05$ 水平上差异显著。下同。
Arrow indicates the first day of rehydration. * indicates significant difference at $P < 0.05$. Same below.

图 1 叶片相对含水量 (A) 和饱和水汽压亏损 (B) 在实验期间的变化

Fig. 1 Changes in leaf relative water content (A) and saturated water vapor pressure loss (B) during the experiment

2.2 干旱复水对植株叶片光合生理参数的影响

研究结果显示，实验期间对照组的净光合速率 (P_n) 从第 1 ~ 9 d 的变化范围为 $11.1 \sim 14.2 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (图 2: A)。干旱胁迫后，处理组第 1 ~ 3 d 的 P_n 低于对照，但无显著差异；胁迫第 4 ~ 6 d, P_n 显著降低，第 6 d 时 P_n 只有对照的 35%。复水 1 d 后, P_n 迅速恢复到对照的 80 % 以上；复水 2 d 后, P_n 恢复到对照水平(图 2: A)。

气孔导度 (G_s) 的变化规律与 P_n 类似，胁迫组 G_s 随处理时间的增加变化显著 ($P < 0.05$) (表 1)。对照组 G_s 维持在 $0.23 \text{ mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 以上，平均值为 $0.33 \text{ mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。胁迫组在前 3 d 与对照差别不大。干旱胁迫的第 4 ~ 6 d, G_s 显著降低 ($P < 0.05$)，到第 6 d 时低至 $0.056 \text{ mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。与 P_n 一样，复水后胁迫组 G_s 恢复很快，第 1 d 时恢复到对照的 80%，第 3 d 已恢复到对照水平(图 2: B)。

实验期间, G_s 的降低导致胁迫组胞间 CO_2 浓度 (C_i) 和蒸腾速率 (T_r) 也受到抑制。 C_i 的变化与 G_s 不同，在复水第 1 d 时, C_i 没有立即恢复，第 2 d 恢复到对照水平(图 2: C)。 T_r 的变化几乎与

G_s 同步(图 2: D)。

CO_2 浓度在 $0 \sim 200 \mu\text{mol CO}_2/\text{mol}$ 时受到 Rubisco 活性的限制，在这个范围内的 P_n - C_i 曲线的斜率是羧化效率 (CE)。CE 值越大，说明 CO_2 浓度较低时，光合速率较高，Rubisco 羧化效率越高^[25]。本研究发现，干旱期间胁迫组的 CE 显著低于对照 ($P < 0.05$)，复水后也未恢复到对照水平。随着 CO_2 浓度的升高，净光合速率达到最大值，此时的 CO_2 浓度达到饱和点。由表 2 和图 3 可知, P_n - C_i 响应过程呈二次曲线关系，在干旱胁迫时，对照组的 CO_2 补偿点 (CCP) 为 $62.3 \mu\text{mol CO}_2/\text{mol}$ ， CO_2 饱和点 (CSP) 为 $1042.0 \mu\text{mol CO}_2/\text{mol}$ ，羧化效率 (CE) 为 $0.0641 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。干旱处理后，CCP 为 $48.0 \mu\text{mol CO}_2/\text{mol}$ ，复水 1 d 后该值高于正常浇水植株 ($52.8 \mu\text{mol CO}_2/\text{mol}$)，达到 $61.2 \mu\text{mol CO}_2/\text{mol}$ ；复水 3 d 后依然高于正常浇水植株。因此，干旱胁迫导致 CSP 降低，但复水后迅速恢复，在恢复浇水的第 3 d 显著高于对照 ($P < 0.05$)。与对照相比，干旱胁迫 6 d 后植株的 Rubisco 最大羧化速率 (V_{cmax}) 减少了 30%。复水第 1 d 时 V_{cmax} 没有明显变化，在第 3 d 恢复到对

