

毛剑飞,李凯伟,杨再强,等. 弱光胁迫及强光恢复对设施红地球葡萄叶片光合及衰老特性的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(6):105-111. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.06.027

弱光胁迫及强光恢复对设施红地球葡萄叶片光合及衰老特性的影响

毛剑飞^{1,2}, 李凯伟¹, 杨再强¹, 杜金杉³

(1. 南京信息工程大学应用气象学院, 江苏南京 210044; 2. 浙江省义乌市气象局, 浙江义乌 322000; 3. 浙江省磐安县气象局, 浙江磐安 322300)

摘要:以 1 年生设施盆栽红地球葡萄为试材,通过人工环境控制模拟阴天转晴天气过程,分别给予日均光合有效辐射为 100、300 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的短期弱光胁迫 3、6、9、12 d,以气候箱日均光合有效辐射 600 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 处理为对照(CK),后统一以强光 800 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 恢复处理 6 d,研究弱光胁迫及强光恢复对设施葡萄叶片光合参数、叶绿素荧光参数、过氧化氢酶(CAT)活性、过氧化物酶(POD)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛含量(MDA)和可溶性蛋白含量的影响,并利用隶属度函数方法对各参数进行综合评价。结果表明,随弱光胁迫时间的延长,表观量子效率(AQY)、气孔限制值(L_s)、可溶性蛋白含量、CAT 活性、POD 活性先增后减;经强光恢复,各处理的叶绿素含量、最大净光合速率、PS II 最大光能转化效率(F_v/F_m)、PS II 实际光化学量子效率(Φ_{PSII})、光化学淬灭系数(q_p)较弱光处理阶段有降低趋势,非光化学淬灭系数(NPQ)有上升趋势,光抑制现象严重;随弱光胁迫时间的延长并经强光恢复,葡萄叶片的 MDA 含量持续升高,可溶性蛋白含量、CAT 活性、POD 活性、SOD 活性降低;胁迫超过 3 d,综合评价指标(SI 值)下降明显,弱光胁迫相同天数下,300 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 弱光胁迫的 SI 值 > 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 弱光胁迫的 SI 值。因此,设施葡萄对弱光胁迫有一定的适应性,胁迫 6 d 即超出植株自身调控范围,同时弱光胁迫可提高设施葡萄对光抑制的敏感性,而强光恢复加速了葡萄叶片的衰老进程,对弱光胁迫后的植株会产生二次伤害。

关键词:设施葡萄;光胁迫;隶属度函数;光合参数;叶绿素荧光;保护酶;丙二醛;衰老特性

中图分类号: S663.101 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)06-0105-07

随着农业技术的不断发展,设施葡萄已成为一种重要的栽培方式。近年来,我国设施葡萄发展迅速,截至 2013 年我国设施葡萄栽培面积超过 13.3 万 hm^2 ,居世界第一^[1]。江苏地区春、夏季雨水相对较多,葡萄设施栽培可以避开雨水,有利于减少病虫害的发生,而光照不足一直是设施栽培比较突出的问题,因连续阴雨、雾等形成的短期弱光胁迫后立即遇晴天强光胁迫的情况时有发生。因此,研究短期弱光胁迫和强光恢复对葡萄叶片生理生化参数的影响,对设施葡萄灾害防御和光环境调控具有重要的意义。

目前,国内外关于植物受强、弱光胁迫的研究获得了一定成果,对设施作物光逆境生理学方面的研究报道多集中在低温弱光复合因子对作物的影响,有关弱光胁迫后恢复的研究相对较少。有研究表明,弱光胁迫下,植物的叶绿素、类胡萝卜素含量升高,叶绿素 a/b 随胁迫加深而减小,光照过强会破坏叶绿体结构,使叶绿素含量降低^[2];遮阴会造成植物光系统 II (PS II) 的可逆性失活,使光合作用减弱^[3];弱光下 PS II 最大光能转化效率(F_v/F_m)的变化不明显,而强光下下降显

著^[4];叶片抗氧化酶活性与光强密切相关,弱光发生时,植株叶片的 SOD 酶活性降低^[5];高光强处理下,兰花叶片的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性随光强增加而增大^[6];对辣椒、蒙古栎、水稻、烟草、小麦、蒲桃等研究表明,弱光转强光后会引发严重的光抑制,植物非光化学淬灭系数(NPQ)上升较快,光合能力降低^[7-12]。因此,植株会通过降低叶绿素含量,增强叶黄素循环,提高保护酶活性等方式避免光合机构受到破坏,弱光胁迫提高了植株对光抑制的敏感性,而弱光转强光后,耐弱光性差的品种其光抑制往往比耐弱光性强的品种更为严重。本试验通过人工气候箱模拟连续阴天转晴天过程,研究短期弱光逆境胁迫和强光恢复对设施葡萄叶片色素含量、光合特性、叶绿素荧光参数、保护酶活性和衰老特性的影响,以期对设施葡萄的灾害防御及设施环境优化调控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于 2016 年 5 月在南京信息工程大学农业试验站 Venlo 型玻璃温室和澳大利亚产 TPG1260 人工气候箱中进行,以 2016 年 3 月栽植于玻璃温室内的 1 年生盆栽红地球葡萄为试材。盆的上口径、底径、高分别为 34、18、28 cm;供试土壤为中壤土,pH 值为 7.4,有机质、全氮、全磷含量分别为 18.4、0.79、0.75 g/kg,土壤体积含水量为 32.5%。

