分类号： 密 级：公 开

学 号：2009207001 单位代码：10759

**石河子大学**

**博** 士 学 位 论 文



棉花非叶绿色器官光合特性及对水分亏缺 的适应机制

|  |  |
| --- | --- |
| 学 位 申 请 人 | **胡渊渊** |
| 指 导 教 师 | **张旺锋** **教授** |
|  | **Wah Soon Chow 教授** |
| 申请学位门类级别 | **农 学 博 士** |
| 学 科 、 专 业 名 称 | **作物栽培学与耕作学** |
| 研 究 方 向 | **作物产量与品质生理生态** |
| 所 在 学 院 | **农 学 院** |

中国·新疆·石河子

2013 年 6 月

**Photosynthetic characteristics and strategies of acclimation of non-foliar organs in cotton (*Gossypium* spp.) respond to water deficit**

A Dissertation Submitted to

**Shihezi University**

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

Doctor of Agriculture

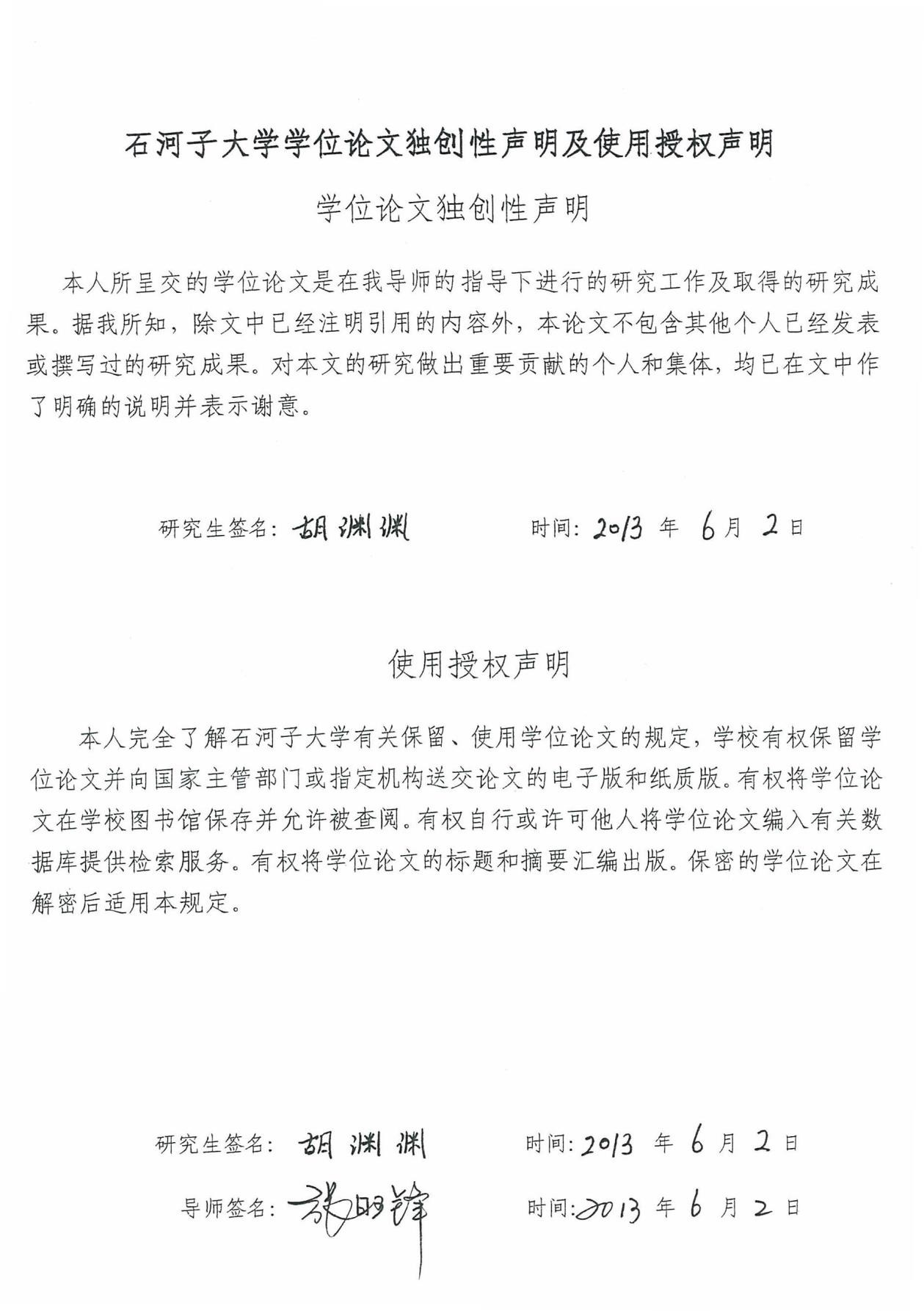
By HuYuanyuan

**（Crop Cultivation and Farming System）**

Dissertation Supervisor: Prof. Zhang Wangfeng

Prof. Wah Soon Chow

June，2013



摘 要

作物叶片通常被认为是主要光合器官，但许多作物的非叶绿色器官或组织，也能形成或含有叶绿素，并具有实际或潜在的光合能力，对产量形成具有一定的贡献。随着作物产量水平的提高，进一步增加单产的难度加大。重视作物非叶绿色器官的光合能力，提高作物整体光能利用效率，对作物生产水平的提高具有重要意义。本研究从棉花非叶绿色器官光合作用对产量形成的贡献、叶片和非叶绿色器官光合特性差异、水分亏缺条件下非叶绿色器官的光合生理适应性等3个方面入手，较系统的研究了棉花产量形成期各绿色器官的光合特性，揭示了非叶绿色器官光合作用对棉花产量形成的重要作用，明确了棉花不同非叶绿色器官光合作用及光保护机制，探讨了水分亏缺下棉花不同绿色器官光合作用的适应性。研究结果对进一步挖掘棉花光合物质生产潜力，提高单产奠定了理论基础，为棉花高产栽培及抗逆品种选育提供了理论依据。

1．研究了棉花不同生育时期叶片、主茎秆、苞叶和铃壳的光合面积、光合放氧能力和光合关键酶活性的变化，揭示了棉花各绿色器官光合作用对产量的相对贡献率。在棉花生育后期，叶片开始衰老，非叶绿色器官的光合面积增加至整体植株的38.2%；苞叶和铃壳的光合放氧能力和光合关键酶活性的下降幅度均低于叶片。结合各器官光合面积及其光合放氧能力，估算出各绿色器官光合对植株整体产量的相对贡献率，其中棉花生育后期茎杆和果实（铃壳和苞叶）对植株整体的相对贡献率分别达12.7%和23.7%；棉铃和茎杆对铃重的相对贡献率分别为24.1%和9%。因此，棉花生育后期非叶绿色器官的光合作用对其产量形成具有重要的作用。

2．研究了不同棉花品种（杂交种）非叶绿色器官的光合作用特性，阐明了杂交棉超高产形成的生理机理。研究表明，开花后5-15天，2个杂交棉新陆早43号和石杂2号叶片的光放氧能力较常规品种新陆早33号高，盛花期干物质积累速率快；随开花后天数的延长，石杂2号各绿色器官光合性能均表现出明显的下降趋势；3个不同品种（杂交种）间茎秆单位面积的光合放氧速率无显著差异，2个杂交棉生育后期茎秆具有较高的群体光合速率主要是由于株高及茎秆光合面积较高所致；与常规品种新陆早33号相比，2个杂交棉铃壳具有较高的群体光合速率，且在生育后期仍能维持较稳定的值，与杂交棉单株结铃较多、铃壳总光合面积较大有关，这是杂交棉新陆早43号和石杂2号生育后期仍能保持较高光合能力的重要原因。

3．由于棉铃具有较高的呼吸速率，在苞叶和棉铃之间形成一个高浓度CO2的微环境。本研究揭示了棉花苞叶适应高浓度CO2微环境的生理机制。测定结果表明，光照下棉铃（苞叶和铃）的胞间CO2浓度是500-1300μmol·mol-1。推理认为这种高浓度CO2微环境早在110万年前四倍体棉花出现时就存在。因此，推测认为棉花苞叶具有适应高浓度CO2微环境的能力，并从棉花叶片、苞叶的形态和生理等方面来检验所提出的这个假说。结果表明，与叶片相比，较低气孔导度的苞叶具有较高的瞬时水分利用效率；气体交换和蛋白组分分析均表明苞叶具有较高的*Jmax*/*Vcmax*比率和Rieske FeS/Rubisco比值。

这些结果均与理论上提出的植物适应高浓度CO2的机制一致，这表明苞叶可作为研究植物适应高浓度CO2的材料。

4．PSII的光失活可导致植物光化学效率下降，产量降低。植物体形成了多种保护机制来保护PSII免受光失活，然而有关非叶绿色器官光保护机制的研究较少。本文研究了棉花叶片、苞叶、主茎秆和铃壳的光保护机制，结果表明，苞叶具有较低的抗氧化酶活性，较高的ΔpH-叶黄素循环热耗散（ΦNPQ）；主茎秆则倾向于通过依赖光和非依赖光的光化学耗散及较好的抗氧化酶体系；铃壳主要是通过其非常强的抗氧化酶体系和丰富的类胡萝卜素含量来进行热耗散，因为它具有较低的ΦNPQ。因此，棉花各绿色器官具有不同的光保护机制。

5．本研究提出了一种采用P700氧化还原动力学原理非损伤测定棉花叶片的光失活速率常数（*ki*）和修复速率常数（*kr*）的新方法。P700氧化还原动力学面积与气相氧电极所测得的单闪脉冲的放氧量呈线型相关，表明该方法可以精确测定功能性的PSII的相对含量。采用此方法，研究了棉花叶片不同轴面接触溶液（封闭气孔效应）条件下*ki*和*kr*的变化规律。结果表明，*ki*与光强有关，远轴面朝向水溶液的棉花叶片*ki*略高些。黑暗中两种方式放置的棉花叶片*kr*相差不大。当近轴面朝向水溶液时其*kr*由光强决定。当远轴面朝向水溶液时，在中度光强下*kr*达到峰值，而在高光强下*kr*减小。当近轴面朝向水溶液时，其*kr*在弱光下先增强，此后平缓增加，高光强下*kr*显著增加。高光强下，近、远轴面分别朝向水溶液叶片之间的*kr*存在很大差异，这可能是由于不同程度的氧胁迫导致的修复速率常数不一致。P700氧化还原动力学测定方法能快速、无损伤地测定棉花圆叶片的功能性PSII的相对含量，对研究棉花叶片光合能力差异及其内在机制具有重要意义，为未来通过P700氧化还原动力学方法深入分析棉花非叶绿色器官的光合能力差异及其内在机制提供了重要的技术支撑。

6．水分亏缺是导致作物产量降低的重要因素。研究了水分亏缺对棉花各绿色器官光合生理变化的影响机制，包括各绿色器官水分状况、光合速率、RuBPC活性及保护酶活性的变化等。水分亏缺严重降低了棉花各绿色器官的光合面积，但非叶绿色器官的下降幅度相对较小；随棉铃的发育，水分亏缺下棉花非叶绿色器官（苞叶和铃壳）的光合放氧速率、RuBPC和抗氧化酶活性的下降幅度均较叶片小，棉花非叶绿色器官的光合作用对棉株生物量积累的相对贡献率增加。

关键词：棉花；非叶绿色器官；叶片；光合作用；产量；水分亏缺；抗逆机制 **论文类型：B；** （应用研究）

Abstract

Although leaf was considered as the main photosynthetic organ, many parts of crop such as non-foliar organs which contain chlorophyll can also performance photosynthesis, contributing to carbon acquisition and yield. This research was conducted from three perspectives: 1) changes in photosynthetic capacity of non-foliar organs in cotton and relative contribution to yield during growth stages; 2) differences in photosynthesis charactertics of non-foliar organs in cotton and 3) the photosynthetic adaptations of green organs in cotton respond to water stress. On the basis of the three points above, photosynthetic charactertics, relative contribution to its yield and adaptation respond to water stress of non-foliar organs in cotton were studied to elucidate a) the changes in photosynthetic rate of green organs in cotton during growth stages and the important photosynthetic contribution of non-foliar organ to yield formation especially at later growth stage, b) differences in photosynthesis charactertic and photoprotection mechanism of non-foliar organ, and c) effects of water deficit on physiological process and the relative contribution of each organ to yield in cotton was explored. This research may help to increase the potential of photosynthate production, thereby improving cotton yield. Additionally, the results obtained can provide theoretical basis for high-yielding cotton production and drought- tolerant cotton breeding. Below are the main results in this thesis:

1. The relative photosynthetic contribution of leaves, main stem, bracts and capsule walls in cotton was revealed by measuring their time-course of surface area development, O2 evolution capacity and photosynthetic enzyme activity. Because of the early senescence of leaves, non-foliar organs increased their surface area up to 38.2% of total at late growth stage. Bracts and capsule wall showed less ontogenetic decrease in O2 evolution capacity per area and photosynthetic enzyme activity than leaves at the late growth stage. The total capacity for O2 evolution of stalks and bolls (bracts plus capsule wall) was 12.7% and 23.7%, respectively, as estimated by multiplying their surface area by their O2 evolution capacity per area. We also kept the bolls (from 15 days after anthesis) or main stem (at the early full bolling stage) in darkness for comparison with non-darkened controls. Darkening the bolls and main stem reduced the boll weight by 24.1% and 9%, respectively. Thus, we conclude that non-foliar organs significantly contribute to the yield at the late growth stage.

2. The photosynthetic charactertics of non-foliar organs in super-high-yielding cotton during growth stages were explored. Compared with traditional cotton Xinluzao33, the photosynthetic rate of the main leaf of hybrid cotton Xinluzao43 and Shiza2 was higher during 5-15 days after anthesis, which reason for faster dry matter accumulation rate of Xinluzao43 and Shiza2 cotton during early growth stage (Full Flowering). However, more

Decrease in photosynthetic rate of green organs of Shiza2 during the growth stages, which caused its early senescence. There was no significance in photosynthetic rate of main stem among these three cultivars. Thus, we suggested that the high height and larger surface area of hybrid cotton result in their better canopy photosynthetic rate of stalks at later growth stage. The photosynthetic rate of capsule wall in hybrid cotton Xinluzao43 and Shiza 2 was higher than that in traditional cotton Xinluzao33, and maintain stable photosynthetic rate during later growth stage, company with their larger surface area which all contribution their higher canopy photosynthetic rate of fruits at later growth stage.

3. The rapid respiration rate of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) fruits (bolls) produces a

Concentrated CO2 micro-environment around the bolls and bracts. Elucidation of the mechanisms by which plants adapt to elevated CO2 is needed. However, most studies of the mechanisms investigated the response of plants adapted to current atmospheric CO2. We observed that the intercellular CO2 concentration of a whole fruit (bract and boll) ranged from 500 to 1300μmol mol1 depending on the irradiance, even in ambient air. Arguably, this CO2 micro-environment has existed for at least 1.1 million years since the appearance of tetraploid

Cotton. Therefore, we hypothesized that the mechanisms by which cotton bracts have adapted to elevated CO2 will indicate how plants will adapt to future increased atmospheric CO2 concentration. To test the hypothesis, the morphological and physiological traits of bracts and leaves of cotton were measured, including stomatal density, gas-exchange and protein contents. Compared with leaves, bracts showed significantly smaller stomatal conductance which resulted in a significantly higher water use efficiency. Both gas-exchange and protein content showed a significantly greater RuBP regeneration/RuBP carboxylation capacity ratio (*J*max/*V*cmax) in bracts than in leaves. These results agree with the theoretical prediction that adaptation of photosynthesis to elevated CO2 requires increased RuBP regeneration. Cotton bracts are readily-available material for studying adaption to elevated CO2.

4. Photoinactivation of Photosystem II (PS II) during photosynthesis can lead to the loss of photochemical efficiency and decrease in crop yield. Plants have evolved various photoprotective strategies to ameliorate photoinactivation of PS II. Non-leaf organs of cotton also contribute to carbon gain, but it is not clear how they photoprotect themselves. This study investigated the photoprotective mechanisms in the leaf, bract, main stem and capsule wall of cotton. Our results suggested that the bract mainly relies on high activities of antioxidative enzymes and highΔpH- and xanthophyll-regulated thermal dissipation (*Φ*NPQ) for photoprotection. The main stem preferentially dissipated its absorbed light energy via light-regulated as well as light-independent non-photochemical quenching, aided by the moderately high activities of antioxidative enzymes. The capsule wall was less able to remove reactive oxygen species due to lower activities of antioxidative enzymes, and less able to dissipate energy via heat due to its lowerΦNPQ. Its main photoprotective mechanisms seem to be (a) direct quenching of the energy by abundant carotenoids and (b) light-independent constitutive thermal dissipation viaΦf, D. The green organs of cotton have different ways to use or dissipate energy.

5. Here we report on a whole-tissue determination of the rate coefficient of photoinactivation *ki*, and that of repair *kr* in cotton leaf discs. The P700 kinetics area, directly proportional to the oxygen yield per single-turnover, saturating flash, was used to obtain both *ki* and *kr*. Changes in *ki* and *kr* of two orientations (abaxial/adaxial surface contacting water) were investigated in this study. The value of *ki*, directly proportional to irradiance, was slightly higher when CO2 diffusion into the abaxial surface (richer in stomata) was blocked by contact with water. The value of *kr*, sizable in darkness, changed in the light depending on which surface was blocked by contact with water. When the abaxial surface was blocked, *kr* first peaked at moderate irradiance and then decreased at high irradiance. When the adaxial surface was blocked, *kr* first increased at low irradiance, then plateaued, before increasing markedly at high irradiance. At the highest irradiance, *kr* differed by an order of magnitude between the two orientations, attributable to different extents of oxidative stress affecting repair. The P700 kinetics area is a rapid, whole-tissue and in vivo measurement of relative assay of functional PSII content, can help to explore the differences and underlying mechanisms in photosynthetic capacity of leaf in cotton and also provide technical basis for exploring the differences and underlying mechanisms in photosynthetic capacity of various green organs in cotton.

6. Water deficit is one of the most important causes of decreased yield in cultivated plants. The physiological response of each organ to water deficit has not been comprehensively studied in relation to the water status, photosynthetic rate, photosynthetic enzyme activity, antioxidant enzymes. Water deficit significantly decreased the surface area of each organ, but to a lesser extent in non-foliar organs. Non-foliar organs (bracts and capsule wall) showed less ontogenetic decrease in O2 evolution capacity and in RuBPC activity (per dry weight) as well as better antioxidant systems than leaves at various days after anthesis. A ddition ally, the relative contribution of biomass accumulation of non-foliar organs to the whole cotton plant was estimated from the surface area, photosynthetic duration and the O2 evolution capacity per area. Our result s showed that the relative contribution of biomass accumulation of non-foliar organs increased under water deficit.

Key words: Cotton; Non-foliar organ; Leaf; Photosynthesis; Yield; Water stress; Resistance mechanism

**Type of thesis: B** (Applied research)

目 录

[摘 要](#_Toc686497710) 2

[Abstract](#_Toc686497711) 3

[缩略词表](#_Toc686497712) 5

[第一章 前言](#_Toc686497713) 10

**[1](#_Toc686497714)** [研究进展](#_Toc686497714) 10

**[1.1](#_Toc686497715)** [非叶绿色器官的光合特性及对产量形成的意义](#_Toc686497715) 10

**[1.2](#_Toc686497716)** [非叶绿色器官的光合作用对水分亏缺的适应机制](#_Toc686497716) 10

**[1.3](#_Toc686497717)** [棉花非叶绿色器官光合特性及对产量形成的影响](#_Toc686497717) 11

**[2](#_Toc686497718)** [本文的研究背景和意义](#_Toc686497718) 11

[第二章 棉花非叶绿色器官光合作用对其产量形成的重要作用](#_Toc686497719) 12

[第一节 棉花非叶绿色器官的光合能力对Th育后期产量形成具有重要作用](#_Toc686497720) 12

**[1](#_Toc686497721)** [材料与方法](#_Toc686497721) 12

**[1.1](#_Toc686497722)** [材料与试验设计](#_Toc686497722) 12

**[1.2](#_Toc686497723)** [测定项目和方法](#_Toc686497723) 12

**[1.3](#_Toc686497724)** [数据分析](#_Toc686497724) 13

**[2](#_Toc686497725)** [结果与分析](#_Toc686497725) 13

**[2.1](#_Toc686497726)** [各绿色器官的表面积和Th物量](#_Toc686497726) 13

**[2.2](#_Toc686497727)** [各绿色器官的光合放氧能力](#_Toc686497727) 13

**[2.3](#_Toc686497728)** [各绿色器官的光合关键酶和可溶性蛋白含量](#_Toc686497728) 13

**[2.4](#_Toc686497729)** [各绿色器官的氮含量](#_Toc686497729) 13

**[2.5](#_Toc686497730)** [各绿色器官叶绿素含量分析](#_Toc686497730) 14

**[2.6](#_Toc686497731)** [各绿色器官光合作用对整株的相对贡献率](#_Toc686497731) 14

**[2.7](#_Toc686497732)** [各绿色器官光合作用对产量形成的相对贡献率](#_Toc686497732) 14

**[3](#_Toc686497733)** [讨论](#_Toc686497733) 15

**[3.1](#_Toc686497734)** [各绿色器官的光合放氧能力和光合关键酶活性](#_Toc686497734) 15

**[3.2](#_Toc686497735)****[T](#_Toc686497735)**[h育期间各绿色器官光合参数的变化](#_Toc686497735) 15

**[3.3](#_Toc686497736)** [各绿色器官光合作用对产量形成的贡献](#_Toc686497736) 15

[第二节 超高产杂交棉非叶绿色器官的光合特性及与产量形成的关系](#_Toc686497737) 16

**[1](#_Toc686497738)** [材料与方法](#_Toc686497738) 16

**[1.1](#_Toc686497739)** [供试材料](#_Toc686497739) 16

**[1.2](#_Toc686497740)** [试验概况](#_Toc686497740) 16

**[1.3](#_Toc686497741)** [测定项目和方法](#_Toc686497741) 16

**[2](#_Toc686497742)** [结果与分析](#_Toc686497742) 16

**[2.1](#_Toc686497743)** [农艺性状的变化](#_Toc686497743) 16

**[2.2](#_Toc686497744)** [各绿色器官光合面积的变化](#_Toc686497744) 17

**[2.3](#_Toc686497745)** [各绿色器官光合放氧能力的变化](#_Toc686497745) 17

**[2.4](#_Toc686497746)** [各绿色器官表观量子效率的变化](#_Toc686497746) 17

**[2.5](#_Toc686497747)** [各绿色器官](#_Toc686497747)**[RuBPC](#_Toc686497747)**[活性和可溶性蛋白含量的变化](#_Toc686497747) 18

**[2.6](#_Toc686497748)** [植株干物质积累的变化](#_Toc686497748) 18

**[3](#_Toc686497749)** [讨论](#_Toc686497749) 18

**[3.1](#_Toc686497750)** [杂交棉Th育期间非叶绿色器官的光合能力变化特性](#_Toc686497750) 18

**[3.2](#_Toc686497751)** [杂交棉Th育期间各绿色器官](#_Toc686497751)**[RuBPC](#_Toc686497751)**[和可溶性蛋白含量的变化](#_Toc686497751) 19

**[3.3](#_Toc686497752)** [杂交棉各绿色器官干物质积累与产量形成的关系](#_Toc686497752) 19

[第三章 棉花非叶绿色器官光合特性及光保护机制的研究](#_Toc686497753) 19

[第一节 棉花苞叶适应棉铃高呼吸速率形成的高浓度CO2微环境的光合Th理机制](#_Toc686497754) 19

**[1](#_Toc686497755)** [材料与方法](#_Toc686497755) 19

**[1.1](#_Toc686497756)** [试验地点概况和试验设计](#_Toc686497756) 19

**[1.2](#_Toc686497757)** [测定项目和方法](#_Toc686497757) 19

**[1.3](#_Toc686497758)** [数据分析](#_Toc686497758) 20

**[2](#_Toc686497759)** [结果与分析](#_Toc686497759) 20

**[2.1](#_Toc686497760)** [叶片和苞叶的呼吸速率和胞间](#_Toc686497760)**[CO2](#_Toc686497760)**[浓度](#_Toc686497760) 20

**[2.2](#_Toc686497761)** [气孔特性和水分利用效率](#_Toc686497761) 21

**[2.3](#_Toc686497762)** [光合能力和蛋白含量](#_Toc686497762) 23

**[3](#_Toc686497763)** [讨论](#_Toc686497763) 25

**[3.1](#_Toc686497764)** [棉铃外存在由棉铃高呼吸速率所形成的高浓度](#_Toc686497764)**[CO2](#_Toc686497764)**[微环境](#_Toc686497764) 25

**[3.2](#_Toc686497765)****[RuBP](#_Toc686497765)**[的再Th和羧化作用之间的平衡](#_Toc686497765) 25

**[3.3](#_Toc686497766)** [苞叶可作为研究植物适应高浓度](#_Toc686497766)**[CO2](#_Toc686497766)**[机制的材料](#_Toc686497766) 25

[第二节 棉花叶片与非叶绿色器官光合作用的光保护机制差异](#_Toc686497767) 26

**[1](#_Toc686497768)** [材料与方法](#_Toc686497768) 26

**[1.1](#_Toc686497769)** [试验概况](#_Toc686497769) 26

**[1.2](#_Toc686497770)** [测定项目与方法](#_Toc686497770) 26

**[1.3](#_Toc686497771)** [抗氧化酶体系的测定](#_Toc686497771) 26

**[2](#_Toc686497772)** [结果与分析](#_Toc686497772) 26

**[2.1](#_Toc686497773)** [棉花不同绿色器官的光合色素](#_Toc686497773) 26

**[2.2](#_Toc686497774)** [棉花不同绿色器官的能量分配](#_Toc686497774) 27

**[2.3](#_Toc686497775)** [棉花各绿色器官的抗氧化酶体系](#_Toc686497775) 27

**[3](#_Toc686497776)** [讨论](#_Toc686497776) 27

**[3.1](#_Toc686497777)** [棉花各绿色器官单位面积上类胡萝卜素含量的差异](#_Toc686497777) 27

**[3.2](#_Toc686497778)** [棉花各绿色器官热耗散方式的差异](#_Toc686497778) 27

**[3.3](#_Toc686497779)** [棉花各绿色器官抗氧化酶保护体系的差异](#_Toc686497779) 27

[第三节 P700氧化还原动力学在研究棉花叶片PSII活性研究中的应用](#_Toc686497780) 27

**[1](#_Toc686497781)** [材料和方法](#_Toc686497781) 28

**[1.1](#_Toc686497782)****[T](#_Toc686497782)**[h长状况](#_Toc686497782) 28

**[1.2](#_Toc686497783)** [叶圆片的光抑制处理](#_Toc686497783) 28

**[1.3](#_Toc686497784)** [功能性的](#_Toc686497784)**[PSII](#_Toc686497784)**[含量的测定方法](#_Toc686497784) 28

**[1.4](#_Toc686497785)****[P700](#_Toc686497785)**[氧化还原动力学方法](#_Toc686497785) 28

**[1.5](#_Toc686497786)** [用](#_Toc686497786)**[P700](#_Toc686497786)**[氧化还原动力学面积测定整个组织的光失活速率和修复速率](#_Toc686497786) 29

**[1.6](#_Toc686497787)** [碳同化速率的测定](#_Toc686497787) 30

**[1.7](#_Toc686497788)** [电子传递速率的测定](#_Toc686497788) 30

**[2](#_Toc686497789)** [结果与分析](#_Toc686497789) 30

**[2.1](#_Toc686497790)****[P700](#_Toc686497790)**[氧化还原动力学面积与单翻转单闪脉冲所产Th的放氧量呈线形相](#_Toc686497790) 30

**[2.2](#_Toc686497791)** [暗中](#_Toc686497791)**[lincomycin](#_Toc686497791)**[能有效地抑制棉花叶圆片](#_Toc686497791)**[PSII](#_Toc686497791)**[光失活后的修复](#_Toc686497791) 31

**[2.3](#_Toc686497792)** [叶片近轴面朝向空气的](#_Toc686497792)**[PSII](#_Toc686497792)**[光失活和修复](#_Toc686497792) 31

**[2.4](#_Toc686497793)** [当远轴面朝向空气时叶片的](#_Toc686497793)**[PSII](#_Toc686497793)**[光失活和修复](#_Toc686497793) 31

**[2.5](#_Toc686497794)** [不同光强下的](#_Toc686497794)***[ki](#_Toc686497794)***[和](#_Toc686497794)***[kr](#_Toc686497794)***[值的变化](#_Toc686497794) 31

**[2.6](#_Toc686497795)** [叶片碳同化速率和电子传递速率对光强的响应](#_Toc686497795) 31

**[3](#_Toc686497796)** [讨论](#_Toc686497796) 35

**[3.1](#_Toc686497797)****[P700](#_Toc686497797)**[氧化还原动力学面积能快速、无损伤和精确反映整个叶圆片从](#_Toc686497797) 35

**[3.2](#_Toc686497798)** [黑暗中](#_Toc686497798)**[PSII](#_Toc686497798)**[的修复](#_Toc686497798) 35

**[3.3](#_Toc686497799)** [光失活速率常数（](#_Toc686497799)***[ki](#_Toc686497799)***[）](#_Toc686497799) 35

**[3.4](#_Toc686497800)** [修复速率常数（](#_Toc686497800)***[kr](#_Toc686497800)***[）](#_Toc686497800) 35

[第四章 棉花叶片与非叶绿色器官光合作用对水分亏缺的适应机制](#_Toc686497801) 36

**[1](#_Toc686497802)** [材料和方法](#_Toc686497802) 36

**[1.1](#_Toc686497803)** [试验概况](#_Toc686497803) 36

**[1.2](#_Toc686497804)** [测定项目](#_Toc686497804) 36

**[1.3](#_Toc686497805)** [数据分析](#_Toc686497805) 37

**[2](#_Toc686497806)** [结果与分析](#_Toc686497806) 37

**[2.1](#_Toc686497807)** [各绿色器官相对含水量（](#_Toc686497807)**[RWC](#_Toc686497807)**[）和气孔特性](#_Toc686497807) 37

**[2.2](#_Toc686497808)** [各绿色器官的表面积和Th物量及对棉株Th物量积累的相对贡献率](#_Toc686497808) 38

**[2.3](#_Toc686497809)** [各绿色器官光合放氧能力对水分亏缺的响应](#_Toc686497809) 38

**[2.4](#_Toc686497810)** [各绿色器官的可溶性蛋白含量和光合酶活性](#_Toc686497810) 39

**[2.5](#_Toc686497811)** [各绿色器官的脯氨酸含量与其](#_Toc686497811)**[RWC](#_Toc686497811)**[的相关性分析](#_Toc686497811) 39

**[2.6](#_Toc686497812)** [各绿色器官细胞损害和保护酶体系](#_Toc686497812) 39

**[3](#_Toc686497813)** [讨论](#_Toc686497813) 40

**[3.1](#_Toc686497814)** [水分亏缺下棉花各绿色器官水分状态的维持机制不同](#_Toc686497814) 40

**[3.2](#_Toc686497815)** [苞叶和铃壳具有较好去除氧自由基的体系保障水分亏缺下具有较稳定光合速率](#_Toc686497815) 40

**[3.3](#_Toc686497816)** [水分亏缺下棉花非叶绿色器官对其产量的相对贡献率增加](#_Toc686497816) 40

[第五章 研究结论、创新点和展望](#_Toc686497817) 40

**[5.1](#_Toc686497818)** [研究结论](#_Toc686497818) 40

**[5.2](#_Toc686497819)** [创新点](#_Toc686497819) 41

**[5.3](#_Toc686497820)** [研究展望](#_Toc686497820) 41

[参考文献](#_Toc686497821) 41

[作者简介](#_Toc686497822) 48

[导师评阅表](#_Toc686497823) 49

# 缩略词表

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 英文缩写 | 英文全称 | 中文名称 |
| APX | Ascorbate peroxidase | 抗坏血酸过氧化物酶 |
| AQY | Apparent quantum yield | 表观量子效率 |
| ATP | Adenosine triphosphate | 三磷酸腺苷 |
| ATP  synthase | Adenosine triphosphate synthase | 三磷酸腺苷合酶 |
| BSA | Bovine serum albumin | 牛血清蛋白 |
| *Ca* | Air [CO2] | 环境二氧化碳浓度 |
| Car | Carotenoids | 类胡萝卜素 |
| Chl | Chlorophyll | 叶绿素 |
| *Ci* | Intercellular [CO2] | 胞间二氧化碳浓度 |
| *Ci/Ca* | Ratio of [CO2] in intercellular spaces to that in air | 胞间二氧化碳浓度与环境二氧化碳  浓度的比值 |
| [CO2] | CO2 concentration | 二氧化碳浓度 |
| Cyt b6f | The cytochrome b6f complex | 细胞色素 b6f 复合体 |
| DAA | Days after anthesis | 开花后天数 |
| DTT | Dithiothreitol | 二硫苏糖醇 |
| EDTA | Ethylenediaminetetraacetate | 乙二胺四乙酸盐 |
| *F* | Functional fration of PSII | 功能性的 PSII |
| *F*m′ | Maximal light-adapted chlorophyll fluorescence yield | 光适应下的最大荧光产量 |
| *Fo,Fm* | Minimum and maximum Chl fluorescence yield of a  Dark-adapted leaf, respectively | 最小荧光产量，最大荧光产量 |
| *Fs* | Steady-state fluorescence during illumination | 光适应下稳态荧光产额 |
| *Fv* | =(Fm-Fo),variable fluorescence | 暗适应下可变荧光 |
| GR | Glutathione reductase | 谷胱甘肽还原酶 |
| H2O2 | Hydrogen peroxide | 过氧化氢 |
| *Jmax* | The maximum electron transport rate | 最大光合电子传递速率 |
| *ki,kr* | Rate coefficient of photoinactivation and repair,  respectively | 光失活速率和恢复速率 |
| LhcbII | The major light-harvesting antenna complex II | PSII 辅光蛋白 |
| MDA | Malondialdehyde | 丙二醛 |
| MDH | Malate dehydrogenase | 苹果酸酶 |
| NADH | Reduced nicotinamide adenine dinucleotide | 还原辅酶 I |
| NADPH | Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate | 还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 |
| -  ·O2 | Superoxide radical | 超氧阴离子自由基 |
| ·OH | Hydroxyl radical | 氢氧自由基 |
| P700 | Special Chl pair in the PSI reaction center | 光系统 1 反应中心的核心叶绿素分  子 |
| PEPC | Phospoenolpyruvate carboxylase | 磷酸烯醇丙酮酸羧激酶 |
| PI | photoinactivation | 光失活 |
| *P*m | Maximum potential electron transport rate | 最大潜在相对电子传递速率 |
| PS | Photosystem | 光系统 |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| PVPP | Polyvinylpoly-pyrrolidone | 聚乙烯吡咯烷酮 |
| Rieske FeS  protein | Rieske iron-sulfur protein | Rieske 铁硫蛋白 |
| ROS | Reactive oxygen species | 活性氧自由基 |
| Rubisco | Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase | 核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶 |
| RuBPC | Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase | 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶 |
| RWC | Relative water content | 相对含水量 |
| SDS | Sodium dodecyl sulfate | 十二烷基硫酸钠 |
| SOD | Superoxide dismutase | 超氧化物歧化酶 |
| *Vmax* | The capacities of RuBP(ribulose-1,5-bisphosphate)  carboxylation | 最大羧化效率 |
| iWUE | Instantaneous water use efficiency | 瞬时水分利用效率 |
| Φf, D | Sum of fluorescence and light-independent  Constitutive thermal dissipation | 荧光和不依赖于光的基础热耗散的  量子效率 |
| ΦNPQ | ΔpH- and xanthophyll-regulated thermal dissipation | ΔpH 和叶黄素循环调节热耗散的量  子效率 |
| Φ*PSII* | PSII quantum yield in the light | 光系统 2 实际光化学效率 |

# 第一章 前言

### **1** 研究进展

组成作物产量的干物质90~95%来源于光合作用，光合作用是作物产量形成的基础。通常认为植物叶片是主要的光合器官，但许多植物的非叶绿色器官或组织，也能形成或含有叶绿素，并具有实际或潜在的光合能力（Aschan & Pfanz, 2003）。虽然果实等非叶绿色器官只能固定少量空气中的CO2（外源），但却能有效地重新固定其呼吸释放的CO2（内源）（Black & Vines, 1987; Blank & Lenz, 1989）。研究表明，作物非叶绿色器官具有较高的重新固定内源CO2能力，如大豆（*Phaseolus vulgaris* L）豆荚（Crookston，

