

番茄幼苗叶绿素荧光参数对锌胁迫的响应

孙 卓, 李亚迪, 纪建伟

(沈阳农业大学 信息与电气工程学院, 辽宁 沈阳 110866)

摘 要:以番茄种子为试材,采用土壤基质培养方法,设置了不同锌处理浓度(10、50、100、150 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$),以 0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为对照,比较分析了不同浓度锌胁迫下番茄幼苗的根系生长、叶绿素含量以及叶片的叶绿素荧光变化。结果表明:锌处理浓度为 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的番茄幼苗表现出更好的增长,而高浓度的锌对植物是有害的,可能会导致植物生长发育缓慢以及叶片萎黄病;过量的锌元素使番茄幼苗的光合系统遭到破坏,这是由于锌胁迫降低了番茄幼苗总叶绿素含量,并且提高了丙二醛(MDA)含量。

关键词:番茄;锌胁迫;叶绿素荧光;叶绿素含量

中图分类号:S 641.204⁺.3 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2016)24-0041-04

锌是植物的重要营养元素之一,它能为歧化酶或乙醇脱氢酶等起到催化作用。此外,锌在细胞对抗自由基的防御系统中起着至关重要的作用,因此,锌也可以作为膜脂质、叶绿素和 SH 组蛋白等重要的细胞成分的保护剂^[1]。然而,当锌元素大量存在于植物的生长环境中时,将导致植物器官中锌浓度超出植物对于锌需求的最佳浓度,从而可能导致植物的毒性作用和代谢的紊乱^[2]。同时,过量的锌元素可以抑制植物的生长和根系的发育,可导致叶片萎黄病,也可以干扰植物离子系统的稳态,导致各种植物生理代谢过程的中断^[3]。锌浓度的超标同样也会破坏植物的光合系统^[4]。据观察,在有毒锌浓度下,植物的叶绿体和类囊体膜系统均遭到破坏。此外,锌元素能抑制 PSII 系统的电子传递,从而降低植物光合效率^[5]。

叶绿素荧光分析技术是近年来新兴的研究和探测植物光合作用及外界环境变化因子的植物活体测定和诊断技术,具有快速、无损伤的特点。叶绿素荧光有 5 个关键的荧光参数, F_0 和 F_m 是经过暗适应后的最小和最大荧光值, F_0' 和 F_m' 是最小和最大荧光值, F_s 是荧光的稳定值。其它的荧光参数都是从这 5 个参数推导出来的,比如光学淬灭 qP、非光学淬灭 NPQ、PSII 能量转换的量子效率 ΦPSII 等^[6]。

番茄原产自南美洲,目前是在我国广泛种植的蔬菜之一,番茄富含番茄红素以及其它有助于人体健康的天然化合物。在我国北方地区,温室番茄种植是高度集约型的农业生产。所以温室番茄种植会使用特殊的土壤基质和施肥技术以及水资源的二次利用,这也意味着会有重金属浓度增加风险。因此对于番茄苗期生长过程中对于锌胁迫反应的研究势在必行。该试验旨在测试叶绿素荧光分析技术作为一种非侵入性和无损性的检测工具的实用性,并探讨锌胁迫对番茄苗期生理状态的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为番茄品种“辽园多丽”,该品种是辽宁省农业科学院园艺研究所 1999 年选育成功的番茄杂交种。

1.2 试验方法

试验于 2016 年 3—5 月在沈阳农业大学农业生物信息智能检测研究所进行。将番茄种子于 2.5% NaClO_4 溶液下消毒 20 min 后用蒸馏水清洗,然后将处理后的种子置于 25 $^{\circ}\text{C}$ 黑暗恒温箱中催芽。将发芽的幼苗转移至已混有养分的 5 个长矩形花盆中,每盆 6 株,植株间距大于 10 cm 以保证植株的独立性。在第一个成长阶段的后 10 d,将调好的不同浓度的 ZnCl_2 溶液依次加入 5 组番茄生长土壤基质中,浓度分别为 0(对照组)、10、50、100、150 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。环境设置为:白天 26 $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 70%;夜晚 20 $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 90%,以每天 16 h 为一周期对番茄幼苗进行光照。在试验过程中为了避免其它胁迫对番茄幼苗的影响,利用多种测量模块(土壤湿度传感器、温湿度传感器、光强传感器与 CO_2 传感器等)以