待葡萄植株生长叶片超过 20 张,选取长势相同的植株进

收稿日期:2017-10-16

基金项目:江苏省科技支撑计划(编号:BE2015693);浙江省金华市气象局科技项目(编号:2015-02)。

作者简介:毛剑飞(1981—),男,浙江衢州人,硕士,工程师,主要从事应用气象研究。E-mail:48024764@qq.com。

通信作者:杨再强,博士,教授,主要从事应用气象、设施农业气象灾害、农业生物环境调控研究。E-mail:yzq@nuist.edu.cn。

行试验。处理前,将供试植株在日均光合有效辐射(PAR)为 $600 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、温度 $15 \sim 25^\circ\text{C}$ 的气候箱中适应性处理 3 d,排除设施环境变化带来的干扰;5 月 2 日 07:00 起,每隔 3 d 各放入 3 盆长势相同的植株分别置于日均光合有效辐射为 $100 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ($L1$)、 $300 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ($L2$) 的人工气候箱内进行弱光胁迫处理 3、6、9、12 d,各处理按放入时间分别记为 $T3$ 、 $T6$ 、 $T9$ 、 $T12$,以气候箱日均光合有效辐射 $600 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ($L0$) 处理的植株为对照 (CK);所有处理统一在 PAR 为 $800 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ($L3$) 的气候箱中强光恢复处理 6 d;5 月 14 日及强光恢复处理结束,对所有处理测定有关指标。弱光胁迫阶段,白天温度设计为 $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$,晚上为 $(10 \pm 1)^\circ\text{C}$,相对湿度为 $(75 \pm 5)\%$,各光强参考不同天气条件下设施内实际光强(图 1)进行设计。

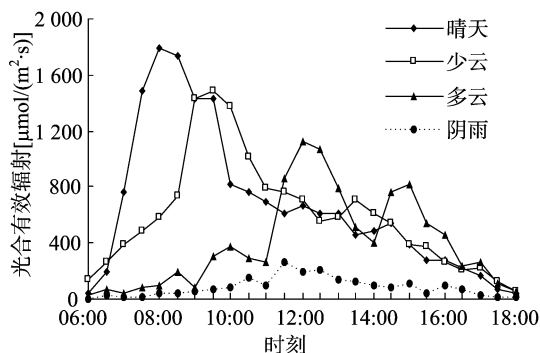


图1 不同天气条件下设施内光合有效辐射日变化

1.2 测定内容与方法

1.2.1 叶片光合参数的测定 09:00—12:00,从植株顶端向下选择第 5~8 张生长良好的功能叶片,采用美国产便携式光合作用测定系统 LI-6400 测定红地球葡萄叶片的净光合速率 [P_n , $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]、蒸腾速率 [T_r , $\text{mmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]、胞间 CO_2 浓度 (C_i , $\mu\text{mol}/\text{mol}$) 等光合参数及大气 CO_2 浓度 (C_a , $\mu\text{mol}/\text{mol}$),每处理测定 3 株;计算气孔限制值 (L_s),根据模型得光响应曲线,求最大光合速率 ($P_{n\text{max}}$)、表观量子效率 (AQY)。测定时,叶室内设定温度为 25°C , CO_2 浓度为 $390 \mu\text{mol}/\text{mol}$, PAR 在 $0 \sim 1500 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 之间设 11 个水平测量净光合速率。气孔限制值 (L_s) 计算公式为:

$$L_s = 1 - C_i/C_a$$

1.2.2 光合色素含量的测定 参照 Pinheiro 等的测定方法^[13]进行,从植株顶端向下选择第 5~8 张生长良好的功能叶片,剪碎;称取 0.2 g,置于 25 mL 95% 乙醇中,避光放置 48 h,直至叶片中的叶绿素完全被提取出;取浸出液,用 UV-2550 型紫外-可见分光光度计分别测定波长为 663 nm(叶绿素 a 最大吸收峰)、646 nm(叶绿素 b 最大吸收峰)、470 nm(类胡萝卜素最大吸收峰)处的吸光度。重复 3 次。

1.2.3 叶绿素荧光参数的测定 从植株顶端向下选择第 5~8 张生长良好的功能叶片,采用英国产 FMS-2 型便携脉冲调制式荧光仪在 10:00 左右测定光强为 $600 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光适应状态下的荧光参数,后暗适应 15 min,测定暗适应状态下的荧光参数,重复 3 次;计算 PS II 最大光能转化效率 (F_v/F_m)、PS II 实际光化学量子效率 (Φ_{PSII})、光化学淬灭系数 (q_F)、非光化学淬灭系数 (NPQ) 等参数,

1.2.4 抗氧化酶活性、丙二醛 (MDA) 和可溶性蛋白含量的

测定 从植株顶端向下选择第 5~8 张生长良好的功能叶片,擦拭干净,塑封袋封装并液氮冷冻 20 min,于冰箱中冷冻保存;测定时,称取除去叶脉的叶样 0.5 g 左右,用 5 mL pH 值为 7.8 的磷酸缓冲液冰浴研磨;冷冻离心机 $10000 \text{ r}/\text{min}$ 离心 20 min,取上清液(酶液)于 $0 \sim 4^\circ\text{C}$ 避光保存;超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT) 活性及丙二醛 (MDA)、可溶性蛋白含量参照程雅茹等的方法^[14]进行测定。

1.3 数据统计与分析

采用 Excel 2010 软件制作图表,采用 DPS 软件对试验数据进行相关性分析,采用 Duncan's 新复极差法进行多重比较和显著性检验。以模糊数学中的隶属函数为基础,计算各处理胁迫程度和恢复状况下的综合评价指标 (SI),SI 值越大,表示该处理的胁迫越轻或恢复越好。某一处理的 SI 计算公式为: $SI_i = \frac{1}{n} \sum S_i$ 。

测定指标随处理时间表现为上升趋势时, $S = (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$,反之则为 $S = 1 - (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$ 。式中, S 表示该处理某一指标的隶属度,值在 $0 \sim 1$ 之间; X 、 n 分别表示测量的指标、指标个数; X_{\min} 、 X_{\max} 分别表示指标的最小值、最大值,一般情况下,当处理指标呈下降趋势时, X_{\min} 、 X_{\max} 分别为 $L1T12$ 、 CK 的测量值; i 表示不同处理。

