

钼胁迫对烟草光合荧光参数和叶绿体超微结构的影响*

武丽¹ 李章海² 叶文玲¹ 黄义德¹

(1. 安徽农业大学农学院, 合肥 230036; 2. 中国科学技术大学烟草与健康研究中心, 合肥 230052)

摘要: 为探明烟草响应钼胁迫光合生理机制,研究了缺钼胁迫对烟草光合气体交换、叶绿素荧光参数和叶绿体超微结构的影响。结果表明:缺钼培养10 d后,烟苗光合色素含量和净光合速率较对照有所降低,胞间二氧化碳浓度、气孔导度和蒸腾速率提高,光系统初始荧光和非光化学猝灭系数提高,光合电子传递速率和最大光化学效率降低,但差异均不显著;烟苗的叶绿体基类片层和基质片层排列松散,淀粉粒数量少。培养20 d时,缺钼和对照烟苗的多数指标差异显著。培养30 d时,除蒸腾速率外,缺钼和对照烟苗的其它指标差异均显著,叶绿体片层结构受损严重,淀粉粒发育差。缺钼胁迫损伤了叶绿体超微结构,抑制了原初光能转化效率,降低了光合能力。且随胁迫时间延长,缺素表现明显。

关键词: 烟草 钼胁迫 光合荧光参数 叶绿体超微结构

中图分类号: S572; Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2014)08-0262-07

引言

光合作用是植株生物量积累的基础,其代谢能力的强弱可以从植株的光合性能参数、叶绿素荧光参数和叶绿体超微结构等多方面反映。光合性能参数是光合作用强弱的最直接反映,叶绿素荧光参数则反映植物叶片光系统Ⅱ对光能的吸收、传递和耗散等状况,传递出叶片在胁迫环境下对光能利用的微观信息^[1-3],而对叶片叶绿体细胞超微结构的显微观察,更有助于从解剖学角度阐明植株的光合生理微观机制。

钼是植株体的必需营养元素之一,植物缺钼的外观特征之一是脉间失绿,叶片扭曲变形。示踪元素研究表明,叶绿素减少的区位多发生在缺钼的同一脉间区内^[4],而叶绿素含量直接影响植株对光能的吸收和利用程度,因此钼素与光合作用的关系密切。柳勇等^[5]研究表明,施钼冬小麦较强的抗寒力与其稳定的细胞膜结构密切相关。目前,有关钼营养或其与多种营养元素配施对油菜^[6]、苦瓜^[7]、烤烟^[8]等作物生长的报道也较多,但研究大多集中在对作物的增产、增质效果上,而有关植株光合系统参数和叶绿体超微结构对钼胁迫的报道鲜见。鉴于烟草是一种对钼有奢侈吸收性的典型模式作物,因此,本文采用水培方法,研究缺钼胁迫对烟苗的光合

色素、光合气体交换参数和叶绿素荧光动力学参数的影响,并从细胞学角度深入探索叶绿体超微结构对缺钼胁迫的响应,以揭示烟草响应缺钼胁迫的光合生理机制。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于2013年在安徽农业大学实践基地大棚进行。供试材料为茄科烟草属(*Nicotiana tabacum*)烤烟品种“南江三号”,选取生长一致的健壮小苗,按株距30 cm移栽至不透明塑料盆中,盆上加盖厚泡沫固定烟苗,并防止营养液中微量元素含量受到污染。盆下角设置开关阀门,以减轻更换营养液时对根系的伤害。营养液配制参考Hoagland配方并进行调整,每1 L培养液中含硫酸镁0.168 g,磷酸二氢钾0.414 g,硝酸钾0.384 g,氯化钾 2.50×10^{-3} g,硼酸 2.86×10^{-3} g,硫酸锌 4.60×10^{-4} g,硫酸铜 8.00×10^{-5} g,氯化锰 8.00×10^{-5} g,硝酸钙0.463 g,硫酸铁0.004 g。所用试剂为分析纯。整个试验过程用水均为去离子水。

1.2 试验方法

1.2.1 缺钼胁迫处理方法

采用不加钼素的营养液为缺钼胁迫处理,根据预试验结果,以钼质量比0.20 mg/kg的完全营养液

收稿日期:2014-03-24 修回日期:2014-04-29

* 国家自然科学基金资助项目(41301539)、安徽省教育厅高校重点基金资助项目(KJ2013Z085)和贵州省烟草公司重点科技项目(201105)

