

水分胁迫对枳壳和枳橙光合作用 及细胞超微结构的影响

谢深喜^{1,2}, 刘 强¹, 熊兴耀¹, 张秋明¹, Lovatt C J³

(1. 湖南农业大学 园艺园林学院, 湖南 长沙 410128; 2. 国家柑橘改良中心 长沙分中心, 湖南 长沙 410128;
3. 河滨加州大学 植物科学系, 美国 加州 92521 - 0124)

摘要: 为了从生理生化的角度阐明水分胁迫对柑橘光合特性的影响, 在盆栽条件下, 以枳壳和枳橙为试材, 研究水分胁迫下光合作用及叶片和根系细胞超微结构的变化。结果表明: 水分胁迫使枳壳和枳橙净光合速率 P_n 、气孔导度 $Cond$ 及蒸腾速率 T_r 均下降; 水分胁迫使得叶片和根系细胞受损, 且受损程度随水分胁迫强度的加强而加剧; 水分胁迫下光合作用被抑制是气孔和非气孔因素共同作用的结果, 光合作用显著下降及细胞结构严重受损时, 是生产上灌溉的关键时期。

关键词: 水分胁迫; 柑橘; 光合作用; 细胞超微结构

中图分类号: S666.01 文献标志码: A 文章编号: 1000 - 2286(2011)02 - 0234 - 05

Influences of Water Stress on Citrus Photosynthesis Characteristic and Cell Ultra-structure

XIE Shen-xi^{1,2}, LIU Qiang¹, XIONG Xing-yao¹, ZHANG Qiu-ming¹, Lovatt C J³

(1. College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Changsha 410128; 2. National Center of Citrus Improvement, Changsha Subcenter, Changsha 410128; 3. Department of Botany and Plant Science, University of California, Riverside, CA 92521 - 0124 USA)

Abstract: The influences of water stress on citrus photosynthesis characteristic and cell ultra-structure were systematically studied by using *P. trifoliata* (L) Raf. and *C. sinensis* S. as materials. The results showed that the water stress significantly affected net photosynthetic rate (P_n), the transpiration rate (T_r) and stoma cond (G_c) and damaged root, leaf and chloroplast ultra-structure. The damaged degree of ultra-structure was increased by water stress. Under water stress, photosynthesis turned out to be restrained as a result of the cooperation of stoma and non-stoma mechanism; when photosynthesis decreased sharply and the cells were damaged seriously, it was the critical time to irrigate in citrus production.

Key words: water stress; citrus; photosynthesis characteristic; cell ultra-structure

枳壳 [*P. trifoliata* (L.) Raf.] 和枳橙 [*C. sinensis* S.] 是柑橘的主要砧木, 并且对不同逆境有较强的适应性和抵抗能力, 加强光合作用是促进其生长发育、提高苗木质量、缩短育苗时间的决定性因素之一^[1]。光合作用是柑桔生长发育等的基础, 而且光合特性通常作为评估柑桔高产和适应性的重要指

收稿日期: 2010 - 12 - 08 修回日期: 2011 - 02 - 12

基金项目: 国家现代农业(柑橘)技术创新体系岗位科学家基金资助项目(MOT) 和科技部星火计划资助项目(2009GA77003)

作者简介: 谢深喜(1963—), 男, 教授, 博士, 主要从事果树营养生理、水分生理及生物技术在水果上的应用研究, E-mail: shenxixie@163.com。