2 结果与分析

2.1 弱光胁迫及强光恢复对设施葡萄光合特性的影响

2.1.1 弱光胁迫及强光恢复对设施葡萄光合色素的影响

由图 2 可见,随弱光胁迫时间的延长,葡萄叶片的叶绿素总含量呈增加趋势;与对照相比, $100 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ($L1$) 弱光胁迫 9 d 内对葡萄叶片的叶绿素总含量和叶绿素 a 含量无显著影响 ($P > 0.05$),处理 12 d 时色素含量有显著增加 ($P < 0.05$),叶绿素总含量和叶绿素 a 含量分别为对照的 1.21、1.16 倍; $300 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ($L2$) 弱光胁迫时的叶片叶绿素总含量和叶绿素 a 含量与对照相比差异不显著;经强光恢复,各处理的葡萄叶片叶绿素含量随弱光胁迫时间的延长而降低;强光恢复经 $L1$ 、 $L2$ 弱光胁迫处理 12 d 的葡萄叶片,其叶绿素总含量分别降低为对照的 71.7%、74.5%,叶绿素 a 含量降低为对照的 67.8%、71.2%;不同光照环境下,叶绿素 b、类胡萝卜素含量的变化趋势基本一致,弱光胁迫阶段,随 $L1$ 弱光胁迫时间的延长,葡萄叶片叶绿素 b、类胡萝卜素含量增加, $L1$ 胁迫处理 3、6、9、12 d 时的叶绿素 b 含量分别是对照的 1.07、1.20、1.30、1.47 倍,类胡萝卜素含量为对照的 1.00、1.07、1.09、1.21 倍, $L2$ 胁迫处理时的叶绿素 b、类胡萝卜素含量变化与 $L1$ 相比相对较小,与对照相比略有增加;经强光恢复,叶绿素 b、类胡萝卜素含量均随弱光胁迫程度的加深而减小,叶绿素 b 含量变化幅度相对较小,类胡萝卜素变化幅度相对较大; $L1$ 、 $L2$ 弱光胁迫 12 d 经强光恢复结束时的叶绿素 b 含量分别是对照的 86.8%、86.8%,类胡萝卜素含量分别是对照的 76.1%、82.6%;叶绿素 a/b 与植物光合作用关系密切,弱光胁迫不同天数对葡萄叶片叶绿素 a/b 值有明显影响,随弱光处理时间的延长,叶绿素 a/b 值整体呈减小趋势;经强光恢复的葡萄叶片叶绿素 a/b 值整体低于弱光处理阶段,对

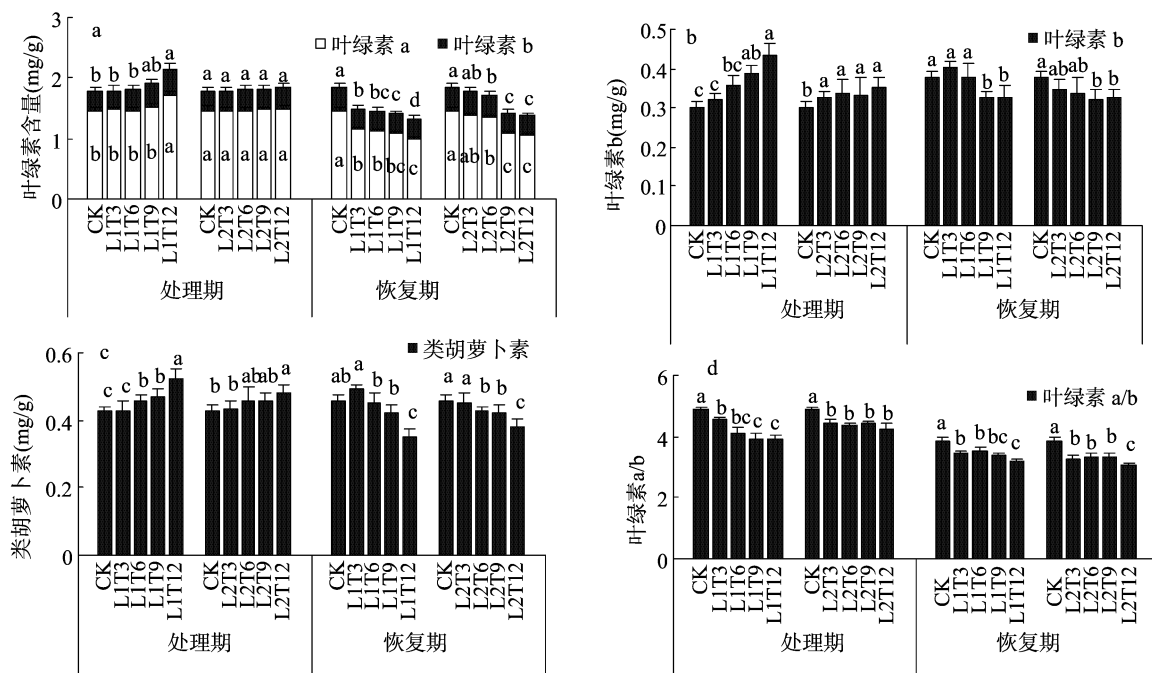


图2 葡萄叶片在弱光胁迫和强光恢复条件下光合色素的变化

照组均降低至处理期的 78.7%, 各处理均不能恢复至对照水平。经相关性分析发现, 不同光环境下, 类胡萝卜素含量与叶绿素总含量的相关系数为 0.71, 呈极显著正相关 ($P < 0.01$)。

2.1.2 弱光胁迫及强光恢复对设施葡萄光响应曲线的影响

光合作用是植物将光能转化为化学能并合成碳水化合物的重要途径, 而净光合速率直接反映光合作用的强弱。由图 3 可见, 弱光胁迫可使葡萄叶片的光合速率降低, 当光强低于 $100 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时, 随光照强度的增加, 各处理的净光合速率迅速增加, 光强在 $100 \sim 400 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时, 净光合速

率增速减缓, 之后趋于稳定水平; 经 L1、L2 弱光胁迫 3 d, 葡萄叶片的光响应曲线无明显变化, 弱光胁迫超过 6 d 时, 葡萄叶片的光饱和点降低, 对强光的利用能力减弱, 最大净光合速率大幅下降; L1 处理对葡萄叶片净光合速率的影响明显高于 L2 处理; 与弱光处理相比, 经强光恢复的各处理净光合速率均有所下降, 处理间净光合速率的变化相对不变, 光饱和点表现为升高的趋势, L1 胁迫处理 12 d 时的光饱和点和最大净光合速率有明显降低, 说明强弱光转换处理可能对葡萄叶片的光合作用系统造成不可逆的伤害。

