

应用叶绿素荧光法鉴定氮素对诸葛菜组培苗 光合能力的影响

鲁 珊,毛彩云,肖荷霞

(沧州市农林科学院,河北 沧州 061001)

摘要:为改良培养基的配方,利用调制叶绿素荧光仪,对3个氮素水平(低氮 $0.356 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、中氮 $0.632 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、高氮 $1.159 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、对照组 $0.908 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)组织培养条件下诸葛菜组培苗的光合特性进行了研究。结果表明:3个氮素水平下诸葛菜组培苗光合能力大小顺序为中氮>对照组>高氮>低氮,与氮素并不呈正比关系,在一定浓度范围随氮素的增加而增加,增加到一定程度又出现降低趋势,因此配置适量氮素才可以有效利用且不浪费资源。

关键词:组培苗;调制叶绿素荧光仪;光合能力;氮素

中图分类号:S644.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2017)10-0037-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2017.10.0037

目前组培苗光合能力的测定是基于容器内的二氧化碳浓度的变化^[1-2],虽然此前很多学者自制了测量系统,但由于测量系统自身的缺陷,受测定环境的影响较大,步骤相对复杂,测定时间较长,并且不能测出组培苗固有的光合能力^[3]。为了克服以上问题,必须寻找快速、便捷的方法测定组培苗的光合能力。

叶绿素荧光参数被称为测定叶片光合功能快速、无损伤的探针,越来越多的研究^[4]证明,植物体内发出的叶绿素荧光信号包含了十分丰富的光合作用信息,叶绿素荧光技术已广泛地用来测定农林园艺作物等的光合能力及环境胁迫对其的影响^[5-9],尤其是调制叶绿素荧光技术具有检测方法简便、反应灵敏的特点,极大地推动了光合作用的快速、无损伤测量方法的发展。

本文采用德国 Heinz Walz GmbH 公司生产的 IMAGING-PAM Mini 型调制式荧光仪进行快速、无菌、在线检测组培苗的光合能力特性,对探讨组培苗的生长规律,提高产量,指导工厂化的苗木生产具有重要的意义,是调控组培的环境因子、改良培养基配方的重要依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验在人工气候室内进行,室内温度、湿度及

CO_2 浓度均可调。培养室温度为 $(25 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, CO_2 浓度控制在 $360 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$,空气湿度控制为 45%。供试材料为培养 3~4 代的继代诸葛菜、油菜组培苗。组培瓶由玻璃制作的 150 mL 三角培养瓶。光周期为光 12 h,暗 12 h,培养基为含 3%蔗糖的 MS 附加 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA(α -萘乙酸)、 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA(6-苄基嘌呤)的培养基,培养基用量为 50 mL。光强设定为 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 本试验设置 3 个氮素水平,分别为低氮 $0.356 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、中氮 $0.632 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、高氮 $1.159 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,对照组为 $0.908 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,将培养 3~4 代的继代诸葛菜组培苗接在 3 个氮素浓度梯度的培养基中,培养 10 d。

1.2.2 光合能力的测定 将经上述培养的组培瓶,置于暗处 25 min,使组培苗暗适应后,按常规步骤,在 $134 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 光化光的照射下,测定该组培苗叶片的表现荧光动力学参数,获取其 PS II 的实际量子产量 Φ 、光化学淬灭系数 qP 、非光化学淬灭系数 qN 和光合电子传递的相对速率 $rETR$ 值。选择与含有待测组培苗同质地组培瓶,破坏性获取它的相同位置对荧光的透过率,记为 T 。根据上述测定的组培瓶对荧光的透过率,将通过组培瓶观察的表现叶绿素荧光参数换算成无组培瓶阻挡荧光通过的组培苗实际叶绿素荧光参数,这些参数综合表征该组培苗的光合能力。根据荧光仪测定的表现荧光动力学参数和淬灭系数计算公式计算实际荧光动力学参数,淬灭系数

收稿日期:2017-07-18

第一作者简介:鲁珊(1984-),女,河北省沧州市人,硕士,助理研究员,从事玉米育种研究。E-mail:lushan_607@126.com。

通讯作者:肖荷霞(1963-),女,河北省沧州市人,硕士,研究员,从事玉米栽培育种研究。E-mail:461159070@qq.com。

计算公式为：

$$\begin{aligned}
 qP &= (Fm' - Fs) / Fv' \\
 &= 1 - (Fs - Fo') / (Fm' - Fo'); \\
 qN &= (Fv - Fv') / Fv \\
 &= 1 - (Fm' - Fo') / (Fm - Fo); \\
 NPQ &= (Fm - Fm') / Fm' = Fm / Fm' - 1.
 \end{aligned}$$

