

## 盐胁迫对葡萄种间杂交砧木F<sub>1</sub>株系光合特性的影响

付晴晴, 孙永江, 翟衡, 杜远鹏\*

山东农业大学园艺科学与工程学院/作物生物学国家重点实验室, 农业部黄淮地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 山东泰安271018

**摘要:** 以目前生产上耐盐性较强的葡萄(*Vitis* sp.)砧木‘1103P’为参照品种, 对‘左山一’×‘SO<sub>4</sub>’杂交砧木F<sub>1</sub>代的6个株系(A15、A17、A34、A35、A38和A48)和‘左山一’×‘101-1’杂交F<sub>1</sub>代2个株系(B24和B26)的一年生盆栽扦插苗进行100 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl胁迫处理, 胁迫20 d后根据表观症状进行盐害分级, 并挑选F<sub>1</sub>代杂交株系中耐盐性较强的A34、耐盐性中等的A38和耐盐性较弱的B26测定NaCl处理下葡萄叶片叶绿素含量、光合气体交换参数、叶绿素荧光参数等指标, 探讨葡萄种间杂交砧木F<sub>1</sub>代株系的盐响应机制。结果表明, 100 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl胁迫下, 各株系的净光合速率和气孔导度均降低, 而胞间CO<sub>2</sub>浓度表现出升高趋势, 说明光合作用的下降是由非气孔限制引起的。与‘1103P’相比, 盐胁迫20 d后耐盐性较强的A34叶绿素含量、光系统II (PSII)最大光化学效率、光合性能指数以及实际光化学效率等降幅较小, PSI和PSII之间激发能分配平衡偏离系数变化较小, 说明葡萄种间杂交F<sub>1</sub>代中耐盐性较强的株系在盐胁迫下能够维持较高的叶绿素含量, 降低PSII激发压, 从而维持光系统之间激发能的平衡, 缓解叶片PSII光抑制程度。

**关键词:** 葡萄砧木; 杂交株系; 盐胁迫; 光合作用; 荧光特性

西北干旱、半干旱地区是我国葡萄(*Vitis* sp.)生产的重要产区, 随着集约化栽培面积的扩大, 盐渍化土壤造成的葡萄生理障碍问题越来越明显, 冬季冻害及土壤盐渍化是我国西北地区面临的主要生态问题。前人研究表明, 利用耐盐性较强的砧木品种能够提高砧穗组合的耐盐性(Paranychi-anakis等2008), 但目前该地区普遍采用的抗寒性较强的砧木品种‘贝达’对盐碱敏感, 容易出现缺铁黄化症状。‘1103P’作为其替代砧木, 虽然与常用砧木相比耐盐性较强(晋学娟2012), 但在盐渍化较严重的土壤环境下仍不能满足生产需求, 因此筛选耐盐能力强的抗寒砧木是当务之急。本课题组前期以抗寒葡萄品种‘左山一’为母本、‘SO<sub>4</sub>’和‘101-1’为父本进行杂交, 并对获得的F<sub>1</sub>代株系的抗寒性进行鉴定, 筛选出抗寒性强于‘贝达’的株系若干(杜远鹏等2017), 在此基础上完成了这些抗寒砧木的耐盐性鉴定(数据未列出), 其中A34、A35、A15和A17株系的耐盐性较强, A38、A48和B24耐盐性中等, ‘1103P’和B26耐盐性较弱。本实验旨在进一步探讨不同株系间的耐盐响应机制。

众多研究认为, 光合作用是植物对盐逆境胁迫最为敏感的生理过程(Brugnoli和Lauteri 1991), 也是葡萄生长发育以及生物量积累的基础。盐胁迫下植物叶片光合速率下降(孙璐等2012), 然而, 关于盐胁迫引起植物净光合速率( $P_n$ )下降的主要原因一直存在不同的观点(Koyro 2006; Liu和Shi

2010)。Brugnoli和Lauteri (1991)认为, 盐胁迫下植株因缺水引起的气孔关闭、CO<sub>2</sub>同化受限是 $P_n$ 降低的首要因素; 另有研究则认为, 在轻度或中度胁迫下气孔因素是 $P_n$ 降低的主要原因, 重度胁迫下非气孔因素已占主导作用。光合作用通过光系统II (photosystem II, PSII)和PSI将光能转化为化学能, 而PSII在植物响应盐胁迫过程中发挥重要作用(Baker 1991)。秦红艳等(2013)研究发现, 中度或重度盐胁迫造成了山葡萄(*V. amurensis*)叶片PSII的光抑制, 致使PSII反应中心受损, 光合电子传递受阻, 过剩光能通过非辐射途径耗散的能力减弱; 另有研究发现, 盐胁迫不同程度降低了葡萄叶片PSII反应中心的潜在活性、光能转化效率以及光合电子传递速率, 增加了通过非光化学途径的能量耗散(秦玲等2012)。盐胁迫对光合作用的影响较为复杂, 利用叶绿素荧光技术研究盐胁迫下株系叶绿素荧光动力学特性, 对探讨葡萄杂交F<sub>1</sub>代株系耐盐性差异具有重要作用。本实验以耐盐能力不同的杂交F<sub>1</sub>代株系为试材, 进一步探讨不同耐盐性F<sub>1</sub>代株系在光合生理上响应机制的差异, 以期揭示盐胁迫下葡萄种间杂交F<sub>1</sub>代光合作用差异的机制。

收稿 2017-03-01 修定 2017-07-11

资助 国家葡萄产业技术体系(CARS-30)和长江学者和创新团队发展计划项目(IRT15R42)。

\* 通讯作者(E-mail: duyuanpeng001@163.com)。

## 材料与方法

### 1 试验材料与设计

试验于2016年2~7月在山东农业大学南校区葡萄园避雨棚内进行。以‘左山一’(山葡萄, *Vitis amurensis* Rupr.) × ‘SO<sub>4</sub>’(冬葡萄×河岸葡萄, *V. berlandieri* Planch. × *V. riparia* Michx.)杂交葡萄砧木F<sub>1</sub>代的6个株系(A15、A17、A34、A35、A38和A48)和‘左山一’ × ‘101-1’(河岸葡萄×沙地葡萄, *V. riparia* × *V. rupestris* Scheele)杂种F<sub>1</sub>代2个株系B24和B26一年生扦插苗为试材, 以目前生产上砧木中耐盐性较强的‘1103P’(*V. berlandieri* × *V. rupestris*)为参照品种。于2016年2月在山东农业大学实验基地冬暖大棚内选取长势健壮(直径0.8~1.0 cm)的枝条剪留两芽扦插于基质(草炭:蛭石:珍珠岩=1:1:1, V/V/V)中, 待生根并长出2片新叶时定植于园土:沙:基质=2:1:1 (V/V/V)的花盆(直径17 cm, 高25 cm)中, 每盆一棵, 至植株长到8~10片完全展开叶时, 用100 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl溶液处理, 以浇清水的各株系为对照, 每隔3 d于下午17:00~18:00浇灌, 每盆浇至溶液从盆底流出(约1 000 mL), 处理20 d时进行叶绿体色素的测定, 第0、8天(第一个株系表现盐害症状的时间)和第20天(各株系均表现不同程度盐害的时间)进行光合气体交换参数的测定, 处理第0、3、6、9、12、20天进行叶绿体荧光参数的测定。测定期间监测棚内光强均维持在(1 000±200) μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>范围内, 可以诱导光抑制的发生。

