

## 臭氧胁迫下不同光强与温度处理对‘赤霞珠’ 葡萄叶片 PSII 光化学活性的影响

耿庆伟<sup>1,2</sup>, 邢浩<sup>1</sup>, 翟衡<sup>1</sup>, 蒋恩顺<sup>3</sup>, 杜远鹏<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 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, 山东泰安 271018; <sup>2</sup> 曲阜市吴村镇人民政府, 山东曲阜 273100;

<sup>3</sup> 山东省果树研究所, 山东泰安 271018)

**摘要:** 【目的】自然界中臭氧与强光和高温逆境因素往往同时存在, 探讨光强和温度及臭氧的交叉胁迫对葡萄叶片光系统功能的伤害机制, 为生产上通过调控光照、温度缓解臭氧对葡萄的危害提供理论依据。【方法】以盆栽‘赤霞珠’葡萄为试验材料, 利用叶绿素荧光动力学技术, 研究  $(120 \pm 20) \text{ nL} \cdot \text{L}^{-1}$  的臭氧浓度下, 不同光强 ( $800$ 、 $1\ 600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) 与温度 ( $26^\circ\text{C}$ 、 $40^\circ\text{C}$ ) 处理对光系统 II 光化学活性的影响。【结果】臭氧胁迫下  $40^\circ\text{C}$  的高温 and  $1\ 600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  的强光均可以显著降低叶片最大光化学效率 ( $F_v/F_m$ )、线性电子传递速率 (ETR)、单位面积有活性反应中心的数量 ( $\text{RC}/\text{CS}_m$ ) 以及光化学淬灭系数 ( $q_p$ ), 同时降低了光系统 I 激发能分配系数 ( $\alpha$ ), 增大了光系统 II 激发能分配系数 ( $\beta$ ), 导致两个光系统之间的激发能分配严重偏离平衡, 造成了光系统 II 的伤害,  $1\ 600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  的强光影响大于  $40^\circ\text{C}$  的高温影响, 强光、高温与臭氧复合胁迫对葡萄叶片影响最为严重。其中臭氧、适光、高温 (T2) 和臭氧、强光、适温 (T3) 处理后的叶片 PSII 最大光化学量子产量  $F_v/F_m$  值分别比臭氧、适光、适温处理 (T1) 降低了 10.3% 和 38.8%, 臭氧、强光、高温 (T4) 处理后  $F_v/F_m$  降幅最大, 达到 54.8%。T2、T3 和 T4 处理后叶片 PSII 的潜在活性  $F_v/F_o$  分别比 T1 降低了 30.4%、69.6% 和 80.3%。与 T1 相比, T2、T3 和 T4 处理后的叶片单位面积内有活性反应中心的数量  $\text{RC}/\text{CS}_m$  值分别降低了 26.8%、68.4% 和 70.2%, T2、T3 和 T4 处理后的叶片  $\Psi_o$  值分别比 T1 降低了 11.2%、21.6%、40.8%。T2、T3 及 T4 处理葡萄叶片实际光化学效率  $F_v'/F_m$  值分别比 T1 降低了 7.9%、22.1% 和 42.3%; 同时, 各处理显著降低了植物叶片线性电子传递速率 ETR, T4 处理降幅最大, 比 T1 降低了 62.5%, T2 和 T3 处理分别降低了 17.6% 和 37.5%。T2、T3 和 T4 的叶片光化学淬灭  $q_p$  值分别比 T1 降低了 10.7% 和 19.8% 和 39.5%。T2、T3 和 T4 处理后葡萄叶片吸收的光能用于光化学反应的比例均有所下降, 分别比 T1 处理降低 18.8% 和 38.8% 和 62.0%。与 T1 相比, T2、T3 和 T4 处理吸收的光能用于热耗散的比例均增加, 增幅分别为 15.9%、36.2% 和 60.5%, 同时, 过剩光能分别增加 12.5%、19.1% 和 25.2%。不同处理显著降低了叶片 PSI 激发能分配系数 ( $\alpha$ ), 与 T1 相比, T2、T3 和 T4 分别下降了 6.6% 和 12.8% 和 25.1%; 同时, 不同处理后叶片 PSII 激发能分配系数 ( $\beta$ ) 均显著上升, T2、T3、T4 分别比 T1 升高了 4.5%、8.7%、17.1%。光系统间激发能分配不平衡偏离系数 ( $\beta/\alpha - 1$ ) 变化趋势与 PSII 激发能分配系数一致, T2、T3 处理的  $\beta/\alpha - 1$  分别比 T1 升高 37.7% 和 78.3%, T4 升高幅度最大, 达到 187.8%。【结论】温度、光照逆境增加了 PSII 活性对臭氧胁迫的敏感性, 以强光胁迫的作用效果更显著, 而高温、强光胁迫下臭氧对 PSII 活性抑制程度最大。

**关键词:** 葡萄; 臭氧; 光照; 温度; 叶绿素荧光参数

收稿日期: 2018-07-09; 接受日期: 2019-01-03

基金项目: 国家自然科学基金 (31572084)、国家现代农业产业技术体系建设专项资金 (CARS-29)、长江学者和创新团队发展计划项目 (IRT15R42)

联系方式: 耿庆伟, E-mail: 841295333@qq.com。通信作者蒋恩顺, E-mail: enshunjiang@163.com。通信作者杜远鹏, E-mail: duyuanpeng 001@163.com

# Effects of Different Light Intensity and Temperature on PSII Photochemical Activity in 'Cabernet Sauvignon' Grape Leaves Under Ozone Stress

GENG QingWei<sup>1,2</sup>, XING Hao<sup>1</sup>, ZHAI Heng<sup>1</sup>, JIANG EnShun<sup>3</sup>, DU YuanPeng<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University/State Key Laboratory of Crop Biology, Tai'an 271018, Shandong; <sup>2</sup>Town Government of Wucun, Qufu 273100, Shandong; <sup>3</sup>Shandong Institute of Pomology, Tai'an 271018, Shandong)