作者简介:武丽,讲师,博士生,主要从事植物生理和营养研究,E-mail:wulisuc@163.com

通讯作者:黄义德,教授,博士生导师,主要从事作物栽培生理研究,E-mail:1380551@163.com

处理作为对照。每处理 12 株, 3 次重复。移栽前, 用无水乙醇对容器和所用工具进行浸泡消毒, 然后用去离子水冲洗干净。将烟苗根部基质洗净, 经去离子水浸泡 8 h 后, 分别同时进行水培 40 d。先用 1/10 正常浓度的缺钼和施钼处理营养液预培养 5 d, 之后用 1/4 正常浓度的营养液预培养 5 d, 最后用 2 种处理的正常浓度营养液进行培养。培养初期, 营养液每 5 d 更换 1 次, 15 d 后每天更换营养液, 用正常浓度的营养液培养烟苗 30 d。采用 2 种处理的正常浓度营养液培养时记为 0 d, 分别在培养 0、10、20、30 d 时进行取样和测定。试验于 2013 年 6 月 5 日进行培养, 7 月 15 日采样测定结束。移栽时, 取根部浸泡后的烟苗进行钼素含量测定, 烟苗中钼质量比 0.03 mg/kg。

1.2.2 光合参数的测定

采用王学奎^[9]的方法测定总叶绿素和类胡萝卜素含量。采用美国 LI-COR 公司生产的 LI-6400 型便携式光合测定系统在晴天上午 9:00 ~ 11:00 进行, 每处理重复 3 次, 对待测叶片进行叶位标记, 测定叶片净光合速率、胞间 CO₂ 浓度、气孔导度和蒸腾速率。

1.2.3 叶绿素荧光参数测定

采用便携式脉冲调制叶绿素荧光仪 (IMAGING-PAM. 2001 型, 德国 WALZ), 每处理取 3 株, 在每片标定叶位上取 4 点进行活体测定, 尽量使叶片上的具体取样位置保持一致, 水培在大棚室内进行, 烟株对光线的接受程度略有差异。每次测定均在无月晚上 19:00 进行。先对待测叶片暗处理 20 min, 打开测量光, 并打开光化光, 适应 20 s 后打开饱和脉冲光。PS II 初始荧光、最大光化学效率、光合电子传

递速率、光合有效量子产量和非光化学猝灭系数等参数均由荧光成像系统在选定模式下自动计算生成。

1.2.4 叶绿体超微结构的电镜观察

分别在培养 10 d 和 30 d 时, 取缺钼和施钼处理烟苗的倒二叶完整叶片, 洗净后揩干, 用双面刀片取 1 mm × 2 mm 的叶肉小块, 迅速投入到 2.5% 戊二醛固定液中进行抽气, 固定。整个操作在 4℃ 下进行。丙酮梯度脱水, 环氧树脂包埋, Power-Tome-XL 型超薄切片机制成超薄切片后染色, 于日立 H-7650 型透射电镜观察并拍照。

1.3 数据统计分析

数据采用 Excel 2003 进行处理, SPSS 19.0 软件对数据进行 One-Way ANOVA 显著性检验及描述性统计分析。

2 结果与分析

2.1 钼胁迫对烟叶光合参数的动态影响

2.1.1 光合色素

光合色素的含量影响着植株捕获的光能量, 继而使后续的光合电子传递、光合速率等一系列生理反应发生变化。由表 1 看出, 在正常浓度的营养液培养 0 d 和 10 d 时, 施钼和缺钼处理的叶绿素和类胡萝卜素含量并无明显差异, 培养 20 d 时, 叶片的叶绿素和类胡萝卜素含量差异显著, 缺钼较施钼烟苗分别降低 17.77% 和 12.50%。说明, 缺钼胁迫培养 20 d 后, 烟苗叶绿素和类胡萝卜素含量差异明显。

2.1.2 气体交换参数

叶片净光合速率反映出光合能量转换为活泼化学能的多少, 其值越高, 说明被固定的能量也越多。由表 1 看出, 在正常浓度营养液培养后, 随着生育期

表 1 钼胁迫对叶片光合参数的影响

Tab. 1 Effects of the photosynthetic parameters of leaves under molybdenum stress

参数	处理	时间/d			
		0	10	20	30
净光合速率/($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	施钼	3.344 ± 0.251 ^{a*}	3.988 ± 0.241 ^a	7.812 ± 0.170 ^a	9.756 ± 0.020 ^a
	缺钼	3.282 ± 0.124 ^a	3.056 ± 0.073 ^a	4.854 ± 0.072 ^b	4.818 ± 0.050 ^b
气孔导度/($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	施钼	0.316 ± 0.372 ^a	0.409 ± 0.050 ^a	0.371 ± 0.070 ^b	0.404 ± 0.021 ^b
	缺钼	0.329 ± 0.070 ^a	0.457 ± 0.083 ^a	0.564 ± 0.061 ^a	0.493 ± 0.043 ^a
胞间 CO ₂ 浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	施钼	233.214 ± 24.001 ^a	230.181 ± 4.287 ^a	217.728 ± 3.813 ^a	218.342 ± 3.931 ^b
	缺钼	239.972 ± 13.123 ^a	244.591 ± 13.180 ^a	240.757 ± 17.513 ^a	239.658 ± 0.841 ^a
蒸腾速率/($\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	施钼	1.384 ± 0.081 ^a	1.374 ± 0.080 ^a	1.386 ± 0.040 ^b	1.408 ± 0.050 ^a
	缺钼	1.393 ± 0.123 ^a	1.402 ± 0.071 ^a	1.457 ± 0.281 ^a	1.436 ± 0.053 ^a
总叶绿素质量比/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	施钼	0.841 ± 0.112 ^a	1.181 ± 0.364 ^a	1.968 ± 0.141 ^a	2.794 ± 0.059 ^a
	缺钼	0.884 ± 0.062 ^a	1.132 ± 0.024 ^a	1.618 ± 0.101 ^b	1.923 ± 0.157 ^b
类胡萝卜素质量比/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	施钼	0.179 ± 0.032 ^a	0.248 ± 0.041 ^a	0.324 ± 0.059 ^a	0.391 ± 0.037 ^a
	缺钼	0.177 ± 0.023 ^a	0.237 ± 0.082 ^a	0.283 ± 0.016 ^b	0.301 ± 0.038 ^b

