

# 冬季小麦叶片光合作用对温度响应方式的变化

江 华<sup>1</sup> 师生波<sup>2</sup> 许大全<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>中国科学院上海植物生理研究所, 上海 200032; <sup>2</sup>中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

**摘要:** 冬季田间生长的小麦离体叶片净光合速率 ( $P_n$ ) 对温度的响应有两种方式。在 12 月上旬可以观测到第一种方式。在离体叶片周围空气温度从 10 逐步升到 30 后的 1 h 内  $P_n$  逐渐升高, 在随后气温逐步降低到 10 的过程中,  $P_n$  都比先前升温过程中同样温度下的数值高。30 下叶片胞间  $CO_2$  浓度 ( $C_i$ ) 降低和叶片无机磷含量增高表明, 这种响应方式可能起因于一些光合碳同化酶活性的增高。在 12 月中旬以后可以观测到第二种方式。 $P_n$  在 30 下的 1 h 内逐步下降, 在随后的降温过程中  $P_n$  都比升温过程中同样温度下的数值低。30 下叶片  $C_i$  和膜透性增高表明, 这种响应方式可能是适应冬季低温的光合机构膜系统在高温下遭受破坏的结果。

**关键词:** 净光合速率, 低温适应, 温度响应, 胞间  $CO_2$  浓度, 磷限制, 膜透性, 小麦  
学科分类号: Q945

温度是影响植物地理分布和光合生产力的一个主要环境因素。植物在其一生中往往经历昼夜的和季节的温度变化。关于植物光合作用对环境温度变化的响应与适应, 已有大量的研究报告与综述(例如 Falk 等 1996)。在短期(几小时至几天内)低温(非致死的)条件下, 光合作用由于其酶反应受限制而遭受可逆抑制(Sassenrath 和 Ort 1990), 并且由于遭受磷限制使光合碳同化表现出对氧浓度变化的不敏感性(Leegood 1985)。在长期(几周乃至数月)低温条件下, 耐寒植物和冬季作物能通过提高一些参与光合碳同化的酶的活性而提高光合能力(Berry 和 Björkman 1980, Huner 等 1993, Hurry 等 1994, Martindale 和 Leegood 1997), 光合作用的最适温度会向低温迁移, 表现出明显的季节变化(贺东祥和沈允钢 1995)。至于田间生长的耐寒植物在经历冬季低温的过程中叶片光合速率对温度响应方式的变化, 还未见报告。我们在观测田间生长的冬小麦离体叶片光合作用对温度响应的过程中, 发现在冬季的不同时期叶片光合作用对温度的响应表现出两种不同方式。第一种方式(12 月上旬): 在叶片周围空气温度从 10 逐步升到 30 后的 1 h 内,  $P_n$  逐渐升高, 在以后逐步降低到 10 的过程中,  $P_n$  都比升温过程中同样温度下的数值高; 第二

种方式(12 月中旬以后):  $P_n$  在 30 下的 1 h 内逐步下降, 在以后的降温过程中  $P_n$  都比升温过程中同样温度下的数值低。在这里报告的研究中, 探讨了不同响应方式的形成机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料

小麦 (*Triticum aestivum*) 高原 338 于 10 月初播种于上海植物生理研究所院内实验地。生长期间注意水、肥管理以避免水分和营养胁迫的发生。12 月到 1 月期间, 最高日温 10~15; 最低夜温 0~5, 有时夜温低于 0。此外, 为了观察人工低温处理后小麦叶片光合速率对温度响应的变化, 还于 12 月底在上海植物生理研究所人工气候室内播种盆栽小麦(每盆 7~8 株)。生长条件: 温度 25 / 20 (日/夜), 光合有效辐射的量子通量密度 200~250  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , 每天光、暗各为 12 h。实验选用完全展开但尚未衰老的叶片。