1974）、棉花（*Gossypium hirsutum* L.）铃壳（Wullschleger et al., 1991）、小麦（*Triticum turgidum var durum* L.）穗（Araus et al., 1993）、大麦（*Hordeum vulgare* L.）穗（Bort et

al.，1996）。随着作物产量的提高，在高产条件下，重视作物非叶绿色器官的光合功能，提高作物整体的光能利用效率，对进一步提高作物产量具有重要意义。现将国内外有关作物非叶绿色器官相关研究综述如下：

#### **1.1** 非叶绿色器官的光合特性及对产量形成的意义

非叶绿色器官的碳固定能力是对叶片光合物质生产能力的重要补充（Aschan &

Pfanz，2003），由于非叶绿色器官具有良好的光合结构与功能，因此，充分发挥作物非叶绿色器官的光合功能，对提高作物整体的光合能力具有重要意义。

##### **1.1.1** 光合能力

Crookston（1974）对大豆的研究发现，豆荚对外源CO2的固定速率为其叶片的5-9%。

Wullschleger和Oosterhuis（1990a）报道棉花苞叶光合速率是其对应叶片的13.4%左右，而铃壳光合速率不足其对应叶片的1%。水稻（*Oriza sativa* L.）圆锥花序的光合同化率高达其对应旗叶的30%，但其单位叶绿素的同化速率与旗叶相差不大（Imaizumi et al.，

1990）。魏爱丽等（2002）对不同类型小麦各绿色器官光合特性的研究发现，无论是野生一粒麦（*Triticum. boeoticum*）还是常规品种品七（*Triticum aestivum*. cv. Pin7）各绿色器官的光合速率大小次序均为：旗叶﹥叶鞘﹥穗下节间﹥穗，其中穗光合速率均为其旗叶的31.5%左右；对不同基因型小麦品种的研究发现，开花后8天，多数品种穗的光合速率为其旗叶的20%左右（魏爱丽等，2007）。

##### **1.1.2** 光合机构特征

与叶片相比，小麦芒的叶绿体形成较晚，但每个叶绿体含有多个垛叠的类囊体（Li et al., 2006）。李寒冰等（2002）通过分析小麦旗叶和外颖的叶绿体超微结构，发现外颖的叶绿体较旗叶要小，且通过荧光发射光谱分析，发现外颖的F685/F734显著高于旗叶，这表明外颖分配到PSII的光能较多。随生长发育进程，小麦穗的叶绿体降解和光合

能力下降均晚于旗叶（Martinez et al., 2003）。在生长阶段的果实外层组织具有发育完全的叶绿体（Brady, 1987）。

##### **1.1.3** 重新固定呼吸释放**CO2**的Th理Th化基础

麦类作物外颖和果皮均能重新固定谷粒呼吸释放出的CO2（Bort et al., 1994; Gebbing & Schnyder, 2001）。小麦穗的外颖能重新固定籽粒呼吸释放出的CO2不断地为其光化学反应提供电子供体（Martinez et al., 2003）。Li等（2004）研究认为小麦非叶绿色器官中护颖中的CA（碳酸酐酶）可能是参与C4途径，将大气中的CO2催化成HCO3-，为PEPC提供底物，为其光合机构提供大量苹果酸，从而进入C3循环。与旗叶相比，小麦穗具有较高的PEPC（磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶）（Singal et al., 1986）和PPDK活性

（Aoyagi & Bassham, 1984），这可能与其重新固定呼吸释放CO2有关。PEPC能使PEP与HCO3-发生羧化反应形成草酰乙酸（Ting & Osmond, 1973）。果实胞液中的PEPC能重新固定呼吸释放出的CO2合成苹果酸，为线粒体呼吸和糖代谢提供碳源（Blanke & Lenz，

1989）。小麦穗中的PEPC不仅能在光下固定大气中的CO2，而且无论在光下或暗中均能重新固定籽粒呼吸释放出的CO2(Li et al., 2006)。Zhang等（2008）研究表明，小麦外颖的PEPC活性在调控穗的碳、氮代谢中起着重要的作用，其活性与籽粒重成正相关性。现今如何改进C3植物的C4途径已逐渐成为提高作物产量的一个重要研究方向。

##### **1.1.4** 非叶绿色器官光合作用对产量形成的重要意义

Aschan等（2003）认为非叶绿色器官的碳固定能力是对叶片光合物质生产能力的重要补充。大量的研究表明作物非叶绿色器官的碳固定能力对产量形成具有一定的贡献

（Wullschleger et al.，1991；薛丽华和章建新，2006；魏爱丽等，2007）。在开花后15天时，去除玉米苞叶，产量下降了17.7%（Salvador & Pearce, 1988）。水稻圆锥花序光合产物对谷粒的贡献率是20-30%(Ishihara et al., 1991)。Aschan等（2005）认为莬葵

（*Helleborus viridis* L.）的萼片是主要的光合器官，其光合产物对整个植株的贡献率高达60%以上。雪莲花（*Galanthus nivalis* L.）发育前期，优先发育花器，由于新生叶片较小，绿色的内花被是花器发育的主要光合器官（Aschan & Pfanz, 2006）；红花（*Carthamus tinctorius* L.）的花器对单株籽粒重的贡献率为13-42%（Ehsanzadeh et al., 2007）。

施生锦等（2003）发现小麦穗无明显光合午休现象，一天中特别是下午非叶绿色器官能维持较高的光合能力，而此时旗叶光合速率下降较快，因此，非叶绿色器官对小麦维持一天较高光合作用有着重要的作用。与旗叶相比，小麦穗的光合作用在干物质积累、籽粒产量形成过程中发挥着更加重要的作用（Abbad et al., 2004）。李秀菊等（2006）报道，穗光合对小麦产量的贡献率为14.43 %. Araus等（1993）采用14C同位素标记的方法得出小麦籽粒中的59%干物质来源于穗。小麦茎鞘储存的非结构性碳化合物对后期籽粒的贡献率至少达20%(Pheloung & Siddique, 1991)。Zhang等（2011）对小麦旗叶、穗、穗下节间和叶鞘进行遮光实验，得出非叶绿色器官穗、穗下节间和叶鞘对籽粒的贡献高达73-81%。在无任何环境胁迫时，面包小麦的穗光合作用对产量的贡献约为13-33%

（Maydup et al., 2010）。研究表明，长穗品种产量高是由于其穗具有较高的光合能力

（Wang et al., 2001）；具有较大芒的小麦品种（cv. *Klein Escudo*）穗光合能力较高（Maydup et al., 2010）。与无芒品种的小麦相比，有芒品种的穗具有较高的光合能力和水分利用效率（Bort et al., 1994）；通过研究12个不同品种大麦穗的重新固定能力，表明穗的重新固定能力具有基因稳定性，因此认为需将穗的重新固定CO2能力纳入育种考虑范围

（Bort et al., 1996）。

#### **1.2** 非叶绿色器官的光合作用对水分亏缺的适应机制

对小麦等禾谷类作物非叶绿色器官（穗、茎、鞘等）结构与功能的研究表明，非叶绿色器官具有较强的光合抗逆性，充分发挥作物非叶绿色器官的光合耐逆功能，对提高作物整体光合能力具有重要意义（Xu & Ishii，1996；Martinez et al.，2003；Tambussi et

al.，2005)。

##### **1.2.1** 水分亏缺下非叶绿色器官光合特性的变化

水分亏缺降低作物叶片光合速率（Lawlor, 2002），加速叶片衰老（Martinez et al.，

2003）。研究表明，水分亏缺下小麦旗叶的光合速率下降幅度显著高于穗、叶鞘等非叶绿色器官（Xu & Ishii, 1996; Martinez et al., 2003; Tambussi et al., 2005）；小麦穗的ΦPS II、*Fv*′*/Fm*′等荧光参数的下降幅度要小于叶片（Tambussi et al., 2005）。已有研究表明，水分亏缺加速光合组分——叶绿素、Rubisco和LHCII（光系统II捕光蛋白）的降解

（Pic et al., 2002）。在水分亏缺下，小麦旗叶的叶绿素、Rubisco和LHCII快速降解，而穗的外颖和芒的叶绿素、Rubisco和LHCII则略有下降（Martinez et al., 2003）；此外，Inou等（2004）研究表明，水分亏缺下小麦穗能保持较高光合速率可能是其抗旱性强的原因。

##### **1.2.2** 水分亏缺下非叶绿色器官具有较强的抗逆性

**1.2.2.1渗透调节能力**

在水分亏缺下，能维持较高水势的穗是保持其稳定光合组分的原因（Martinez et al.，

2003）。穗具有较好的渗透调节能力（Morgan, 1980），在水分亏缺下能维持正常的膨压和气体交换（Kikuta & Richter, 1986; Serraj & Sinclair, 2002）。然而，Barlow等（1980）研究表明，在水分亏缺下小麦的旗叶和颖片的水势并未发生显著变化，并认为较高的水势不是维持稳定光合组分的原因。在水分亏缺下，与旗叶相比，粉质小麦的穗能保持较高的相对含水量（RWC）（Wardlaw, 2002）。Tambussi等（2005）研究表明水分亏缺下，角质小麦穗具有较强的光合抗逆性是由于其较高的RWC，而不是由于其C4途径。

**1.2.2.2重新固定呼吸释放CO2的能力**

C4途径酶活性的增强是对强光、高温和水分亏缺等逆境的适应机制（李卫华和郝乃斌，1999）。魏爱丽等（2003）研究表明，水分亏缺诱导小麦非叶绿色器官穗的C4途径，因此认为较高C4途径酶活性是其具有较强光合抗逆性的原因。小麦穗的外颖具有较厚的皮层细胞，且只在靠近谷粒的一侧有气孔，这可能是促使其进行有效地重新固定籽粒释

放出CO2的一种机制，这种CO2的固定形式，降低了水分的消耗，从而提高水分利用效率（Ziegler-Jöns, 1989）。

**1.2.2.3水分亏缺下非叶绿色器官光合作用对产量的贡献**

水分亏缺下，小麦非叶绿色器官光合面积占植株总光合面积的比例增大，对产量形成的贡献率也增加（Zhang et al., 2011）。当面包小麦光合源受限制时（去叶或水分胁迫），穗光合对其产量形成的贡献增至22-45%（Maydup et al., 2010）。水分亏缺下小麦穗重新固定呼吸释放CO2的光合产物占总冠层光合产物的比例增大，在正常灌溉条件下由14%增至23%（Johnson & Moss, 1976）。水分亏缺下，小麦穗光合速率与籽粒的产量、干物质的形成具有重要的决定作用（Abbad et al., 2004）。麦类作物的穗可能是水分亏缺下籽粒充实的主要光合机构（Araus et al., 1993; Bort et al., 1994; Sánchez -Diaz et al., 2002; Abbad et al., 2004; Tambussi et al., 2007）。与叶片相比，穗具有较低的气孔导度和较高的水分利用效率（Blum, 1985; Knoppik et al., 1986; Araus et al., 1993）。在半旱地区，具有较高水分利用效率的芒对小麦产量形成具有十分重要的意义（Blum，

1986)。

#### **1.3** 棉花非叶绿色器官光合特性及对产量形成的影响

棉花叶片是主要的光合器官（Constable & Rawson，1980；Wullschleger & Oosterhuis，

1991）。然而，苞叶和铃壳也能进行光合作用（Wullschleger & Oosterhuis, 1990a; 1991）。苞叶和铃壳光合作用对棉铃发育的贡献一直为人们所关注（Brown, 1968；Wullschleger & Oosterhuis, 1990a, b）。

##### **1.3.1** 棉花苞叶光合作用特性

叶片的叶肉细胞由大量的栅栏组织和海绵组织组成，苞叶则由排列松散的海绵组织组成，且具有较大的细胞间隙（Bondada et al., 1994）。Bondada和Oosterhuis（2003）通过对棉花叶片、苞叶的叶绿体进行超微结构分析，发现苞叶单个叶绿体基粒的类囊体跺叠程度高于叶片，并认为这是对其阴生弱光生长环境的适应性表现（Anderson, 1999），需增加PSII的组分来增加光能的捕获。铃壳具有很强的呼吸作用，单个铃呼吸速率从开花后至铃龄20天时从200µmolCO 2·h -1降至100µmolCO 2·h -1（Wullschleger & Oosterhuis, 1990），虽然其具有较高的重新固定呼吸释放CO2的能力，但这种固定方式的速率约占总呼吸速率的15-20%（Wullschleger et al., 1991），因此包裹在其外部的苞叶可能是生活在一个高浓度的CO2环境下。在高浓度CO2下，植物一般通过降低气孔数目减少水分蒸发

（Drake et al., 1997）。叶片的远轴面气孔数目显著多于近轴面，而苞叶的近轴面气孔显著少于其远轴面（Elmore, 1973），也许这是其对高浓度CO2的适应表现。

自从工业革命后，由于人类的活动，空气中的CO2从280增至400μmol。根据IPCC（政府间气候变化专门委员会）的报道，预测到下世纪末大气中的CO2将会倍增（Meehl et al., 2007）。CO2作为光合作用的底物，因此增加空气中CO2的浓度会增强叶片的光合作用，

从而使植物生长加快和提高作物产量（Drake et al., 1997; Nakano et al., 1997; Kimball et al., 2002）。然而，提高CO2浓度对植物生长的增强效应在不同物种中有显著差异（Long et al., 2004）。如果植物长期生长在高浓度CO2的环境中，对植物生长的增加作用通常会被下调的光合能力所抵消（Stitt, 1991; Gunderson & Wullschleger, 1994; Sage, 1994; Long et al., 2004）。因此，大量的研究试图揭示植物在高浓度CO2生长及其光合作用的适应机制。然而，前人大部分研究生长在当代CO2环境的植物对高浓度CO2的适应机制。尽管前人的研究通过多种人工设备去创造一个高浓度CO2的环境，像开顶式气室（OTC）、

FACE系统和可控CO2的生长室，最长的研究时间需要20年（Mulchi et al., 1992; McKee & Woodward, 1994; Ainsworth & Long, 2005）。而短期CO2的响应不足以说明植物适应高浓度CO2的长期适应机制。如当植物刚转移至高浓度CO2的生长环境中，它的光合速率会增加，但随后由于积累过量的碳化合物而使光合速率下调（Webber et al., 1994; Nie et al., 1995）。

由于CO2的进出和水分蒸腾作用都是由气孔这个通道进行的，因此光合碳同化过程中水分亏缺是不可避免的（Mooney & Gulmon, 1979）。高浓度CO2能使植物通过降低气孔数目减少水分蒸发，但CO2进入量增加，从而提高水分利效率（Drake et al., 1997）。氮素作为光合机构主要的组成成分（Chapin, 1980），其中约占叶片氮素10-40%的

Rubisco，是在正常CO2的生长环境下限制光合作用的主要因素，而在高浓度CO2下，光合速率是由RuBP的更新速率决定（Stitt, 1991）。在高浓度CO2环境下，Rubisco含量会相对减少或是进行氮素的重新分配即由Rubsico转变成用于RuBP的再生过程，从而使

*Jmax*/*Vcmax*比值增大（Sage, 1994；Medlyn, 1996；Drake et al., 1997；Hikosaka & Hirose, 1998；Hikosaka, 2005；Onoda et al., 2005）。但也有不少在高浓度CO2环境中生长的当代植物，其中*Jmax*/*Vcmax*比值未发生变化或有少量增加（Long et al., 2004）。此外，Makino等（2000）研究表明，在高浓度CO2下，转基因植物Rubisco含量相对减少，但光合速率却增加了。

##### **1.3.2** 铃壳光合作用特性

铃壳的叶肉细胞由大量排列紧密的软体组织构成，没有细胞间隙（Bondada et al., 1994）。与叶片、苞叶相比，铃壳的蒸腾速率低是由于其凹陷的气孔（Bondada &

Oosterhuis，2000）。铃壳的蜡质层要比叶片、苞叶的厚（Bondada et al., 1996），这能减少其蒸腾速率和气体交换（Hemmers & Gulz, 1986）。铃壳相对含水量的日变化幅度小，并认为这可能是由于其较低的蒸腾速率和较高的水势（Van Iersel & Oosterhuis, 1995）。铃壳能有效地重新固定内源CO2（Wullschleger et al., 1991），这种碳固定能力是铃壳一种有效的热耗散方式。

越来越多的学者通过叶绿素技术来研究非叶绿色器官的光合特性（Aschan & Pfanz, 2003; 2006; Aschan et al., 2005）。然而叶绿素荧光技术本身存在一个问题，即我们不能明确所测得的信号来自叶片的哪个深度的叶肉细胞，在实验过程中发出信号的深度可

能变化很大：实际功能性的PSII要小于比由叶绿素荧光技术测得的值，由于来自深层组织中的叶绿素荧光量子产额变得更多（Oguchi et al., 2011b）。当然另一个叶绿素荧光技术所存在的根本问题是用*Fv*/*Fm*或*Fo-1/Fm*表示功能性的PSII，只有在经过一段时间的暗适应后可以得到，暗适应可以缓解依赖能量的猝灭。因此，对于铃壳这类厚度较大的非叶绿色器官而言，利用叶绿素荧光仪测得结果就显得有些不确定。

##### **1.3.3** 棉花非叶绿色器官对产量的贡献

Zhao和Oosterhuis（1999）研究表明，蕾龄20天的蕾总干物质的56%来自苞叶的光合产物，因此认为苞叶是蕾发育过程中一个十分重要的碳源。Bhatt（1988）通过去除苞叶和保留苞叶的研究方法证明苞叶不仅能将自身合成的光合产物转移到棉铃，而且还能调控叶片光合产物向棉铃的转运。研究表明铃壳只能固定少量的外源CO2（Elmore, 1973; Wullschleger & Oosterhuisa, 1990）。但不表示其光合能力弱，因为铃壳能有效地重新固定内源CO2，对呼吸作用引起的CO2损失起到一定的补偿作用（Wullschleger et al., 1991），对产量也具有较大的贡献。Brown（1968）研究表明去除苞叶并不影响棉花产量和品质，然而将铃壳遮阴或是摘去苞叶同时将铃壳遮荫，则显著影响铃的大小和纤维品质。

Wullschleger和Oosterhuis（1990a）研究表明，铃壳能有效地重新固定呼吸释放出CO2，是产量形成的一个重要碳源，对铃重的贡献约为10%。盛铃后期，杂交棉茎秆的光合速率占总光合的9-11.1%（杜明伟等，2009b），杂交棉的果实（铃壳和苞叶）和茎秆的群体光合速率分别比常规棉平均高85.1%和197.6%（张亚黎等，2010）。

##### **1.3.3** 水分亏缺下棉花非叶绿色器官的适应性变化

水分亏缺下，作物叶片的蜡质层含量增加（Weete et al., 1978; Jordan et al., 1984），是对逆境环境的一种保护机制（Johnson et al., 1983）。Bonadada等（1996）研究表明，棉花各绿色器官的蜡质层含量顺序依次为：铃壳﹥叶片﹥苞叶，在水分亏缺下各器官的蜡质层含量均有所增加，但不同器官的增加幅度有所差异，其中以叶片为最大，比正常灌水下增加了68.6%，铃壳的蜡质层增加幅度最小，约为3.9%，并认为较高蜡质层是铃壳具有低蒸腾速率和气体交换的原因。另一方面，与叶片相比，棉花非叶绿色器官铃壳能有效地重新固定呼吸释放CO2，与外界的CO2浓度无关，因此铃壳在水分亏缺等逆境下受影响较小。水分亏缺下，与叶片相比，铃壳具有较稳定的水势（Van Iersel &

Oosterhuis，1996）。Wullschleger等（1990）研究表明，在水分亏缺或是弱光等逆境条件下，苞叶对产量的相对贡献率会增加。

### **2** 本文的研究背景和意义

棉花叶片是碳同化的主要器官（Elmore, 1973），但非叶绿色器官（苞叶、茎秆、铃壳）具有光合作用。Brown（1968）研究表明，去除苞叶并不影响其产量或纤维质量，而将铃壳遮光或是去除苞叶同时铃壳遮光则显著影响棉铃大小和纤维品质；Wullschleger等（1990）提出，棉花叶片光合产物对棉铃发育的贡献是有限的，尤其在生殖器官发育

高峰时叶片的贡献率显得较小；增加供给棉铃发育的其它光合产物来源是非常必要的；水分亏缺，低光，阴暗等逆境时，叶片光合速率降低，而苞叶具有较强的光合抗逆性，从而使苞叶的相对贡献率增加。因此，在光合“源”受限制或是逆境环境下，棉花非叶绿色器官光合作用对其产量形成的作用更为突出。

新疆地处欧亚大陆腹地，具有发展棉花的光热资源优势，是我国最重要的优质高产棉区。然而目前新疆棉花提高单产的难度加大，特别是水资源短缺，成为新疆植棉业综合生产能力提升的主要限制因素，发展节水灌溉是新疆经济社会可持续发展面临的必然选择。本研究从棉花非叶绿色器官（苞叶、茎杆和铃壳）光合生理特性入手，研究棉花非叶绿色器官（苞叶、茎杆和铃壳）的光合特性，揭示非叶绿色器官间光合差异性及对水分亏缺逆境的响应机制，探讨棉花非叶绿色器官光合作用及在水分亏缺条件下对产量的贡献能力。研究结果对挖掘棉花非叶绿色器官的固碳能力，进一步提高新疆棉花产量，实现高产、超高产栽培具有重要的理论意义。

# 第二章 棉花非叶绿色器官光合作用对其产量形成的重要作用

作物产量的90%以上来自光合作用，叶片是作物主要的光合器官，但许多作物的非叶绿色器官或组织，也含有叶绿素，也能捕获光能进行光合作用。大多数作物非叶绿色器官具有光合能力，如水稻的花序（Ishihara et al., 1991）、小麦的穗（Signal et al., 1986; Araus et al., 1993; Li et al., 2006）、大麦的穗（Duffus & Cochrane, 1993）、蕃茄的果实（Xu et al., 1997）等。研究表明，非叶绿色器官的碳固定能力是对叶片光合物质生产能力的重要补充（Aschan & Pfanz, 2003）。Wullschleger等（1990）提出，棉花叶片光合产物对棉铃发育的贡献是有限的，尤其在生殖器官发育高峰期叶片的贡献显得尤为不足。因此，增加供给棉铃发育所需光合产物的其它来源显得尤为重要；在光合“源”受限制环境下，棉花非叶绿色器官光合作用对其产量形成的作用更为突出。

本章从棉花叶片和非叶绿色器官光合作用的变化特性入手，研究了棉花叶片和非叶绿色器官光合能力、光合表面积、生物量积累等指标的生育期变化，揭示棉花叶片和各非叶绿色器官光合能力对产量形成的贡献；在此基础上，针对新疆杂交棉超高产实践，开展了杂交棉产量形成期非叶绿色器官光合作用的研究，阐明棉花非叶绿色器官光合作用与超高产形成的关系，揭示了杂交棉超高产形成的生理机理。

## 第一节 棉花非叶绿色器官的光合能力对Th育后期产量形成具有重要作用

除叶片外，棉花生育后期形成的棉铃和包裹在其外的苞叶均含有叶绿素，能进行光合作用，对碳固定有重要的贡献（Constable & Rawson, 1980; Wullschleger & Oosterhuis, 1990b; 1991; Wullschleger et al., 1991）。杜明伟等（2009b）和张亚黎等（2010）研究表明，茎秆和铃壳均具有光合能力并对群体光合速率和产量形成有重要的贡献。棉花生育后期，叶片将先于其它非叶绿色器官开始衰老，那么，棉花非叶绿色器官光合能力对产量的形成更为重要。

本文旨在通过测定不同生育时期棉花叶片和非叶绿色器官的光合关键酶活性、光合面积的变化，进而明确各绿色器官光合作用对整株产量形成的相对贡献率。通过各绿色器官的光合放氧能力与光合面积相乘的方法估算各绿色器官对植株整体光合物质的贡献率，同时采用遮荫试验进一步揭示棉花非叶绿色器官光合作用对产量形成（铃重）的相对贡献率。

### **1** 材料与方法

#### **1.1** 材料与试验设计

试验于2009-2010年在石河子大学农学院试验站（45°19′N，86°03′E）进行。供试棉花品种为新疆北疆主栽品种新陆早13号。分别于2009年4月20日和2010年4月24日布滴灌带、铺膜后，在膜上人工点播。田间种植方式及管道铺设方法同大田膜下滴灌棉花，每公顷留苗1.8×10 5株，株距为12 cm。播前深施有机肥1500 kg·hm–2，氮素240 kg·hm–2，三料磷肥172.5 kg·hm–2作基肥，全生育期随水滴施氮素260 kg·hm–2。化学调控6次，缩节胺用量为300 g·hm–2。分别于2009年7月5日和2010年7月10日打顶。棉花全生育期田间进行充足灌溉，共滴灌12次，灌溉总量约6000 m3·hm–2, 8月底停止灌溉。其他管理措施同一般大田管理。

#### **1.2** 测定项目和方法

光合放氧能力、光合关键酶和叶绿素含量的测定材料均取材于打顶后倒二叶及对应的主茎、苞叶和铃壳。为减少误差，分别在2009年7月25日和2010年7月10日标定400株棉株的倒二叶第一果枝。光合有效幅射由Li-cor 6400的外置光温探头测定。

##### **1.2.1** 各绿色光合器官的表面积和Th物量的测定

叶片、苞叶的面积由叶面积仪（LI-3100, LI-Cor, Lincoln, NE, USA）测定；茎杆的表面积采用圆柱法测定。不同生育时期铃表面积的测定即将棉铃（铃龄大于15天）分成多瓣，分别将各瓣在白纸上描下其形态，并称纸重记录，再除以单位面积上的纸重，即得铃壳的表面积大小。生物量干重的测定即将所取植株放置85℃烘箱（24小时以上）烘至恒重，冷却称重记录。分别在播种后85天、98天和120天进行测定。脱落的各个绿色器官的面积和干重不计。

##### **1.2.2** 各绿色器官氮含量的测定

开花后20天测定各个绿色器官（主茎叶、苞叶和铃壳）的氮含量，测定方法参考凯氏定氮法（Schuman et al., 1972）。

##### **1.2.3** 光合放氧能力的测定

光合放氧能力采用液相氧电极（Hansatech Instruments, Norfolk, UK）测定。每天大约09: 30将材料（主茎叶、苞叶、铃壳及主茎叶所对应的下部茎秆）用湿纱布包裹，并快速带回实验室。将各组织材料切碎(1cm×2cm)，并放入反应杯中，加入含20mmol·L-1NaHCO3 的60mM Tris-HClpH7.5 缓冲溶液的反应液，作用光为光强

1200μmol·m-2·s -1的红光。记录所测各器官组织的鲜重和面积。所得的光合放氧能力分别

以单位面积和单位鲜重表示，每个值6次重复。

##### **1.2.4** 光合关键酶和可溶性蛋白的测定

分别测定开花后5、20和50天各绿色器官的光合关键酶活性。按Sayre等（1979）的

方法，取各器官鲜样0.2g，加1mL预冷的提取缓冲液，内含0.1mol L-1Tris-HCl (pH7.8)，100mM MgCl2, 1mmol·L-1EDTA，20mmol·L-1巯基乙醇，100kg m-3甘油，10 %（W/V）甘油和10kg·m-3 PVP，研磨后在15000g下4℃离心10 min，上清液即为酶提取液。

RuBPC活性的测定参考Camp等（1982）。反应体系1ml，内含50mM Tricine-NaOH

（pH7.9），10mM KCl, 1 mM EDTA, 2mM dithiothreitol (DTT)，0.2mM NADH, 5mM EDTA, 2mM MgCl2, 10mM NaHCO3, 5mM磷酸肌酸，2U磷酸肌酸激酶，3-磷酸甘油醛脱氢酶和3-磷酸甘油酸激酶。混合酶液和反应体系在25℃水浴5分钟，在340nm下加0.5 mM RuBP启动反应。

PEPC粗酶是将0.2g鲜样加1ml提取液（1mM EDTA，5%（v/v）甘油，1%(w/v) PVPP)研磨，研磨后在20000g下4℃离心10 min，上清液即为酶提取液。PEPC的酶活性采用酶偶联法测定（Blanke & Ebert, 1992）。反应体系1.5 ml，内含50mM Tris-HCl(pH 7.8)，10mM MgCl2, 0.25mM EDTA, 5.0mM NaHCO3, 2.0mM DTT, 0.1mM NADH, 4 U MDH，

2.0 mM PEP，加酶液启动反应，在U-3900分光光度计（Hitachi, Tokyo, Japan）上追踪340 nm波长下光密度的下降，测定时间为3min。为与光合放氧速率保持一致，RuBPC和PEPC酶活性均采用单位面积和单位鲜重表示。

可溶性蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝法（Read & Northcote, 1981）。

##### **1.2.5** 各绿色器官叶绿素含量的测定

将采回的叶片、苞叶、铃壳用打孔器（直径为4mm）打成小圆片，茎杆则切成0.5 cm2，再用80%的丙酮溶液提取（黑暗中放置24小时）。取其上清液用分光光度计比色，叶绿素含量的计算公式参考Lichtenthaler（1987）。

##### **1.2.6** 各绿色器官总光合放氧能力对整株贡献率的估算

各绿色器官光合作用对整个植株的相对贡献率采取盛花期和盛铃期各个器官的光合面积和单位面积上的光合放氧能力相乘来估算各个器官此时的光合能力。不同生育时期，各个绿色器官光合作用对整体植株的相对贡献率是由各个绿色器官的光合能力除以整个株植的光合能力（即各绿色器官光合能力的相加）。盛花期，各个绿色器官光合能力对整株棉花的相对贡献率，以7月17日所测定的各绿色器官的表面积作为这个时期各个绿色器官的光合面积，以开花后5天和15天各绿色器官（叶片、苞叶和茎秆）光合放氧能力的平均值作为此时各个绿色器官的光合速率，而铃壳的光合速率则以开花后15天铃壳的光合放氧能力（铃龄5天的铃壳面积太小不易测定），各个绿色器官光合能力对整株棉花的相对贡献率如表2-1-2所示。盛铃期各个绿色器官光合作用对整体植株的贡献率，以8月22日所测定各绿色器官的表面积作为这个时期各个绿色器官的光合面积，此时棉株不同层次的棉铃可能处于不同的发育阶段，因此以开花后20天至50天各绿色器官光合放氧能力的平均值作为这个时期的各个绿色光合器官的光合速率。

##### **1.2.7** 各绿色器官光合对铃壳重、籽粒重和纤维重的相对贡献率

选取27株棉花，9株作为1组，分成3组：对照、棉铃遮荫、主茎秆遮荫。棉铃遮荫

即用铝箔纸（铝箔纸上打微孔便于内外气体交换）将棉株上的每个棉铃从开花后15天后开始进行遮荫处理；茎秆遮荫即用铝箔纸将主茎遮荫（从8月1日开始）。于9月27日分别称重对照、棉铃遮荫、茎秆遮荫处理棉株的所有棉铃的铃壳、籽棉干重及整株棉株的纤维重。遮荫处理虽然遮挡了光照，同时可能也影响各个器官周围的温度和空气，然而这是估测作物各绿色器官对其产量形成相对贡献率的通用方法。本试验中通过在铝箔纸上打微孔试图减少乙烯和水蒸气对所遮荫器官的影响。

相对贡献率=100×（对照产量-遮荫产量）/对照产量

#### **1.3** 数据分析

所有数据处理用DPS分析软件（v.7.55），显著性差异分析采用Tukey检验，*P*≤0.05以下认为具有显著性差异。

### **2** 结果与分析

#### **2.1** 各绿色器官的表面积和Th物量

盛花期（7月17日），非叶绿色器官的总光合面积占整个植株总面积的28.8%，而叶片占棉株总面积的71.2%（图2-1-1a）。随生育进程的推移，非叶绿色器官的光合面积逐渐增加，盛铃期（8月22日），非叶绿色器官的光合面积占棉株总面积的36.2%（图2-1-1c）。与盛花期相比，盛铃期果实的表面积增加了97.7%。盛花期，非叶绿色器官的干物质量占总干物质量的61.3%，盛铃期增至79.1%，其中棉铃高达总干物质量的50%（图2-1-1f）。



图2-1-1 3个不同Th育时期下棉花各绿色光合器官（叶片、苞叶、茎秆和铃壳）表面积（a, b, c）和干物质（d, e, f）占整个植株的相对比值

Fig. 2-1-1 Relative contributions of leaves, bracts, stalks, and bolls to the total surface area of a single cotton plant (a, b, c) and to the plant dry weight (d, e, f) at three different growth stages

注：盛花期(a, d)，盛花至盛铃期间(b, e)和盛铃期(c, f).

Peak flowering stage (a, d), An intermediate stage (b, e) and Full bolling stage (c, f).

#### **2.2** 各绿色器官的光合放氧能力

在棉铃的发育过程中，主茎叶片单位面积的光合放氧能力是呈下降趋势的（图

2-1-2a, c）；而苞叶单位面积的光合放氧能力在开花后15天时达到峰 值

（5.0-5.2μmolO2·m-2·s-1），约占主茎叶片光合放氧能力的42-44%（图2-1-2a），此后苞叶的光合放氧能力开始呈下降趋势。随棉铃发育进程的推移，茎秆单位面积的光合放氧能力也呈下降趋势，但其大小始终高于苞叶的光合放氧速率。在棉铃发育的后期，铃壳单位面积的光合放氧能力高于叶片，并在开花后20天时达到峰值。

随棉铃发育进程的推移，主茎叶片和茎秆单位鲜重的光合放氧速率均呈下降趋势。开花后15天时，苞叶单位鲜重的光合放氧速率达到峰值，此后逐渐下降。然而，随棉铃发育进程的推移，与主茎叶片相比，铃壳的光合放氧能力下降幅度较小（图2-1-2b, d）。



图2-1-2 开花后不同天数时棉花各绿色器官（叶片、苞叶、主茎和铃壳）单位面积（a, b）和单位鲜

重（c, d）的光合放氧速率变化(2009和2010)

Fig. 2-1-2 CO2-saturated oxygen evolution rates of leaves, bracts, main stem and capsule wall expressed on both surface area (a, b) and on fresh weight (c, d) bases at various days after anthesis in 2009 and 2010

#### **2.3** 各绿色器官的光合关键酶和可溶性蛋白含量

随棉铃发育进程的推移，主茎叶片（单位面积或单位鲜重）的RuBPC活性均呈降低趋势。非叶绿色器官的RuBPC活性先增强，开花后20天开始下降。从开花后20天到开花后50天，主茎叶片、苞叶、茎秆和铃壳单位面积的RuBPC活性分别下降了30.1%，74.3%，

65.7%和26.5%（图2-1-3a）；而主茎叶片、苞叶、茎秆和铃壳单位鲜重的RuBPC活性分别下降了26.3%，70.2%，66.7%和4.9%（图2-1-3b）。



图2-1-3 开花后不同天数时棉花各绿色器官单位面积（a, c）和单位鲜重（b, d）的RuBPC和PEPC活性变化（2010）

Fig. 2-1-3 Activities of Ribulose-1,5- biphosphate carboxylase (RuBPC) expressed on the basis of area (a) or fresh weight (b) in leaf and non-foliar green organs of cotton at various days after anthesis in 2010. Activities of phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) expressed on the basis of area (c) or fresh weight (d) in leaf and non-foliar green organs of cotton at various days after anthesis in 2010

注：器官间，不同字母表示在0.05水平上差异显著.

Between organs, bars with different letters had statistically significant difference (*P*≤0.05).

在开花后20天，主茎和铃壳单位面积的PEPC活性分别是主茎叶片的1.2和2倍（图2-1-3c）。然而随生育进程的推移，主茎叶片单位鲜重的PEPC活性显著高于非叶绿色器官（图2-1-3d）；随生育进程的推进，各绿色器官可溶性蛋白含量的变化趋势与RuBPC活性的变化基本一致。在棉铃发育的后期，铃壳单位面积的可溶性蛋白含量高于主茎叶片的（图2-1-4a）。从开花后20天至50天，主茎叶片、苞叶、茎秆和铃壳单位鲜重的可溶性蛋白含量分别下降了31.3%、75%、22.2%和24.6%（图2-1-4b）。



图2-1-4 开花后不同天数时棉花各绿色器官单位面积（a）和单位鲜重（b）的可溶性蛋白含量（2010）

Fig. 2-1-4 Soluble protein content expressed on the basis of area(a) or fresh weight (b) in the leaf and non-foliar organs of cotton at various days after anthesis in 2010

注：器官间，不同字母表示在0.05 水平上显著差异.

Between organs, bars with the different letters above them are not significantly different (*P*≤0.05).