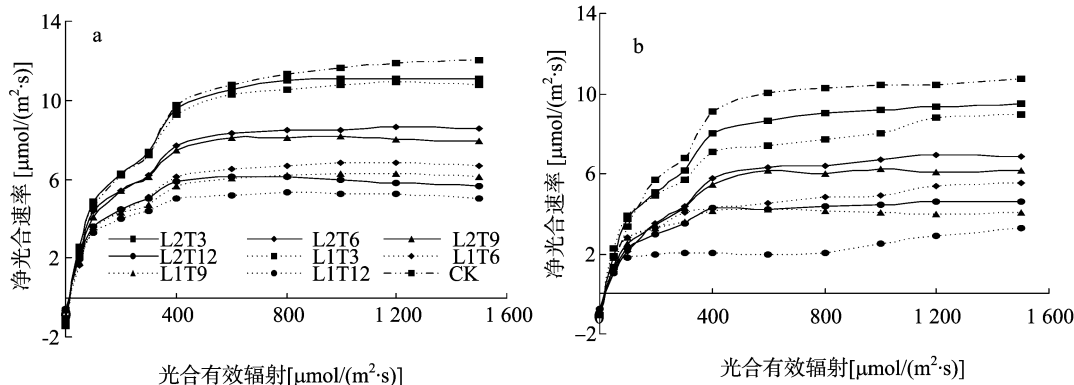


图3 葡萄叶片在弱光胁迫(a)和强光恢复(b)条件下光响应曲线的变化

2.1.3 弱光胁迫及强光恢复对设施葡萄光合参数的影响

由表 1 可见, 随弱光胁迫时间的延长和光强的减弱, 葡萄叶片最大净光合速、表观量子效率 (AQY) 和蒸腾速率整体呈降低趋势, 其中, 弱光胁迫 3 d 的 AQY 略有增加, 可能是处理初期, 葡萄叶片为适应弱光环境而增强对弱光的利用能力所致; 随弱光胁迫时间的延长, 气孔限制值 (L_s) 呈先增加后减小的趋势, 弱光处理 12 d 的 L_s 与 CK 基本处于同一水平, 表明弱光胁迫处理后期, 限制光合作用的主要原因不是气孔因素; 随弱光胁迫时间的延长, 最大净光合速、蒸腾速率有明显下降, L1

处理结束时分别降至 CK 的 44.2%、25.5%; 各处理经强光恢复 6 d, 最大净光合速率、表观量子效率、气孔限制值较弱光处理有所降低, 蒸腾速率有所升高, 表明对弱光处理过的葡萄叶片进行强光恢复, 可能会造成二次伤害。经相关性分析发现, 蒸腾速率与气孔限制值的相关系数为 -0.92 , 呈极显著负相关 ($P < 0.01$)。

2.2 弱光胁迫及强光恢复对设施葡萄荧光特性的影响

由表 2 可知, 随弱光胁迫时间的延长, 葡萄叶片 PS II 最大光能转化效率 (F_v/F_m)、实际量子效率 (Φ_{PSII}) 和光化学

表 1 弱光胁迫及强光恢复对设施葡萄光合参数的影响

阶段	处理	最大净光合速率 [$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]	表观量子效率	蒸腾速率 [$\text{mmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]	气孔限制值
弱光胁迫	CK	12.04 ± 0.53a	0.032 ± 0.002a	2.51 ± 0.15a	0.32 ± 0.03b
	L2T3	11.12 ± 0.77a	0.034 ± 0.004a	1.33 ± 0.13b	0.50 ± 0.08a
	L2T6	8.63 ± 0.35b	0.029 ± 0.001a	1.18 ± 0.04b	0.43 ± 0.03a
	L2T9	8.14 ± 0.37 b	0.029 ± 0.002a	1.17 ± 0.06b	0.32 ± 0.03b
	L2T12	6.13 ± 0.54c	0.024 ± 0.003b	0.89 ± 0.11c	0.32 ± 0.07b
	L1T3	10.91 ± 0.76b	0.034 ± 0.004a	1.32 ± 0.11b	0.46 ± 0.07a
	L1T6	6.82 ± 0.37c	0.024 ± 0.002b	1.17 ± 0.07b	0.38 ± 0.04b
	L1T9	6.26 ± 0.46c	0.023 ± 0.002b	0.92 ± 0.06c	0.35 ± 0.04b
	L1T12	5.32 ± 0.35d	0.022 ± 0.001b	0.64 ± 0.03d	0.33 ± 0.03b
强光恢复	CK	10.72 ± 0.48a	0.031 ± 0.002a	2.85 ± 0.17a	0.11 ± 0.01d
	L2T3	9.49 ± 0.51b	0.026 ± 0.002b	2.63 ± 0.19a	0.20 ± 0.02cd
	L2T6	6.92 ± 0.37c	0.020 ± 0.003c	1.89 ± 0.07b	0.26 ± 0.01c
	L2T9	6.24 ± 0.35c	0.019 ± 0.001c	0.83 ± 0.06c	0.62 ± 0.02b
	L2T12	4.59 ± 0.35d	0.016 ± 0.001d	0.49 ± 0.13d	1.02 ± 0.12a
	L1T3	8.92 ± 0.55b	0.029 ± 0.003b	1.55 ± 0.19b	0.25 ± 0.04d
	L1T6	5.52 ± 0.36c	0.021 ± 0.002c	0.92 ± 0.02c	0.68 ± 0.03c
	L1T9	4.20 ± 0.39d	0.018 ± 0.001c	0.45 ± 0.02d	0.84 ± 0.03b
	L1T12	3.25 ± 0.45e	0.011 ± 0.001d	0.42 ± 0.08d	1.18 ± 0.09a

注:同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。表 2 同。

淬灭系数(q_p)呈下降趋势;各处理间的 F_v/F_m 变化幅度相对较小,L1、L2 弱光胁迫 12 d 时分别降至 CK 的 96.2%、97.0%,表明葡萄叶片受到一定的光抑制;电子传递速率减弱,L1、L2 弱光胁迫 12 d 时 Φ_{PSII} 分别为 CK 的 71.4%、89.5%, q_p 分别为 CK 的 78.3%、88.4%。非光化学淬灭系数(NPQ)变化趋势相反,随弱光胁迫时间的延长,NPQ 呈增加趋势,L1、L2 弱光胁迫结束,NPQ 分别增至 CK 的 2.1、1.2