标。水不仅是柑桔生长的重要影响因素,也是光合作用的主要原料之一。光合作用会因低土壤含水量或低空气湿度而降低^[2-3]。水分胁迫会影响植物的生长发育以及代谢过程,而光合作用对水分胁迫非常敏感^[4-5]。水分逆境条件下植物形态有明显的变化,如叶片和嫩茎萎蔫,气孔开度减小甚至关闭^[6-8]。逆境往往使细胞膜变性、龟裂,细胞的区域化被打破,原生质的性质改变,叶绿体、线粒体等细胞器结构遭到破坏^[8-12]。目前就水分胁迫对细胞超微结构影响的研究主要集中在一年生作物上,1993年姚雅琴等^[13]研究了小麦叶肉细胞超微结构变化与抗旱性的关系;于海秋、徐克章等^[14]2002年报道了土壤干旱对玉米叶片膜透性及叶绿体超微结构的影响;2010年王学文、付秋实等^[15]研究了水分胁迫对番茄生长及光合系统结构性能的影响。另外许多学者^[16-19]就水分胁迫对甘薯、黄瓜及棉花等作物的叶片与根系细胞超微结构的影响进行了广泛的研究,发现水分胁迫破坏了这些作物叶片与根系细胞的超微结构、严重减弱了光合能力。陈立松、刘星辉(2001)^[20]以荔枝为试材研究了水分胁迫对荔枝叶片超微结构的影响,发现水分胁迫造成叶绿体超微结构不同程度地受到伤害。水分胁迫下的生理反应和相关特性已经在果树中得到了广泛的研究^[10,20],但有关水分胁迫对柑橘光合特性的影响的研究还很缺乏,也未见水分胁迫对柑橘细胞超微结构影响的报道。为此,本试验通过盆栽控水法模拟不同程度的土壤水分状况,对枳橙和枳壳在不同水分胁迫处理下光合特性及叶片和根系细胞超微结构的变化进行系统研究,以期从生理生化和细胞超微结构的视角阐明水分胁迫对光合特性影响的机理,为柑橘园土壤水分管理与柑橘栽培提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

试验在广东农业科学院果树研究所进行,以湖南省农业厅良种示范场提供的1年生枳橙和枳壳苗为试材,将准备好的盆栽苗子置于广东果树研究所华南热带脱毒中心的温室中培养,按正常的管理方法对试验苗进行日常管理。

1.2 试验材料的处理

将普通河沙、棉子壳、普通菜园土按一定比例拌匀,然后放入温度为70℃的烘箱中烘干,将干燥的培养土分装到1L的培养钵中,于每盆定植1株幼苗后称质量(W_1)。充分浇水,直到培养土吸水饱和不再有水流出时,再称取苗、培养土、花盆三者的总质量(W_2),计算培养土的最大持水量 $W = W_2 - W_1$ 。

将准备好的盆栽苗置于温室中培养,待完全成活后放入温度为30℃的人工气候箱中培养30d后停止浇水,进行水分胁迫处理。水分胁迫处理的7d每隔2d称质量1次,7d后每天称质量1次(W_3),计算出土壤中的含水量和失水率,以正常浇水的盆栽苗为对照。土壤含水量 = $W_3 - W_1$; 失水率 = $[(W_3 - W_1) / W] \times 100\%$ 。

取盆栽土壤水分含量分别为最大田间持水量的60%、40%、20%(以下简称60%PC、40%PC、20%PC处理)的盆栽苗各5盆,挂牌编号,每天18:30称取盆质量,补充当天失去的水分,使各处理保持设定的相对含水量,连续控水30d后进行指标观察和测定。以正常浇水的盆栽苗为对照。

将达到试验处理要求的盆栽苗移出温室,选每株苗的当年生春梢顶端以下第3、4片叶为光合作用测样对象,取第3片叶和根尖端1~1.5cm进行细胞超微结构观察。

1.3 试验方法

1.3.1 光合作用测定 用美国LI—COR公司生产的LI—6400光合仪测定净光合速率(P_n)、气孔导度($Cond$)、蒸腾速率(T_s)等指标,光合作用日变化测定时间为从06:00—18:00,每隔2h测定1次,选择3片功能叶测量后取平均值。

1.3.2 叶片和根系细胞超微结构观察 取春梢顶端以下第3片叶,用磷酸缓冲液冲洗,凉干后取叶肉部分切成长1cm、宽0.5cm的长方形小块,然后切成细小的长条,并迅速投入pH7.2、质量分数为3%的戊二醛固定液,在室温下初固定3h,同时抽气直到切块下沉为止,并置于4℃下固定待用。每个处理重复3次。根尖端样品用同样的方法固定待用。将初步固定后的叶片和根系样品经过0.1mol/L二甲胍酸钠+30g/L多聚甲醛+30g/L戊二醛溶液和0.1mol/L二甲胍酸钠+10g/L四氧化钨溶液双固定,取出冲洗后经系列浓度的乙醇逐级脱水,环氧丙烷过度,环氧树脂Epon812包埋,Leica UCT型超