#### **2.4** 各绿色器官的氮含量

3个绿色器官单位面积的氮含量顺序分别为：铃壳＞主茎叶片＞苞叶（表2-1-1），这与可溶性蛋白含量的趋势一致。然而3个绿色器官单位干重的氮含量顺序分别为：主茎叶片＞苞叶＞铃壳（图2-1-4b）。

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Organ | Nitrogen content  （g·m2） | Nitrogen content （%） |
| Leaves | 2.96 ± 0.02 b | 3.52 ± 0.02 a |
| Bracts | 0.58 ± 0.02 c | 2.34 ± 0.01 b |
| Capsule Wall | 12.38 ±0.13 a | 2.08 ± 0.02 c |

表2-1-1 主茎叶片及其对应苞叶和铃壳的单位面积和单位干重的氮素含量（开花后20天）Table 2-1-1 The nitrogen content of main leaves and their corresponding bracts and capsule wall (on 20 days after anthesis) expressed on the basis of surface area or dry weight (%)

注：3个重复，器官间，不同字母表示在0.05水平上显著差异.

The values are means±s. e. of three replicates. Between organs, bars with the different letters beside them are not significantly different (*P*≤0.05).



图2-1-5 开花后不同天数棉花各绿色器官单位面积（a, c）和单位鲜重（b, d）的叶绿素含量

变化(2009和2010)

Fig. 2-1-5 Changes in total chlorophyll (Chl) content of leaves, bracts, main stem and capsule wall expressed on the basis of surface area (upper panels) or fresh weight (lower panels) during various times after anthesis in 2009 (a, c) and 2010 (b, d)

#### **2.5** 各绿色器官叶绿素含量分析

非叶绿色器官（苞叶、主茎秆、铃壳）单位面积或单位鲜重的叶绿素含量均显著低于主茎叶片的（图2-1-5a, b）。随棉铃发育进程的推移，主茎叶片的叶绿素含量呈下降趋势。然而，非叶绿色器官单位面积的叶绿素含量，在生育初期会呈微略上升趋势，随后则下降（图2-1-5a）。非叶绿色器官单位鲜重的叶绿素含量下降幅度显著低于主茎叶片的

（图2-1-5c, d）。

#### **2.6** 各绿色器官光合作用对整株的相对贡献率

光合放氧能力可作为植物光合能力的指示指标（Caley et al., 1990）。各绿色器官碳固定对棉株的相对贡献率可通过不同生育期内各绿色器官的光合面积和光合放氧能力

的乘积来估算（表2-1-2），方法参考Aschan等（2005）。如表2-1-2所示，盛花期，主茎秆和棉铃（铃壳和苞叶）光合能力分别占总棉株的9.7%和4.4%。盛铃期，主茎秆和棉铃光合能力分别占总棉株的12.7%和23.7%。

表2-1-2 盛花期和盛铃后期各绿色器官(叶片、苞叶、主茎和铃壳)光合能力所占整株光合能力的比率(2010)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Organ | Photosynthesis rate（μmol O2 s1）  at peak flowering stage | Photosynthesis rate（μmol O2 s1）  at late full bolling stage |
| Leaves | 4.78 （85.9%） | 1.24 （63.6%） |
| Stalks | 0.542 （9.7%） | 0.247 （12.7%） |
| Bracts | 0.222 （4.0%） | 0.183 （9.4%） |
| Capsule Wall | 0.020 （0.4%） | 0.279 （14.3%） |

Table 2-1-2 Photosynthesis rates of whole leaves, whole bracts, whole stalks and whole capsule walls (μmolO2·s1) at the peak flowering stage and at the late full bolling stage in 2010

注：括号中的百分比数是棉花各绿色器官光合能力占整株棉花光合能力的比值，假设棉花各绿色器官在

1200μmol·m2·s1光强下.

The percent contribution of each green organ to photosynthesis rate of whole plant is shown in parentheses. We assumed that the organs were exposed to the saturating irradiance 1200μmol·m2·s1 in the field.

#### **2.7** 各绿色器官光合作用对产量形成的相对贡献率

用铝箔纸将棉铃和主茎秆进行遮荫处理得出棉铃（铃壳和苞叶）和主茎秆对整株棉花的铃干重、籽粒重、纤维重和铃壳干重的相对贡献率如表2-1-3所示。与对照棉株相比，遮荫处理的棉株，铃数显著减少。棉铃铃壳和主茎秆对单铃干重的相对贡献率分别为24.1%和9%，对籽粒重的相对贡献率分别为35.9%和16.3%。铃壳对纤维重的相对贡献率约为8.8%。铃壳和主茎秆对铃壳干重的相对贡献率分别为25.1%和5.4%。

表2-1-3棉铃（开花后15天开始）和主茎（8月1日开始）遮荫对棉株的铃数、铃干重、籽棉重、纤维重和铃壳干重的影响

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Treatment | Boll number per plant | Boll weight per plant（g） | Seed weight per plant（g） | Lint weight per plant（g） | Capsule weight per plant（g） |
| Control | 10.4±1.8 a | 64.3±11.7 a | 30.6±8.8 a | 17.1±2.2 a | 16.7±3.8 a |
| Boll （capsule wall  plus bracts） darkened | 8.1±1.7 b | 48.8±11.8 b | 19.6±7.5 b | 15.6±0.9 a | 12.5±3.6 b |
| （-22.1%） | （-24.1%） | （-35.9%） | （-8.8%） | （-25.1%） |
|  | 10.8±2.2 a | 58.5±8.6 ab | 25.6±7.5 ab | 17.0±2.2 a | 15.8±3.7 ab |
| Main Stem darkened |  |  |  |  |  |
|  | （3.8%） | （-9.0%） | （-16.3%） | （-0.5%） | （-5.4%） |

Table 2-1-3 Effect of darkening the boll (capsule wall and bracts) from 15 days after emergence to maturity and the main stem from 1st August to 15th September on boll number, boll dry weight, seed dry weight, lint dry weight and dry weight of capsule wall per plant, on 15th September

注：9个重复. 器官间，不同字母表示在0.05 水平上显著差异.

The values are means±s. e. of nine replicates. Values in parentheses are the percentage decrease due to placing the organs in darkness. Between organs, the different letter beside them are not significantly different (*P*≤0.05).

### **3** 讨论

#### **3.1** 各绿色器官的光合放氧能力和光合关键酶活性

越来越多的学者通过叶绿素荧光技术来研究非叶绿色器官的光合特性（Aschan & Pfanz 2003; 2006; Aschan et al., 2005）。然而，叶绿素荧光技术所测得的数据不能反映整个叶片组织的光合能力，尤其当叶片厚度较大时。分别通过叶绿素荧光和气体交换方法测定叶片的光合电子传递速率时，发现两者结果存在差异（Kingston-Smith et al., 1997; Tsuyama et al., 2003）。随着叶肉细胞测定深度的加深，测量光的光强会逐渐减弱，深处叶肉细胞发射出叶绿素荧光，使得叶绿素荧光信号重复吸收，这可能造成叶绿素荧光信号增大（Evans et al., 1993; Evans, 2009）。Oguchi等（2011a）通过多种传统的叶绿素荧光仪对受胁迫叶片的测定，结果显示采用红光测量光的叶绿素荧光仪所能探测的叶片深度要高于采用蓝光测量光时探测的深度。Bondada等（1994）研究表明陆地棉铃壳厚度（1013μm）显著高于叶片（152μm）。因此，张亚黎等（2010）采用叶绿素荧光技术测得铃壳PSII量子产额（约为叶片的33-64%）的结论就显得有些不确定。于是在本研究中，我们采用液相氧电极来测定各个绿色器官整体组织的光合能力。

在开花后20天，铃壳单位面积的光合放氧能力显著高于主茎叶片（图2-1-2）。开花后20天，铃壳单位面积的氮含量约为主茎叶片的4.2倍（表2-1-1），这与Wullschleger和Oosterhuis（1990a）的研究结果一致。叶片中50%以上的氮素分配到光合蛋白（Evans, 1989; Makino & Oomod, 1991），即在光合作用中起着重要作用的蛋白，如光合关键酶、

电子传递体，这通常与叶片单位面积的氮含量呈显著相关（Field & Mooney, 1986; Evans, 1989; Walcroft et al., 1997）。由于铃壳单位干重的氮含量显著低于叶片，而铃壳单位面积的氮含量显著高于叶片，这与其厚度显著高于叶片有关。因此，铃壳具有较高单位面积的光合放氧能力与其较大厚度有关。

在棉铃发育后期，铃壳单位面积的可溶性蛋白含量高于主茎叶片，然而其RuBPC活性却显著低于主茎叶片（图2-1-3a）。叶片RuBPC约占其可溶性蛋白含量的50%（Makino et al., 1983）。这可能是由于铃壳含有更多的PEPC这类可溶性蛋白，而不是RuBPC。开花后20天，铃壳单位面积的PEPC活性约是主茎叶片的200%（图2-1-3c），然而其RuBPC活性则仅是主茎叶片的59%。虽然不能通过叶片和铃壳的这两种蛋白活性的差异直接判断它们中这两种蛋白含量的多少。但可简单地假设各类酶的活性就是各类酶的含量，于是可得出铃壳单位面积的RuBPC和PEPC蛋白总和可能是主茎叶片中的59%-200%。本研究结果表明，铃壳单位面积的可溶性蛋白含量是主茎叶片的141%。以此类推，发现在棉铃的发育期间，各非叶绿色器官单位面积或单位鲜重的可溶性蛋白含量占主茎叶片的比例均介于在其RuBPC和PEPC所占比例之间。

铃壳单位面积的RuBPC活性显著低于主茎叶片，而其可溶性蛋白含量显著高于主茎叶片，这可能还有另一个原因。可能是RuBPC及其它可溶性蛋白未完全激活，而仅仅起着储存氮素的作用（Warren & Adams, 2004）。在主茎叶片中，氨基酸会引来昆虫（Prestidge & Mcneill, 1983; Cockfield, 1988），因此蛋白是更好的氮素储存形式。Warren和Adams

（2002）提出，在缺氮条件下，松树（*Pinus pinaster*）中过量的Rubisco可作为临时的氮源维持其生长和光合作用的进行。因此，与主茎叶片相比，富含氮素的铃壳，将氮素以蛋白的形式进行储存，在需要时可作为营养提供给棉株，这还使其较少受到昆虫的侵害

（与叶片相比）。当然，要明确这个假说，还需进一步研究在氮素亏缺的情况下，与叶片相比，铃壳是否受影响较小。

已有大量研究表明，非叶绿色器官具有PEPC和RuBPC活性，如大豆豆荚（Hedley et

al.，1975）、番茄果实（Bravd et al., 1977）。与旗叶相比，小麦叶片具有更高的PEPC/Chl

（Singal et al., 1986）。本研究结果表明，非叶绿色器官单位鲜重的PEPC活性显著低于叶片（图2-1-3d），而茎秆和铃壳单位面积的PEPC活性显著高于叶片（图2-1-3c）。非叶绿色器官茎秆和铃壳叶绿素单位的PEPC活性显著高于叶片，这与Singal等（1986）的研究结果一致。

#### **3.2** **T**h育期间各绿色器官光合参数的变化

盛花期，非叶绿色器官的表面积占整个棉株的28.4%，而盛铃期增至38.2%（图2-2-1a）。非叶绿色器官的表面积大小是影响生物量的重要因子。Aschan等（2005）研究表明，莬葵（*Helleborus viridis* L.）的叶片发育较晚，因此初春时，占总植株表面积56%的萼片成为主要的碳同化光合器官。雪莲（*Galanthus nivalis* L.）的花器虽然仅占整体植

株生物量的一小部分，但是其光合作用对花和种子的发育却是至关重要的（Aschan & Pfanz, 2006）。在棉花生育后期叶片逐渐衰老脱落，非叶绿色器官铃壳和苞叶的表面积显著增加，因此，我们推测非叶绿色器官光合物质生产可能对棉株的干物质积累的相对贡献会增加。

前人研究表明，棉花叶片的光合速率约在完全展开后15天达到峰值，峰值约维持12天左右，此后其光合速率则呈下降趋势，在完全展开后70天可能降至0（Constable &

Rawson，1980）。与棉花的主茎叶相比，棉铃的对位叶通常在开花前出现。研究表明棉花第八台果节的花蕾开花时，其对位叶大约完全展开后18天（Wullschleger & Oosterhuis，

1990b）；我们的调查结果也显示，大约在对位叶完全展开20天后才开花。这表明在棉铃发育的初期，光合速率已达峰值的对位叶可能还能为其提供足够的碳水化合物，但在棉铃快速发育时，对位叶的光合速率已逐渐下降以致不能再满足棉铃的发育。Oosterhuis等（1983）研究表明，主茎叶和果枝叶的含氮量分别在播种后30和70天开始下降（即开始逐渐衰老）。然而，开花后非叶绿色器官苞叶和铃壳仍保持较长时间的光合能力（图2-1-2）。棉花开花结铃后其主茎叶开始衰老，因此，棉铃发育所需的能量主要由新生的对生叶和非叶绿色器官来提供的。由于非叶绿色器官苞叶和铃壳的光合表面积显著增加，且其光合能力维持的时间较长，因此，在生育后期当叶片衰老时，非叶绿色器官的光合作用可能起着补偿作用。

本研究结果表明，在开花后5至20天，叶片的RuBPC活性开始呈下降趋势，然而非叶绿色器官仍能保持较稳定的RuBPC活性（图2-1-3）。因此，尤其在生育后期，非叶绿色器官的光合作用可能对棉铃发育起着重要的作用。在生育后期，虽然叶片和主茎秆的光合速率下降，但却仍保持较好的PEPC活性（图2-1-2），这表明PEPC并不能保持光合作用的稳定性，PEPC的功能到底是什么还需进一步研究。

叶绿素在光能吸收和转化中起着重要的作用，是光合作用的基础。本研究发现，随棉铃发育进程的推移，各非叶绿色器官的叶绿素含量下降幅度均小于主茎叶片（图2-1-5）。叶绿素的降解是叶片衰老的体现。在棉铃发育后期，非叶绿色器官的光合放氧能力和叶绿素含量下降幅度均小于叶片，这表明非叶绿色器官的衰老较慢。

#### **3.3** 各绿色器官光合作用对产量形成的贡献

蓝莓（*Vaccinium ashei* Reade）果实光合作用占果实发育所需碳水化合物的15%

（Birkhold et al., 1992）。水稻圆锥花序光合作用约占谷粒所需碳水化物的20-30%

（Ishihara et al., 1991）。非叶绿色器官（穗和穗下节）对每穗粒重的贡献约为40-50%

（Araus et al., 1993; Wang et al., 2001）。因此，作物非叶绿色器官的光合作用对产量形成具有重要的生理意义。已有不少学者研究棉花非叶绿色器官的光合生理机制

（Wullschleger & Oosterhuis, 1990a; Bondada et al., 1994；Bondada & Oosterhuis, 2000）；然而有关棉花非叶绿色器官光合作用对产量形成的贡献却并未见详细报道。

棉株生育后期，叶片的光合能力及叶面积占整体植株的比例下降，而非叶绿色器官不仅能保持较稳定的光合速率，且其光合面积显著增加。在棉铃的整个发育时期内，茎秆能保持相对稳定的表面积，约占植株总面积的15.6-17.3%（图2-1-1a-c）。盛花期，以开花后5-15天主茎秆光合放氧速率的平均值作为这个时期茎秆的光合速率，得出茎秆光合能力约占整个棉株光合能力的9.7%，盛铃期约占12.7%（表2-1-2）。杜明伟等（2009b）报道高产杂交棉生育后期茎秆群体光合占总群体光合速率的9-11%。从盛花期到盛铃期，非叶绿色器官苞叶和铃壳的表面积显著增加（图2-1-1a-c）。如果我们将开花后20-50天各个绿色器官光合放氧速率的平均值作为盛铃期各个绿色器官的光合速率，可估算得出棉铃（苞叶和铃壳）光合能力对整个棉株光合能力的23.7%（表2-1-2）。

我们认为在1200μmol·m-2·s-1光强下所测得各绿色器官的光合放氧能力均是饱和光下各绿色器官的光合速率。这可以从两个方面证实其合理性。首先，通过叶绿素荧光技术所测得的ETR光响应曲线表明，叶片、苞叶、主茎秆和铃壳的光饱和点分别为1292，344，344, 536μmol·m-2·s-1。非叶绿色器官较低的RuBPC活性则进一步说明了其较低的光饱和点（图2-1-3a）。其次，新疆夏季光辐射强度平均在1200μmol·m-2·s-1以上的时间有

8.5小时（图2-1-6），这样可以认为即使处于不同层次的非叶绿色器官也能达到光饱和。本研究只测定了生育期间主茎秆的光合放氧速率（2008年试验数据表明茎秆和叶柄的光合速率几乎相等），因此本文用主茎秆的光合放氧速率代表棉株所有茎秆（包括主茎秆和叶柄）的光合速率。本文的另一个不足之处是只测定了生育期内主茎叶片和其它绿色非叶绿色器官的光合放氧速率，而未测定棉铃对应的果枝叶光合速率。因此，这种方法可能高估了各绿色器官光合作用对产量形成的贡献，但这还是为揭示各绿色器官光合作用对产量形成的贡献提供了一定的参考价值。



图2-1-6 垂直方向和水平方向上的光辐射强度的日变化

Fig. 2-1-6 Typical diurnal time-course of irradance about 1m above the ground from horizontal orientation

棉铃和主茎秆光合作用对单株总铃干重的相对贡献率分别为24.1和9%（由遮荫试验得出）。这进一步说明了通过各绿色器官的光合放氧速率和表面积相乘估算出的各绿色器官光合能力占整个棉株光合能力的比例具有一定的合理性。Wullscheger等（1991）通过气体交换估算的铃壳光合作用占棉铃发育所需碳的10%，然而，我们所得的铃壳光合作用对棉铃发育的贡献率更高些。在棉铃发育后期，与逐渐衰老的叶片相比，具有较稳定光合速率的铃壳可能是更为重要的碳同化器官。此外，由于光合源非叶绿色器官（铃壳和苞叶）距离库（纤维和籽粒）较近，因此铃壳和苞叶对生殖器官的生长发育可能具有更为重要的作用。在新疆，棉花的生育后期温度显著低于盛花期，尤其是夜间温度。低温降低了植物光合产物的转移速率（Caldwell et al., 1977）。由此推测运输距离较短的非叶绿色器官（苞叶和铃壳）光合物质可能更利于纤维和籽粒的形成。棉花经济产量主要在生育后期形成的，因此我们认为在生育后期相对贡献率显著增加的非叶绿色器官的光合作用显得更为重要。因此，在筛选高产量棉花品种时，也应将非叶绿色器官的光合作用纳入考虑范围。未来的研究不仅要考虑如何通过改善棉花叶片的光合性能提高棉花产量，还要考虑如何改善棉花非叶绿色器官的光合特性。

## 第二节 超高产杂交棉非叶绿色器官的光合特性及与产量形成的关系

作物高产超高产研究历来是国内外农业科学家所关注的热点问题之一。新疆是我国最重要的优质高产棉区，近年来，随着膜下滴灌技术的应用以及杂交棉的推广种植，棉花单产水平大幅度提高。对超高产杂交棉光合生理的研究表明，杂交棉产量形成优势并未体现在单叶光合能力的提高，而主要表现在群体光合能力的提高，这除了与叶面积指数较高和冠层透光性较好有关外，还与非叶绿色器官光合能力的提高有关。杜明伟等

（2009b）和张亚黎等（2010）研究表明，杂交棉非叶绿色器官茎秆和铃壳的群体光合速率显著高于常规棉品种；杂交棉非绿色器官较高光合物质生产能力与其对强光的适应能力和抗光抑制能力等有关（张亚黎等，2010）。目前虽然对超高产杂交棉光合特性的研究开展较多（杜明伟等，2009a；张亚黎等，2010；冯国艺，2012），但对于超高产杂交棉非叶绿色器官光合特性的生理机制研究较少，有关杂交棉不同生育时期光合能力变化与超高产形成的关系未见详细报道。因此，本文选用2个杂交棉和1个常规棉品种，开展棉花叶片和非叶绿色器官光合特性的研究，比较不同品种叶片和非叶绿色器官的光合关键酶活性、可溶性蛋白含量、表观量子效率（AQY）、光合面积变化的差异，结合干物质积累特性，探索超高产杂交棉非叶绿色器官光合作用的优势及其生育期变化，为进一步提高棉花产量水平奠定理论基础。

### **1** 材料与方法

#### **1.1** 供试材料

依据中国棉花栽培学界（中国棉花栽培学，1983）对棉花株型的划分，选用新疆棉区棉花种植面积较大的3种不同叶型、株型品种（杂交种），分别为具有鸡脚叶形的杂交棉石杂2号（株型松散）、常规叶形杂交棉新陆早43号（典型塔状）、小叶型零式果枝常规棉品种新陆早33号（典型筒形）。

#### **1.2** 试验概况

试验于2010-2011年在石河子大学农学院试验站进行（45°19′N，86°03′E）。2010年4月24日播种，4月30日出苗；2011年4月17日播种，4月23日出苗。生育期滴水12次，水量为6000 m3·hm-2，8月底停水。田间种植方式及管道铺设方法同大田膜下滴灌棉花，每公顷留苗1.8×10 5株，株距为12cm。播前深施有机肥1500 kg·hm–2，氮素240 kg·hm–2，三料磷肥172.5 kg·hm–2作基肥，全生育期随水滴施氮素260 kg·hm–2。化学调控6次，缩节胺用量为300g·hm–2。其他管理措施同一般大田管理。

#### **1.3** 测定项目和方法

光合放氧和关键光合酶的测定材料均取材于打顶后倒二叶及对应的茎、苞叶和铃壳。为减少误差，分别在2010年7月10日和2011年7月7日标定400株棉株的倒二叶第一果枝。

##### **1.3.1** 农艺性状的调查

于收获期各处理选有代表性植株10株，分别测定不同棉花杂交种（品种）株高，考察植株不同果枝部位单铃重，并折算各个处理单铃重。各个处理随机选取3个点，每个取样点面积2.8-3.4 m2，调查各样点全部株数和铃数，折算出单株结铃数和单位面积总铃数，以实收籽棉产量计产。分别统计不同杂交棉株高、单株铃数、单铃重、衣分和产量。

##### **1.3.2** 光合放氧能力和表观量子效率的测定

光合放氧能力的测定方法同第二章第一节；表观量子效率通过光强0，50，150和200μmol·m-2·s-1所求得的初始效率。

##### **1.3.3** **RuBPC**活性和可溶性蛋白含量测定

RuBPC活性测定和可溶性蛋白含量的方法与第二章第一节相同。2010年只测了不同品种开花后5天和20天各绿色器官的光合酶活性和可溶性蛋白含量；2011年测定了开花后5、15、30、40天各品种不同绿色器官的光合酶活性和可溶性蛋白含量。

##### **1.3.4** 光合面积和Th物量测定

在盛花期（7月17日）、盛铃前期（7月30日）、盛铃后期（8月22日）测定不同棉花杂交种（品种）各绿色器官的光合面积和生物量，方法参照第二章第一节。

##### **1.3.5** 数据统计及分析

采用Microsoft Excel 2003和SPSS软件分析处理试验数据，用SigmaPlot 9.0作图。

### **2** 结果与分析

#### **2.1** 农艺性状的变化

从表2-2-1可看出，杂交棉新陆早43号和石杂2号的株高均高于常规棉33号。通过测产和产量实收统计，新陆早43号、石杂2号2个杂交棉品种均实现3000kg hm-2以上水平，其中新陆早43号产量最高，较石杂2号、新陆早33号分别高13.8%和41.8%。进一步分析产量构成因子可以看出，与石杂2号相比，新陆早43号能实现高产，主要是单株铃数、铃重及衣分增加；而新陆早33号产量低的主要原因是单株铃数和衣分较低，其中单株结铃数较新陆早43号低16.7%，单铃重低1.72%；因此单株结铃数少是限制产量水平提高的重要因素。

表2-1-1 不同棉花杂交棉（品种）的株高及产量构成因素

Table 2-1-1 The height and yield components in various cotton cultivars

| Cultivar | Height  （cm） | Boll No.  Per plant | Boll weight  （g） | Lint percentage  （%） | Lint yield  （Kg hm-2） |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Xinluzao43 | 76.3 ± 1.2 ab | 9.0 ± 0.4 a | 5.8 ± 0.3 a | 44.0 ± 2.1 a | 3737 ± 157 a |
| Shiza2 | 78.9 ± 2.6 a | 8.6 ± 0 .4b | 5.7 ± 0.3 b | 43.4 ± 2.0 b | 3285 ± 138 b |
| Xinluzao33 | 71.7 ± 0.9 b | 7.5 ± 0.4 c | 5.7 ± 0.3 b | 28.8 ± 1.8 c | 2636 ± 107 c |

注： 品种间， 不同字母表示在0.05水平上显著差异.

Between cultivars, the different letters beside them are not significantly different (*P*≤0.05).



图2-2-1 不同Th育时期棉花杂交棉（品种）各绿色器官表面积和干物质的变化

Fig. 2-2-1 Changes in surface area and dry matter production of each green organs in various cotton cultivars during the growth stages

注: FF: 盛花期; EFB: 盛铃初期; LFB:盛铃后期. L: 叶片; B: 苞叶; S: 茎秆; CW: 铃壳.

FF: full flowering; EFB: early full bolling; LFB: late full bolling. L: leaf; B: bract; S: stalks; CW: capsule wall.

#### **2.2** 各绿色器官光合面积的变化

从图2-2-1可以看出，常规棉新陆早33号的叶片表面积在盛花期达到峰值，杂交棉新陆早43号和石杂2号的叶片面积在盛铃初期才达到峰值。随生育进程的推进，棉花不同品种非叶绿色器官所占比重变大，在盛铃后期杂交棉新陆早43号和石杂2号的非叶绿色器官表面积占整株棉花光合面积的比例分别为38.1%和38.8%。

从盛铃前期至盛铃后期，杂交棉新陆早43号和石杂2号的叶片干物质分别降低了8.5%和23.9%。从盛花期至盛铃前期，杂交棉新陆早43号、石杂2号和新陆早33号的茎秆干物质增加了22.12%、9.77%和2.67%。在盛铃后期，不同棉花品种的茎秆干物质呈现不同程度的下降趋势，杂交棉新陆早43号、石杂2号和新陆早33号的茎秆比盛铃前期分别下降了20.04%、19.65%和9.34%。从盛铃前期到盛铃后期，不同棉花品种的铃壳干物质呈现不同程度的增加趋势，杂交棉新陆早43号、石杂2号和新陆早33号的铃壳干物质分别增加了360.8%、303.6%和298.8%。

#### **2.3** 各绿色器官光合放氧能力的变化

从图2-2-2可看出，随生育时期的推移，不同棉花品种叶片的光合放氧速率呈下降的趋势，在开花后5-15天，杂交棉新陆早43叶片的光合放氧化速率均显著高于常规棉33号，石杂2号叶片的光合放氧速率在开花后5天显著高于其它两个品种，而随生育时期的推移，石杂2号叶片光合放氧速率的下降幅度均高于其它两个品种，表现出早衰现象。不同棉花品种苞叶的光合放氧速率随生育时期的推移，呈先增加后降低的单峰趋势，开花后5-30天，杂交棉新陆早43号苞叶的光合放氧速率均显著高于常规棉新陆早33号，石杂

2号苞叶略高于新陆早33号。在测定生育时期内，不同棉花品种茎秆单位面积的光合放氧速率没有显著性差异。在开花后15-20天，杂交棉新陆早43号和石杂2号铃壳的光合放氧速率均高于常规棉新陆早33号。



图2-2-2 开花后不同天数不同棉花杂交棉（品种）各绿色器官光合放氧速率的变化

Fig. 2-2-2 Changes in oxygen photosynthetic rate of each green organ in various cotton culivars at various

Days after anthesis

#### **2.4** 各绿色器官表观量子效率的变化

不同棉花品种各绿色器官表观量子效率（AQY）的大小顺序依次为：铃壳、叶片、茎秆和苞叶（图2-2-3）。不同棉花品种叶片的AQY随生育时期的推移呈下降趋势；苞叶

AQY随生育时期变化幅度较小，而铃壳AQY随开花后天数的增加呈上升趋势。



图2-2-3 开花后不同天数时不同棉花杂交棉（品种）各绿色器官表观量子效率的变化

Fig. 2-2-3 Changes in apparent quantum yield(AQY) of each green organ in various cotton cultivars at various days after anthesis

#### **2.5** 各绿色器官**RuBPC**活性和可溶性蛋白含量的变化

由图2-2-4可知，杂交棉新陆早43号叶片的RuBPC活性均高于常规品种新陆早33号，杂交棉石杂2号叶片的RuBPC活性随着生育时期的推进下降幅度较大。不同棉花品种苞叶的RuBPC活性没有显著性差异。杂交棉43号和石杂2号茎秆和铃壳的RuBPC活性均高于常规品种新陆早33号。

由图2-2-5可知，开花后15-40天，杂交棉新陆早43号叶片可溶性蛋白含量的下降幅度较小，而石杂2号叶片的下降幅度最大，表现出早衰现象。不同棉花品种苞叶、茎秆的可溶性蛋白含量随生育进程呈现出与叶片相同的变化趋势；常规品种新陆早33号铃壳的可溶性蛋白含量在生育后期下降幅度约为49.2%，显著大于其它品种。



图2-2-4 开花后不同天数时不同棉花杂交棉（品种）各绿色器官RuBPC活性的变化

Fig. 2-2-4 Changes in RuBPC activity of each green organ in various cotton cultivars at various days after anthesis

注：柱形图为2010年开花后5和20天各绿色器官RuBPC活性的变化；线性图为2011年不同开花后天数的各绿色器

官RuBPC活性的变化；不同小写字母表示开花5天后品种间在0.05水平上差异显著， 不同大写字母表示开花后20

天品种间在0.05水平上差异显著.

Bar Chart: changes in RuBPC activity of each organ at 5 and 50 days after anthesis in 2010; line scatter plot: changes in RuBPC activity of each organ at various days after anthesis in 2011; Different letters denote significant differences among three cotton cultivars at 5 days after anthesis (lowercase letters) and at 20 days after anthesis (uppercase letters).



图2-2-5 开花后不同天数时不同棉花杂交棉（品种）各绿色器官可溶性蛋白含量的变化

Fig. 2-2-5 Changes in soluble protein content of each green organ in various cotton cultivars at various days after anthesis

注：柱形图为2010年开花后5和20天各绿色器官可溶性蛋白含量的变化；线性图为2011年不同开花后天数的各绿

色器官的可溶性蛋白含量的变化；不同小写字母表示开花5天后品种间在0.05水平上差异显著；不同大写字母表示开

花后20天品种间在0.05水平上差异显著.

Bar Chart: changes in soluble protein content of each organ at 5 and 50 days after anthesis in 2010; line scatter plot: changes in soluble protein content of each organ at various days after anthesis in 2011. Different letters denote significant differences among three cotton cultivars at 5 days after anthesis (lowercase letters) and at 20 days after anthesis (uppercase letters).

#### **2.6** 植株干物质积累的变化

从图2-2-6可以看出，在生育后期（盛铃前期和后期）杂交棉新陆早43号、石杂2号和新陆早33号的干物质积累速率均快于其生育前期（盛花期），这表明棉花的产量形成主要在生育后期完成的。从播种后至盛花期，杂交棉新陆早43号和石杂2号的干物质积累速率分别为0.68和0.71g·d-1，显著高于常规品种新陆早33号的干物质积累速率

（0.62g·d-1）。杂交棉新陆早43号和石杂2号的这种杂交优势可保持到盛铃初期。从盛铃前期至盛铃后期，杂交棉新陆早43的干物质积累速度高达1.9g·d-1，石杂2号的干物质积

速率为1.37g·d-1.

随生育进程的推移，不同棉花品种的生殖器官/营养器官比值逐渐增大，杂交棉新陆早43号和石杂2号的生殖器官/营养器官比值分别为1.54和1.52。



图2-2-6 Th育时期内不同棉花（品种）棉株干物质积累的变化

Fig. 2-2-6 Changes in dry matter accumulation of whole cotton in various cotton cultivars during the growth stages

注: AS:播种; FF: 盛花期; EFB: 盛铃初期; LFB:盛铃后期.

AS: after sowing; FF: full flowering; EFB: early full bolling; LFB: later full bolling.