倍;胁迫处理相同时间下,L1 胁迫比 L2 胁迫作用更为明显,弱光环境下 L2 处理 9 d 时 F_v/F_m 、 q_p 、NPQ 才与 CK 差异显著,而 L1 处理 6 d 即达到差异显著($P < 0.05$);弱光胁迫处理的葡萄叶片经强光恢复,各处理的 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 、 q_p 与弱光胁迫时相比进一步下降,NPQ 有明显增加;L1 处理 12 d 后经强光恢复, F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 、 q_p 、NPQ 分别为 CK 的 77.6%、74.3%、47.2%、194.8%。

表 2 弱光胁迫及强光恢复对设施葡萄荧光特性的影响

阶段	处理	最大光能转化效率	实际光量子效率	光化学淬灭系数	非光化学淬灭系数
弱光胁迫	CK	0.838 ± 0.011a	0.598 ± 0.025a	0.842 ± 0.045a	0.729 ± 0.027c
	L2T3	0.834 ± 0.018a	0.587 ± 0.035ab	0.816 ± 0.033a	0.742 ± 0.014c
	L2T6	0.834 ± 0.009ab	0.554 ± 0.021ab	0.808 ± 0.014a	0.758 ± 0.021c
	L2T9	0.821 ± 0.015b	0.555 ± 0.030ab	0.752 ± 0.028b	0.812 ± 0.008b
	L2T12	0.813 ± 0.017bc	0.535 ± 0.028b	0.744 ± 0.025b	0.869 ± 0.015a
	L1T3	0.830 ± 0.013ab	0.556 ± 0.028ab	0.809 ± 0.035a	0.810 ± 0.032c
	L1T6	0.821 ± 0.006b	0.535 ± 0.016b	0.797 ± 0.032a	0.980 ± 0.072b
	L1T9	0.816 ± 0.008bc	0.517 ± 0.018b	0.725 ± 0.012b	1.002 ± 0.065b
	L1T12	0.806 ± 0.005c	0.427 ± 0.048c	0.659 ± 0.023c	1.506 ± 0.038a
强光恢复	CK	0.833 ± 0.011a	0.536 ± 0.025a	0.851 ± 0.054a	1.495 ± 0.103c
	L2T3	0.828 ± 0.012ab	0.530 ± 0.031a	0.778 ± 0.038b	1.395 ± 0.231c
	L2T6	0.830 ± 0.007ab	0.456 ± 0.014b	0.801 ± 0.014ab	1.865 ± 0.164b
	L2T9	0.817 ± 0.008b	0.434 ± 0.018bc	0.759 ± 0.016b	1.921 ± 0.287b
	L2T12	0.790 ± 0.014c	0.415 ± 0.012c	0.598 ± 0.021c	2.027 ± 0.179b
	L1T3	0.817 ± 0.012b	0.525 ± 0.028ab	0.719 ± 0.029b	1.843 ± 0.128b
	L1T6	0.777 ± 0.007c	0.487 ± 0.016b	0.697 ± 0.019b	2.141 ± 0.241b
	L1T9	0.785 ± 0.008c	0.414 ± 0.018c	0.598 ± 0.023c	2.881 ± 0.382a
	L1T12	0.646 ± 0.021d	0.398 ± 0.032c	0.402 ± 0.022d	2.912 ± 0.262a

2.3 弱光胁迫及强光恢复对设施葡萄丙二醛(MDA)、可溶性蛋白含量的影响

由图 4 可见,弱光胁迫使葡萄叶片的 MDA 含量升高,且光强越弱,MDA 含量上升越快;L1、L2 弱光胁迫 12 d 时的

MDA 含量分别为 CK 的 1.3、1.1 倍,相差较小;弱光胁迫处理的葡萄叶片经强光恢复,随弱光胁迫时间的延长,各处理的 MDA 含量变化趋势相同,整体呈上升趋势,且高于弱光处理期;随弱光胁迫时间的延长,可溶性蛋白含量先升后降,胁迫

处理 12 d 时基本与 CK 处于同一水平;弱光胁迫处理的葡萄叶片经强光恢复,各处理可溶性蛋白含量随弱光胁迫时间的延长而下降,除 L2 胁迫 3 d 可恢复至 CK 水平外,其他处理在恢复期与 CK 相比有显著下降($P < 0.05$)。经相关性分析发

现,弱光胁迫时,叶片 MDA 含量和可溶性蛋白含量表现为负相关($P > 0.05$),经强光恢复后,叶片 MDA 含量和可溶性蛋白含量的相关系数为 -0.83 ,呈极显著负相关($P < 0.01$)。

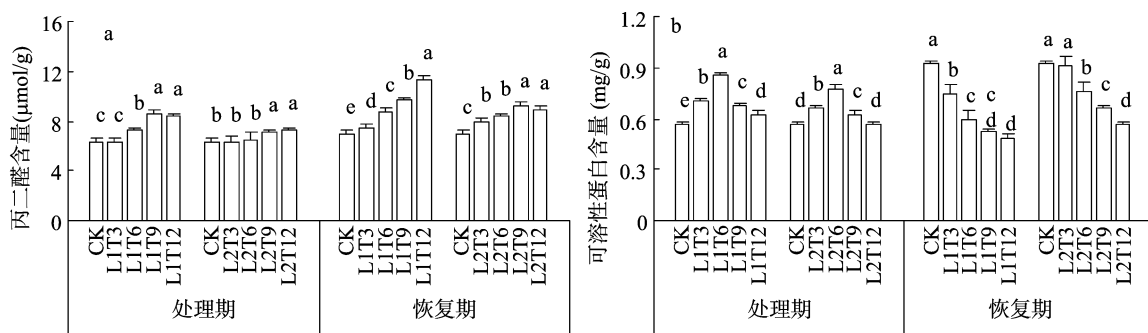


图4 葡萄叶片在弱光胁迫和强光恢复条件下MDA(a)和可溶性蛋白(b)含量的变化

2.4 弱光胁迫及强光恢复对设施葡萄保护酶活性的影响

由图 5 可见,弱光胁迫和强光恢复下葡萄叶片过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)活性均有不同程度的变化;弱光胁迫下,CAT 活性均高于 CK,并随弱光胁迫时间的延长呈先升高后降低趋势,L1、L2 胁迫处理 6 d 时 CAT 活性达到最大值,分别为 CK 的 2.2、2.1 倍;POD 变化趋势与 CAT 类似,最大值出现在弱光胁迫 9 d 时,较 CAT 响应有所延迟;弱光胁迫初期,SOD 活性变化不显著($P > 0.05$),随弱光胁迫时间的延长 SOD 活性整体呈上升趋势,L1 处理 9 d、L2 处理 12 d 时,SOD 活性始与 CK 差异显著($P < 0.05$);L1、L2 胁迫处理 12 d 时,SOD 活性分别为 CK 的 1.7、1.6 倍;弱光处理的葡萄叶片经强光恢复,各处理的 CAT、POD、SOD 活性随弱光胁迫时间的延长呈减小趋势,且