**Abstract:** 【Objective】Ozone stress, high light and high temperature usually exist simultaneously in nature, but little is known about the effect of the combination of three stress factors on plants. So the combined effects of different temperature (26, 40°C), light (800, 1 600  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) and ozone treatments on the operation of photosynthetic apparatus were investigated to reveal the mechanism of inhibition of photosynthesis, which provided a theoretical basis for reducing ozone injury by regulating the light and temperature. 【Method】Potted Cabernet Sauvignon grapes were used as materials to be treated with different temperatures (26, 40°C), two kinds of light intensities (800, 1 600  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) combined with (120±20)  $\text{nL}\cdot\text{L}^{-1}$  ozone. Chlorophyll a fluorescence parameters were analyzed to investigate the effects of different treatments on the PSII function. 【Result】40°C and 1 600  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  both significantly decreased the maximal photochemical efficiency ( $F_v/F_m$ ), linear electron transport rate (ETR), the unit area number of reactive centers ( $\text{RC}/\text{CS}_m$ ) and photochemical quenching coefficient ( $q_p$ ) of leaf under ozone stress. At the same time, the decreased excitation energy partition coefficient ( $\alpha$ ) of PSI and increased excitation energy partition coefficient ( $\beta$ ) of PSII induced a serious imbalance of excitation energy distribution between the two photosystems and caused the damage of photosystem II, and the influence of strong light intensity (1 600  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) was more significant. The maximal photochemical efficiency ( $F_v/F_m$ ) under T2 and T3 treatment decreased 10.3% and 38.8% than that under T1 treatment,  $F_v/F_m$  under T4 treatment decreased most for 54.8%. PSII quantum efficiency  $F_v/F_o$  under T2, T3 and T4 treatment decreased 30.4%, 69.6% and 80.3% than that of T1 treatment, respectively. The number of reaction centers per unit area ( $\text{RC}/\text{CS}_m$ ) under T2, T3 and T4 treatment decreased 30.4%, 69.6% and 80.3% than that of T1 treatment, respectively, and the probability of that a trapped exciton the moves an electron further than  $Q_A$  by trapped exciton ( $\Psi_o$ ) under T2, T3 and T4 treatment decreased 11.2%, 21.6% and 40.8% than that of T1 treatment, respectively. The effective photochemical efficiency  $F_v/F_m'$  under T2, T3 and T4 treatment decreased 7.9%, 22.1% and 42.3% than that under T1 treatment, respectively. Linear electron transport rate (ETR) of T4 decreased most (decreased 62.5% than that under T1 treatment), and ETR under T2 and T3 treatment decreased 17.6% and 37.5% than that of T1 treatment, respectively. The photochemical quenching coefficient ( $q_p$ ) under T2, T3 and T4 treatment decreased 10.7%, 19.8% and 39.5% than that of T1 treatment, respectively. The photochemical reactions share under T2, T3 and T4 treatment decreased 18.8%, 38.8% and 62.0% than that of T1 treatment, respectively. While the antennal heat dissipation share under T2, T3 and T4 treatment increased 15.9%, 36.2% and 60.5% than that of T1 treatment, respectively, and the excess light energy share of T2, T3 and T4 treatment increased 12.5%, 19.1% and 25.2% than that of T1 treatment, respectively, the excitation energy partition coefficient ( $\alpha$ ) of PSI under T2, T3 and T4 treatment decreased 6.6%, 12.8% and 25.1% than that under T1 treatment, respectively, and the excitation energy partition coefficient ( $\beta$ ) of PSII under T2, T3 and T4 treatment increased 4.5%, 8.7% and 17.1% than that under T1 treatment, respectively, and the change trend of imbalance of partitioning of excitation energy between PS I and PS II ( $\beta/\alpha-1$ ) was consistent with the change of the excitation energy partition coefficient,  $\beta/\alpha-1$  under T2, T3 and T4 increased 37.7%, 78.3% and 187.8% than that under T1 treatment. 【Conclusion】Temperature and light stress increased the sensitivity of PSII activity to ozone stress, and the influence of light stress was more significant, while high temperature and high light stress caused serious damage to photosystem II.

**Key words:** grape; ozone; light; temperature; chlorophyll fluorescence parameters

## 0 引言

【研究意义】近几十年来  $\text{O}_3$  污染已经成为对流层

中首要污染物,对作物生长和农业生产造成很大影响,全球近 1/4 的国家或地区面临  $\text{O}_3$  浓度超出 60  $\text{nL}\cdot\text{L}^{-1}$  的威胁<sup>[1-2]</sup>。由于人类活动和生物源排放,  $\text{O}_3$  浓度仍以

每年约 0.5%—2.5% 的速率增长<sup>[3]</sup>, 预计 2015—2050 年全球地表 O<sub>3</sub> 浓度将在现有基础上增加 20%—25%, 21 世纪末将增加 40%—60%。O<sub>3</sub> 具有强氧化性, 可对植物产生氧化伤害<sup>[4]</sup>。臭氧污染往往发生在特定的时间段内, 不同季节以夏季最强, 一天之中又以 10: 00—14: 00 最强, 臭氧污染与强光和高温同时存在, 3 个生态逆境因素存在协同胁迫作用。因此, 本研究开展 3 个生态逆境因素协同胁迫对葡萄光化学活性的影响, 旨在为生产上采取相应措施缓解臭氧伤害提供理论依据。【前人研究进展】气孔是植物与外界进行气体交换的主要通道, 是臭氧进入植物的主要途径<sup>[5]</sup>, O<sub>3</sub> 通过气孔进入叶片后导致叶片光下最大光化学效率 ( $\Phi_{PSII}$ ) 和 PSII 开放程度 ( $q_p$ ) 受到抑制<sup>[6]</sup>, 孙永江等<sup>[7]</sup>研究发现, 随着 O<sub>3</sub> 浓度升高, 叶片净光合速率 ( $P_n$ )、气孔导度 ( $G_s$ )、PSII 的实际光化学效率 ( $\Phi_{PSII}$ )、光下最大光化学效率 ( $F_v'/F_m'$ )、捕获光能用于 Q<sub>A</sub> 以后的电子传递的概率 ( $\Psi_{E_0}$ )、单位面积有活性反应中心的数量 ( $RC/CS_m$ ) 均呈下降趋势; 在低 O<sub>3</sub> 浓度条件下 (25—55 nL·L<sup>-1</sup>),  $P_n$  的下降主要是由于气孔限制引起的, O<sub>3</sub> 浓度达到并超过 80 nL·L<sup>-1</sup> 时, 叶绿素含量显著降低, 非气孔限制占主导因素, 葡萄叶片可以在短时间内 (8 h) 忍受一定浓度 (不超过 55 nL·L<sup>-1</sup>) 的 O<sub>3</sub> 胁迫, O<sub>3</sub> 浓度达到或超过 80 nL·L<sup>-1</sup> 时, PSII 功能受到较严重的抑制<sup>[7]</sup>, 严重影响植物的蒸腾、光合、呼吸等重要生理过程<sup>[8-9]</sup>。光是植物进行光合作用所必需的环境因子, 但在强光下, 当光合机构吸收的光能超过光合作用的利用量时, 即出现光抑制, 若植物不能及时有效地利用或耗散, 就会产生过量的活性氧<sup>[10]</sup>, 破坏光合色素和 D<sub>1</sub> 蛋白等, 引起 PSII 的损伤<sup>[11-12]</sup>。高温胁迫会破坏叶片 PSII, 导致植物叶片不能有效利用吸收的光能<sup>[13-14]</sup>, 最终会降低植物的光合作用、损坏细胞膜并打破活性氧平衡<sup>[15-16]</sup>。【本研究切入点】自然条件下, 夏季强光和高温往往同时出现, 伴随着臭氧的污染, 植物遭受臭氧、强光、高温等 3 种逆境因子的交叉胁迫。但目前研究多从单一或两个胁迫因素开展研究, 尚缺乏 3 个生态逆境因素协同胁迫影响机制研究。【拟解决的关键问题】以广泛栽培的酿酒葡萄品种‘赤霞珠’为试材, 利用叶绿素荧光技术, 在对植物叶片不造成伤害的前提下, 探究光合机构的运转状况, 探测和分析植物的光合功能, 了解臭氧胁迫下强光、高温胁迫对葡萄叶片 PSII 活性的影响, 以期探寻减轻光抑制和提高逆境光合能力的有效途径, 保证大田葡萄植株的生长和果实发育。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验时间、地点