### 1.2 离体叶片净光合速率 ( $P_n$ ) 对温度响应的测定

采用 ADC-225-MK3  $CO_2$  红外气体分析仪(英国 ADC 公司制造), 用开放式气路以差分法测定离体叶片的  $P_n$ 。于水下剪取小麦叶片, 将下端切口置于盛水的小瓶内, 并用橡皮泥密封瓶口。然后将小瓶放入圆柱形叶室的底部。叶室置于水浴中, 通过恒温水浴控制叶室温度。气源为普通空气( $CO_2$  浓度约为 380  $\mu\text{mol/mol}$ ), 实验前从室外将空气泵入一个双层塑料薄膜气袋以确保测定期间空气  $CO_2$  浓度及相对湿度的恒定。光源为一只 50 W 的冷光投光灯, 通过调节灯与叶室之间的距离以改变到达叶表面的光强。在整个测定过程中, 光强始终控制在小麦叶片光合作用的饱和光量子通量密度 1 000  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  左右。叶室内安装温、湿度探头, 以便同时测定空气温度 ( $T_a$ ) 和相对湿度 (RH)。叶片在 10 下结束光合诱导期(1~2 h)后, 以 5

1999-03-16 收到, 1999-07-13 接受。

国家自然科学基金重点项目 (No. 39730040) 和国家重点基础研究规划项目 (No. G1998010100) 资助。

\* 通讯联系人。

的变化幅度逐步升高到 30 ℃,每一温度下至少停留 15 min,记录 Ta、RH 和空气流经叶室前后的 CO<sub>2</sub> 浓度差。在 30 ℃ 停留 1 h 以观察 CO<sub>2</sub> 浓度差、Ta 和 RH 随时间的变化,每 5 min 记录一次。随后以同样的步幅将温度从 30 ℃ 逐步降低到 10 ℃,每一温度下同样至少停留 15 min,记录上述各项数据。空气 CO<sub>2</sub> 浓度 (Ca)、Ta 和 RH 等参数由该系统直接测得,而 Pn、气孔导度 (Gs) 和胞间 CO<sub>2</sub> 浓度 (Ci) 等参数则通过计算得到。

为了重复并深入研究我们发现的田间小麦叶片光合速率对温度响应方式的变化,我们还用人工气候室内生长的盆栽小麦进行了模拟实验。于冬季将生长于人工气候室内的盆栽小麦移至室外,空气温度约为 0~10 ℃。几天后,剪取叶片按上述程序测定 Pn 对温度的响应。

取田间生长的小麦叶片,在 Pn 对温度响应测定过程中的升温阶段 25 ℃ 停留 15 min 后和于 30 ℃ 停留 1 h 后进行以下的测定。

### 1.3 叶片无机磷 (Pi) 含量的测定

叶片在结束温度响应处理后立即投入液氮,然后将冷冻叶片用匀浆器在含三氯乙酸的 SIN 缓冲液 (含 0.4 mol/L 的蔗糖; 50 mmol/L 的 Tris, pH 7.8; 10 mmol/L 的 NaCl) 中研磨成匀浆,以 1 500 ×g 离心 2 min,取上清液再以 7 000 ×g 离心 2 min,取上清液 0.5 ml 用钼酸铵试剂显色,在 660 nm 测 OD 值 (黄卓辉 1985)。

### 1.4 叶片膜透性的测定

参照 Yang 等 (1996) 的方法。使用 DDS-11A 型电导率仪 (上海雷磁仪器厂制造) 测定溶液的电导率。用打孔器将经过温度响应处理的叶片和未经处理的对照叶片分别打成直径为 5.5 mm 的叶圆片,立即各取 5 片放入 3 ml 重蒸水中。对照叶圆片分成甲乙两组,每组设 3 个重复。甲组样品震荡约 3 s 后,测定溶液电导率 (EC<sub>0</sub>),这一测定值是叶片经打孔器打成叶圆片后从叶片切口释放出的电解质的电导率;乙组样品放入沸水浴 15 min 后,取出冷却到室温后测定溶液电导率 (EC<sub>2</sub>),这一杀死对照的电导率代表质膜完全破坏以至电解质全部渗出的情况。经温度响应处理的叶圆片在抽真空后于 25 ℃ 水浴放置 2 h,然后测定浸出液电导率 (EC<sub>1</sub>)。用下式计算相对膜透性:相对膜透性 (%) = [(EC<sub>1</sub> - EC<sub>0</sub>) / (EC<sub>2</sub> - EC<sub>0</sub>)] × 100。

