

钙对低磷胁迫杉木叶绿素及其荧光特性的影响

吴鹏飞^{1,2}, 马祥庆^{1,2}, 邹显花^{1,2}, 侯晓龙^{1,2}, 缪丽娟¹, 蔡丽平^{1,2}
(¹福建农林大学林学院, 福州 350002; ²福建杉木研究中心, 福州 350002)

摘要:通过设计7个钙磷浓度室内水培模拟试验,进行不同钙磷胁迫杉木叶绿素及其荧光参数的比较,探讨钙对低磷环境杉木抗逆性的影响。结果表明:随着低磷胁迫时间的推移,不同钙浓度处理杉木叶绿素含量变化明显,与正常供养CK处理相比,钙对缓解低磷逆境杉木叶绿体受伤程度、保持较高光合效率有显著作用,其中钙浓度IV(2.0 mmol/L)和V(1.0 mmol/L)的这种作用尤为明显。无磷无钙VI处理条件下杉木叶片PS II反应中心破坏最为严重,且受光抑制程度最大,处理III和IV则较小。施钙可有效缓解低磷胁迫对Fm值的抑制作用。

关键词:杉木;钙浓度;磷胁迫;叶绿素含量;荧光特性

中图分类号:S791.27, Q945.78

文献标志码:A

论文编号:2011-0601

Effect of Calcium on Chlorophyll Content and Chlorophyll Fluorescence of Chinese Fir Leaves under Low Phosphorus Stress

Wu Pengfei^{1,2}, Ma Xiangqing^{1,2}, Zou Xianhua^{1,2}, Hou Xiaolong^{1,2}, Miu Lijuan¹, Cai Liping^{1,2}

(¹College of Forestry, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002;

²Chinese Fir Research Center of Fujian, Fuzhou 350002)

Abstract: To explore the effect of calcium on increasing the productivity of Chinese fir plantations in the Southern forest region with low phosphorus, the hydroponic cultures with seven different Ca levels treatments were designed. A study was carried out on the different law of chlorophyll contents and chlorophyll fluorescence characteristics among different treatments during low phosphorus stress. The differences in chlorophyll contents of Chinese fir among different Ca levels treatments became significant gradually, with the prolonging of stress time. Compared with the phosphorus sufficiency group (CK), Ca had remarkable effects on delaying the degradation of chlorophyll and maintaining relatively high level of photosynthesis efficiency, especially Ca levels in treatment IV (2.0 mmol/L) and V (1.0 mmol/L). Growing in treatment VI with no Ca and no P, PS II reaction center of Chinese fir leaves were damaged most seriously. A certain concentration of Ca could effectively relieve the inhibitory effects of low phosphorus stress on Fm.

Key words: Chinese fir; calcium levels; phosphorus stress; chlorophyll content; fluorescence characteristic

0 引言

杉木(*Cunninghamia lanceolata*)是中国南方最主要的速生用材树种之一,但其广泛分布的红壤地区对

土壤磷的强烈化学固定作用,使得林木可吸收利用的土壤有效磷极度缺乏,已造成杉木人工林产量下降日趋明显^[1-2]。林木光合作用强弱是评价人工林生产力高

基金项目:国家自然科学基金项目“耐低磷杉木基因型根系分泌有机酸对磷钙耦合胁迫的响应机制”(30970451);高等学校博士学科点专项科研基金资助课题“高效觅磷杉木基因型根系觅磷竞争中的通讯机制研究”(20103515120004);福建省自然科学基金项目“外源钙对磷高效杉木基因型适应低磷逆境的影响机制”(2010J05044);福建省教育厅项目“磷高效利用杉木基因型的筛选研究”(JK2010021)。

第一作者简介:吴鹏飞,男,1982年出生,福建莆田人,助理研究员,硕士生导师,博士,研究方向为森林培育。通信地址:350002 福建省福州市金山福建农林大学林学院, Tel: 0591-83780261, E-mail: fjwupengfei@126.com。

通讯作者:马祥庆,男,1966年出生,福建建瓯人,教授,博士生导师,博士,研究方向为森林培育。通信地址:350002 福建省福州市金山福建农林大学林学院, Tel: 0591-83789865, E-mail: lxymxq@126.com。