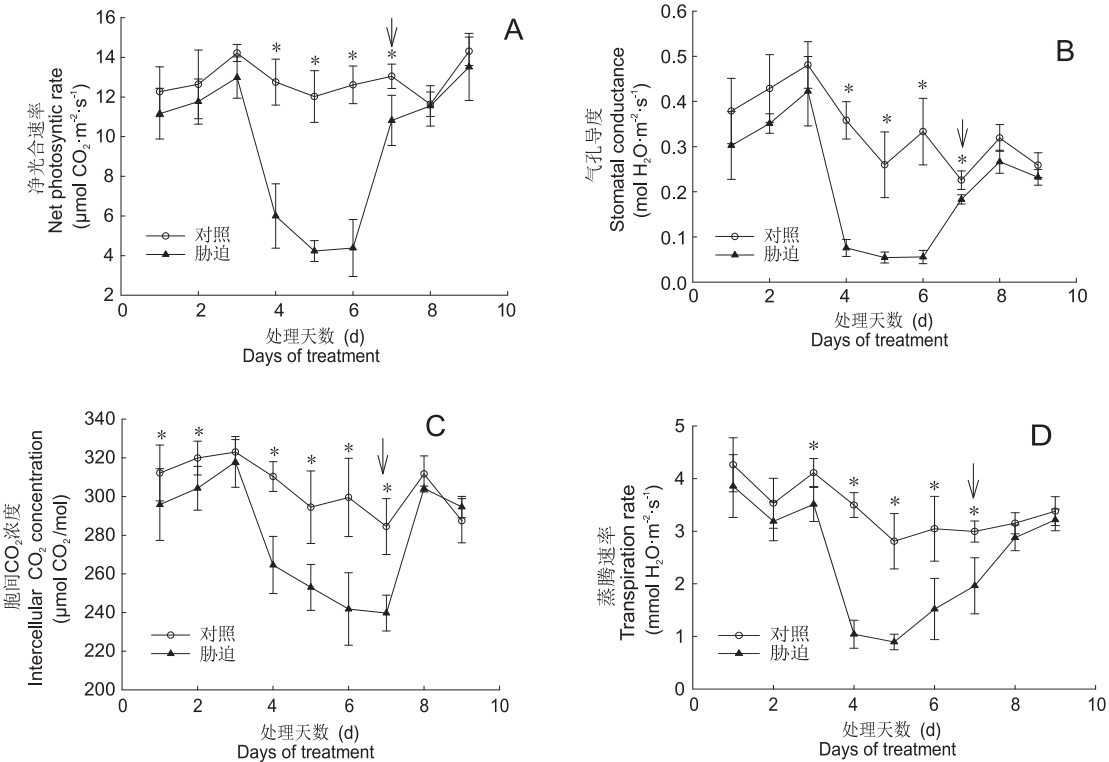


图 2 净光合速率(A)、气孔导度(B)、胞间 CO_2 浓度(C)和蒸腾速率(D)在实验期间的变化

Fig. 2 Variations in net CO_2 assimilation rate (A), stomata conductance (B), intercellular CO_2 concentration (C), and transpiration rate (D) during experiment

表 1 气体交换和叶片水分方差分析
Table 1 ANOVA results of gas exchange and leaf water relationships

指标 Index	来源 Source	自由度 df	F	显著性 P value
叶片相对含水量	处理	1	88.17	< 0.001
	时间	8	11.65	< 0.001
	处理 × 时间	8	9.29	< 0.001
饱和水汽压亏缺	处理	1	0.12	0.733
	时间	8	15.58	< 0.001
	处理 × 时间	8	4.63	< 0.001
光合速率	处理	1	245.00	< 0.001
	时间	8	46.70	< 0.001
	处理 × 时间	8	32.90	< 0.001
气孔导度	处理	1	168.27	< 0.001
	时间	8	45.32	< 0.001
	处理 × 时间	8	13.91	< 0.001
胞间 CO ₂ 浓度	处理	1	100.30	< 0.001
	时间	8	33.50	< 0.001
	处理 × 时间	8	8.90	< 0.001
蒸腾速率	处理	1	199.04	< 0.001
	时间	8	56.30	< 0.001
	处理 × 时间	8	15.63	< 0.001