### 2 测定项目与方法

#### 2.1 叶绿体色素的测定

叶片叶绿素含量用乙醇浸提法测定。

#### 2.2 光合作用气体交换参数的测定

于上午9:00~11:00采用CIRAS-2便携式光合系统(PP-Systems, 美国)对各株系葡萄梢尖下数第4、5片完全展开叶进行P<sub>n</sub>、胞间CO<sub>2</sub>浓度(C<sub>i</sub>)、气孔导度(G<sub>s</sub>)和蒸腾速率(T<sub>r</sub>)的测定, 测定时的光强为1 000 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, CO<sub>2</sub>浓度设定为(360±20) μL·L<sup>-1</sup>, 叶室温度为25°C。

#### 2.3 叶绿体荧光参数的测定

利用连续激发式荧光仪(Handy PEA, Hansatech, 英国)测定快速叶绿素荧光诱导曲线。测定时间同光合作用气体交换参数的测定时间, 从叶绿素a荧光诱导动力学曲线(chlorophyll a fluorescence transient,

OJIP)上可直接获得如下参数(Strasser 1997)。F<sub>0</sub>: 最小荧光(20 μs); F<sub>K</sub>: K点(300 μs)的荧光; F<sub>J</sub>: J点(2 ms)的荧光; F<sub>I</sub>: I点(30 ms)的荧光; F<sub>m</sub>: 0.3~2 s之间的最大荧光; F<sub>t</sub>: 任意时刻的荧光数值。通过测定OJIP曲线可得到如下参数:

$$J\text{点相对可变荧光}(V_J)=(F_J-F_0)/(F_m-F_0);$$

$$\text{PSII最大光化学效率}(F_v/F_m)=1-F_0/F_m;$$

$$\text{OJIP荧光诱导曲线的初始斜率}(M_0)=4(F_K-F_0)/(F_m-F_0);$$

$$\text{PSII的最大量子效率}(\phi_{P_0})=1-F_0/F_m;$$

$$\text{单位反应中心吸收的能量}(ABS/RC)=M_0/(V_J \cdot \phi_{P_0});$$

捕获的激子将电子传递到电子传递链中超过PSII初级电子受体(primary quinone electron acceptor of PSII, Q<sub>A</sub>)的其他电子受体的概率(Ψ<sub>0</sub>)=1-V<sub>J</sub>;

$$\text{光合性能指数}(PI_{ABS})=(RC/ABS)[\phi_{P_0}/(1-\phi_{P_0})][\Psi_0/(1-\Psi_0)].$$

采用FMS-2型便携脉冲调制式荧光仪(Hansatech, 英国)对F<sub>0</sub>'、F<sub>m</sub>'、F<sub>s</sub>、F<sub>0</sub>、F<sub>m</sub>、F<sub>v</sub>等荧光参数进行测定。测定程序如下: 对光适应下(活化光强约1 000 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>)的各株系葡萄叶片先打60 s作用光(1 000 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>), 然后打测量光(<0.05 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>)测得叶片最小荧光(F<sub>0</sub>'), 再打饱和脉冲光(12 000 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>)测得光适应下的最大荧光值(F<sub>m</sub>'), 作用光下F<sub>t</sub>稳定后即即为稳态荧光(F<sub>s</sub>), 关闭叶夹对叶片进行30 min的暗适应后测定初始荧光(F<sub>0</sub>), 打12 000 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>的饱和脉冲光, 使原初电子受体Q<sub>A</sub>全部处于还原状态, 测定暗适应下的最大荧光(F<sub>m</sub>)。根据以上荧光参数, 按照van Kooten和Snel (1990)计算公式如下:

$$\text{PSII实际光化学效率}(\Phi_{PSII})=(F_m'-F_s)/F_m';$$

$$\text{有效光化学量子产量}(F_v'/F_m')=(F_m'-F_0')/F_m';$$

$$\text{PSII激发压}(1-q_p)=1-(F_m'-F_s)/(F_m'-F_0');$$

$$\text{非光化学淬灭}(NPQ)=F_m'/F_m'-1.$$

根据Braun和Malkin (1990)的公式计算两个光系统间激发能分配系数如下:

$$\text{PSII反应中心的开放程度}(f)=(F_m-F_s)/(F_m-F_0);$$

$$\text{PSI激发能分配系数}(\alpha)=f/(1+f);$$

$$\text{PSII激发能分配系数}(\beta)=1/(1+f);$$

PSI和PSII间激发能分配不平衡性用β/α-1表示。

### 3 数据处理

采用Excel 2013软件处理数据和制图, 采用DPS软件进行方差分析, 多重比较中用最小显著差数(least significant difference, LSD)法进行差异显著性检验, 显著水平( $P$ )=0.05。

## 实验结果

### 1 盐胁迫下各株系叶片表现症状及盐害分级

100 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl胁迫处理20 d后, 对各葡萄株系的表观症状及盐害分级进行统计分析。根据王业遯等(1990)将盐害分为5级: 0级, 未出现盐害症状; 1级, 轻度盐害, 只有少量叶片表现叶尖、叶缘或叶脉黄化; 2级, 中度盐害, 有约1/2的叶片出现叶尖、叶缘焦枯; 3级, 重度盐害, 大部分叶片表现叶缘、叶尖焦枯和叶片脱落现象; 4级, 极重度盐害, 枝枯, 叶落, 直至死亡。统计结果(图1)显示, A34和A35植株未出现盐害症状, 盐害级数为0级; A15和A17有少部分叶片边缘焦枯, 盐害级数为1