## 2 结果

### 2.1 冬季不同时期小麦离体叶片净光合速率对温度响应的两种不同方式

离体叶片结束光合诱导期后,在温度上升到 15 ℃ 以前,叶片的 Pn 随着温度的增高而升高,之后 Pn 随温度升高而降低。在 30 ℃ 下停留 1 h 后逐步降温,叶片光合速率对温度的响应有两种不同的方式。其一如图 1 所示,从 30 ℃ 开始的降温阶段的温度响应曲线 (实心圆符号) 位于升温阶段的温度响应曲线 (空心圆符号) 上方。其二如图 2 所示,降温阶段的温度响应曲线位于升温阶段温度响应曲线的下方。这两种响应方式的差异还表现在 30 ℃ 下 Pn 随时间变化的方向上。第一种方式, Pn 随 30 ℃ 下时间的延长而升高;第二种方式, Pn 随 30 ℃ 下时间的延长而下降 (图 3)。初冬田间生长的小麦离体叶片 Pn 对温度的响应总是表现为第一种方式。我们于 1995~1998 年 4 年的 12 月上、中旬先后 17 次观测到小麦离体叶片的这种在较高温度下光合速率先下降后升高的有趣现象。然而,在 12 月中旬以后,这种现象逐渐变得不明显以至后来转变为第二种方式。

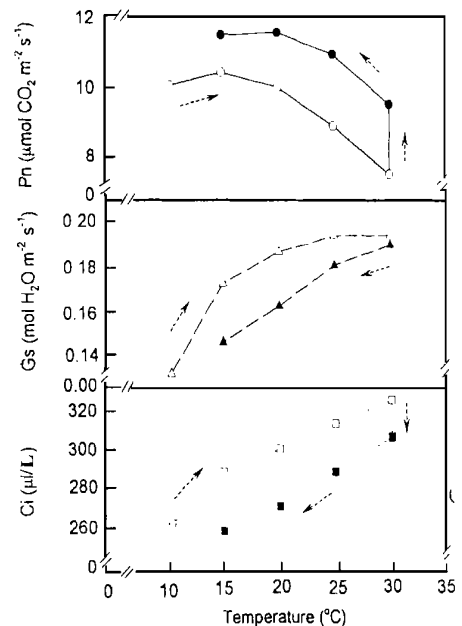


图 1 初冬田间生长的小麦离体叶片净光合速率 (Pn)、气孔导度 (Gs) 和胞间 CO<sub>2</sub> 浓度 (Ci) 对温度的响应

Fig. 1 Responses of net photosynthetic rate (Pn), stomatal conductance (Gs) and intercellular CO<sub>2</sub> concentration (Ci) to temperature in a detached leaf of wheat grown in the field at the beginning of winter (measured on Dec. 12, 1997)

The arrows used in the figure indicate the process of measurement.