整体上略高于弱光处理阶段、同一胁迫时间下 L2 处理的酶活性要高于 L1;弱光处理的葡萄叶片经强光恢复,L1、L2 胁迫处理 3 d 的 CAT 活性略高于 CK,胁迫 12 d 时分别为 CK 的 56.4%、59.8%,而 POD 活性最大值出现在 L2 胁迫处理 3 d,且恢复期 POD 活性整体明显高于弱光处理期,处理期 POD 最大活性为恢复期最大活性的 60.5%;弱光处理的葡萄叶片经强光恢复,其 SOD 活性变化趋势与 POD 基本相同,L1 胁迫处理 3、6、9、12 d 的 SOD 活性分别为 CK 的 96.3%、82.3%、62.1%、51.4%,相互间差异较为明显。经相关性分析发现,强光恢复阶段,CAT、POD、SOD 这 3 种保护酶有良好的相关性,POD 和 SOD 之间的相关系数为 0.61,呈极显著正相关($P < 0.01$)。

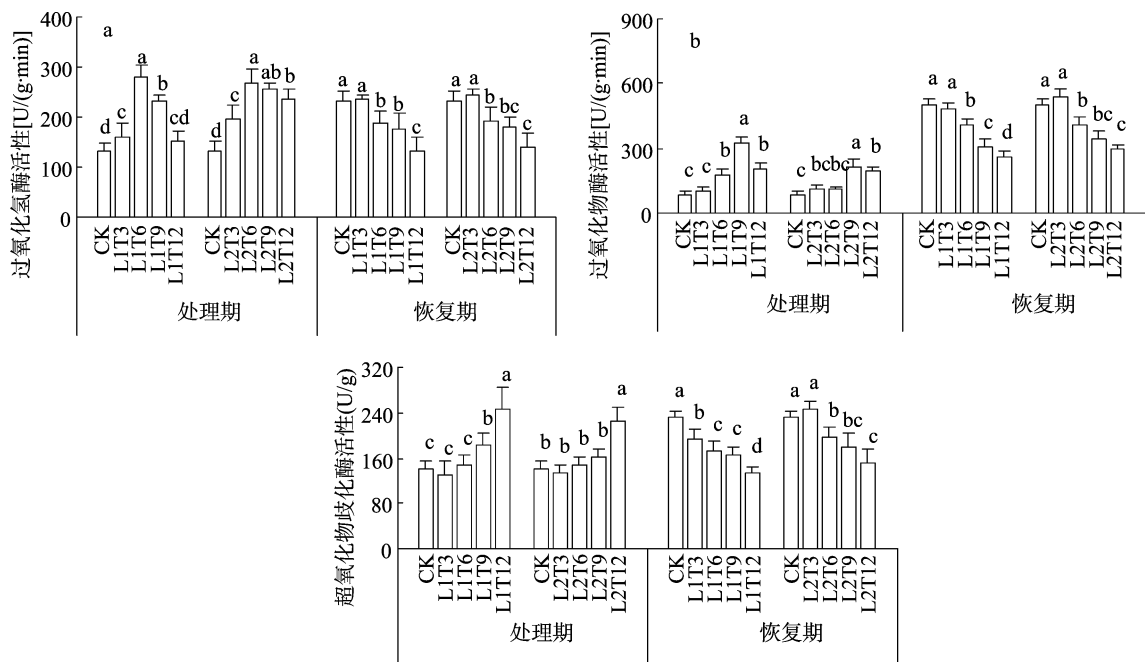


图5 葡萄叶片在弱光胁迫和强光恢复条件下CAT(a)、POD(b)和SOD(c)活性的变化

2.5 设施葡萄弱光胁迫及强光恢复生理参数隶属度分析

设施葡萄对弱光胁迫和强光恢复的响应是一个较为复杂

的综合性状,单一的生理生化指标往往不能完成对植株整体响应机制的描述,不同指标对胁迫的响应从时间到程度上存

在一定差异,运用隶属函数方法将测得的指标综合分析得到各处理的隶属度值,可以反映设施葡萄在不同光环境下的生长状况。由图 6 可见,弱光胁迫阶段,随胁迫时间的延长,隶属度值下降相对较快,L1 胁迫处理下隶属度值每天递减率为 -0.0687 ,L2 为 -0.0388 ,隶属度值在弱光胁迫 3~6 d 时下降速率相对最快;L1、L2 处理经强光恢复后递减率有所变大,隶属度值每天递减率分别为 -0.0776 、 -0.0620 ,除 L2 胁迫 3 d、L1 胁迫 6 d 处理经强光恢复后的隶属度值接近弱光处理阶段,其他处理均有明显下降。L2 弱光胁迫 3 d 对设施葡萄的生理生化状态影响相对较弱,经强光恢复能达到弱光处理阶段水平且与 CK 接近。