本试验于 2016 年 7 月—9 月在山东农业大学葡萄核心试验园内进行。

### 1.2 试验材料和处理

试材为长势一致的‘赤霞珠’ (*Vitis vinifera* L. Cabernet Sauvignon) 一年生扦插苗, 种植于直径 25 cm、高 35 cm 的花盆中。基质: 沙=1:1。待植株长至 10—12 片完全展开叶时进行试验处理。

处理分为 5 组, 分别在自然大气臭氧浓度条件下正常光照与适温 (35 nL·L<sup>-1</sup>, 800  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 26℃)、臭氧胁迫下正常光照与适温 ((120±20) nL·L<sup>-1</sup>, 800  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 26℃)、臭氧胁迫下正常光照与高温 ((120±20) nL·L<sup>-1</sup>, 800  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 40℃)、臭氧胁迫下强光与适温 ((120±20) nL·L<sup>-1</sup>, 1 600  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 26℃) 和臭氧胁迫下强光与高温 (120±20 nL·L<sup>-1</sup>, 1 600  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 40℃) 条件下处理 3 h (5 个处理分别表示为对照 Control、T1、T2、T3、T4), 臭氧浓度的选定依据前期试验确定<sup>[17]</sup>。处理结束后进行相关参数测定, 每个处理重复 5 次, 单株小区。

用于 O<sub>3</sub> 熏蒸的 OTC<sup>[17]</sup> 的框架由直径 3 cm 的镀锌钢管构成, 四周用温室专用的聚乙烯塑料膜包被, 顶部与大气相通。OTC 内距离试验材料顶部 50 cm 有布气管, 布气管上有一排斜向下与水平面呈 45° 的出气孔, O<sub>3</sub> 发生器 (WJ-HY5 型) 产生的 O<sub>3</sub> 在管道中与空气混合, 在鼓风机 (SF2-2 型) 的作用下被通入 OTC 内布气管。OTC 内的 O<sub>3</sub> 浓度监测仪 (DR70C-臭氧型) 可以实时监测 OTC 内的 O<sub>3</sub> 浓度, 并把数据传输到电脑上用于观察、保存。通过转子流量计调节 O<sub>3</sub> 发生器的进氧量, 从而控制 OTC 内的 O<sub>3</sub> 浓度。在 OTC 气室内通过温度控制系统 (Plant System, 上海菲探仪器科技有限公司) 调节叶片周围温度, 用 LED 冷光源灯控制达到叶片表面光强。

### 1.3 测定项目和方法

采用英国 Hansatech 公司的 FMS-2 型便携脉冲调制式荧光仪测定荧光参数, 测定程序如下: 首先对叶片进行 30 min 暗适应, 用饱和脉冲光 (12 000  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) 测定暗适应 30 min 后最大荧光 ( $F_m$ )。对光适应下的叶片先用 60 s 作用光 (1 000  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), 然后用极弱的测量光 (<0.05  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) 测得叶片最小荧光 ( $F_0'$ ), 再用饱和脉冲光 (12 000  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) 测定光适应下的最大荧光值  $F_m'$ , 打开作用光测定光下稳态

荧光  $F_t$ 。包括：天线转化效率： $F_v/F_m' = (F_m' - F_o') / F_m'$ ；线性电子传递速率： $ETR = (\Phi_{PSII}) \times PFD \times 0.84 \times 0.5$ ，其中  $PFD$  是被吸收的光通量密度 ( $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )，0.5 代表光能在两个光系统间的分配系数，0.84 指入射到叶片表面的光能平均有 84% 被叶片吸收；光化学淬灭： $q_p = (F_m' - F_s) / (F_m' - F_o')$ ，其中  $F_s$  表示光适应下的稳态荧光。两个光系统之间的激发能分配系数按 BRAUN 等<sup>[18]</sup>的公式计算：光系统 I 激发能分配系数  $\alpha = f / (1 + f)$ ，光系统 II 激发能分配系数  $\beta = 1 / (1 + f)$ ， $f = (F_m' - F_s) / (F_m' - F_o')$ ；光系统 I 和 II 间激发能分配的不平衡性可用  $\beta/\alpha - 1$  表示。根据 DEMMIG-ADAMS 等<sup>[19]</sup>提出的公式计算光合机构吸收的光能用于光化学反应的份额  $P = F_v'/F_m' \times q_p$ ，用于天线热耗散的份额  $D = 1 - F_v'/F_m'$ ，用于反应中心由非光化学反应耗散的份额（过剩光能，X 耗散） $Ex = F_v'/F_m' \times (1 - q_p)$ 。

用连续激发式荧光仪（Handy PEA, Hansatech, 英国）测量荧光诱导动力学曲线，参考李鹏民等<sup>[20]</sup>的计算方法，获得如下参数：PSII 最大光化学效率  $F_v/F_m$ ，

PSII 的潜在活性  $F_v/F_o$ ，单位面积有活性反应中心数目  $(RC/CS_m) = F_m \cdot \phi P_o \cdot (V_j/M_o)$ ， $V_j$  表示  $j$  点相对可变荧光， $M_o$  表示  $Q_A$  被还原的最大速率。捕获的激子将电子传递到  $Q_A$  以后的其他电子受体的概率 ( $\Psi_o$ )  $= ET_o/TR_o = (1 - V_j)$ ， $ET_o/CS_o$  表示用于电子传递的能量， $TR_o/CS_o$  表示还原  $Q_A$  的激发能。