根据 PSII 的实际量子产量 $\Delta F/Fm'$ 和光合有效辐射 (Photosynthetically Active Radiation, PAR) 还可计算出光合电子传递的相对速率 $rETR = \Delta F/Fm' \cdot PAR \cdot 0.84 \cdot 0.5$ 。其中 0.84 是

植物的经验性吸光系数,0.5 是假设植物吸收的光能被两个光系统均分。

2 结果与分析

2.1 叶绿素荧光图像

图 1 中 A、B、C、D 分别是诸葛菜组培苗在低氮、中氮、对照组、高氮各组培苗测定荧光参数的成像图。从荧光图像中选点记录组培苗叶片表观基础荧光 Fo 、PSII 的最大量子产量 Fv/Fm 等荧光参数的表观信息。

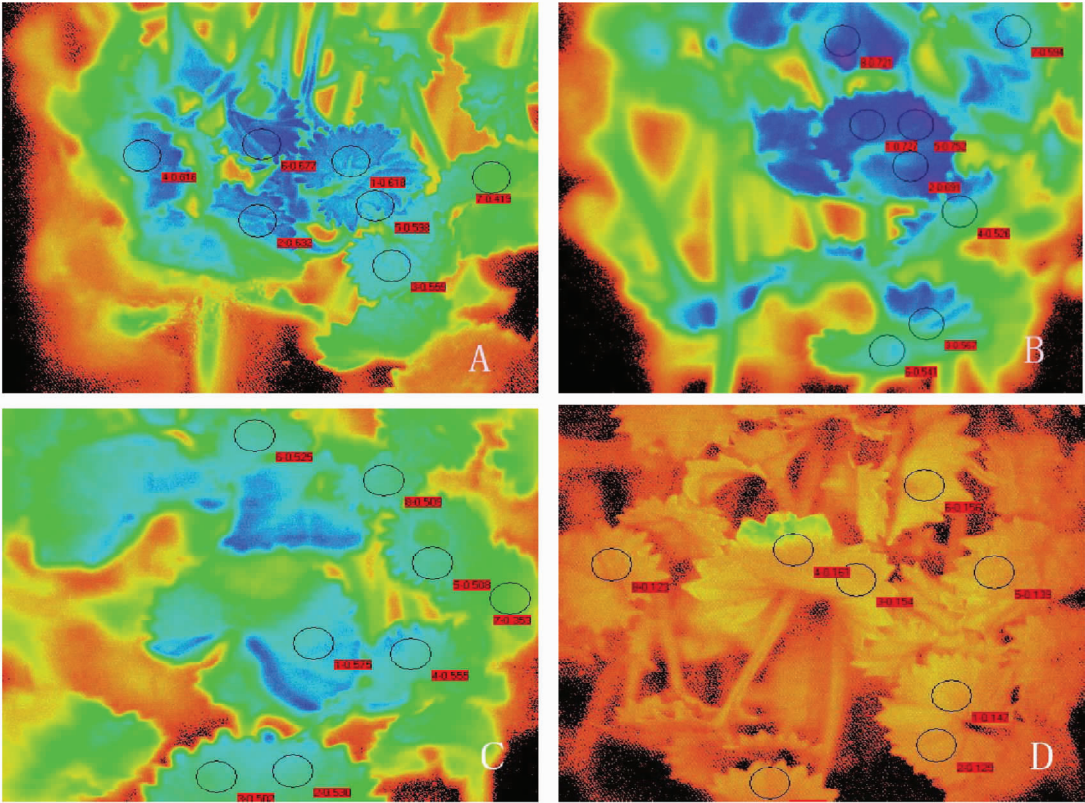


图 1 不同氮素水平组培苗的荧光成像图

Fig. 1 Chlorophyll fluorescence imaging of plantlets in vitro under different nitrogen levels

2.2 不同氮素水平组培苗的荧光参数

经测定同质组培瓶相同位置对荧光的透过率为 $T=0.85$,将各荧光参数换算为无组培瓶阻挡荧光通过的诸葛菜组培苗实际叶绿素荧光参数见表 1、表 2。反应过程中伴随着淬灭反应,淬灭反应是一种自我保护机制,对光合机制起到一定的保护作用,其能量耗散的提高,有助于耗散过剩的激发能,缓解环境对光合作用的影响和过剩光能对 PSII 反应中心的损伤^[10]。

