

夜间低温对 2 种热带雨林树种幼苗叶绿素荧光的影响

张教林, 曹坤芳*

(中国科学院西双版纳热带植物园, 云南勐腊 666303)

摘要: 研究了夜间低温(5 ± 1 ℃, 12 h, 连续 3 个晚上)对生长于 3 种光照条件下(100%、25% 和 8% 光照)的热带雨林冠层树种绒毛番龙眼(*Pometia tomentosa*)和 中层树种滇南风吹楠(*Horfieldia tetratapa*)幼苗叶绿素荧光的影响。结果表明: 低温处理使生长于全光下的绒毛番龙眼幼苗的 Fv/Fm(PSII 最大光化学量子产量)急剧降低, 中午发生了强烈的光抑制, 但随着低温胁迫的解除 Fv/Fm 能很快恢复, 表明没有发生不可逆的光氧化损伤。低温使生长于全光和 25% 光照条件下 2 个树种幼苗的 NPQ(非光化学猝灭, 热耗散)受到抑制, 但没有引起 2 个树种幼苗 Fo(初始荧光)的升高, 不会导致幼苗 PSII 反应中心的失活。2 种热带雨林植物对低温的抗性可能与这些植物的地理分布和历史渊源有关。

关键词: 寒害; 叶绿素荧光; 滇南风吹楠; 光抑制; 绒毛番龙眼; 热带雨林树种

中图分类号: Q945 文献标识码: A 文章编号: 1000-470X(2003)04-0356-05

The Effects of Night Chilling on Chlorophyll Fluorescence in Seedlings of Two Tropical Rain Forest Tree Species

ZHANG Jiao-Lin, CAO Kun-Fang*

(Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, The Chinese Academy of Sciences, Mengla, Yunnan 666303, China)

Abstract: In this study, the effect of night chilling (5 ± 1 ℃, 12 hours at night, for three consecutive nights) on chlorophyll fluorescence in leaves of two tropical rain forest tree species was examined. Seedlings of *Pometia tomentosa* (Sapindaceae), a canopy species, and *Horfieldia tetratapa* (Myristicaceae), a middle layer species, were nursed under three light regimes (full, 25% and 8% daylight) in the Xishuangbanna Tropical Botanical Garden. More severe photoinhibition at noon resulted from the night chilling was observed in *P. tomentosa* seedlings grown under full daylight. However, this photoinhibition was recovered rapidly after termination of the chilling treatment, indicating that no irreversible photooxidation damage occurred. In addition, heat dissipation, as indicated by non-photochemical quenching (NPQ), in the seedlings of both species grown under 25% and full daylight conditions were suppressed by night chilling, but there was no increase in Fo (Initial fluorescence) value in both species, suggesting no inactivation of PSII reaction centers. Our results support the observations in the field that native tropical rain forest plants are usually not injured when severe cold wind affects the region. Resistance of native tropical plants to chilling is consistent with their geographical distribution.

Key words: Chilling; Chlorophyll fluorescence; *Horfieldia tetratapa*; Photoinhibition; *Pometia tomentosa*; Tropical rain forest trees

低温被认为是限制植物地理分布的主要因素^[1-3]。大部分热带植物终年处于生长状态, 抗寒能力没有变化或变化不大, 因此对低温尤为敏感。研究表明, 6 ~ 10 ℃ 的低温即可对热带植物造成伤害, 甚