级; A38、A48和B24受盐害的叶片大部分表现干枯萎蔫, 盐害级数为2级; ‘1103P’的盐害级数为3级; B26为4级盐害。在盐害分级的基础上, 挑选具有代表性的A34 (耐盐性较强)、A38 (耐盐性中等)和B26 (耐盐性较弱)为试材, 以生产上常用砧木‘1103P’为参照, 探讨耐盐性不同的F<sub>1</sub>代葡萄种间杂交株系的光合响应机制。

### 2 盐胁迫对各株系叶片叶绿体色素含量的影响

表1显示, 100 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl胁迫处理20 d后, 各葡萄株系叶片叶绿素 $a$ 、叶绿素 $b$ 、类胡萝卜素和叶绿素 $a+b$ 含量均下降, ‘1103P’和B26株系对应各指标的下降幅度达显著水平, 其中盐胁迫后的‘1103P’对应各指标分别比对照降低了35.12%、31.81%、29.17%和34.56%, 耐盐性较弱的B26对应各指标分别比对照降低了43.42%、29.20%、40.75%和40.85%, 耐盐性一般的A38其对应的各指标分别比对照降低了31.45%、28.94%、30.32%和30.95%, 但耐盐性较强的A34的叶绿素 $a$ 、叶绿素 $b$



图1 盐胁迫对各葡萄株系叶片表现的影响

Fig.1 The phenotypes of grape strains under salt stress

表1 盐胁迫对各株系叶片叶绿体色素含量的影响

Table 1 Effect of salt stress on chloroplast pigment contents in leaves of different strains

株系	NaCl浓度/ mmol·L <sup>-1</sup>	叶绿素 $a$ 含量/ mg·g <sup>-1</sup>	叶绿素 $b$ 含量/ mg·g <sup>-1</sup>	类胡萝卜素含量/ mg·g <sup>-1</sup>	叶绿素 $a+b$ 含量/ mg·g <sup>-1</sup>	叶绿素 $a/b$
‘1103P’	0	0.96±0.03 <sup>cd</sup>	0.19±0.006 <sup>c</sup>	0.20±0.001 <sup>d</sup>	1.15±0.03 <sup>cd</sup>	4.99±0.09 <sup>a</sup>
	100	0.62±0.01 <sup>f</sup>	0.13±0.001 <sup>d</sup>	0.14±0.001 <sup>e</sup>	0.75±0.01 <sup>f</sup>	4.75±0.03 <sup>bc</sup>
A34	0	1.13±0.08 <sup>ab</sup>	0.29±0.02 <sup>a</sup>	0.31±0.02 <sup>a</sup>	1.43±0.10 <sup>ab</sup>	3.91±0.009 <sup>bc</sup>
	100	1.04±0.07 <sup>bc</sup>	0.26±0.01 <sup>b</sup>	0.26±0.02 <sup>bc</sup>	1.30±0.08 <sup>bc</sup>	4.12±0.10 <sup>abc</sup>
A38	0	1.20±0.07 <sup>a</sup>	0.30±0.01 <sup>a</sup>	0.32±0.02 <sup>a</sup>	1.50±0.08 <sup>a</sup>	4.09±0.08 <sup>bc</sup>
	100	0.82±0.05 <sup>de</sup>	0.21±0.01 <sup>c</sup>	0.23±0.01 <sup>cd</sup>	1.04±0.06 <sup>de</sup>	3.95±0.001 <sup>bc</sup>
B26	0	1.26±0.01 <sup>a</sup>	0.28±0.006 <sup>ab</sup>	0.26±0.003 <sup>b</sup>	1.54±0.02 <sup>a</sup>	4.59±0.06 <sup>ab</sup>
	100	0.71±0.01 <sup>ef</sup>	0.20±0.01 <sup>c</sup>	0.15±0.004 <sup>e</sup>	0.91±0.02 <sup>ef</sup>	3.68±0.19 <sup>c</sup>

表中数据表示为平均值±标准差, 同一指标数据用不同小写字母标识表示差异显著( $P<0.05$ ), 表2同。

以及叶绿素 $a+b$ 下降幅度较小, 分别比对照降低了8.05%、12.96%和9.06%; A34的叶绿素 $a/b$ 高于自身对照, 而其他株系的叶绿素 $a/b$ 均低于各自对照。

### 3 盐胁迫对各株系叶片光合气体交换参数的影响

从表2中可以看出, 100 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl处理降低了各株系叶片的 $P_n$ , 并且降低幅度随着处理天数的增加呈增大趋势, 其中A34和A38降低幅度较小, 盐处理至20 d时分别比处理前降低了22.09%和

36.04%, B26盐胁迫8 d时已与各自对照差异达显著水平, 而‘1103P’和B26胁迫至20 d时分别比处理前降低了79.59%和88.12%; 盐胁迫下各株系 $C_i$ 呈不同程度的升高趋势, 而 $G_s$ 呈不同程度的降低趋势, 胁迫至20 d时, ‘1103P’、A34、A38和B26的 $C_i$ 分别比处理前升高了33.93%、27.12%、41.83%和65.07%, ‘1103P’、A34、A38和B26的 $G_s$ 分别比处理前降低了71.84%、17.07%、69.86%和76.86%。

表2 盐胁迫对各株系叶片光合气体交换参数的影响

Table 2 Effect of salt stress on photosynthetic gas exchange parameters in leaves of different strains

