

# 紫花苜蓿 (*Medicago sativa*) 对干旱胁迫的光合生理响应

韩瑞宏<sup>1</sup>, 卢欣石<sup>2,\*</sup>, 高桂娟<sup>3</sup>, 杨秀娟<sup>4</sup>

(1. 华南农业大学生命科学学院, 广州 510642; 2. 北京林业大学资源与环境学院, 北京 100083;  
3. 广东教育学院生物系, 广州 510303; 4. 北京万方数据股份有限公司, 北京 100097)

**摘要:** 紫花苜蓿是重要的豆科牧草, 具有较强的抗旱性, 然而干旱仍是制约紫花苜蓿生产的主要逆境因子。通过盆栽试验, 以抗旱性强弱不同的两种紫花苜蓿为试验材料, 对干旱胁迫下紫花苜蓿的光合生理进行较为系统的研究, 结果表明: (1) 干旱胁迫下两种紫花苜蓿叶片净光合速率( $P_n$ )、蒸腾速率( $E$ )、气孔导度( $G_s$ )、叶绿素含量( $Chl$ ) 都有不同幅度的下降; 叶绿体超微结构遭到破坏。相对于抗旱性弱的苜蓿, 抗旱性强的苜蓿随干旱胁迫程度的加深, 净光合速率下降较慢, 叶绿体的外形及基粒结构受到的影响较小。(2) 轻度干旱胁迫下气孔限制是两种紫花苜蓿  $P_n$  降低的主要因素, 中度和重度干旱胁迫下非气孔限制是  $P_n$  降低的主要因素。(3) 对叶绿素荧光参数的研究表明: 干旱胁迫下两种紫花苜蓿 PS II 反应中心光化学效率( $F_v/F_m$ )、PS II 潜在活性( $F_v/F_o$ ) 降低。总体上抗旱性强的紫花苜蓿  $F_v/F_m$  和  $F_v/F_o$  下降幅度小, PS II 利用光能的能力及 PS II 的潜在活性均较强。PS II 光化学淬灭系数( $qP$ )、非光化学淬灭系数( $qN$ ) 的变化表现为干旱胁迫下两种紫花苜蓿  $qP$  值降低、 $qN$  值升高, 总体上抗旱性强的紫花苜蓿  $qP$  降低的幅度低且  $qN$  升高幅度大, 表明抗旱性强的紫花苜蓿 PS II 反应中心电子传递活性受到的影响小, 光合机构的损伤程度低。

**关键词:** 紫花苜蓿; 干旱胁迫; 光合作用; 生理响应

文章编号: 1000-0933(2007)12-5229-09 中图分类号: Q948 文献标识码: A

## Photosynthetic physiological response of alfalfa (*Medicago sativa*) to drought stress

HAN Rui-Hong<sup>1</sup>, LU Xin-Shi<sup>2,\*</sup>, GAO Gui-Juan<sup>3</sup>, YANG Xiu-Juan<sup>4</sup>

1 College of Life Science, South China Agriculture University, Guangzhou, Guangdong Province 510642, China

2 Institute of Resources and Environment, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

3 Department of Biology, Guangdong Education Institute, Guangzhou 510303, China

4 Wanfang Data Co., Ltd, Beijing 100097, China

Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(12): 5229 ~ 5237.

**Abstract:** Alfalfa is an important legume forage with high drought resistance. However, drought stress is still the main adverse factor limiting alfalfa production. A pot-cultivation experiment was performed to investigate the photosynthetic physiology of alfalfa under drought stress. Two Alfalfas varying in their tolerance to drought were used, Longdong with high drought resistance and BL-02-329 with low drought resistance, to systematically study photosynthetic physiology under drought stress. The results showed: (1) Under drought stress, the net photosynthetic rate, transpiration rate, stomatal conductance and chlorophyll content decreased at varying extents, and chloroplast ultrastructure was damaged in the leaves of

**基金项目:** 国家教育部博士点基金资助项目(20060022011); 国家“十一五”科技支撑计划课题资助项目(2006BAD01A19)

**收稿日期:** 2006-12-01; **修订日期:** 2007-06-06

**作者简介:** 韩瑞宏(1974 ~), 女, 内蒙古牙克石市人, 博士, 主要从事植物抗逆性研究. E-mail: hrhfly@126.com

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: Luxinshi@bjfu.edu.cn

**Foundation item:** The project was financially supported by the National Ministry of Education Foundation for Ph. D Program, China (No. 20060022011); Science and Technology Support Project of the Eleventh Five-year Plan(No. 2006BAD01A19)

**Received date:** 2006-12-01; **Accepted date:** 2007-06-06

**Biography:** HAN Rui-Hong, Ph. D., mainly engaged in stress resistance of plant. E-mail: hrhfly@126.com

both Longdong and BL-02-329. Compared to the low drought-resistance BL-02-329, when subjected to drought stress, the net photosynthetic rate in the leaves of high drought-resistance alfalfa, Longdong, decreased more slowly and chloroplast shape and grana structure were less affected. (2) Stomatal restriction was the main factor for the  $P'_n$  decrease in the leaves of both alfalfas under light drought stress, while the non-stomatal restriction was the main factor for the  $P'_n$  decrease in the leaves of these alfalfas under medium and severe drought stresses. (3) Measurement of fluorescence of PS II Reaction Center indicated  $F_v/F_m$  and  $F_v/F_o$  decreased in both alfalfas under drought stress. However, when under drought stress,  $F_v/F_m$  and  $F_v/F_o$  showed a smaller decrease, and the capability to utilize light and the potential to activate PSII remained higher in the high drought-resistance Longdong than in the low drought-resistance BL-02-329. Quenching ( $qP$ ) of chlorophyll fluorescence decreased and Non-photochemical Quenching ( $qN$ ) of chlorophyll fluorescence increased for both alfalfas under drought stress. Generally speaking,  $qP$  decreased less and  $qN$  increased more in the high drought-resistance alfalfa than in the low drought-resistance alfalfa, suggesting that when under drought stress, the electron transport activity and photosynthetic apparatus was damaged less in the alfalfa with high drought-resistance than in the alfalfa with low drought-resistance.