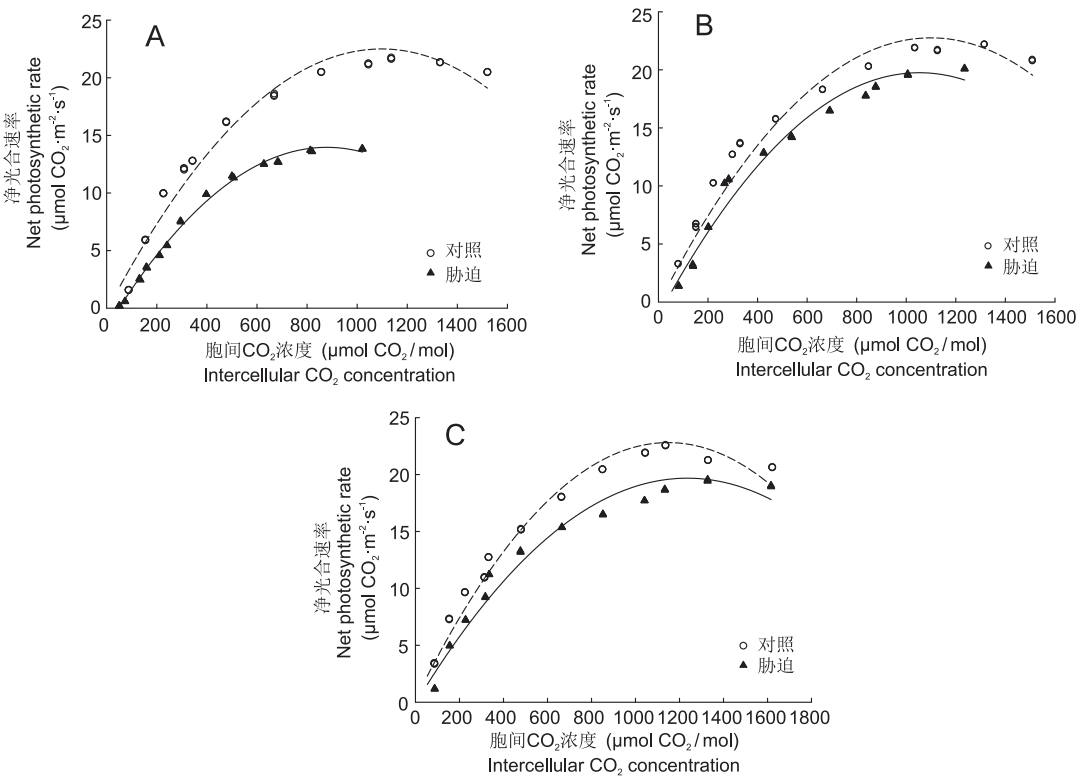
表 2 胁迫和复水期间植株羧化效率、CO₂ 补偿点和 CO₂ 饱和点的变化

Table 2 Variations in carboxylation efficiency (CE), CO₂ compensation point (CCP) and CO₂ saturation point (CSP) under water stress and rehydration

处理 Treatment	羧化效率 ($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) CE	CO ₂ 补偿点 ($\mu\text{mol CO}_2/\text{mol}$) CCP	CO ₂ 饱和点 ($\mu\text{mol CO}_2/\text{mol}$) CSP
对照	0.0641a	62.3a	1042.0a
干旱	0.0307b	48.0b	892.0b
对照	0.0685a	52.8a	1057.5a
复水 1	0.0451b	61.2a	992.5a
对照	0.0775a	53.7b	985.0b
复水 3	0.0539b	63.7a	1275.0a

注：数值为平均值 ± 标准差。干旱：干旱处理 6 d。复水 1 和复水 3 分别代表复水第 1 d 和第 3 d。同列不同字母代表同一天对照和胁迫组间的统计学差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

Notes: Data are means ± SD. Stress is drought treatment for 6 d; Rehydration 1 and rehydration 3 refer to rehydration for one and three days, respectively. Different letters indicate statistical differences between control and treatment on same day ($P < 0.05$). Same below.



A: 干旱处理 6 d; B: 复水第 1 d; C: 复水第 3 d。
A: Drought treatment for 6 d; B: Rehydration for 1 d; C: Rehydration for 3 d.

图 3 干旱和复水处理期间净光合速率 P_n 对 CO_2 的响应
Fig. 3 Response curves of P_n - CO_2 during experiment

照水平(表3)。最大电子传递速率(J_{\max})在干旱胁迫6 d后降为对照的69%，复水1 d后恢复到对照的82%，在复水第3 d恢复到对照水平(表3)。叶肉导度在干旱胁迫第6 d时降到对照的24%，在复水第1 d恢复到对照水平。胁迫期间 C_c 也受到抑制，复水第1 d C_c 显著超过对照($P < 0.05$)，第3 d恢复到对照水平(表3)。

2.3 干旱复水对植株叶片叶绿素荧光参数及叶片叶绿素含量的影响

本研究发现，实验过程中‘84K’光系统Ⅱ的最大光量子效率(F_v/F_m)维持在0.77以上，但对照

和胁迫组没有显著差异(图4：A)。胁迫6 d后，光系统Ⅱ实际光化学效率(Φ_{PSII})、光化学淬灭(q_p)和电子传递速率(J_{flu})显著降低。复水第1 d， Φ_{PSII} 、 q_p 和 J_{flu} 逐渐恢复，在第3 d时恢复到对照水平(图4：B~D)。

同时，植物叶绿素含量对干旱胁迫的响应较为明显。干旱胁迫后，植株中叶绿素a(Chl a)、叶绿素b(Chl b)和叶绿素(a+b)(Chl a+b)显著降低($P < 0.05$)，复水后恢复到对照水平。Chl a/b在干旱期间有所上升，但复水后又恢复到对照水平(表4)。