第一作者简介:孙卓(1989-),男,硕士研究生,研究方向为农业生物环境智能化检测与控制系统。E-mail:461140401@qq.com。

责任作者:纪建伟(1963-),男,博士,教授,博士生导师,现主要从事智能化检测与自动控制技术等研究工作。

基金项目:2013 年辽宁省教育厅优秀人才支持计划资助项目(LR2013033)。

收稿日期:2016-07-20

及控制模块(荧光灯、加湿器、自动灌溉设备)来保证番茄幼苗的最佳生长环境^[7]。

1.3 项目测定

1.3.1 茎叶、根系部分的干质量及茎根比 分别选取番茄幼苗的茎叶和根系部分,将选取来的植物样本用去离子水冲洗干净后,使用吸水纸吸干水分。随后采用烘干法处理样本,即将样本在 105 ℃ 下杀青 30 min 后置于 80 ℃ 恒温箱中烘干 24 h。称取烘干后样本的干质量,计算出样品幼苗的茎根比。

1.3.2 锌含量的测定 植物样本锌含量的测定采用 HNO₃-HClO₄ 混合消化法^[8]。将烘干的番茄根系与茎叶混合取样,称取 3 份 0.5 g 的植物样本分别置于 3 个烧杯中。使用少量水将其润湿,加入混合酸 10 mL (HNO₃:HClO₄=5:1)。待化学反应结束后,将烧杯移至电炉上逐渐加热至液体全部蒸发后冷却至室温,随后加入少量去离子水再次加热。待液体冷却后用滤纸过滤固体杂质,液体导入烧杯中摇匀待测。最后利用火焰原子分光光度计(日立 Z-2000,2353-005)测定吸收值。

1.3.3 叶绿素含量的测定 采用丙醇浸提法测量叶绿素 a 和叶绿素 b 含量^[9]。并计算二者比值。

1.3.4 丙二醛(MDA)含量的测定 采用双组分分光光度计法^[10]分别测定番茄幼苗茎叶部分和根茎部分的 MDA 含量。

1.3.5 叶绿素荧光参数的测定 在 ZnCl₂ 注入后的第

表 1 不同浓度锌处理对番茄幼苗锌含量和生物量的影响

Table 1 Effects of different concentrations of Zn on Zn content and biomass of tomato seedlings

Zn 浓度/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	根系锌含量/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ DW)	茎叶锌含量/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ DW)	茎叶干质量/g	根系干质量/g	茎根比
0	39.56±9.5	9.65±0.39	0.120±0.002	0.033±0.003	3.63±0.05
10	68.21±9.1	24.12±2.14	0.129±0.009	0.036±0.001	3.58±0.18
50	231.78±10.5	60.59±5.73	0.112±0.007	0.032±0.004	3.50±0.13
100	305.90±28.6	76.59±10.74	0.094±0.005	0.029±0.004	3.24±0.10
150	465.04±39.2	94.36±9.54	0.065±0.002	0.022±0.006	2.95±0.11

注:表中数据为 3 次测定平均值±标准误差。下同。

2.2 不同浓度锌处理对植物锌含量的影响

锌胁迫处理下,番茄幼苗的根系和茎叶对锌元素进行了充分吸收。随着锌胁迫强度的增加,整个番茄幼苗的每个植物器官的锌含量随之增加。锌元素的积累首先集中于番茄幼苗的根部,因为在锌浓度为 150 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,番茄幼苗根系部分的锌含量是茎叶部分的 4.9 倍(表 1)。