**Key Words:** alfalfa; drought stress; photosynthesis; physiological response

紫花苜蓿 (*Medicago sativa*) 是重要的豆科牧草, 具有营养价值高、适口性好、适应性强等特点, 在全世界范围内分布广泛。在我国, 紫花苜蓿也是许多农牧区的首选草种<sup>[1]</sup>。光合作用是植物生长的基础, 是植物生产力构成的最主要因素, 水分状况又是影响光合作用最重要的因子之一<sup>[2]</sup>。干旱胁迫会导致叶片气孔关闭, 严重时甚至损伤叶肉细胞、降低光合酶的活性, 使植物的光合速率降低<sup>[3]</sup>。干旱还会对植物的叶绿体造成伤害, 使叶绿素和类胡萝卜素的含量下降<sup>[4]</sup>。因此, 了解紫花苜蓿光合作用及光合器官在土壤干旱条件下的变化以及导致的结果, 可以使人们深入了解干旱对紫花苜蓿的影响和伤害过程, 进而认识干旱对其伤害的内在规律和本质。但迄今为止, 对苜蓿光合作用的研究还主要集中在  $CO_2$  加富方面, 同时关于施肥、低温、病虫害等因素对苜蓿光合作用造成的影响国内外也有相关的研究<sup>[5~11]</sup>。而关于干旱条件下紫花苜蓿光合特性的研究较少, 刘玉华等曾对旱作条件下紫花苜蓿光合作用日变化规律进行过较为系统的研究<sup>[12]</sup>。但目前为止, 有关于干旱胁迫条件下紫花苜蓿光合生理变化、叶绿素荧光特性的系统性研究还未见报道。

本研究通过观测两种抗旱性差异较大的紫花苜蓿在干旱胁迫条件下的光合生理变化, 旨在揭示紫花苜蓿干旱胁迫与光合生理之间的关系, 了解紫花苜蓿的抗旱机制, 为紫花苜蓿品种的选育、推广和高产栽培提供光合生理生态方面的理论依据与参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

根据对多个紫花苜蓿种质资源抗旱性的鉴定结果<sup>[13]</sup>, 选择两种抗旱性强弱差异较大的紫花苜蓿即: 陇东苜蓿 (抗旱性强) 和 BL-02-329 (抗旱性弱) 为试验材料, 采用盆栽方式, 选用直径为 40cm、高 30cm 的塑料盆, 取试验田表层土, 粉碎混匀, 每盆装入等量土壤 (15kg), 每盆播种 20 粒, 待苗齐后间苗, 去弱小苗, 每盆留健苗 10 株, 每个试验材料 12 盆。

### 1.2 试验方法

试验设 4 个土壤水分处理, 3 次重复, 处理 A (TA) 为正常供水, 分枝期控制土壤水分田间持水量的 75% ~ 80%; 处理 B (TB) 为轻度干旱胁迫, 分枝期控制土壤水分田间持水量的 65% ~ 70%; 处理 C (TC) 为中度干旱胁迫, 分枝期控制土壤水分田间持水量的 55% ~ 60%; 处理 D (TD) 为重度干旱胁迫, 分枝期控制土壤水分田间持水量的 40% ~ 45%, 同时测得土壤田间持水量为 26.31%。当各水分梯度形成时开始干旱胁迫, 以 17:00 时的土壤水分作为标准, 每盆中的水量用称重法控制, 每天 17:00 向盆中补充水分, 雨天将花盆搬至塑料大棚中。干旱胁迫 15d 后, 于 2005 年 9 月 17 日 9:00 ~ 11:00 之间于自然光照下, 用 Licor-6400 光合

测定系统测定植株上部健康且叶龄适中叶片的各光合参数值,包括:净光合速率( $P_n$ )、蒸腾速率( $E$ )、气孔导度( $G_s$ )、胞间  $\text{CO}_2$  浓度( $C_i$ )等。气孔限制值( $L_s$ )由公式  $L_s = 1 - C_i/C_a$  ( $C_a$  为大气中  $\text{CO}_2$  浓度)计算得出<sup>[14]</sup>。用便携式叶绿素荧光仪(PAM-2000Walz, Germany)测定叶绿素荧光诱导动力学参数,包括:初始荧光( $F_o$ )、最大荧光( $F_m$ )、瞬时荧光( $F_t$ )、光系统 II (PS II) 的原初光能转化效率( $F_v/F_m$ )等,并计算 PS II 潜在活性( $F_v/F_o$ )、光化学淬灭系数  $qP$ 、非光化学淬灭系数  $qN$  等。同时测定叶片叶绿素含量;对叶片进行前处理用于叶绿体超微结构的观察,叶片的切片和电镜观察在中国农科院原子能所电镜室完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 生态因子的变化

由表 1 可知,测定期间的大气温度、光照强度、空气相对湿度及  $\text{CO}_2$  浓度的变化均较小。

表 1 环境因子的变化

Table 1 The variations of environment factors

| 环境光合有效辐射( $Q_e$ )<br>Photosynthetic active<br>radiation of environment<br>( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) | 叶表面光合有效辐射( $Q_1$ )<br>Photosynthetic active<br>radiation of leaf surface<br>( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) | 空气 $\text{CO}_2$ 浓度( $C_a$ )<br>Air $\text{CO}_2$ Concentration<br>( $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) | 空气相对湿度( $RH$ )<br>Air relatively humidity<br>(%) | 空气温度( $\theta_a$ )<br>Air temperature<br>( $^{\circ}\text{C}$ ) | 叶表面温度( $\theta_1$ )<br>Temperature of<br>leaf surface<br>( $^{\circ}\text{C}$ ) |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| 825 ~ 962                                                                                                                         | 907 ~ 993                                                                                                                           | 433.43 ~ 444.15                                                                                            | 17.7 ~ 20.5                                      | 27.4 ~ 29.9                                                     | 23.2 ~ 26.8                                                                     |

### 2.2 光合作用各项指标的变化

#### 2.2.1 叶片净光合速率( $P_n$ )的变化

$P_n$  的变化如图 1 所示。在正常供水条件下, BL-02-329 的  $P_n$  值为  $33.56\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 陇东苜蓿  $P_n$  值为  $24.14\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。随着干旱胁迫程度的加重, 两种紫花苜蓿叶片  $P_n$  值都有较大幅度的下降, BL-02-329 的  $P_n$  下降较快, 特别是在中度及重度干旱胁迫时,  $P_n$  值降至  $5\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  以下, 分别较对照下降了 87.78% 和 91.14%。陇东苜蓿  $P_n$  的下降幅度相对较小, 其中, 轻、中、重度干旱胁迫下, 陇东苜蓿  $P_n$  分别比对照下降了 38.17%、69.73%、81.22%。方差分析表明, 两种紫花苜蓿在不同水分胁迫下  $P_n$  值差异极显著( $P < 0.01$ ), 见表 2, 表明土壤干旱对苜蓿叶片  $P_n$  影响较大。

