

植物品种净光合速率测定的取样技术——以苕麻 (*Boehmeria nivea* (L.) Gaud.) 为例^{*1}

刘飞虎

(云南大学 生命科学学院, 云南 昆明 650091)

摘要: 植物净光合速率(Pn)测定的取样技术决定结果的可靠性,但很少有文献专门论述.为此,分析苕麻 Pn 的日变化、个体间、叶位间和叶片不同位点的差异,结果表明:1 天中苕麻 Pn 在 11:00 左右达到最高值,此后迅速降低,虽在下午可能回升,但不同品种有差异;品种内个体间 Pn 差异显著;不同叶位以顶部展开叶往下数第 5~7 叶 Pn 最高;叶片不同位点的 Pn 差异不显著.据此建议苕麻品种的 Pn 测定在上午 9:00~11:00 进行;每个品种/处理至少选择 5 个生长一致的正常植株,测定从植株顶部展开叶往下数第 5~7 叶近叶尖位置的 Pn. 还要特别注意植株的代表性和不同品种/处理/植株的叶位统一,叶片颜色、形状正常,无病虫害.

关键词: 净光合速率日变化;取样;个体;叶位;叶片位点

中图分类号: Q 948.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-7971(2010)02-0221-06

光合作用是植物物质生产的基本过程,因此成为植物生理学的热点,有关的研究文献浩瀚.植物生产能力的改良,人们最关注的是光合作用能力的提高,因此如何正确、客观地比较植物的光合能力就显得十分重要.净光合速率(Pn)是表征植物光合能力的主要指标^[1].以 LiCor 系列为代表的高精度便携式快速光合作用分析仪广泛应用,测定植物 Pn 成为较为简单的事情了^[2].但正确比较植物 Pn 涉及到诸多影响因素,除供试材料的培育、仪器的正确使用、环境条件的控制以外^[3],在具体测定过程中涉及到的技术问题成为结果正确与否的决定因素,其中至少有 1 天中的测定时间、必要的个体数、叶片的生理状态(叶位或叶龄)、大/长叶植物的叶片测定位点等不可忽视的问题.其中 Pn 日变化(据此可以确定 1 天中测定时间的合理性)研究较多^[4-9],叶龄/叶位对 Pn 的响应也常见诸文献^[10-14],但大/长叶片的测定位点和一个群体内必

要的测定个体数等罕见论及,尤其是缺乏对上述问题的综合分析.

苕麻是最重要的麻类作物之一,适应热带和亚热带及暖温带气候,其茎较高(通常高度 1~2 m),叶片较大(一般大于 100 cm²)、互生、具有典型的层次特点.本文在测定苕麻品种 Pn 的日变化、叶位/叶龄差异、植株(个体)间差异和叶片不同位点的差异基础上,分析苕麻及类似植物 Pn 测定中的取样问题,并对相关问题进行讨论,提出 Pn 测定的时间(亦与环境控制有关)和取样技术建议供参考.

1 材料与方法

供试材料为在昆明室外盆栽(30 cm × 25 cm)第 2 年、生长旺盛的 4 个苕麻(*Boehmeria nivea* (L.) Gaud.)品种:SS370(雄性不育系)、湘苕 5 号(Xiang5)、宁都苕麻(Ningdu)和细叶青(Xiye).栽

* 收稿日期:2009-07-11

基金项目:国家科技基础条件平台建设子项目“重要野生植物种质资源采集保存技术规范 and 标准研制及整合共享”(2005DKA21006)资助.

作者简介:刘飞虎(1958-),男,博士,教授,博士生导师,主要从事作物育种和栽培生理方面的研究, E-mail: plantbreed2004@yahoo.com.cn.

培基质肥力一致,对供试材料给予正常水肥管理,保证水肥充足,植株生长正常.

2005 年 7 月中旬(苧麻快速生长期),用美国 LiCor - 6400 型便携式光合作用系统(Li - Cor, Inc., Lincoln, NE)于室外测定供试材料的 Pn(被测叶面积 6 cm^2 , 气体流速 $400 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$, 气孔比率 0.5),当样品室二氧化碳浓度稳定时记录 Pn 数据^[15],同时记录气孔导度(g_s)、胞间 CO₂ 浓度(Ci)、蒸腾速率(Tr)、基于叶温的蒸汽压差(V_{p-d})、叶温、气温、大气 CO₂ 浓度(Ca)、大气相对湿度(RH)和光合有效辐射(PAR)等生理生态因子.