### **3** 讨论

#### **3.1** 杂交棉Th育期间非叶绿色器官的光合能力变化特性

从图2-2-1可以看出，2个杂交棉新陆早43号和石杂2号的叶片表面积在盛铃初期达到峰值，而常规棉新陆早33号叶片表面积在盛花期已达到峰值，这与冯国艺（2012）研究结果一致。光合放氧能力是植物光合能力的衡量指标之一（Caley et al., 1990）。作物的光合生产能力与其光合面积、光合时间、光合能力和光照强度均有关。开花后5-15天，杂交棉新陆早43号和石杂2号叶片的光合放氧能力均高于常规棉新陆早33号（图2-2-2），这可能是杂交棉品种播种后至盛花期干物质积累较多的原因之一。然而，随生育时期的推移，石杂2号叶片的光合放氧速率呈大幅度下降，这导致盛铃后期其干物质积累速率较低。由此可以看出，杂交棉新陆43号和石杂2号在生育前期表现出明显的杂交优势。开花后5-30天，杂交棉新陆早43号苞叶的光合放氧速率显著高于常规棉新陆早33

号，这表明杂交棉新陆早43号苞叶具有明显的杂交优势，这对其超高产的形成具有重要的贡献作用。杜明伟等（2009a）和张亚黎等（2010）研究均表明杂交棉茎秆和果实的群体光合速率显著高于常规品种。而本研究结果表明，开花后不同天数，并未发现杂交棉新陆早43号和石杂2号茎秆单位面积的光合放氧能力显著高于常规棉新陆早33号，这

可以解释为杂交棉与常规棉品种茎秆的群体光合能力差异是由其茎秆的光合面积不同引起的，这与杂交棉新陆早43号和石杂2号株高显著高于常规棉新陆早33号的结果一致

（表2-2-1）。开花后15-20天，杂交棉铃壳单位面积的光合放氧速率表现出明显的杂交优势，而生育后期杂交棉铃壳单位面积的光合放氧速率与常规棉新陆早33号的铃壳相差不大，而杂交棉果实在群体光合速率中所表现的杂交优势（杜明伟等2009a；张亚黎等，

2010），应该是由于杂交棉较大的铃壳光合面积引起的。此外，研究结果显示，棉花生育前期（盛花期），叶片的表观量子效率较高（AQY）（图2-2-3），随后逐渐减小，这表明在盛花期棉花叶片能有效地利用弱光进行光合作用；随生育期的推移，棉花非叶绿色器官苞叶的AQY变化幅度较小，而非叶绿色器官铃壳的AQY呈增大趋势，表明在生育后期，棉花非叶绿色器官苞叶和铃壳能在冠层内荫蔽以及傍晚和早晨等弱光条件仍能进行光合作用，这对产量形成具有重要的意义。

#### **3.2** 杂交棉Th育期间各绿色器官**RuBPC**和可溶性蛋白含量的变化

RuBPC约占可溶性蛋白含量的50%（Makino et al., 1983）。从图2-2-4可看出杂交棉新陆早43号叶片的RuBPC活性显著高于常规棉33号，这与其光合放氧能力的趋势一致。随着生育期的推移，作物叶片的可溶性蛋白将逐渐降解。由图2-2-4和图2-2-5中可以看出，杂交棉石杂2号随生育时期的推移，其RuBPC和可溶性蛋白含量的下降幅度较大，表明杂交棉石杂2号发生了早衰现象，这与生育后期其叶片功能下降较快以及叶片脱落明显（图2-2-1）的结果一致。

随生育进程的推移，杂交棉新陆早43号和石杂2号非叶绿色器官RuBPC活性的下降幅度较大，然而其可溶性蛋白含量的下降幅度显著小于常规棉新陆早33号，叶片光合能力的大小与RuBPC的含量、活性均有关，这表明，生育后期杂交棉新陆早43号非叶绿色器官能保持光合速率的稳定性与其维持较稳定的可溶性蛋白含量有关。

#### **3.3** 杂交棉各绿色器官干物质积累与产量形成的关系

小麦的干物质积累与其产量之间存在显著正相关性（Condon et al., 1987）。因此，进一步提高谷粒产量，就要设法增加生物产量，加强干物质生产（Specht et al., 1999）。

3个棉花品种（杂交棉）在生育后期（盛铃期）的干物质积累速率均快于生育前期（盛花期），这表明棉花的干物质积累更多在生育后期（盛铃期）形成的（图2-2-6）。从播种后至盛花期，杂交棉新陆早43号和石杂2号的干物质积累速率显著高于常规棉新陆早33号；从盛铃前期至盛铃后期，杂交棉新陆早43号的干物质积累速度仍显著高于常规棉新陆早33号（图2-2-6）。由于产量的形成是一个综合的过程，保持各阶段都有较高的生产能力，才能保证有较高的产量，因此杂交棉新陆早43号干物质积累多是其产量高的重要原因。然而，在生育前期杂交棉石杂2号盛花期的干物质积累速率较快，但盛铃期的干物质积累速率却较小，新陆早33号生育前期的干物质积累速率较慢，而盛铃期的干物质积累速率较快，两个品种生育期内所积累的干物质相差不多。杂交棉新陆早43号、石杂

2号、常规棉新陆早33号在单铃干重上相差不大（表2-2-1），但常规棉新陆早33号的产量显著低于杂交棉品种与其衣分低有关。

本研究结果显示，从盛铃前期至盛铃后期，杂交棉新陆早43号和石杂2号叶片干物质量均有所下降，这表明生育后期棉花叶片逐渐开始衰老并转移其光合产物。在棉花生育后期（叶片开始衰老），棉花非叶绿色器官光合作用对其产量形成具有重要的作用（第二章第一节）。杂交棉的杂交优势并未体现在单叶水平光合能力的提高上（杜明伟等，

2009a；b），非叶绿色器官对强光的适应能力和抗光抑制能力较强是杂交棉光合物质生产能力较高的原因（张亚黎等，2010）。本研究中，我们测定了不同生育期茎秆的干物质重量。与干物质的转移相比，植物的呼吸作用可以忽略不计（Cruz-Aguado et al., 2000）。茎秆干物质量的变化可作为谷粒充实过程中其可溶性碳化合物转移的良好指标（Ehdaie et al., 2008）。结果显示，从盛花期至盛铃前期，杂交棉品种的棉花茎秆干物质积累幅度较大，而盛铃后期，杂交棉茎秆干物质的下降幅度显著高于常规棉新陆早33号，这表明杂交棉茎秆贮藏的物质较多地被运输到棉铃中去。在热胁迫下，小麦茎秆中所贮藏的物质可能是谷粒发育的一个重要碳源（Blum et al., 1994）。由此可推测，在逆境时，杂交棉茎秆中所贮藏的物质可能起着一个“缓冲液”的作用，这对产量形成具有重要的意义。生育后期，超高产杂交棉茎秆的光合贡献率为常规高产棉花的1.6-4.9倍（杜明伟等，

2009a）。茎秆贮藏物质的运转与淀粉的降解机制有关（Yang et al., 2001），但有关不同品种棉花茎秆贮藏物质的运转机制尚有待进一步研究证实。此外，从盛铃前期到盛铃后期，杂交棉新陆早43号棉铃干物质积累幅度高达360.8%，显著高于其它两个品种，这为其高产的形成提供了较大的库。增加生殖器官中的干物质积累以便建立一个潜在的大

“库”，从而间接地提高了作物的产量（Richards, 2000）。因此，能保持整个生育期较高的物质生产能力和生育后期茎秆贮藏物质较好的运转能力是棉花高产的重要保障。

# 第三章 棉花非叶绿色器官光合特性及光保护机制的研究

棉花非叶绿色器官光合作用在生育后期产量形成过程中具有十分重要的作用（第二章第一节）。因此，进一步研究棉花叶片和非叶绿色器官的光合特性变化，对充分发挥非叶绿色器官的光合作用具有重要的意义。由于棉铃具有极高的呼吸速率，在苞叶和棉铃之间形成一个高浓度CO2的微环境，非叶绿色器官苞叶和铃壳是如何适应的？基于棉花的这种特殊环境，棉花叶片与各非叶绿色器官的光保护机制是否会发生变化？然而，像铃壳这类比较厚的组织，研究叶片光合特性的传统测定方法显得有些不足（叶绿素荧光所测定的叶肉细胞的层次不明确（Oguchi et al., 2011）；氧电极的测定耗时长），因此寻找快速、准确的测定方法对进一步研究棉花叶片和非叶绿色器官的光合特性具有重要的意义。

基于以上原因，本章重点探讨了棉花变态叶——“苞叶”适应高浓度CO2微环境的生理生态机制，同时研究了棉花叶片与非叶绿色器官的光保护机制，揭示了棉花不同光合器官光保护机制的差异；并建立了用P700氧化还原动力学分析棉花叶片功能性的PSII的测定方法，为进一步开展棉花非叶绿色器官的光合特性的研究奠定了基础。

## 第一节 棉花苞叶适应棉铃高呼吸速率形成的高浓度CO2微环境的光合Th理机制

随着全球CO2等温室气体的大量排放，大气中CO2浓度急剧增加，有关叶片如何适应高浓度CO2环境的研究越来越多（Stitt, 1991；Mulchi et al., 1992；Gunderson & Wullschleger, 1994；McKee & Woodward, 1994；Sage, 1994；Webber et al., 1994；Nie et al., 1995；Long et al., 2004；Ainsworth & Long, 2005）。有不少的学者提出把生长在温泉的植物作为研究植物对高浓度CO2适应机制的实验材料。由于天然温泉中的高浓度CO2经过很长时间积累的（Miglietta & Raschi，1993；Bettarini et al., 1998；Onoda et

al.，2009）。因此，生长在温泉的植物能适应高浓度CO2环境，也更具有长期适应高浓度

CO2的生理机制。Onoda等（2009）研究表明，与在正常环境中生长的植物相比，生长在高浓度CO2温泉中的植物具有较低的气孔导度和较高的水分利用效率（WUE）。这一结果与适应高浓度CO2的理论机制是一致的（Sage 1994; Drake et al., 1997）。在高浓度

CO2环境中，生长在温泉的植物会减少气孔数量和蒸腾速率，并保持光合速率，因此提高了其WUE。根据Farquhar等（1980）提出的光合模型，RuBP的再生速率或RuBP的羧化速率均能影响光合速率。因为RuBP的羧化速率取决于胞间CO2浓度（*Ci*），当环境中的CO2浓度较高时，RuBP的再生速率将成为影响光合速率的限制因子。因此，前人所提出的植物适应高浓度CO2的理论机制，即在高浓度CO2环境下，植物会增加RuBP再生所

需的蛋白，而减少RuBP羧化过程所需的蛋白，这将增加氮素利用效率和*Jmax*/*Vcmax*比值

（Sage, 1994；Medlyn, 1996；Drake et al., 1997；Hikosaka & Hirose, 1998），高浓度

CO2相关的实验可证明此观点（Long et al., 2004; Ainsworth & Long, 2005）。理论上认为在高浓度CO2环境中生长的植物具有较高的*Jmax*/*Vcmax*，然而Onoda等（2009）报道来源于高浓度CO2温泉的植物并未具有较高的*Jmax*/*Vcmax*。事实上，温泉自身所具有的某些特性可能也影响植物，像SO2的扩散和水质的作用，很难与高浓度CO2的影响区分开。为免去这一因素的影响，我们发现植物体中存在类似的高浓度CO2微环境。在本研究中，将重点研究由具有高呼吸速率的生殖器官（棉铃）所形成的高浓度CO2微环境。植物生殖器官尤其是果实或相应的其它器官通常具有极高的呼吸速率（Wullschleger &

Oosterhuis，1990a），高呼吸速率能形成一个CO2倍增的微环境，这种微环境有上百万年的历史。陆地棉是提供全世界原棉的重要经济作物，它的果实具有非常高的呼吸速率。包裹在果实外的三瓣特殊的“叶子”：苞叶，具有光合能力，并在产量形成后期具有十分重要的意义（Constable & Rawson, 1980; Wullschleger et al., 1990;见第二章第一节）。因此，我们提出以下两个假说：1）具有高呼吸速率的棉铃是否有形成了一个高浓度CO2的微环境；2）苞叶具有适应高浓度CO2环境的光合生理机制。由于苞叶具有与叶片相类似的形态结构，因此可以作为与叶片相比的良好材料。本研究我们从棉花叶片和苞叶的形态和生理两方面研究，揭示苞叶适应高浓度CO2的光合生理机制。形态指标包括气孔密度，生理指标包括RuBP羧化速率、RuBP再生速率及气体交换所得出的气孔导度和水分利用效率（WUE），再结合光合蛋白组分。

### **1** 材料与方法

#### **1.1** 试验地点概况和试验设计

陆地棉Deltapine 90于2011年2月至5月种植在澳大利亚国立大学（堪培拉）的玻璃温室里，生长期间温度大约为28/18℃（白天/夜间）。每周两次营养液，营养液中含有Aquasol

（23%N，4%P，18%K，澳大利亚）和能缓慢释放养分的肥料Osmocote（澳大利亚）。

2011年4月开始，用标签纸标定开花日期。采用气体交换方法分别测定铃龄为10、15、

20和30天的主茎叶片、苞叶和棉铃（其中开花后15天只测定了棉铃）。陆地棉新陆早13号于2011年4月-9月种植在新疆石河子市石河子大学农学院实验站。棉铃生长期间温度大约为29.5/21.0 ℃（白天/夜间）。本研究中的气孔数据从大田试验获得（表3-1-1）。大田试验种植的棉花所获得的气体交换数据与温室生长的棉花基本规律一致。

#### **1.2** 测定项目和方法

##### **1.2.1** 气孔密度的测定

分别测定大田棉花（中国新疆）开花后20天的主茎叶片及其对应苞叶的气孔密度和气孔孔隙。用指甲油在其表皮涂上薄薄的一层，待其凉干后慢慢地从表面撕下，放在光

学显微镜下观察。分别取3个不同植株上的叶片、苞叶的气孔切片，每个叶片、苞叶取3个位点。

##### **1.2.2** 叶片和苞叶的解剖结构的测定

取开花后20天的主茎叶片和苞叶，FAA进行固定，一系列浓度的酒精溶液进行脱水并用石蜡包埋。用薄片切片机切成10μm厚度的纵切面，并用番红和固绿染色。然后封片用光学显微镜（Vanox, Olympus, Tokyo, Japan）在200倍下观察、拍照，并用这些照片测定组织的厚度。

##### **1.2.3** 气体交换参数的测定

气体交换数据由便携式光合测定仪Li-cor6400分别测定主茎叶片及对应的苞叶、果实（包括铃和苞叶）和单个棉铃获得的。测定带苞叶的棉铃（图3-1-1a）和单个棉铃（图3-1-1b）时，均用簇状叶室6400-05和白光LED光源（Luxeon LEDs; Electus Distribution,

NSW）。测定主茎叶片和苞叶的气体交换时，用常规叶室6400-02B（内置光源）。测定过程中，主茎叶片和苞叶始终在棉株上，即活体测定。

在测定各绿色器官的光响应曲线时，叶片从2000μmol·m-2·s -1光强开始测定，整个果实（带苞叶的棉铃）和单个棉铃从1117μmol·m-2·s -1光强开始测定，随后逐步减小光强进行测定。假定黑暗中的碳同化速率为呼吸速率（图3-1-2）。叶片温度和叶室温度分别保持在25℃和400μmol·mol-1的CO2浓度。整个果实和棉铃的光响应曲线测定4个重复，叶片的光响应曲线测定2个重复。

通过分析叶片和苞叶的CO2响应曲线，得到其碳同化速率、气孔导度、*Ci*/*Ca*比值、瞬时水分利用效率（iWUE）。叶片和苞叶开花后10、20、30天的CO2响应曲线分别有3、

5和4个重复。在叶片和苞叶CO2响应曲线测定前，先将叶片和苞叶在CO2浓度为

400μmol·mol-1和光强为2000μmol·m-2·s -1下持续30min。随后再将CO2浓度从0开始增至

2000μmol·m-2·s -1，约9-12个梯度。在玻璃温室的测定过程中，叶室的光强和温度分别保持在2000μmol·m-2·s -1和25℃。然而，在大田的测定过程中，叶室的光强仍保持在2000μmol·m-2·s -1，而由于新疆大田温度高达35℃以上，因此所测的来自新疆大田的棉铃呼吸速率显著高于来自澳大利亚玻璃温室培养的。叶片的蒸汽压（VPD）和苞叶的基本一致。瞬时水分利用效率（iWUE）即碳同化速率与蒸腾速率的比值。

所有的气体交换试验均在当地的10: 00至16:00内完成。在计算棉铃单位面积的呼吸速率时，面积采用棉铃的表面积。

##### **1.2.4** ***A-Ci***曲线的拟合

叶片和苞叶的CO2响应曲线通过Farquhar等（1980）的模型进行拟合。当RuBP充足时，Rubisco是光合速率的限制因子（*V*cmax），公式如下：

*Vc* max(*Ci* **\* )

*Ac* 

*Ci**Kc*(1*O* /*Ko*)

*Rd* (1)

*V*cmax是最大RuBP羧化速率；*Kc*和*Ko*是Rubisco羧化作用和加氧作用的Michaelis常数；*Ci*和*O*分别为细胞间隙中的CO2和O2浓度；*Rd*为光下的呼吸速率；*Г\**为不含暗呼吸的CO2补偿点。本研究采用von Caemmerer等（1994）模型中的Rubisco动力学参数进行数据拟合。

当光合速率受RuBP更新的限制（*Aj*）可用公式2表示：

*J* max(*Ci***\* )

*Aj* 

4*Ci* 8**

\*  *Rd* (2)

*Jmax*为光饱和时用于RuBP再生的光合电子传递速率。通过非线性最小二乘法得到拟

合*A-Ci*曲线，分析得出*Vcmax*和*Jmax*。叶片的*Vcmax*和*Rd*可根据*A-Ci*曲线（*Ci*＜250μmol·mol-1）得出；*Jmax*则根据*A*-*Ci*曲线（*Ci*＞600μmol·mol-1）用公式2拟合。苞叶的*Vcmax*和*Rd*是由*A*-*Ci*曲线（*Ci*＜700μmol·mol-1）及其*Jmax*则是由*A*-*Ci*曲线（*Ci*＞1000μmol·mol-1）用公式2拟合得出。

##### **1.2.5** 光合色素和光合蛋白组分的测定

开花后20天，取叶片和苞叶（直径为6mm）的小圆片。叶绿素含量（Chla，Chlb和

Chla+b）用80%的丙酮溶液提取（黑暗中放置24小时），并用分光光度计比色测定。方法参考Porra等（1989）。

光合蛋白组分的分析，取保存在-80℃冷冻的各绿色器官样品，用液氮研磨，后加入提取液（50 mM EPPS-NaOH(pH7.8)，10mM MgCl2, 2mM EDTA, 10mM DTT, 5% PVPP, 0.5% Triton-X（v/v，10%甘油，1.5% Complete Protease Inhibitor Cocktail（Sigma公司）和2% SDS）混匀。粗蛋白的浓度为1.3-1.9 g·L-1。将所有用于蛋白组分分析的粗提液，与4×SDS溶液混匀（90μl粗蛋白与30μl 4×SDS混匀）。4×SDS溶液体系：225 mM Tris-HCl(pH6.8)、36%（v/v）甘油、7.2%（g/v）溴吩蓝和10%巯基乙醇。Rubisco蛋白的浓度以BSA为标准蛋白，通过标准曲线计算得出的。Cytb6f复体休中的Rieske FeS蛋白溶度通过Western Blotting方法测定，详细操作参考Yamori等（2011）。Rieske FeS的定量分析通过标准蛋白（Agrisera）进行标定算出。各光合蛋白组分的分析6个重复。

#### **1.3** 数据分析

数据的显著性差异用SPSS软件分析得出。所有的数据均有平均值±标准偏差。*P*≤0.05以下认为是具有显著性差异。

### **2** 结果与分析

#### **2.1** 叶片和苞叶的呼吸速率和胞间**CO2**浓度

随棉铃的发育，棉铃单位面积的呼吸速率是叶片的8倍左右（图3-1-2）。棉铃的呼吸速率极高，即使在饱和光下果实的光合速率仍是负值（图3-1-3）。具有异常高呼吸速率的棉铃会在棉铃外形成一个类似高浓度CO2的微环境，使*Ci*浓度升高（图3-1-4）。尽管叶

室CO2浓度维持在400μmol·mol-1，光照下铃和果实（包括苞叶和铃）的*Ci*分别为1279和500μmol·mol-1，显著高于叶片的*Ci*（187μmol·mol-1）（图3-1-4a），图3-1-4b中的趋势与其大致相同。



图3-1-1棉花的棉铃和包裹在棉铃外的苞叶(a和b)。叶片（×200, c）和苞叶（×200, d）的光学显微镜横切面. 图中的上层是近轴面，下层是远轴面

Fig. 3-1-1. (a, b) Photographs of fruit of cotton, *Gossypium hirsutum* L. In (b), bracts were artificially detached from the boll. Photomicrographic cross-sections of (c) a leaf (×200) and (d) a bract (×200). In the photographs, the upper side of the tissue is the adaxial side and the lower side of the tissue is the abaxial side. In the case of the bract (d), the upper side (adaxial side) is facing the fruit (boll)



图3-1-2 Th育期间棉花整个棉铃和叶片单位面积的呼吸速率变化

Fig. 3-1-2. Respiratory activity during ontogeny of whole fruits of cotton(boll with bract) and leaves expressed per unit surface area

注：图3-1-2（a）:澳大利亚温室培养的棉花，图3-1-2（b）:中国新疆大田生长的棉花；然而田间测定温度高达35oC以上，因

此所测得的呼吸速率显著高于温室测定的呼吸速率.

Fig.3-1-2(a): Data from cotton grown in glasshouse (Australia), Fig. 3-1-2(b): Data from cotton grown in field (China); However, leaf temperature went up to 35 oC, which caused the faster respiration rate in China than in Australia.



图3-1-3 棉花的叶片、带苞叶的棉铃和单个棉铃光合速率对光强的响应曲线（开花后20天）

Fig. 3-1-3 Relationships between net photosynthesis rate and photosynthetic active radiation(PAR) of leaf, boll with bract and only boll of cotton, *Gossypium hirsutum* L

注：图3-1-3a:澳大利亚温室培养的棉花，图3-1-3b:中国新疆大田生长的棉花.

Fig.3-1-3a: Data from cotton grown in glasshouse (Australia), Fig. 3-1-3b: Data from cotton grown in field (China).

#### **2.2** 气孔特性和水分利用效率

各绿色器官的气孔密度顺序为：叶片＞苞叶＞铃壳（表3-1-1，铃壳的气孔密度：

47.12±15.41）。苞叶的气孔密度约为叶片的一半，尽管这与两者的气孔孔隙规律不一致。同时，苞叶的气孔导度也显著低于叶片（图3-1-5a, c）。虽然在低CO2浓度下苞叶和叶片的*Ci*/*Ca*比值无显著性差异，但是高浓度CO2下苞叶的*Ci*/*Ca*比值显著低于叶片（图3-1-5b, d）。不同CO2浓度测定下的水分利用效率计算采用对应的光合速率除以蒸腾速率。在高浓度CO2下（800μmol·mol-1以上），苞叶的iWUE显著高于叶片（图3-1-6a）。

表3-1-1 棉花叶片和苞叶的气孔数目和气孔孔隙（开花后20天）

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Leaf | Bract |
| Stomatal density (mm-2) |  |  |
| Adaxial side | 176.4 ± 14.8 | 68.83 ± 6.41 \*\*\* |
| Abaxial side | 224.1 ± 16.9 | 136.2 ± 20.9 \*\*\* |
| Total | 400.5 ± 25.7 | 205.1 ± 21.3 \*\*\* |
| Stomatal aperture (m) |  |  |
| Breadth on adaxial side | 4.00 ± 1.11 | 5.05 ± 0.49 \* |
| Length on adaxial side | 18.86 ± 0.89 | 16.37 ± 1.44\*\*\* |
| Breadth on abaxial side | 4.09 ± 0.94 | 4.74 ± 1.94 |
| Length on abaxial side | 14.20 ± 1.19 | 12.57 ± 3.60 |

Table 3-1-1 Stomatal density (number of stomata mm2) and stomatal aperture (m) in leaf and bract of cotton, *Gossypium hirsutum* L., grown in the field, 20 days after anthesis

注：测定棉株来自中国新疆大田生长的棉花, \**P*≤0.05, \*\* *P*≤0.01, \*\*\* *P*≤0.001. Data from cotton grown in field (China), \**P*≤0.05, \*\* *P*≤0.01, \*\*\* *P*≤0.001.



图3-1-4 棉花叶片、有苞叶的棉铃和单个棉铃的胞间CO2浓度对光强的响应曲线

Fig. 3-1-4. Relationships between intercellular CO2 concentration (*Ci*) and photosynthetic active radiation

(PAR) of leaf, boll with bract and only boll of cotton, *Gossypium hirsutum* L

注：图3-1-4（a）:澳大利亚温室培养的棉花，图3-1-4（b）:中国新疆大田生长的棉花.

Fig.3-1-4(a): Data from cotton grown in glasshouse (Australia), Fig. 3-1-4(b): Data from cotton grown in field (China).

表3-1-2 棉花叶片和苞叶的光合Th理参数（开花后20天）

Table 3-1-2. Photosynthetic and physiological parameters of leaf and bract of cotton, *Gossypium hirsutum*

L., measured 20 days after anthesis

| Parameter | Leaf | Bract |
| --- | --- | --- |
| Vcmax (μmol m2 s1) | 99.03 ± 8.67 | 30.34 ± 10.91 \*\*\* |
| Jmax (μmol m2 s1) | 168.8 ± 13.5 | 59.5 ± 16.7 \*\*\* |
| Chla+b content (μmol m2) | 409.5 ± 17.4 | 203.3 ± 46.4 \*\*\* |
| Soluble protein content (g m2) | 12.78 ± 1.19 | 4.47 ± 0.81 \*\*\* |
| Rubisco content (μmol m2) | 7.33 ± 1.30 | 2.14 ± 0.67 \*\*\* |
| Rieske FeS content (nmol m2) | 862.5 ± 144.9 | 339.8 ± 94.2 \*\*\* |

注： 测定棉株来自澳大利亚温室培养的棉花, \**P*≤0.05, \*\* *P*≤0.01, \*\*\* *P*≤0.001, 6个重复.

Data from cotton grown in glasshouse (Australia), \**P*≤0.05, \*\* *P*≤0.01, \*\*\* *P*≤0.001. The sample numbers were 6.



图3-1-5 棉花叶片和苞叶的气孔导度和*C*i/*Ca*对测定CO2浓度的响应曲线（开花后20天）

Fig. 3-1-5. Stomatal conductance (left) and *Ci*/*Ca* ratio (right) at different *Ca* of leaf and bractof cotton,

*Gossypium hirsutum* L

注：图3-1-5(a, b):澳大利亚温室培养的棉花；图3-1-5(c, d):中国新疆大田生长的棉花；相同*Ca*下叶片与苞叶之间的显著差异：\**P*≤0.05，\*\* *P*≤0.01，\*\*\* *P*≤0.001.

Fig.3-1-5a, b: Data from cotton grown in glasshouse (Australia), Fig. 3-1-5c, d: Data from cotton grown in field (China). Significant differences between leaf and bract: \**P* <0.05, \*\* *P* <0.01, \*\*\* *P* <0.001.

#### **2.3** 光合能力和蛋白含量

图3-1-7是开花后20天主茎叶片和苞叶*A-Ci*曲线的典型代表，用Farquhar等（1980）的光合模型去拟合CO2响应曲线。从图3-1-3可看出，叶片的光合速率显著高于苞叶。相应地，叶片单位面积上的*Vcmax*、*Jmax*、叶绿素含量、可溶性蛋白及相关的光合蛋白含量均高于苞叶（表3-1-2）。



图3-1-6 棉花叶片和苞叶的瞬时水分利用效率（iWUE）对CO2的响应曲线（开花后20天）

Fig. 3-1-6. CO2 response curves of instantaneous water use efficiency (iWUE, photosynthetic rate divided by transpiration rate) in leaf and bract of cotton, *Gossypium hirsutum* L

注：图3-1-6（a）: 澳大利亚温室培养的棉花，图3-1-6（b）: 中国新疆大田生长的棉花；相同*Ca*下叶片与苞叶之间的显著差异：\**P*≤0.05，\*\* *P*≤0.01，\*\*\* *P*≤0.001.

Fig.3-1-6a: Data from cotton grown in glasshouse (Australia), Fig. 3-1-6b: Data from cotton grown in field (China). Significant differences between leaf and bract: \**P* <0.05, \*\* *P* <0.01, \*\*\* *P* <0.001.



图3-1-7 棉花叶片和苞叶碳同化速率对胞间CO2浓度响应的拟合曲线（开花后20天）

Fig. 3-1-7. Relationships between assimilation rate and intercellular CO2 concentration (*C*i) in leaf and bract of cotton, *Gossypium hirsutum* L



图3-1-8 Th育期内棉花叶片和苞叶*Jmax* /*Vcmax*比值的变化

Fig. 3-1-8. *Jmax*/*Vcmax* ratio in leaf and bract of cotton, *Gossypium hirsutum* L

注：图3-1-8（a）: 澳大利亚温室培养的棉花，图3-1-8（b）: 中国新疆大田生长的棉花；开花后相同天数时叶片与苞叶之间的显著差异：\**P*≤0.05，\*\* *P*≤0.01，\*\*\* *P*≤0.001.

Fig.3-1-8(a): Data from cotton grown in glasshouse (Australia), Fig. 3-1-8(b): Data from cotton grown in field (China). Significant differences between leaf and bract at the same days after anthesis: \**P* <0.05, \*\* *P* <0.01, \*\*\* *P* <0.001.

*Jmax*/*Vcmax*比值可以指示RuBP的再生和羧化作用两个过程的蛋白分配情况（Hikosaka

& Hirose，1998；Hikosaka，2005）。随棉铃的发育，苞叶的*Jmax*/*Vcmax*均显著高于叶片（表3-1-3, 图3-1-8）。*Jmax*/*Vcmax*比值存在差异，表明光合速率受RuBP的羧化和再生作用共同限制时的*Ci*浓度不同，叶片和苞叶受RuBP的羧化和再生作用共同限制时的*Ci*分别为450μmol·mol-1和700μmol·mol-1。

与*Jmax*/*Vcmax*比值一致，苞叶中RuBP再生作用相关的蛋白（Rieske FeS）与RuBP羧化作用相关的蛋白（Rubisco）的比值显著高于叶片中的（表3-1-3a）。苞叶具有较高的

*Jmax*/*Vcmax*可能主要是由于其Rubisco含量相对地减小，因为苞叶单位叶绿素或单位可溶性蛋白上的Rubisco含量显著小于叶片，然而其单位叶绿素或可溶性蛋白的Rieske FeS与叶片之间不存在显著性差异。叶片和苞叶的*Vcmax/*Rubisco和*Jmax/*Rieske FeS比值不存在显著差异，这表明两者的蛋白活性不存在差异。



图3-1-9 高呼吸速率的棉铃在棉铃与苞叶之间形成的高浓度CO2微环境模型

Fig. 3-1-9. Scheme of formation of elevated CO2 condition around a fruit of cotton, *Gossypium hirsutum* L注: 棉铃的高呼吸速率由内部的棉籽和纤维的发育引起的（图3-1-2）,与叶片相比，苞叶具有低气孔导度、高*Jmax*/*Vcmax*比值（表3-1-3）等适应高浓度CO2环境的生理机制.

The cotton fruit (boll) has a rapid respiration rate (Fig. 3-1-2), attributable to its function in seed and fiber development: respiration utilizes photosynthate derived from leaves and bracts. Rapid respiration produces an elevated CO2 microenvironment around the boll (Fig. 4). Compared with leaves, bracts had smaller stomatal density and higher *Jmax*/*Vcmax* ratio (Table 3-1-3), which agree with the theoretical prediction of how photosynthetic mechanisms will adapt to elevated CO2.

表3-1-3 a 棉花叶片和苞叶的光合Th理参数（开花后20天）

Table 3-1-3 a. Relative values of physiological parameters of leaf and bract of cotton, *Gossypium hirsutum*

L., measured 20 days after anthesis

| Organ | Leaf | Bract |
| --- | --- | --- |
| Jmax / Vcmax | 1.71 ± 0.07 | 2.02 ± 0.25 \* |
| Rieske FeS / Rubisco (mmol mol1) | 118.6 ± 14 .3 | 160.0 ± 16.5 \*\*\* |
| Rieske FeS / Chl (mmol mol1) | 2.11 ± 0.35 | 1.67 ± 0.46 |
| Rieske FeS / Soluble Protein (nmol g1) | 67.66 ± 10.57 | 75.27 ± 14.09 |
| Jmax / Rieske FeS (mol s1 mol1) | 195.7 ± 15.7 | 175.1 ± 49.2 |
| Rubisco / Chl (mmol mol1) | 17.91 ± 3.19 | 10.54 ± 3.2 8\*\* |
| Rubisco / Soluble Protein (μmol g1) | 0.57 ± 0.07 | 0.47 ± 0.08 \* |
| Vcmax / Rubisco (mol s1 mol1) | 13.51 ± 1.18 | 14.15 ± 5.09 |

注： 所测棉株来自澳大利亚温室培养的棉花, \**P*≤0.05, \*\* *P*≤0.01, \*\*\* *P*≤0.001, 6个重复.

Data from cotton grown in glasshouse (Australia), \**P*≤0.05, \*\* *P*≤0.01, \*\*\* *P*≤0.001. The sample numbers were 6.

表3-1-3 b 棉花叶片和苞叶的光合Th理参数（开花后20天）

Table 3-1-3 b. Photosynthetic and physiological parameters of leaf and bract of cotton, *Gossypium hirsutum*

L., measured 20 days after anthesis

| Parameter | Leaf | Bract |
| --- | --- | --- |
| Vcmax (μmol m-2 s-1) | 221.5 ± 37. 8 | 74.3 ± 22. 5\*\* |
| Jmax (μmol m-2 s-1) | 248.9 ± 25.8 | 120.6 ± 41.3 \*\* |
| Chla+b content (μmol m-2) | 460.0 ± 15.8 | 173.3 ± 3.13\*\*\* |
| Nitrogen content (mmol m-2) | 211.4 ± 1.4 3 | 70.7 ± 1. 60\*\*\* |
| Vcmax/Nitrogen content (μmol mmol-1s-1) | 1.05 ± 0.18 | 1.05 ± 0.32 |
| Jmax/Nitrogen content (μmol mmol-1s-1) | 1.18 ± 0.12 | 1.71 ± 0.58 |

注：所测植株来自中国新疆大田生长的棉花.3个重复. \**P*≤0.05, \*\* *P*≤0.01, \*\*\* *P*≤0.001

Data from cotton grown in fielf (China). The sample number were 3. \**P*≤0.05, \*\* *P*≤0.01, \*\*\* *P*≤0.001.

### **3** 讨论

#### **3.1** 棉铃外存在由棉铃高呼吸速率所形成的高浓度**CO2**微环境

与叶片相比，棉铃具有非常高的呼吸速率（单位面积上，图3-1-2所示）。黑暗下，棉铃的*Ci*高达2100μmol·mol-1，饱和光下棉铃的*Ci*为1200μmol·mol-1（图3-1-4a）。较高呼吸速率的棉铃在棉铃与苞叶之间形成一个高浓度CO2的微环境，在饱和光下其*Ci*约为500μmol·mol-1，黑暗中800μmol·mol-1（图3-1-4b）。

苞叶的气孔密度约为叶片的一半（表3-1-1）。苞叶近轴面（包裹着棉铃的一面）的气孔有助于扩散棉铃呼吸释放出来的CO2。另一方面，苞叶远轴面（面向空气的一面）有利于保持苞叶内较高的CO2浓度，同时也减少蒸腾速率。事实上，与叶片相比，苞叶具有较低的气孔导度（图3-1-5a），在较高*Ca*下具有较低的*Ci*/*Ca*（图3-1-5b）和iWUE（图3-1-6）。通常在高浓度CO2环境下生长的植物具有较低的气孔导度和较高的iWUE

（Eamus, 1991；Drake et al., 1997；Royer, 2001）。生长在高浓度CO2温泉的植物，具有较低的气孔导度（Tognetti et al., 1996；Battarini et al., 1998；Paoletti et al., 1998；Onoda et al., 2007；Onoda et al., 2009）。在意大利高浓度CO2温泉生长的植物，高浓度

CO2环境使其减少水分消耗，有利于在干旱季节保持较长时间的光合作用（Jones et al., 1995; Hattenschwiler et al., 1997）。因此，苞叶较低的气孔密度和较高的iWUE可能其适应由棉铃高呼吸速率形成的高浓度CO2微环境的一种表现，尽管光合速率较小可能也是其气孔密度低的原因（Poole et al., 1996; Drake et al., 1997）。

#### **3.2** **RuBP**的再Th和羧化作用之间的平衡

苞叶具有较高的*Jmax*/*Vcmax*比值，RuBP羧化和再生作用共同受制的CO2浓度也较高

（表3-1-3和图3-1-7）。这些结果均表明苞叶的叶绿体能适应由棉铃高呼吸速率所形成的

高浓度CO2环境（图3-1-4）。根据前人所提出的理论研究，在高浓度CO（2 ＞400μmol·mol-1，

图3-1-7 ）时，叶片的RuBP羧化能力将过剩（拟合闭合圆点的实线）。这表明，在高浓度

CO2环境下，过量的N素分配用于RuBP的羧化反应将降低氮素利用效率。另一方面，苞叶的RuBP羧化能力在800μmol mol-1才过剩（拟合空心圆点的实线）。苞叶RuBP再生和羧化共同受限的CO2浓度升高，是由RuBP再生和羧化作用两者间的平衡来调整的，即

*Jmax*/*Vcmax*比值（表3-1-3）。

RuBP的羧化速率（*Vcmax*），与Rubisco含量具有显著相关性（Björkman, 1968; 1981；von Caemmerer & Farquhar, 1981）。因此，Cyt b6f复合体含量被认为是电子传递与RuBP再生的限速因子（Yamori et al., 2011）。RuBP的再生速率（*Jmax*），与Cyt b6f复合体的Rieske

FeS含量具有显著相关性（Price et al., 1998；Yamori et al., 2011）。苞叶的Rieske

FeS/Rubisco比值显著高于叶片（表3-1-3），这表明苞叶改变了其氮素在光合蛋白中的分配，从而调整RuBP再生/羧化的平衡。

在个体水平上，与叶片相比，苞叶具有较低的RuBP再生和羧化速率（表3-1-2）。这可能由于苞叶的厚度较小（叶片：374.9±14.9μm，苞叶：178.5±20.5μm），单位面积上的叶绿体数量较少（图3-1-1c和d），这与其较低的叶绿素和可溶性蛋白含量结果相吻合，尽管苞叶和叶片的Chla/b比值很接近（叶片：3.6±0.19，苞叶：3.45±0.35）。另一方面，从叶绿体水平上，与叶片相比，苞叶可能保持着RuBP的再生能力，但相对地减小其RuBP的羧化能力，从而导致较高的RuBP再生/羧化作用比率。这与苞叶的Rubisco/Chl和Rubisco/Soluble protein显著低于叶片结果相吻合（表3-1-3）。

#### **3.3** 苞叶可作为研究植物适应高浓度**CO2**机制的材料

从目前的研究结果来看，我们提出苞叶不仅能保护棉铃，还能利用其呼吸释放出来的CO2（图3-1-9）。苞叶被认为是保护棉花生殖器官的绿色器官（Endress, 1987; von Balthazar & Endress, 1999; Endress, 2011）。此外，还有许多报道棉花苞叶的光合作用对其产量形成具有重要的贡献（Constable et al., 1980; Wullschleger et al., 1990;第二章第一节）。因此，包裹在棉铃外的苞叶能重新固定棉铃呼吸释放出来的CO2对于具有较大生殖器官的棉花而言是十分有意义的机制。

与叶片相比，在较高*Ca*浓度下，苞叶具有较低的*Ci*/*Ca*比值和较高的iWUE，这可能是苞叶对环境变化所形成的一种适应机制。从苞叶所表现出的对RuBP再生/羧化过程的调整，可以判断出苞叶的这种调整变化可能是其适应高浓度CO2环境的一种表现。根据

Wendel和Abert（1992）所估计的序列分析，陆地棉最初的分裂大约在2400-3300万年前发生的。依同样方法可估计四倍体陆地棉，可能早在110-190万年前就出现（Wendel，

1989）。因此，苞叶有足够长的时间改变其气孔密度来适应高浓度CO2环境。然而，叶绿体的适应机制就没有这么简单，由于所有植物的叶绿体（色素体）均具有自己特有的基因组，当植物中只有某个部位处于高浓度CO2微环境时，植物体叶绿体基因组很难发生改变而去适应这种环境。然而，在许多情况，原子核和核编码的蛋白能控制叶绿体的功能（Woodson & Chory, 2008）。例如核基因组也包含很多光合相关的基因，如Rieske FeS

（脱脯基蛋白）基因（petC）和Rubisoc小亚基（rbcS）。Rubisco全酶的合成需要核编码基因和叶绿体编码基因同时表达（Rodermel et al., 1996; Suzuki & Makino, 2012）。据此，苞叶中可能存在一种特殊的信号通道，它会传递给色素体，使其叶绿体适应高浓度

CO2的环境。无论如何，苞叶的生理特性对研究植物适应高浓度CO2环境的机制是具有重要的意义，也具有一定的指示作用。因此，苞叶可以作为研究植物的叶绿体和气孔特性对高浓度CO2环境适应机制的研究材料。

## 第二节 棉花叶片与非叶绿色器官光合作用的光保护机制差异

植物光合机构吸收的光能超过光合作用所能利用的量时，过剩的光能将引起光合活性降低的现象即光抑制（Demmig-Adams, 1992），光抑制导致光辐射效率下降，产量降低。因此，作物光合作用系统免受光破坏的光保护机制被认为是作物高产的生理指标

（Horton, 2000; Zhu et al., 2004）。剩余的光能若无其它电子受体，PSII将会将电子传递给O2，还原为・O2-（超氧阴离子自由基），同时・O2-与三线态叶绿素（激活态chl）作用产生1O2，导致活性氧累积，然而植物也逐渐产生了一系列光保护机制，如通过保护性酶体系、类胡萝卜素猝灭三线态叶绿素和单线态氧、增加热耗散、PSII下调等以保证叶片光合作用有效进行。为了揭示棉花叶片与非叶绿色器官的光保护机制的差异，我们开展了棉花叶片与非叶绿色器官之间光合特性差异的研究。

### **1** 材料与方法

#### **1.1** 试验概况

试验于2009年在石河子大学农学试验站（45°19′N，86°03′E）进行。供试棉花品种为新疆北疆主栽陆地棉品种新陆早13号。于2009年4月20日布滴灌带、铺膜后，在膜上人工点播。田间种植方式及管道铺设方法同大田膜下滴灌棉花。每公顷留苗1.8×10 5株，株距为12cm。播前深施有机肥1500kg·hm–2，氮素240kg·hm–2，三料磷肥172.5kg·hm–2作基肥，全生育期随水滴施氮素260kg·hm–2。化学调控6次，缩节胺用量为300g·hm–2。全生育期棉田进行充足灌溉，全生育期共滴灌12次，灌溉总量约6000m3·hm–2, 8月底停止灌溉。其他管理措施同一般大田管理。

#### **1.2** 测定项目与方法

##### **1.2.1** 棉花各绿色器官的光合色素分析

用打孔器（直径0.5cm）打取各绿色器官若干圆片。分别取8个叶片圆片、12个苞叶圆片、4个铃壳圆片和4个茎圆片放入25ml具塞试管中，用10ml 80%丙酮提取色素。试管套黑塑料袋并置暗处浸提，定时振荡至各器官圆片呈白色时，混匀后用UV-2401型分光光度计测定，于663nm和645nm波长下测定OD值，用80%丙酮调零。

叶绿素含量=C（20.29×D645+8.04×D663）×V/S；其中C是叶绿素浓度，V代表提取液的体积，S是样品的面积。

##### **1.2.2** 叶绿素荧光测定

采用Dual PAM-100荧光仪（Walz, Germany）测定棉花各绿色器官的叶绿素荧光参数。测定前，各器官均进行充足的暗适应。先测定最小荧光产量（*F*0）和最大荧光产量

（*F*m），随后打开光化光，强度为1599μmol·m–2·s–1，待荧光信号到达稳态后（4-5分钟）打开饱和脉冲光，测定任意时间的实际荧光产量（*F*t）和光适应下的最大荧光产量（*F*m′）；

然后开始测定快速光曲线，共10个光强梯度，从低到高为11, 42，131，344，536，830，

1292，1599, 1957μmol·m–2·s–1，每个光强梯度照射样品20s后打开饱和脉冲光进行荧光猝灭分析。荧光参数按下列公式计算：

（1）ΦPSⅡ=(*F*m′- *F*t) /*F*m′（Genty et al., 1989）；

（2）Φf, D=*F*t/*F*m；

（3）ΦNPQ=（*F*t/*F*m'）–（*F*t/*F*m）（Hendrickson et al., 2004）；

*Φ*PSⅡ+Φf, D+ΦNPQ=1.