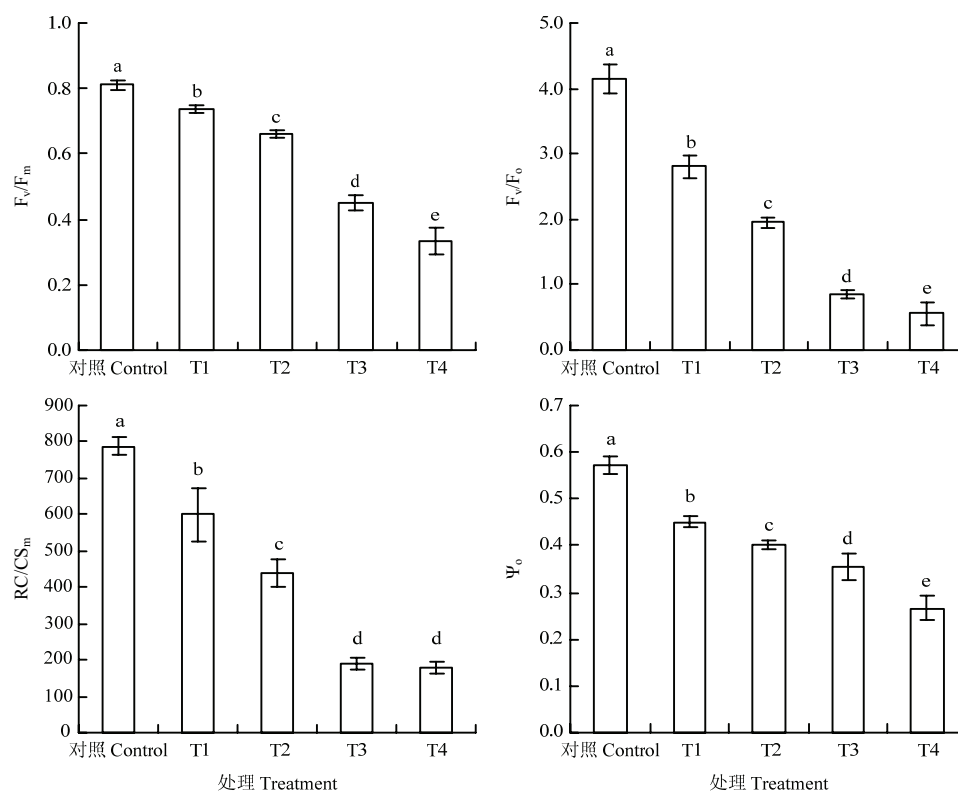
#### 1.4 数据处理及统计分析

采用 Microsoft Excel 软件处理数据和制图，采用 DPS 软件的 LSD 法进行差异显著性检验。

## 2 结果

### 2.1 对葡萄叶片 $F_v/F_m$ 、 $F_v/F_o$ 、 $RC/CS_m$ 、 $\Psi_o$ 的影响

$F_v/F_m$  是 PS II 最大光化学量子产量，或称最大 PS II 的光能转换效率，代表了光合机构把吸收的光能用于光化学反应的最大效率，反映光能吸收转化机构的完整性，非胁迫条件下该参数的变化极小，不受物种和生长条件的影响，常用  $F_v/F_m$  下降程度来反映光抑制程度的大小<sup>[21-22]</sup>。从图 1 可以看出，与对照相比，



不同小写字母表示不同处理在 0.05 水平上的差异显著性。下同  
Different small letters show significant difference between different treatments at 0.05 level. The same as below

图 1 臭氧胁迫下不同光强与温度处理对‘赤霞珠’葡萄叶片  $F_v/F_m$ 、 $F_v/F_o$ 、 $RC/CS_m$ 、 $\Psi_o$  的影响

Fig. 1 Effects of light and temperature on  $F_v/F_m$ ,  $F_v/F_o$ ,  $RC/CS_m$  and  $\Psi_o$  in ‘Cabernet Sauvignon’ grape leaf under ozone stress

不同处理显著降低叶片的  $F_v/F_m$  值, 与 T1 相比, T2、T3 分别降低了 10.3% 和 38.8%, T4 降幅最大, 达到 54.8%。 $F_v/F_o$  表示的是 PSII 的潜在活性, 与 T1 相比, T2、T3 和 T4 分别降低了 30.4%、69.6% 和 80.3%。 $RC/CS_m$  反映了叶片单位面积内有活性反应中心的数量,  $\Psi_o$  表示捕获的激子将电子传递到  $Q_A$  以后的其他电子受体的概率。与对照相比, 不同处理均降低了叶片的  $RC/CS_m$  值和  $\Psi_o$  值, 与 T1 相比, T2、T3 和 T4 处理分别降低了 26.8%、68.4%、70.2% 和 11.2%、21.6%、40.8%。表明臭氧胁迫下,  $1\ 600\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  的强光和  $40^\circ\text{C}$  高温均可加剧 PSII 最大光化学效率和潜在活性的降低, 但  $1\ 600\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  的强光影响程度更大; 当强光和高温同时出现时, 抑制程度最大。

## 2.2 对葡萄叶片 $F_v/F_m'$ 、ETR、 $q_p$ 的影响

$F_v/F_m'$  是 PSII 有效光化学量子产量, 为光条件下 PSII 天线转化效率, 可以用来反映开放的 PSII 反应中心的激发能捕获效率<sup>[23]</sup>。从图 2 可以看出, 与对照相比, T1 处理降低了植物叶片实际光化学效率, 与 T1 相比, T2、T3 分别降低了 7.9%、22.1%, T4 下降最显著, 降幅为 42.3%。ETR 可以表示从 PSII 到 PS I 的电子传递情况<sup>[24]</sup>, 与对照相比, T1 处理显著降低了

植物叶片线性电子传递速率, 与 T1 相比, T4 处理降幅最大, 达到 62.5%, T2 和 T3 处理分别降低了 17.6% 和 37.5%。 $q_p$  表示荧光淬灭中的光化学淬灭, 从图 2 可知, 与对照相比, 不同处理显著降低了葡萄叶片的光化学淬灭, 与 T1 相比, T2、T3 的  $q_p$  值分别降低了 10.7% 和 19.8%, T4 变化最显著, 降低了 39.5%。这表明臭氧胁迫下  $1\ 600\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  的强光和  $40^\circ\text{C}$  高温均可降低 PSII 激发能捕获效率、线性电子传递速率和光化学淬灭, 导致叶片吸收的光能更多的以热耗散形式消耗, 被用来进行碳固定的能量显著减少, 但  $1\ 600\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  的强光影响程度更显著; 当强光和高温同时出现时,  $F_v/F_m'$ 、ETR 和  $q_p$  降幅最大, 影响更显著。