株系	处理时间/d	$P_n/\mu\text{mol}(\text{CO}_2)\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	$C_i/\mu\text{mol}(\text{CO}_2)\cdot\text{mol}^{-1}$	$G_s/\text{mmol}(\text{H}_2\text{O})\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	$T_r/\text{mmol}(\text{H}_2\text{O})\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
‘1103P’	0	9.43±1.27 <sup>cdef</sup>	237.8±18.6 <sup>cde</sup>	129.3±16.5 <sup>bc</sup>	3.68±0.36 <sup>bc</sup>
	8	7.40±0.88 <sup>ef</sup>	280.2±35.0 <sup>bc</sup>	81.3±1.5 <sup>cd</sup>	1.23±0.39 <sup>g</sup>
	20	1.93±0.90 <sup>g</sup>	318.4±31.5 <sup>ab</sup>	36.4±13.9 <sup>d</sup>	0.67±0.15 <sup>g</sup>
A34	0	13.05±1.81 <sup>a</sup>	214.3±10.6 <sup>e</sup>	174.3±8.2 <sup>ab</sup>	3.18±0.42 <sup>cd</sup>
	8	12.27±1.25 <sup>abc</sup>	240.5±14.1 <sup>cde</sup>	153.0±14.8 <sup>ab</sup>	2.88±0.30 <sup>de</sup>
	20	10.17±0.31 <sup>bcd</sup>	272.4±23.2 <sup>bcd</sup>	144.5±24.3 <sup>ab</sup>	2.22±0.18 <sup>e</sup>
A38	0	10.48±0.75 <sup>bcd</sup>	217.3±28.0 <sup>e</sup>	141.0±7.1 <sup>ab</sup>	4.13±0.71 <sup>ab</sup>
	8	9.40±1.59 <sup>def</sup>	266.8±32.7 <sup>bcd</sup>	71.5±12.4 <sup>d</sup>	2.15±0.29 <sup>ef</sup>
	20	6.70±0.50 <sup>f</sup>	308.3±29.8 <sup>b</sup>	42.5±0.7 <sup>d</sup>	1.23±0.06 <sup>g</sup>
B26	0	12.42±1.24 <sup>ab</sup>	219.0±8.04 <sup>de</sup>	183.3±31.3 <sup>a</sup>	4.53±0.47 <sup>a</sup>
	8	2.82±1.08 <sup>g</sup>	248.6±24.87 <sup>bcd</sup>	73.8±17.4 <sup>d</sup>	1.38±0.28 <sup>fg</sup>
	20	1.48±0.50 <sup>g</sup>	361.5±18.05 <sup>a</sup>	42.4±16.7 <sup>d</sup>	0.80±0.12 <sup>g</sup>

## 4 盐胁迫对各株系叶绿体荧光参数的影响

### 4.1 盐胁迫对 $F_v/F_m$ 和 $PI_{\text{ABS}}$ 的影响

$F_v/F_m$ 表示光合作用机构把吸收的光能用作光化学反应的最大效率, 通常用 $F_v/F_m$ 的下降幅度大小来反映植株叶片PSII的光抑制/伤害程度(李鹏民等2005); 光合性能指数( $PI_{\text{ABS}}$ )包含 $RC/\text{ABS}$ 、 $\Phi_{\text{Po}}$ 、 $\Psi_0$ 等相互独立的3个参数, 可以更准确地反映植物光合机构的状态, 更好地反映胁迫对光合机构的影响(Appenroth等2001; van Heerden等2003, 2004)。从图2-A中可以看出, 随着NaCl胁迫时间的延长, ‘1103P’处理9 d后和B26处理6 d后的 $F_v/F_m$ 出现急剧下降的趋势, 处理至20 d时分别比处理前降低了65.96%和68.90%, 说明‘1103P’和B26在盐胁迫处理下叶片PSII活性受到严重的抑制, 而A34降低幅度较小, 胁迫20 d比处理前降低了5.32%, 其次是A38, 胁迫至20 d时比处理前降低了27.57%; 从图2-B中可以看出, 各株系的 $PI_{\text{ABS}}$ 随着盐胁迫时间的延长出现明显降低趋势, A34降低程度较小, 处理至20 d时比处理前降低了35.19%, 而‘1103P’和

B26的降低幅度较大, 分别比处理前降低了94.19%和98.78%。

### 4.2 盐胁迫对荧光淬灭动力学的影响

$\Phi_{\text{PSII}}$ 反映叶片在照光条件下光合机构中用于电子传递的能量占所吸收光能的比例, 又称最大PSII天线转化效率;  $F_v'/F_m'$ 表示环境光下开放的PSII反应中心激发能的捕获效率;  $1-q_p$ 是衡量激发能捕获和利用之间是否平衡的重要参数, 反映了PSII反应中心的关闭程度(Havaux等1991); NPQ反映PSII处理过剩激发能的能力(Gilmore 1997)。从图3-A和B中可以看出, 随着盐处理时间的推移, ‘1103P’和B26叶片的 $\Phi_{\text{PSII}}$ 、 $F_v'/F_m'$ 呈现不同程度的下降趋势, 并且处理6 d后比其他株系下降效果明显, 说明100 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl处理下‘1103P’和B26叶片PSII光化学活性和PSII天线激发能捕获效率显著降低, 并且叶片中用于推动光化学反应的部分占捕获的激发能的比例下降明显, 说明盐胁迫导致PSII功能出现了明显下调。与其他株系相比, A34的降低幅度较小, PSII系统保持较高的光化学

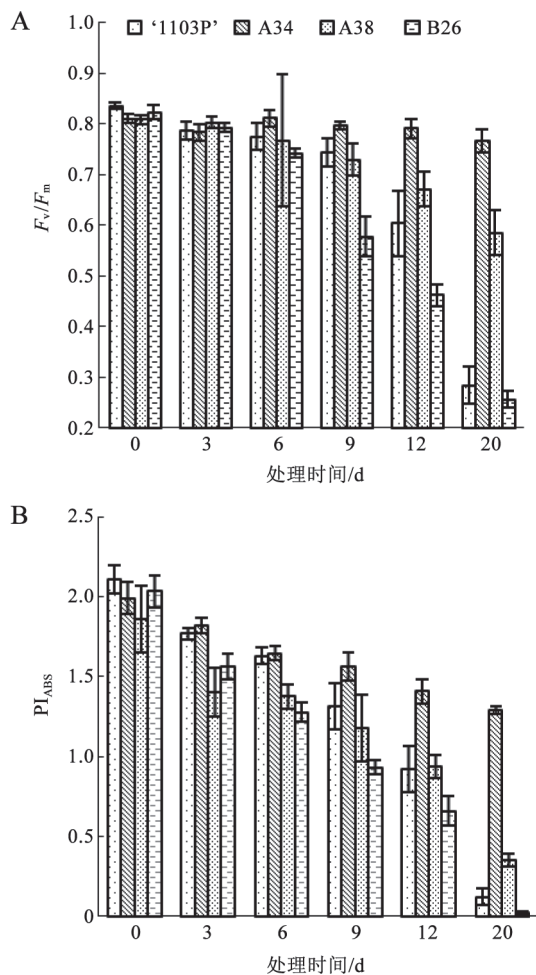


图2 盐胁迫对各株系叶片 $F_v/F_m$  (A)和 $PI_{ABS}$  (B)的影响  
Fig.2 Effect of salt stress on  $F_v/F_m$  (A) and  $PI_{ABS}$  (B) in different strain leaves