#### **1.3** 抗氧化酶体系的测定

超氧化物歧化酶（SOD）、抗坏血酸氧化酶（APX）、过氧化氢酶（CAT）、GR活性按照Pinheiro（2004）的方法测定。过氧化物酶（POD）活性的测定参考Polle（1994）。

### **2** 结果与分析

#### **2.1** 棉花不同绿色器官的光合色素

类胡萝卜素（Car）是植物光合作用色素蛋白复合体不可缺少的组分，它们不仅可以作为捕光色素，而且在保护光合器官免受单线态氧的伤害中起重要作用（Biswall, 1995）。如表3-2-1所示，棉花非叶绿色器官铃壳单位面积上的Car含量高达318.0μmol·m-2，约为叶片的3.1倍。棉花各绿色器官的Chl含量顺序：叶片＞铃壳＞主茎秆＞苞叶。Car/Chl值的高低与植物忍受逆境的能力密切相关（卢存福和贲桂英，1995）。苞叶、主茎和铃壳的Car/Chl分别为叶片的1.1、1.7和4.7倍。

表3-2-1 棉花各绿色器官光合色素的变化

Table 3-2-1 Changes in photosynthetic pigment of each green organ in cotton

Structure

Parameter

Leaf Bract Main Stem Capsule Wall

| Car（μmol m-2） | 101.6 ± 4.0 b | 38.9 ± 3.7 c | 93.7 ± 4.5 b | 318.0 ± 7.1 a |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Total Chl（μmol m-2）** | 514.9 ± 17.7 a | 194.0 ± 3.5 d | 310.4 ± 22.2 c | 376.5 ± 17.8 b |
| Car/total Chl | 0.18 ± 0.0 1c | 0.20 ± 0.02 c | 0.30 ± 0.01 b | 0.84 ± 0.02 a |

注： 器官间， 不同字母表示在0.05水平上差异显著.

Between organs, bars with different letters had statistically significant difference (*P*≤0.05).

#### **2.2** 棉花不同绿色器官的能量分配

无论是叶片还是非叶绿色器官，其ΦPS II随着光强的增加而降低，其大小顺序依次为叶片、铃壳、苞叶和主茎秆。棉花各绿色器官的ΦNPQ随着光强的增加而升高，其中苞叶的ΦNPQ最高，铃壳最低。棉花各绿色器官的Φf，D在中等光强下快速增加，其中铃壳的Φf，D最高。



图3-2-1不同光强条件下，棉花叶片、苞叶、主茎秆和铃壳光合机构的光化学量子效率（*Φ*PSII）、ΔpH和叶黄素循环调节热耗散的量子效率（*Φ*NPQ）和不依赖于光的基础热耗散途径的量子效率（*Φ*f，D）的分配比率

Fig.3-2-1 Estimated fraction of absorbed irradiance consumed via PSII photochemistry (*Φ*PSII), ΔpH- and xanthophyll-regulated thermal dissipation (*Φ*NPQ), and the sum of fluorescence and light-independent constitutive thermal dissipation (*Φ*f, D), in leaf, bract, main stem and capsule wall of boll illuminated at varying irradiance

#### **2.3** 棉花各绿色器官的抗氧化酶体系

叶绿体的光化学反应过程中会形成活性氧物质，为保证其光合作用的顺利进行，植物体中形成一个完善的保护酶体系去除所产生的活性氧物质，包括超氧化物歧化酶

（SOD）、过氧化物酶（POD）、过氧化氢酶（CAT）、抗坏血酸过氧化物酶（APX）和谷胱甘肽还原酶（GR）。棉花非叶绿色器官铃壳的单位面积上的抗氧化酶体系（SOD、

POD、CAT、APX、GR）活性均显著高于其它绿色器官。



图3-2-2 棉花各绿色器官单位面积的SOD、POD、APX、GR和CAT活性

Fig.3-2-2 The activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase(POD), ascorbate peroxidase(APX), glutathione reductase (GR) and catalase (CAT) in leaf, bract, main stem and capsule wall of cotton in the field. All enzyme activities are expressed on area basis

### **3** 讨论

#### **3.1** 棉花各绿色器官单位面积上类胡萝卜素含量的差异

过剩能量对光合机构有损害作用，当光合电子传递链的过度还原，致使叶绿体内的活性氧自由基增加。高等植物中的光保护机制有很多种：第一，类胡萝卜素，包括胡萝卜素和叶黄素，其保护途径有两条：（i）β-胡萝卜素直接猝灭三线态叶绿素（3Chl）和单线态氧（1O2）；（ii）叶黄素通过猝灭激发态单线Chl（1Chl）阻止3Chl的形成。有时，

植物通过积累胡萝卜素，可以减少植物对光能的吸收并增强光保护机制的作用

（Hormaetxe et al., 2005）。棉花各绿色器官的总类胡萝卜素含量如表3-2-1所示。铃壳单位面积的Car含量约为叶片的3.1倍。苞叶、主茎和铃壳的Car/Chl分别为叶片的1.1, 1.7和4.7倍，这表明苞叶、主茎和铃壳能有效地通过Car来猝灭过剩光能，免受光破坏。有研究表明，树杆中Car含量高于叶片，可能是对高浓度CO2条件下、叶绿体片层结构酸性导致光合过程中光化学淬灭能力低下，需要以叶黄素循环为主导能量猝灭过程保证其功能正常（Marnetas, 2004），并把这一现象归结为对皮层内低氧、极高CO2和高红光/蓝光比的一种适应（Levizou et al., 2004）。铃壳也具有较高的呼吸速率，也处于高浓度CO2条件，因此铃壳中富含的Car功能仍需进一步研究。

#### **3.2** 棉花各绿色器官热耗散方式的差异

植物的能量耗散可分为光化学（光呼吸）、非光化学（叶黄素循环）两部分（Müller et al., 2001）。另一种模型则是实际光化学效率（*Φ*PSII）、光调控的ΔpH-叶黄素循环的非光化学能量耗散（*Φ*NPQ）和不依赖光基础的非光化学能量耗散（*Φ*f，D）。植物所吸收光能的分配如图3-2-1所示。棉花叶片的ΦPSII显著高于非叶绿色器官，其中茎秆中最低。铃壳的Φf，D最大，这可能与其叶绿体的类囊体垛叠程度较弱有关（Bondada & Oosterhuis，

2003），这表明铃壳主要以Φf，D方式进行热耗散。苞叶的ΦNPQ最高，表明苞叶能有效地通过ΦNPQ方式进行热耗散。茎秆和叶片则能通过Φf，D、ΦNPQ有效地进行热耗散。

#### **3.3** 棉花各绿色器官抗氧化酶保护体系的差异

当过剩光能超过其热耗散能力时，ROS的去除能力也起到光保护机制的作用。光呼吸和Mehler过氧化反应可能使ROS（·O 2-）和H2O2积累。为了免受ROS的毒害作用，植物体形成一套高效的抗氧化酶体系，包括SOD、APX、CAT、POD、GR（Foyer et al.，

1994）。棉花各绿色器官的SOD、APX、POD、CAT和GR如图3-2-2所示。苞叶单位面积上的各个抗氧化酶活性均小于叶片，然而，铃壳的各个抗氧化酶活性均高于叶片和苞叶

（图3-2-2）。苞叶的各抗氧化酶活性均显著低于叶片，然而其Car/Chl比值却略高于叶片，而其ΦNPQ最高。因此，本研究结果表明具有低抗氧化酶体系的苞叶主要是通过ΔpH和叶黄素调控热耗散过程。

## 第三节 P700氧化还原动力学在研究棉花叶片PSII活性研究中的应用

光是光合作用的能量基础，但过量的光会导致活性氧胁迫，使光合机构主要是PSII的光化学活性丧失（Ewart, 1896；Powles, 1984；Nishimyama et al., 2011；Oguchi et al., 2011a; Ohad et al., 2011；Vass, 2011）。当PSII失活后需要及时进行修复（Prásil et al., 1992；Van Gorkom & Schelvis，1993b；Aro et al., 1993b；Melis，1999；Chow & Aro，

2005）。在光照下，PSII的光失活和修复是同时进行的。

测定活体功能性的PSII通常用叶绿素荧光技术或气相氧电极测得的。然而，这两种方法均存在缺陷（Chow et al., 2012）。例如，叶绿素荧光技术自身存在的一个问题，即我们不能明确所测得的信号来自叶片哪个深度的叶肉细胞，在实验过程中发出信号的深度可能变化很大，比如随着光抑制处理时间的变长，叶绿素荧光信号逐渐为越来越深层的叶肉组织所主导，这导致所测定的用来表征活性PSII含量的叶绿素荧光参数值要大于实际活性PSII含量（Oguchi et al., 2011b）。因此，在光抑制处理过程中，叶绿素荧光来源于不同深度的叶肉细胞，这可能是前人采用叶绿素荧光技术和动力学拟合模型，发现多种处理下的光修复拟合曲线不是很好的原因之一（He & Chow, 2003）。当然另一个叶绿素荧光技术所存在的根本问题是用*Fv*/*Fm*或1/*Fo-1/Fm*表示功能性的PSII，只有在经过一段时间的暗适应后可以得到，这是因为暗适应可以驰豫依赖能量的叶绿素荧光猝灭，如果不进行暗适应所得到的荧光参数是不能反映活性PSII相对含量的。然而，如果暗适应过程中也能进行修复，那经过长时间暗适应后再测定就会不可避免地浑淆了在光下实际的修复能力。

本研究采用P700氧化还原动力学分析整个叶片组织的功能性PSII。已有研究表明，

P700氧化还原动力学面积可以快速、无损伤精确反映叶片整体活性PSII相对含量：第一，测定了多种高等植物P700氧化还原动力学面积与脉冲下氧电极所测得的氧气产量，发现两者之间呈非常好的显著线性正相关关系（Losciale et al., 2008; Chow et al., 2012）。

第二，经光抑制处理后的叶片，从叶片近轴面和远轴面方向测定的P700氧化还原动力学面积大小无显著差异（Oguchi et al., 2011b）。我们采用这种单翻转脉冲的P700氧化还原动力学面积测定方法不仅可以分析整个叶片的功能性PSII相对含量，还可以在此基础上估算在不同光强和活性氧胁迫程度的棉花叶片PSII的光失活和修复速率。本研究结果证明，P700氧化还原动力学优于叶绿素荧光技术，这为后续采用这种分析方法进一步深入研究棉花非叶绿色器官光合特性提供技术支持。

### **1** 材料和方法

#### **1.1** **T**h长状况

2012年4月至8月，陆地棉（*Gossypium hirsutum* L. cv. Deltapine）种植在澳大利亚国立大学温室（温度约为28/18℃）。定期用“Aquasol"（Yate Australia, Padstow, NSW）营养液浇灌。

#### **1.2** 叶圆片的光抑制处理

光抑制处理，首先将棉花叶圆片（1.5cm2）在1mM林可霉素（lincomycin）溶液中放置一晚（黑暗中），致使叶绿体编码的蛋白合成过程完全受抑制。在不同光强下，将棉花叶圆片整晚放置在lincomycin溶液（近轴面朝向溶液），再从叶片近轴面的垂直方向进行光照处理；在不同光强下，棉花叶圆片整晚放置在lincomycin溶液（远轴面朝向溶液），仍从叶片近轴面垂直进行光照处理。光照处理至6小时后所测得的PSII失活量对时间的变化，采用一阶衰减动力学方程进行曲线拟合即求得光失活速率常数*ki*。

光抑制处理后的PSII修复，首先棉花叶圆片近轴面朝向在水溶液（无lincomycin，约

15℃），同时采用HMI Universal Spotlight光源（Model HMI 574W/GS; Osram）对叶片近轴面的垂直方向进行光照处理（1800μmol·m-2·s-1），同时加热反射滤光片。经过72min后，叶片功能性的PSII降至50%左右，接着再将叶圆片以两种不同方式（分别将叶片近轴面和远轴面朝向水溶液）放置在不同光强下进行修复。无论叶片近轴面或远轴面朝向水溶液的修复过程中均从叶片近轴面的垂直方向进行光照处理。这种低温、高光强的处理加速PSII的光破坏，并且由于叶圆片浸没在水溶液中周围仅存在非常少量的[O2]，这十分有利保持最大修复能力。

#### **1.3** 功能性的**PSII**含量的测定方法

单位面积内功能性的PSII含量是基于连续、单翻转的氙灯脉冲（3μs）诱导的放氧量

（1%CO2气体环境中）测定的，主要原理是每个PSII在4次脉冲后能形成一个氧分子

（Chow et al., 1989）。将光抑制处理后叶片的每平方米单闪脉冲所形成的O2产额表示功能性的PSII含量。这将用于验证单翻转脉冲诱导的P700氧化还原动力学面积测定方法是否可以准确测定功能性的PSII含量（如下所描述）。

#### **1.4** **P700**氧化还原动力学方法

叶片P700的氧化还原状态是采用双通道（810/870nm）调制式叶绿素荧光仪

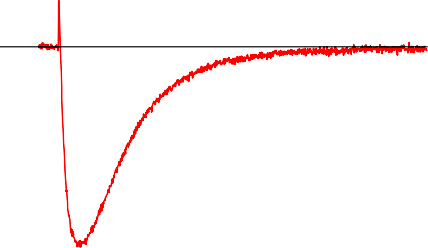
（PAM101/102/103, Walz Effeltrich, Genmany）测定，并用反射模式进行测定（Chow &

Hope，2004）。叶片在暗中，经过连续的弱远红光（光强为12μmol·m-2·s-1, 波峰729nm, 102-FR, Walz Effeltrich, Germany）照射1min以上使得氧化态P700处于一种稳态水平。接着用单翻转、饱和氙灯脉冲（Walz XST 103氙灯，全长=9μs）照在待测叶片近轴面上。

用中密度滤片（Lee filters, Mediavision, Australia）控制脉冲的强度。采用555信号发生器（Berkeley Nucleonics Corporation, America）控制计算机采样频次、饱和单翻转氙灯脉冲频次。每间隔5秒触发计算机采样，在第5s+0.050s处触发饱和单闪氙灯脉冲，计算机采样时间设等为1s，采样次数设等为4次平均。饱和单闪氙灯脉冲可获得最大信号氧化态P700，表征具有光化学活性的P700的总体含量，该数值用于标准化所获得的曲线（图3-3-1a）。所获得的曲线与经弱光远红外线所达到基态时形成的水平基线所围成的面积即是P700氧化还原动力学面积（图3-3-1a中的阴影面积）。

用中密度滤片可以衰减脉冲的强度，即取得较小的P700氧化还原动力学面积。在最强脉冲时，我们测得的相对最大面积（Mexp）即通过拟合曲线（Mfittered）得到最大面积：对照叶片的Mexp和Mfitted值分别是94.5和94.1；在没有lincomycin情况下光抑制处理叶片的Mexp和Mfitted值分别是55.6和54.8，有lincomycin的情况下光抑制处理叶片的

Mexp和Mfitted值分别是45.7和45.4（图3-3-1b）。



Flash

(a)

1.0

0.8

[P700+] (relative)

0.6

0.4

0.2

0.0

0.0 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0

Time (s)



(b)

Control

PI 6 h

PI 1 h with Lincomycin

100

80

P700 kinetics area (relative)

60

40

20

0

0 20 40 60 80 100

Flash intensity (%)



(c)

Control, 1500 actinic, 5 min PI 0.5 h with Lincomycin 1500 actinic, 1 min

100

P700 kinetics area (relative)

80

60

40

20

0

0 20 40 60

Dark time after actinic illumination (s)

图3-3-1a: P700氧化还原动力学面积（阴影面积）来量化叶片功能性的PSII，棉花叶片在弱远红光持续照射下，约有90%的P700氧化，单翻转饱和脉冲使剩余的P700全部氧化（设为1）。脉冲过后，PSII的电子传递给P700+，但弱远红光将[P700+]逐渐氧化到稳定基态。图3-3-1b：不同脉冲强度下（I）的

P700氧化还原动力学面积变化，通过滤光片改变脉冲强度，■表示不同强度脉冲下正常叶片的P700氧化还原动力学面积的变化；●表示经过6小时光抑制处理后的叶片在不同强度脉冲下的P700氧化还原动力学面积；▲表示经过1小时光抑制处理条件下在有lincomycin溶液处理的情况下棉花叶片在不同强度脉冲下的P700氧化还原动力学面积；图3-3-1c：棉花叶片在1700µmol·m 2·s1光抑制0.5h后，

不同暗适应时间下，在饱和脉冲下所测得的P700氧化还原动力学面积，方形表示对照叶片（光照下达到稳态）；三角形表示受光抑制的棉花叶片（在lincomycin溶液中并施加光强为1700µmol·m2·s1进行30min的光照处理），然后立即用1500µmol·m2·s1作用光1min使其在测定前达到稳态。并用暗适应60s后所测得的最大P700信号进行曲线标准化

Fig. 3-3-1. (a) The P700 kinetics area (shaded) used to assay functional PS II. A cotton leaf disc was continuously illuminated by weak far-red light, resulting in the photo-oxidation of almost 90% of the total photo-oxidizable P700. A single-turnover, saturating flash superimposed on the background far-red light photo-oxidized the remainder of the P700, giving the spike (set to 1.0). Subsequent to the flash, electrons

Arrived from PS II to P700+, but the background far-red light brought the [P700+] back to the steady-state

Level. The trace is an average of four scans. (b) The P700 kinetics area plotted as a function of relative flash intensity (*I*) as varied by neutral density filters. Leaf discs were either control, non-photoinactivated samples or leaf discs that had been photoinactivated (PI) for 6 h, in the presence or absence of lincomycin.

Each data set was fitted by an equation of the form *y* = *ymax* (1e*kI*), yielding both *ymax* and *k* after a

Number of iterations, where the *ymax* values are indicated by the horizontal dashed lines. Each point is a mean of 4 replicates±se. ( c) The P700 kinetics area, measured at maximum flash energy, as a function of dark time after cessation of actinic illumination (1500µmol·m2·s1). The control samples (squares) were exposed to actinic light to steady state. The photoinhibited samples (triangles) were obtained by pre-illumination with white light at 1700µmol·m2·s1 for 30 min in the presence of lincomycin; immediately after, they were given actinic illumination (1500µmol·m2·s1) for 1 min to maintain steady state prior to measurement. The P700 signals were normalized to the maximum photo-oxidizable P700 obtained after a dark time of 60 s.

P700氧化还原动力学面积表示棉花叶片经光抑制预处理后再在高光强下照射1min

的功能性PSII的相对含量（图3-3-1）。饱和或接近饱和的强饱和单闪脉冲可以检测到P700氧化还原动力学面积，但这个面积会因为叶绿素荧光的能量猝灭降低，在这种情况下先将叶片暗适应1min以弛豫能量猝灭，再加强饱和单闪脉冲获得的P700氧化还原动力学面积与长时间暗适应下的面积基本一致。对照棉花叶片在弱光远红光连续照射时，再用

LED作用光1500μmol·m-2·s-1照射5min后，使叶片诱导至光合作用稳态。用1700μmol·m-2·s-1进行光抑制处理，并迅速用1500μmol·m-2·s-1照射1min，在弱光远红外光存在的情况下叶片能达到光合作用稳态（可以有效减少剩余活性的PSII再被光破坏的程度）。在开始测定时，最好先进行5/1min的预光照处理，用脉冲/滞后调节器又开始再一次的光照处理（用同样的白光作用光，再照射39s再次达到稳态）。停止作用光时计为t

（t=0s），与此同时采用非常强的远红光（2000μmol·m-2·s-1，从叶片远轴面照射），这可以有助于快速地氧化P700。在t≥3s（作用光停止后，只有弱光远红光照射），通过信号发生器触发计算机采样脉冲获取数据，在（t+0.05）时，氙灯脉冲启动，记录P700信号曲线获得P700氧化还原动力学面积。“黑暗”时间t从3-60s，这期间能量猝灭将被逐步驰豫。图3-3-1c表明t=60s时，无论是对照叶片（方形）还是用lincomycin光抑制后的叶片（三

角形）在弱远红光基础上再施加任何强度的作用光所达到的面积与稳态时的P700氧化还原动力学面积之间误差不超过2%。

#### **1.5** 用**P700**氧化还原动力学面积测定整个组织的光失活速率和修复速率

未经光抑制处理的对照叶片在饱和脉冲下最大值的P700动力学面积用*f*（功能性的PSII）=1。在已知光强，不存在修复能力的情况下（用lincomycin溶液进行处理），叶片的活性PSII含量*f*从1呈一阶指数下降，此时即可求出每个光强下的光失活速率（Kou et al., 2012）。在任何时间t时的PSII光抑制速率：

*df*/*dt* =  *ki f* (1)

在已知光强下的修复过程，事实上是光失活和修复同时发生的。失活的PSII含量是（1-*f*）。在存在修复的过程中，*f*的净增长速率是失活与修复相加的结果两者的相加结果：

*df*/*dt* = *kr* (1  *f*)  *ki f* (2)

修复过程采用t=0时，即*f* = *f* 0（约为0.5），仍代入上述公式（He & Chow, 2003）。

*kr*

 (*k**k*) *t* *kr*

*F* (*t*) *f*0 



*e*

*i* r 

*k*  *k*

*i* r

*Ki* *kr*

（3）

用Origin7（Microcal Software Inc, MA, USA）代入公式（3）拟合修复过程中的数据，其中*f* 0和*ki*是常数（根据不同的初始值可以得出）拟合后得到修复速率*kr*。

#### **1.6** 碳同化速率的测定

采用便携式开路的红外线气体分析仪（LI6400, Li-Cor, Lincoln, USA）对棉花主茎叶进行气体交换的测定，用标准叶室2×3cm叶室（6400-02B）内置红兰发光二极管。棉株上的叶片至少在2000μmol·m-2·s-1下光照30min，此后再逐渐减弱光强进行测定。叶温和室内CO2浓度分别保持在25℃和400μmol·mol-1。

#### **1.7** 电子传递速率的测定

PSI的总电子传递速率（ETR1）=Y（I）×光强×0.85×0.5，而Y（I）是PSI的光化学量子。PSII的线型电子流=ΦPS II×光强×0.85×0.5。Y（I）和ΦPS II均由Dual-PAM

（Walz, Effeltrich, Germany）测得，方法参考Miyake等（2005），假设叶片吸收率为0.85，所吸收的光能平均地分配到两个光系统。

### **2** 结果与分析

#### **2.1** **P700**氧化还原动力学面积与单翻转单闪脉冲所产Th的放氧量呈线形相

**关**

用叶片放置于lincomycin溶液（抑制叶绿体编码蛋白的合成酶的修复），再进行光抑

制处理来观察测定功能性的PSII变化情况。叶片中功能性的PSII含量用单闪脉冲所产生

的放氧量表示，随后用P700氧化还原动力学技术测定相应的动力学面积。如图3-3-2所示用P700氧化还原动力学方法测定的动力学面积与单闪脉冲所产生的放氧量数呈线性相关。所有的数据通过原点（0, 0）和（100, 100），这表明这两个参数可以一一对应。这是因为这两个参数所测定的均是整个叶片组织的功能性PSII，氧电极所测的是PSII中从分解水分子所释放出的电子流流量，而另一种方法（P700氧化还原动力学方法）是从

PSII传递到P700+的电子流流量。

100

80

P700 kinetics area (%)

60

40

20

0

0 20 40 60 80 100

O2 per flash (%)

图3-3-2 P700氧化还原动力学面积与单翻转单闪脉冲所产Th的O2产量呈线性相关

Fig. 3-3-2 The P700 kinetics area is linearly correlated with the O2 yield per repetitive, single-turnover saturating flash

注：在高光强下用lincomycin处理棉花叶片使其功能性的PSII呈不同的梯度，高光强处理后暗适应半小时开始测定Functional PS II content was varied by progressive photoinactivation of PS II in leaf discs in the presence of lincomycin. Measurements were made after the samples had been dark-treated for about 30 min following removal from the high light.

#### **2.2** 暗中**lincomycin**能有效地抑制棉花叶圆片**PSII**光失活后的修复

P700氧化还原动力学测定方法是一种快速的测定方式，它能监测经过光抑制处理的叶片在任何时间的功能性PSII相对含量。未用lincomycin抑制修复过程的叶片，停止光抑制处理后（在黑暗中）能逐步增加功能性PSII的相对含量，表明存在相当程度的修复过程（图3-3-3，空心圆形）。另外，在光抑制处理前已用lincomycin渗透处理过的叶片，在停止光抑制后（在黑暗中），只发现其P700氧化还原动力学面积略有增加（图3-3-3，实心方形）。在经光抑制处理后的叶片再用lincomycin进行渗透，发现在初期（抑制剂未发挥作用时）修复能力显著（图3-3-3实心圆形）。为了最小程度地降低黑暗中的修复程度和能量依赖性猝灭，在此后的测定，我们均在光抑制处理后暗适应1min进行P700氧化还原动力学的测定（t=1min）。

with lincomycin overnight Infiltration with incomycin after PI without lincomycin

1.0

0.8

P700 kinetics area (relative)

0.6

0.4

0.2

0.0

0 60 120 180 240 300 360

Duration of dark treatment (min)

图3-3-3室温为15°C下，棉花叶片经1800μmol·m-2·s-1进行光抑制处理72 min后（其功能性的PSII约降至一半）再进行修复：（1）空心圆形表示棉花叶片在水溶液中的修复；（2）实心方形表示棉花叶片（已在lincomycin溶液放置一整晚）在光抑制处理后的修复；（3）棉花叶片在光抑制处理后采用真空渗入法渗入lincomycin，然后再测定暗中的修复过程。

Fig. 3-3-3 Recovery of the P700 kinetics area in darkness following photoinactivation treatment at 1800

µmol m2 s1 for 72 min at 15°C, which approximately halved the functional PS II complexes. Recovery took place (1) in the absence of lincomycin (open circles), (2) in leaf discs that took up lincomycin overnight prior to photoinactivation treatment (solid squares), or (3) in leaf discs infiltrated with lincomycin *after* the photoinactivation treatment (closed circles)

#### **2.3** 叶片近轴面朝向空气的**PSII**光失活和修复

我们对棉花叶圆片远轴面朝向lincomycin溶液（远轴面气孔数量多，PSII修复受抑制）条件下的叶片进行功能性PSII的测定，并用光强为1300μmol·m-2·s-1进行光照处理。叶片的这种放置方式使叶片内CO2的进入和扩散受阻。如图3-3-4a所示，在lincomycin溶液存在时，随时间推移，功能性的PSII相对含量呈现负指数相关性。功能性的PSII相对含量呈一阶指数衰减过程（Tyystjärvi & Aro, 1996; Kou et al., 2012）。

如图3-3-4b所示，叶片经过光破坏处理后（未经lincomycin处理），叶片的*f*降至0.5。然而在室温25℃下，将棉花叶片的远轴面朝向水溶液，并用不同强度的光强（包括黑暗中）进行PSII修复的测定。未经lincomycin渗透的叶片，其光失活和修复过程是同时进行的，而此时的P700氧化还原动力学面积是PSII的光失活和修复速率效应叠加的结果。如图图3-3-4b所示，黑暗中存在非常明显的PSII修复（实心方形，图3-3-4b）。同时，研究结果显示，在弱光（27μmol·m-2·s-1）下也存在明显的修复。然而在强光下，发现其P700氧化还原动力学面积从0.5左右继续下降。所测的数据用公式3进行拟合，并将*ki*（由图

3-3-4a可求得）代入，即可求出*kr*值。

#### **2.4** 当远轴面朝向空气时叶片的**PSII**光失活和修复

然后，我们研究了经lincomycin处理过的叶片（近轴面朝向lincomycin溶液），并且从叶片近轴面方向进行光强为1300μmol·m-2·s-1的光照处理。这种放置方式的叶片内部

CO2的进入和扩散。图3-3-5a可知，在未经lincomycin处理的叶片的功能性PSII失活与时间呈负指数相关性关系。即这种方式放置的叶片，其功能性的PSII相对含量呈一阶指数衰减过程，这与前人研究结果一致。

图3-3-5b所示，经光抑制处理（*f*值降至0.5）叶片（未经lincomycin处理）的PSII修复过程。在室温25℃，研究不同强度的光强（包括黑暗）叶片（近轴面朝向水溶液的叶片）的修复过程。结果表明，这种方式放置的叶片在黑暗中存在非常显著的修复。在弱光（30μmol·m-2·s-1）下，叶片的修复能力最佳。在高光强下，叶片的修复略小些，但是未发现P700氧化还原动力学面积从0.5左右继续下降。所测的数据用公式3进行拟合，并将*ki*（由图3-3-5a可求得）代入，即可求出*kr*值。

#### **2.5** 不同光强下的***ki***和***kr***值的变化

光失活速率常数（*ki*）随光强增强呈线性增长。在相同光强下，近轴面朝向lincomycin溶液的叶片*ki*略小些（图3-3-5a），可能原因是这种放置方式的叶片有利于CO2的进入和扩散。

修复速率常数（*kr*）与光强之间的关系就显得有些复杂。黑暗中，无论以哪种方式放置的叶片，它的*kr*均约为0.16h-1。近轴片朝向水溶液的叶片，在弱光下，*kr*随光强增强显著增加，并持续保持到600μmol·m-2·s-1。当光强超过600μmol·m-2·s-1，*kr*又持续增加，最大达到1.6 h-1。当远轴面朝向水溶液的叶片在光强350μmol·m-2·s-1时，*kr*达到最高值，然后在高光强下开始降低（图3-3-6b）。在最高光强下，两种放置方式的叶片间*kr*差异较大。

#### **2.6** 叶片碳同化速率和电子传递速率对光强的响应

光照强度决定了棉花叶片的净碳同化速率（图3-3-7）。从0-600μmol·m-2·s-1时，叶片的碳同化速率快速地增加。如图3-3-8所示，以P700氧化还原动力学分析PSI的总电子传递速率（ETR1）和叶绿素荧光技术所测得的PSII的线性电子传递速率（ETR2）。从中等程度的光强到高光强下，远轴面朝向空气放置的叶片的ETR1和ETR2较高，这主要原因是叶片的CO2进入叶片以及在叶片内部的扩散能力好于近轴面朝向空气放置的叶片。

(a)

Abaxial side facing linconmycin solution

1.0

0.8

0.6

0.4

0.2

P700 kinetics area (rel.)

0.0

0 1 2 3 4 5 6

Illumination time (h)



Abaxial side facing lincomycin solution

(b)

0E

27E 622E

126E 913E

344E 1300E

1.0

0.8

0.6

0.4

0.2

0.0

0 1 2 3 4

Recovery time (h)

图3-3-4远轴面朝向水溶液的棉花叶片PSII的光失活和修复过程，从叶片的近轴面进行光照处理，修复过程的光强从0增至1300μmol·m-2·s-1，图3-3-4a表示不同光强下（包括黑暗中）远轴面朝向

lincomycin溶液的叶片的PSII光失活过程，图3-3-4b表示不同光强下（包括黑暗中）远轴面朝向水溶液的修复过程，在b子图中，所有的棉花叶片先经光抑制处理使其活性PSII相对含量大约为0.5后再开始用不同光强照射进行修复

Fig. 3-3-4 Photoinactivation and recovery of PS II while cotton leaf discs were floated with their abaxial side in contact with water and the adaxial side facing air. Illumination was directed at the adaxial side. The irradiance during recovery was varied from zero to 1300 µmol·m-2·s-1. (a) The time course of

Photoinactivation of PS II in cotton leaf discs in the presence of lincomycin at various irradiances, including darkness. (b) The time course of recovery of PS II from photoinactivation in the absence of lincomycin. The irradiance during recovery was varied from zero to 1300µmol· m-2·s-1. Cotton leaf discs

Had been given a photoinactivation treatment to render about half of the PS II complexes inactive before recovery was allowed to occur



0(dark) 30

126

383

655

1015

1300

Adaxial side facing lincomycin solution

(a)

1.0

0.8

0.6

0.4

0.2

0.0

P700 kinetics area (rel.)