注: 数值为 3 次重复的平均值 ± 标准差。* 邓肯氏新复极差测验, 同一字母表示差异未达显著 ($p > 0.05$) 水平, 下同。

的推后,施钼处理烟叶的净光合速率持续增加,而缺钼处理烟叶的净光合速率在20 d时虽然有所增加,但增幅较小,30 d时又有所降低,说明此时烟叶的光合作用系统可能因缺钼营养胁迫环境而受到了影响。在正常浓度营养液培养20 d后,施钼比缺钼处理烟叶的净光合速率高61.03%。缺钼胁迫条件下,烟叶气孔导度和蒸腾速率均较施钼烟叶有所提高,20 d时差异显著,胞间CO₂浓度表现出先增后降的变化趋势。缺钼烟苗在20 d时蒸腾速率显著提高,这也可能成为其光合速率的限制因素之一。施钼和缺钼烟叶的蒸腾速率在培养30 d中均较高,可能跟烟苗培养后期环境温度上

升有关,但这并未影响到施钼烟叶净光合速率的增强,说明缺钼胁迫使得烟苗对环境条件反应敏感。

2.2 钼胁迫对烟叶叶绿素荧光参数的动态影响

从图1a看出,烟苗在正常浓度营养液培养后,施钼处理的初始荧光总体上趋于平稳,而缺钼烟苗的初始荧光在培养10 d后急剧增高。在培养初期(0~10 d),施钼和缺钼处理的初始荧光的差异较小,20 d时,两个处理之间差异显著,缺钼烟苗高出施钼烟苗48.70%,之后缺钼处理仍略有提高。说明缺钼烟苗在胁迫一段时间后(20 d),较施钼烟苗的光能利用量明显降低。

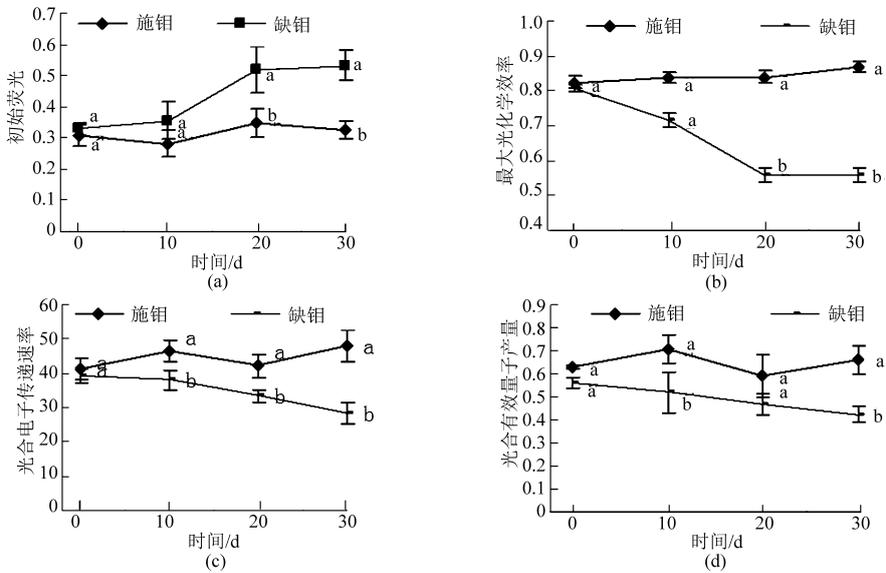


图1 钼胁迫对烟叶叶绿素荧光参数的影响

Fig. 1 Effects of the chlorophyll fluorescence parameters of tobacco leaves under molybdenum stress

从图1b可以看出,缺钼烟苗在缺钼胁迫条件下,最大光化学效率明显降低,尤其在20 d时,最大光化学效率急剧下降到0.56,之后略有降低。而施钼烟叶的最大光化学效率从培养0 d时的0.82,在10~20 d内逐渐提高到0.84,30 d时为0.87,说明施钼烟苗在移栽培养后,烟苗生长趋于健壮,其最大光化学效率均较符合植株在正常生长环境下0.85的要求,光化学效率增加。而缺钼处理随着胁迫时间的延长,尤其在培养20 d时,最大光化学效率急剧下降,对光能的利用效率降低。