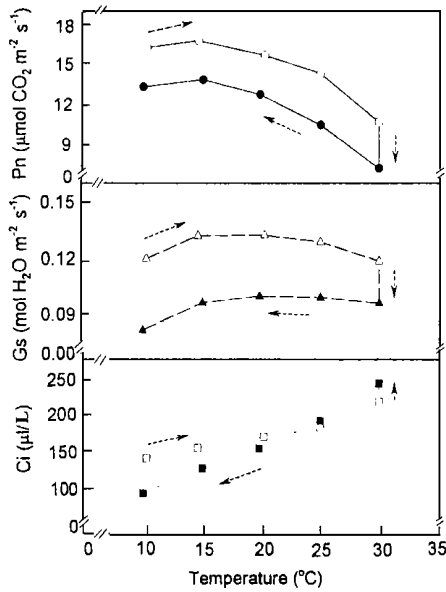


图 2 12 月中旬以后田间生长的小麦离体叶片净光合速率 (Pn)、气孔导度 (Gs) 和胞间  $\text{CO}_2$  浓度 (Ci) 对温度的响应

**Fig. 2** Responses of net photosynthetic rate (Pn), stomatal conductance (Gs) and intercellular  $\text{CO}_2$  concentration (Ci) to temperature in a detached leaf of wheat grown in the field after the middle of December (measured on Jan. 4, 1998)

The arrows used in the figure indicate the process of measurement.

## 2.2 小麦叶片净光合速率温度响应的模拟

于冬季将人工气候室内生长的小麦移至室外低温环境下,在移出后的 5 d 内可观测到第一种方式的温度响应;5 d 后,只能观测到第二种方式的温度响应(结果未列出)。

表 1 冬季田间生长的小麦离体叶片在光合作用对温度响应期间无机磷 (Pi) 含量 ( $\mu\text{mol Pi}/\text{cm}^2$ ) 和叶片相对膜透性的变化

**Table 1** Changes in Pi content ( $\mu\text{mol Pi}/\text{cm}^2$ ) and relative membrane permeability in detached leaves of wheat grown in the field in winter during response of photosynthesis to temperature

	Before the middle of Dec.			After the middle of Dec.		
	25	30	Change (%)	25	30	Change (%)
Pi content	0.184(0.011)	0.228** (0.016)	+24.3	0.106(0.025)	0.124(0.026)	+17.7
Relative membrane permeability	18.5(1.3)	18.8(2.8)	+1.36	18.9(2.6)	22.6** (1.8)	+20.3

Level of significance (30 vs. 25): \*\*,  $p < 0.01$ . Each value in the table represents the mean of 4~6 (for Pi contents) or 5~8 (for relative membrane permeability) repeats with SD in parentheses.

## 2.4 叶片膜透性的变化

初冬小麦离体叶片在 30 处理 1 h (可观测到 Pn 逐步上升) 后和 25 时相比,相对膜透性没有发生明显的变化;但是,在 12 月中旬以后,小麦

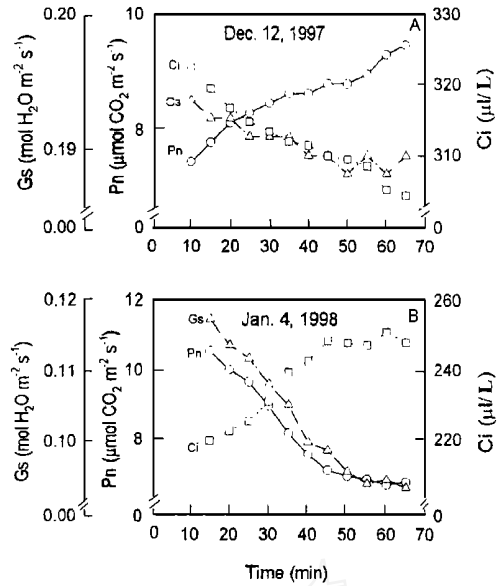


图 3 田间生长的小麦离体叶片在温度响应过程中 30 下 60 min 内净光合速率 (Pn)、气孔导度 (Gs) 和胞间  $\text{CO}_2$  浓度 (Ci) 的变化

**Fig. 3** Changes in net photosynthetic rate (Pn), stomatal conductance (Gs) and intercellular  $\text{CO}_2$  concentration (Ci) within 60 min at 30 during response to temperature in a detached leaf of wheat grown in the field