0 1 2 3 4 5 6

Illumination time (h)



1.0

0.8

0.6

0.4

0.2

0.0

0 (dark) 30

133

330

611

932

1300

(b)

Adaxial side facing lincomycin solution

0 1 2 3 4

Recovery time (h)

图3-3-5近轴面朝向水溶液的棉花叶片PSII的光失活和修复过程，从叶片的近轴面进行光照处理，修复过程的光强从0增至1300μmol·m-2·s-1，图3-3-5a表示不同光强下（包括黑暗中）近轴面朝向

lincomycin溶液的叶片的PSII光失活过程，图3-3-5b表示不同光强下（包括黑暗中）近轴面朝向水溶液的修复过程，所有的棉花叶片先经光抑制处理使其活性PSII含量大约为0.5后再开始用不同光强照射进行修复

Fig. 3-3-5 Photoinactivation and recovery of PS II while cotton leaf discs were floated with their adaxial side in contact with water and the abaxial side facing air. Illumination was directed at the adaxial side. The irradiance during recovery was varied from zero to 1300μmol·m-2·s-1. (a) The time course of

Photoinactivation of PS II in cotton leaf discs in the presence of lincomycin at various irrdiances, including darkness. (b) The time course of recovery of PS II from photoinactivation in the absence of lincomycin. Cotton leaf discs had been given a photoinactivation treatment to render about half of the PS II complexes inactive before recovery was allowed to occur

0.5



Adaxial side faced lincomycin solution Abaxial side faced lincomycin solution

(a)

0.4

0.3

*k* (h-1)

0.2

*i*

0.1

0.0

1.5



Adaxial side faced water Abaxial side faced water

(b)

1.2

0.9

*k* (h-1)

0.6

*r*

0.3

0.0

0 250 500 750 1000 1250 1500

Irradiance (mol m-2 s-1)

图3-3-6 不同光强下叶片的近、远轴面朝向溶液的光失活速率常数ki和修复速率常数kr，空心圆形

表示远轴面朝向1.0mM lincomycin溶液叶片的*ki* 图3-3-6a），远轴面朝向水溶液叶片的*kr*（图3-3-6b）；

实心圆形表示近轴面朝向1.0mM lincomycin溶液叶片的*k*（*i* 图3-3-6a），远轴面朝向水溶液叶片的*k*（*r* 图

3-3-6b），图中的*ki*和*kr*则是通过图3-3-4和图3-3-5拟合得出的

Fig. 3-3-6 Rate coefficients of photoinactivation (a) and repair (b) as a function of irradiance. Open circles represent cotton leaf discs floated with the adaxial side facing air while the abaxial side was in contact with a 1mM lincomycin solution in the determination of *ki* in (a) or with water in the determination of *kr* in (b) during recovery. Closed circles represent cotton leaf discs floated with the abaxial side facing air while the adaxial side was in contact with a 1mM lincomycin solution in the determination of *ki* or with water in the determination of *kr* in (b) during recovery. The *ki* and *kr* values were derived from the curve fitting in Fig. 3-3-4 and Fig. 3-3-5

25

20

15

*P* (mol m-2 s-1)

10

5

*n*

0

0 500 1000 1500 2000

Irradiance (mol m-2s-1)

图3-3-7 棉花叶片碳同化速率对光强的响应曲线

Fig. 3-3-7 Response of net carbon assimilation rate (*Pn*) to irradiance.

120



ETR1 Abaxial side facing air ETR1 Adaxial side facing air ETR2 Abaxial side facing air ETR2 Adaxial side facing air

100

80

ETR (mol m-2 s-1)

60

40

20

0

0 200 400 600 800 1000 1200

Irradiance (mol m-2 s-1)

图3-3-8不同光强下PSI的电子传递速率（ETR1）和PSII的线性电子传递速率（ETR2）的变化，分别用P700氧化还原动力学方法和叶绿素荧光技术测定ETR1和ETR2，两种方式放置的棉花叶片：（1）近轴面朝向水溶液；（2）远轴面朝向水溶液，LED红光均从近轴面方向照射，并用RG9滤光片阻挡部分与810/870nm测量光并行的作用光，只采用与叶绿素荧光激发光并行的作用光

Fig. 3-3-8. Total electron transport rate through PS I (ETR1) and the linear electron transport rate through PS II (ETR2) as a function of irradiance. ETR1 and ETR2 were determined using the P700 signal and Chl fluorescence, respectively, for two orientations of cotton leaf discs: (1) the abaxial side faced air while the adaxial side was in contact with water; (2) the adaxial side faced air while the abaxial side was in contact with water. Illumination with red LED light was provided on the adaxial side only, by using an RG9 filter to block the actinic light that normally is supplied along with the 810/870 nm measuring light by the Dual-PAM, leaving only the actinic light that is supplied along with the Chl fluorescence excitation light

### **3** 讨论

#### **3.1** **P700**氧化还原动力学面积能快速、无损伤和精确反映整个叶圆片从

**PSII传递到P700+的相对电子流量**

P700氧化还原动力学面积即阴影面积随PSII光破坏程度的加深而减少（图3-3-1a）。用Walz的单翻转脉冲（最强的光强），我们测得的P700氧化还原动力学面积与拟合出来的最大值十分相近（图3-3-1b），即表明未进行强光处理条件下，弱远红光使叶片处于一种“驰豫”状态，叠加强饱和脉冲足以使P700氧化还原动力学面积接近最大值，这也与脉冲诱导的从PSII传递到P700+的最大电子传递流量相对值一致。

然而，强光处理可能会导致的能量猝灭暗中驰豫持续时间延长，这会导致PSII反应中心激能捕获量降低，从而使得脉冲光量强度达不到饱和，最终导致过低估计功能性PSII相对含量。确实，在高光强下经lincomycin处理的叶片能通过增大非光化学猝灭使PSII的光化学效率降低（Bachmann et al., 2004）。然而，在光抑制处理停止后暗中适应1min之后再进行光失活和修复过程的测定，发现能量猝灭已充分驰豫，P700氧化还原动力学面积接近最大值（图3-3-1c）。因此，研究结果显示，光照处理停止1min后用P700氧化还原动力学进行测定，所得的结果是可信的，因为暗适应1min可以充分“驰豫”能量猝灭，从而获得与长时间暗适应下一致的结果。

棉花叶圆片P700氧化还原动力学面积与单次翻转脉冲的放氧量呈线性相关（图3-3-2）。菠菜和辣椒叶片的P700氧化还原动力学面积与单次翻转脉冲的放氧量也是一一对应的（Kou et al., 2012）。这说明这种简便、快速、无损伤的测定方法可以准确分析叶片功能性的PSII相对含量。

由于以上提到的两种方法所测定的都是整个组织的功能性PSII，这两种方法得到的活性PSII相对含量理应一一对应。研究表明，810nm光吸收测定中，测量光在叶片内均匀散射并且未被光合机构吸收进行光化学反应，因在叶片中所有的P700+都吸收了测量光之前，测量光光量是没有损失的。并且，与对照叶片相比，经光抑制处理的叶片，无论是叶片正轴面还是反轴面进行测定的P700氧化还原动力学面积大小是相同的（见Oguchi et al., 2011b图3）。叶绿素荧光技术所探测的叶肉细胞的位置具有不确定性，而

P700+氧化还原动力学信号的优势是能测定整个组织的P700+信号（Terashima et al.，

2009）。利用叶绿素荧光技术进行单位时间内的PSII光失活和修复的测定时，也可能因所测定叶肉细胞的位置变化使得结果不同。

然而，需要注意的是这种测定方法有一种前提条件在强光光照处理后其最大P700+信号仍能保持不变。在较适合温度的大多数情况下，PSI一般不受光抑制破坏。我们研究发现，无论是对照还是强光处理条件下，棉花圆叶片（经过或未经过lincomycin处理）在弱远红光基础上施加饱和脉冲时其最大P700+值未发生显著性的变化，这表明PSI并未

受光抑制（数据未显示）。另一个前提条件是两个光系统之间的电子传递是有耦联的，所有的流经PSII电子都必须传递到P700+。同时，在弱远红光基础上施加饱和脉冲时测定叶片组织活性PSII相对含量使这种测定方法更具合理性。

#### **3.2** 黑暗中**PSII**的修复

在分析整个棉花圆叶片的功能性PSII修复过程中，发现在黑暗中叶片具有较低但显著的修复能力（图3-3-3, 4b, 5b）。这可能是由于在高光强的光照下，D1蛋白受光破坏，部分光合磷酸化或氧化磷酸化产生的ATP不再用于二氧化碳同化过程中，而是用于合成新的D1蛋白（Matto et al., 1984; Taniguchi et al., 1993）或将细胞质所合成的多肽缩氨基运往叶绿体（Grossman et al., 1980）。研究表明，受光破坏的叶片悬浮于50mMATP溶液中时，能恢复部分失活的PSII（Lee et al., 2001）。

假如lincomycin可以充分渗入叶绿体发挥抑制作用的话，暗中棉花叶圆片PSII的修复能力主要受lincomycin抑制（图3-3-3），这表明失活PSII的修复对抑制叶绿体编码蛋白合成酶的抑制剂很敏感。棉花叶片经lincomycin处理后，黑暗中仍有一小部分失活的PSII修复，约占全部PSII的3%左右。菠菜、大豆、玉米叶片中受lincomycin抑制的可修复的活性PSII含量分别占总PSII含量的12%，20%和25%。这种独立于lincomycin抑制作用的修复可能是：（1）PSII的可逆性失活，这可能与D1蛋白的合成无关（Hong & Xu, 1999），

（2）叶片中储存一些活性D1蛋白库（Wettem, 1986），（3）lincomycin不能完全抑制所有D1蛋白合成位点。弱光条件下，对lincomycin敏感的那部分修复通常用*Fv*/*Fm*检验是否受光破坏（Aro et al., 1993a, b）。我们的P700氧化还原动力学方法是约在光照处理停止后1min进行测量的，因此并未显著发生黑暗中修复，1min暗适应同时却足以保证能量猝灭“驰豫”过程发生，从而获得可靠的P700氧化还原动力学面积。

#### **3.3** 光失活速率常数（***ki***）

研究报道，光失活速率常数*ki*与光照强度呈显著相关性（Tyystjärvi & Aro, 1996; Lee et al., 2001; Kato et al., 2003）。在相同光强下，近、远轴面朝向lincomycin溶液叶片的*ki*存在差异（图3-3-6a）。远轴面朝向空气的叶片具有较小*ki*，这与其较好的CO2扩散能力使过剩光能水平较低从而引起光破坏程度较低的原因相关（Oguchi et al., 2009; 2011a, 2011b），并且，这种方式放置的叶片在饱和光下具有较高的电子传递速率

（24-33%），无论是通过叶绿素荧光技术和P700氧化还原动力学方法测定，这种方式放置的叶片PSII都具有较高的线性电子流（图3-3-8）。

#### **3.4** 修复速率常数（***kr***）

图3-3-6b所示，两种不同放置方式的叶片*kr*差异很大。叶片远轴面朝向水溶液时，黑暗中其*kr*为0.16 h-1，随光强增强而增大，在350μmol·m-2·s-1光强下达到峰值（0.55 h-1），此后，在高光强下又开始降低，其*kr*大小与黑暗中差不多。棉花的*kr*随光强先升高后又

下降的趋势，与叶绿素荧光技术测定的辣椒叶片（叶片远轴面朝向水溶液）的结果非常相似（He & Chow, 2003）。He 和Chow（2003）用Nishimyama等（2001; 2010）的理论解释高光强下*kr*较低：即在高光强下需要修复时，由于CO2的扩散受限制，使O2更易成为电子受体，这就使得叶片处于氧胁迫状态下，而氧胁迫主要影响其修复（Nishimyama et al., 2001, 2010）。

在弱光条件下（30-611μmol·m-2·s-1），远轴面朝向空气的叶片的*kr*在0.55-0.75h-1这间波动，只在较高光强下*kr*再次升高（图3-3-6b）。在最高光强下*kr*达到峰值1.6 h-1。如果只考虑修复过程，而假设没有光破坏（*k*i=0），公式（3）就变成：

*f* (*t*)*f*01*e*1

*kr t*

在t1/2时，失活PSII的一半已修复。

1*f* (*t*1/ 2 )*e**kr t*1/ 2

1*f*0

0.5

当*kr*=1.6h-1时，t1/2=26min。表明在没有光破坏的情况下，修复一半的失活PSII可能需26min。另一种放置方式时，在高光强下其*kr*较小，而t1/2可能更长些。

近轴面朝向水溶液的叶片，我们并未清楚为何*kr*在30-600μmol·m-2·s-1光强下没有增加*r*。可能的原因之一是在这段光强下，叶片的碳同化能力增强，可能是用于碳同化的过程与修复过程竞争ATP的结果。

两种不同方式放置的叶片的电子传递速率有差异，在最高光强下，近轴面朝向水溶液的叶片PSI的总电子流（ETR1）高24%和叶绿素荧光技术所测的线性电子流（ETR2）高27%（图3-3-8）。这与近轴面的气孔数目较少有关（比远轴面低27%）（第三章第一节）。两侧气孔数目相差不大，但两者间的*kr*相差很大（图3-3-6b）。这可能是当远轴面朝向空气时，有利于叶片CO2的进入与扩散，活性氧自由基（ROS）的形成速率小于抗氧化酶对ROS的去除速率。另外，当远轴面朝向水溶液时，氧胁迫程度可能超过其活性氧去除能力的阈值，在高光强光照下，其PSII的修复机制受氧胁迫抑制程度更显著（Nishimyama et al., 2001; 2011）。

# 第四章 棉花叶片与非叶绿色器官光合作用对水分亏缺的适应机制

水分亏缺是限制植物生长和产量形成最主要的环境因子之一（Boyer, 1982）。众所周知，光合作用是研究植物对水分胁迫生理响应的一个重要方面（Chaves，1991；Cornic，

1994；Lawlor，1995）。水分亏缺下，小麦叶片的光合速率受到明显抑制，穗的光合作用可能成为谷粒充实的主要贡献者（Evans et al., 1972; Bort et al., 1994; Sánchez-Díaz et al., 2002）。与旗叶相比，小麦穗的各绿色器官可能具有较为抗旱的形态特征和生理机制。如小麦穗具有较低的气孔导度和较高的水分利用效率（Blum, 1985; Knoppik et al., 1986; Araus et al., 1993），大麦穗具有较好的渗透调节能力（Morgans, 1980）。与旗叶相比，在水分亏缺下，麦类作物的穗能保持较高的水势（Xu et al., 1990; Bort et al., 1994; Tambussi et al., 2005）。水分亏缺下，穗较高的相对含水量是其保持相对稳定光合速率的原因（Tambussi et al., 2005）；能保持相对稳定的光合组分（叶绿素、Rubisco、辅光蛋白II）是穗在水分亏缺下受影响较小的原因（Martinez et al., 2003）。

本文通过研究棉花叶片和非叶绿色器官光合作用对水分亏缺的响应机制，探讨水分亏缺下非叶绿色器官光合作用占整株光合比例的变化及对产量的影响。通过测定水分亏缺下棉花各绿色器官的相对含水量、脯氨酸和气孔特性变化，揭示棉花不同绿色器官维持水分状况的机制。探讨棉花各绿色器官的抗旱能力差异，测定了不同水分处理下棉花各绿色器官的光合速率、膜脂氧化程度、RuBPC活性、可溶性蛋白及抗氧化酶活性。通过测定棉花各绿色器官的表面积、光合时间和光合速率来估算各绿色器官对整株生物量积累的相对贡献率，试图说明水分亏缺下，棉花非叶绿色器官对产量形成的相对贡献率变化，明确棉花各绿色器官对水分亏缺的生理机制，为棉花抗旱栽培提供理论依据。

### **1** 材料和方法

#### **1.1** 试验概况

试验于2010年在新疆石河子大学农学实验站（45°19′N，86°03′E）进行。品种选用陆地棉新陆早13号，4月24日播种，采用膜下滴灌种植方式。棉花生育期内（6月-10月）的温度和降雨量的分布见图4-1-1。设两个水分处理：正常灌溉（WW）和水分亏缺（WS）。正常灌溉（WW）与一般生产中高产田灌水管理一致，而水分亏缺（WS）指正常灌水的20%（中度水分亏缺）。其它农艺措施与当地高产田管理一致。



图4-1-1 实验地的最高/最值温度和降水量情况

Fig. 4-1-1 Maximum and minimum temperature(circles) and precipitation (bars) at the study site

#### **1.2** 测定项目

##### **1.2.1** 相对含水量

分别取不同水分处理下开花后5、15、20天的主茎叶片、主茎及对应的苞叶和铃壳，测定棉花各绿色器官的相对含水量（RWC），RWC(%) =(FW-DW) /（TW-DW）×

100，其中FW：各组织的鲜重，TW：各组织的饱和重，DW：各组织的干重。TW是指各组织在蒸馏水中放置24小时的饱和重，而DW是在烘箱中烘48小时至恒重的重量。

##### **1.2.2** 气孔特性

方法参考第三章1.2.5。

##### **1.2.3** 表面积和Th物量

棉花各绿色器官的表面积和生物量的测定方法同第二章第一节1.2.1方法一致。

##### **1.2.4** 棉花各绿色器官对整株棉花Th物量积累的相对贡献率

为明确产量形成关键时期，棉花各绿色器官对棉株的相对贡献率，我们估算了盛铃后期（7月30日到8月22日）棉花各绿色器官对棉株生物量积累的相对贡献率。假设在新疆晴朗夏日里，棉花在1200μmol·m-2·s-1光强下的时间至少有8.5个小时（见第二章第一节图2-1-6）。棉花各绿色器官的生物量积累量通过各绿色器官的光合放氧速率、表面积及光合产物日积累量相乘所估算。

生物量= P×10-6 mol O2 (μmol O2) -1×Area×10-4 m2 cm-2×8.5 h day-1×20 days×3600 s h-1×(1/6) mol C6H12O6×180g C6H12O6 (mol C6H12O6) -1

P 指光合放氧速率（μmolO2·m-2·s-1），Area（cm2）指各绿色器官的表面积。这里，

我们以两种情况来估算7月30日到8月22日各绿色器官所积累的生物量。第一情况，假设在这个时间段内棉花各绿色器官均能保持与7月30日一样的面积；第二种情况，假设在这个时间段内棉花各绿色器官的面积与8月22日的棉花各绿色器官一致。主茎第十台果枝上相邻三个铃需要26，40，28天达到最高铃干重（Wullschleger & Oosterhuis, 1990b）。

据此可推测，第十台果枝的铃干重从开花后10-26天，开花后10-40天和开花后17-28天约能增加200%。本研究显示，从7月30日至8月22日，棉株的干物质积累了63.2%，而8月22日的铃重干物质比7月30日增加了217%（图4-1-3），因此棉花的干物质积累主要集中在7月30日至8月22日（盛铃后期）。研究中未测定开花后10天铃壳的光合放氧能力。因此，本研究中以开花后15-40天各绿色器官的光合速率作为7月30日至8月22日期间各绿色器官的光合能力。各绿色器官光合作用对整株棉花生物量积累的相对贡献率，采用将各绿色器官所积累的生物量与整株棉花所积累的生物量的比值表示。

##### **1.2.5** 光合放氧速率

将采回的棉花各绿色器官用湿纱布带回实验室，进行光合放氧的测定。方法参考第二章1.2.3。

##### **1.2.6** 关键光合酶活性和可溶性蛋白含量

方法参考第二章1.2.4。

##### **1.2.7** 脯氨酸含量

分别取开花后5天和20天棉花各绿色器官进行脯氨酸的测定，测定方法参考Bates等

（1973），重复3次。

##### **1.2.8** 细胞膜破坏和抗氧化酶体系

棉花各绿色器官的膜脂氧化程度通过丙二醛含量（MDA）来反映（Hodges et al., 1999）。通过测定棉花各绿色器官的相对电导率来表明其细胞膜稳定和整体性（Nayyar，

2003）。将各绿色器官洗净后，切成碎片放置于10ml的去离子水中。在室温黑暗中放置

12个小时，初始电导率（煮沸前的*EC*）采用电导仪测定，再将样品在100℃水浴煮沸20 min，待冷却后测定其最后电导率（煮沸后的*EC*）。

相对电导率*EC*%=煮沸前的*EC*100

煮沸后的*EC*

过氧化物歧化酶（SOD）和抗坏血酸氧化酶（APX）活性测定方法同第三章第二节

1.3.

#### **1.3** 数据分析

数据的显著性差异用SPSS软件分析得出。所有的数据均有平均值±标准偏差。*P*≤0.05以下认为是具有显著性差异。

### **2** 结果与分析

#### **2.1** 各绿色器官相对含水量（**RWC**）和气孔特性

RWC是指示水分亏缺程度常用的水分状态参数。随棉铃的发育，水分亏缺下棉花主茎秆RWC的下降幅度大于其它绿色器官。水分亏缺下，开花后20天棉花的主茎叶片和主茎秆RWC的下降幅度分别为16.7%和18.2%。无论在正常灌溉还是水分亏缺下，苞叶RWC

值均显著小于其它绿色器官。然而，水分亏缺下，苞叶RWC的下降幅度（10.04%）小于叶片，开花后不同天数铃壳RWC的下降幅度最小（3.37%, 图4-1-2）。



图4-1-2正常灌溉（白色柱状形）和水分亏缺（黑色柱状形）处理下棉花叶片、主茎秆、苞叶和铃壳相对含水量（RWC）

Fig. 4-1-2 Relative water content(RWC) of leaf, main stem, bract and capsule wall of well-watered (open bars) and water-deficit stress (filled bars) plants of cotton grown in field

注：开花后5天（a），开花后15天（b）和开花后20天（c）.器官间，不同字母表示在0.05水平上差异显著，大写字母表示

正常灌溉处理，小写字母表示水分亏缺处理. \*表示不同水分处理间的统计分析结果，\**P*≤0.05, \*\**P*≤0.01, \*\*\**P*≤0.001.

A: 5DAA, b:15DAA, c: 20DAA. Different letters denote significant differences among four green organs under well-watered condition (uppercase letters), and under water-deficit stress conditions (lowercase letters). Significant differences between two different water treatments: \**P*≤0.05; \*\**P*≤0.01; \*\*\**P*≤0.001.

主茎秆和铃壳的气孔密度显著低于叶片和苞叶。水分亏缺使主茎叶片和苞叶的远轴

面气孔数量增加（表4-1-1）。然而，水分亏缺减小了主茎叶片和苞叶的远轴面气孔大小。

表4-1-1 棉花各绿色器官的气孔数和气孔孔隙大小（开花后20天）

Table 4-1-1 Stomatal density (number of stomata mm-2) and stomatal aperture (μm) in leaf, bract, main stem and capsule wall of cotton, *Gossypium hirsutum* L., grown in the field at 20 days after anthesis.

Leaf Bract Main Stem Capsule Wall

Parameters

WW WS WW WS WW WS WW WS

Aperture

Adaxial side adaxial side

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Stomatal Adaxial side Density Abaxial side | 176 ± 14.8  224 ± 16.9 | 178 ± 16.5  280 ± 39.3 \*\*\* | 68.8 ± 6.41  136 ± 20.9 | 64.5 ± 8.78 23.0 ± 3.21  175 ± 16.5 \*\*\* | 27.3 ± 7.85 | 47.1 ± 15.4 | 54.5 ± 14.0 |
| Breath on 4.00 ±1.11 | | 2.76 ±0.53 \*\* | 5.05 ± 0.49 | 7.93 ± 0.96 \*\*\* 3.96 ± 0.92 | 3.02±0.24 | 4.10 ± 1.38 | 4.05±0.72 |
| Stomatal Length on 18.6 ± 1.16  Size Breath on 4.09 ± 0.95 | | 19.1 ±0.78  2.55 ± 0.98 \*\* | 16.4 ± 1.44  4.74 ± 1. 94 | 17.0 ± 1.79 15.1 ± 1.39  3.04 ± 0.36 \* | 17.8±1.32 | 15.8 ± 4.36 | 15.1 ±1.74 |

Abaxial side Length on

14.2±1.19 10.5±1.36 \*\*\* 12.6±3.60 12.1±0.93

abaxial side

注: \*表示不同水分处理间存在显著差异: \* *P*≤0.05, \*\**P*≤0.01, \*\*\**P*≤0.001.

Significant differences in each organ between two different water treatments: \* *P*≤0.05; \*\**P*≤0.01; \*\*\**P*≤0.001.

#### **2.2** 各绿色器官的表面积和Th物量及对棉株Th物量积累的相对贡献率

干旱胁迫首先会抑制叶片生长和发育，显著降低了叶片面积（Chaves et al., 2003）。从7月20日（播种后98天）至8月22日（播种后120天），正常灌溉下棉花主茎叶片和主茎秆的表面积下降了4.2%和5.1%，而苞叶和铃壳的面积分别增加了3.3%和135%（图4-1-3a, b）。在这段时间内（从7月30日至8月22日），水分亏缺使主茎叶片、主茎秆和苞叶的表面积下降了33.77%，15.09%和8.31%（图4-1-3a, b）。

大量研究表明干旱胁迫显著降低了生物量的积累（Bajji et al., 2001; Martinez et al., 2003; Lizana et al., 2006）。本研究结果与其一致，干旱胁迫大大减少了棉株的生物量积累；从7月30日至8月22日，正常灌溉和水分亏缺下的棉花地上部物质分别积累了39.2和11.6g（图4-1-3c, d）。



图4-1-3不同水分处理下棉花各绿色器官表面积（a, b）和干物质（c, d）的变化（播种后98天和120天）

Fig. 4-1-3 Changes in surface area of leaves, stalks, bracts and bolls of a single cotton plant(a, b) and the plant dry weight (c, d) under two water treatments at 98 and 120 days after sowing (DAS)

注：WW:正常灌溉处理，WS:水分亏缺处理.

Well-watered plants (WW) and water-deficit stress plants (WS).

作物生物量的90%来源于光合产物。在正常灌溉情况下，7月30日至8月22日期间铃干重增加了217%。因此，棉花产量形成主要是在这个时期完成的。各绿色器官的生物量积累量通过将各绿色器官单位面积的光合放氧速率、表面积及光合时间相乘估算得到。如表4-1-2所示，7月30日至8月22日期间正常灌溉和水分亏缺处理下整株棉花的生物量积累量分别为45.33-47.5 g和4.55-13.84 g。水分胁迫降低了叶片光合作用对棉株产量形成的贡献率，相反，非叶绿色器官光合作用对棉株产量形成的贡献率有所增加。

表4-1-2 不同水分处理下棉花各绿色器官的干物质积累量（从7月30日至8月22日）

Table 4-1-2 Biomass accumulation of each organ, estimated with surface area and photosynthesis rate of each organ during Jul. 30th to Aug. 22nd

Surface area as the same as Jul. 30th Surface area as the same as Aug.22nd

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | WW (g) | WS (g) | WW (g) | WS (g) |
| Leaves | 33.6 | 9.98 | 32.2 | 2.97 |
|  | (74.2%) | (72.1%) | (67.8%) | (65.3%) |
| Stalks | 6.39 | 1.70 | 6.06 | 0.65 |
|  | (14.1%) | (12.3%) | (12.8%) | (14.3%) |
| Bracts | 3.18 | 0.97 | 4.22 | 0.39 |
|  | (7.0%) | (7.0%) | (8.9%) | (8.5%) |
| Bolls | 2.12 | 1.19 | 5.00 | 0.54 |
|  | (4.7%) | (8.6%) | (10.5%) | (11.9%) |
| Total | 45.29 | 13.84 | 47.5 | 4.66 |

Organs

注: The percent contribution of each organ to the photosynthesis rate of the whole plant is shown in parentheses. We assumed the the organs were exposed to the saturating 1200μmol·m-2·s-1 for 8.5 h per day. Well-watered (WW) and water-deficit

Stress (WS) plants of cotton grown in field.

括号中的百分比代表棉花各绿色器官光合能力所占整体植株光合能力的比值，假设棉花每天暴露在光强为1200μmol·m-2·s-1的时间为8.5小时，WW:正常灌溉处理，WS:水分亏缺处理.

#### **2.3** 各绿色器官光合放氧能力对水分亏缺的响应

水分亏缺下，主茎叶片单位干重或单位面积的光合放氧速率均呈下降趋势（图4-1-4）。在开花后5天，水分亏缺下非叶绿色器官主茎秆和苞叶单位干重的光合放氧能力的下降幅度小于叶片。开花后20天，水分亏缺下棉花主茎叶片、主茎秆、苞叶和铃壳单位干重的光合放氧能力的下降幅度分别为43.2%，30.4%，13.7%和36.3%。



图4-1-4正常溉灌（WW）和水分亏缺（WS）处理下棉花叶片、主茎秆、苞叶和铃壳单位干重（a, b）和单位面积（c, d）的光合放氧速率

Fig.4-1-4 The oxygen evolution rates of leaf, main stem, bract and capsule wall expressed on a dry weight basis (upper; a, b) and an area basis (lower; c, d) of well-watered (WW) and water-deficit stress (WS) plants of cotton grown in field at various days after anthesis (DAA)

注：叶片（△），主茎秆（■），苞叶（●），铃壳（○）.

Leaf (△), main stem (■), bract (●) and capsule wall (○).

主茎叶片RWC与其减小的光合速率呈正相关（Pugnaire et al., 1996）。结果表明，叶片（*P*=0.025）、主茎秆（*P*=0.022）和铃壳（*P*=0.056）单位干重的光合放氧速率与其

RWC呈正相关关系（图4-1-5）。这表明主茎叶片、主茎秆和铃壳的光合能力与其水分状态相关。



图4-1-5 棉花各绿色器官相对含水量（RWC）与光合放氧能力之间的相关分析

Fig.4-1-5 Relation between relative water content (RWC) and oxygen evolution rate in each organ of cotton注:叶片(L,△)，主茎秆(MS,■)，苞叶(B,●)和铃壳(C,○).拟合的线性回归（实线）, \**P*<0.05, \*\**P*<0.01, \*\*\**P*<0.001, ns表示不显著.拟合所用的数据是不同水分处理时开花后5，15和20天.

Leaf (L, △), main stem (MS,■), bract (B,●) and capsule wall (C, ○). The solid lines represent the best-fit linear regressions for each organ: \**P*<0.05, \*\**P*<0.01, \*\*\**P*<0.001, ns not significant. Values are average means of six replicates each

Organ under two water treatments at 5, 15 and 20 DAA.

#### **2.4** 各绿色器官的可溶性蛋白含量和光合酶活性

无论正常灌溉还是水分亏缺，开花后20天棉花主茎叶片、主茎秆和苞叶的可溶性蛋白含量均低于开花后5天的（图4-1-6a）。此外，无论是开花后5天或20天，水分亏缺显著降低了主茎叶片、主茎秆和苞叶的可溶性蛋白含量。水分亏缺下，开花后5天的主茎秆可溶性蛋白含量下降幅度小于其它绿色器官；开花后20天，叶片可溶性蛋白含量下降幅度最高，其次是主茎秆、铃壳和苞叶。

开花后5天，水分亏缺使主茎叶片、主茎秆和苞叶的RuBPC活性分别降低了35.9%，16.0%和21.0%（图4-1-6b）。开花后20天，水分亏缺显著降低了主茎叶片、主茎秆和苞叶的RuBPC活性，下降幅度分别为43.0%，35.7%和22.8%。相反，铃壳的RuBPC活性则未发生显著性变化。



图4-1-6正常灌溉（白色柱状形）和水分亏缺（黑色柱状形）处理下棉花各绿色器官单位干重的可溶性蛋白含量和RuBPC活性（开花后5和20天）

Fig.4-1-6 Soluble protein content and RuBPC activity expressed on the basis of dry weight of leaf, main stem, bract and capsule wall of well-watered (open bars) and water-deficit stress (filled bars) plants of cotton grown in field during at 5 DAA(a, c) and 20 DAA (b, d)

#### **2.5** 各绿色器官的脯氨酸含量与其**RWC**的相关性分析

脯氨酸是植物体中一种重要的渗透调节物质（Pérez-Alfocea, 1993）。无论开花5天后还是开花后20天，水分亏缺均增加了棉花各绿色器官中的脯氨酸含量。开花后5天，水分亏缺下主茎脯氨酸含量的积累速率最快。开花后20天，水分亏缺下主茎秆和铃壳的脯氨酸含量比正常灌水下分别增加了131%和141%，其积累速率均大于叶片（42.0%）。然而，对于具有高脯氨酸的苞叶而言，水分亏缺下，苞叶的脯氨酸含量几乎不变。

棉花4个绿色器官的脯氨酸含量与RWC之间呈显著的二次方程关系（*P*=0.002，图

4-1-8)。



图4-1-7 正常溉灌（白色柱状形）和水分亏缺（黑色柱状形）处理下棉花叶片、主茎秆、苞叶和铃

壳单位鲜重的脯氨酸含量（开花后5天（a）和20天（b））

Fig.4-1-7 Proline content expressed on the basis of fresh weight of leaf, main stem, bract and capsule wall of well-watered (open bars) and water-deficit stress (filled bars) plants of cotton grown in field at 5 DAA (a)

And 20 DAA (b)



图4-1-8 棉花各绿色器官相对含水量（RWC）与脯氨酸含量之间的相关分析

Fig. 4-1-8 Relation between relative water content(RWC) and proline concentration in the four green organs of cotton

注：拟合所用的数据是两种水分处理下开花后5天和20天各绿色器官的脯氨酸含量；叶片（△），主茎秆（■），苞叶（●）

和铃壳（○）.

Values are average means of three replicates each organ under two water treatments at 5 and 20 DAA. Leaf(△), main stem

(■), bract (●) and capsule wall (○).

#### **2.6** 各绿色器官细胞损害和保护酶体系

水分亏缺使棉花各绿色器官的MDA含量和相对电导率均增加（图4-1-9a, b）。开花5天后，水分亏缺下主茎秆MDA含量的增加速率最大，而铃壳MDA含量的增加速率最小。水分亏缺下，主茎叶片、主茎秆、苞叶和铃壳的相对电导率变化趋势与MDA含量一致。

SOD是去除氧自由基的第一步，将・O 2-分解成H2O2。开花后5天，水分胁迫显著增强主茎秆的SOD活性，至开花后20天，其SOD活性减弱（图4-1-9c）；主茎叶和铃壳的SOD活性显著下降。开花后5天，水分亏缺降低了棉花各绿色器官的APX活性，而开花后20天，水分亏缺降低了叶片的APX活性，但增强了主茎秆和铃壳的APX活性（图4-1-9d）。



图4-1-9 正常灌溉（WW）和水分亏缺（WS）处理下棉花各绿色器官丙二醛（MDA, a）、相对电导率（b）、SOD（c）和APX（d）活性（开花后5和20天）

Fig.4-1-9 Malondialdehyde (MDA) content (a), ion leakage (b), SOD (c) and APX (d) of leaf, main stem, bract and capsule wall of well-watered (WW) and water-deficit stress (WS) plants of cotton grown in field both at 5 and 20 DAA

注：叶片（△）；主茎秆（■），苞叶（●）和铃壳（○）.

Leaf (△), main stem (■), bract (●) and capsule wall (○).

苞叶和铃壳中的SOD和APX活性之间存在显著相关性（图4-1-10a），苞叶和铃壳的脯氨酸含量与SOD活性、APX活性之间存在正相关性（图4-1-10b, c）。



图4-1-10 棉花各绿色器官SOD与APX活性及它们与脯氨酸含量之间的相关分析

Fig.4-1-10 Correlations between SOD activity and APX activity (a), between proline content and superoxide dismutase (SOD) activity (b), and proline and ascorbate peroxidase (APX) activity (c) in each organ

注：以两种水分处理下各绿色器官的3个重复数据拟合（开花后5和20天），叶片(L，△)；主茎秆(MS，■)；苞叶(B，●)

和铃壳(C,○).拟合的线性回归（实线）, \**P*<0.05, \*\**P*<0.01, \*\*\**P*<0.001, ns表示不显著.

Values are means of three replicates each organ under two water treatments at 5 and 20 DAA. Leaf (L, △), main stem (MS,

■）, bract(B,●) and capsule wall(C,○). The solid lines represent the best-fit linear regressions for each organ:

\**P*<0.05, \*\**P*<0.01, \*\*\**P*<0.001, ns not significant.