光合电子传递速率反映实际光强条件下的表观电子传递速率^[10]。从图1c可以看出,缺钼烟叶的光合电子传递速率自培养0 d后逐渐下降,电子传递速率受阻明显。培养10 d时,缺钼烟苗比施钼烟苗的光合电子传递速率显著降低22.06%,而施钼烟叶的光合电子传递速率总体上有所增加,在20 d时略有降低然后增加。这可能与温室内的短时高温引起光合电子传递速率的变化所致。

光化学能量转化的有效量子产量反映了在部分PS II反应中心关闭情况下的原初光能捕获效率^[11]。从图1d看出,烟苗缺钼培养10 d时有效量子产量较施钼烟苗显著降低35.25%。施钼和缺钼处理烟苗的有效量子产量变化规律总体和ETR的变化规律是一致的,说明光合电子传递速率直接影响了烟苗对光能的捕获利用程度。

非光化学猝灭系数反映PS II天线色素吸收的光能不用于光化学电子传递,而以热的形式耗散掉的部分^[12]。从图2可看出,在正常浓度营养液培养10 d时,缺钼处理较施钼处理烟苗的非光化学猝灭系数(NPQ)显著提高,而施钼处理烟苗平稳变化,20 d后略有下降。说明在缺钼营养条件下,逆境胁迫抑制了光合能力,烟苗通过提高非光化学猝灭系数,增加热耗散的方式来保护PS II活性,以减轻逆境条件带来的伤害。

2.3 钼胁迫对烟叶叶绿体超微结构的影响

通过电镜下对叶绿体超微结构的观察,用不同

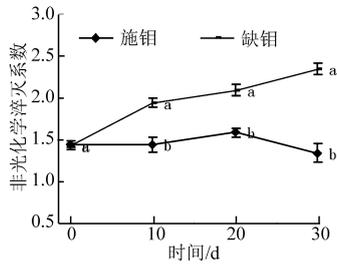


图 2 钼胁迫对烟叶非光化学淬灭系数的影响
Fig. 2 Effect of the non-photochemical quenching coefficient of leaves under molybdenum stress

处理的正常浓度营养液培养 10 d 时, 缺钼烟叶 (图 3a) 和施钼烟叶叶绿体的基类片层和基质片层相比 (图 3b), 片层垛叠不整齐, 较疏松并有所扩散; 缺钼烟叶叶绿体中淀粉粒 (图 3e) 明显比施钼的淀粉粒 (图 3f) 个体偏小而且数量较少。培养 30 d 时, 缺钼烟叶基质片层和基粒片层 (图 3c) 扩散明显、膨胀发生弯曲变形而且垛叠性极差, 而施钼烟叶 (图 3d) 的片层整齐、紧密排列, 垛叠片层较厚; 缺钼烟叶 (图 3g) 比施钼烟叶 (图 3h) 的淀粉粒发育明显差, 仅有少量淀粉粒而且个体小, 而施钼烟叶有适量发育良好的淀粉粒, 个体明显增大, 排列方向保持与长轴平行, 内含物丰富。从缺钼胁迫时间上来看, 30 d 和 10 d 相比较, 缺钼烟叶的片层结构解体严重, 几乎没有规则成形的片层垛叠体, 而施钼烟叶的片层垛叠体增厚, 更加整齐且紧密, 基粒间明显有基质片层整体连接, 有发育良好的淀粉粒。说明, 缺钼胁迫

下, 烟叶的叶绿体片层结构发育异常, 淀粉粒数量较少, 叶绿体超微结构受到损伤, 而且随着胁迫时间的延长, 受损伤程度加重, 这将不利于烟草后期光合产物的积累。

3 讨论

3.1 钼胁迫下烟叶光合参数变化

光合色素是植株进行光合作用的功能色素, 直接影响光能吸收、传递及合成同化力 (ATP、NADPH) 的量。钼是硝酸还原酶的重要组分, 钼素会影响植株氮代谢, 而氮素又是叶绿素的必需结构元素, 因此, 钼可能会间接地影响叶绿素的合成。由试验结果得出, 缺钼胁迫下, 烟苗的叶绿素和类胡萝卜素含量在 20 d 时与施钼处理达到了显著差异, 这与喻敏^[13]在冬小麦上的研究结果一致。另外, 缺钼抑制了植株体内的硝酸盐转化^[14], 可能也会间接导致活性铁含量的减少, 从而降低叶片中叶绿素含量。

在正常浓度营养液中培养后, 缺钼处理较施钼烟苗的净光合速率低, 而且在培养 20 d 时缺钼烟苗出现了净光合速率的峰值。Farquhar 等^[15]研究认为, 影响净光合速率的变化主要有气孔和非气孔因素。若气孔导度和胞间 CO₂ 浓度同时下降时, 净光合速率的下降则主要由气孔限制引起, 即气孔开度引起的叶肉细胞胞间 CO₂ 浓度改变; 而当胞间 CO₂ 浓度升高时, 净光合速率的下降则主要是非气孔因