## 2.3 叶片无机磷含量的变化

初冬 (12 月中旬以前) 田间生长的小麦叶片在 30 下的 1 h 内 Pn 上升,同时叶片 Pi 含量比 25 下的叶片上升约 24%,差异达极显著水平;12 月中旬以后,田间生长的小麦叶片在 30 下的 1 h 内 Pn 下降,虽然这时仍可观测到叶片 Pi 含量的增高,但差异未达显著水平(表 1)。

离体叶片在 30 处理 1 h (导致 Pn 逐步下降) 结束后,叶片的相对膜透性比在 25 时升高了约 20%,统计分析结果表明,差异达极显著水平(表 1)。

### 3 讨论

#### 3.1 两种温度响应方式的时间界限

冬季小麦离体叶片在较高温度(30℃)下 Pn 先下降后上升的现象即第一种响应方式的发生有一定的时间界限。我们在 1995~1998 连续 4 年的 12 月上、中旬的 10 余天内都观测到了这种响应方式。但是,在 12 月中旬特别是 1 月份以后,当小麦在低温环境下生长较长时间后,便只能观察到另一种即第二种方式的温度响应。我们推测,这是由于小麦叶片在低温环境下已经发生了适应性的变化,可能导致了光合机构在较高温度下热稳定性的降低。Qvist 和 Martin (1986) 曾指出,不同物种对温度的适应需要不同时间,范围从大约 12 h 到数周。Sawada 和 Miyachi (1974) 报告,小麦属 (*Triticum*) 植物对温度的适应需要几天时间。我们的观测结果基本上同他们的一致:秋冬季一直在田间生长的小麦大约需要 1~2 周(具体的时间长短可能与冬季低温的程度和低温来临的速度有关),而那些在室内较高温度(日/夜:25/20℃)下生长然后突然转移到室外冬季低温(0~10℃)条件下的小麦则只需要 5 d 便可适应。

#### 3.2 两种温度响应方式主要源于非气孔因素

我们发现的冬季不同时期田间小麦离体叶片光合温度响应的两种方式不能用气孔因素的变化来解释。按照 Farquhar 和 Sharkey (1982) 的分析,胞间 CO<sub>2</sub> 浓度 (C<sub>i</sub>) 是判断光合速率变化的主要原因是否是气孔因素的重要依据。在第一种响应方式中,升温阶段光合速率的降低伴随着 G<sub>s</sub> 和 C<sub>i</sub> 的增高,而后来降温阶段光合速率的增高则伴随着 G<sub>s</sub> 和 C<sub>i</sub> 的降低(图 1),在 30℃ 下的 1 h 内,光合速率的增高也伴随着 G<sub>s</sub> 和 C<sub>i</sub> 的降低(图 3A)。这些事实表明,在第一种响应方式中,光合速率的变化不是气孔导度变化的结果。在第二种响应方式中,升温阶段光合速率和 G<sub>s</sub> 的降低伴随着 C<sub>i</sub> 的明显增高,在后来的降温阶段光合速率的增高也伴随着 C<sub>i</sub> 的急剧降低(图 2),并且,在 30℃ 下的 1 h 内,光合速率和 G<sub>s</sub> 的降低却伴随着 C<sub>i</sub> 的明显增高(图 3B)。这些事实也表明,在第二种响应方式中,光合速率的变化源于非气孔因素。