薄切片机切片(切片速度为0.05~100 mm/s,进刀精度为1 nm~15 μm,切片厚度70 nm),JEM—1010型透射电镜观察并拍照。每个处理重复3次。

2 结果与分析

2.1 不同水分胁迫处理对柑橘光合特性的影响

从表1和表2可知,不同胁迫处理使枳橙和枳壳净光合速率、气孔导度、蒸腾速率均呈下降趋势,且下降幅度为重度胁迫(20% PC) > 中度胁迫(40% PC) > 轻度胁迫(60% PC)。方差分析表明,水分胁迫处理的植株与对照之间的净光合速率、气孔导度、蒸腾速率均存在显著差异。

对照处理下,枳橙和枳壳净光合速率分别为12.9 μmol/(m²·s)和5.84 μmol/(m²·s)。60% PC处理,枳橙和枳壳净光合速率分别只有9.27 μmol/(m²·s)和3.96 μmol/(m²·s),比对照分别降低了28.14%和32.19%;40% PC处理下,枳橙和枳壳净光合速率分别只有6.08 μmol/(m²·s)和2.24 μmol/(m²·s),比对照分别降低了52.87%和61.64%;20% PC处理下,枳橙和枳壳净光合速率分别只有3.73 μmol/(m²·s)和1.62 μmol/(m²·s),比对照分别降低了71.08%和72.26%。可见,在水分胁迫下,枳橙的净光合速率下降率小于枳壳的净光合速率下降率,故枳橙对水分胁迫的敏感性小于枳壳。

20% PC处理,枳橙和枳壳气孔导度分别只有0.046 7 mol(H₂O)/(m²·s)和0.0107 mol(H₂O)/(m²·s),比对照分别降低了78.18%和80.96%,说明光合作用的抑制与气孔因素相关。

表1 水分胁迫对枳橙光合特性的影响

Tab.1 The effect of water - deficit on photosynthesis characteristics of *C. sinensis* S.

水分胁迫处理 Water - deficit treatments	净光合速率/ [μmol · (m ² · s) ⁻¹] Pn	气孔导度/ [mol(H ₂ O) · (m ² · s) ⁻¹] Cond	胞间CO ₂ 浓度/ [μmol(CO ₂) · mol ⁻¹] Ci	蒸腾速率/ [mmol(H ₂ O) · (m ² · s) ⁻¹] Tr
CK	12.9a	0.214a	274	6.11a
60% PC	9.27b	0.123b	277	2.47b
40% PC	6.08c	0.068 6c	238	2.41b
20% PC	3.73d	0.046 7d	255	1.7c

表中不同字母表示在5%水平差异显著。Different letters indicates significant differences at 5% level.

表2 水分胁迫对枳壳光合特性的影响

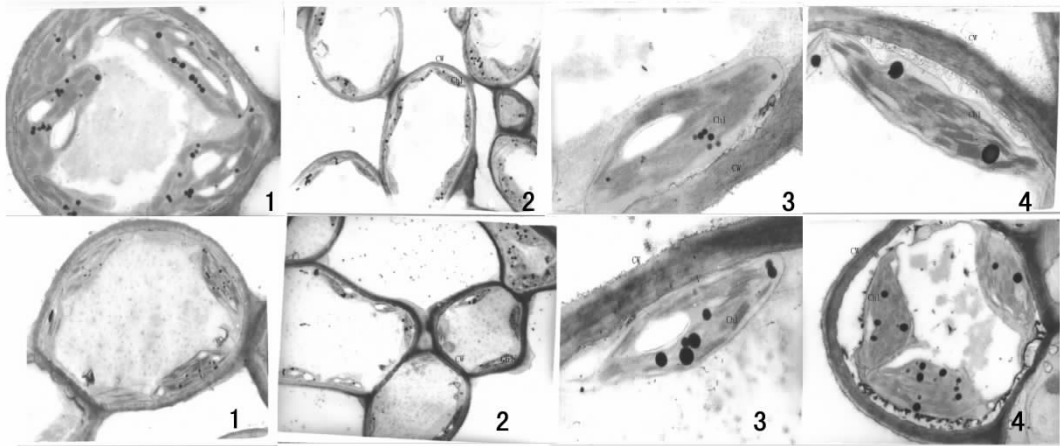
Tab.2 The effect of water - deficit on photosynthesis characteristics of *P. trifoliata* L.