活性。从图3-C和D中可以看出,随着盐胁迫时间的延长,不同株系葡萄叶片的 $1-q_p$ 均呈上升趋势,A34的升高幅度较小,'1103P'和B26大幅度升高,胁迫20 d时分别是处理前的3.15和5.34倍,说明盐处理使'1103P'和B26叶片的PSII过刺激能严重积累,维持 $Q_A$ 较高的还原状态;各株系葡萄叶片的热耗散随着处理时间的延长而升高,A34略有升高,而'1103P'、A38和B26表现出较高的升幅,说明各株系叶片在盐胁迫下为保护光合机构免受伤害而快速启动热耗散,以耗散过多的能量(Krause和Weis 1991)。

#### 4.3 盐胁迫对两个光系统间激发能分配的影响

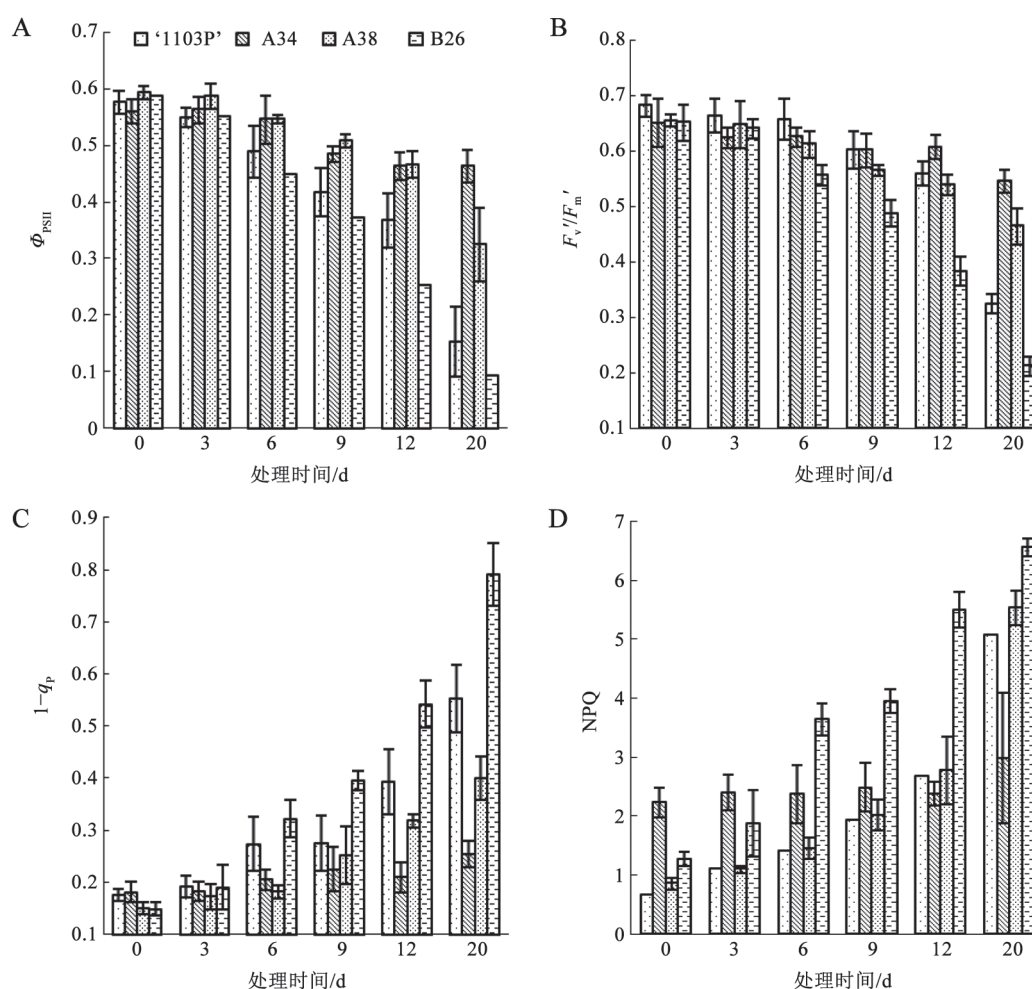
对PSII荧光产量进行分析可以得到两个光系统之间激发能的分配(Braun和Malkin 1990)。从图

4-A和B中可以看到,随着盐处理天数的增加,A34的PSI激发能分配系数( $\alpha$ )和PSII激发能分配系数( $\beta$ )变化比较平稳, $\alpha$ 基本维持在0.4~0.45之间, $\beta$ 基本维持在0.55~0.6之间;而'1103P'和B26的 $\alpha$ 大幅度降低,处理至20 d比处理前显著降低了35.59%和63.40%,处理至20 d的 $\beta$ 比处理前升高了28.85%和52.03%,说明盐胁迫严重影响激发能在PSI和PSII之间的均匀分配,导致光系统之间激发能分配失衡。从盐处理条件下叶片PSI和PSII之间激发能分配平衡偏离系数( $\beta/\alpha-1$ )同样可以看出,'1103P'和B26的 $\beta/\alpha-1$ 升高幅度较大,两个光系统严重偏离平衡,其次是A38,而A34表现最佳。

## 讨 论

叶绿素是植物进行光合作用的物质基础,叶绿体色素含量和光能捕获具有密切联系。本研究发现,盐胁迫下各葡萄株系叶片叶绿素含量均呈下降趋势,但耐盐性不同的株系其下降程度不同,耐盐性强的A34株系的叶绿素含量降低幅度较小,表明其光合机构对光能的捕获和转化能力较强(王海珍等2013)。随着盐胁迫时间的延长, $C_i$ 不断增加,并且耐盐性弱的株系增加速度更快,增加量也更大,而 $G_s$ 却随处理时间延长而不断减小,说明 $P_n$ 的下降不是因为 $G_s$ 的降低使 $CO_2$ 供应不足所致,而是非气孔因素阻碍了 $CO_2$ 的利用,从而造成胞间 $CO_2$ 不断积累(Allen和Ort 2001),同时也说明非气孔限制已经成为抑制光合作用的主要原因(Yang等2006;杨淑萍等2010)。

对叶片的叶绿素荧光参数进行分析能够反映胁迫条件下植物光合器官的伤害程度(冯玉龙等2011)。当植物光合机构吸收的光能超过所能利用的量时,会导致光合效率下降,发生光抑制(李鹏民等2005)。前人研究发现,随着盐处理浓度的提高,植物的 $F_v/F_m$ 呈降低的趋势,并且耐盐性强的植株降低幅度较小(杨淑萍等2010;孙璐等2012)。本研究发现,随着盐处理时间的推移,A34株系的 $F_v/F_m$ 下降幅度较小,说明耐盐性较强的植株叶片光能转化效率未发生显著改变;而耐盐性较弱的'1103P'和B26等株系的 $F_v/F_m$ 下降趋势明显,说明叶片出现较为严重的光抑制。作为反映光合性能指数的 $PI_{ABS}$ (van Heerden等2007)也发生显著降低,表明'1103P'、