收稿日期:2011-03-10, **修回日期:**2011-04-18。

低的一个重要指标。吴楚等^[3]研究报道磷胁迫对水曲柳 (*Fraxinus mandchurica*) 幼苗叶绿素合成有明显抑制作用。徐向华等^[4]发现低磷条件下马尾松 (*Pinus massoniana*) 叶绿素含量降低直接导致净光合速率下降。王剑等^[5]研究表明不同磷效率马褂木 (*Liriodendron chinense*) 种源中,低磷效率种源叶绿素含量受磷胁迫的影响大。笔者前期研究发现均一性和局部供磷胁迫条件下磷利用效率较低杉木无性系叶片光合色素含量明显下降^[6]。可见,如何提高低磷胁迫条件下杉木光合能力是缓解杉木人工林生产力下降的重要途径之一。

许多研究表明:植物胞内 Ca^{2+} 浓度的生理周期性变化规律与日照长度、光合作用及其代谢活动密切相关,通过外施适量钙肥可调节胞内 Ca^{2+} 浓度,诱导激活下游生理活动以增强植物抗逆性^[7-8]。Juice 等^[9]研究表明施用钙肥可促进糖槭 (*Acer saccharum*) 叶片叶绿素含量显著增加。Kulmatiski 等^[10]研究报道美国云杉 (*Picea ruben*) 和香脂冷杉 (*Abies balsamea*) 人工林在施加钙肥之后,地上部净光合产量可增加 21%~25%。在酸雨素导致土壤钙大量流失的林地施加钙肥,可有效提高糖槭、美洲椴 (*Tilia americana*) 等林木人工林的生产力^[11-12]。然而,目前有关低磷环境施用钙肥对缓解杉木人工林地力下降方面的研究尚未见报^[13]。

因此,笔者通过设计 7 个不同钙磷浓度的室内水培模拟试验,进行不同钙浓度对低磷胁迫条件下杉木叶绿素含量及叶绿素荧光特性影响的比较,分析外施钙对低磷胁迫条件下杉木生长的作用,旨在为提高杉木的光合作用,促进南方低磷山地杉木的速生丰产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选择福建农林大学林学院杉木研究中心培育的长势均一、无病害的同一杉木基因型 1 年生苗木为供试材料。

1.2 研究方法

1.2.1 试验设计 采用口径 30 cm、体积 4 L 的塑料容器进行营养液培养试验。设计 7 个不同钙磷浓度处理(表 1),根据 Hoagland 不完全营养液配方^[14],施加其他营养元素,以保证杉木对其他养分的需求;对照处理的营养元素按 Hoagland 完全营养液配方^[14]。每个处理均设 4 个重复。培养期间每天通气 3 次,每次 6 min。每周换一次培养液。培养液 pH 调节至 5.5。

1.2.2 测定方法 叶绿素含量测定采用张宪政的乙醇-丙酮提取法^[15]。叶绿素荧光参数采用 OS-30P 荧光仪(Li-Cor 公司,美国)测定。叶绿素荧光是研究植物光合生理与逆境胁迫关系的理想探针,通过对各种荧光参数分析可获得有关光能利用途径的信息^[16]。目前利用荧光分析方法

表 1 不同钙磷浓度处理 mmol/L

处理	磷浓度		
	钙浓度 [Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O]	KH ₂ PO ₄	KCl
I	7.0	0	0.5
II	5.0	0	0.5
III	3.0	0	0.5
IV	2.0	0	0.5
V	1.0	0	0.5
VI	0	0	0.5
CK	3.0	0.5	0

进行水分^[17]、酸雨^[18]及磷胁迫^[19]等逆境对植物光合作用影响的研究已有报道。其中,固定荧光 F_0 和最大荧光 F_m 分别表示 PS II 反应中心处于完全开放和完全关闭时的荧光产量, F_0 可以表示逆境对作物叶片 PS II 永久性伤害,其值增加可以看成是 PS II 反应中心不可逆破坏或可逆失活的结果。 F_m 反映通过 PS II 的电子传递情况, F_v 可作为 PS II 光化学反应中心活性大小的相对指标,即反映 PS II 活性的变化。 F_v/F_m 是 PS II 最大光化学量子产量,它反映 PS II 中心的光能转化效率,在非胁迫条件下该参数的变化极小,胁迫条件下该参数明显下降^[20]。