表 1 为不同氮素水平培养 5 d 诸葛菜组培苗

荧光参数,在本试验条件下,可以看出低氮($0.356\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)诸葛菜组培苗光合能力最弱, $rETR$ 为 18.268,低于其它氮素水平($rETR$ 越小,光合能力越弱), qP 、 Fv/Fm 、 Φ 均最小;中氮($0.632\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)诸葛菜组培苗的光合能力均较强, $rETR$ 为 27.066,它超过了对照组, Fo 、 qP 、 Fv/Fm 、 $rETR$ 、 Φ 均最大;高氮($1.159\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)诸葛菜组培苗光合能力较对照组弱,各氮素水平培养的诸葛菜组培苗的光合能力大小顺序为:中氮>对照组>高氮>低氮,可以粗略地用光化光

的照射下的 Φ 、 qP 和 $rETR$ 值表征组培苗的光合能力。

表 1 不同氮素水平培养诸葛菜组培苗的荧光参数(培养第 5 天)

Table 1 The chlorophyll fluorescence parameters of *Orychophragmus violaceus* tissue culture at different nitrogen levels(cultivate the 5th day)

氮素水平 Nitrogen levels	荧光参数值 Fluorescent parameter value						
	F_o	F_m	F_v/F_m	qN	qP	$rETR$	Φ
低氮	0.084	0.318	0.325	0.078	0.441	18.268	0.324
中氮	0.089	0.327	0.481	0.074	0.661	27.066	0.481
对照	0.074	0.296	0.454	0.063	0.604	25.512	0.453
高氮	0.080	0.336	0.410	0.060	0.538	23.042	0.409

表 2 不同氮素水平培养诸葛菜组培苗的荧光参数(培养第 10 天)

Table 2 The chlorophyll fluorescence parameters of *Orychophragmus violaceus* tissue culture at different nitrogen levels (cultivate for 10th day)

氮素水平 Nitrogen levels	荧光参数值 Fluorescent parameter value						
	F_o	F_m	F_v/F_m	qN	qP	$rETR$	Φ
低氮	0.095	0.304	0.242	0.066	0.338	13.123	0.233
中氮	0.074	0.292	0.547	0.095	0.733	30.758	0.547
对照	0.059	0.254	0.372	0.109	0.484	20.891	0.371
高氮	0.092	0.325	0.356	0.209	0.496	19.970	0.355

表 2 为不同氮素水平培养 10 d 诸葛菜组培苗荧光参数。同理可得出以上结论各氮素浓度梯度培养的诸葛菜组培苗的光合能力大小顺序为:中氮>对照组>高氮>低氮,整体规律与诸葛菜组培苗培养 5 d 的荧光参数有一致性,也可以看出中氮水平油菜组培苗光合能力最强。

3 讨论

光合作用作为植物体内的关键代谢过程,其效率的大小对于植物的生长、产量和抗性都具有十分重要的影响,因而可以作为判断植物生长状况和抗性强弱的指标。叶绿素荧光与光合作用各反应过程密切相关,环境因子对光合作用的影响可通过荧光参数反映出来^[11]。一般情况下,光合机构吸收的光能可能 3 个去向:一是用于推动光化学反应;二是转变成热散失;三是以荧光形式散发出来。这 3 种途径之间存在着此消彼长的相互竞争的关系,即光合作用和热耗散的变化会引起荧光发散的相应变化。因此可以通过对荧光的探测来探究光合作用和热耗散的情况^[12-13]。

本试验条件下,由诸葛菜组培苗光合能力信息可知,培养基氮素含量过高或过低都会影响植物的生长,培养基氮素浓度过低通常会加速主根增长,抑制侧根的生长,进而导致根系吸收营养物

质较少,植株生长速度较慢,培养基氮素含量过高时,就会使根细胞失水,从而抑制根细胞营养物质的吸收,甚至导致根细胞死亡,因此培养基配置适量氮素组培苗才可以将其有效利用且不浪费资源,又有利于组培苗快速生长,这为改良培养基的配方提供了科学依据。

参考文献:

[1] 徐志刚,崔瑾,焦学磊. 组培苗光合速率测量系统的研制与试验[J]. 农业工程学报,2003,19(4):38-40.

[2] 王立文,丁为民,丁永前. 无糖组培苗光合速率的测量方法[J]. 农业机械学报,2005,36(5):93-96.