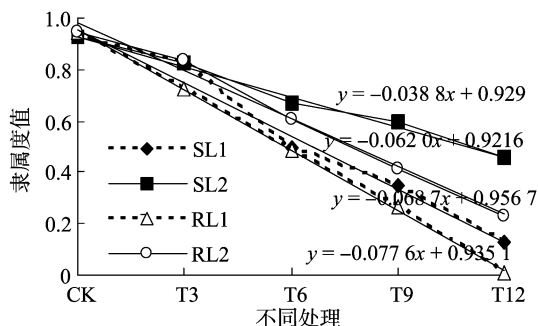


图6 弱光胁迫及强光恢复下葡萄叶片综合隶属度值的变化

3 结论与讨论

为适应弱光环境,设施葡萄叶片叶绿素含量会增加,并以叶绿素 b 增加为主,从而导致叶绿素 a/b 随弱光胁迫时间的延长而减小,耐弱光能力增强^[15],这是植株对弱光环境适应的表现^[16]。叶绿素含量的减小和净光合速率的下降是叶片衰老的重要特征^[17]。弱光胁迫后经强光恢复,葡萄叶片叶绿素含量降低,并以叶绿素 a 降低为主,使得叶绿素 a/b 进一步减小,这可能是恢复期强光抑制了植株叶绿素的合成或是加速了叶绿素的降解。类胡萝卜素含量与叶绿素总量保持一定的比例,有利于光合机构的相对稳定。不同光环境下,类胡萝卜素含量与叶绿素总含量呈极显著正相关($P < 0.01$),与战吉成等研究结果^[18]一致。葡萄叶片在不同光胁迫下的光响应曲线有明显差异。随弱光胁迫程度的加深,葡萄叶片净光合速率在光合有效辐射(PAR)在 $100 \sim 400 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时增速减缓,表观量子效率降低,同时光饱和点和最大净光合速率减小,表明植株对光的利用能力在减弱。随弱光胁迫时间的延长,蒸腾速率与气孔导度下降,但气孔限制值却呈先增加后减小的趋势,并最终与 CK 保持同一水平,说明弱光胁迫初期,限制光合作用的可能是气孔因素,而造成光合速率降低的因素可能是光合系统遭到破坏^[19];经强光恢复后,叶片的净光合速率和表观量子效率率较弱光处理时进一步减小。

有研究表明,光抑制不仅在强光下发生,经过一定程度的环境胁迫后中等光强也可以引发光抑制^[20]。本试验结果表明,PAR 大于 $400 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,葡萄叶片的净光合速率随光强增加趋于平稳;随弱光胁迫时间的延长, $100 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ (L1)、 $300 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ (L2) 弱光胁迫处理的 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 、 q_P 呈下降趋势,L1 处理的 q_P 下降幅度比 L2 大,说明弱光胁迫后的葡萄叶片会产生一定程度的光抑

制,与 Deng 等的研究结果^[21-22]一致;弱光处理的葡萄叶片经强光恢复,除 L2 胁迫处理 3 d、L2 胁迫处理 6 d 的 F_v/F_m 有较好的恢复外,其他各处理较弱光胁迫阶段有进一步下降;强光恢复下,各处理的 Φ_{PSII} 和 q_P 较弱光处理时有所下降,导致光系统 II 的电子传递速率降低,反应中心关闭比例上升,实际光化学效率降低。植物叶片 NPQ 与叶黄素循环存在明显相关性,叶黄素循环在非辐射能耗散及活性氧清除过程中起着重要作用^[23]。本研究中,随弱光胁迫程度的加深,NPQ 上升,经强光恢复有明显增加,且弱光胁迫越严重 NPQ 值越大,说明弱光胁迫提高了葡萄叶片对光抑制的敏感性,葡萄叶片会通过启动叶黄素循环系统来减少过剩光能对植物的伤害。

丙二醛(MDA)作为膜脂过氧化过程的最终产物,其含量高低一方面可反映膜脂过氧化程度,另一方面 MDA 的积累会对膜和细胞产生伤害^[24]。本研究中,随弱光胁迫程度的加深,葡萄叶片 MDA 含量增加,强光恢复保持相同的变化趋势,且高于弱光处理,这说明强光恢复可使葡萄叶片的受害程度加深。植物体内蛋白质含量的提高是植物适应逆境胁迫的一种表现^[25]。随弱光胁迫程度的加深,葡萄叶片可溶性蛋白含量呈先增加后减小趋势,说明设施葡萄对弱光环境有一定的适应性,当胁迫超过 6 d,可溶性蛋白含量下降,可能葡萄叶片细胞在此时受到损伤;强光恢复期,随弱光胁迫程度的加深,各处理可溶性蛋白含量与 CK 相比有明显降低,这可能是由于随 MDA 在叶片中的积累,MDA 与蛋白分子发生交联聚合,或蛋白质合成遭受抑制^[26]。可溶性蛋白的降解标志着以核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Rubisco)为主的各类酶含量不断降低,可反映植株叶片的衰老程度^[27]。酶促防御是植物维持细胞膜系统稳定的重要途径之一。SOD 是专一清除 $O_2^{\cdot-}$ 的酶,可催化歧化反应产生 O_2 和 H_2O_2 ,而 CAT、POD 负责清除生成的 H_2O_2 ^[28-29]。本研究中,随弱光胁迫时间的延长,SOD 活性呈上升趋势,CAT、POD 活性呈先升后降趋势,这说明葡萄叶片对弱光胁迫做出适应性响应,酶活性降低可能是逆境导致酶的合成受到一定程度阻碍,不同酶受胁迫诱导的时间和变化趋势有所区别,与韩霜等的研究结论^[30]一致。强光恢复阶段,过剩光强超过受胁迫植株的耗散能力,导致活性氧含量增加,此时保护酶的活性要高于弱光处理时期,其中以 POD 活性增量相对最多。随弱光胁迫程度的加深,弱光处理的保护酶活性在强光恢复阶段递减,部分酶活性在胁迫 3 d 时达到最大值,可能是弱光胁迫使葡萄叶片对光抑制的承受能力降低而产生过多的活性氧,当其含量超过保护酶的清除能力时,细胞膜系统受到损伤,从而导致酶的合成减少,酶活性受到影响。

采用隶属函数方法对所测指标进行综合评价发现,弱光胁迫 3 d 的隶属度值在同一水平且接近 CK,胁迫处理 3~6 d 时隶属度值迅速下降,并以 L1 下降较为明显,此时植株可能受到伤害;胁迫处理 6~12 d 时隶属度下降速率减缓,L2 处理趋于稳定,表现出对弱光环境一定的适应能力;经强光恢复,L1、L2 处理未能恢复至对照水平,隶属度值反而较弱光胁迫阶段有所降低,推断葡萄植株在强光下受到了二次伤害。

总之,设施葡萄对弱光胁迫有一定的抵抗能力,可通过自身调节表现出对弱光胁迫一定的适应性;当弱光胁迫超过 6 d 时,可能会对葡萄叶片细胞产生破坏,且光强越弱破坏越严