## 2.3 对葡萄叶片吸收光能分配的影响

植物叶片吸收的光能有三条去路, 一是在天线色素上进行热耗散 (D), 二是用于光化学反应 (P), 三是反应中心的过刺激能 (E)。图 3 反映了不同处理下吸收光能向光化学反应、热耗散及过剩光能分配的情况, 由图可知, 与对照相比, 不同处理下吸收的光能用于光化学反应的比例均有所下降, 与 T1 相比, T2、T3 分别降低 18.8% 和 38.8%, T4 下降最明显,

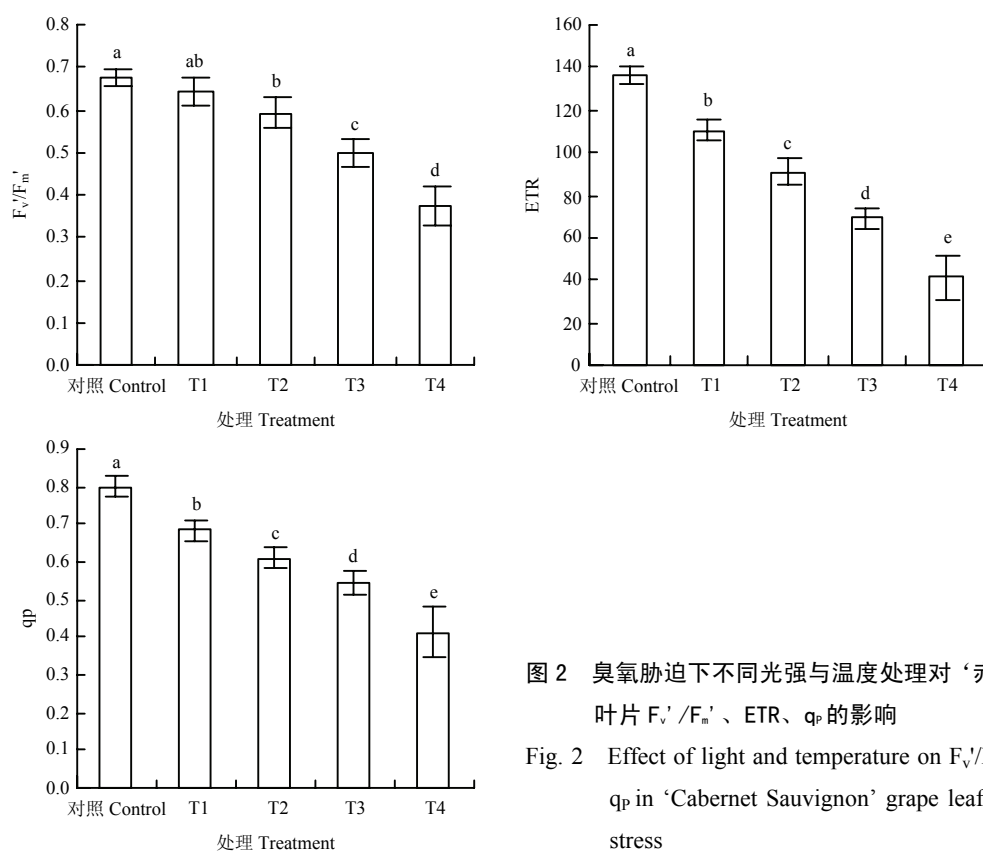


图 2 臭氧胁迫下不同光强与温度处理对‘赤霞珠’葡萄叶片  $F_v/F_m'$ 、ETR、 $q_p$  的影响

Fig. 2 Effect of light and temperature on  $F_v/F_m'$ , ETR and  $q_p$  in ‘Cabernet Sauvignon’ grape leaf under ozone stress

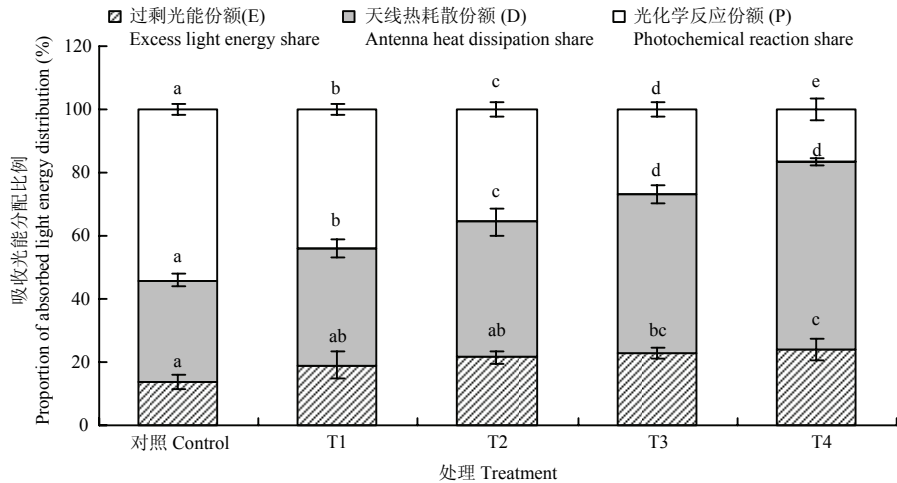


图 3 臭氧胁迫下不同光强与温度处理对‘赤霞珠’葡萄叶片吸收光能分配的影响

Fig. 3 Effects of light and temperature on allocation of absorbed light energy in ‘Cabernet Sauvignon’ grape leaf under ozone stress

降幅为 62.0%。与 T1 相比, T2、T3 和 T4 处理吸收的光能用于热耗散的比例均增加, 增幅分别为 15.9%、36.2%和 60.5%; 过剩光能分别增加 12.5%、19.1%和 25.2%。这表明臭氧胁迫下  $1\ 600\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  的强光和  $40^\circ\text{C}$  高温均可增加吸收的光能用于热耗散和过剩光能的份额, 降低用于光化学反应的比例, 但  $1\ 600\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  的强光造成过剩光能的份额更大。当强光

和高温同时出现时, 过剩光能的比例最大, 这部分既没有被捕光天线色素耗散掉, 也没有被光化学反应利用的过剩光能必然会导致葡萄叶片活性氧含量增加, 进而对光合机构造成损伤。