1.1 不同叶位叶片净光合速率测定 从湘苧 5 号品种选择 3 个生长一致的植株,分别在同一晴朗天的上午(9:30 ~ 10:30, 气温 26 ~ 28 °C, RH 25% ~ 28%, Ca $380 \sim 382 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$, PAR $1250 \sim 1350 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)、中午(13:00 ~ 14:00, 气温 32 ~ 33 °C, RH 12% ~ 14%, Ca $377 \sim 380 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$, PAR $1700 \sim 1850 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)和下午(16:00 ~ 17:00, 气温 32.5 ~ 33.5 °C, RH 11.6% ~ 14%, Ca $377 \sim 380 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$, PAR $1050 \sim 1400 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)测定植株顶部完全展开叶往下数第 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17 叶叶尖位置的 Pn(第 1 叶的叶面积因小于仪器叶室面积而未予测定),每隔 5 s 纪录 1 个数据,每片叶记录 5 个数据.

1.2 叶片不同位点净光合速率测定 4 个品种,3 株/品种,每株 1 叶(第 5 叶),于上午 9:30 ~ 11:00 (晴朗天气,气温 26.8 ~ 29 °C, RH 16.5% ~ 20%, Ca $380 \sim 383 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$, PAR $1400 \sim 1600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)每片叶测定 5 个位点(叶正面朝上,分为右上部 Site1、右下部 Site2、叶尖附近 Site3、左下部 Site4 和左上部 Site5,图 1)的 Pn,每隔 5 s 纪录 1 个数据,每个位点记录 5 个数据.

1.3 品种内不同植株(个体)叶片净光合速率测定 4 个品种,6 株/品种,每株 4 叶(第 5 ~ 8 叶),于晴朗天上午 9:00 ~ 11:00(气温 21.6 ~ 24 °C, RH 56% ~ 68%, Ca $360 \sim 365 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$, 根据光合-光强响应分析结果确定人工光源 PAR $1000 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)测定叶片 Pn,每隔 5 s 纪录 1 个数据,每片叶记录 5 个数据.

1.4 叶片净光合速率日变化测定 选择晴朗无云天气,从 7:00 ~ 19:00,每小时测定 1 次叶片 Pn;4

个品种,3 株/品种,每株 1 叶(第 5/6 叶),每隔 5 s 纪录 1 个数据,每叶记录 5 个数据. 温度、光照和相对湿度均随自然而变.

1.5 数据统计分析 计算每叶或每个叶位点的 Pn 平均值,采用 Statistica6.0 软件完成统计分析和绘图,图中变异棒为 Mean \pm SD.