重;强光恢复会使弱光胁迫后的植株产生较严重的光抑制,弱光胁迫提高了设施葡萄对光抑制的敏感性,加速葡萄叶片衰老。因此,100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 弱光胁迫 3 d 后转强光恢复须采取遮阴措施,以避免强光对植株的二次伤害。

参考文献:

- [1] 穆维松,高阳,王秀娟,等. 我国设施葡萄生产的成本收益比较研究[J]. 中外葡萄与葡萄酒,2014(3):20-24.
- [2] 姚明桃,江洪,余树全. 辐射胁迫与植物的生理生态响应[J]. 安徽农业科学,2009,35(19):8841-8843.
- [3] 张依,卓丽环,汪成忠. 遮光对紫叶加拿大紫荆光合速率及叶绿素荧光参数的影响[J]. 河北农业大学学报,2009,32(6):52-56.
- [4] Favaretto V F, Martinez C A, Soriani H H. Differential responses of antioxidant enzymes in pioneer and late - successional tropical tree species grown under sun and shade conditions[J]. Environmental and Experimental Botany,2011,70(1):20-28.
- [5] Rossa M M, Oliveira M D, Okamoto O K, et al. Effect of visible light on superoxide dismutase(SOD) activity in the red alga *Gracilariopsis tenuifrons* (Gracilariiales, Rhodophyta) [J]. Journal of Applied Phycology,2002,14(3):151-157.
- [6] Ali M B, Hahn E J, Paek K Y. Effects of light intensities on antioxidant enzymes and malondialdehyde content during short - term acclimatization on micropropagated phalaenopsis plantlet [J]. Environmental and Experimental Botany,2005,54(2):109-120.
- [7] 颜建明,郁继华,黄高宝,等. 持续低温弱光及之后强光对辣椒幼苗光抑制的影响[J]. 农业工程学报,2008,24(5):231-234.
- [8] 陈婕,毛子军,马立祥,等. 蒙古栎和紫椴幼苗对光环境转变的光合作用响应[J]. 植物研究,2008,28(4):471-476.
- [9] 刘广银,梁娇,隗溟. 遮阴水稻转入自然强光后光合作用的光抑制和恢复[J]. 西南师范大学学报(自然科学版),2011,36(5):156-158.
- [10] 刘国顺,赵献章,韦凤杰,等. 旺长期遮光及光照转换对不同烟草品种光合效率的影响[J]. 中国农业科学,2007,40(10):2368-2375.
- [11] 李宏伟,李滨,郑琪,等. 小麦幼苗从低光到强光适应过程中光合和抗氧化酶变化[J]. 作物学报,2010,36(3):449-456.
- [12] 齐欣,蔡志全. 热带雨林蒲桃属三个树种的幼苗由遮荫转入强光后叶片的光抑制[J]. 内蒙古大学学报(自然科学版),2004,35(1):70-76.
- [13] Pinheiro H A, Silva J V, Endres L, et al. Leaf gas exchange, chloroplastic pigments and dry matter accumulation in castor bean (*Ricinus communis* L.) seedlings subjected to salt stress conditions [J]. Industrial Crops and Products,2008,27(3):385-392.
- [14] 程雅茹,李剑萍,武万里,等. 寡照对温室黄瓜叶片光合特性及抗氧化酶活性的影响[J]. 宁夏农林科技,2015(1):11-14.
- [15] 刘慧民,马艳丽,王柏臣,等. 两种绣线菊耐弱光能力的光合适应性[J]. 生态学报,2012,32(23):7519-7531.
- [16] 宋晓蕾,杨红玉,曾黎琼,等. 植物遮阴效应的研究进展[J]. 北方园艺,2009(5):129-133.
- [17] 杨淑慎,高俊凤,李学俊. 高等植物叶片的衰老[J]. 西北植物学报,2001,21(6):1271-1277.
- [18] 战吉成,黄卫东,王志龙,等. 葡萄幼苗对弱光环境的形态和生长反应[J]. 中国农学通报,2002,18(2):1-2,17.
- [19] 战吉成,王利军,黄卫东. 弱光环境下葡萄叶片的生长及其在强光下的光合特性[J]. 中国农业大学学报,2002,7(3):75-78.
- [20] 郭延平,曾光辉,胡美君. 果树光合作用的光抑制与防御机理研究进展[J]. 福建果树,2006(3):6-11.
- [21] Deng Y, Li C, Shao Q, et al. Differential responses of double petal and multi petal jasmine to shading: I. Photosynthetic characteristics and chloroplast ultrastructure [J]. Plant Physiology and Biochemistry,2012,55(2):93-102.
- [22] Fu W G, Li P P, Wu Y Y. Effects of different light intensities on chlorophyll fluorescence characteristics and yield in lettuce [J]. Scientia Horticulturae,2012(135):45-51.
- [23] 陶巧静,臧丽丽,刘蓉,等. $^{137}\text{Cs}-\gamma$ 辐射对葡萄种子发芽和幼苗生长及叶绿素荧光特性的影响[J]. 核农学报,2015,29(4):761-768.
- [24] 潘瑞炽. 植物生理学[M]. 5版. 北京:高等教育出版社,2004:284.
- [25] Majdi M, Karimzadeh G, Mahfoozi S. The relationship between developmental accumulation of leaf soluble proteins and vernalization response of wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell) [J]. Journal of Integrative Agriculture,2009,8(4):410-417.
- [26] 杜成凤,刘天学,蒋寒涛,等. 弱光胁迫及光恢复对玉米幼苗活性氧代谢的影响[J]. 核农学报,2011,25(3):570-575.
- [27] 韩冬,杨菲,杨再强,等. 高温对茶树叶片光合及抗逆特性的影响和恢复[J]. 中国农业气象,2016,37(3):297-306.
- [28] Khanna - Chopra R. Leaf senescence and abiotic stresses share reactive oxygen species - mediated chloroplast degradation [J]. Protoplasma,2012,249(3):469-481.
- [29] Tewari R K, Singh P K, Watanabe M. The spatial patterns of oxidative stress indicators co - locate with early signs of natural senescence in maize leaves[J]. Acta Physiologiae Plantarum,2013,35(3):949-957.
- [30] 韩霜,陈发棣. 植物对弱光的响应研究进展[J]. 植物生理学报,2013,49(4):309-316.