1.2.3 数据统计 所有样品均重复测定 3 次,采用 EXCEL 和 SPSS12.0 数据分析软件进行数据处理,试验结果为平均值±标准差。

2 结果与分析

2.1 钙对低磷胁迫杉木叶绿素含量的影响

2.1.1 不同钙磷浓度条件下杉木叶绿素 a 含量的比较 不同钙浓度处理条件下杉木叶绿素 a 含量变化规律差异明显(图 1)。随着低磷胁迫时间的推移,处理 I、VI 叶绿素 a 呈先升高后降低的变化趋势,其中处理 I 的幅度比较大,处理 VI 的幅度较小;处理 II、III、V 呈先降低后升高,最后再降低的趋势变化;而处理 IV 则呈先升高后降低的变化趋势,但变化幅度最小,其 4 月 12 日测定的叶绿素 a 含量处于最高峰,仅比 4 月 6 日测得多了 4.29%,说明处理 IV 供应的钙浓度对维持逆境杉木稳定生长有重要作用。总体上来看,随着低磷胁迫时间的延长,不同处理杉木叶绿素 a 含量均呈下降趋势。

不同处理 4 个不同胁迫阶段叶绿素 a 含量平均值的高低依次为,处理 IV > V > II > I > VI > III > CK, 其中 CK 分别是处理 IV 与 III 的 84.73% 和 96.20%。可见,与正常供磷条件下杉木叶绿素 a 的含量相比,低磷胁迫逆境杉木叶绿素 a 含量有所增加,说明叶绿素 a 含量增加可能是杉木适应低磷逆境的一种生理机制反应。此外,不同钙浓度处理中叶绿素 a 含量差异较大,其中处理 IV 最

大,比处理Ⅲ多了11.93%,表明处理Ⅳ最有助于促进低磷逆境杉木叶绿素a的合成以提高其抗逆性。

2.1.2 不同钙磷浓度条件下杉木叶绿素b含量的比较 不同钙浓度处理条件下杉木叶绿素b含量变化规律差异不明显(图2)。低磷胁迫初期,除处理Ⅰ叶绿素b含量呈上升趋势外,其余处理均呈下降趋势;随着胁迫时间的延长,不同处理叶绿素b含量均有不同程度的上升;至胁迫末期,除CK叶绿素b含量略有增加,其他处理均呈下降变化趋势。从不同处理4个不同胁迫阶段叶绿素b含量的变化幅度来看,处理Ⅲ高低变化最为明显,其4月21日测得值处于最高峰,比4月12日测的大了47.56%;CK处理条件下叶绿素b含量变化幅度最小,最高峰与最低谷值仅差0.0353 mg/L;处理Ⅳ变化幅度与CK相近,最高值与最低值相差0.0430 mg/L。这说明低磷胁迫条件下,处理Ⅳ的钙浓度对维持逆境杉木稳定生长有积极作用。

不同处理4个不同胁迫阶段叶绿素b含量平均值存在较大差异(图2),其高低依次表现为,处理Ⅴ>Ⅳ>Ⅱ>Ⅰ>Ⅵ>Ⅲ>CK,其中CK分别比处理Ⅳ和Ⅲ小了0.0924 mg/L和0.0202 mg/L。这表现出与不同处理叶绿素a含量差异变化相似的规律,说明低磷胁迫逆境杉木叶绿素b合成速度有所加快,从而使其适应逆境能力增强。然而,不同钙浓度处理中叶绿素b含量差异显著,其中处理Ⅴ最大;处理Ⅳ次之,仅比前者少了3.22%。可见,不同处理中Ⅴ和Ⅳ所供钙浓度较有助于加快低磷逆境杉木叶绿素b的合成。

2.1.3 不同钙磷浓度条件下杉木叶绿素总量的比较 不同钙浓度处理条件下杉木叶绿素含量变化规律差异较不明显(图3)。随着低磷胁迫时间延长,处理Ⅰ叶绿素总量先上升后下降;而CK处理则表现出与前者相反的变化趋势;其余处理均呈先下降后上升,最后再下降的

趋势,其中处理Ⅳ的变化幅度最不明显,其4个不同胁迫阶段中4月6日测得的叶绿素含量最低。与正常供磷的CK处理相比,除处理Ⅳ叶绿素总量随胁迫时间变化幅度与之相仿,其他处理变化幅度均较大。这说明不同低磷胁迫的处理中Ⅳ供应的钙浓度有助于维持杉木在逆境中稳定生长。