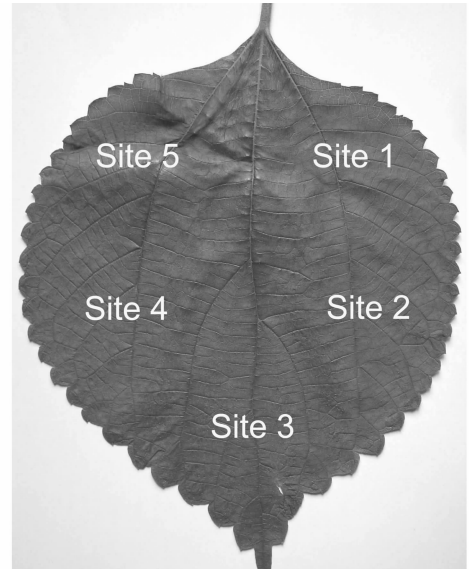


图 1 苧麻叶片不同位点净光合速率测定示意

Fig. 1 Test sites on ramie leaf for Pn measurement

2 结果与分析

2.1 不同叶位叶片的净光合速率 由于不同叶位叶片在植株上所处的空间层次不同,发育程度不同,苧麻不同叶位叶片的 Pn 差异显著(图 2). 我们在测定的时候注意避免了不同叶位叶片受光的差异,因图 2 中的 Pn 差异基本反映了叶片发育状态和生理机能的差异. 顶部叶片(第 5 叶以前)尚未发育成熟,光合能力不足;而中、下部叶片趋向衰老,光合功能减退. 从图 3A 看出,第 3 叶和第 13 ~ 17 叶胞间 CO₂ 浓度较高而 Pn 较低,是光合作用的羧化能力低所致. 相同植株的叶片,上午、中午和下午的 Pn 响应曲线差异明显. 上午除第 5 叶外,第 7 ~ 13 叶也表现较高的 Pn,而中午和下午从第 7 叶开始其 Pn 一路下降,反映了第 7 ~ 13 叶对环境胁迫(参见材料与方法 1)的高度敏感性,表现为气孔导度呈线性下降,而且叶片越趋向衰老(叶位越低)这种敏感性越高,Pn 降低越多(图 2, 3B).

2.2 叶片不同位点的净光合速率 苧麻叶片较

大,而 LiCor-6400 光合仪测定的叶面积一般为 $2\text{ cm} \times 3\text{ cm}$,因此存在测定的叶片位点问题. 实验结果表明,选择生长正常、形状基本对称的叶片,不同测定位点的 P_n 差异不显著,并且各个测定位点的 P_n 能反映品种的差异(表1). 虽然叶片不同位点的 P_n 测定值差异不明显,但为了方便取样和数据比较,实际测定中以固定一个位点为佳,而从各品种的 P_n 稳定性(SD 较小)来看,以叶尖部位较好(Site3,见图1).

2.3 不同植株(个体)的叶片净光合速率 尽管我们在品种内部选择生长一致、正常的植株,而且以相同叶位叶片为测定对象,其结果还是发现品种内不同单株(个体)的 P_n 差异明显,其中宁都苧麻和细叶青的株间差异尤其大(图4). 在这种情况下,只有通过增加测定的单株数,才可能比较客观地分析品种间 P_n 的差异(当然如能增加生育期的测定次数则更佳,但有时因仪器周转等原因难以做到). 反之,如图4所示,如果只测定了第2~4株

的 P_n ,用以比较品种差异,则难以反映品种间应有的差异(由于 P_n 原始数据的株间差异大而掩盖品种间 P_n 差异).

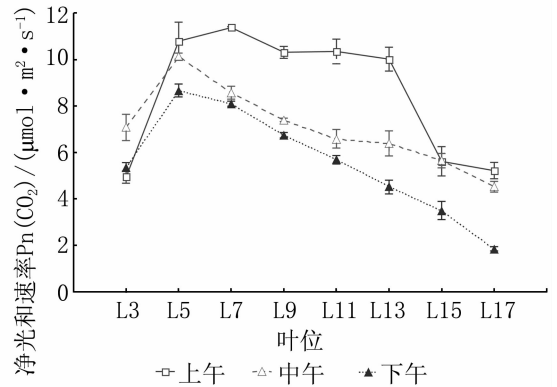


图2 苧麻不同叶位叶片净光合速率(P_n)的上午(9:30~10:30)、中午(13:00~14:00)、下午(16:00~17:00)测定结果

Fig. 2 P_n values of leaves at different position in ramie tested in the morning (9:30—10:30), at noon (13:00—14:00) and in the afternoon (16:00—17:00)