水分胁迫处理 Water - deficit treatments	净光合速率/ [μmol · (m ² · s) ⁻¹] Pn	气孔导度/ [mol(H ₂ O) · (m ² · s) ⁻¹] Cond	胞间CO ₂ 浓度/ [μmol(CO ₂) · mol ⁻¹] Ci	蒸腾速率/ [mmol(H ₂ O) · (m ² · s) ⁻¹] Tr
CK	5.84a	0.056 2a	214	1.93a
60% PC	3.96b	0.037 b	214	1.25b
40% PC	2.24c	0.024 9c	243	0.824c
20% PC	1.62d	0.010 7d	194	0.265d

表中不同字母表示在5%水平差异显著。Different letters indicates significant differences at 5% level.

2.2 水分胁迫对枳壳和枳橙叶片细胞与叶绿体超微结构的影响

如图1所示,正常灌水条件下,枳壳和枳橙叶片细胞与叶绿体超微结构均表现出其应有的完整特性,细胞质与细胞壁连接紧密,叶片叶绿体片层排列整齐,在叶绿体中可见白色的淀粉粒;60% PC处理下叶片大部分细胞没有质壁分离,叶绿体结构发生变化,基粒片层略有扭曲,排列开始紊乱;40% PC处理下叶片大部分细胞刚开始质壁分离,叶片叶绿体片层紊乱,排列发生变化,基粒片层扭曲更明显,基粒片层之间的连接出现断裂,类囊体内腔膨大;20% PC处理下叶片绝大部分细胞已经质壁分离,叶绿体形状发生变化,基粒片层结构破坏,排列紊乱。



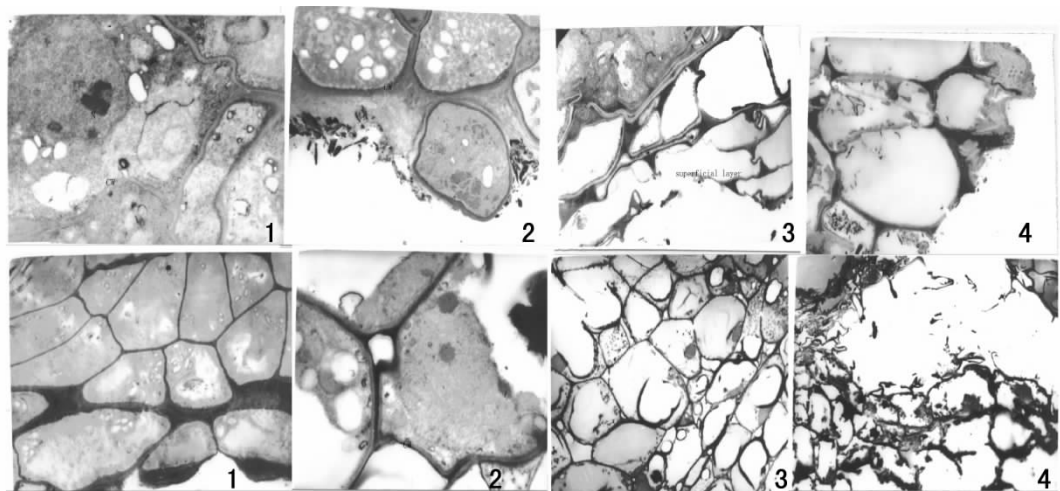
1. 对照(2 500 ×); 2. 60% PC 处理(2 500 ×); 3. 40% PC 处理(2 500 ×); 4. 20% PC 处理(2 500 ×)。
1. CK (2 500 ×); 2. 60% PC treatment (2 500 ×); 3. 40% PC treatment (2 500 ×); 4. 20% PC treatment (2 500 ×).