不同处理4个不同胁迫阶段叶绿素总量平均值差异显著(图3),其高低排序为处理Ⅴ>Ⅳ>Ⅱ>Ⅰ>Ⅵ>Ⅲ>CK,表现出与不同处理叶绿素b含量差异变化相同的规律。其中与正常供磷CK的叶绿素总量相比,低磷胁迫处理均明显增多,确证了低磷胁迫逆境杉木加快叶绿素总量合成速度以适应逆境。然而,不同钙浓度处理中叶绿素总量差异较大,其中处理Ⅴ和Ⅳ位居前二位,其值均为不供钙处理Ⅵ的1.10倍。表明处理Ⅴ和Ⅳ的钙浓度较有助于调节低磷逆境杉木叶绿素合成的生理生化过程,降低叶绿素受伤程度,有利光合作用。

2.2 钙对低磷胁迫杉木叶绿素荧光特性的影响

2.2.1 不同钙磷浓度条件下杉木叶绿素荧光Fo值的比较 不同处理条件下杉木叶片Fo值差异较为明显(图4)。低磷胁迫期间,处理Ⅰ和Ⅵ呈现先降低后升高,最后再降低的趋势变化,其中处理Ⅵ的变化幅度较大。处理Ⅲ和Ⅴ表现为4月6日和4月18号达到最高峰,呈双峰变化。处理Ⅳ的Fo值小于其他处理并呈缓慢上升趋势。通过对4月6号与4月11号Fo比较分析,不同低磷胁迫处理条件下杉木叶片Fo值先后分别增加1.6、1.0、-2.0、0.9、-2.6、3.4,正常供磷CK处理下降了0.1。可见处理Ⅵ杉木叶片的PSⅡ反应中心破坏最为严重。随着胁迫时间的延长,从不同处理4个不同胁迫阶段叶片Fo值的平均值来看,处理Ⅳ维持最低状态;处理Ⅰ最高,是前者的1.22倍。说明不同处理条件下杉木均感受到了低磷逆境胁迫,但可能是因为培养液中钙素对杉木