2.3 不同浓度锌处理对膜脂过氧化作用的影响

丙二醛(MDA)是植物膜脂过氧化作用的产物,MDA 含量是衡量植物膜脂过氧化程度的指标^[11]。锌浓度为 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的番茄幼苗与对照组的 MDA 含量无显著差异。然而,在锌浓度较高(100、150 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)的番茄幼苗中检测到 MDA 的含量显著增加。从图 1 可知,番茄幼苗 MDA 含量在锌浓度为

10 天,利用德国 WALZ 公司生产的 MINI-PAM 调制荧光仪对各组番茄的初始荧光(F_0)、最大荧光(F_m)、原初光能转换效率(F_v/F_m)、PSII 潜在活性(F_v/F_0)、光化学淬灭系数(qP)、电子传递速率(ETR)等荧光参数进行测定。

1.4 数据分析

采用 DPS 7.05 和 Excel 软件对采集到的原始数据进行标准化处理和统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同浓度锌处理对植物生长的影响

番茄幼苗对不同浓度锌胁迫处理的反应是不同的。由表 1 可以看出,锌浓度为 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 下的番茄幼苗,无论是根系还是茎叶的生物量均显著大于对照组,这是因为受到低浓度锌胁迫处理的番茄幼苗在叶绿素生物合成的过程中可能受到了锌元素的刺激作用,由此增加了其本身的叶绿素含量,从而呈现更好的长势。另外,锌元素也能提高植物体内碳酸酐酶(CA)的活跃度,这也有助于提高植物二氧化碳的供应量,从而促进植物的生长^[2]。而锌浓度 $\geq 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的番茄幼苗的所有生长参数均受到了显著的抑制。与根系相比,番茄幼苗茎叶的生长在受到高浓度锌胁迫的影响较大。因此高浓度锌胁迫处理(100、150 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)下的番茄幼苗的茎根比大幅下降。

150 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 下达到最大值。产生该现象的原因是由于锌含量的多少会影响植物的细胞膜的过氧化作用的剧烈程度,过氧化程度越剧烈则 MDA 含量越高。

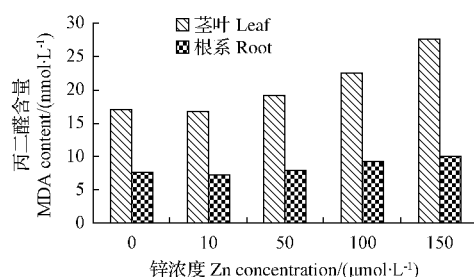


图 1 不同浓度锌处理对番茄幼苗 MDA 含量的影响

Fig. 1 Effects of different Zn concentration treatments on MDA content in roots and leaves of tomato seedlings

2.4 不同浓度锌处理对叶绿素含量的影响

从表2检测到的不同浓度锌胁迫处理下番茄幼苗的叶绿素含量及其比值的变化来看,番茄幼苗在浓度为 $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 锌胁迫下的叶绿素a和叶绿素b的含量比对照组分别增加6.9%和6.2%。锌胁迫对番茄幼苗叶绿素含量的明显抑制是从 $50\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 锌浓度的番茄幼苗开始发现的,并且随着浓度增加,变得越发明显。 $150\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度锌胁迫下番茄幼苗叶绿素a和叶绿素b含量与对照番茄幼苗相比,分别下降了33.7%和12.9%。叶绿素a和叶绿素b各自的含量变化引起了其之间比值的显著下降,尤其是锌浓度为 $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $150\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的高浓度锌胁迫下的这2组番茄幼苗更为明显。