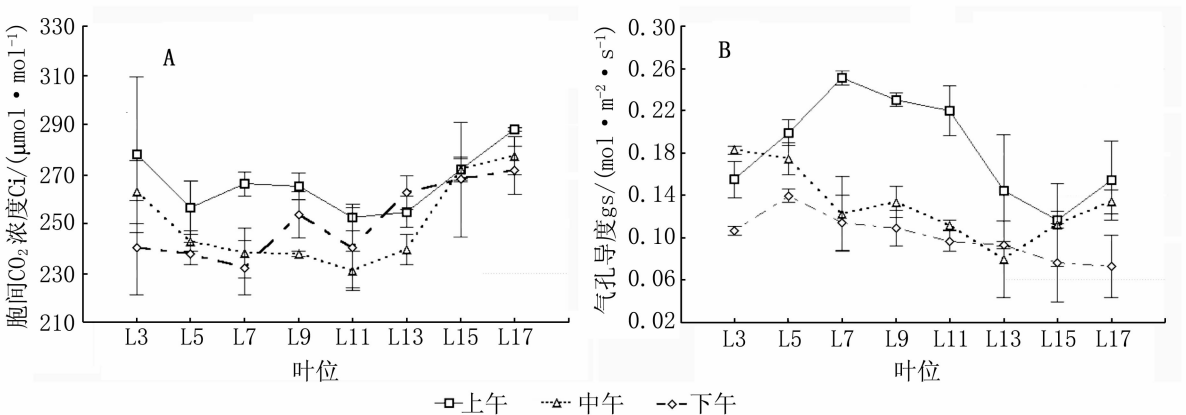


图3 苧麻不同叶位叶片的胞间 CO_2 浓度(A)和气孔导度(B)的变化

Fig. 3 Appearances of intercellular CO_2 concentration (C_i , A) and stomatal conductance (g_s , B) in ramie leaves of different position

表1 苧麻叶片不同位点的净光合速率($P_n(\text{CO}_2)$, $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)比较

Tab. 1 P_n values at different test sites on leaf of ramie cultivars ($\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)

测定位点	SS370	细叶青	宁都苧麻	湘苧5号
Site 1	9.96 ± 0.63 a	13.02 ± 1.37 a	9.26 ± 0.55 a	6.16 ± 1.14 a
Site 2	10.25 ± 0.31 a	13.77 ± 2.67 a	9.87 ± 1.10 a	5.92 ± 1.55 a
Site 3	8.94 ± 1.46 a	12.07 ± 0.72 a	8.98 ± 0.74 a	6.59 ± 0.79 a
Site 4	9.29 ± 1.79 a	12.21 ± 2.31 a	9.99 ± 0.33 a	6.90 ± 0.65 a
Site 5	9.83 ± 0.77 a	12.43 ± 2.91 a	9.19 ± 0.46 a	6.38 ± 0.72 a

2.4 叶片净光合速率日变化 由于1天之中影响植物光合作用的环境因子(CO₂、光照、温度、水分等)的周期性变化和波动(图5),而不同品种对环境因子变化的响应基本一致,故表现出基本相同的Pn日变化曲线(图6A),而Pn的日变化曲线与气孔导度和胞间CO₂浓度分别呈正、负相关性(图6B).4个品种中,宁都苧麻自11:00开始Pn一路下降,而另3个品种的Pn在下午16:00有一个升高的过程,呈所谓的“双峰曲线”.所有品种均在9:00~12:00表现较高的Pn,而且品种间差异体现也较充分,因此认为在这个时段测定品种间Pn差异较为合适(图6A).

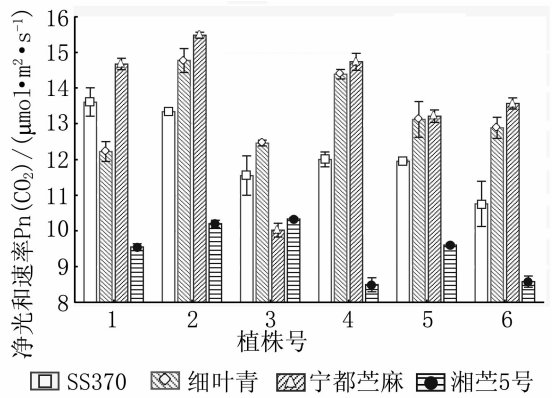


图4 苧麻不同单株(个体)的叶片净光合速率(Pn)