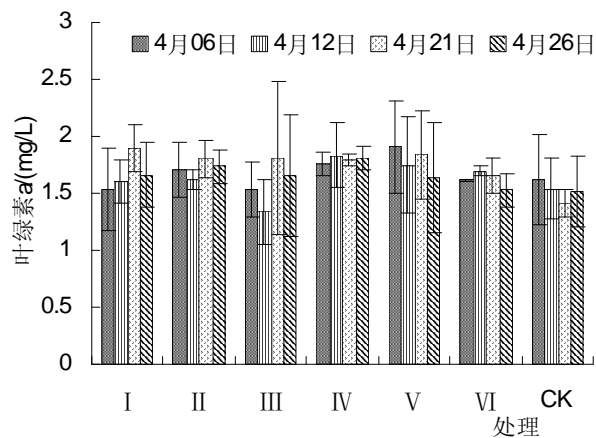


图1 不同处理对杉木叶绿素a含量的影响

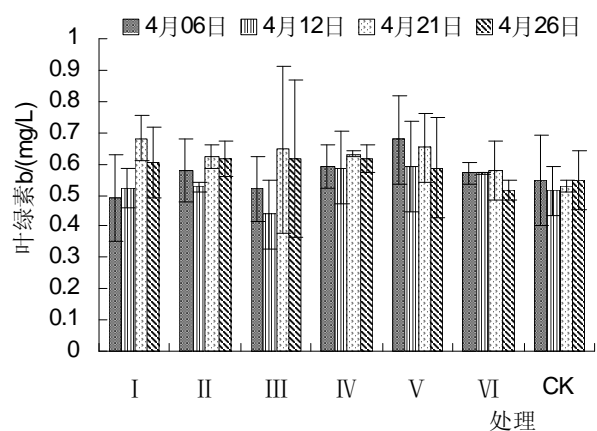


图2 不同处理对杉木叶绿素b含量的影响

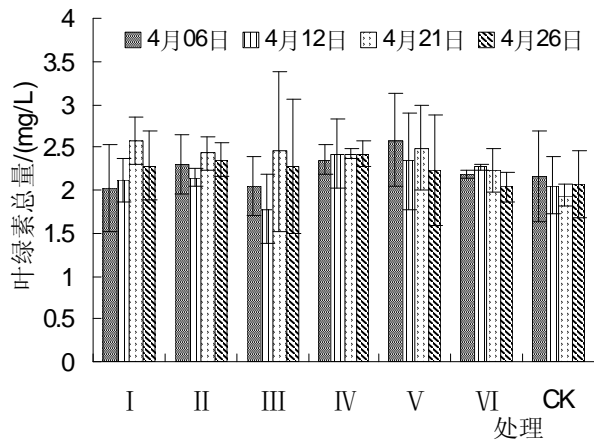


图3 不同处理对杉木叶绿素总量的影响

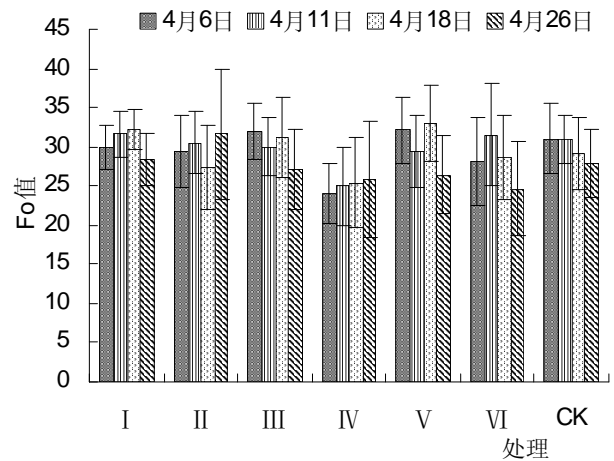


图4 不同处理对杉木叶片 Fo 值的影响

生理活动的调节作用,缓解了生长环境缺磷的困境,其中处理IV的钙浓度较有助于降低叶绿体的受伤程度。

2.2.2 不同钙磷浓度条件下杉木叶绿素荧光 *Fm* 值的比较 从图5可以看出,随着胁迫时间的推移,处理 I、II、IV、VI的 *Fm* 值表现出先降低后升高,最后再降低的变化趋势。处理 III 和 CK 的 *Fm* 值呈下降趋势,幅度比较小。而处理 V 的 *Fm* 值则表现出升、降、再升、最后再低的变化趋势。不同处理 4 个不同胁迫阶段 *Fm* 测定值变化幅度差异明显。与 4 月 6 日首次测定的 *Fm* 值比较,不同处理 4 月 11 日测定值中,只有处理 III 和 V 分别降低 5.8 和 9.9,说明处理 V 受到抑制程度比较大,而处理 III 较小;不同处理 4 月 18 日测定时,不同低磷胁迫处理分别降低了 4.9、16.6、13.2、-2.5、8.0、4.6,正常供磷 CK 下降了 12.0,可见处理 II 受到抑制程度最大;胁迫末期 4 月 26 号测定时,不同低磷胁迫处理分别降低了 22.1、18.4、5.4、6.1、24.9、26.5,CK 处理下降了 29.9,表明不同低磷胁迫处理条件下 VI 受到抑制程度最大,处理 III 和 IV 则较小,然而,与 CK 处理相比,可以看出低磷胁迫下一定浓度的钙处

理可以有效缓解胁迫对 *Fm* 的抑制作用。

2.2.3 不同钙磷浓度条件下杉木叶绿素荧光 *Fv/Fm* 值的比较 不同处理条件下杉木叶片 *Fv/Fm* 值差异规律不明显(图6)。随着低磷胁迫时间的延长,不同处理 4 个不同胁迫阶段测定的 *Fv/Fm* 值均呈下降趋势,但变化幅度较小。从不同处理 4 次杉木叶片 *Fv/Fm* 测定平均值来看,最大值与最小值仅差 0.0084,可见不同处理间光合效率差异不显著,说明杉木对低磷逆境反应较为敏感,不同处理条件下杉木叶片均能保持较高活力。这可能是由于低磷胁迫时间不长,杉木作为中国南方速生丰产优良针叶树种,在其叶片衰老之前均能维持较好的光合效率,有关其生理机制需进一步研究。

3 结论与讨论

钙是植物生长发育必需的营养元素之一,也是植物代谢和发育的主要调控者^[21]。适量外源钙(0.4 mmol/L)可保持枇杷(*Eriobotrya japonica*)叶片细胞结构稳定,有效保护线粒体、叶绿体等细胞器^[22]。在缺磷条件下,处理 V(1.0 mmol/L)和 IV(2.0 mmol/L)的