#### 2.2.2 叶片蒸腾速率( $E$ )的变化

$E$  的变化如图 2 所示。在正常供水条件下 BL-02-329 的  $E$  值为  $8.46\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 陇东苜蓿  $E$  值相对较小, 为  $4.35\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。随着干旱胁迫程度的加重, 两种紫花苜蓿  $E$  都有较大幅度的下降, 但不同处理间  $E$  下降趋势不同。与对照相比, BL-02-329 在轻度和中度干旱胁迫时  $E$  的下降幅度较大, 重度干旱胁迫时  $E$  值较中度干旱胁迫时略有上升。陇东苜蓿  $E$  值随着干旱胁迫程度的加深逐渐降低, 在轻度、中度、重度干旱胁迫下分别比对照下降了 43.09%、68.85% 和 77.73%。方差分析表明, 两种紫花苜蓿在不同水分胁迫下  $E$  值差异极显著( $P < 0.01$ ), 见表 2。

#### 2.2.3 叶片气孔导度( $G_s$ )的变化

正常供水情况下 BL-02-329  $G_s$  相对较大为  $0.33\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ; 陇东苜蓿  $G_s$  为  $0.22\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。随着干旱胁迫程度的加深,  $G_s$  呈下降趋势(如图 3), 与蒸腾速率( $E$ )的变化趋势基本一致。相关分析表明, 正常供

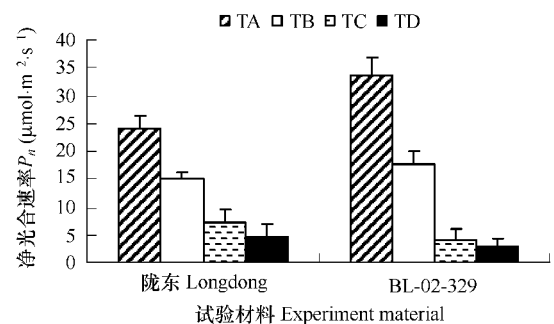


图 1 不同干旱胁迫对苜蓿叶片净光合速率的影响

Fig. 1 Effect of drought stress on net photosynthetic rate in alfalfa leaves

RA: 处理 A 为正常供水, TB: 处理 B 为轻度干旱胁迫, TC: 处理 C 为中度干旱胁迫, TD: 处理 D 为重度干旱胁迫, 下同 A treatment means normal water supply, B treatment means light drought stress, C treatment means medium drought stress, D treatment means severe drought stress, the same below

水及不同程度干旱胁迫下陇东苜蓿、BL-02-329 的  $G_s$  与  $E$  呈极显著正相关, 相关系数分别为 0.992、0.993, 表明随着气孔导度的降低, 苜蓿的蒸腾速率下降, 蒸腾失水减少。方差分析表明, 两种紫花苜蓿在不同水分胁迫下的  $G_s$  差异极显著 ( $P < 0.01$ ), 见表 2。

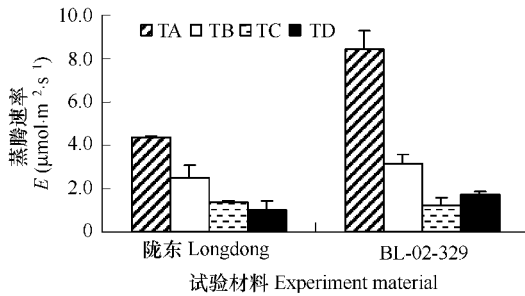


图2 不同干旱胁迫对苜蓿叶片蒸腾速率的影响

Fig. 2 Effect of drought stress on transpiration rate in alfalfa leaves

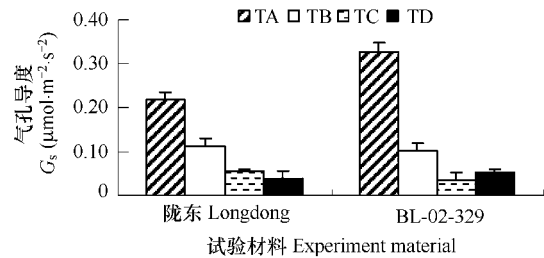


图3 不同干旱胁迫对苜蓿叶片气孔导度的影响

Fig. 3 Effect of drought stress on stomata conductance in alfalfa leaves

#### 2.2.4 胞间 $CO_2$ 浓度 ( $C_i$ ) 与气孔限制 ( $L_s$ ) 的变化

由图4、图5可以看出, 轻度干旱胁迫下两种紫花苜蓿  $C_i$  均有较大幅度的下降, 与对照相比, BL-02-329 下降了 45.33%, 陇东苜蓿下降了 15.12%。  $L_s$  在轻度干旱胁迫下均有较大幅度的升高, 与对照相比, BL-02-329 上升 59.02%, 陇东苜蓿上升了 19.02%。中度和重度干旱胁迫下两种紫花苜蓿  $C_i$  和  $L_s$  与对照相比变化不大。方差分析表明, 两种紫花苜蓿在轻度干旱胁迫下  $C_i$ 、 $L_s$  与其他处理间差异极显著 ( $P < 0.01$ ), 见表 2。