因此可知,当锌胁迫浓度为 $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,其比值增大;浓度为50、100、 $150\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,叶绿素a与b比值呈下降趋势,即在舒适锌浓度下,叶绿素a含量相比叶绿素b含量增加较多,在高浓度锌胁迫下叶绿素a含量减少更多,这表明叶绿素a对锌胁迫的影响更为敏感。该现象与番茄茎根的变化非常类似,与根部相比,番茄植株茎叶对锌元素的浓度变化更加敏感。

表2 不同浓度锌处理对番茄叶片的叶绿素含量及其之间比值的影响

Table 2 Effect of different concentrations of Zn^{2+} on photosynthetic pigment content and pigment ratios in tomato leaf

叶绿素含量 ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)	Zn 浓度/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)				
	0	10	50	100	150
Chl a	7.13 ± 0.21	7.63 ± 0.24	6.80 ± 0.56	5.71 ± 0.66	4.73 ± 0.66
Chl b	2.41 ± 0.03	2.56 ± 0.08	2.38 ± 0.11	2.26 ± 0.11	2.10 ± 0.30
Total Chl	9.54 ± 0.29	10.19 ± 0.60	9.18 ± 0.58	7.97 ± 0.28	6.83 ± 0.29
Chl a/Chl b	2.97 ± 0.09	2.99 ± 0.16	2.83 ± 0.20	2.53 ± 0.17	2.31 ± 0.04

2.5 不同浓度锌处理对叶绿素荧光参数的影响

该试验中初始荧光 F_0 与叶绿素含量的变化趋势极为近似。从表3可知,番茄荧光参数 F_0 、 F_m 随锌胁迫浓度升高均呈先增后减的趋势。并且均在 $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的锌浓度下达到最大值,而在锌浓度为50、100、 $150\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理下明显低于对照组,在 $150\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理下与对照组相比分别下降了13.3%和52.7%。随着锌胁迫浓度升高, F_v/F_0 呈不规则下降趋势,锌胁迫处理下的各组均显著低于对照组。 F_v/F_m 在锌胁迫浓度为 $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 下与对照组无明显差异,随着锌胁迫浓度的升高,呈缓慢下降趋势。这说明低浓度锌胁迫处理($10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)已经对番茄幼苗叶绿体PSII产生了影响。这与在 $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度锌胁迫下番茄幼苗中测得的番茄生物量普遍大于对照组这一结果结果相吻合。随着锌浓度的升高,番茄幼苗叶片PSII热耗散提高,光合机构受到损害,光能转化为化学能的效率急剧下降,这可以造成番茄叶片光合速率降低,从而抑制番茄幼苗生长发育。

光化学淬灭反映的是PSII天线色素吸收的光能用于光化学电子传递的份额,要保持高的光化学淬灭就要使PSII反应中心始终处于“开放”状态,所以光化学淬灭又在一定程度上反映了PSII反应中心的开放程度^[11]。由图2可知,番茄幼苗的电子传递速率(ETR)同样随锌胁迫浓度的升高呈下降趋势,各锌处理组均显著低于对照组,分别是对照组的71.5%、78.7%、68.0%、56.5%。由图3可知,番茄幼苗叶绿素荧光参数qP随着锌胁迫浓度的升高均呈现出下降趋势。这说明锌胁迫下番茄幼苗qP值逐渐减小,PSII原初电子受体 Q_A 重新氧化成 Q_A 的量也随之减小,电子传递速率ETR降低,即PSII的电子传递活性降低,从而导致光合速率的下降。这也是番茄幼苗在高浓度锌胁迫下出现生物量急剧减少以及普遍叶萎黄病的原因。

表3 不同浓度锌处理对番茄幼苗叶绿素荧光参数的影响

Table 3 Effects of different concentrations of Zn on chlorophyll fluorescence parameters of tomato seedlings