表3 干旱胁迫和复水期间, ‘84K’ Rubisco 最大羧化速率、最大电子传递速率和叶绿体 CO₂ 浓度

Table 3 Rubisco maximum carboxylation rate (V_{cmax}), maximum electron transport rate (J_{max}), mesophyll conductance (G_m), and chloroplast CO₂ concentration (C_c) under water stress and rehydration in ‘84K’

处理 Treatment	最大羧化速率 V_{cmax} ($\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	最大电子传递速率 J_{max} ($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	叶肉导度 G_m ($\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	叶绿体 CO ₂ 浓度 C_c ($\mu\text{mol CO}_2/\text{mol}$)
对照	40.0 ± 5.4 a	106.3 ± 4.3a	0.12 ± 0.01a	104.6 ± 2.6a
干旱	27.3 ± 3.4 b	72.9 ± 3.4b	0.03 ± 0.01b	89.5 ± 6.4 b
对照	45.1 ± 1.8a	105.0 ± 3.4a	0.12 ± 0.01a	91.4 ± 7.6 b
复水 1	31.7 ± 1.1b	86.6 ± 1.9b	0.13 ± 0.01a	114.6 ± 2.2a
对照	47.4 ± 5.2a	105.7 ± 3.5a	0.13 ± 0.01a	102.8 ± 1.8a
复水 3	40.1 ± 4.7a	93.1 ± 6.0a	0.12 ± 0.01a	103.9 ± 5.2a

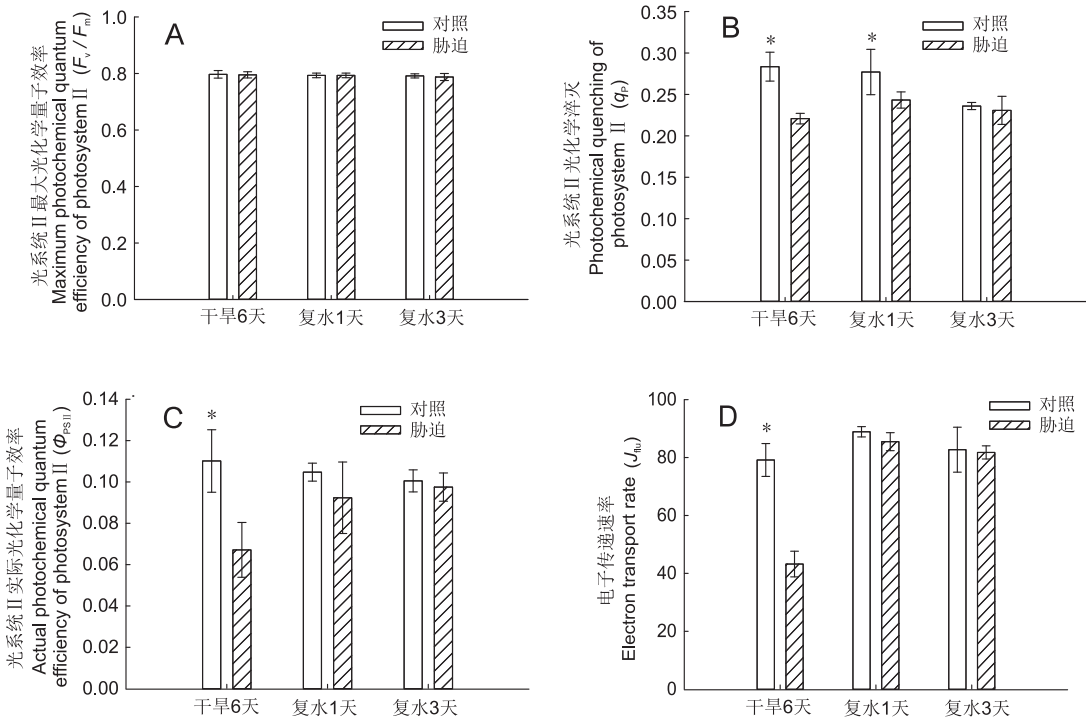


图4 光系统Ⅱ最大光化学量子效率(A)、光化学淬灭(B)、实际光化学量子效率(C)和电子传递速率(D)在实验期间的变化

Fig. 4 Variations in maximum quantum efficiency of photosystem II (A), photochemical quenching (B), actual photochemical efficiency of photosystem II (C), and electron transport rate(D) during experiment

表 4 干旱胁迫和复水期间‘84K’叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 (a + b) 和叶绿素 a/b 的变化
Table 4 Variations in Chl a, Chl b, Chl (a + b), and Chl a/b under water stress and rehydration in ‘84K’