2.4 对葡萄叶片光系统 I、光系统 II 间激发能分配的影响

由图 4 可知, 与对照相比, 不同处理显著降低

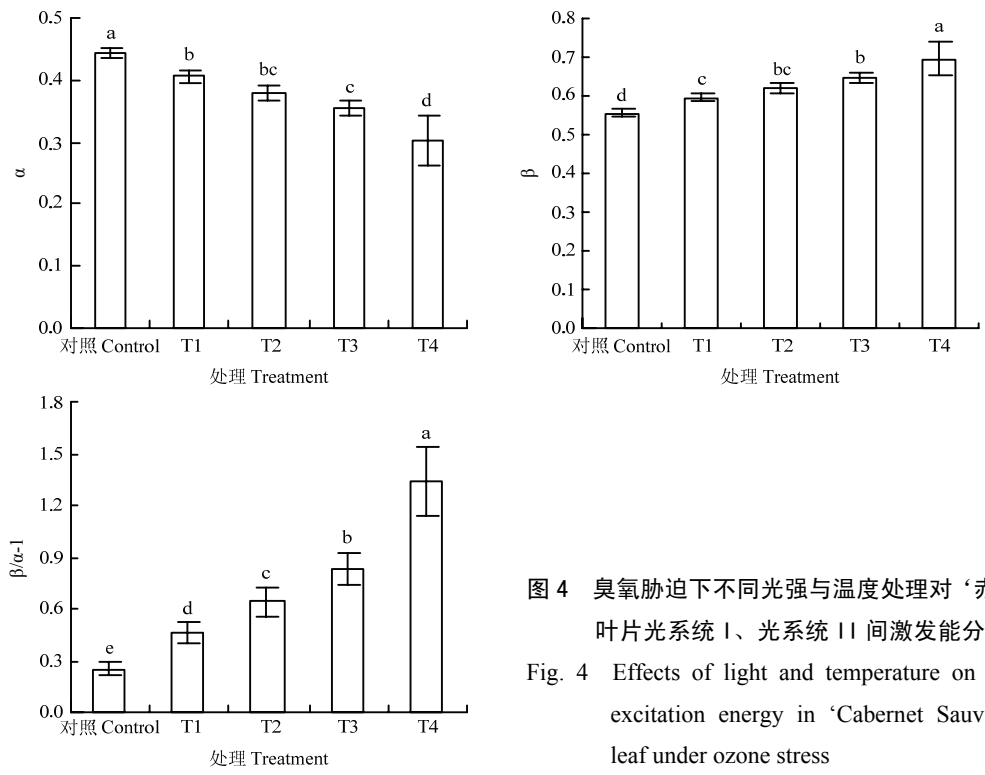


图 4 臭氧胁迫下不同光强与温度处理对‘赤霞珠’葡萄叶片光系统 I、光系统 II 间激发能分配的影响

Fig. 4 Effects of light and temperature on allocation of excitation energy in ‘Cabernet Sauvignon’ grape leaf under ozone stress



叶片 PSI 激发能分配系数 ( $\alpha$ )。与 T1 相比, T2、T3 分别下降了 6.6% 和 12.8%, T4 下降幅度最大, 降幅为 25.1%; 与之相反, 不同处理后叶片 PSII 激发能分配系数 ( $\beta$ ) 均显著上升, 与 T1 相比, T2、T3、T4 分别升高了 4.5%、8.7%、17.1%。双光系统间激发能分配不平衡偏离系数 ( $\beta/\alpha-1$ ) 变化趋势与 PSII 激发能分配系数一致, 与 T1 相比, T2、T3 分别升高 37.7% 和 78.3%, T4 升高幅度最大, 达到 187.8%。这表明臭氧胁迫下强光、高温严重影响激发能在两个系统之间的均匀分配, 导致光系统之间激发能分配的不平衡, 但强光的影响更为严重; 当强光、高温同时出现时激发能在两个光系统间分配偏离最严重。

### 3 讨论

快速叶绿素荧光诱导动力学技术被认为是探测植物光合生理的无损探针, 植物快速叶绿素荧光诱导曲线中包含着大量有关 PSII 反应中心原初光化学反应的信息, 其参数反映了植物原初反应和光合生理状况, 常用来研究各种外界逆境因子对植物的影响<sup>[20]</sup>。大量研究表明, 臭氧、强光和高温等非生物逆境因子跟农业生产和作物产量的有着紧密的联系。臭氧可以诱导植物体产生大量活性氧, 造成过高的活性氧 (ROS) 积累, 影响光抑制修复过程, 从而导致叶片光抑制发生<sup>[25]</sup>; 强光可以使叶片发生光抑制, 而且当光抑制达到一定程度时, 光合机构中的 D1 蛋白发生降解, 产生光破坏<sup>[26]</sup>; 在葡萄生长季节当气温高于 40℃ 时会抑制新梢的生长; 而当温度超过 40℃ 时, 由于细胞酶系统被钝化, 葡萄体内的各种生理代谢活动受到严重阻碍, 同时会造成 PSII 的结构和功能发生变化甚至损害, 致使新梢停止生长、叶片发黄、果实日烧, 最终导致葡萄减产并影响翌年葡萄生长发育。

在自然条件下, 特别是夏季晴天, 高温往往伴随强光发生, 同时高辐射会造成对流层形成大量 O<sub>3</sub><sup>[27]</sup>, 因此, 在葡萄生长的旺季—夏季, 葡萄叶片通常要遭受高温、强光和 O<sub>3</sub> 3 种胁迫因子。本研究中发现臭氧胁迫下葡萄叶片最大光化学效率 ( $F_v/F_m$ )、单位面积有活性反应中心的数量 ( $RC/CS_m$ ) 以及捕获光能用于向 Q<sub>A</sub> 以后的电子传递的能量比例 ( $\Psi_{E_0}$ ) 显著降低, 这表明叶片 PSII 的反应中心和受体侧出现光抑制<sup>[28]</sup>。光系统 I 激发能分配系数 ( $\alpha$ ) 大幅降低, 光系统 II 激发能分配系数 ( $\beta$ ) 显著增大, 两个光系统之间的激发能分配严重偏离平衡。光化学淬灭系数 ( $q_p$ ) 下降的同时非光化学淬灭系数 (NPQ) 升高, 这表明叶绿

素吸收的光能用于光化学反应的比例降低, 叶片过剩的光能通过热耗散的形式散失以保护叶片光合结构, 虽然叶片热耗散能力增加, 但是由于 PSII 实际光化学效率 ( $\Phi_{PSII}$ ) 的下降, 叶片通过光化学反应对激发能的利用率大幅下降, 热耗散途径不足以清除大量的过剩光能, 最终造成光系统 II 的伤害, 这与前人研究结果一致。