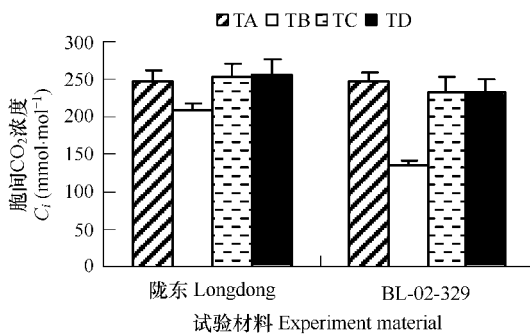


图4 干旱胁迫对胞间  $CO_2$  浓度 ( $C_i$ ) 的影响

Fig. 4 Effect of drought stress on  $C_i$  in alfalfa leaves

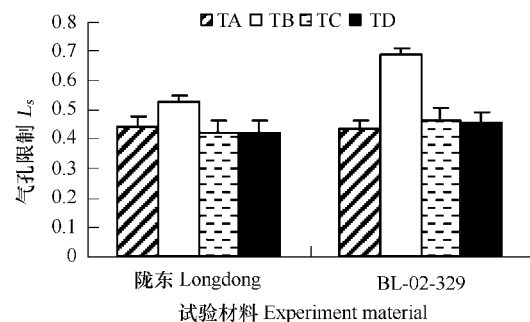


图5 干旱胁迫对气孔限制 ( $L_s$ ) 的影响

Fig. 5 Effect of drought stress on  $L_s$  in alfalfa leaves

#### 2.2.5 叶片叶绿素含量的变化

叶绿素作为光合作用中最重要的色素分子, 参与光合作用中光能的吸收、传递和转化。在逆境环境下, 植物感知胁迫作用后, 通常表现出光合作用下降, 光合色素含量降低<sup>[15]</sup>。由图6, 干旱胁迫下两种紫花苜蓿叶片叶绿素含量均降低。其中陇东苜蓿在轻度干旱胁迫下, 叶绿素含量降低的幅度较小, 中度和重度干旱胁迫下叶绿素含量下降的幅度增大, 分别下降为对照的 74.24% 和 72.82%, 但中度和重度干旱胁迫间叶绿素含量的差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 表明相对于中度干旱胁迫, 重度干旱胁迫对陇东苜蓿叶片叶绿素含量并未造成更大的

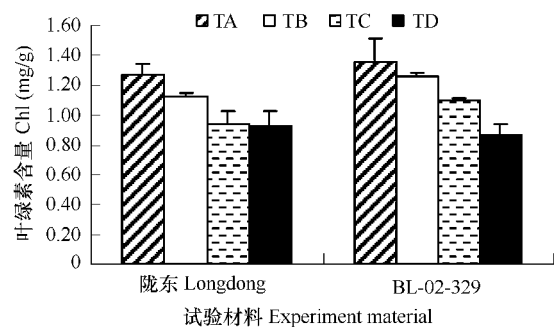


图6 干旱胁迫对叶绿素含量的影响

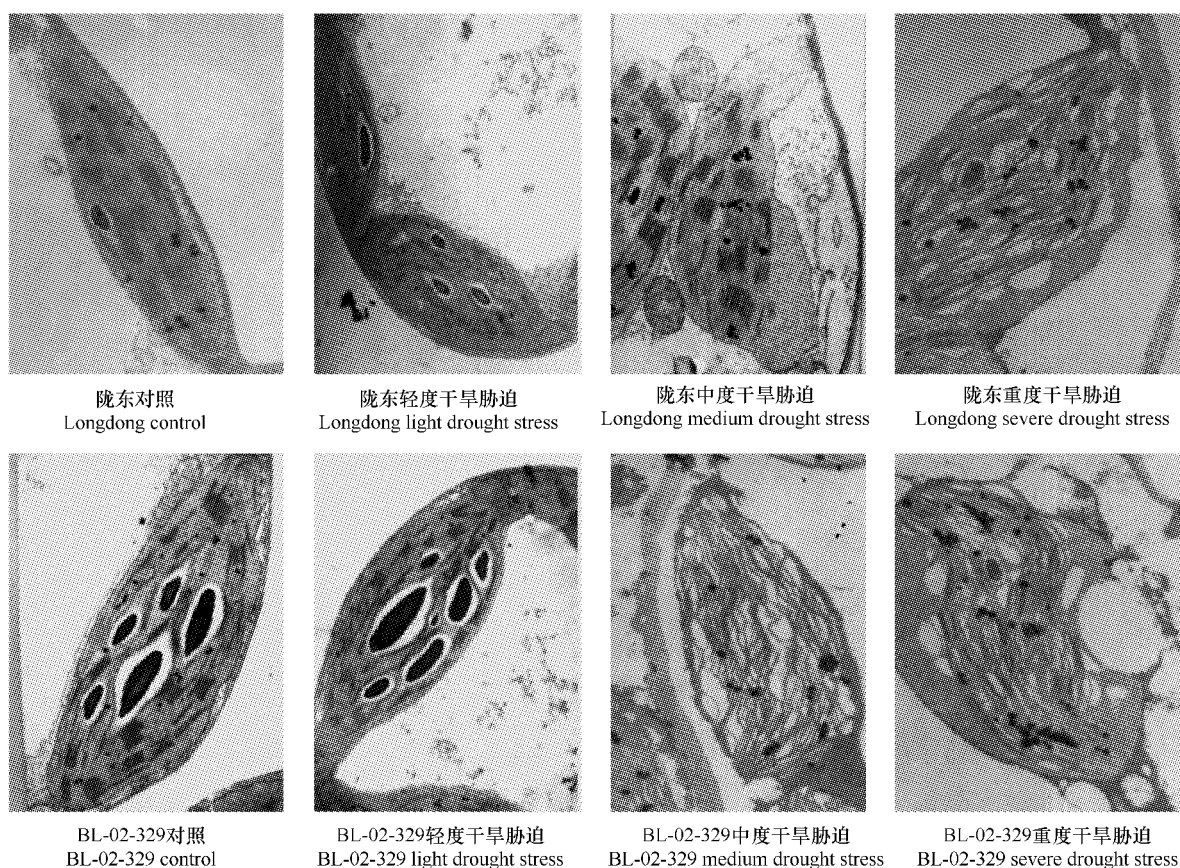
Fig. 6 Effect of drought stress on chlorophyll content in alfalfa leaves

影响。BL-02-329 在轻度干旱胁迫下叶绿素含量下降幅度很小,而在中度和重度干旱胁迫下,叶绿素含量下降的幅度均增大,分别下降为对照的 80.62% 和 64.08%,表明随干旱胁迫程度的加强,BL-02-329 叶片叶绿素含量对于干旱胁迫更加敏感。

### 2.2.6 叶片叶绿体超微结构的变化

叶绿体是光合作用的场所,在光合作用进行时不可避免地要产生超氧化物自由基等活性氧,正常生理条件下,这些氧自由基的产生和清除是平衡的,因此对植物不存在任何伤害;在干旱胁迫的环境下,这种平衡被破坏,引发膜脂过氧化,从而引起膜的渗漏和细胞超微结构的变化<sup>[16]</sup>。