Fig. 4 Pn values of different individual plants within ramie cultivars

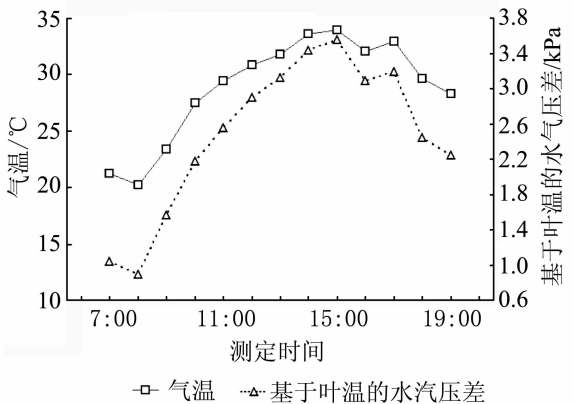
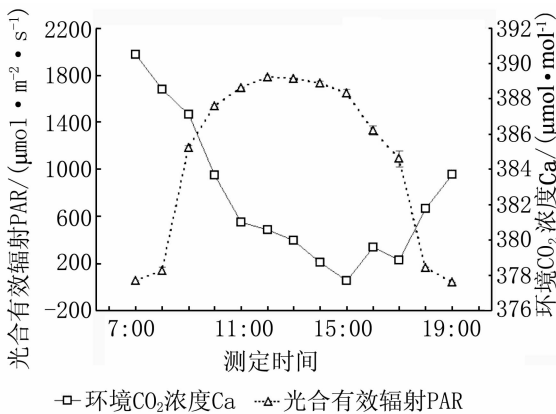


图5 影响植物光合作用的主要环境因子的日变化

Fig. 5 Daily changes of some important environmental factors that influence plant photosynthesis

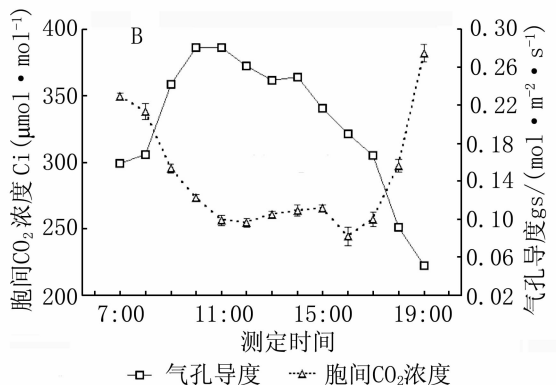
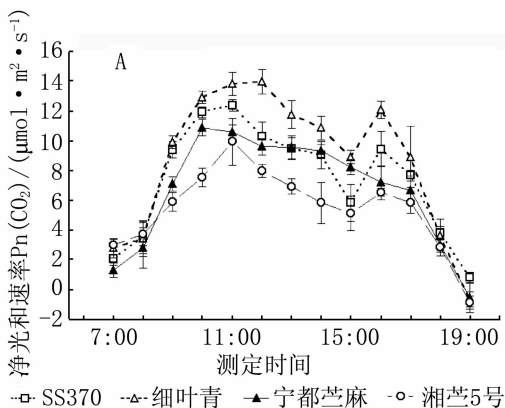


图6 苧麻品种叶片净光合速率(A)和胞间CO₂浓度及气孔导度(B)的日变化

Fig. 6 Daily changes of Pn (A), intercellular CO₂ concentration (Ci) and stomatal conductance (gs) (B) in ramie cultivars

3 讨论

苧麻品种的 P_n 一般在 11:00 前呈上升态势(图 6A),很多其他 C3 植物也可表现出上午一段时间内的 P_n 较高,如报春花(*Primula* L.)^[16]、银莲花(*Anemone* L.)^[17]和甘薯^[18]在 10:00 前 P_n 上升,随后一直下降;而花生(*Arachis hypogaea* L.)和杏树(*Prunus amygdalus* Batsch)叶片 P_n 以 9:00 ~ 12:00 较高,12:00 以后持续下降^[19-20]。这些结果虽然是在特定条件下获得的,但至少反映出植物光合能力在 1 天中不同时间段的差异。这种日变化曲线甚至可能随植物生育期不同而有所差异^[21]。因此在进行植物光合作用比较时必须予以足够的重视。