Zn 浓度 ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	初始荧光 F_0	最大荧光 F_m	潜在光化学活性 F_v/F_0	最大光化学效率 F_v/F_m
0	445 ± 6	$2\ 473\pm65$	4.56 ± 0.054	0.82 ± 0.009
10	515 ± 19	$2\ 576\pm32$	4.01 ± 0.085	0.80 ± 0.016
50	499 ± 17	$2\ 265\pm78$	3.54 ± 0.014	0.78 ± 0.002
100	431 ± 6	$1\ 539\pm135$	2.57 ± 0.156	0.72 ± 0.021
150	386 ± 9	$1\ 169\pm62$	2.03 ± 0.062	0.67 ± 0.018

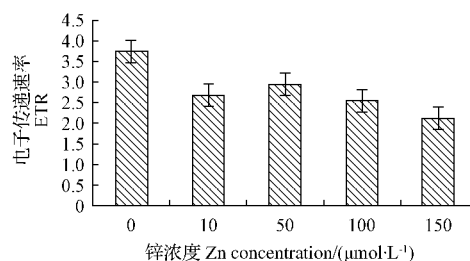


图2 不同浓度锌处理对番茄幼苗ETR的影响

Fig. 2 Effects of different Zn concentration treatments on ETR of tomato seedlings

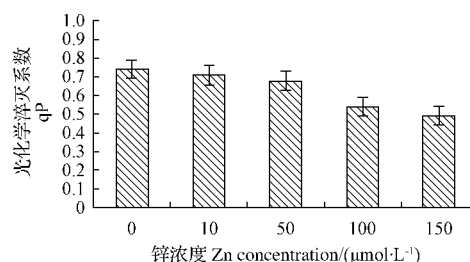


图3 不同浓度锌处理对番茄幼苗qP的影响

Fig. 3 Effects of different Zn concentration treatments on qP of tomato seedlings

3 结论与讨论

试验研究了不同浓度锌胁迫处理对番茄幼苗生长发育、叶绿素含量、MDA 含量以及叶绿素荧光参数的影响。番茄幼苗的生物量和叶绿素含量是鉴定其受锌胁迫影响程度的重要指标,其含量也可以用来反映植物的同化能力。当番茄幼苗在高浓度锌胁迫处理下会导致叶绿素结构遭到破坏,番茄幼苗的生长受到了明显的抑制,并且叶片普遍有萎黄病发生。这些毒性效应均是由锌元素在植物体内过度积累造成的。该结论与张国红等^[12]提出“当植物受到逆境胁迫时,植物叶片中的叶绿素含量以及叶绿素 a 与 b 之间的比值均会发生变化”相一致。

同时,番茄植株中所积累的过量锌元素也参与了脂质过氧化反应和破坏植物细胞膜的活动中,之所以这样判断是因为 MDA 含量有显著升高。且在番茄叶片中 MDA 的积累量相对较高,这种现象是因为番茄叶片受到过量锌胁迫的影响,使叶片气孔关闭。从而导致二氧化碳的同化作用遭到破坏,这一结果直接使作为植物光合作用重要电子接收体的 NADP⁺(烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸)的产量受到限制。NADP⁺的减少对电子从 PSI 转移到氧原子中产生了促进作用,最终形成超氧化物自由基($O_2^{\cdot-}$)和过氧化氢(H_2O_2),这是造成植物叶片严重脂质氧化的活性氧的主要来源。该结论与丁海东等^[13]提出“过量的锌元素会影响到植物中的多种细胞,使植物细胞膜的完整性遭到破坏,进而降低植物光合作用的效率”的试验结果基本相同。

张阿宏等^[14]的研究结果表明,初始荧光 F_0 主要与叶绿素浓度有关。该试验佐证了这一观点。高浓度锌胁迫(锌浓度 $\geq 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)处理导致番茄幼苗 F_m 、 F_v/F_0 、 F_v/F_m 均有不同程度的下降,这表明高浓度锌胁迫下番茄叶片的活力指数降低从而使 PSII 受到抑制,导致原初光能转化效率降低。