图1 枳壳(上)和枳橙(下)叶片细胞与叶绿体超微结构

Fig. 1 Leaf and chloroplast ultra - structure of *P. trifoliata* L. orange and *C. sinensis* S.

2.3 水分胁迫对枳壳和枳橙根系细胞超微结构的影响

如图2所示,在正常灌水处理下枳壳和枳橙根系外表皮正常、完整,无质壁分离,各细胞器清晰可见;60% PC 处理下根尖表皮细胞的液泡增大,几乎充满了整个细胞,细胞体积也增大,部分外表皮已经破坏,细胞完整,无质壁分离;40% PC 处理下根系外表皮已经破坏,细胞形状发生变化,细胞内质电子致密程度有所下降,轻微质壁分离;20% PC 处理下绝大部分细胞结构已经破坏,大部分细胞器已破坏溶解。



1. 对照(2 500 ×); 2. 60% PC 处理(2 500 ×); 3. 40% PC 处理(2 500 ×); 4. 20% PC 处理(2 500 ×)。
1. CK (2 500 ×); 2. 60% PC treatment (2 500 ×); 3. 40% PC treatment (2 500 ×); 4. 20% PC treatment (2 500 ×).

图2 枳壳(上)和枳橙(下)根系细胞超微结构

Fig. 2 Root cells ultra - structure of *P. trifoliata* L. orange and *C. sinensis* S.

3 讨论与小结

本研究发现随着土壤相对含水量的降低,柑橘叶片的净光合速率(P_n)和蒸腾速率(T_r)呈下降趋势,而气孔阻力(G_s)也呈下高的趋势,净光合速率(P_n)和蒸腾速率(T_r)的下降主要与气孔阻力(G_s)的下降有关,这与王学文等^[15,21]的研究结果一致,说明气孔限制是水分胁迫下柑橘光合作用下降的主要原因之一。土壤相对含水量在20%时净光合速率(P_n)和蒸腾速率(T_r)下降幅度很大,说明柑橘光合作用显著下降的土壤相对含水量阈值在40%~20%,是生产上灌溉的关键时期。

路丙社^[22]认为水分胁迫直接影响果树光合作用,但气孔限制并非抑制光合作用的唯一因素,随着果树叶片水势的降低,光合速率下降有一个从气孔限制向叶肉细胞光合活性限制的转变过程。因此,本试验对非气孔因素也作了相关研究。

本试验结果表明,随着水分胁迫的加强,叶肉细胞与叶绿体超微结构的受损进一步加剧,这与姚雅琴、于海秋、王学文、陈立松、陈京、周世恭、扬子荣等^[13-19]的研究结果类似。有学者就水分胁迫对黄瓜叶片与根系细胞超微结构的影响进行了广泛的研究,发现水分胁迫破坏了作物根系细胞的超微结构^[17]。本试验发现在各种水分处理下,枳橙与枳壳根系细胞的受损程度随水分胁迫的加强而加剧,与前人在不同作物上的研究结果相似。由此推断,水分胁迫条件下叶绿体超微结构的破坏以及由此引起的一系列生理生化变化是光合作用下降的重要非气孔因素。

参考文献:

- [1] David W Lawlor. Musings about the effects of environment on photosynthesis [J]. *Annals of Botany*, 2009, 103(4): 543-549.
- [2] Yanhong Zhou, Hon Ming Lam, Jianhua Zhan. Inhibition of photosynthesis and energy dissipation induced by water and high light stresses in rice [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(5): 1207-1217.
- [3] Oula Ghannoum. C4 photosynthesis and water stress [J]. *Annals of Botany*, 2009, 103(4): 635-644.
- [4] Halil Kirnak, Cengiz Kaya, Ismail TAS, et al. The influence of water deficit on vegetative growth, physiology, fruit yield and quality in eggplants Bulg [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2001, 27(4): 34-46.
- [5] Jeyaramraja P R, Meenakshi S N, Joshi S D, et al. Water deficit induced oxidative damage in tea (*Camellia sinensis*) plants [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2005, 162(5): 413-419.
- [6] Claudio Pastenes, Paula Pimentel, Jacob Lillo. Leaf movements and photoinhibition in relation to water stress in field-grown beans [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005, 56(411): 425-33.
- [7] Yasemin Ekmekcia, Andreas Bohmsb, Jennifer A Thomsonc, et al. Photochemical and antioxidant responses in the leaves of *Xerophyta viscosa* Baker and *Digitaria sanguinalis* L. under water deficit [J]. *Z Naturforsch C*, 2005, 60(6): 435-443.
- [8] Flexas J, Bota J, Galme's J, et al. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: Responses of photosynthesis and respiration to water stress [J]. *Physiologia Plantarum*, 2006, 127(3): 343-352.
- [9] Ephrath J E, Hesketh J D. The effects of drought stress on leaf elongation, photosynthesis and transpiration rates in maize (*Zea mays* L.) leaves [J]. *Photosynthetica*, 1991, 25(4): 607-619.
- [10] Kivimaenpaa M, Sutinen S, Karlsson P E. Cell structural changes in the needles of norway spruce exposed to long-term ozone and drought [J]. *Ann Bot*, 2003, 92(8): 779-793.
- [11] 黄永红, 陈学森, 冯宝春. 果树水分胁迫研究进展 [J]. *山东农业大学学报: 自然科学版*, 2005, 36(3): 481-484.
- [12] Gallé A, Haldimann P, Feller U. Photosynthetic performance and water relations in young pubescent oak (*Quercus pubescens*) trees during drought stress and recovery [J]. *New Phytol*, 2007, 174(4): 799-810.
- [13] 焦雨歆, 赵琦, 王雪英, 等. 环境因子对植物叶绿体结构的影响 [J]. *生物技术通报*, 2008(2): 5-10.
- [14] 姚雅琴, 汪沛洪, 胡东雄, 等. 水分胁迫下小麦叶肉细胞超微结构变化与抗旱性的关系 [J]. *西北植物学报*, 1993, 13(1): 16-20.
- [15] 于海秋, 徐克章, 武志海, 等. 土壤干旱对玉米叶片膜透性及叶绿体超微结构的影响 [J]. *吉林农业大学学报*, 2002, 24(3): 17-23.
- [16] 王学文, 付秋实, 王玉珏, 等. 水分胁迫对番茄生长及光合系统结构性能的影响 [J]. *中国农业大学学报*, 2010, 15(1): 7-13.
- [17] 陈京, 王枝槐, 周启贵. PEG 处理对甘薯叶肉细胞超微结构的影响 [J]. *西南师范大学学报*, 1997, 22(4): 398-404.
- [18] 周世恭, 焦根林, 吴兆明. 黄瓜根尖分生组织细胞核仁超微结构类型及缺硼的变化 [J]. *武汉植物学研究*, 1989, 7(1): 55-58.
- [19] 扬子荣, 徐楚年, 寿元, 等. 水分胁迫对棉花纤维细胞分化的超微结构及品质的影响 [J]. *华南农业大学学报*, 1992(增刊): 54-56.
- [20] 陈立松, 刘星辉. 水分胁迫对荔枝叶片超微结构的影响 [J]. *福建农业大学学报*, 2001, 30(2): 171-174.
- [21] Said Ennahli, Hugh J Earl. Physiological limitations to photosynthetic carbon assimilation in cotton under water stress [J]. *Crop Sci*, 2005, 25(2): 2374-2382.
- [22] 路丙社, 白志英, 崔建州, 等. 干旱胁迫对阿月浑子叶片光合作用的影响 [J]. *河北农业大学学报*, 2004, 17(1): 43-47.