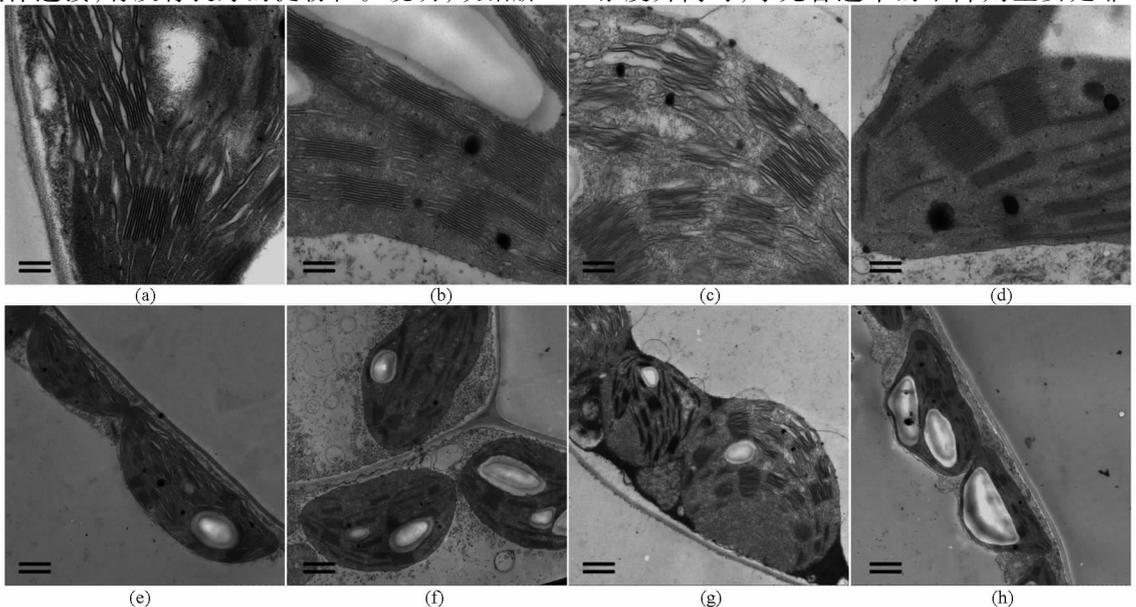


图 3 缺钼和施钼时的烟叶叶绿体超微结构

Fig. 3 Effects of the chloroplasts ultrastructure of tobacco leaves under molybdenum stress

- (a) 缺钼 10 d 时烟叶基粒片层和基质片层, 比例尺为 250 nm
- (b) 施钼 10 d 时烟叶基粒片层和基质片层, 比例尺为 250 nm
- (c) 缺钼 30 d 时烟叶基粒片层和基质片层, 比例尺为 250 nm
- (d) 施钼 30 d 时烟叶基粒片层和基质片层, 比例尺为 250 nm
- (e) 缺钼 10 d 时烟叶叶绿体和淀粉粒, 比例尺为 1.0 μm
- (f) 施钼 10 d 时烟叶叶绿体和淀粉粒, 比例尺为 1.0 μm
- (g) 缺钼 30 d 时烟叶叶绿体和淀粉粒, 比例尺为 1.0 μm
- (h) 施钼 30 d 时烟叶叶绿体和淀粉粒, 比例尺为 1.0 μm

素引起,即内部调控机制,如 Rubisco、叶绿体超微结构、PS II 活性及电子流等^[16]。试验结果中,缺钼烟苗在 10 d 和 30 d 时净光合速率均有降低,但胞间 CO₂ 浓度却有不同的变化趋势,说明这 2 个阶段影响光合速率的因素可能有差异,胁迫初期,缺钼处理净光合速率降低主要由非气孔因素引起,可能因为缺钼影响了叶绿素合成,或破坏了叶绿体超微结构,使 PS II 活性及电子流等受到抑制。而烟苗净光合速率的降低,使固定的 CO₂ 减少,也可能使得胞间 CO₂ 浓度升高。随着胁迫时间延长,叶片气孔关闭,主要是气孔因素限制了光合速率。另外,缺钼烟苗的气孔导度和蒸腾速率在培养 20 d 后显著高于施钼烟苗,可能因为缺钼抑制了醛氧化酶(AO)活性,在激素合成过程中,AO 以脱落醛为底物催化脱落酸的合成^[6],因此,缺钼不利于脱落酸含量增加和气孔关闭,气孔导度和蒸腾速率增强。

从试验数据看,光合色素含量和光合参数指标在培养 10 d 时大多没有显著差异,20 d 后才表现出明显差异,可能是因为育苗培养基质或种子体内所含的钼素在烟株体内有所残留,0.03 mg/kg 的钼素营养仍能维持烟苗前期的正常生长,但难以满足烟苗后期生长对养分的需求,因此在培养后期,光合参数各指标差异较显著。