对陇东苜蓿和 BL-02-329 两种紫花苜蓿叶绿体超微结构的观察发现,两种紫花苜蓿叶绿体超微结构在轻度干旱胁迫下,变化不很明显,而在中度干旱胁迫下,叶绿体变圆,从空间位置上看叶绿体已经远离细胞壁发生了位移(即发生了质壁分离)这必然导致光合机构的光合能力下降。其中抗旱性强的陇东苜蓿叶绿体的外形及基粒结构受到的影响明显轻一些,基粒片层基本上保持垛叠状态,部分基粒开始出现膨胀以及模糊的解离状态。而抗旱性差的 BL-02-329 叶绿体形状趋于椭圆,大部分基粒片层成为模糊的解离状态。在重度干旱胁迫下,陇东苜蓿叶绿体片层系统肿胀,片层系统排列方向明显改变,产生扭曲,不能堆叠成基粒。BL-02-329 在重度干旱胁迫下,基粒已经十分模糊,基粒片层难于分辨,且部分叶绿体被膜的局部产生变形、破裂。由图可看出,在中度及重度干旱胁迫下,陇东苜蓿叶绿体的形态和结构变化受到的影响比 BL-02-329 小得多。



图版 I 干旱胁迫对紫花苜蓿叶绿体超微结构的影响

Plate I Effect of different drought stress on chloroplast ultrastructure of alfalfa

## 2.3 叶绿素荧光参数的变化

### 2.3.1 $F_v/F_m$ 和 $F_v/F_o$ 的变化

$F_v/F_m$  反映的是 PS II 反应中心内的光能转化效率,非环境胁迫条件下叶片的荧光参数  $F_v/F_m$  极少变化,

不受物种和生长条件的影响,而遭受光抑制的叶片这一参数变化明显, $F_v/F_o$ 则反映了 PS II 的潜在活性,它们是表明光化学反应状况的两个重要参数<sup>[17]</sup>。

表 2 干旱胁迫下紫花苜蓿光合生理特征(±标准误)

Table 2 Photosynthetic characteristics (mean ± SE) of Alfalfa subjected to different drought stress treatment

|               | 净光合速率<br>$P_n$<br>( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) | 蒸腾速率<br>$E$<br>( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) | 气孔导度<br>$G_s$<br>( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) | 气孔限制<br>$L_s$ | 胞间 $\text{CO}_2$ 浓度<br>$C_i$<br>( $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) | 叶绿素含量<br>Chl<br>( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) |
|---------------|---------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|---------------|-------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 陇东 (Longdong) |                                                                           |                                                                        |                                                                          |               |                                                                         |                                                   |
| TA            | 24.14 ± 0.91Aa                                                            | 4.35 ± 0.05Aa                                                          | 0.22 ± 0.005Aa                                                           | 0.44 ± 0.02Aa | 247.2 ± 6.30Aa                                                          | 1.27 ± 0.04Aa                                     |
| TB            | 14.93 ± 1.15Bb                                                            | 2.48 ± 0.09Bb                                                          | 0.11 ± 0.004Bb                                                           | 0.53 ± 0.01Bb | 209.8 ± 3.80Bb                                                          | 1.12 ± 0.05ABa                                    |
| TC            | 7.31 ± 0.49Cc                                                             | 1.36 ± 0.14Cc                                                          | 0.06 ± 0.007Cc                                                           | 0.42 ± 0.02Aa | 253.8 ± 7.8Aa                                                           | 0.94 ± 0.05Bb                                     |
| TD            | 4.53 ± 0.43Cd                                                             | 0.97 ± 0.03Dd                                                          | 0.04 ± 0.001Cd                                                           | 0.42 ± 0.02Aa | 257.0 ± 8.4Aa                                                           | 0.93 ± 0.06Bb                                     |
| BL-02-329     |                                                                           |                                                                        |                                                                          |               |                                                                         |                                                   |
| TA            | 33.56 ± 0.81Aa                                                            | 8.46 ± 0.03Aa                                                          | 0.33 ± 0.006Aa                                                           | 0.43 ± 0.01Aa | 246.6 ± 5.4Aa                                                           | 1.36 ± 0.01Aa                                     |
| TB            | 17.80 ± 0.50Bb                                                            | 3.18 ± 0.20Bb                                                          | 0.10 ± 0.007Bb                                                           | 0.69 ± 0.01Bb | 134.8 ± 3.4Bb                                                           | 1.26 ± 0.01Aa                                     |
| TC            | 4.10 ± 0.47Cc                                                             | 1.18 ± 0.03Cc                                                          | 0.04 ± 0.001Cc                                                           | 0.46 ± 0.02Aa | 232.0 ± 9.1Aa                                                           | 1.10 ± 0.06Bb                                     |
| TD            | 2.97 ± 0.54Cc                                                             | 1.69 ± 0.17Cd                                                          | 0.05 ± 0.005Cd                                                           | 0.45 ± 0.02Aa | 233.4 ± 6.8Aa                                                           | 0.87 ± 0.03Cc                                     |

大写字母表示  $P < 0.01$  显著水平,小写字母表示  $P < 0.05$  显著水平,同列中标注相同字母的值之间差异不显著,下同 Capital letters stand for significant levels at  $P < 0.01$ , small letters stand for significant levels at  $P < 0.05$ , values followed by a common letter within a rank are not significant; the same below

本试验中,干旱胁迫下  $F_v/F_m$  与  $F_v/F_o$  均显著降低(如图 7 和图 8),但两种紫花苜蓿  $F_v/F_m$  和  $F_v/F_o$  下降的幅度不同,总体上陇东苜蓿下降幅度较小,BL-02-329 下降幅度较大,即抗旱性弱的品种下降幅度大,其叶绿素荧光受干旱胁迫影响的程度也越大。与对照相比,在轻度、中度、重度干旱胁迫下两种紫花苜蓿  $F_v/F_m$  下降的幅度分别为:陇东苜蓿(4.77%、6.01%、8.16%);BL-02-329(5.16%、12.75%、12.46%)。干旱胁迫下陇东苜蓿和 BL-02-329 的净光合速率与  $F_v/F_m$  呈显著正相关,相关系数分别达到了 0.977 和 0.992。与对照相比,轻度、中度、重度干旱胁迫下两种紫花苜蓿  $F_v/F_o$  下降的幅度分别为陇东苜蓿(20.07%、17.08%、28.06%),BL-02-329(22.07%、46.74%、57.00%)。以上数据表明,干旱胁迫使抗旱性差的紫花苜蓿 PS II 原初光能转化效率降低的程度较大,PS II 潜在活性中心受损较严重。