### **3** 讨论

#### **3.1** 水分亏缺下棉花各绿色器官水分状态的维持机制不同

植物的代谢依赖于叶片的水分状态，如RWC（Sinclair & Ludlow, 1985）。本研究结果显示，水分亏缺下棉花各绿色器官的RWC呈下降趋势（图4-1-2）。植物叶片的光合速率随着其RWC的降低而呈下降趋势（Cornic, 2000; Lawlor & Cornic, 2002）。棉花主茎叶和主茎秆的RWC与其光合速率成正相关（图4-1-5），这表明叶片和主茎秆的光合速率取决于其水分状态。在水分亏缺下，保持水分状态的能力是植物生长的基础。

植物可以通过积累渗透调节物质如脯氨酸（Sofo et al., 2004; Ben Ahmed et al., 2006; Ashraf & Foolad, 2007）和气孔调控（Athar & Ashraf, 2005; Ben Ahmed et al., 2007）来维持其水分状态。通过积累脯氨酸来调节渗透能力是植物对水分胁迫的重要生理机制

（Morgan, 1984）。蕃茄叶片的脯氨酸含量与其RWC呈显著的二次方程，这表明脯氨酸可作为植物受胁迫的指示剂（Claussen, 2005）。同样，本研究结果也显示，各绿色器官的脯氨酸含量可以指示其水分状态（图4-1-2, 7）。

大量的研究表明，抗旱性强的小麦（Nayyar, 2003）、桑树（Reddy et al., 2004）和橄榄（Ben Ahmed et al., 2009）品种的脯氨酸积累速率要高于干旱敏感型。因此，主茎秆较高的脯氨酸积累速率有助于维持其相对稳定光合速率（图4-1-7）。Tambussi等（2005）

研究表明，小麦穗能保持较好的光合作用是由于其较高的RWC。本研究结果表明，无论是正常灌溉还是水分亏缺下，铃壳的RWC均高于其它绿色器官（图4-1-2）。这与水分亏缺下铃壳仍能保持较稳定光合速率（单位干重的光合速率与其它绿色器官相比，图4-1-4）一致。水分亏缺未使苞叶的脯氨酸含量发生显著增加（图4-1-7），而其RWC比较稳定（图4-1-2），这表明苞叶可能不是通过增加脯氨酸含量这种方式来维持其水分状态的。

众所周知，叶片的水分状态与气孔导度有关，气孔调控也能调控叶片的RWC。在水分亏缺下，叶片的水势和气孔导度之间存在极显著相关（Medrano et al., 2002）。大量的研究表明水分亏缺增加气孔数量（张永平等, 2006; Xu & Zhou, 2008），但是气孔变小（Spence et al., 1986）。水分亏缺下，叶片和苞叶的远轴面气孔数量增多，气孔变小

（表4-1-1）。对于叶片而言，气孔导度变小会抑制叶片对CO2的吸收，这种抑制可能可以通过增加远轴面的气孔数量来缓解。相反，叶片近轴面的气孔密度和大小变化不大，可能是叶片近轴面具有排列紧密的柵栏组织，即使增多气孔数量和增大气孔开度可能还会抑制CO2的扩散。尽管我们未能揭示为何缺少栅栏组织的苞叶（Bondada et al., 1994）的远轴面（远离铃壳的一面）气孔密度增加。这可能是由于苞叶具有适应高浓度CO2环境的生理机制（第三章第一节）。在高浓度CO2环境生长的向日葵可以缓减水分水缺亏对其光合作用的抑制作用（Tezara et al., 2002），由于较弱的Rubisco羧化能力和较强的光捕获能力趋使过量的NADPH和ATP形成，从而使植物发生光氧化胁 迫

（Scarascia-Mugnozza et al., 1996）。因此，水分缺亏对苞叶近轴面的气孔密度和气孔大小的影响不显著，这有利于水分亏缺下将铃呼吸释放出来的CO2扩散到苞叶中。另一方面，苞叶远轴面的气孔较小，这有利于最大程度地保持苞叶内部的高浓度CO2和较小的蒸腾。Wullschleger等（1990）研究结果显示，中度水分亏缺下，盛铃期棉花苞叶的气孔导度下降幅度14.3%，而叶片的气孔下降幅度达28.9%。因此，水分亏缺下苞叶能维持相对稳定的光合速率可能与其生长在高浓度CO2微环境下有关。

另一个使苞叶在水分亏缺下能维持相对稳定的水分状态是由于其丰富的细胞空隙

（苞叶缺少栅栏组织，Bondada et al.，1994）。由于在特定的情况下，细胞空隙可能充满水（Willmer, 1983）。据此，可推测在水分亏缺下，苞叶中过大的细胞空隙可能被水充满。然而这个假设的正确与否还需进一步研究棉花苞叶、叶片及铃之间的水分运输机制。

#### **3.2** 苞叶和铃壳具有较好去除氧自由基的体系保障水分亏缺下具有较稳定光合速率

在水分缺亏下能维持较稳定的光合速率是其具有较强抗旱能力的表现。有研究表明，水分亏缺显著降低了棉花叶片的光合速率（下降幅度为17.7-44.5%），然而苞叶光合速率的下降幅度为10.0-11.1%，这与本研究结果一致（图4-1-4）。叶片光合速率下降可归因于Rubisco的总量和活性（Lawlor et al., 1989）。Rubisco是光合组织中最主要的可溶性蛋白，约占可溶性蛋总含量的50%（Makino et al., 1983）。水分亏缺降低了叶片、主

茎、铃壳和苞叶的可溶性蛋白含量（图4-1-6a），这表明水分亏缺降低其Rubisco含量。水分亏缺下，苞叶的RuBPC活性下降幅度小于叶片，这可能是由于它生长在高浓度CO2的微环境中（水分亏缺下细胞中CO2浓度受影响小些）。开花5天后，主茎秆的可溶性蛋白和RuBPC活性下降幅度小可能导致光合速率下降幅度小（图4-1-4, 6）。在花后20天，铃壳的可溶性蛋白显著降低和稳定的RuBPC活性，表明水分亏缺下铃壳光合速率下降可能与其可溶性蛋白的降解有关。

在水分亏缺下，植物气孔关闭使胞间CO2浓度下降，这使NADPH过量积累，氧成为电子受体，致使活性氧自由基的形成，把氧分子变成H2O2和羟自由基。活性氧自由基引起脂质过氧化，从而使细胞膜稳定性下降（Smirnoff, 1993）。干旱胁迫下，植物细胞膜的稳定性和完整性是其抗旱能力的一个良好的生理指标，而相对电导度常用来指示细胞膜稳定性和整体性（Kocheva et al., 2004; Xu et al., 2008）。本研究中，在花后5天，水分亏缺下主茎的MDA含量增加，同时其相对电导率伴随着增加（图4-1-9a, b）。这可能是由于水分亏缺下主茎的SOD活性显著增加和APX略有下降，致使对细胞有毒害作用的

H2O2含量增加（Elstner, 1987）。SOD在去除活性氧自由基的过程中起着重要的作用（Fu & Huang, 2001），它能将O2-催化成H2O2. APX和SOD是水-水循环中最重要的酶类，它们能保持电子流在光合机构中的正常运转，尤其当CO2碳固定受限制或抑制时（Asada，

1999）。大量研究表明，具有强抗氧胁迫能力的转基因烟草的Cu/Zn SOD或类囊体上的

APX活性增加（Gupta et al., 1993；Yabuta et al., 2002）。转基因烟草（使叶绿体内的SOD

过量表达）去除活性氧自由基能力的增强不仅增强了SOD活性，还使APX活性显著增强

（Gupta et al., 1993）。本研究结果表明，苞叶和铃壳中的SOD和APX活性之间存在显著相关性（图4-1-10a），表明在水分亏缺下SOD和APX活性的协同增加能更好地去除活性氧自由基。因此，苞叶和铃壳具有较好的氧自由基去除能力致使其在水分亏缺下形成相对少量的MDA和较低的相对电导率。

苞叶的脯氨酸含量与SOD活性、APX活性之间存在正相关性（图4-1-10b）。水分亏缺下，苞叶可能是通过气孔调控来维持其RWC，RWC的变化幅度小可能是其水分亏缺下脯氨酸含量变化幅度小的原因。另一方面，脯氨酸在维持细胞结构和活性方面具有重要的作用（Chaves et al., 2003）。水分亏缺下，叶片、主茎和铃壳的脯氨酸含量显著增加。然而，只有铃壳中的脯氨酸含量与SOD、APX之间存在显著相关性。铃壳具有较高的Car/Chl比值可能是维持其较好活性氧自由基猝灭系统，因为Car在光保护机制中起着重要的作用（Demming-Adams, 1996; Adams et al., 1999）。相反，水分亏缺下，棉花叶片和主茎的活性氧自由基猝灭系统可能已被破坏。

#### **3.3** 水分亏缺下棉花非叶绿色器官对其产量的相对贡献率增加

小麦非叶绿色器官（穗和果梗）对单穗重的贡献率高达40-50%（Araus et al., 1993; Wang et al., 2001）。棉花非叶绿色器官光合作用对其产量形成具有重要的贡献作用，尤

其在生育后期（第二章第一节）。水分亏缺下，生育后期（播种后98天至120天）叶片的表面积下降了33.8%，然而棉花非叶绿色器官的表面积下降了9.4%（图4-1-3b），水分亏缺下棉花叶片表面积减少有利于减少蒸腾量。水分亏缺下，叶片光合作用受抑制影响植物生长、生存和产量；与叶片相比，水分亏缺下，棉花非叶绿色器官的光合放氧能力受影响程度较小（图4-1-4c, d）。水分亏缺下，棉花总干物质积累量的减少是由于其光合速率的降低（图4-1-3c, d）。Wullschleger等（1990）提出在逆境条件下或衰老时，棉花叶片光合速率受抑制时，棉花非叶绿色器官苞叶仍能保持较稳定的光合速率，因此，棉花非叶绿色器官苞叶对产量的相对贡献率会增加。水分亏缺下，棉花非叶绿色器官的光合面积和光合能力的下降幅度较小，因此水分亏缺下棉花非叶绿色器官光合作用对产量的相对贡献率增加。

为了揭示水分亏缺下棉花各绿色器官对产量形成的相对贡献率可以通过光合面积和光合能力进行估算，假设棉花每天8.5小时的有效光辐射（1200μmol·m-2·s-1）进行干物质积累。以开花15-40天后之间棉花各绿色器官光合放氧能力的平均值作为在7月30日至

8月22日期间各棉花绿色器官的光合能力（除去两天雨天，图4-1-1所示）。这种估算具有一定的合理性。如果把8月22日各器官的表面积作为7月30日至8月22日期间各器官的光合面积，7月30日至8月22日期间正常灌溉和水分亏缺情况下棉株的总生物量积累分别增了45.3g和13.8g。从7月30日至8月22日，正常灌溉和水分亏缺情况下棉株总干质物量增加了39.2g和11.6g（图4-1-3c, d）。这些结果均表明各绿色器官的生物质积累主要集中在后期的推测是具有一定的准确性。

如表4-1-2所示，尽管叶片对其产量的形成起着主要的作用，在水分亏缺下各绿色器官光合作用对其产量的相对贡献率是增加的。因此，未来的研究工作不仅仅研究棉花叶片的抗旱性，还需将棉花非叶绿色器官的抗旱性机制纳入到研究工作中。

# 第五章 研究结论、创新点和展望

#### **5.1** 研究结论

##### **5.1.1** 棉花非叶绿色器官光合能力对其产量形成的重要作用

（1）棉花生育后期，叶面积开始下降，而非叶绿色器官（苞叶和棉铃）的表面积将增加；产量形成期非叶绿色器官的光合放氧能力和光合酶活性比较稳定；因此，在生育后期，棉花非叶绿色器官光合作用对整株棉花的相对贡献率是增加的，棉铃和主茎秆遮荫对整株棉花铃干重的相对贡献率为24.1%和9%。

（2）杂交棉新陆早43号和石杂2号叶片的光合放氧能力较高使其生育前期干物质快速积累，随生育时期的推移，石杂2号叶片的光合放氧速率显著下降，使其在盛铃后期干物质积累减少；植株具有较高的高度和较多结铃数为杂交棉品种茎秆和棉铃较强的光合能力提供了保障。

##### **5.1.2** 棉花非叶绿色器官光合特性及光保护机制的研究

（1）具有高呼吸速率的棉铃在棉铃和苞叶之间形成一个类似高浓度CO2的微环境；在高浓度*Ca*的测定条件下，苞叶具有较低的*Ci*/*Ca*和较高的iWUE；与叶片相比，苞叶的

*Jmax*/*Vcmax*和Reiske FeS/Rubisco比值较高。

（2）棉花各绿色器官具有不同的光保护机制，其中苞叶具有较低的抗氧化酶活性和较高的ΔpH-叶黄素循环热耗散（*Φ*NPQ）。主茎则倾向于通过依赖光和非依赖光的光化学耗散及较高的抗氧化酶体系。铃壳主要是通过其非常强的抗氧化酶体系和丰富的类胡萝卜素含量来进行热耗散，因为它具有较低的ΦNPQ。

（3）基于P700氧化还原动力学面积与单闪脉冲的放氧量成线型相关，通过P700氧化还原动力学方法测定棉花叶片近、远轴面朝向水溶液的*ki*（光失活速率常数）和*kr*（修复速率常数），发现近轴面朝向水溶液时的*kr*大于远轴面朝向水溶液（具有较多气孔的远轴面更利于CO2的扩散），P700氧化还原动力学方法能快速、准确地分析棉花整个叶圆片功能性的PSII特性。

##### **5.1.3** 棉花非叶绿色器官对水分亏缺的光合Th理适应机制

水分亏缺下，棉花各绿色器官的水分状态及其维持机制不同；棉花非叶绿色器官（苞叶和铃壳）的光合放氧能力、光合关键酶随生育时期的变化幅度较小与其较好的抗氧化酶体系有关；水分亏缺下，棉花非叶绿色器官光合作用对产量形成的相对贡献率增加。

#### **5.2** 创新点

（1）研究明确了在棉花生育后期叶片衰老，棉花非叶绿色器官光合作用对产量的形成具有重要作用；揭示了杂交棉各绿色器官光合作用、干物质积累与其超高产形成的密切关系。

（2）研究明确了具有高呼吸速率的棉铃在其周围形成了一个类似高浓度CO2的微环

境，揭示棉花非叶绿色器官苞叶适应高浓度CO2微环境的光合生理机制。

（3）研究明确了P700氧化还原动力学方法可快速、准确地测定棉花叶片功能性的

PSII，揭示了叶片的光失活速率常数（*ki*）和修复速率常（*kr*）与光强之间的关系。

（4）研究明确了在水分亏缺下，棉花非叶绿色器官光合作用对产量形成的相对贡献率增大，揭示了棉花各绿色器官对水分亏缺的光合生理适应机制。

#### **5.3** 研究展望

棉花除叶片作为主要的光合器官外，非叶绿色器官苞叶、茎秆和铃壳也含有叶绿素，并具有实际或潜在的光合能力，对产量形成具有一定的贡献。本研究从棉花非叶绿色器官光合作用对产量形成的贡献、叶片和非叶绿色器官的光合特性差异、水分亏缺条件下非叶绿色器官光合特性的生育期变化等3个方面，系统研究了棉花各绿色器官的光合特性及对水分亏缺的适应机制。在试验研究过程中，虽然针对棉花非叶器官光合特性变化的问题逐步深入开展研究，但由于时间、方法和手段等因素的限制，无法开展更全面和细致的研究工作，尚有许多问题有待于进一步研究，只有这样才能更好的揭示棉花非叶绿色器官的光合机制，挖掘棉花光合物质生产潜力，为高产栽培及抗逆品种选育提供理论依据，为棉花单产突破奠定基础。对本论文研究内容的归纳与展望见图5-1。

（1）除叶片外，棉花非叶绿色器官光合作用对棉花生长具有重要的意义。本文假设棉花冠层各个层次的绿色器官均处于光饱和状态，采用各绿色器官的光合面积和光合放氧能力估算出棉花各绿色器官光合作用对产量形成的相对贡献率，初步明确了棉花非叶绿色器官光合作用对生育后期产量形成的重要意义。由于时间有限，本论文只测定了主茎叶片，而未测定对棉铃发育至关重要的棉铃对位叶的光合能力，这可能高估了棉花非叶绿色器官光合作用对棉株产量的相对贡献率，虽然铝箔纸遮荫试验数据在一定程度上说明了估算结果具有较好的可靠性。但棉花产量形成是一个复杂的、受众多因素共同影响的过程，因此，还应在田间群体条件下，从冠层不同部位的角度，进一步揭示棉花不同生育时期冠层不同层次各绿色器官光合作用及与产量形成的关系。

（2）随着棉花产量水平的提高，进一步增加单产的难度加大，所以需重视棉花非叶绿色器官的光合能力，提高棉花植株整体的光能利用效率就显得尤为重要。本文研究了3个棉花品种各绿色器官光合特性及与产量形成的关系，揭示了超高产杂交棉的干物质积累特性及其与各绿色器官光合作用的关系，推测生育后期杂交棉茎秆贮藏物质能较好的转移到棉铃中，对产量形成具有重要作用。因此需要对有较高生物量的杂交棉茎秆贮藏物质的运转机制开展研究，探索提高棉花单产的理论途径。为了揭示棉花产量提高过程中非叶绿色器官光合作用对产量的重要作用，需要加强不同棉花品种间、尤其是不同年代品种演替过程中各绿色器官光合特性的生育期变化的研究。

（3）本文在不同光强下通过叶片在水溶液及含有Lincomycin的水溶液中的不同放置方式来测定其近轴面和远轴面的*kr*和*ki*，建立了采用P700氧化还原动力学准确测定棉

花叶片功能性PSII的方法。本文中棉花非叶绿色器官的光合特性均采用氧电极测定，但氧电极测定方法耗时长，因此可以通过P700氧化还原动力方法，快速、无损伤、精确地测定棉花非叶绿色器官的PSII活性，探讨不同器官光合特性差异的机制。

（4）水分亏缺下，较叶片而言，作物的非叶绿色器官具有较强的光合抗逆性。本文从棉花各非叶绿色器官光合能力和生理特性方面开展了相关研究，揭示了棉花各绿色器官光合生理特性对水分亏缺的适应机制及对干物质积累的相对贡献率。然而，棉花对水分亏缺的响应过程是十分复杂的，因此，在微观层次，应从Rubisco成分、PSII辅光蛋白等光合组分方面进一步研究棉花各绿色器官对水分亏缺的响应机制；在宏观层次，研究水分亏缺下棉花各绿色器官对产量的贡献率，这些研究将有助于全面认识棉花各绿色器官光合作用对水分亏缺的适应机制及对产量形成的作用。

（5）根据新疆棉区膜下滴灌棉花节水灌溉技术发展的需求，依据本论文研究结果，在棉花品种选育上，要重视对非叶绿色器官各性状的选择，目前在考虑适中的单叶面积基础上，可考虑苞叶、铃壳、茎秆性状作为培育抗逆品种选择的指标，包括苞叶面积大小、铃壳面积大小及厚度、茎秆高度等，充分发挥非叶器官高光效、抗逆强的功能，在节水灌溉条件下有利于提高棉花的光能利用，实现棉花高产稳产。

在棉花高产栽培方面，选用叶片和非叶绿色光合器官光合能力较强的基因型品种，通过化学调控和膜下滴灌水肥管理技术，适当控制叶面积指数的发展，促进非叶绿色器官包括茎秆、铃壳、苞叶面积的发展，调节叶铃的空间分布，充分发挥非叶绿色器官的光合抗逆功能，提高棉花产量。

棉花非叶绿色器官光合特性及对水分亏缺的适应机制



充分挖掘

棉花各绿色器官的光合能力

图5-1 研究内容的归纳与研

究展望.实线和虚线分别代增加群体 表本研究涉及的内容和需要光合物质 进一步研究的内容.

Fig.5-1 Diagram for the

棉花各绿色

器官对水分亏缺的光合

生理机制

棉花高

产高效

summery and prospect of this

thesis. Solid line and dashed

line

represent involved

灌溉水

管理

research in this thesis and

further research, respectively.

棉花非叶绿色器官光合能力对产量形成具有重要的作用

各层次棉花非叶绿色器官光合能力与产量形成的关系

杂交棉各绿色器官光合作用与其超高产形成的关系

棉花非叶绿色器官的光合能力差异及其内在机制

光合面积

光合放氧能力

生育期内各层次各绿色器官的群体光合能力

超高产杂交棉各绿色器官的光合特性

非叶绿色器官

茎秆贮藏物质的运转机制

P700 氧化还原动力学方法在棉花叶片 PSII 活性研究中的应用

叶片

水分亏缺下光合能力、水分状态、脯氨酸及抗氧化酶体系

水分亏缺下光合蛋白的分析

水分亏缺下各绿色器官群体光合能力变化

88

参考文献

[1] 杜明伟, 罗宏海, 张亚黎等. 新疆超高产杂交棉的光合生产特征研究. 中国农业科学, 2009a, 42(6): 1952-1962

[2] 杜明伟, 冯国艺, 姚炎帝等. 杂交棉标杂A1和石杂2号超高产冠层特性及其与群体光合生产的关系. 作物学报, 2009b, 35(6): 1068-1077

[3] 冯国艺. 超高产棉花冠层结构形成机理及调控研究: 石河子大学博士学位论文. 石河子: 石河子大学, 2012

[4] 李卫华, 郝乃斌. C3植物中C4途径研究进展. 植物学通报, 1999, 16(2): 97-106

[5] 李寒冰, 胡玉熹, 白克智等. 水稻稃片和旗叶叶绿体超微结构低温荧光特性进行了比较研究. 电子显微学报, 2002, 21(3): 341-344

[6] 李秀菊, 职明星, 石晓华等. 小麦穗光合对不同花位籽粒及颖壳的影响. 麦类作物学报, 2006, 26(5): 146-148

[7] 卢存福, 贲桂英. 高海拔地区植物的光合特性. 植物学通报, 1995, 12(2): 38-42

[8] 施生锦, 黄彬香, 王志敏. 小麦不同光合器官的光合性能研究. 中国生态农业学报, 2003, 11(4): 10-11

[9] 薛丽华, 章建新. 大豆鼓粒期非叶光合器官与粒重的关系. 大豆科学, 2006, 25(4): 524- 428.

[10] 魏爱丽, 王志敏. 野生一粒麦与普通栽培小麦不同绿色器官光合特性与叶绿体结构特征. 作物学报, 2002, 28 (3): 351-354

[11] 魏爱丽, 王志敏, 翟志席等. 土壤干旱对小麦旗叶和穗器官C4光合酶活性的影响. 中国农业科学, 2003, 36 (5): 508-512

[12] 魏爱丽, 张英华, 黄琴等. 小麦不同绿色器官光合速率与碳同化酶活性及其基因型差异研究. 作物学报, 2007, 33: (9) 1426-1431

[13] 张亚黎, 冯国艺, 胡渊渊等. 棉花非叶器官光合能力的差异及与物质生产的关系. 作物学报, 2010, 36 (4): 701-708

[14] 张永平, 王志敏, 吴永成等. 不同供水条件下小麦不同绿色器官的气孔特性研究. 作物学报, 2006, 32(1): 70-75

[15] 中国农业科学院棉花研究所. 中国棉花栽培学. 上海: 上海科学技术出版社, 1983

[16] Abbad H, Jaafrai SE, Bort J, Araus JL. Comparison of flag leaf and ear photosynthesis with biomass and grain yield of durum wheat under various water conditions and genotypes. Agronomie, 2004, 24: 19-28

[17] Ainsworth EA & Long SP. What have we learned from 15 years of free-air CO2 enrichment (FACE) Ameta-analyticreviewoftheresponsesofphotosynthesis, canopypropertiesandplantproductiontorisingCO2. NewPhytol, 2005, 165(2): 351-371

[18] Anderson JM. Insights into the consequences of grana stacking of thylakoid membranes in vascular plants: a personal perspective. Aust J Plant Physiol, 1999, 26(7): 625-639

[19] Aoyagi K & Bassham JA. Pyruvate orthophosphate dikinase of C3 seeds and leaves as compared to the enzyme from maize. Plant Physiol, 1984, 75: 387-392

[20] Araus JL, Brown HR, Febrero A, Bort J, Serret MD. Ear photosynthesis, carbon isotope discrimination and the contribution of respiratory CO2 to differences in grain mass in durum wheat. Plant Cell Environ, 1993, 16(4): 383-392

[21] Aro E-M, McCaffery S, Anderson JM. Photoinhibition and D1 protein degradation in peas acclimated to differentgrowth irradiance. Plant Physiol, 1993a, 103: 835-843

[22] Aro E-M, Virgin I, Andersson B. Photoinhibition of photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover. Biochim Biophys Acta, 1993b, 1143(2): 113-134

[23] Asada K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. Rev Plant Physiol Mol Biol, 1999, 50: 601-639

[24] Aschan G & Pfanz H. Non-foliar photosynthesis-a strategy of additional carbon acquisition. Flora, 2003, 198(2): 81-97.

[25] Aschan G, Pfanz H, Vodnik D, BatičF. Photosynthetic performance of vegetative and reproductive structures of green hellebore (*Helleborus viridis* L. agg.). Photosynthetica, 2005, 43(1): 55-64

[26] Aschan G & Pfanz H. Why snowdrop (*Galanthus nivalis* L.) tepals have green marksFlora, 2006, 8(23): 623-632

[27] Ashraf M & Foolad MR. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environ Exp Bot, 2007, 59(2): 206-216

[28] Athar H & Ashraf M. Photosynthesis under drought stress. In: Pessarakli, M. (Ed.), Handbook Photosynthesis, second

Ed. CRC Press, New York, USA, 2005, 795-810

[29] Bachmann KM, Ebbert V, Adams WW III, Verhoven AS, Logan BA, Demmig-Adams B. Effects of lincomycin on PSII efﬁciency, non-photochemical quenching, D1 protein and xanthophylls cycle during photoinhibition and recovery. Func Plant Biol, 2004, 31: 803-813

[30] Bajji M, Lutts S, Kinet JM. Water deﬁcit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. Plant Sci, 2001, 160(4): 669-681

[31] Barlow EWR, Lee JW, Rana Munns Smart MG. Water relations of the developing wheat grain. Aust J Plant Physiol, 1980, 7(5): 519-525

[32] Bates LS, Waldren RP, Teare JD. Rapid determination of proline for water stress studies. Plant Soil, 1973, 39(1): 205-207

[33] Ben Ahmed C, Ben Rouina B, Athar HR, Boukhris M. Olive tree (*Oleaeuropaea* L. cv. Chemlali) under salt stress: water relations and ions contents. Pak J Bot, 2006, 38 (5): 1477-1484

[34] Ben Ahmed C, Ben Rouina B, Boukhris M. Effects of water deﬁcit on olive trees cv. Chemlali underﬁeld conditions in arid region in Tunisia. Sci Hort, 2007, 113(3): 267-277

[35] Ben Ahmed C, Ben Rouina B, Sensoy S, Boukhris M, Ben Abdallah F. Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivarsunder contrastingwater availability regimes. Environ Exp Bot, 2009, 67(2): 345-352

[36] Bettarini I., Vaccari FP, Miglietta F. Elevated CO2 concentrations and stomatal density-observations from 17 plant species growing in a CO2 spring in central Italy. Global Change Biology, 1998, 4(1): 17-22

[37] Bhatt JG. Transport of radioactivity in relation to bracts in the cotton plant. Ann Bot, 1988, 62(6): 571-573

[38] Birkhold KB, Koch KE, Darnell RL. Carbon and nitrogen economy of developing rabbiteye blueberry fruit. J Am Soc Hortic Sci, 1992, 117(1): 139-145

[39] Biswall B. Carotenoid catabolism during leaf senescence and its control by light. J Photochem Photobiol B, 1995, 30(1): 3-14

[40] Björkman O. Carboxydismutase activity in shade-adapted and sun-adapted species of higher plants. Physiologia Plantarum, 1968, 21(1): 1-10

[41] Björkman O. Response to different quantum flux densities. In Lange OL, Nobel PS, Osmond CB, Ziegler H, eds. Physiological Plant Ecology I. Responses to the Physical Environment, Encyclopedia of plant physiology, new series. Springer-Verlag: Berlin, 1981, 57-107

[42] Black CC & Vines HM. Alternative plant photosynthetic CO2 fixation cycles. In DW Newman, KG Wilson, eds, Models in Plant Physioligy and Biochemistry, Vol1. CRC Press. BocaRaton, FL, 1987, 57-61

[43] Blanke MM & Lenz F. Fruit photosynthesis a review. Plant Cell Environ, 1989, 12(1): 31-46

[44] Blanke MM & Ebert G. Phosphoenolpyruvate carboxylase and carbon economy of apple seedlings. J Exp Bot, 1992, 43(7): 965-968

[45] Blum A. Photosynthesis and transpiration in leaves and ears of wheat and barley varieties. J Exp Bot, 1985, 36(3): 432-440

[46] Blum A. The effects of heat stress on wheat leaf and ear photosynthesis. J Exp Bot, 1986, 37(174): 111-118

[47] Blum A, Sinmena B, Mayer J, Golan G and Shpiler L (1994) Stem reserve mobilization supports wheat-grain filling under heat stress. Australian Journal of Plant Physiology, 21(6): 771-781

[48] Bondada BR, Oosterhuis DM, Wullschleger SD, Kim KS, Harris WM. Anatomical considerations related to photosynthesis in cotton leaves, bracts, and the capsule wall. J Exp Bot, 1994, 45(1): 111-118

[49] Bondada BR, Oosterhuis DM, Murphy JB, Kim KS. Effect of water stress on the epicuticular wax composition and ultrastructure of cotton leaf, bract, and boll. Environ Exp Bot, 1996, 36(1): 61-69

[50] Bondada BR & Oosterhuis DM. Comparative epidermal ultrastructure of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaf, bract and capsule wall. Ann Bot, 2000, 86(6): 1143-1152

[51] Bondada BR & Oosterhuis DM. Morphometic analysis of chloroplasts of cotton leaf and fruiting organs. Biol Plantarum,

2003, 47(2):281-284

[52] Bort J, Febrero A, Amaro T, Araus JL. Role of awns in ear water-use efficiency and grain weight in barley. Agronomie, 1994, 2: 133-139

[53] Bort J, Brown RH, Araus JL. Refixation of respiratory CO2 in the ears of C3-cereals. J Exp. Bot, 1996, 47(10): 1567-1575.

[54] Boyer JS. Plant productivity and environment. Sci, 1982, 218(4571): 443-448

[55] Bravd BA, Palgi A, Lurie S. Changing ribulose diphosphate carboxylase/oxygenase activity in ripening tomato fruit. Plant Physiol, 1977, 60: 309-312

[56] Brown KJ. Translocation of carbohydrates in cotton: Movement to the fruiting bodies. Ann Bot, 1968, 32(4): 703-713

[57] Caley CY, Duffus CM, Jeffcoat B. Photosynthesis in the pericarp of developing wheat grains. J Exp Bot, 1990, 41(3): 303-307

[58] Caldwell MM, Osmond CB, Nott DL. C4 pathway photosynthesis at low temperature in cold-tolerant *Atriplex* species. Plant Physiol, 1977, 60: 157-164

[59] Camp PJ, Huber SC, Burke JJ, Moreland DE. Biochemical changes that occur during senescence of wheat leaves. I. Basis for the reduction of photosynthesis. Plant Physiol, 1982, 70: 1641-1646

[60] Chapin III FS. The mineral nutrition of wild plants. Annu Rev Ecol Syst, 1980, 11: 233-260

[61] Chaves MM. Effects of water deficits on carbon assimilation. J Exp Bot, 1991, 42(1): 1-16

[62] Chaves MM, Maroco JP, Pereira JS. Understanding plant responses to drought-from genes to the whole plant. Funct Plant Biol, 2003, 30(3): 239-264

[63] Chow WS & Aro E-M. Photoinactivation and mechanisms of recovery. In: Wydrzynski T and Satoh K (eds) Photosystem II: the light-driven water: plastoquinone oxidoreductase. Advances in photosynthesis and respiration, vol 22 Springer, Dordrecht, 2005, 627-648

[64] Chow WS & Hope AB. Electron fluxes through Photosystem I in cucumber leaf discs probed by far-red light. Photosynth Res, 2004, 81: 77-89

[65] Chow WS, Hope AB, Anderson JM. Oxygen per flash from leaf disks quantifies photosystem II. Biochim Biophys Acta, 1989, 973(1): 105-108

[66] Chow WS, Fan D-Y, Oguchi R, Jia H, Losciale P, Park Y-I, He J, Öquist G, Shen Y-G, Anderson JM. Quantifying and monitoring functional Photosystem II and the stoichiometry of the two photosystems in leaf segments: Approaches and approximations. Photosynth Res, 2012, 113(1): 63-74

[67] Claussen W. Proline as a measure of stress in tomato plants. Plant Sci, 2005, 168(1): 241-248

[68] Cockfield SD. Relative availability of nitrogen in host plants of invertebrate herbivores: three possible nutritional and physiological definitions. Oecologia, 1988, 77: 91-94

[69] Condon AG, Richards RA, Farquhar GD. Carbon isotope discrimination is positively correlated with grain yield and dry matter production in filed-grown wheat. Crop Sci, 1987, 996-1001

[70] Constable GA & Rawson HM. Carbon production and utilization in cotton: Inferences from a carbon budget. Aust J Plant Physiol, 1980, 7(5): 539-553

[71] Cornic G. Drought stress and high light effects on leaf photosynthesis. In Photoinhibition of Photosynthesis: From Molecular Mechanisms to the Field. Eds. N R Baker and J R Bowyer. Oxford BIOS Scientific Publishers. 1994, 297-313

[72] Cornic G. Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture-not by affecting ATP systhesis. Trends Plant Sci, 2000, 5: 187-188

[73] Crookston RK, O'Toole J, Ozbun JL. Characterization of the bean pod as a photosynthetic organ. Crop Sci, 1974, 14: 708-712

[74] Cruz-Aguado JA, Rodés R, Pérez IP, Dorado M. Morphological characteristics and yield components associated with accumulation and loss of dry mass in the internodes of wheat. Field Crops Research, 2000, 66(2): 129-139

[75] Demmig-Adams B & Adams III WW. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. Ann Rev Plant Physiol PlantMol Biol, 1992, 43(1): 599-626

[76] Drake BG, Gonzalez-Meler MA, Long SP. More efficient plants- a consequence of rising atmospheric CO2. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Bio, 1997, l48: 609-639

[77] Duffus CM & Cochrane MP. Formation of the barley grain-morphology, physiology, and biochemistry. In: MacGregor AW, Bhatty RS (eds) Barley: chemistry and technology. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, 1993, 31-72

[78] Ehdaie B, Alloush GA, Waines JG. Genotypic variation in linear rate of grain growth and contribution of stem reserves to grian yield in wheat. Field Crops Research, 2008, 106(1): 34-43

[79] Eamus D. The interaction of rising CO2 and temperatures with water use efficiency. Plant Cell Environ, 1991, 14: 843-582

[80] Ehsanzadeh P, Mahmoudieh R, Fareed N. Photosynthetic contribution of the inflorescence and adjacent green tissue to diverse environmental conditions. J Biol Sci, 2007, 7(2): 263-269

[81] Elmore CD. Contributions of the capsule wall and bracts to the developing cotton fruits. Crop Sci 1973, 13: 751-752

[82] Elstner EF. Metabolism of activated oxygen species. In: Davies DD (ed. ): The biochemistry of Plants, Biochemistry of Metabolism. Academic Press, San Diego. 1987, Vol 11. 253-315

[83] Endress PK. Floral phyllotaxis andﬂoral evolution. Botanische Jahrbücher für Systematik, 1987, 108: 417-438

[84] Endress PK. Evolutionary diversification of the flowers in Angiosperms. Am J Bot, 2011, 98(3): 370-396

[85] Evans LT, Bingham J, Jackson P, Sutherland J. Effect of awns and drought on the supply of photosynthate and its distribution within wheat ears. Ann Appl Biol, 1972, 70(1): 67-76

[86] Evans JR. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C3 plants. Oecologia, 1989, 78(1): 9-19

[87] Evans JR, Jakobsen I, Ögren E. Photosynthetic light-response curves 2. Gradients of light-absorption and photosynthetic capacity. Planta, 1993, 189: 191-200

[88] Evans JR. Potential errors in electron transport rates calculated from chlorophyll fluorescence as revealed by a multilayer leaf model. Plant Cell Physiol, 2009, 50(4): 698-706

[89] Ewart AJ. On assimilatory inhibition in plants. J Linn Soc, 1896, 31(217): 364-461

[90] Farquhar GD, von Caemmere S, Berry JA. A biochemical model of photosynthetic CO2 assimilation in leaves of C3 species. Planta, 1980, 149(1): 78-90

[91] Field C, Mooney H. The photosynthesis-nitrogen relationship in wild plants. In On the Economy of Plant Form and Function. Ed. G. T. Givnish. Cambridge University Press, 1986, 25-55

[92] Foyer CH, Descourvieres P, Kunert KJ. Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants. Plant Cell Environ, 1994, 17: 507-523

[93] Fu J & Huang B. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. Environ Exp Bot, 2001, 45(2): 105-114

[94] Gebbing T, Schnyder H. 13C Clabelling kinetics of sucrose in glumes indicates signiﬁcant reﬁxation of respiratory CO2in the wheat ear. Aust J Plant Physiol, 2001, 28(10): 1047-1053

[95] Genty B, Briantais JM, Baker NR. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochim Biophys Acta, 1989, 990(1): 87–92

[96] Grossman A, Bartlett S, Chua N-H. Energy-dependent uptake of cytoplasmically synthesized polypeptide by chloroplasts. Nature, 1980, 285: 625-628

[97] Gunderson CA & Wullschleger SD. Photosynthetic acclimation in trees to rising atmospheric CO2: a broader perspective. Photosynth Res, 1994, 39(3): 369-388

[98] Gupta AS, Webb RP, Holaday AS and Allen RD. Overexpression of superoxide dismutase protects plants from oxidative stress (Induction of ascobate peroxidase in superoxide dismutase-overpressing plants). Plant Physiol, 1993, 103: 1067-1073

[99] Hattenschwiler S, Miglietta F, Raschi A, Korner C. Thirty years of in situ tree growth under elevated CO2: a model for future forest responsesGlobalChangeBiol, 1997, 3: 463-471

[100] He J & Chow WS. The rate coefficient of repair of photosystem II after photoinactivation. Physiol Plant, 2003, 118(2): 297-30492

[101] Hong SS & Xu DQ. Light-induced increase in initial chlorophyll fluorescence Fo level and the reversible inactivation of PSII reaction centers in soybean leaves. Photosynth Res, 1999, 61(3): 269-280

[102] Hedley CL, Harvey DM, Keely RJ. Role of PEP carboxylase during seed development in Pisum sativum. Nature, 1975, 258: 352-354

[103] Hemmers H and Gulz PG. Chemistry and morphology of epicuticular waxes from leaves of five Euphorbia species. Z Natuforsch, 1986, 41(5-6): 521-525

[104] Hendrickson L, Furbank RT, Chow WS. A simple alternative approach to assessing the fate of absorbed light energy using chlorophyll fluorescence. Photosynth Res, 2004, 82: 73-81

[105] Hikosaka K & Hirose T. Leaf and canopy photosynthesis of C3 plants at elevated CO2 in relation to optimal partitioning of nitrogen among photosynthetic components: theoretical prediction. Ecol Model, 1998, 106(2-3): 247-259

[106] Hikosaka K. Nitrogen partitioning in the photosynthetic apparatus of Plantago asiatica leaves grown under different temperature and light conditions: similarities and differences between temperature and light acclimation. Plant Cell Physiol, 2005, 46(8): 1283-1290

[107] Hodges DM, DeLong JM, Forney CF, Prange RK. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. Planta, 1999, 207(4): 604-611

[108] Hormaetxe K, Becerril JM, Fleck I, Pinto M, Garcia-Plazaola JI. Functional role of red (retro) -carotenoids as passive light filters in theleaves of Buxus sempervirens L.: increased protection of photosynthetic tissuesJExpBot, 2005, 56(420): 2629-2636

[109] Horton P. Prospects for crop improvement through the genetic manipulation of photosynthesis: morphological and biochemical aspects of light capture. J Exp Bot, 2000, 51(suppl 1): 475-485

[110] Imaizumi N, Usuda H, Nakamoto H and Ishihara K. Changes in the rate of photosynthesis during grain filling and the enzymatic activities associated with the photosynthetic carbon metabolism in rice panicles. Plant Cell Physiol, 1990, 31(6): 835-843.