实验中发现较上位叶片具有最大的 P_n ,说明其光合功能是最旺盛的,而且只有功能旺盛叶片的 P_n 才能反映品种的光合速率高低,但光合速率最高的叶片其叶面积尚未充分扩展,如果考虑单叶的总同化量对植物生长的贡献,则是叶龄稍大的中位叶片更大些^[10]。这一点在实际工作中值得注意。如果实验目的主要是比较不同品种/处理的 P_n ,在不同生育期进行多次测定是可取的,但应该根据不同植物的生育特点确定合适的测定时期。另一方面,由于很难在不同时期遇到同样的好天气(如无云的晴天),并且在实验中发现时阴时晴(多云天)的自然光强变化很大,对 P_n 影响非常明显,因此遇上不稳定天气又必须测定时还是使用人工光源较好,但必须通过预备试验确定合适的光强。在实验中发现,最显著影响光合作用的环境因子是光照强度。比较品种间光合作用差异,一般是在假定最适宜或一致的条件(包括光照强度)下测定各品种的 P_n ,而不同品种发挥其光合潜力的适宜光强和其它环境条件是不同的^[22],所以在统一光强下比较不同品种的光合效率未必合理,而要摸索出不同品种光合作用最适宜的环境条件(光照、温度、湿度等)之后再在此条件下比较不同品种的光合效率,虽说合理,但显然难以做到。因此是否可以利用光合作用-光强响应曲线上各点的光合速率之和或平均值,或光合-光强曲线与横坐标之间的积分面积来比较不同品种的光合能力?这样做在理论上更具合理性,但仍然需要得到大量实验结果的验证。

4 结论

关于苧麻品种间 P_n 比较的方法及其合理性,

前人很少对此进行讨论。从本试验结果看,比较室外生长的苧麻品种的 P_n 差异,栽培条件的一致性自不待言,而环境条件的控制比较困难,所幸的是在较短时间内(9:00 ~ 11:00)主要环境因子的变化相对较小(图 6),因此作者建议:苧麻品种的 P_n 测定在上午 9:00 ~ 11:00 进行;每个品种/处理至少选择 5 株以上生长一致的正常植株,测定从植株顶部展开叶往下数第 5 ~ 7 叶近叶尖位置的 P_n 。还要特别注意被测植株对品种/处理的代表性和不同品种/处理/植株的叶位统一,叶片颜色、形状正常,无病虫害危害等问题。如果在不同生育期多次测定,则要注意环境条件、尤其是光照的基本统一,至少应注明不同测定时期的环境条件差异。本试验结果可为与苧麻类似植物的光合作用测定提供取样技术参考。

参考文献:

- [1] GREGORIOU K, PONTIKIS K, VEMMOS S. Effects of reduced irradiance on leaf morphology, photosynthetic capacity, and fruit yield in olive (*Olea europaea* L.) [J]. *Photosynthetica*, 2007, 45 (2): 172-181.
- [2] 许大全. 叶片光合作用测定及研究方法的探讨[C]//2006 年中国植物逆境生理生态与分子生物学学术研讨会论文摘要集, 乌鲁木齐, 2006.
- [3] 焦旭亮, 张振文, 惠竹梅. “Li-6400 光合作用测定仪”在葡萄上应用的商榷[J]. *西北农业学报*, 2007, 16 (1): 209-212.
- [4] PROIETTI P, FAMIANI F. Diurnal and seasonal changes in photosynthetic characteristics in different olive (*Olea europaea* L.) cultivars [J]. *Photosynthetica*, 2002, 40 (2): 171-176.
- [5] RAVI V. Diurnal changes in photosynthetic characteristics of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) [J]. *Advances in Horticultural Science*, 2003, 17 (3): 159-164.
- [6] YANG J, ZHAO H, ZHANG T. Diurnal patterns of net photosynthetic rate, stomatal conductance, and chlorophyll fluorescence in leaves of field-grown mungbean (*Phaseolus radiatus*) and millet (*Setaria italica*) [J]. *N Z J Crop Hortic Sci*, 2004, 32 (3): 273-279.
- [7] 宋世文, 王泽槐, 赵晓勤, 等. 水分胁迫对成年荔枝不同季节光合速率日变化的影响[J]. *热带亚热带植物学报*, 2007, 15 (06): 482-486.
- [8] 王建林, 齐华, 房全孝, 等. 水稻、大豆、玉米光合速率的日变化及其对光强响应的滞后效应[J]. *华北农*