参考文献

- [1] VALLEE B L, AULD D S. Zinc coordination, function, and structure of zinc enzymes and other proteins[J]. *Biochemistry*, 1990, 29: 5647-5659.
- [2] 李娟, 陈杰忠, 黄永敬, 等. 锌营养在果树生理代谢中的作用研究进展[J]. *果树学报*, 2011, 28(4): 668-673.
- [3] ANDRADE S A L, GRATÃO P L, SCHIAVINATO S M A, et al. Mazzafera, Zn uptake, physiological response and stress attenuation in mycorrhizal jack bean growing in soil with increasing Zn concentrations[J]. *Chemosphere*, 2009, 75: 1363-1370.
- [4] JIANG H M, YANG J C, ZHANG J F. Effects of external phosphorus on the cell ultrastructure and the chlorophyll content of maize under cadmium and zinc stress[J]. *Environmental Pollution*, 2007, 147: 750-756.
- [5] HU H, SPARKS D. Zinc deficiency inhibits chlorophyll synthesis and gas exchange in 'stuart' pecan[J]. *HortScience*, 1991, 26(3): 267-268.
- [6] 冯建灿, 胡秀丽, 毛训甲. 叶绿素荧光动力学在研究植物逆境生理中的应用[J]. *经济林研究*, 2002, 20(4): 14-18, 30.
- [7] 李建明, 潘铜华, 王玲慧, 等. 水肥耦合对番茄光合、产量及水分利用效率的影响[J]. *农业工程学报*, 2014, 30(10): 82-90.
- [8] ZARCINAS B A, CARWRIGHT B, SPOUNCER L R. Nitric acid digestion and multi-element analysis of plant material by inductively coupled plasma spectrometry[J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 1987, 18: 131-146.
- [9] INSKEEP W P, BLOOM P R. Extinction coefficients of chlorophyll a and b in N, N-dimethylformamide and 80% acetone[J]. *Plant Physiology*, 1985, 77(2): 483-485.
- [10] HODGES D M, DELONG J M, FORNEY C F, et al. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds[J]. *Planta*, 1999, 207(4): 604-611.
- [11] SUBHASH N, MOHANAN C N. Curve-fit analysis of chlorophyll fluorescence spectra: application to nutrient stress detection in sunflower[J]. *Remote Sens Environ*, 1997, 60: 347-356.
- [12] 张国红, 睦晓蕾, 郭英华, 等. 施肥水平对日光温室番茄光合生理的影响[J]. *沈阳农业大学学报*, 2006, 37(3): 317-321.
- [13] 丁海东, 齐乃敏, 朱为民, 等. 镉/锌胁迫对番茄幼苗生长及其脯氨酸与谷胱甘肽含量的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2006, 14(2): 53-55.
- [14] 张阿宏, 齐孟文, 张晔晖. 调制叶绿素荧光动力学参数及其计量关系的意义和公理化讨论[J]. *核农学报*, 2008, 22(6): 909-912.

Response of Chlorophyll Fluorescence Parameters of Tomato Seedlings to Zn Stress

SUN Zhuo, LI Yadi, JI Jianwei

(College of Information and Electrical Engineering, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110866)

Abstract: The tomato seeds were used as the test materials, by using soil culture method, different levels of Zn concentrations ($10, 50, 100, 150 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) were set, compared with $0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, four groups of tomato seedling root growth, chlorophyll content and the change of chlorophyll fluorescence in leaf under Zn stress were analyzed. The results showed that, the tomato seedlings would be better when the Zn concentration was $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. While the high concentrations of Zn was harmful to plants, which might lead to slow growth and development of plants and the leaf chlorosis. At the same time, Zn excess would make the photosynthetic system of tomato seedlings be destroyed, which was because of the reducing of total chlorophyll content in tomato seedlings caused by Zn stress, and the content of MDA also increased.

Keywords: tomato; Zn stress; chlorophyll fluorescence; chlorophyll content