[111] Ishihara K, Kiyota E, Imaizumi N. On the contribution of panicle photosynthesis to grain yield in rice plants. Jpn J Crop Sci, 1991, 60 (Extra Issue 1): 122-123

[112] Johnson RR & Moss DN. Effect of water stress on 14CO2 fixation and translocation in wheat during grain filling. CropSci, 1976, 16: 697-701

[113] Johnson DA, Richards RA, and Turner NC. Yield, water, relations, gas exchange, and surface reflectances of near isogenic wheat lines differing in glaucousness. Crop Sci, 1983, 23(2): 318-325

[114] Jones MB, Brown JC, Raschi A, Miglietta F. The effects on *Arbutus unedo* L. of long-term exposure to elevated CO2. Global Change Biology, 1995, 1(4): 295-302

[115] Jordan WR, Shouse PJ, Blum A, Miller FR, Monk RL. Environmental physiology of sorghum. II. Epicuticular wax load and cuticular transpiration. Crop Sci, 1984, 24(6): 1168-1173

[116] Kato MC, Hikosaka K, Hirotsu N, Makino A, Hirose T. The excess light energy that is neither utilized in photosynthesis nor dissipated by photoprotective mechanisms determines the rate of photoinactivation in Photosystem II. Plant Cell Physiol, 2003, 44(3): 318-325

[117] Kikuta SB & Richter H. Graphical evaluation and partitioning of turgor responses to drought in leaves of durum wheat. Planta, 1986, 168: 36-42

[118] Kimball BA, Kobayashi K, Bindi M. Responses of agricultural crops to free-air CO2 enrichment. Adv Agron, 2002, 77: 293-368

[119] Kingston-Smith AH, Harbinson J, Williams J, Foyer CH. Effect of chilling on carbon assimilation, enzyme activation, and photosynthetic electron transport in the absence of photoinhibition in maize leaves. Plant Physiol, 1997, 114(3): 1039-1046

[120] Knoppik D, Selinger H, Ziegler-Jöns A. Differences between the flag leaf and the ear of a spring wheat cultivar (*Triticum aestivum* cv. Arkas) with respect to the CO2 response of assimilation, respiration and stomatal conductance. Physiol Plant, 1986, 68(3): 451-45793

[121] Kocheva K, Lambrev P, Georgiev G, Goltsev V, Karabaliev M. Evaluation of chlorophyllﬂuorescence and membrane injury in the leaves of barley cultivars under osmotic stress. Bioelectrochemistry, 2004, 63(1-2): 121-124

[122] Kou J, Oguchi R, Fan D-Y, Chow WS. The time course of photoinactivation of photosystem II in leaves revisited. Photosynth Res, 2012, 113(1-3): 157-164

[123] Lawlor DW, Kontturi M, Young AT. Photosynthesis by flag leaves of wheat in relation to protein, ribulose bisphosphate carboxylase activity and nitrogen supply. J Exp Bot, 1989, 40(1): 43-52

[124] Lawlor DW. The effects of water deficit on photosynthesis. In Environment and Plant Metabolism. Flexibility and Acclimation, Ed. N Smirnoff. Oxford: BIOS Scientific Publisher. 1995, pp. 129-160

[125] Lawlor DW. Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. Ann Bot, 2002, 89(7): 871-885

[126] Lawlor DW & Cornic G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. Plant Cell Environ, 2002, 25(2): 275-294

[127] Lee H-Y, Hong Y-N, Chow WS. Photoinactivation of photosystem II complexes and photoprotection by non-functional neighbours in *Capsicum annuum* L. leaves. Planta, 2001, 212(3): 332-342

[128] Levizou E, Petropoulou Y, Manetas Y. Carotenoid composition of peridermal twigs does fully conform to a shade acclimation hypothesis. Photosynthetica, 2004, 42(4): 591-596

[129] Li XJ, Wang HG, Li HB, Zhang LY, Teng NJ, Lin QQ, Wang Jian, Kuang TY, Li ZS, Li B, Zhang AM and Lin JX. Awn play a dominant role in carbohydrate production during the grain filling stages in wheat (*Triticum aestivum*). Physiol Plantarum, 2006, 127(4): 701-709

[130] Lichtenthaler HK. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods Enzymol, 1987, 148: 350-382

[131] Lizana C, Wentworth M, Martínez JP, Villegas D, Meneses R, Murchie EH, Pastenes C, Lercari B, Vernieri P, Horton P, Pinto M. Differential adaptation of two varieties of common bean to abiotic stress. I. Effects of drought on yield and photosynthesis. J Exp Bot, 2006, 57(3): 685-697

[132] Long SP, Ainsworth EA, Rogers A, Ort DR. Rising atmospheric carbon dioxide: plants face the future. Annu Rev Plant Biol, 2004, 55: 591-628

[133] Losciale P, Oguchi R, Hendrickson L, Hope AB, Corelli-Grappadelli L, Chow WS. A rapid, whole-tissue determination of the functional fraction of Photosystem II after photoinhibition of leaves based on flash-induced P700 redox kinetics. Physiol Plant, 2008, 132(1): 23-32

[134] Matto AK, Hoffman-Falk H, Marder JB, Edelman M. Regulation of protein metabolism: Coupling of photosynthetic electron transport to in vivo degradation of the rapidly metabolized 32-kilodalton protein of the chloroplast membranes. Proc Natl Acad Sci USA, 1984, 81(5): 1380-1384

[135] Makino A, Mae T, Ohira K. Photosynthesis and ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase in rice leaves. Plant Physiol, 1983, 73(4): 1002-1007

[136] Makino A & Osmond B. Effects of nitrogen nutrition on nitrogen partitioning between chloroplasts and mitochondria in pea and wheat. Plant Physiol, 1991, 96(2): 355-362

[137] Makino A, Harada M, Kaneko K, Mae T, Shimada T, Yamamoto N. Whole-plant growth and N allocation in transgenic rice plants with decreased content of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase under different CO2 partial pressures. Aust J Plant Physiol, 2000, 27(1): 1-12

[138] Martinez DE, Luquez VM, Bartoli CG, Guizmét JJ. Persistence of photosynthetic components and photochemical effect in ears of water-stressed wheat(*Triticum aestivum*). Physiol Plantarum, 2003, 119(4): 519-525

[139] Maydup ML, Anotonietta M, Guiamet JJ, Graciano C, López, Tambussi EA. The contribution of ear photosynthesis to grain filling in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Field Crop Research., 2010, 119(1): 48-58

[140] McKee IF & Woodward FI. The effect of growth at elevated CO2 concentrations on photosynthesis in wheat. Plant Cell Environ, 1994, 17(7): 853-859

[141] Meehl GA, Stocker TF, Collins WD, Friedlingstein P, Gaye AT, Gregory JM, Kitoh A, Knutti R, Murphy JM, Noda A, Raper SCB, Watterson IG, Weaver AJ, Zhao Z-C. Global Climate Projections. In Solomon S, Qin D, Manning M, Chen94

Z, Marquis M, Averyt KB, Tignor M, Miller HL, eds. Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press: Cambridge and New York, 2007, 747-845

[142] Medlyn BE. The optimal allocation of nitrogen within the C3 photosynthetic system at elevated CO2. Aust J Plant Physiol, 1996, 23(5): 593-603

[143] Medrano H, Escalona JM, Bota J, Gulías J and Flexas J. Regulation of photosynthesis of C3 plants in response to progressive drought: stomatal conductance as a reference parameter. Ann Bot, 2002, 89(7): 895-905

[144] Melis A. Photosystem-II damage and repair cycle in chloroplasts: what modulates the rate of photodamage in vivo? Trends Plant Sci, 1999, 4(4): 130-135

[145] Miglietta F & Raschi A. Studying the effect of elevated CO2 in the open in a naturally enriched environment in Central Italy. 1993, Vegetatio 104/105: 391-400

[146] Mooney HA & Gulmon SL. Environmental and evolutionary constraints on the photosynthetic characteristics of higher plants. In: Solbrig OT, Jain S, Johnson GB, Raven PH, eds. Topics in plant population biology. New York, NY, USA: Columbia University Press, 1979, 316-337

[147] Morgan JM. Osmotic adjustment in the spikelets and leaves of wheat. J Exp Bot, 1980, 31(2): 655-665

[148] Morgan JM. Osmoregulation and water-stressed in higher plants. Annu Rev Plant Physiol, 1984, 35(1): 299-319.

[149] Mulchi CL, Slaughter L, Saleem M, Lee EH, Pausch R, Rowland R. Growth and physiological characteristics of soybean in open top chambers in response to ozone and increased atmospheric CO2. Agr Ecosyst Environ, 1992, 38(1-2): 107-118

[150] Müller P, Li XP, Niyogi KK. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. Plant Physiol, 2001, 125(4): 1558-1566

[151] Nakano H, Makino A, Mae T. The effect of elevated partial pressures of CO2 on the relationship between photosynthetic capacity and N content in rice leaves. Plant Physiol, 1997, 115(1): 191-198

[152] Nayyar H. Accumulation of osmolytes and osmotic adjustment in water-stressed wheat (*Triticum aestivum*) and maize (*Zea mays*) as affected by calcium and its antagonists. Environ Exp Bot, 2003, 50(3): 253-264

[153] Nie GY, Long SP, Garcia RL, Kimball BA, Lamorte RL, Pinter PJ, Wall GW, Webber AN. Effects of free-air CO2 enrichment on the development of the photosynthetic apparatus in wheat, as indicated by changes in leaf protein. Plant Cell Environ, 1995, 18(8): 855-864

[154] Nishimyama Y, Yamamoto H, Allakhverdiev SI, Inaba M, Yokota A, Murata N. Oxidative stress inhibits the repair of photodamage to the photosynthetic machinery. EMBO J, 2001, 20(20): 5587-5594

[155] Nishimyama Y, Allakhverdiev SI, Murata N. Protein synthesis is the primary target of reactive oxygen species in the photosystem II. Physiol Plant, 2011, 142(1): 35-46

[156] Oguchi R, Terashima I, Chow WS. The involvement of dual mechanisms of photoinactivation of photosystem II in*Capsicum annuum* L. plants. Plant Cell Physiol, 2009, 50(10): 1815-1825

[157] Oguchi R, Terashima I, Kou J, Chow WS. Operation of dual mechanisms that both lead to photoinactivation of Photosystem II in leaves by visible light. Physiol Plant, 2011a, 142(1): 47-55

[158] Oguchi R, Douwstra P, Fujita T, Chow WS, Terashima I. Intra-leaf gradients of photoinhibition induced by different color lights: Implications for the dual mechanisms of photoinhibition and for the application of conventional chlorophyll fluorometers. New Phytol, 2011b, 191(1): 146-159

[159] Ohad I, Berg A, Berkowicz SM, Kaplan A, Keren N. Photoinactivation of photosystem II: is there more than one way to skin a catPhysiolPlant, 2011, 142(1): 79-86

[160] Onoda Y, Hikosaka K, Hirose T. Seasonal change in the balance between capacities of rubp carboxylation and rubp regeneration affects CO2 response of photosynthesis in Polygonum cuspidatum. J Expl Bot, 2005, 56(412): 755-763.

[161] Onoda Y, Hirose T, Hikosaka K. Effect of elevated CO2 levels on leaf starch, nitrogen and photosynthesis of plantsgrowing at three natural CO2 springs in Japan. Ecol Res, 2007, 22(3): 475-484

[162] Onoda Y, Hirose T, Hikosaka K. Does leaf phootosynthesis adapt to CO2-enriched environmentsAnexperimentonplantsoriginatingfromthreenaturalCO2springs. NewPhytol, 2009, 182(3): 698-70995

[163] Oosterhuis DM, Chipamaunga J, Bate GC. Nitrogen uptake of field-grown cotton. I. Distribution in plant components in relation to fertilization and yield. Expl Agric, 1983, 19(1): 91-101

[164] Paoletti E, Nourrisson G, Garrec JP, Raschi A. Modifications of the leaf surface structures of *Quercus ilex* L. in open, naturally CO2-enriched environments. Plant Cell Environ, 1998, 21(10): 1071-1075

*[165]* Pérez-Alfocea F, Estan MT, Caro M, Guerrier G. Osmotic adjustment in *Lycopersicon esculentum* and *L. pennellii*under NaCl and polyethylene glycol 6000 iso-osmotic stresses. Physiol Plant, 1993, 87(4): 493-498

[166] Pheloung PC & Siddique KHM. Contribution of stem dry matter to grain yield in wheat cultivars. Aust J Plant Physiol, 1991, 18(1): 53-64

[167] Pic E, Tyssender de la Serve B, Tardieu F, Turc O. Leaf senescence induced by mild water deficiet follows the same sequence of macroscopic, bichemical and molecular events as monocarpic senescence in pea. Plant Physiol, 2002, 128(1): 236-246

[168] Pinheiro HA, DaMatta FM, Chaves ARM, Fontes EPB, Loureiro ME. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. Plant Sci, 2004, 167(6): 1307-1314

[169] Polle A, Otter T, Seifert F. Apoplastic peroxidases and ligniﬁcation in needles of Norway spruce (*Picea abies* L.). Plant Physiol, 1994, 106(1): 53-60

[170] Poole I, Weyers JDB, Lawson T, Raven JA. Variations in stomatal density and index: implications for palaeoclimatic reconstructions. Plant Cell Environ, 1996, 19(6): 705-12

[171] Porra RJ, Thompson WA, Kriedemann PE. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. BBA-Bioenergetics, 1989, 975(3): 384-394

[172] Powles SB. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. Annu Rev Plant Physiol, 1984, 35(1): 15-44

[173] Prásil O, Adir N, Ohad I. Dynamics of photosystem II: mechanism of photoinhibition and recovery processes. In: Barber J (ed) Topics in Photosyntheses, Vol. 11, Elsevier, Amsterdam, 1992, pp. 295-348

[174] Prestidge RA & McNeill S. The role of nitrogen in the ecology of grassland Auchenorryncha. In Lee JA, McNeil S and Rorison IH (eds) Nitrogen as an Ecological Factor. Blackwell Scientific Publishers, Oxford, 1983, pp 257-281

[175] Price GD, von Caemmerer S, Evans JR, Siebke K, Anderson JM, Badger MR. Photosynthesis is strongly reduced by antisense suppression of chloroplastic cytochrome *bf* complex in transgenic tobacco. Aust J Plant Physiol, 1998, 25(4): 445-452

[176] Pugnaire FI, Haase P, Incoll LD, Clark SC. Response of the tussock grass Stipa tenacissima to watering in a semi-arid environment. Funct Ecol, 1996, 10: 265-274

[177] Read SM & Northcote DH. Minimization of variation in the response to different proteins of the Coomassie blue G dye binding assay for protein. Anal Biochem, 1981, 116(1): 53-64

[178] Reddy AR, Chaitanya KV, Jutur PP, Sumithra K. Differential antioxidative responses to water stress amongﬁve mulberry (*Morus alba* L.) cultivars. Environ Exp Bot, 2004, 52(1): 33-42

[179] Specht JE, Hume DJ, Kumudini SV. Soybean yield potential- a genetic and physiological perspective. Crop Science, 1999, 39(6): 1560-1570

[180] Rodermel S, Haley J, Jiang CZ, Tsai CH, Bogorad L. A mechanism for intergenomic integration: abundance of ribulose bisphosphate carboxylase small-subunit protein influences the translation of the large-subunit mRNA. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996, 93(9): 3881-3885

[181] Royer DL. Stomatal density and stomatal index as indicators of paleoatmospheric CO2 concentration. Rev Palaeobot Palyno, 2001, 114(1-2): 1-28

[182] Sage RF. Acclimation of photosynthesis to increasing atmospheric CO2: the gas exchange perspective. Photosynthe Res, 1994, 39(3): 351-368

[183] Salvador RJ & Pearce RB. Husk removal and its effects on maize grain yield. Crop Sci, 1988, 28(6): 961-964

[184] Sánchez -Díaz M, García JL, Antolín MC, Araus JL. Effects of soil drought and atmospheric humidity on yield, gas exchange and stable carbon composition of barley. Photosynthetica, 2002, 40(3): 415-421

*[185]* Sayre RT, Kennedy RA, Pringnitz DJ. Photosynthetic enzyme activities and localization in *Mollugo verticillata*populations differing in the levels of C3 and C4 cycle operation. Plant Physiol, 1979, 64(2): 293-299

[186] Scarascia-Mugnozza G, De Angelis P, Matteucci G, Valentini R. Long-term exposure to elevated [CO2] in a natural *Quercus ilex* L. community: net photosynthesis and photochemical efficiency of PSII at different levels of water stress Plant Cell Environ, 1996, 19(6): 643-654

[187] Schuman GE, Stanley MA, Knudsen D. Automated Total Nitrogen Analysis of Soil and Plant Samples. Soil Sci Soc Am J, 1972, 37(3): 480-481

[188] Serraj R & Sinclair TR. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditionsPlantCellEnviron, 2002, 25(2): 333-341

[189] Sinclair TR & Ludlow MM. Who taught plants thermodynamicsTheunfulfilledpotentialofplantwaterpotential.

Aust. J Plant Physiol, 1985, 12(3):213-217

[190] Singal HR, Sheoran IS, Singh R. In vitro enzyme activites and products of 14CO2 assimilation in flag leaf and ear parts of wheat (*Triticum aestivum* L.). Photosynthe Res, 1986, 8(2): 113-122

[191] Smirnoff N. Tansley Review No. 52. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. New Phytol, 1993, 125: 27-58

[192] Sofo A, Dichio B, Xiloyannis C, Masia A. Lipoxygenase activity and proline accumulation in leaves and roots of olive tree in response to drought stress. Physiol Plant, 2004, 121(1): 58-65

[193] Specht JE, Hume DJ, Kumudini SV. Soybean yield potential- a genetic and physiological perspective. Crop Science., 1999, 39(6): 1560-1570

[194] Spence RD, Wu H, Sharpe PJH, Clark KG. Water-stressed effects on guard cell anatomy and the mechanical advantage of the epidermal cells. Plant Cell Environ, 1986, 9(3): 197-202

[195] Stitt M. Rising carbon dioxide levels and their potential significance for carbon flow in photosynthetic cells. Plant, Cell Environ, 1991, 14(8): 741-762

[196] Suzuki Y, Makino A. Availability of Rubisco small subunit up-regulates the transcript levels of large subunit for stoichiometric assembly of its holoenzyme in rice. Plant Physiol, 2012, 160(1): 533-540

[197] Tambussi EA, Nogués S, Araus JL. Ear of durum wheat under water stress water relations and photosynthesis metabolism. Planta, 2005, 221(3): 446-458

[198] Tambussi EA, Bort J, Guiamet JJ, Nogues S, Araus JL. The photosynthetic role of ears in C3 cereals: metabolism, water use efﬁciency and contribution to grain yield. Crit Rev Plant Sci, 2007, 26(1): 1-16

[199] Taniguchi M, Kuroda H, Satoh K. ATP-dependent protein synthesis in isolated pea chloroplasts: Evidence for accumulation of a translation intermediate of the D1 protein. FEBS Lett, 1993, 317(1-2): 57-61

[200] Terashima I, Fujita T, Inoue T, Chow WS, Oguchi R. Green light drive leaf photosynthesis more efficiently than red light in strong white light: Revisiting the enigmatic question of why leaves are green. Plant Cell Physiol, 2009, 50(4): 674-697

[201] Tyystjärvi E, Aro E-M. The rate constant of photoinhibition, measured in lincomycin-treated leaves, is directly proportional to light intensity. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93(5): 2213-2218

[202] Tezara W, Mitchell V, Driscoll SP, Lawlor DW. Effects of water deficit and its interaction with CO2 supply on the biochemistry and physiology of photosynthesis in sunflower. J Exp Bot, 2002, 53(375): 1781-1791

[203] Ting IP & Osmond CB. Photosynthetic phosphoenolpyruvate carboxylases characteristics of alloenzymes from leaves of C3 and C4 plants. Plant Physiol, 1973, 51(3): 439-447

[204] Tognetti R, Giovannelli A, Longobucco A, Miglietta F, Raschi A. Water relations of oak species growing in the naturalCO2 spring of Rapolano (central Italy). Ann For Sci, 1996, 53(2-3): 475-485

[205] Tsuyama M, Shibata M, Kobayashi Y. Leaf factors affecting the relationship between chlorophyll fluorescence and the rate of photosynthetic electron transport as determined from CO2 uptake. J Plant Physiol, 2003, 160(10): 1131-1139

[206] Van Gorkom HJ, Schelvis JPM. Kok's oxygen clock: What makes it tickThestructureofP680andconsrquencesofits

Oxidizing power. Photosynth Res, 1993, 38(3):297-301

[207] Van Iersel MW & Oosterhuis DM. Diurnal water relations of expanding and full-sized cotton fruits and subtending

Leaves. Plant, Cell Environ, 1995, 18(7):807-812

[208] Van Iersel MW & Oosterhuis DM. Drought effects on the water relations of cotton fruits, bracts, and leaves during ontogeny. Environ Exp Bot, 1996, 36(1): 51-59

[209] Vass I. Role of charge recombination processes in photodamage and photoprotection of the photosystem II complex. Physiol Plant, 2011, 142(1): 6-16

[210] von Balthazar M & Endress PK. Floral bract function, flowering process and breeding systems of Sarcandra and Chloranthus (Chloranthaceae). Plant Syst Evol, 1999, 218(3-4): 161-178

[211] von Caemmerer S & Farquhar GD. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. Planta, 1981, 153(4): 376-387

[212] von Caemmerer S, Evans JR, Hudson GS, Andrews TJ. The kinetics of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in vivo inferred from measurements of photosynthesis in leaves of transgenic tobacco. Planta, 1994, 195(1): 88-97

[213] Walcroft AS, Whitehead D, Silvester WB, Kelliher FM. The response of photosyntheticmodel parameters to temperature and nitrogen content in *Pinus radiata* D. Don. Plant Cell Environ, 1997, 20(11): 1338-1348

[214] Wang ZM, Wei AL, Zheng DM. Photosynthetic characteristics of non leaf organs of winter wheat cultvars differeing in ear type and their relationship with grain mass per ear. Photosynthetica, 2001, 39(2): 239-244

[215] Wardlaw IF. Interaction between drought and chronic high temperature during kernel filling in wheat in a controlled envrironment. Ann Bot, 2002, 90(4): 469-476

[216] Warren CR & Adams MA. Phosphorus affects growth and partitioning of nitrogen to Rubisco in *Pinus pinaster.* Tree Physiol, 2002, 22(1): 11-19

[217] Warren CR & Adams MA. Evergreen trees do not maximize instantaneous photosynthesis. Trends Plant Sci, 2004, 9(6): 270-274

[218] Webber AN, Nie GY, Long SP. Acclimation of photosynthetic proteins to rising atmospheric CO2. Photosynth Res, 1994, 39(3): 413-425

[219] Weete JD, Leek G. L, Peterson CM, Currie HE and Branch WD. Lipid and surface wax synthesis in water-stressed cotton leaves. Plant Physiol, 1978, 62(5): 675-677

[220] Wendel JF. New World tetraploid cottons contain Old-World cytoplasm. Proc Natl Acad Sci USA, 1989, 86(11): 4132-4136

[221] Wendel JF & Albert VA. Phylogenetics of the cotton genus (*Gossypium*): Character-state weighted parsimony analysis of chloroplast-DNA restriction site data and its systematic and biogeographic implications. Systematic Botany, 1992, 17: 115-143

[222] Willmer CM. Morphology and anatomy of stomata. In Stomata. London: Longman, 1983

[223] Woodson JD & Chory J. Coordination of gene expression between organellar and nuclear genomes. Nat Rev Genet, 2008, 9(5): 383-395

[224] Wullschleger SD, Oosterhuis DM, Rutherford SA. Importance of bracts in the carbon economy of cotton. Arkansas Farm Res, 1990, 39(3): 4

[225] Wullschleger SD & Oosterhuis DM. Photosynthetic and respiratory activity of fruiting forms within the cotton canopy. Plant Physiol, 1990a, 94(2), 463-469

[226] Wullschleger SD & Oosterhuis DM. Photosynthetic carbon production and use by developing cotton leaves and bolls. Crop Sci, 1990b, 30(6): 1259-1264

[227] Wullschleger SD & Oosterhuis DM. Photosynthesis, transpiration, and water-use efficiency of cotton leaves and fruit. Photosynthetica, 1991, 25: 505-515

[228] Wullschleger SD, Oosterhuis DM, Hurren RG, Hanson PJ. Evidence for light-dependent recycling of respired carbon dioxide by the cotton fruit. Plant Physiol, 1991, 97(2): 574-579

[229] Xu HL, Ishii R, Yamagishi T, Kumura A. Effects of water deﬁcit on photosynthesis in wheat plants. III. Effect on non-stomatal mediated photosynthesis and RuBP carboxylase content in different plant parts. Jpn J Crop Sci, 1990, 59(1): 153-157

[230] Xu HL, Gauthier L, Desjardins Y, Gosselin A. Photosynthesis in leaves, fruits, stem and petioles of greenhouse-grown tomato plants. Photosynthetica, 1997, 33(1): 113-123

[231] Xu XL & Ishii R. Wheat cultivar differences in photosynthetic response to low soil water potentials: 1. Marintenance of photosynthesis and leaf water potential. Jpn. J Crop Sci, 1996, 65: 509-517

[232] Xu ZZ & Zhou GS. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. J Exp Bot, 2008, 59(12): 3317-3325

[233] Xu ZZ, Zhou GS, Wang YL, Han GX, Li YJ. Changes in chlorophyllﬂuorescence in maize plants with imposed rapid dehydration at different leaf ages. J Plant Growth Regulat, 2008, 27(1): 83-92

[234] Yabuta Y, Motoki T, Yoshimura K, Takeda T, Ishikawa T and Shigeoka S. Thylakoid membrane-bound ascorbate peroxidase is a limiting factor of antioxidative systems under photo-oxidative stress. Plant J, 2002, 32(6): 915-925

[235] Yang JC, Zhang JH, Wang ZQ, Zhu QS, Liu LJ. Activities of starch hydrolytic enzymes and sucrose-phosphate synthase in the stems of rice subjected to water stress during grain filling. J Exp Bot, 2001, 52(364): 2169-2179

[236] Yamori W, Takahashi S, Makino A, Price GD, Badger MR, von Caemmerer S. The roles of ATP synthase and the Cytochrome b6/f complexes in limiting chloroplast electron transport and determining photosynthetic capacity. Plant Physiol, 2011, 155(2): 956-962

[237] Zhang YH, Wang ZM, Shu HW. Phosphoenolpyruvate carboxylase activity in ear organs is related to protein concentration in grains of winter wheat. J Cereal Sci, 2008, 47(2): 386-391

[238] Zhang YP, Zhang YH, Wang ZM, Wang ZJ. Characteristics of canopy structure and contributions of non-leaf organs to yield in winter wheat under different irrigated conditions. Field Crop Res, 2011, 123(3): 187-195

[239] Zhao DL & Oosterhuis DM. Photosynthetic capacity and carbon contribution of leaves and bracts to developing floral buds in cotton. Photosynthetica, 1999, 36(1-2): 279-290

[240] Zhu XG, Ort DR, Whitmarsh J, Long SP. The slow reversibility of photosystem Ⅱthermal energy dissipation ontransfer from high to low light may cause large losses in carbon gain by crop canopies: a theoretical analysis. J Exp Bot, 2004, 55(400): 1167-1175

[241] Ziegler Jöns A. Gas-exchange of ears of cereals in response to carbon dioxide and light. I. Relative contributions of parts of the ears of wheat, oat, and barley to the gas exchange of the whole organ. Planta, 1989, 178(2): 84-91

致谢

本论文是在导师张旺锋教授的悉心指导下完成的。他严谨的治学态度、求实创新的科学精神以及忘我的工作作风，使我受益终生。在论文的选题、试验的设计和实施以及论文的撰写等每一个环节，无不得到导师的悉心指导和帮助。值此论文完成之际，我愿借此机会向导师致以最崇高的敬意和最真诚的感谢。

在研究生学习阶段，我有幸获得国家留学基金委（国家公派专项研究生项目，2010年11月-2011年5月）和石河子大学（“211工程”创新人才培养项目，2011年12月-2012年6月）的资助，两次以联合培养博士生身份在澳大利亚国立大学医学、生物学及环境学院植物科学系（Research School of Biology）留学一年，感谢澳大利亚国立大学导师Wah Soon Chow教授在试验开展和论文写作中给予的无私帮助，他严肃的科学态度，严谨的治学精神，精益求精的工作作风，深深地感染和激励着我。在此谨向Chow教授致以诚挚的谢意和崇高的敬意。还感谢澳大利亚国立大学von Caemmere教授日本东北大学

Oguchi、Yamori博士以及中国科学院植物研究所樊大勇副研究员在试验设计以及论文撰写过程中的无私帮助。

感谢石河子大学农学院马富裕教授、危常州教授、吕新教授和郁松林教授以及生命科学学院王绍明教授在论文开题、中期考核等论文研究过程中提出的宝贵意见和建议，使论文得以顺利完成。

本课题组的勾玲副教授、罗宏海副教授、张亚黎副教授，博士研究生冯国艺、张前兵、占东霞，硕士研究生张宏芝、田景ft、姚炎帝、李维、杨美森、虎小兵、易小平、姚贺胜、张向娟等日常生活以及论文研究过程中给予热心帮助和无私奉献；感谢生命科学院陆嘉惠老师和硕士研究生谢良碧在棉花解剖结构实验过程中的指导和帮助，感谢惠文巧等陪我度过难忘而精彩的研究生求学生涯，在此向他们表示深深的感谢！

感谢新疆兵团绿洲生态农业重点实验室行政办雷军主任、赵瑞海老师和林海荣老师的支持，感谢农学院研究生办程诚主任和莫文萍老师的支持和帮助。

感谢导师张旺锋教授六年来给予的经费资助；感谢澳大利亚国立大学Wah Soon

Chow教授所提供的留学经费资助；感谢石河子大学提供的助研岗位；正是您们的经费资助使我得以安心而顺利的进行论文研究工作，才有了今天的收获。

深深感谢我的外公、外婆、爸爸、妈妈、姐姐和弟弟对我的支持、鼓励、理解以及无私关爱和浓浓亲情。感谢我的男朋友刘涛在实验和生活中的照顾及为我所付出的感情。

至此论文完成之际，谨向所有关心和帮助过我的老师、同学、朋友和亲人表示最诚挚的谢意。

胡渊渊

2013年6月

# 作者简介

胡渊渊，女，生于1985年11月17日，籍贯浙江省乐清市，汉族，中共党员。2003年

9月至2007年7月，就读于浙江农林大学林业与生物技术学院生物技术专业，获理学学士学位；2007年9月，就读于石河子大学农学院作物栽培学与耕作学专业，攻读硕士学位；2009年9月至今提前攻读作物栽培学与耕作学读博士学位。

在学期间主要参与了国家自然科学基金联合基金重点项目《新疆膜下滴灌棉花高光效群体防衰生理生态机理及调控研究》（项目编号：U1203283）、国家科技支撑计划课题

《杂交棉高产高效综合栽培技术集成与示范》（项目编号：2007BAD44B07）、国家自然科学基金项目“新疆超高产棉花冠层结构形成机制及调控研究”（项目编号：31060176）、石河子大学高层次人才科研启动项目《超高产棉花冠层光合源的结构与功能及调控研究》（项目编号：RCZX201005）。

在学期间发表和待发表的主要研究论文如下：

1．**Hu YY**, Zhang YL, Luo HH, Zhang WF．The different photoprotective mechanisms of various green organs in cotton (*Gossypium hirsutum* L.)．The 15th International Congress of Photosynthesis, 2010

2. **Hu YY**, Zhang YL, Luo HH, Li W, Oguchi R, Fan DY, Wah Soon Chow and Zhang WF．Important photosynthetic contribution from the non-foliar green organs in cotton at the late growth stage．Planta, 2012, 235: 325-336

3．**Hu YY**, Oguchi R, Yamori W, von Caemmerer S, Chow WS and Zhang WF．Cotton bracts are adapted to a micro-environment of concentrated CO2 produced by rapid fruit respiration．Annals of Botany．2013, doi:10.1093/aob/mcto091(Published online)

4．**Hu YY**, Fan DY, Losciale P, Chow WS and Zhang WF．Whole-tissue determination of the rate of coefficients of photoinactivation and repair of Photosystem II in cotton leaf discs based on flash-induced P700 redox kinetics. Photosynthesis research．2013, doi 10.1007/s11120-013-9822-5(Published online)

5．**Hu YY**, Zhang YL, Yi XP, Zhan DX, Luo HH, Chow WS and Zhang WF．The relative contribution of non-foliar organ to yield and related physiological characteristicsn under water deficit in cotton．Submitting to Journal of Integrative Agriculture．Major revision

6．Zhang YL, **Hu YY**, Luo HH, Chow WS, Zhang WF．Two distinct strategies of cotton and soybean differing in leaf movement to perform photosynthesis under drought in the field．Functional Plant Biology, 2011, 38: 567-575

7．Tian JS, **Hu YY**, Gan XX, Zhang YL, Hu XB, Gou L, Luo HH and Zhang WF．Effects of increased night temperature on cellulose synthesis and the activity of sucrose

Metabolism enzymes in cotton fiber．Journal of Integrative Agriculture, 2013, 12(6)：979-988

8．Zhang YL, Luo HH, **Hu YY**, Strasser RJ, Zhang WF．Characteristics of Photosystem

II behavior in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) bract and capsule wall．Journal of Integrative Agriculture, 2013，accepted

9．Luo HH, Zhang HZ, Han HY, **Hu YY**, Zhang YL, Zhang WF．Effects of water storage in deeper soil layers on growth, yield, and water productivity of cotton (*Gossypium Hirsutum* L.) in arid areas of northwesten china．Irrigation and Drianage, 2013，accepted

10．张亚黎，冯国艺，**胡渊渊**，姚炎帝，张旺锋．棉花非叶绿色器官光合能力的差异及与物质生产的关系．作物学报，2010，36（4）：701-708

11．张亚黎，姚贺盛，罗毅，**胡渊渊**，张旺锋．海岛棉和陆地棉叶片光合能力的差异及限制因素．生态学报，2011，31（7）：1803-1810

12．李维，张亚黎，**胡渊渊**，杨美森，吴洁，张旺锋．田间条件下棉花幼叶光合特性及光保护机制．植物生态学报，2012，36（7）：662-670

石河子大学博士研究Th学位论文

# 导师评阅表