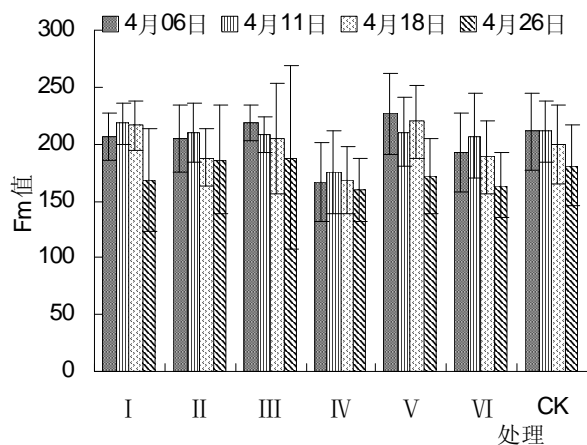


图5 不同处理对杉木叶片 *Fm* 值的影响

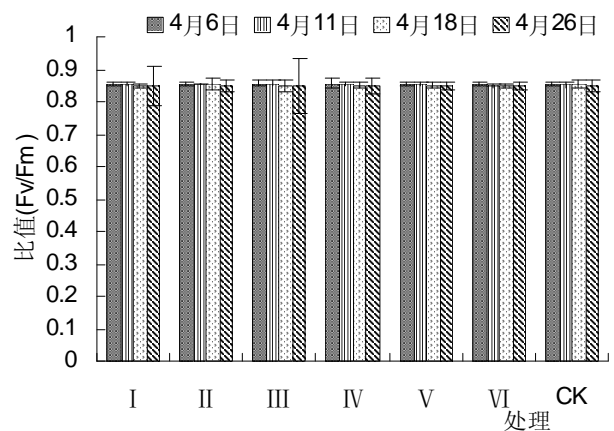


图6 不同处理对杉木叶片 *Fv/Fm* 值的影响

钙浓度有效降低了叶绿体受伤程度。钙对维持胞内Ca-ATP酶活性、增强捕获光能和调控光合效率等方面具重要促进作用^[23]。根际低氧胁迫下,提高钙浓度可使黄瓜(*Cucumis sativus*)PSII反应中心恢复至接近甚至高于正常水平,从而有效缓解根际低氧胁迫对黄瓜幼苗造成的伤害^[24]。笔者研究表明,缺磷缺钙处理条件下杉木叶片PS II反应中心破坏最为严重,且受光抑制程度最大,加钙处理则可有效缓解营养胁迫对光合系统电子传递能力 F_m 的抑制作用,适量加钙处理Ⅲ(3.0 mmol/L)和Ⅳ(2.0 mmol/L)的这种作用尤为明显。

然而,钙过量可能破坏光合系统膜结构,阻碍电子传递链,降低叶片光能利用效率^[25]。过低(0.01 mmol/L)和过高(3.2 mmol/L)钙处理的枇杷叶片线粒体、叶绿体等细胞器及细胞壁都受到不同程度的破坏,被膜不清晰。研究中,缺磷逆境不同施钙处理条件下杉木叶绿素总量高低排序为处理V(1.0 mmol/L)>Ⅳ(2.0 mmol/L)>Ⅱ(5.0 mmol/L)>Ⅰ(7.0 mmol/L)>Ⅵ(0 mmol/L)>Ⅲ(3.0 mmol/L),可见与处理V和Ⅳ的钙浓度相比,高钙或缺钙处理对提高杉木叶片光合作用以抵抗低磷胁迫的能力均较弱。

综上所述,缺磷条件下,缺钙处理杉木叶绿素a、叶绿素b及总量明显降低,适宜外源钙有助于调节低磷逆境杉木叶绿素合成的生理生化过程,缓解了胁迫对叶片PS II反应中心的破坏程度。但目前有关植物耐低磷和钙代谢往往是作为独立因子进行研究,由于不同植物或同种植物不同基因型对钙的需求存在明显差异^[25],因此今后极有必要利用胁迫植物学和植物生理生态学的原理和方法,通过磷钙耦合胁迫来深入探讨钙在不同磷、钙利用效率杉木基因型对营养胁迫生理响应中的作用。