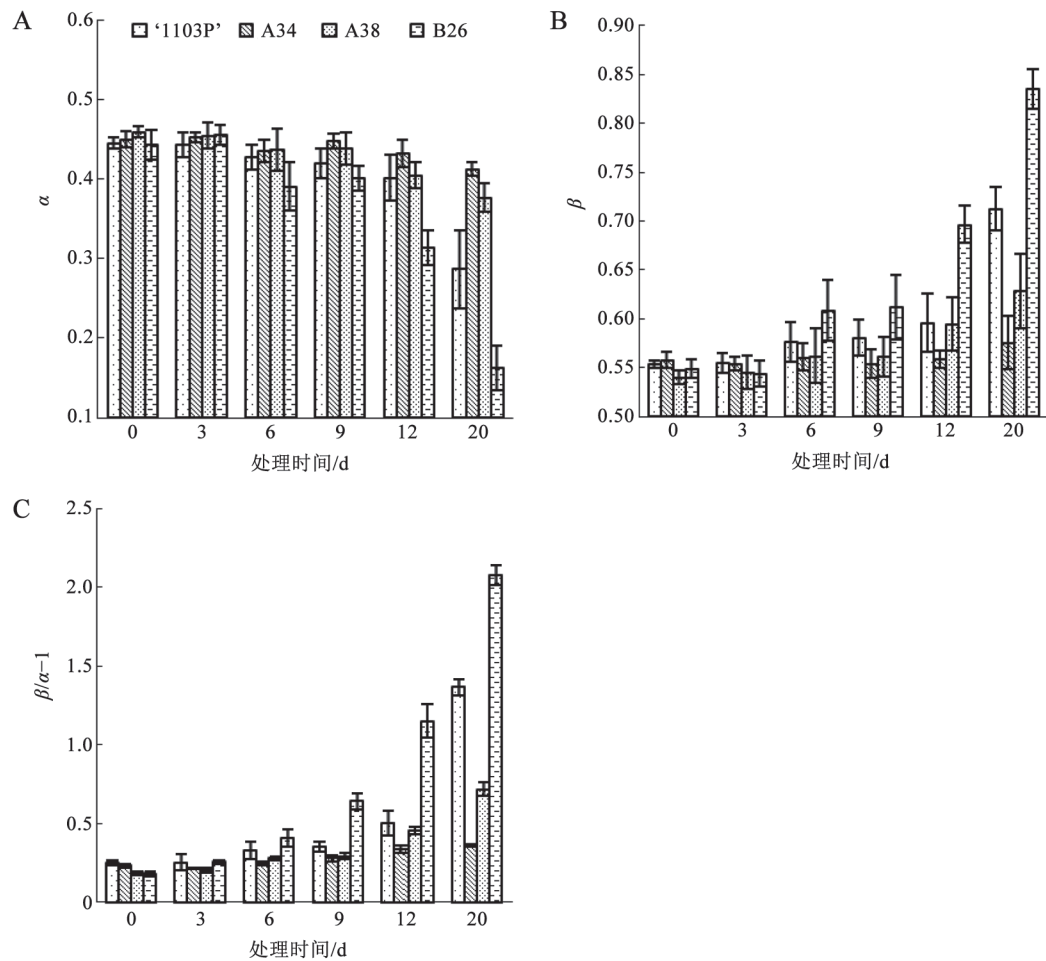
图3 盐胁迫对各株系叶片 $\Phi_{\text{PSII}}$  (A)、 $F_v/F_m'$  (B)、 $1-q_p$  (C)和NPQ (D)的影响Fig.3 Effect of salt stress on  $\Phi_{\text{PSII}}$  (A),  $F_v/F_m'$  (B),  $1-q_p$  (C) and NPQ (D) in different strain leaves

B26等植株叶片光合机构的功能受到伤害,降低了PSII性能。

盐胁迫通过抑制光合色素合成或促进叶绿素分解,进而导致光能捕获效率降低,用于光化学反应中心的能量减少,最终使光合能力下降(Sudhir等2004)。本研究中各株系的 $\Phi_{\text{PSII}}$ 和 $F_v/F_m'$ 均呈现不同程度的降低,其中A34株系的降低幅度较小(图2),表明耐盐能力较强的A34株系在盐胁迫下PSII反应中心下调程度较轻,仍能维持较高的光能捕获效率与光能转化效率,并保持较强的光合电子传递能力,为光合碳同化提供更多的能量和还原力(王海珍等2013)。NPQ是植物保护PSII免受过剩激发能伤害的有效途径, $1-q_p$ 和NPQ升高幅度越大,说明PSII反应中心的开放程度( $f$ )越低,从天线色素上捕获的光能用于光化学反应的比例越小。

耐盐性较弱的‘1103P’和B26株系NPQ急剧升高(图4-B),说明盐胁迫下植物通过光化学对激发能的利用大幅度降低(陈大印等2011),但耐盐性较弱的株系较高的热耗散并未有效避免叶片光抑制的发生。

两个光系统的协调运转是光合作用能够正常运行的关键,而前者又依靠光合色素吸收的光能在PSII和PSI之间的均衡分配(Murata等2007)。随着盐处理天数的增加,耐盐性较弱的‘1103P’和B26等株系叶片两个光系统间的激发能分配严重失衡,叶片吸收的光能不能有效地通过状态转换从PSII传递到PSI,PSII激发压出现明显增大(图3和4-A),两个光系统间的电子传递不协调导致光合作用不能高效运行,而A34的激发能分配偏离系数的变化曲线比较平缓,说明其激发能分配有较小程度的

图4 盐胁迫对各株系叶片 $\alpha$ 、 $\beta$ 和 $\beta/\alpha-1$ 的影响Fig.4 Effect of salt stress on  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\beta/\alpha-1$  in different strain leaves

失衡,其次是A38。激发压过量会导致PSII结构和功能等发生变化或损伤(Tsonev和Hikosaka 2003),而耐盐性较强的A34株系能够降低盐胁迫对PSII的伤害程度。