#### 3.3 无机磷水平和碳同化酶活力的变化是形成第一种响应方式的决定因素

参与光合碳同化的酶类,如 Rubisco 和蔗糖磷

酸合成酶等,在短期低温下活性受到抑制,表现为 Pn 的可逆下调。转入较高温度下之后,酶活性的抑制被解除 (Sassenrath 和 Ort 1990)。然而,在短期低温条件下,光合作用不仅因碳同化酶活力的降低而受抑制,而且还受 Pi 不足的限制而降低 (Falk 等 1996)。由于低温条件下蔗糖合成受抑制,导致磷酸化中间产物的累积和随之而来的细胞质内 Pi 水平的降低,这些最终引起光合作用的降低 (Sharkey 1985, Stitt 等 1987)。在较高温度下,光合作用的关键酶 Rubisco 和参与蔗糖合成的酶等的活性都会增加,促进 Pi 的释放,同时光呼吸的增强也能加速 Pi 释放 (Gao 等 1989),从而减轻 Pi 不足对光合作用的限制,结果导致光合速率的增高。初冬田间生长的小麦离体叶片在温度响应过程中于 30℃ 下的 1 h 内光合速率的逐步增高伴随 C<sub>i</sub> 的降低(图 3)和 30℃ 下比 25℃ 下叶片 Pi 含量明显增高的结果(表 1)都说明了这一点。所以,酶活性抑制的解除和叶片中 Pi 水平的提高,是产生 30℃ 下 Pn 逐步上升并在随后的降温过程中较先前升温阶段同一温度下的数值高这一现象的两个决定性的因素。

#### 3.4 高温对光合机构膜系统的伤害是第二种响应方式的根本原因

12 月中旬特别是 1 月份以后,田间小麦的离体叶片在温度升到 30℃ 后,即使只在该温度下停留 15 min, Pn 也会大幅度下降,并在随后的降温阶段 Pn 不能恢复到原来升温过程中同样温度下的数值,从而不再表现出第一种方式的温度响应。表明高温对叶片的光合作用产生了不可逆的抑制。这很可能是适应了低温环境的植物对高温的抗性降低的结果 (Berry 和 Björkman 1980, Qvist 和 Martin 1986)。在这种情况下,30℃ 已属高温,很可能对光合机构造成了不可逆的伤害。初冬小麦离体叶片对温度响应过程中,30℃ 处理后叶片的相对膜透性和 25℃ 时基本一样,而在 12 月中旬以后表现为第二种温度响应方式的小麦叶片,30℃ 处理后相对膜透性比 25℃ 时显著增高(表 1)的结果支持这个推论。在一定的温度范围内,很可能类囊体膜而非可溶性蛋白的热稳定性,是高温条件下光合作用受到不可逆抑制的主要原因 (Falk 等 1996)。

综上所述,我们认为,初冬田间小麦离体叶片光合作用的第一种温度响应方式是遭受低温可逆抑制的光合功能在较高温度下得以恢复的反映,而第二种温度响应方式则是已适应冬季低温的光合