3.2 钼胁迫下烟叶叶绿素荧光参数变化

当植株受到逆境胁迫时会做出一系列反应来适应不良环境。光合作用是植株反应比较敏感的过程,叶绿素荧光丰富的光反应信息能一定程度上说明植株对逆境的耐受力^[17]。植株经暗适应后,PS II 的电子受体 QA、QB 和 PQ 库等均完全失去电子而被氧化,此时反应中心可最大限度接受光量子,因此初始荧光反映出 PS II 反应中心开放时的荧光产量。一般来说初始荧光越大,对光能利用能量越低^[18]。本研究结果显示,缺钼烟苗比施钼烟苗的初始荧光高,尤其在培养 20 d 时,2 个处理的初始荧光差异显著。初始荧光的升高可能意味着,钼营养胁迫使得 PSII 反应中心受到破坏,而 PS II 活性直接决定着天线色素吸收光能后的转换及其利用程度。经缺钼培养 10 d 后,烟苗较施钼烟苗的非光化学猝灭系数有了显著提高,缺钼胁迫也可能使叶绿体类囊体膜结构受损或发生改变,天线色素和反应中心因结构和功能发生了变化,反应中心活性受抑导致能量传递受阻,此时,光合电子传递的热耗散增加以降低激发能的光化学利用,避免 QA 的过分还原,对光合机构起一定的保护作用^[12]。叶绿素分子捕获光能后对光能进行转换,一般用最大光化学效率来判断受胁迫植株的光能转化率^[19],正常情况下,该参数稳定

在 0.85 左右,逆境条件下会降低^[20]。本研究中,施钼烟苗的最大光化学效率基本稳定在 0.80 ~ 0.85,培养期间略有提高,在 20 d 后该值达到了 0.84,比较接近 0.85 的正常值。而缺钼烟苗的最大光化学效率在培养后就开始降低,尤其在 20 d 后下降明显,达到 0.56。说明缺钼胁迫下,烟苗最大光化学效率下降,随着胁迫时间延长,烟苗自身的光保护机制可能无法保护或修复系统的运转,PS II 反应中心发生不可逆失活。在正常浓度营养液中培养 10 d 后,缺钼烟苗较施钼烟苗的光合电子传递速率和有效量子产量有显著降低。施钼烟苗较高的有效量子产量为暗反应的光合碳同化积累能量,促进其高效运转和有机物质的积累。可见,烟苗在缺钼胁迫下,PS II 潜在中心活性受抑,可能阻碍了激发态电子从天线色素蛋白复合体(LHC)向 PSII 传递,进而向 PQ 库、Cytb6/f 传递受抑,因此降低烟苗的光化学转化效率、电子传递效率和量子产量,ATP 和 NADPH 减少,对碳的固定和同化能力减弱^[21]。

3.3 钼胁迫下烟叶叶绿体超微结构变化

叶绿体是植物特有的进行光能向化学能转化的细胞器,而逆境胁迫对植株造成的细胞生理伤害是导致电子传递和光能转化效率等降低的重要原因^[22-23]。郭卫东、王跃华、申燕等^[24-26]分别对多种营养胁迫条件下佛手、茶树和橘橙的叶绿体超微结构进行了研究,发现了营养胁迫对叶绿体发育的不良影响。本研究通过电镜下对叶片的显微结构观察发现,钼胁迫下,烟叶叶绿体的基类片层和基质片层明显较施钼烟叶的疏松、膨胀变形,片层垛叠较薄,不整齐,淀粉粒数量少而且个体发育差,说明缺钼造成了叶绿体精细结构的损伤,疏松变形的不规则垛叠片层意味着其捕获光能的效率较低,光合能力差,致使叶绿体中淀粉粒的积累量小而且发育不良。同时,缺钼烟草叶绿体的异常发育与本试验中光合色素含量的显著降低和光合气体交换参数的变化结果均相一致,受钼营养胁迫,烟叶的叶绿体超微结构发育异常,可能与钼主要存在于叶绿体中有关^[4],这也能从微观上进一步解释缺钼限制了烟草光合能力的作用机理。

4 结论

(1) 在钼胁迫下,培养 10 d 时,烟叶中的叶绿素和类胡萝卜素含量较施钼烟叶有所减少,净光合速率降低;光合电子传递速率和有效量子产量比施钼叶片显著降低。20 d 时,缺钼烟叶的叶绿素、类胡萝卜素含量及净光合速率和施钼烟叶之间差异显著。30 d 时,缺钼烟叶的叶绿素荧光参数与施钼烟叶之

间的差异均显著。

(2) 缺钼培养后, 烟叶叶绿体的精细结构受到损伤。胁迫 10 d 时, 叶绿体的基类片层和基质片层堆叠不整齐, 发生扩散, 且淀粉粒数量少、发育偏小, 胁迫 30 d 时, 叶绿体细胞受损严重, 片层结构有明

显解体。

(3) 钼胁迫抑制了烟叶 PS II 的光化学效率, 烟株的光合性能减弱。随着钼胁迫时间的延长, 烟叶在光合性能参数、叶绿素荧光参数和叶绿体超微结构等方面的缺钼反应越加明显。