- 学报,2007,22(02):119-124.
- [9] 张瑞朋,杨德忠,傅连舜,等.不同来源大豆品种光合速率日变化及其影响因子的研究[J].大豆科学,2007,26(04):490-495.
- [10] 刘飞虎,梁雪妮,李娟.苧麻品种光合性状研究[J].作物研究,1991,5(1):26-29.
- [11] KITAJIMA K, MULKEY S S, SAMANIEGO M, et al. Decline of photosynthetic capacity with leaf age and position in two tropical pioneer tree species [J]. *Am J Bot*,2002,89(12):1925-1932.
- [12] 李志,冯玉龙.砂仁不同叶位叶片的光合作用和氧化胁迫[J].植物生理与分子生物学学报,2004,30(5):546-552.
- [13] 田永超,曹卫星,王绍华,等.不同水、氮条件下水稻不同叶位水、氮含量及光合速率的变化特征[J].作物学报,2004,30(11):1129-1134.
- [14] Sanchez - de - Miguel P, CENTENO A, BAEZA P, et al. Photosynthetic response to light of 'Tempranillo' leaves in the field: effects of leaf age, position and water potential[J]. *Acta Horticulturae*,2005,689:357-364.
- [15] 布都会,朱建楚,高莉,等.“Li-6400 光合作用测定仪”在小麦上应用的商榷[J].麦类作物学报,2004,24(1):92-94.
- [16] LIU F H, HOU S M, LIANG X N. Gas exchange characteristics of four domesticated *Primula* species [J]. *N Z J Crop Hortic Sci*,2006,34:403-411.
- [17] 刘飞虎,梁雪妮,何瀚,等.几种野生银莲花生殖生长期的光合作用特性初探[J].西北植物学报,2005,25(2):281-287.
- [18] 张木清,吕建林,陈如凯.甘蔗光合速率的日变化及其对光温的响应[J].福建农业大学学报,1998,27(4):397-401.
- [19] MATOS M C, REBELO E, LAURIANO J, et al. CO₂ assimilation and water relations of almond tree (*Prunus amygdalus* Batsch) cultivars grown under field conditions [J]. *Photosynthetica*,2004,42(3):473-476.
- [20] NAUTIYAL P C, RAVINDRA V, JOSHI Y C. Net photosynthetic rate in peanut (*Arachis hypogaea* L.): influence of leaf position, time of day, and reproductive - sink [J]. *Photosynthetica*,1999,36(1/2):129-138.
- [21] 苏文华,张光飞,王崇云,等.短葶飞蓬光合生理生态的初步研究[J].云南大学学报:自然科学版,2001,23(2):142-145.
- [22] 刘飞虎,梁雪妮.苧麻品种叶片光合作用特征研究[J].中国麻业,2004,26(6):267-271.

Sampling techniques in test of net photosynthetic rate of plant cultivars, an example from ramie (*Boehmeria nivea* (L.) Gaud.)

LIU Fei-hu

(School of Life Science, Yunnan University, Kunming 650091, China)

Abstract: The sampling techniques that determine the credibleness of results in testing the net photosynthetic rate (P_n) of plants were seldom discussed. For this reason, the experiment aimed at investigating the daily changes of P_n , and the difference of P_n values among individual plants, leaves of different position on a plant and the test sites on leaf in ramie cultivars. P_n rose to the peak value by 11:00 and declined afterwards, although an increase of P_n was observed in the afternoon but showing varietal difference. Significant difference was observed among individual plants within a cultivar, and among leaves of different position showing the highest P_n values in the fifth to seventh leaves counting from the essentially expanded leaf of plant top. However, P_n showed no evident difference among the five test sites on leaf. Accordingly, it is reasonable to test P_n values of ramie cultivars within the time 9:00—11:00; at least five plants and their fifth—seventh leaves should be measured, and the test site on leaf be focused near the sharp leaf end. Special attention should be paid to the representativeness of sample plants, and the agreements of leaf position for cultivars, treatments and plants; sample leaves be normal in color and shape, free from disease or insect damage.

Key words: daily changes of net photosynthetic rate; sampling; individuals; leaf position; test site on leaf