机构在较高温度(30 )下膜系统受到伤害的结果。

致谢:沈允钢先生和王天铎先生对该文提出宝贵意见。

### 参 考 文 献

- 黄卓辉 (1985). 叶绿体耦联因子腺苷三磷酸酶(ATPase)活力的测定. 见:上海植物生理学会编. 植物生理学实验手册. 上海:上海科学技术出版社, 111~115
- Berry JA, Björkman O (1980). Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol*, **31**: 491~543
- Falk S, Maxwell DP, Laudenbach DE, Huner NPA (1996). Photosynthetic adjustment to temperature. In: Baker NR (ed). *Photosynthesis and the Environment*. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 367~385
- Farquhar SP, Sharkey TD (1982). Stomatal conductance and photosynthesis. *Annu Rev Plant Physiol*, **33**: 317~345
- Gao S-J, Chen Sh-Sh, Li M-Q (1989). Effects of phosphorus nutrition on photosynthesis and photorespiration in tobacco leaves. *Acta Phytophysiol Sin*, **15**: 281~287
- He D-X (贺东祥), Shen Y-G (沈允钢) (1995). Seasonal changes of photosynthetic characteristics of four evergreen plants. *Acta Phytophysiol Sin* (植物生理学报), **21**: 1~7 (in Chinese)
- Huner NPA, Öquist G, Hury VM, Krol M, Falk S, Griffith M (1993). Photosynthesis, photoinhibition and low temperature acclimation in cold tolerant plant. *Photosynth Res*, **37**: 19~39
- Hury VM, Malmberg G, Gardstrom P, Öquist G (1994). Effects of a short-term shift to low temperature and of long-term cold hardening on photosynthesis and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and sucrose phosphate synthase activity in leaves of winter rye (*Secale cereale* L.). *Plant Physiol*, **106**: 983~990
- Leegood RC (1985). Regulation of photosynthetic CO<sub>2</sub>-pathway enzymes by light and other factors. *Photosynth Res*, **6**: 247~259
- Martindale W, Leegood RC (1997). Acclimation of photosynthesis to low temperature in *Spinacia oleracea* L. I. Effects of acclimation on CO<sub>2</sub> assimilation and carbon partitioning. *J Exp Bot*, **48**: 1865~1872
- Öquist G, Martin B (1986). Cold climates. In: Baker NR, Long SP (eds). *Photosynthesis in Contrasting Environments*. New York: Elsevier, 237~293
- Sassenrath GF, Ort DR (1990). The relationship between inhibition of photosynthesis at low temperature and the inhibition of photosynthesis after rewarming in chill-sensitive tomato. *Plant Physiol Biochem*, **28**: 457~465
- Sawada S, Miyachi S (1974). Effect of growth temperature on photosynthetic carbon metabolism in green plants. I. Photosynthetic activities of various plants acclimatized to varied temperatures. *Plant Cell Physiol*, **15**: 111~120
- Sharkey TD (1985). Photosynthesis in intact leaves of C<sub>3</sub> plants: physics, physiology and rate limitations. *Bot Rev*, **51**: 53~105
- Stitt M, Huber S, Kerr P (1987). Control of photosynthetic sucrose formation. In: Hatch MD, Boardman NK (eds). *The Biochemistry of Plants, Photosynthesis*. New York: Academic Press, 327~409
- Yang G, Rhodes D, Joly RJ (1996). Effects of high temperature on membrane stability and chlorophyll fluorescence in glycinebetaine-deficient and glycinebetaine-containing maize lines. *Aust J Plant Physiol*, **23**: 437~443

## Change in the Pattern of Photosynthetic Response to Temperature in Wheat Leaves in Winter

JIANG Hua<sup>1</sup> SHI Sheng-Bo<sup>2</sup> XU Da-Quan<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Shanghai Institute of Plant Physiology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032; <sup>2</sup> Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001)

**Abstract:** There were two patterns of the response of net photosynthetic rate ( $P_n$ ) to temperature in detached leaves of wheat grown in the field in winter. One pattern was observed at the beginning of December. After the air temperature around leaves was shifted from 10 to 30 by 5 steps,  $P_n$  increased gradually with time at 30. And when the air temperature was decreased by the same steps to 10, the values of  $P_n$  were higher than those measured at the same temperatures during the process of increasing temperature (Fig. 1). The first pattern probably originates from an enhancement of the activities of some enzymes involved in the photosynthetic carbon assimilation, as shown by both the decrease of intercellular  $\text{CO}_2$  concentration ( $C_i$ ) (Fig. 3A) and the increase in phosphate content

( $P_i$ ) (Table 1) in detached leave at 30. Another pattern was observed after the middle of December. In contrast to the first pattern,  $P_n$  decreased gradually with time at 30 and the values of  $P_n$  measured in the subsequent process of lowering temperature were lower than those measured at the same temperature in the process of increasing temperature (Fig. 2). The increases in both  $C_i$  (Fig. 3B) and the membrane permeability (Table 1) observed at 30 indicate that the second pattern is likely a result of injury caused by high temperature to the membrane system of the photosynthetic apparatus acclimated to low temperatures in winter.

**Key words:** net photosynthetic rate, acclimation to low temperature, response to temperature, intercellular  $\text{CO}_2$  concentration, phosphate limitation, membrane permeability, wheat