强光和高温均对臭氧胁迫有加剧作用, 1 000  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  光强下的臭氧胁迫对菜豆叶片的影响显著大于单一臭氧或光照胁迫处理<sup>[29]</sup>, 说明高光强可以加剧臭氧对光合作用的抑制。笔者课题组前期试验通过响应面设计不同光照与臭氧组合也发现光照强度和 O<sub>3</sub> 浓度存在交互作用, 强光不仅可以加剧 O<sub>3</sub> 对植物叶片 PSII 的伤害, 并且随着光强的增加伤害程度在逐渐升高<sup>[30]</sup>。本研究结果发现 40℃ 的高温、1 600  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  的强光均加剧了臭氧胁迫对 PSII 造成的伤害, 但 1 600  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  的强光影响程度显著大于 40℃ 的高温; 当强光和高温同时存在时, O<sub>3</sub> 胁迫对 PSII 的伤害最明显, 不仅加大了强光因素引起的光系统 II 伤害, 也加大了高温因素引起的光系统 II 伤害。这是由于强光产生的过剩光能导致 ROS 的积累, 本身加剧了 O<sub>3</sub> 对植物的 ROS 伤害, 造成光抑制的出现, 加之高温通过伤害细胞质膜和光合电子传递链<sup>[31]</sup>, 破坏 PSII 反应中心的 D1 蛋白, 同时降低暗反应相关的酶活性<sup>[32]</sup>, 进一步导致植物叶片 P<sub>n</sub> 降低<sup>[33]</sup>。虽然叶片通过热耗散的形式散失/疏散过剩光能以保护叶片光合结构, 但是 ROS 和高温对光合机构、细胞质膜和光合电子传递链的氧化伤害, 导致叶绿素吸收的光能用于光化学反应的比例大幅降低, 大量的过剩光能积聚在光合结构, 热耗散途径不足以及及时有效清除的情况下过剩光能继续积累, ROS 物质继续伤害抗氧化系统和光合机构, 并最终造成了 PSII 的严重伤害。

生产中高温和强光天气往往同时发生, 本研究结果提示臭氧胁迫下强光的伤害高于高温, 由此提示可以通过降低光强缓解臭氧伤害。叶幕结构与植物光合作用联系密切, 成果等<sup>[34]</sup>比较了新疆地区多主蔓扇形和“厂”字形等方式对‘赤霞珠’葡萄光合特性的影响, 研究结果发现不同整形方式改变叶幕光照透射率以及果际周围光合有效辐射, 影响叶片光合速率及果实品质。本研究团队前期在田间观察也发现棚架‘摩尔多瓦’葡萄叶片受臭氧伤害症状弱于篱架, 由此提示可以通过架式调整或铺设遮阳网降低光强来缓解臭氧伤害。

## 4 结论

温、光逆境增加了 PSII 活性对臭氧胁迫的敏感性, 40℃ 的高温、1 600  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  的强光均可以显著降低叶片最大光化学效率 ( $F_v/F_m$ )、线性电子传递速率 (ETR)、单位面积有活性反应中心的数量 (RC/CS<sub>m</sub>) 以及光化学淬灭系数 ( $q_p$ ), 导致两个光系统之间的激发能分配严重偏离平衡, 造成光系统 II 的伤害。1 600  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  的强光影响程度显著大于 40℃ 的高温, 而高温、强光胁迫下过剩光能的比例最大, 导致葡萄叶片活性氧含量增加, 进而对光合机构造成损伤。

## References

- [1] ASHMORE M R. Assessing the future global impacts of ozone on vegetation. *Plant, Cell & Environment*, 2005, 28(8): 949-964.
- [2] 张巍巍, 牛俊峰, 王效科, 田媛, 姚芳芳, 冯兆忠. 大气臭氧浓度增加对湿地松的影响. *环境科学*, 2011, 32(6): 1710-1716.  
ZHANG W W, NIU J F, WANG X K, TIAN Y, YAO F F, FENG Z Z. Effects of elevated ozone concentration on slash pine (*Pinus elliottii*) seedlings. *Environmental Science*, 2011, 32(6): 1710-1716. (in Chinese)
- [3] 郑有飞, 胡程达, 吴荣军, 赵泽, 刘宏举, 石春红. 地表臭氧浓度增加对冬小麦光合作用的影响. *生态学报*, 2010, 30(4): 847-855.  
ZHENG Y F, HU C D, WU R J, ZHAO Z, LIU H J, SHI C H. Experiment with effects of increased surface ozone concentration upon winter wheat photosynthesis. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(4): 847-855. (in Chinese)
- [4] FENG Z Z, HU E Z, WANG X K, JIANG L J, LIU X J. Ground level O<sub>3</sub> pollution and its impacts on food crops in China: A review. *Environmental Pollution*, 2015, 199: 42-48.
- [5] LEIPNER J, OXBOROUGH K, BAKER N R. Primary sites of ozone-in-duced perturbations of photosynthesis in leaves: Identification and characterization in *Phaseolus vulgaris* using high resolution chlorophyll fluorescence imaging. *Journal of Experimental Botany*, 2001, 52: 1689-1696.
- [6] CHEN C P, FRANK T D, LONG S P. Is a short, sharp shock equivalent to long-term punishment? Contrasting the spatial pattern of acute and chronic ozone damage to soybean leaves via chlorophyll fluorescence imaging. *Plant Cell Environment*, 2009, 32: 327-335.
- [7] 孙永江, 王金欢, 耿庆伟, 邢浩, 翟衡, 杜远鹏. 不同浓度臭氧处理对‘赤霞珠’葡萄叶片光系统 II 功能的影响. *植物生理学报*, 2015, 51(11): 1947-1954.  
SUN Y J, WANG J H, GENG Q W, XING H, ZHAI H, DU Y P. Effects of different concentrations of ozone stress on photosynthetic system II in *Vitis vinifera* cv. ‘Cabernet Sauvignon’. *Plant Physiology Journal*, 2015, 51(11): 1947-1954. (in Chinese)
- [8] 郑有飞, 赵泽, 吴荣军, 胡程达, 刘宏举. 臭氧胁迫对冬小麦叶绿素荧光及气体交换的影响. *环境科学*, 2010, 31(2): 472-479.  
ZHENG Y F, ZHAO Z, WU R J, HU C D, LIU H J. Effects of long-term ozone exposure on chlorophylla fluorescence and gas exchange of winter-wheat leaves. *Environmental Science*, 2010, 31(2): 472-479. (in Chinese)
- [9] 寇太记, 常会庆, 张联合, 徐晓峰, 郭大勇, 周文利, 朱建国, 苗艳芳. 近地层 O<sub>3</sub> 污染对陆地生态系统的影响. *生态环境学报*, 2009, 18(2): 704-710.  
KOU T J, CHANG H Q, ZHANG L H, XU X F, GUO D Y, ZHOU W L, ZHU J G, MIAO Y F. Effect of near-surface O<sub>3</sub> pollution on terrestrial ecosystems. *Ecology and Environmental Sciences*, 2009, 18(2): 704-710. (in Chinese)
- [10] FOYER C H, NOCTOR G. Oxidant and antioxidant signaling in plants: A re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant Cell Environment*, 28: 1056-1071.
- [11] POSPIŠIL P. Production of reactive oxygen species by photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 2009, 1787(10): 1151-1160.
- [12] TYYSTJARVI E. Photoinhibition of photosystem II. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 2013, 300: 243-303.
- [13] 罗海波, 马苓, 段伟, 李绍华, 王利军. 高温胁迫对‘赤霞珠’葡萄光合作用的影响. *中国农业科学*. 2010, 43(13): 2744-2750.  
LUO H B, MA L, DUAN W, LI S H, WANG L J. Influence of heat stress on photosynthesis in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(13): 2744-2750. (in Chinese)
- [14] 孙永江, 付艳东, 杜远鹏, 翟衡. 不同温度/光照组合对‘赤霞珠’葡萄叶片光系统 II 功能的影响. *中国农业科学*, 2013, 46(6): 1191-1200.  
SUN Y J, FU Y D, DU Y P, ZHAI H. Effects of different temperature and light treatments on photosynthetic system II in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(6): 1191-1200. (in Chinese)
- [15] SUN Y J, GENG Q W, DU Y P, YANG X H, ZHAI H. Induction of cyclic electron flow around photosystem I during heat stress in grape leaves. *Plant Science*, 2017, 256: 65-71.
- [16] SUN Y J, GAO Y L, WANG H, YANG X H, ZHAI H, DU Y P. Stimulation of cyclic electron flow around PSI as a response to the combined stress of high light and high temperature in grape leaves. *Functional Plant Biology*, 2018, 45(10): 1038-1045.