[3] 何焰,戴雅奇,梁方瑜,等. 无糖组培微环境控制技术高新设备的研制与应用[J]. 安徽农业科学,2005,33(12):2460-2462.

[4] Chan Fenjian, Li Hu-xie, Mao Xunjia, et al. Application of chlorophyll fluorescence dynamics to plant physiology in adverse circumstance[J]. Economic Forest Researches,2002,20(4):14-18.

[5] 罗俊,张木清,吕建林,等. 水分胁迫对不同甘蔗品种叶绿素 a 荧光动力学的影响[J]. 福建农业大学学报,2000,29(1):18-22.

[6] Van Kooten, Snel J F H. The use of chlorophyll nomenclature in plant stress physiology[J]. Photosynthesis Res, 1990,25:147-150.

[7] Jiading Yang, Halin Zhao, Huitong Zhang. Effects of osmotic stress on chlorophyll fluorescence in leaf discs of mung-

- bean (*Phaseolus aureus*) [J]. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica, 2003, 23(6): 954-957.
- [8] 杨兴洪, 邹琦, 赵世杰. 遮荫下和全光下生长的棉花光合作用和叶绿素荧光特性 [J]. 植物生态学报, 2005, 29(1): 8-15.
- [9] 刘慧芬, 高玉葆, 张强. 土壤干旱胁迫对不同种群羊草光合及叶绿素荧光的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(2): 209-213.
- [10] Zhang Leiming, Shanguan Zhouping, Mao Mingce, et al. Effects of long-term application of nitrogen fertilizer on leaf chlorophyll fluorescence of up land winter wheat [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2003, 14(5): 695-698.
- [11] 惠红霞, 许兴, 李前荣. 外源甜菜碱对盐胁迫下枸杞光合功能的改善 [J]. 西北植物学报, 2003, 23(12): 2137-2142.
- [12] Bradbury M, Baker N R. A quantitative determination of photochemical and non-photochemical quenching during the slow phase of chlorophyll fluorescence induction curve of bean leaves [J]. Biochen Biophys Acta, 1984, 765: 275-281.
- [13] Peterson R B, Sivak M N, Walker D A. Relationship between steady-state fluorescence yield and photosynthetic efficiency in spinach leaf tissue [J]. Plant Physiol, 1998, 88: 158-163.

Effects of Nitrogen on Photosynthetic Capacity of *Orychophragmcs violaceus* Tissue Culture Seedling by Chlorophyll Fluorescence Method

LU Shan, MAO Cai-yun, XIAO He-xia

(Cangzhou Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Cangzhou, Hebei 061001)

Abstract: PAM chlorophyll fluorometer was used to measure fluorescence parameters of *Orychophragmus violaceus* plantlets *in vitro* at three different nitrogen levels, and the fluorescence parameters was compared. The results showed that the photosynthetic capacity of *Orychophragmus violaceus* plantlets *in vitro* was the strongest under middle nitrogen level, the photosynthetic capacity under high nitrogen level was weaker than control group and the photosynthetic capacity under low nitrogen level was the weakest. It was not a positive correlation between photosynthetic capacity and nitrogen rates, therefore, the appropriate amount of nitrogen in the medium could be effectively used and not waste of resources.

Keywords: tissue culture seedling; pulse-amplitude-modulation; photosynthetic capacity; nitrogen

《天津农业科学》征订启事

《天津农业科学》是天津市农业科学院信息研究所主办的综合性学术期刊,创刊于1974年。国际刊号:ISSN 1006-6500,国内刊号:CN:12-1256/S。本刊为月刊,大16开,150页,每期定价5元,全年60元。

本刊为美国化学文摘CA收录期刊、中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊,中国学术期刊综合评价数据统计源期刊,全国优秀农业期刊。

开设栏目有:植物生理与生物技术、作物栽培与设施园艺、植物保护、土壤肥料与节水灌溉、畜牧兽医与水产养殖、园林绿化、贮藏加工、农产品安全、农业经济与信息技术、农业科研管理、三农问题研究、农业区划等。

适合各级农业科研人员、农技推广人员、农业行政管理干部、农业大中专院校师生参阅。

欢迎订阅,欢迎投稿!

地址:天津市南开区白堤路268号农科大厦1905室

邮编:300192

电话/传真:022-23678601 E-mail: tjnykx@163.com

在线投稿网址: tjnykx.paperopen.com