处理 Treatment	Chl a (mg/g)		Chl b (mg/g)		Chl (a + b) (mg/g)		Chl a/b	
	对照 Control	处理 Treatment	对照 Control	处理 Treatment	对照 Control	处理 Treatment	对照 Control	处理 Treatment
干旱	1.32 ± 0.01a	0.82 ± 0.01b	0.43 ± 0.03a	0.25 ± 0.03b	1.75 ± 0.02a	1.07 ± 0.03b	3.08 ± 0.03a	3.27 ± 0.02a
复水 1	1.31 ± 0.01a	0.95 ± 0.02b	0.45 ± 0.04a	0.35 ± 0.03b	1.76 ± 0.03a	1.30 ± 0.03b	2.91 ± 0.04a	2.71 ± 0.02a
复水 3	1.40 ± 0.01a	1.35 ± 0.03a	0.46 ± 0.03a	0.45 ± 0.03a	1.86 ± 0.03a	1.80 ± 0.02a	3.04 ± 0.03a	3.00 ± 0.04a

注：同行不同字母代表对照和处理组间在 $P < 0.05$ 水平上差异显著。
Note: Different letters indicate statistical differences between control and treatment on same day ($P < 0.05$).

3 讨论

本研究发现，‘84K’在干旱胁迫下(第 6 d 时)，净光合速率下降到对照的 35%，气孔导度下降到 18%，叶肉导度下降到 24%，说明此时植物的光合作用不完全由气孔导度决定，还可能受叶肉导度的制约。此外，光系统 II 实际光化学淬灭、光系统 II 实际光化学效率、电子传递速率、以及 Rubisco 最大羧化速率均显著下降，但他们的下降幅度小于净光合速率，表明净光合速率降低主要由气孔导度和叶肉导度降低引起，实验结果与前人的研究结论一致^[26, 27]。

研究结果显示，‘84K’在复水第 1 d 时叶肉导度很快得到恢复，但净光合速率、气孔导度、光化学反应过程和羧化反应速度均没有及时复原，表明 Rubisco 羧化作用和电子传递速率没有快速恢复或植株碳固定能力受到损伤。从 C_i 指标的变化来看，复水后光合作用并未受到 CO_2 供应的制约，而是受到光化学过程或羧化速度的影响。因此，植物对干旱胁迫的响应机制比较相似，而复水恢复的过程因植物种类具有一定差异。有研究表明，野生烟草 (*Nicotiana sylvestris* L.) 在复水时光合作用的恢复主要取决于叶肉导度^[9]；代谢活动是棉花 (*Gossypium hirsutum* L.) 重度干旱后光合恢复的主要限制因素^[28]。本研究结果显示，复水第 3 d 后，植株的光化学反应、羧化反应、叶肉导度和气孔导度均恢复到对照水平，光合作用也完全恢复，说明在干旱后期，光合作用主要受到叶肉导度的限制，恢复浇水后，光化学过程或羧化速度成为限制光合作用的主要因素。

3.1 光合作用对干旱胁迫和复水的响应

本研究发现，干旱胁迫导致植株 P_n 、 G_s 和 G_m

的下降速度要比复水后的恢复速度慢。在胁迫第 6 d 时 P_n 降到 $4 \text{ mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 左右， G_s 降到 $0.05 \text{ mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ，说明 G_s 可以作为评价杨干旱胁迫程度的参考指标。Flexas 等^[5]的研究将 G_s 作为决定杂交葡萄 (*Vitis berlandieri* × *V. rupestris* L.) 干旱胁迫等级的指标。也有研究发现， G_s 更依赖于环境条件(除水汽压差亏缺外)^[29]，而且气孔的打开和关闭受到环境信号和内源性激素的影响^[30]。然而， G_m 对胁迫的响应还依赖于水通道蛋白的调节^[30]。

研究表明，干旱胁迫下，气孔关闭可以导致植物的 G_s 和 P_n 快速降低^[15]。本研究通过分析 CO_2 响应曲线发现，在干旱胁迫后羧化效率 (CE) 显著降低，复水后没有恢复到对照水平，说明复水后 CO_2 的利用效率及叶肉细胞光合机构的活性没有完全恢复。而 CO_2 饱和点高于对照，可能是由于此阶段 CO_2 浓度已不再是光合作用的主要限制因子，而是受到 RUBP 再生速率的限制^[21]。有报道发现，在极端干旱条件下，Rubisco 活性降低可导致 V_{cmax} 下降^[31]。然而，前人的研究^[32]采用转录组分析，发现干旱胁迫时植株 Rubisco 激酶、卡尔文循环酶、光系统 I 和光系统 II 相关基因的表达反而上调。蛋白质组学分析也证实一些光合蛋白，如 Rubisco 和线粒体甘氨酸合成酶的复合蛋白 (GDC) 也上调表达^[33]。 V_{cmax} 和 J_{max} 在正常浇水植株和胁迫植株中数值相同^[34]，而且 V_{cmax} 在干旱胁迫和恢复期间基本不变^[10]。 V_{cmax} 在植株干旱期间的降低可能是因为氧化应激影响 Rubisco^[35]，或在此期间 Rubisco 降解产物的存在^[36]。