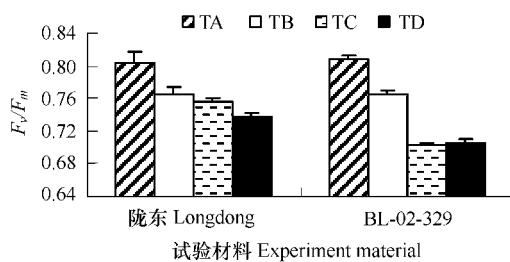


图 7 干旱胁迫对  $F_v/F_m$  的影响

Fig. 7 Effect of drought stress on  $F_v/F_m$  in alfalfa leaves

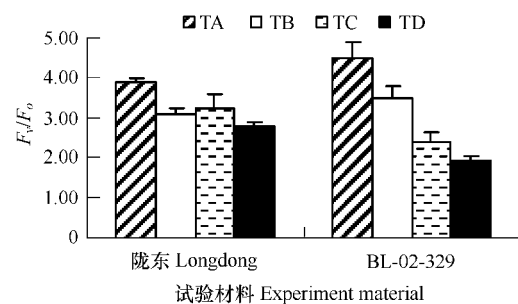


图 8 干旱胁迫对  $F_v/F_o$  的影响

Fig. 8 Effect of drought stress on  $F_v/F_o$  in alfalfa leaves

### 2.3.2 干旱胁迫对紫花苜蓿叶片 $qP$ 、 $qN$ 的影响

光化学淬灭系数  $qP$  值的大小反映的是 PS II 原初电子受体 QA 的氧化还原状态和 PS II 开放中心的数目,其值越大,说明 PS II 具有高的电子传递活性<sup>[18]</sup>。由图 9 可以看出,干旱胁迫下两种紫花苜蓿  $qP$  值总体呈降低趋势。轻度干旱胁迫下,与对照相比,陇东苜蓿  $qP$  下降幅度很小,BL-02-329  $qP$  值没有下降反而比对照上升了 8.37%。中度干旱胁迫下,两种紫花苜蓿  $qP$  值均有较大幅度的降低,BL-02-329 降低的幅度相对较大。

重度干旱胁迫下,陇东苜蓿  $qP$  值继续降低而 BL-02-329  $qP$  值与中度胁迫时相比有所上升,但低于对照,为对照的 88.74%。方差分析表明,BL-02-329 的不同处理间  $qP$  差异极显著( $P < 0.01$ )见表 3。陇东苜蓿在中度胁迫和重度胁迫下  $qP$  值差异不显著( $P > 0.05$ ),其他处理间差异极显著( $P < 0.01$ ),见表 3。表明在干旱胁迫下紫花苜蓿叶片 PS II 反应中心电子传递活性受到不同程度的影响,陇东苜蓿  $qP$  值下降幅度较低,说明受到的影响较小,而 BL-02-329 随胁迫程度的加深, $qP$  值变化规律性不强,但总体趋势是降低的,具体原因还有待于进一步研究。

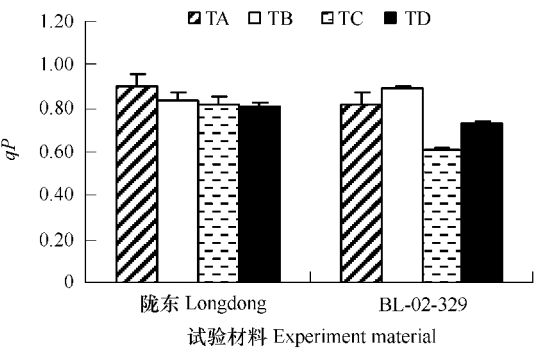


图 9 干旱胁迫对  $qP$  的影响  
Fig. 9 Effect of drought stress on  $qP$  in alfalfa leaves

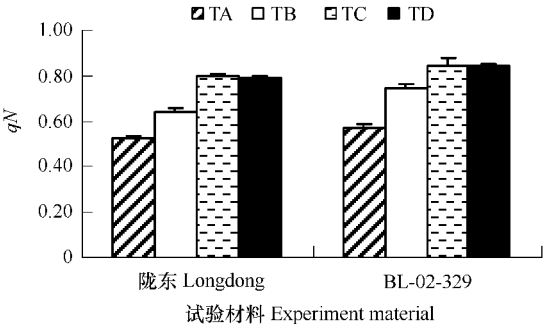


图 10 干旱胁迫对  $qN$  的影响  
Fig. 10 Effect of drought stress on  $qN$  in alfalfa leaves

非光化学猝灭系数  $qN$  反映了叶片吸收的光能以热耗散的形式散失的程度<sup>[19]</sup>。热耗散可以防御光抑制带来的破坏,是植物保护 PS II 免受伤害的重要机制。

本试验结果表明,干旱胁迫下两种紫花苜蓿  $qN$  值均升高,与对照相比,轻度干旱胁迫下 BL-02-0329 $qN$  值上升的幅度较大。而中度和重度干旱胁迫下陇东苜蓿  $qN$  值增加的幅度高于 BL-02-329(如图 10)。表明相对于抗旱性弱的苜蓿,抗旱性强的苜蓿在中度及重度干旱胁迫时 PS II 反应中心的开放程度高,电子传递与热耗散能力均较强,而轻度干旱胁迫时,抗旱性弱的紫花苜蓿 BL-02-329 这种调节功能较强。