正常情况下,植物叶片吸收光能进行电子传递驱动碳同化(Cheng等2001)。王松(2016)在番茄(*Solanum lycopersicum*)上的研究发现,NaCl胁迫导致光合碳同化受到了抑制。本试验的数据结果表明,'1103P'、B26等耐盐性较弱的株系叶片光化学效率下降,植物通过光化学反应对激发能的利用大幅降低,推测盐胁迫通过加剧光合电子传递的抑制,降低了同化力(ATP和NADPH)的产生,进而限制了光合碳同化的进程;耐盐性强的F<sub>1</sub>代葡萄种间杂交株系A34能够维持较高的光能转化效率,保持PSII和PSI之间光能的均衡分配,从而维持较高的光合电子传递活性,缓解光合速率的降低。

综上所述,葡萄种间杂交F<sub>1</sub>代中耐盐性较强的株系能够在盐胁迫下维持较高的叶绿素含量以及光系统之间激发能分配的平衡,缓解叶片PSII光抑制程度;而耐盐性较弱的'1103P'、B26等株系PSII激发压明显升高,光化学效率严重下降,从而导致 $P_n$ 降低。

### 参考文献

- Allen DJ, Ort DR (2001). Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plant. *Trends Plant Sci*, 6: 36–42
- Appenroth KJ, Stöckel J, Srivastava A, Strasser RJ (2001). Multiple effects of chromate on the photosynthetic apparatus of *Spirodela polyrhiza* as probed by OJIP chlorophyll *a* fluorescence measurements. *Environ Pollut*, 115: 49–64
- Baker NR (1991). A possible role for photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis. *Physiol Plant*, 81 (4): 563–570
- Braun G, Malkin S (1990). Regulation of the imbalance in light excitation between Photosystem II and Photosystem I by cations and by the energized state of the thylakoid membrane. *Biochim*

- Biophys Acta, 1017: 79–90
- Brugnoli E, Lauteri M (1991). Effects of salinity on stomatal conductance, photosynthetic capacity, and carbon isotope discrimination of salt-tolerant (*Gossypium hirsutum* L.) and salt-sensitive (*Phaseolus vulgaris* L.) C<sub>3</sub> non-halophytes. *Plant Physiol*, 95 (2): 628–635
- Chen DY, Liu CY, Yuan Y, Zheng GS (2011). Effects of temperature and light treatments on PSII photochemical activity in 'Roufuring' tree peony leaves. *Acta Horticult Sin*, 38 (10): 1939–1946 (in Chinese with English abstract) [陈大印, 刘春英, 袁野, 郑国生 (2011). 不同光强与温度处理对'肉芙蓉'牡丹叶片PSII光化学活性的影响. *园艺学报*, 38 (10): 1939–1946]
- Cheng L, Fuchigami LH, Breen PJ (2001). The relationship between photosystem II efficiency and quantum yield for CO<sub>2</sub> assimilation is not affected by nitrogen content in apple leaves. *J Exp Bot*, 52 (362): 1865–1872
- Du YP, Gao Z, Fu QQ, Guo SH, Zhai H (2017). Evaluation on phylloxera resistance and cold hardiness of roots of two grape hybrids combinations. *Acta Entomol Sin*, 60 (2): 197–204 (in Chinese with English abstract) [杜远鹏, 高振, 付晴晴, 郭淑华, 翟衡 (2017). 两个葡萄杂交后代根系抗葡萄抗根瘤蚜及抗寒性鉴定. *昆虫学报*, 60 (2): 197–204]
- Feng Y, Feng Z, Cao K (2001). The protection against photodamage in *Amomum villosum* Lour. *Acta Phytophysiol Sin*, 27 (6): 483–488 (in Chinese) [冯玉龙, 冯志立, 曹坤芳 (2001). 砂仁叶片光破坏的防御. *植物生理学报*, 27 (6): 483–488]
- Gilmore AM (1997). Mechanistic aspects of xanthophyll cycle-dependent photoprotection in higher plant chloroplasts and leaves. *Physiol Plant*, 99: 197–209
- Havaux M, Strasser RJ, Greppin H (1991). A theoretical and experimental analysis of the q<sub>p</sub> and q<sub>N</sub> coefficients of chlorophyll fluorescence quenching and their relation to photochemical and nonphotochemical events. *Photosynth Res*, 27: 41–55
- Jin X (2012). Studies on saline-alkaline tolerance of different grape scion-stock combinations (Master's thesis). Taian: Shandong Agricultural University (in Chinese with English abstract) [晋学娟 (2012). 葡萄不同砧穗组合耐盐碱能力研究 (硕士论文). 泰安: 山东农业大学]
- Koyro HW (2006). Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). *Environ Exp Bot*, 56 (2): 136–146
- Krause GH, Weis E (1991). Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 42: 313–349
- Li P, Gao H, Strasser RJ (2005). Application of the fast chlorophyll fluorescence induction dynamics analysis in photosynthesis study. *J Plant Physiol Mol Biol*, 31 (6): 559–566 (in Chinese) [李鹏民, 高辉远, Strasser RJ (2005). 快速叶绿素荧光诱导动力学分析在光合作用研究中的应用. *植物生理与分子生物学学报*, 31 (6): 559–566]
- Liu J, Shi DC (2010). Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, inorganic ion and organic acid accumulations of sunflower in responses to salt and salt-alkaline mixed stress. *Photosynthetica*, 48: 127–134
- Murata N, Takahashi S, Nishiyama Y, Allakhverdiev SI (2007). Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *Biochim Biophys Acta*, 1767 (6): 414–421
- Paranychianakis NV, Angelakis AN (2008). The effect of water stress and rootstock on the development of leaf injuries in grapevines irrigated with saline effluent. *Agr Water Manage*, 95 (4): 375–382
- Qin H, Ai J, Xu P, Wang Z, Zhao Y, Yang Y, Fan S, Shen Y (2013). Chlorophyll fluorescence parameters and ultrastructure in Amur grape (*Vitis amurensis* Rupr.) under salt stress. *Acta Bot Boreali-Occident Sin*, 33 (6): 1159–1164 (in Chinese with English abstract) [秦红艳, 艾军, 许培磊, 王振兴, 赵滢, 杨义明, 范书田, 沈育杰 (2013). 盐胁迫对山葡萄叶绿素荧光参数及超微结构的影响. *西北植物学报*, 33 (6): 1159–1164]
- Qin L, Kang WH, Qi YL, Cai AJ (2012). Effects of salt stress on mesophyll cell structures and photosynthetic characteristics in leaves of wine grape (*Vitis* spp.). *Sci Agr Sin*, 45 (20): 4233–4241 (in Chinese with English abstract) [秦玲, 康文怀, 齐艳玲, 蔡爱军 (2012). 盐胁迫对酿酒葡萄叶片细胞结构及光合特性的影响. *中国农业科学*, 45 (20): 4233–4241]
- Strasser BJ (1997). Donor side capacity of photosystem II probed by chlorophyll *a* fluorescence transients. *Photosynth Res*, 52 (2): 147–155
- Sudhir P, Murthy SDS (2004). Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis. *Photosynthetica*, 42 (4): 481–486
- Sun L, Zhou YF, Li FX, Xiao MJ, Tao Y, Xu WJ, Huang RD (2012). Impacts of salt stress on characteristics of photosynthesis and chlorophyll fluorescence of sorghum seedlings. *Sci Agr Sin*, 45 (16): 3265–3272 (in Chinese with English abstract) [孙璐, 周宇飞, 李丰先, 肖木辑, 陶冶, 许文娟, 黄瑞冬 (2012). 盐胁迫对高粱幼苗光合作用和荧光特性的影响. *中国农业科学*, 45 (16): 3265–3272]
- Tsonev TD, Hikosaka K (2003). Contribution of photosynthetic electron transport, heat dissipation, and recovery of photoinactivated photosystem II to photoprotection at different temperatures in *Chenopodium album* leaves. *Plant Cell Physiol*, 44 (8): 828–835
- van Heerden PDR, Strasser RJ, Krüger GHJ (2004). Reduction of dark chilling stress in N<sub>2</sub>-fixing soybean by nitrate as indicated by chlorophyll *a* fluorescence kinetics. *Physiol Plant*, 121 (2): 239–249
- van Heerden PDR, Swanepoel JW, Krüger GHJ (2007). Modulation of photosynthesis by drought in two desert scrub species exhibiting C<sub>3</sub>-mode CO<sub>2</sub> assimilation. *Environ Exp Bot*, 61 (2): 124–136
- van Heerden PDR, Tsimilli-Michael M, Krüger GHJ, Strasser RJ (2003). Dark chilling effects on soybean genotypes during vegetative development: parallel studies of CO<sub>2</sub> assimilation, chlorophyll *a* fluorescence kinetics O-J-I-P and nitrogen fixation. *Physiol Plant*, 117 (4): 476–491
- van Kooten O, Snel JFH (1990). The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynth Res*, 25 (3): 147–150
- Wang H, Chen J, Han L, Xu Y, Jia W (2013). Effects of groundwater levels on photosynthetic pigments and light response of chloro-