3.2 叶绿素荧光对干旱胁迫和复水的响应

本研究发现，叶绿素荧光 J_{flu} 和 Φ_{PSII} 在干旱胁迫

迫的第6 d降低。可能是因为光系统Ⅱ中电子传递的量子效率降低^[18], 从而限制了ATP的合成和RuBP的再生^[37], 导致 V_{cmax} 的降低。然而, 本研究在整个实验中发现, F_v/F_m 维持在0.80左右, 说明光系统Ⅱ对于干旱胁迫的抵抗性强。在山葡萄(*Vitis amurensis* Rupr.)中发现叶片的移动随叶片水势的降低而增加, 以减少光捕获、维持PSⅡ反应中心的开放比例^[38]。此外, 本研究中 q_p 、 J_{flu} 和 $\Phi_{\text{PSⅡ}}$ 等参数, 在复水第3 d时全部恢复, 表明干旱胁迫损害了植物的光反应以及光系统Ⅱ的功能, 但这个损伤在一定程度上是可逆的。

光合作用降低可能与干旱胁迫后叶绿素含量降低有关, 此外, 叶绿素(a/b)的比值在干旱后增加, 这可能与光系统Ⅱ补光天线变小有关, 以保证来自光系统Ⅱ的电子充足, 能够赶上光系统Ⅰ的激发速率^[39]。复水后, 植株叶绿素含量回升至对照水平, 说明短期干旱胁迫对光系统Ⅱ反应中心的损伤较小。因此, 胁迫解除时, 光系统Ⅱ反应中心重新开放, 捕获用于光化学反应的光能, 光合作用正常。

3.3 干旱胁迫和恢复期间限制光合作用的因素

本研究发现, ‘84K’的 G_m 比 G_s 值小, 这一现象在木本植物中较为常见^[5]。有报道指出, 叶片解剖结构对光合作用和 G_m 值具有重要作用, 尤其是 CO_2 在叶肉细胞中的扩散主要受到细胞壁和叶绿体被膜厚度的限制^[40, 41]。此外, 种间 G_m 的差异还取决于每单位叶面积细胞间叶绿体的表面积^[40]。

复水初期光合作用的恢复程度主要取决于物种, 从基本不恢复的乳香黄连木(*Pistacia lentiscus* L.)到几乎全部恢复的补血草(*Limonium magallufianum* L. Llorens)^[6]。从光合作用的恢复情况看, 本研究推测其可能主要受到光化学淬灭和羧化反应的限制。这个观点与Ennahli等^[28]的研究结论一致。

参考文献:

- [1] Woodruff DR, Meinzer FC. Water stress, shoot growth and storage of non-structural carbohydrates along a tree height gradient in a tall conifer[J]. *Plant Cell Environ*, 2011, 34(11): 1920–1930.
- [2] 郭文霞, 赵志江, 郑娇, 李俊清. 不同土壤水分条件下油松幼苗光合作用的气孔和非气孔限制: 试验和模拟结果[J]. 林业科学, 2017, 53(7): 18–36.
- [3] McDowell NG. Mechanisms linking drought, hydraulics, carbon metabolism, and vegetation mortality[J]. *Plant Physiol*, 2011, 155(3): 1051–1059.
- [4] Aranda I, Gil-Pelegrín E, Gascó A, Guevara MA, Cano JF, et al. Drought response in forest trees: from the species to the gene[M]//Ricardo A, ed. *Plant Responses to Drought Stress: From Morphological to Molecular Features*. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2012.
- [5] Flexas J, Barón M, Bota J, Ducruet J-M, Gallé A, et al. Photosynthesis limitations during water stress acclimation and recovery in the drought-adapted *Vitis* hybrid Richter-110 (*V. berlandieri* × *V. rupestris*) [J]. *J Exp Bot*, 2009, 60(8): 2361–2377.
- [6] Galmés J, Medrano H, Flexas J. Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms[J]. *New Phytol*, 2007, 175(1): 81–93.
- [7] Flexas J, Escalona JM, Medrano H. Water stress induces different levels of photosynthesis and electron transport rate regulation in grapevines[J]. *Plant Cell Environ*, 2010, 22(1): 39–48.
- [8] Tezara W, Mitchell VJ, Driscoll SD, Lawlor DW. Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP[J]. *Nature*, 1999, 401(6756): 914–917.
- [9] Galle A, Florez-Sarasa I, Tomas M, Pou A, Medrano H, et al. The role of mesophyll conductance during water stress and recovery in tobacco (*Nicotiana sylvestris*): acclimation or limitation? [J]. *J Exp Bot*, 2009, 60(8): 2379–2390.
- [10] Galmés J, Ochogavía JM, Gago J, Roldán EJ, Cifre J, et al. Leaf responses to drought stress in Mediterranean accessions of *Solanum lycopersicum*: anatomical adaptations in relation to gas exchange parameters[J]. *Plant Cell Environ*, 2013, 36(5): 920–935.
- [11] Xiong D, Flexas J, Yu T, Peng S, Huang J. Leaf anatomy mediates coordination of leaf hydraulic conductance and mesophyll conductance to CO_2 in *Oryza*[J]. *New Phytol*, 2017, 213(2): 572–583.
- [12] Wang X, Wang W, Huang J, Peng S, Xiong D. Diffusional conductance to CO_2 is the key limitation to photosynthesis in salt-stressed leaves of rice (*Oryza sativa*) [J]. *Physiol Plantarum*, 2018, 163(1): 45–58.
- [13] 田尚青, 朱师丹, 朱俊杰, 申智骅, 曹坤芳. 红树林植物叶片