参 考 文 献

- Nauman J C, Young D R, Anderson J E. Linking leaf optical properties to physiological responses for stress detection in coastal plant species[J]. *Physiologia Plantarum*, 2007, 131(3): 422 - 433.
- Sarijeva G, Knapp M, Lichtenthaler H K. Differences in photosynthetic activity, chlorophyll and carotenoid levels, and in chlorophyll fluorescence parameters in green sun and shade leaves of Ginkgo and Fagus[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164(7): 950 - 955.
- Stephen J T, Donna M R. Propagation and chlorophyll fluorescence of *Camptotheca acuminata* cuttings[J]. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2011, 5(1): 1 - 6.
- 陆景陵. 植物营养学(上册)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2010: 100 - 107.
- 柳勇, 胡承孝, 谭启玲. 施用钼肥对酸性黄棕壤上冬小麦叶片膜脂肪酸及叶细胞超微结构的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2004, 10(1): 86 - 90.
Liu Yong, Hu Chengxiao, Tan Qiling. Effects of molybdenum application on fatty acids and mesophyll cell ultrastructure of winter wheat leaves[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2004, 10(1): 86 - 90. (in Chinese)
- 陈钢, 年夫照, 徐芳森, 等. 硼、钼营养对甘蓝型油菜产量和品质影响的研究[J]. *植物营养与肥料学报*, 2005, 11(2): 243 - 247.
Chen Gang, Nian Fuzhao, Xu Fangsen, et al. Effect of boron and molybdenum on yield and quality of two rapeseed cultivars[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2005, 11(2): 243 - 247. (in Chinese)
- 施木田, 陈如凯. 锌钼营养对苦瓜产量、叶片多胺、激素含量与活性氧代谢的影响[J]. *热带亚热带植物学报*, 2004, 12(3): 247 - 251.
Shi Mutian, Chen Rukai. Effects of zinc and molybdenum nutritions on yields, polyamines, hormone contents and active oxygen metabolism in leaves of balsam pear(*Momordica charantia* cv. Zhuzhou Changbai) [J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2004, 12(3): 247 - 251. (in Chinese)
- 武丽, 张西仲, 李余湘, 等. 钼营养对烤烟干物质积累、钼素分配和利用率的影响[J]. *江西农业大学学报*, 2012, 34(3): 445 - 450.
Wu Li, Zhang Xizhong, Li Yuxiang, et al. Effects of molybdenum on the accumulation of dry matter, distribution and utilization of molybdenum of flue-cured tobacco[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2012, 34(3): 445 - 450. (in Chinese)
- 王学奎. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 134 - 136.
- 冯伟, 管涛, 王晓宇, 等. 沼液追施量对小麦叶绿素荧光动力学参数及产量的影响[J]. *华北农学报*, 2011, 26(2): 157 - 162.
Feng Wei, Guan Tao, Wang Xiaoyu, et al. Effect of topdressing amount of biogas slurry on fluorescence parameters and yield of winter wheat[J]. *Acta Agriculturae Boreali-sinica*, 2011, 26(2): 157 - 162. (in Chinese)
- 鞠正春, 于振文. 追施氮肥时期对冬小麦旗叶绿素荧光特性的影响[J]. *应用生态学报*, 2006, 17(3): 395 - 398.
Ju Zhengchun, Yu Zhenwen. Effects of nitrogen topdressing at different growth stage on chlorophyll fluorescence of winter wheat flag leaves[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(3): 395 - 398. (in Chinese)
- Lobna Z, Oharbi E. Application of chlorophyll fluorescence for the diagnosis of salt stress in tomato "*Solanum lycopersicum* (variety Rio Grande)" [J]. *Scientia Horticulturae*, 2009, 120(3): 367 - 372.
- 喻敏, 胡承孝, 王运华. 钼对冬小麦叶绿素含量变化的影响[J]. *麦类作物学报*, 2006, 26(2): 113 - 116.
Yu Min, Hu Chengxiao, Wang Yunhua. Effect of molybdenum on the catabolism of chlorophyll in winter wheat cultivars[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2006, 26(2): 113 - 116. (in Chinese)
- 秦亚光, 王留兴, 樊青霞, 等. 施钼对烤烟硝酸盐和亚硝酸盐含量的影响[J]. *河南农业科学*, 2008(7): 54 - 57.
Qin Yaguang, Wang Liuxing, Fan Qingxia, et al. Effect of Molybdenum on the nitrate and nitrite content of flue-cured tobacco[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2008(7): 54 - 57. (in Chinese)
- Farquhar G D, Sharkey T D. Stomatal conductance and photosynthesis[J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1982(33): 317 - 345.
- Abreu M E. Salicylic acid may be involved in the regulation of drought induced leaf senescence in perennials; a case study in field-grown *Salvia officinalis* plants[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2008, 64(2): 105 - 112.
- Mu H R, Jiang D, Dai T B, et al. Effect of shading on photosynthesis and chlorophyll fluorescence characters in wheat flag leaves [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(2): 599 - 606.
- 廖飞勇, 何平. SO₂ 处理对洞桐叶片光合能量传递效率的影响[J]. *广西植物*, 2004, 24(1): 86 - 90.
Liao Feiyong, He Ping. Effect of SO₂ treatment on the photosynthetic energy transfer efficiency of Dong Tong leaf[J]. *Guangxi Plant*, 2004, 24(1): 86 - 90. (in Chinese)
- 王秋姣, 廖飞勇, 唐红. 水分胁迫对花叶络石光合和荧光参数的影响[J]. *中国农学通报*, 2012, 28(19): 215 - 219.