表 3 干旱胁迫下苜蓿叶绿素荧光特征(±标准误)

| Table 3 Fluorescence of PS II Reaction Center characteristics (mean ± SE) of alfalfa subjected to different drought stress treatment |                 |                |                 |                |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|
| 项目 Item                                                                                                                              | $F_v/F_m$       | $F_v/F_o$      | $qP$            | $qN$           |
| 陇东 Longdong                                                                                                                          |                 |                |                 |                |
| TA                                                                                                                                   | 0.80 ± 0.007Aa  | 3.89 ± 0.05Aa  | 0.90 ± 0.005Aa  | 0.52 ± 0.008Aa |
| TB                                                                                                                                   | 0.77 ± 0.005Bb  | 3.12 ± 0.09Bbc | 0.84 ± 0.002Bb  | 0.64 ± 0.007Bb |
| TC                                                                                                                                   | 0.76 ± 0.003BCb | 3.23 ± 0.21Bb  | 0.82 ± 0.002BCc | 0.80 ± 0.003Cc |
| TD                                                                                                                                   | 0.74 ± 0.002Cc  | 2.81 ± 0.02Bc  | 0.81 ± 0.007Cc  | 0.79 ± 0.003Cc |
| BL-02-329                                                                                                                            |                 |                |                 |                |
| TA                                                                                                                                   | 0.81 ± 0.001Aa  | 4.50 ± 0.23Aa  | 0.82 ± 0.003Aa  | 0.57 ± 0.01Aa  |
| TB                                                                                                                                   | 0.77 ± 0.01Bb   | 3.51 ± 0.18Bb  | 0.89 ± 0.006Bb  | 0.75 ± 0.01Bb  |
| TC                                                                                                                                   | 0.70 ± 0.003Cc  | 2.40 ± 0.13Cc  | 0.61 ± 0.005Cc  | 0.84 ± 0.01Cc  |
| TD                                                                                                                                   | 0.71 ± 0.003Cc  | 1.93 ± 0.06Cc  | 0.73 ± 0.004Dd  | 0.84 ± 0.03Cc  |

3 讨论

(1)本试验研究中,干旱胁迫下苜蓿 PS II 原初光能转化效率显著减小,表明苜蓿受到了光抑制,但同时非光化学淬灭系数增大,这是一种自我保护机制,对光合机构起一定的保护作用。与对照相比,轻度干旱胁迫下 BL-02-0329 $qN$  值上升的幅度较大,而中度和重度干旱胁迫下陇东苜蓿  $qN$  值增加的幅度高于 BL-02-329。说明相对于抗旱性弱的苜蓿,抗旱性强的苜蓿在受到严重干旱胁迫时,电子传递与 PS II 潜在热耗散能力均较强,有效地避免或减轻了光合机构受损的程度,在一定程度上提高了它在重度干旱胁迫环境下抵御干旱的

能力。

(2) Farquhar 等认为,  $P_n$  的降低有气孔限制和非气孔限制两方面因素, 当  $P_n$  和  $C_i$  变化方向相同, 两者同时减小, 且  $L_s$  增大时,  $P_n$  下降主要是由  $G_s$  引起的, 否则  $P_n$  的下降要归因于叶肉细胞羧化能力的降低<sup>[20]</sup>。另外, 叶绿体结构与光合作用密切相关, 叶绿体基粒数和基粒片层数越多, 基粒片层排列越致密, 光合能力就越强<sup>[21,22]</sup>。本研究表明, 在轻度干旱胁迫下两种紫花苜蓿  $P_n$  下降的同时  $C_i$  明显降低、 $L_s$  升高幅度较大, 叶绿体超微结构受干旱胁迫的影响较小, 表明轻度干旱胁迫下气孔限制是两种紫花苜蓿光合作用降低的主要因素, 但在中度和重度干旱胁迫下, 随着  $P_n$  的进一步降低,  $C_i$  及  $L_s$  与对照相比变化不大, 而叶绿体超微结构被破坏, 甚至出现叶绿体膜破裂的现象, 表明两种紫花苜蓿在中度和重度干旱胁迫下  $P_n$  的降低主要是由叶肉细胞光合活性下降引起的, 非气孔限制起着主要作用。中度及重度干旱胁迫下苜蓿叶片叶绿体超微结构的变化是造成叶片光合作用降低的一个重要因素。

(3) 在叶绿素荧光参数中, 叶绿素荧光的可变部分( $F_v$ )与最大荧光值( $F_m$ )的比值( $F_v/F_m$ )反映了开放的 PS II 反应中心捕获激发能的效率, 是研究植物胁迫的重要参数, 任何影响 PS II 效能的环境胁迫均会使  $F_v/F_m$  降低<sup>[23]</sup>。有研究表明,  $F_v/F_m$  与光合作用的净产率呈正相关<sup>[24]</sup>。光化学效率的高低直接决定叶片光合作用的高低, 因此, 由于某种原因造成的光化学效率降低会成为光合作用的重要限制因子<sup>[25]</sup>。本试验中, 正常水分条件下两种紫花苜蓿叶片的  $F_v/F_m$  在 0.801 ~ 0.807 之间。随着干旱胁迫的加剧, 两种紫花苜蓿  $F_v/F_m$  比值降低。相关分析表明, 干旱胁迫下陇东苜蓿和 BL-02-329 的净光合速率与  $F_v/F_m$  呈显著正相关。表明两种紫花苜蓿光化学效率的降低是净光合速率下降的又一重要因子。干旱胁迫使紫花苜蓿 PS II 受到伤害, 降低了 PS II 原初光能转化效率, PS II 潜在活性中心受损, 光合作用原初反应过程受到抑制, 光合电子由 PS II 反应中心向 QA、QB 及 PQ 库传递过程受到影响。

#### References:

- [1] Yang Q C. Guide of alfalfa production and manage. Beijing: Chinese Forestry Press, 2003. 8—68.
- [2] Li S H, Xu X, He J. Study on photosynthetic physiology characteristic of *Cynanchum komarovii* under water stress. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 2004, 24(1):100—104.
- [3] Lawlor D W, Cornic G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell and Environment*, 2002, 25:275—294.
- [4] Li W, Cao K F. Effects of drought stress on photosynthetic characteristics and chlorophyll fluorescence parameters in seedlings of *Terminthia paniculata* grown under different light level. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 2006, 26(2):0266—0275.
- [5] Cure J D, Acock B. Crop responses to CO<sub>2</sub> doubling: a literature survey. *Agriculture and Forest Meteorology*, 1986, 38:127—145.
- [6] Goudriaan J, DeRuiter H E. Plant growth in response to CO<sub>2</sub> enrichment at two levels of nitrogen and phosphorus supply I. dry matter, leaf area and development. *Netherland Journal of Agriculture Science*, 1983, 31:157—169.
- [7] Ziska L H, Bunce J A. Direct and indirect inhibition of single leaf respiration by elevated CO<sub>2</sub> concentrations: Interaction with temperature. *Physiol Plantar*, 1994, 90:130—138.
- [8] Wei X J, Jia Z K, Han Q F, et al. Effect of fertilization on the photosynthetic characteristics of alfalfa (*Medicago sativa*) in its branching period. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2006, 22(12):77—83.
- [9] Lu C F, Pen G Y. Effect of light on photosynthesis of alfalfa under cold stress. *Grassland of China*, 1994, (5):15—18
- [10] Zhang Q D, Lu C M, Feng L J, et al. Effect of elevated CO<sub>2</sub> on the primary conversion of light energy of alfalfa photosynthesis. *Acta Botanica Sinica*, 1996, 38(1):77—82.
- [11] Nan Z B, Li C J, Wang Y W, et al. Lucerne common leaf spot: forage quality, photosynthesis rate and field resistance. *Acta Prataculturae Sinica*, 2001, 10(1):26—34.
- [12] Liu Y H, Jia Z K, Shi J A, et al. Daily dynamics of photosynthesis in alfalfa varieties under dry farming conditions. *Acta Ecologica Sinica* 2006, 26(5):1468—1476.
- [13] Han R H, Lu X S, Gao G J, et al. Analysis of the principal components and the subordinate function of alfalfa drought resistance. *Acta Agrestia Sinica*, 2006, 14(2):142—146.
- [14] Shao X W, Han M, Han Z M, et al. Effects of water supply on growth and photosynthesis in *Scutellaria baicalensis*. *Acta Ecologica Sinica*, 2006,