- 形态和解剖特征对叶肉导度、叶片导水率的影响[J]. 植物科学学报, 2016, 34(6): 909–919.
- Tian SQ, Zhu SD, Zhu JJ, Shen ZH, Cao KF. Impact of leaf morphological and anatomical traits on mesophyll conductance and leaf hydraulic conductance in mangrove plants[J]. *Plant Science Journal*, 2016, 34(6): 909–919.
- [14] Cano FJ, Sanchez-Gomez D, Rodriguez-Calcerrada J, Warren CR, Gil L, *et al.* Effects of drought on mesophyll conductance and photosynthetic limitations at different tree canopy layers[J]. *Plant Cell Environ*, 2013, 36(11): 1961–1980.
- [15] Campos H, Trejo C, Peña-Valdivia CB, García-Nava R, Conde-Martínez FV, *et al.* Stomatal and non-stomatal limitations of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) plants under water stress and re-watering: Delayed restoration of photosynthesis during recovery[J]. *Environ Exp Bot*, 2014, 98: 56–64.
- [16] 李科友, 樊军锋, 赵忠, 周永学, 高建社. 84K 杨再生和遗传转化体系的优化[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2007, 35(7): 90–96.
- Li KY, Fan JF, Zhao Z, Zhou YX, Gao JS. Prioritization of the system of regeneration and genetic transformation of populus 84K[J]. *Journal of Northwest A & F University* (Natural Science Edition), 2007, 35(7): 90–96.
- [17] 王树耀, 田宗城, 王云, 周芳. *OsNHX1* 基因转化 84K 杨的研究[J]. 湖南文理学院学报(自然科学版), 2005, 17(1): 60–63.
- Wang SY, Tian ZC, Wang Y, Zhou F. Transformation of poplar 84K with *OsNHX1* gene[J]. *Journal of Hunan University of Arts and Science* (Natural Science Edition), 2005, 17(1): 60–63.
- [18] De Souza TC, Magalhães PC, de Castro EM, de Albuquerque PEP, Marabesi MA. The influence of ABA on water relation, photosynthesis parameters, and chlorophyll fluorescence under drought conditions in two maize hybrids with contrasting drought resistance[J]. *Acta Physiol Plant*, 2013, 35(2): 515–527.
- [19] Harley PC, Loreto F, Di Marco G. Theoretical considerations when estimating the mesophyll conductance to CO₂ flux by analysis of the response of photosynthesis to CO₂[J]. *Plant Physiol*, 1992, 98(4): 1429–1436.
- [20] Bernacchi CJ, Portis AR, Nakano H, Von CS, Long SP. Temperature response of mesophyll conductance. Implications for the determination of rubisco enzyme kinetics and for limitations to photosynthesis in vivo[J]. *Plant Physiol*, 2002, 130(4): 1992–1998.
- [21] Sharkey TD, Bernacchi CJ, Farquhar GD, Singsaas EL. Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C₃ leaves[J]. *Plant Cell Environ*, 2007, 30(9): 1035–1040.
- [22] Farquhar GD, Von CS, Berry JA. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species[J]. *Planta*, 1980, 149(1): 78–90.
- [23] Flexas J, Díazspejo A, Berry JA, Cifre J, Galmé S, *et al.* Analysis of leakage in IRGA's leaf chambers of open gas exchange systems: quantification and its effects in photosynthesis parameterization[J]. *J Exp Bot*, 2007, 58(6): 1533–1543.
- [24] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [25] 吕扬, 刘廷玺, 闫雪, 段利民, 张圣微, 等. 科尔沁沙丘-草甸相间地区黄柳和小叶锦鸡儿光合速率对光照强度和 CO₂ 浓度的响应[J]. 生态学杂志, 2016, 35(12): 3157–3164.
- Lü Y, Liu TX, Yan X, Duan LM, Zhang SW, *et al.* Response of photosynthetic rate of *Salix gordejewii* and *Cargana microphylla* to light intensity and CO₂ concentration in the dune-meadow transitional area of Horqin sandy land[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2016, 35(12): 3157–3164.
- [26] Flexas J, Bota J, Loreto F, Cornic G, Sharkey TD. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C₃ plants[J]. *Plant Biol*, 2004, 6: 269–279.
- [27] Flexas J, Bota J, Galmés J, Medrano H, Ribas-Carbó M. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress[J]. *Physiol plantarum*, 2006, 127(3): 343–352.
- [28] Ennahli S, Earl HJ. Physiological limitations to photosynthetic carbon assimilation in cotton under water stress[J]. *Crop Sci*, 2005, 45(6): 2374–2382.
- [29] Hanson DT, Green LE, Pockman WT. Spatio-temporal decoupling of stomatal and mesophyll conductance induced by vein cutting in leaves of *Helianthus annuus*[J]. *Front in Plant Sci*, 2013, 4(365): 1–9.
- [30] Daszkowska-Golec A, Szarejko I. Open or close the gate-stomata action under the control of phytohormones in drought stress conditions[J]. *Front in Plant Sci*, 2013, 4(138): 1–15.
- [31] Bota J, Medrano H, Flexas J. Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress? [J] *New Phytol*, 2004, 162(3): 671–681.
- [32] Song Y, Ci D, Tian M, Zhang D, Min T. Comparison of the physiological effects and transcriptome responses of *Populus simonii* under different abiotic stresses[J]. *Plant Mol Biol*, 2014, 86(1–2): 139–156.
- [33] Zhang S, Chen F, Peng S, Ma W, Korpelainen H, *et al.* Comparative physiological, ultrastructural and proteomic