- phyll fluorescence parameters of *Populus euphratica* and *Populus pruinosa*. *J Desert Res*, 33 (4): 1054–1063 (in Chinese) [王海珍, 陈加利, 韩路, 徐雅丽, 贾文锁(2013). 地下水位对胡杨(*Populus euphratica*)和灰胡杨(*Populus pruinosa*)叶绿素荧光响应与光合色素含量的影响. *中国沙漠*, 33 (4): 1054–1063]
- Wang Y (2016). Effect of exogenous NO on photosynthetic carbon assimilation in tomato seedlings under NaCl stress (Master's thesis). Shihezi: Shihezi University (in Chinese with English abstract) [王松. 外源NO对盐胁迫下番茄光合碳同化的影响(硕士学位论文). 石河子: 石河子大学]
- Wang Y, Ma K, Jiang W, Ling Z, Gu P, Wu B, Chen B, Ying B (1990). Preliminary report on salt resistance test of five fruit trees. *China Fruits*, (3): 8–12 (in Chinese) [王业遴, 马凯, 姜卫兵, 凌志奋, 顾平, 吴兵, 陈炳泉, 应宝清(1990). 五种果树耐盐力试验初报. *中国果树*, (3): 8–12]
- Yang SP, Wei CZ, Liang YC (2010). Effects of NaCl stress on the characteristics of photosynthesis and chlorophyll fluorescence at seedlings stage in different sea island cotton genotypes. *Sci Agr Sin*, 43 (8): 1585–1593 (in Chinese with English abstract) [杨淑萍, 危常州, 梁永超(2010). 盐胁迫对不同基因型海岛棉光合作用及荧光特性的影响. *中国农业科学*, 43 (8): 1585–1593]
- Yang X, Chen X, Ge Q, Li B, Tong Y, Zhang A, Li Z, Kuang T, Lu C (2006). Tolerance of photosynthesis to photoinhibition, high temperature and drought stress in flag leaves of wheat: a comparison between a hybridization line and its parents grown under field condition. *Plant Sci*, 171 (3): 389–397

## Effect of salt stress on photosynthetic characteristics in grape rootstock of interspecific F<sub>1</sub> hybrids

FU Qing-Qing, SUN Yong-Jiang, ZHAI Heng, DU Yuan-Peng\*

*College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University / State Key Laboratory of Crop Biology; Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticultural Crops in Huanghuai Region, Ministry of Agriculture, Taian, Shandong 271018, China*

**Abstract:** One-year potted cuttings of 6 grape (*Vitis* sp.) hybrids (A15, A17, A34, A35, A38 and A48) of 'Zuoshan 1' × 'SO<sub>4</sub>' and 2 grape hybrids (B24 and B26) of 'Zuoshan 1' × '101-1' were irrigated with 100 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl. NaCl tolerance of these plants were classified according to their phenotype after 20 days of NaCl treatment. A34, A38 and B26 with high, moderate and low salt tolerances, respectively, were selected to study salt tolerance mechanism. The chlorophyll content, photosynthetic gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters were determined under salt treatment. The results show that net photosynthetic rates and stomatal conductances in different strains decreased under 100 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl, while intercellular CO<sub>2</sub> concentrations increased, indicating that the decrease of net photosynthetic rate resulted from non-stomatal limitation. Compared to '1103P', chlorophyll content, net photosynthetic rate, photosynthetic performance indexes and actual photochemical efficiency in A34 strain slightly decreased, and the coefficient deviation on excitation energy between two photosystems changed to a small extent. It is suggested that PSII photoinhibition occurs in different strains under salt stress. Strains with high salt tolerance could remain high pigment contents, decrease PSII excitation pressure, keep balance excitation energy, and thereby alleviate PSII photoinhibition under salt stress in grape leaves.

**Key words:** grape rootstock; hybrid strain; salt stress; photosynthesis; fluorescence characteristics

Received 2017-03-01 Accepted 2017-07-11

This work was supported by China's Agriculture Research System (Grant No. CARS-30), and the Changjiang Scholars and Innovative Research Team in University Project (Grant No. IRT15R42).

\*Corresponding author (E-mail: duyuanpeng001@163.com).