- Wang Qiujiao, Liao Feiyong, Tang Hong. The effect of water stress on the photosynthesis and fluorescence parameters of *Trachospermum jasminoides*[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(19): 215–219. (in Chinese)
- 20 Bjokman O, Demming B. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins[J]. Planta, 1987(170): 489–504.
- 21 Sarijeva G, Knapp M, Lichtenthaler H K. Differences in photosynthetic activity, chlorophyll and carotenoid levels, and in chlorophyll fluorescence parameters in green sun and shade leaves of Ginkgo and Fagus[J]. Journal of Plant Physiology, 2007, 164(7): 950–955.
- 22 Jeong S W, Choi S M, Lee D S, et al. Differential susceptibility of photosynthesis to light-chilling stress in rice (*Oryza sativa* L.) depends on the capacity for photochemical dissipation of light[J]. Molecules and Cells, 2002, 13(3): 419–428.
- 23 Nick S W, Murray R B, Barry J P. A rapid, non-invasive procedure for quantitative assessment of drought survival using chlorophyll fluorescence[J]. Plant Methods, 2008, 4(1): 27–40.
- 24 郭卫东, 桑丹, 郑建树, 等. 缺氮对佛手气体交换、叶绿素荧光及叶绿体超微结构的影响[J]. 浙江大学学报, 2009, 35(3): 307–314.
- Guo Weidong, Sang Dan, Zheng Jianshu, et al. Effects of nitrogen deficiency on the gas exchange, chlorophyll fluorescence and chloroplast ultrastructure in fingered citron[J]. Journal of Zhejiang University, 2009, 35(3): 307–314. (in Chinese)
- 25 王跃华, 张丽霞, 孙其远. 钙过量对茶树光合特性及叶绿体超微结构的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(2): 432–438.
- Wang Yuehua, Zhang Lixia, Sun Qiyuan. Effects of excessive calcium fertilization on photosynthetic characteristics and chloroplast ultra-structure of tea tree[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2010, 16(2): 432–438. (in Chinese)
- 26 申燕, 肖家欣, 杨慧, 等. 镁胁迫对“春见”橘橙生长和矿质元素分布及叶片超微结构的影响[J]. 园艺学报, 2011, 38(5): 849–858.
- Shen Yan, Xiao Jiabin, Yang Hui, et al. Effects of magnesium stress on growth, distribution of several mineral elements and leaf ultrastructure of ‘Harumi’ tangor[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2011, 38(5): 849–858. (in Chinese)

Effects of Photosynthetic Fluorescence Parameters and Chloroplast Ultrastructure of Tobacco under Molybdenum Stress

Wu Li¹ Li Zhanghai² Ye Wenling¹ Huang Yide¹

(1. College of Agronomy, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China

2. Research Center of Tobacco and Health, University of Science and Technology of China, Hefei 230052, China)

Abstract: With the aim to investigate the physiological mechanism of tobacco response to molybdenum stress, the effect of photosynthetic pigment, gas exchange parameters, chlorophyll fluorescence parameters and chloroplast ultrastructure of tobacco were studied under molybdenum deficiency stress by the hydroponic experiment. The results showed that, compared with the control group, the photosynthetic pigment contents and net photosynthetic rate of tobacco leaves cultivated about 10 d decreased, while intercellular CO₂ concentration, stomatal conductance and transpiration rate increased. And the initial fluorescence and non-photochemical quenching coefficient (NPQ) of PS II increased, while photosynthetic electron transport rate (ETR) and the maximal photochemical efficiency decreased, but the differences between two treatments were not significant. The grana layer of the chloroplast ultrastructure under molybdenum deficiency stress expanded to deformation and loose, the number of amyloid was less and it grew worse. The most indicators between molybdenum deficiency and control tobacco cultivated about 20 d were significant. In addition to Tr, other indexes between molybdenum deficiency and control tobacco cultivated about 30 d were significant, and the chloroplast under the molybdenum deficiency stress was damaged seriously. Therefore, under the molybdenum deficiency stress, the chloroplast ultrastructure grows worse, the activity of PS II is inhibited, and the Pn decreases. With the extension of molybdenum stress time, the deficiency reaction is more obvious.

Key words: Tobacco Molybdenum stress Photosynthetic fluorescence parameters Chloroplast ultrastructure