- analyses reveal sexual differences in the responses of *Populus cathayana* under drought stress[J]. *Proteomics*, 2010, 10(14): 2661–2677.
- [34] De Souza CR, Maroco JP, dos Santos TP, Rodrigues ML, Lopes C, *et al.* Control of stomatal aperture and carbon uptake by deficit irrigation in two grapevine cultivars [J]. *Agr Ecosyst Environ*, 2005, 106(2–3): 261–274.
- [35] Zhou Y, Lam HM, Zhang J. Inhibition of photosynthesis and energy dissipation induced by water and high light stresses in rice[J]. *J Exp Bot*, 2007, 58(5): 1207–1217.
- [36] Vincent D, Ergül A, Bohlman MC, Tattersall EAR, Tillett RL. Proteomic analysis reveals differences between *Vitis vinifera* L. cv. Chardonnay and cv. Cabernet Sauvignon and their responses to water deficit and salinity[J]. *J Exp Bot*, 2007, 58(7): 1873–1892.
- [37] Lin ZH, Chen LS, Chen RB, Zhang FZ, Jiang HX, *et al.* CO₂ assimilation, ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, carbohydrates and photosynthetic electron transport probed by the JIP-test, of tea leaves in response to phosphorus supply[J]. *BMC Plant Biol*, 2009, 9(1): 43.
- [38] Pastenes C, Pimentel P, Lillo J. Leaf movements and photoinhibition in relation to water stress in field-grown beans [J]. *J Exp Bot*, 2004, 56(411): 425–433.
- [39] Kitajima K, Hogan KP. Increases of chlorophyll *a/b* ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light[J]. *Plant Cell Environ*, 2003, 26(6): 857–865.
- [40] Tomás M, Flexas J, Copolovici L, Galmés J, Hallik L, *et al.* Importance of leaf anatomy in determining mesophyll diffusion conductance to CO₂ across species: quantitative limitations and scaling up by models[J]. *J Exp Bot*, 2013, 64(8): 2269–2281.
- [41] Veromann-Jurgenson LL, Tosens T, Laanisto L, Niinemets U. Extremely thick cell walls and low mesophyll conductance: welcome to the world of ancient living! [J]. *J Exp Bot*, 2017, 68(7): 1639–1653.

(责任编辑: 周媛)