26(10):3214—3220.

- [15] Lal A, Edwards G E. Analysis of inhibition of photosynthesis under water stress in the  $C_4$  species *Amaranthus cruentus* and *Zeamays*: electron transport,  $CO_2$  fixation and carboxylation capacity. *Australian Journal of Plant Physiology*, 1996, 23(4):403—412.
- [16] Wu Y Y, Li D Q. Effects of soil water stress on osmotic adjustment and chloroplast ultrastructure of winter wheat leaves. *Acta Agriculture Boreali-Sinica*, 2001, 16(2):87—93.
- [17] Wen G S, Tian H T, Zhang R M, *et al.* Application of chlorophyll fluorescence analysis in forest tree cultivation. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(10):1973—1977.
- [18] Zhang S R. A discussion oil chlorophyll fluorescence kinetics parameters and their significance. *Chinese Bulletin of Botany*, 1999, 16(4):444—448.
- [19] Bilger W, Björkman O. Role of the xanthophylls cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in *Hedera canariensis*. *Photosynthesis Research*, 1990, 25:173—185.
- [20] Farquhar G D, Sharkey T D. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology*, 1982, 33(3):317—345.
- [21] Tang Q, Shi J F. Study on the relation between leaf structure and photosynthetic characters of major varieties of tea in the western Sichuan. *Journal Sichuan Agricultural University*, 1997, 15(2):193—198.
- [22] Zhang J, Li T L. Effects of daytime sub-high temperature on photosynthesis and chloroplast ultrastructure of tomato leaves in green house. *Acta Horticulturae Sinica*, 2005, 32(4):614—619.
- [23] Li D H, Song L R, Liu Y D. The relationship between water stress and the chlorophyll fluorescence of *Nostoc sphaeroides* (Cyanobacterium). *Plant Physiology Communications*, 2000, 36(3):205—208.
- [24] Krause G H, Weis E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The Basics. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1991, 42:313—349.
- [25] Yang X Q, Zhang S Q, Liang Z S, *et al.* Effects of water stress on chlorophyll fluorescence parameters of different drought resistance winter wheat cultivar seedlings. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 2004, 24(5):812—816.

#### 参考文献:

- [1] 杨青川. 苜蓿生产与管理指南. 北京:中国林业出版社, 2003. 8~68.
- [2] 李树华, 许兴, 何军, 等. 水分胁迫对牛心朴子光合生理特性影响的研究. *西北植物学报*, 2004, 24(1):100~104.
- [4] 李伟, 曹坤芳. 干旱胁迫对不同光环境下的三叶漆幼苗光合特性和叶绿素荧光参数的影响. *西北植物学报*, 2006, 26(2):0266~0275.
- [8] 卫新菊, 贾志宽, 韩清芳, 等. 施肥对紫花苜蓿分枝期光合特性的影响. *中国农学通报*, 2006, 22(12):77~83.
- [9] 卢存福, 贾桂英. 低温胁迫下光对苜蓿光合作用的影响. *中国草地*, 1994, (5):15~18.
- [10] 张其德, 卢从明, 冯丽洁, 等.  $CO_2$  加富对紫花苜蓿光合作用原初光能转换的影响. *植物学报*, 1996, 38(1):77~82.
- [11] 南志标, 李春杰, 王赞文, 等. 苜蓿褐斑病对牧草质量光合速率的影响及田间抗病性. *草业学报*, 2001, 10(1):26~34.
- [12] 刘玉华, 贾志宽, 史纪安, 等. 旱作条件下不同苜蓿品种光合作用的日变化. *生态学报*, 2006, 26(5):1468~1476.
- [13] 韩瑞宏, 卢欣石, 高桂娟, 等. 紫花苜蓿抗旱性主成分及隶属函数分析. *草地学报*, 2006, 14(2):142~146.
- [14] 邵玺文, 韩梅, 韩忠明, 等. 水分供给量对黄芩生长与光合特性的影响. *生态学报*, 2006, 26(10):3214~3220.
- [16] 武玉叶, 李德全. 土壤水分胁迫对冬小麦叶片渗透调节及叶绿体超微结构的影响. *华北农学报*, 2001, 16(2):87~93.
- [17] 温国胜, 田海涛, 张明如, 等. 叶绿素荧光分析技术在林木培育中的应用. *应用生态学报*, 2006, 17(10):1973~1977.
- [18] 张守仁. 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论. *植物学通报*, 1999, 16(4):444~448.
- [21] 唐茜, 施嘉璠. 川西茶区主栽品种光合强度与叶片结构相关关系的研究. *四川农业大学学报*, 1997, 5(2):193~198.
- [22] 张洁, 李天来. 日光温室亚高温对番茄光合作用及叶绿体超微结构的影响. *园艺学报*, 2005, 32(4):614~619.
- [23] 李敦海, 宋立荣, 刘永定. 念珠藻葛仙米叶绿素荧光与水分胁迫的关系. *植物生理学通讯*, 2000, 36(3):205~208.
- [25] 杨晓青, 张岁岐, 梁宗锁, 等. 水分胁迫对不同抗旱类型冬小麦幼苗叶绿素荧光参数的影响. *西北植物学报*, 2004, 24(5):812~816.