参考文献

- [1] 吴蔚东,张桃林,高超,等.红壤地区杉木人工林土壤肥力质量性状的演变[J].土壤学报,2001,38(3):285-294.
- [2] 盛炜彤,范少辉,俞元春,等.杉木人工林长期生产力保持机制研究[M].北京:科学出版社,2005.
- [3] 吴楚,范志强,王政权.磷胁迫对水曲柳幼苗叶绿素合成、光合作用和生物量分配格局的影响[J].应用生态学报,2004,15(6):935-940.
- [4] 徐向华,丁贵杰.马尾松适应低磷胁迫的生理生化响应[J].林业科学,2006,42(9):24-28.
- [5] 王剑,周志春,饶龙兵,等.不同磷效率马褂木种源对磷胁迫的生理反应[J].林业科学研究,2006,19(4):527-531.
- [6] 吴鹏飞.P高效利用杉木无性系适应环境磷胁迫的机制研究[D].福州:福建农林大学,2009.
- [7] Love J, Webb A A R. Circadian and diurnal calcium oscillations encode photoperiodic information in Arabidopsis[J]. Plant Cell, 2004(16):956-966.
- [8] Dodd A N, Salathia N, Hall A, et al. Plant circadian clocks increase photosynthesis, growth, survival, and competitive advantage[J]. Science,2005(309):630-633.
- [9] Juice S M, Fahey T J, Siccama T G, et al. Response of sugar maple to calcium addition to Northern Hardwood Forest[J]. Ecology, 2006,87(5):1267-1280.
- [10] Kulmatiski A, Vogt K A, Vogt D J, et al. Nitrogen and calcium additions increase forest growth in northeastern USA spruce-fir forests[J]. Canadian Journal of Forest Research,2007,37(9):1574-1585.
- [11] Bigelow S W, Canham C D. Nutrient limitation of juvenile trees in a northern hardwood forest: Calcium and nitrate are preeminent[J]. Forest Ecology and Management,2007(243):310-319.
- [12] Page B D, Mitchell M J. Influences of a calcium gradient on soil inorganic nitrogen in the Adirondack mountains, New York[J]. Ecological Applications,2008,18(7):1604-1614.
- [13] 马祥庆.杉木人工林连栽生产力下降研究进展[J].福建林学院学报,2001,21(4):380-384.
- [14] 张福锁.环境胁迫与植物根际营养[M].北京:中国农业出版社,1998.
- [15] 中国科学院上海植物生理研究所.现代植物生理学实验指南[M].北京:科学出版社,2004.
- [16] 张彩虹,刘慧英,于秀针.硒对低温胁迫下番茄幼苗叶片光合特性与叶绿素荧光参数的影响[J].中国农学通报,2010,26(5):152-157.
- [17] 杨玉珍,陈刚,彭方仁.干旱胁迫对不同种源香椿主要叶绿素荧光参数的影响[J].东北林业大学学报,2010,38(7):49-51.
- [18] 殷秀敏,伊力塔,余树全,等.酸雨胁迫对木荷叶片气体交换和叶绿素荧光参数的影响[J].生态环境学报,2010,19(7):1556-1562.
- [19] 王菲,曹翠玲.磷水平对不同磷效率小麦叶绿素荧光参数的影响[J].植物营养与肥料学报,2010,16(3):758-762.
- [20] 杨军,马振峰,刘桂华.钾营养对柰李叶片光合作用及叶绿素荧光的影响[J].中国农学通报,2010,26(20):238-244.
- [21] 刘雪琴,全瑞建,施佳妮.外源Ca²⁺对盐胁迫下玉米萌发与幼苗生长的影响[J].中国农学通报,2010,26(17):197-200.
- [22] 廖汝玉,尹兰香,金光,等.不同浓度钙处理对枇杷小苗叶片细胞超微结构及叶绿体色素含量的影响[J].福建农业学报,2008,23(3):302-305.
- [23] 梁文娟,艾希珍,王美玲,等.钙对亚适温弱光下黄瓜幼苗Ca²⁺分布及叶绿素荧光参数的影响[J].西北植物学报,2009,29(6):1226-1232.
- [24] 王旭,郭世荣,李军,等.Ca²⁺对根际低氧胁迫下黄瓜幼苗生长和叶片荧光特性的影响[J].西北植物学报,2007,27(5):0962-0969.
- [25] 王跃华,张丽霞,孙其远.钙过量对茶树光合特性及叶绿体超微结构的影响[J].植物营养与肥料学报,2010,16(2):432-438.