- [17] 孙永江, 王金欢, 耿庆伟, 邢浩, 翟衡, 杜远鹏. 不同浓度臭氧处理对‘赤霞珠’葡萄叶片光系统 II 功能的影响. *植物生理学报*, 2015, 51(11): 1947-1954.
- SUN Y J, WANG J H, GENG Q W, XING H, ZHAI H, DU Y P. Effects of different concentrations of ozone stress on photosynthetic system II in *Vitis vinifera* cv. ‘Cabernet Sauvignon’. *Plant Physiology Journal*, 2015, 51(11): 1947-1954. (in Chinese)
- [18] BRAUN G, MALKIN S. Regulation of the imbalance in light excitation between photosystem II and photosystem I by cations and by the energized state of the thylakoid membrane. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1990, 1017(1): 79-90.
- [19] DEMMIG-ADAMS B, ADAMS W W. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends in Plant science*, 1996, 1(1): 21-26.
- [20] 李鹏民, 高辉远, Strasser Reto J. 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*, 2005, 31(6): 559-566.
- LI P M, GAO H Y, STRASSER R J. Application of the fast chlorophyll fluorescence induction dynamics analysis in photosynthesis study. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2005, 31(6): 559-566. (in Chinese)
- [21] OSMOND C B. What is photoinhibition? some insights from comparisons of shade and sun plants. *Photoinhibition of Photosynthesis from Molecular Mechanisms to the Field*, 1994.
- [22] 莫伟平, 周琳耀, 张静逸, 黄俊波, 贝学文, 付欣雨, 王惠聪, 黄旭明. 遮荫和环剥对荔枝枝梢生长和光合生理的影响. *园艺学报*, 2013, 40(1): 117-124.
- MO W P, ZHOU L Y, ZHANG J Y, HUANG J B, BEI X W, FU X Y, WANG H C, HUANG X M. Effects of shading and girdling on shoot growth and photosynthesis in litchi. *Acta Horticulturae Sinica*, 2013, 40(1): 117-124. (in Chinese)
- [23] 李亮, 董春娟, 尚庆茂. 内源水杨酸参与黄瓜叶片光合系统对低温胁迫的响应. *园艺学报*, 2013, 40(3): 487-497.
- LI L, DONG C J, SHANG Q M. Role of endogenous salicylic acid in responding of cucumber leaf photosynthetic systems to low temperature stress. *Acta Horticulturae Sinica*, 2013, 40(3): 487-497. (in Chinese)
- [24] MUNEKAGE Y, HASHIMOTO M, MIYAKE C, TOMIZAWA K I, ENDO T, TASAKA M, SHIKANAI T. Cyclic electron flow around photosystem I is essential for photosynthesis. *Nature*, 2004, 429: 579-582.
- [25] MOHANTY P, ALLAKHVERDIEV S I, MURATA N. Application of low temperatures during photoinhibition allows characterization of individual steps in photodamage and the repair of photosystem II. *Photosynthesis Research*, 2007, 94(2/3): 217-224.
- [26] SCHRADER S M, WISE R R, WACHOLTZ W F, ORT D R, SHARKEY T D. Thylakoid membrane responses to moderately high leaf temperature in Pima cotton. *Plant Cell & Environment*, 2004, 27(6): 725-735.
- [27] MITTLER R. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science*, 2006, 11(1): 15-19.
- [28] MEYER U, KOLLNER B, WILLENBRINK J, GHM K. Effects of different ozone exposure regimes on photosynthesis, assimilates and thousand grain weight in spring wheat. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 2000, 78(1): 49-55.
- [29] GUIDI L, TONINI M, SOLDATINI G F. Effects of high light and ozone fumigation on photosynthesis in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiology & Biochemistry*, 2000, 38(9): 717-725.
- [30] GENG Q W, XING H, SUN Y J, HAO G M, ZHAI H, DU Y P. Analysis of the interaction effects of light and O<sub>3</sub> on fluorescence properties of ‘Cabernet Sauvignon’ grapes based on response surface methodology. *Scientia Horticulturae*, 2018, 227: 255-260.
- [31] WISE R R, OLSON A J, SCHRADER S M, SHARKEY T D. Electron transport is the functional limitation of photosynthesis in field-grown Pima cotton plants at high temperature. *Plant Cell & Environment*, 2004, 27(6): 717-724.
- [32] CHAITANYA K V, SUNDAR D, REDDY A R. Mulberry leaf metabolism under high temperature stress. *Biologia Plantarum*, 2001, 44(3): 379-384.
- [33] HOSONO M, KATSURA Y. Temperature response of photosynthesis in transgenic rice transformed with ‘sense’ or ‘antisense’ rbcS. *Plant & Cell Physiology*, 2007, 48(10): 1472-1483.
- [34] 成果, 陈立业, 王军, 陈武, 张振文. 2 种整形方式对‘赤霞珠’葡萄光合特性及果实品质的影响. *果树学报*, 2015, 32(2): 215-224.
- CHENG G, CHEN L Y, WANG J, CHEN W, ZHANG Z W. Effect of training system on photosynthesis and fruit characteristics of Cabernet Sauvignon. *Journal of Fruit Science*, 2015, 32(2): 215-224. (in Chinese)

(责任编辑 赵伶俐)