收稿日期: 2002-11-07, 修回日期: 2003-03-24。

基金项目: 中国科学院“百人计划”资助项目的部分研究内容。

作者简介: 张教林(1975-), 男, 在职硕士生, 主要从事植物生理生态学研究。E-mail: zjl@xtbg.org.cn

* 通讯作者(caokf@xtbg.ac.cn)。
© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

至冻死^[4]。西双版纳地处热带北缘,由于横断山脉、哀牢山和云贵高原的屏障,该地分布和保存有大面积的原始热带雨林,生物多样性十分丰富^[5]。但在北方寒流势力强的年份,寒流余势顺着南北走向的山谷侵入,加上剧烈的辐射降温,寒害随之发生。近 30 年来,云南热区曾先后 3 次遭受严重的寒害^[6]。1999/2000 年冬西双版纳地区寒害发生时,低温天气持续 7 d,极端最低温达到 1.9℃,导致引种栽培的咖啡、橡胶等大面积热带作物冻死^[7]。虽然热带雨林植物在这次寒害中没有出现被冻死的现象,但低温会影响这些植物体内的水分代谢、色素合成、光合电子传递等生理过程^[8,9],加之西双版纳地处热带,中午光照强烈,容易引发植物光合作用的光抑制^[10,11],而低温会加剧光抑制对植物光合机构的损伤^[12]。

许多人已对寒带、温带农林、园艺植物及部分热带果树的耐寒性及其机理做了大量的研究^[13-16],但对热带雨林植物的耐寒性及其机理的研究还很缺乏。笔者以自然分布于西双版纳地区的热带雨林木本冠层树种绒毛番龙眼(*Pometia tomentosa*)和中层树种滇南风吹楠(*Horsfieldia tetrataphala*)幼苗为材料,测定了夜间持续低温(5±1℃,12 h,连续 3 个晚上)对生长于 3 种光照条件下(100%、25% 和 8% 光照)2 个热带雨林树种的幼苗叶绿素荧光的影响,及解除低温胁迫后幼苗叶绿素荧光的恢复特性,探讨热带雨林树种对低温的适应机制,为热带植物引种驯化、生物多样性保护及种质资源保存提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区域自然概况

西双版纳(21°09′~22°33′N, 99°58′~101°50′E)地处热带北缘,受西南季风的影响,一年中有明显

的干季(11 月~次年 4 月)和雨季(5~10 月)之分,年平均降雨量 1 539 mm,降雨多集中在雨季,占全年降雨量的 82%。年平均气温 21.4℃,相对湿度 85%。

1.2 树种选择

热带雨林冠层树种绒毛番龙眼(无患子科, Sapindaceae)是西双版纳原始森林植被热带季节雨林的标志树种,广泛分布于海拔 900 m 以下的沟谷雨林中^[17],在群落结构中占有重要地位。滇南风吹楠(肉豆蔻科, Myristicaceae)是热带季节雨林中常见的中层树种。本实验在中国科学院西双版纳热带植物园(21°41′N, 101°25′E,海拔 580 m)进行。

1.3 实验设计

用遮荫网搭建光照为 25% 和 8% 的荫棚,以全光照为对照。于 2000 年 7 月收集 2 种热带雨林树种的种子,让种子在 25% 光照的砂床上萌发。幼苗长到 3~4 片叶时移栽到体积为 15 L 的花盆中以森林表层土(砖红壤)为基质盆栽,每盆 1 株,每个树种约 80 株。幼苗长势整齐一致。幼苗先在 25% 的荫棚中适应 1 个月,然后于 2000 年 9 月初将幼苗分成 3 组分别移入全光照、25% 和 8% 的光照处理中。幼苗生长期间保证充足的肥水,并防治病、虫害。

1.4 低温处理

2000 年 11 月 20 日晚上 6 时 00 分将幼苗放入 5±1℃ 的冷库中进行低温处理,次日早上 6 时 00 分把幼苗放回原来的光照处理中,连续 3 d。进行低温处理前(11 月 20 日),先测定不同光照条件下幼苗叶绿素荧光参数的日变化,以此作为没有寒害发生年份干季夜间自然低温下幼苗叶绿素荧光的日进程。解除低温胁迫后,让幼苗在原来的光照处理中恢复。分别于低温处理 3 d 后和解除低温胁迫后的第 2 d 测定叶片叶绿素荧光参数的日变化。测定期间的天气状况见表 1。

表 1 测定期间的天气状况*
Table 1 The weather conditions during measurements

项目 Items	11 月 20 日 November 20	11 月 21 日 November 21	11 月 22 日 November 22	11 月 23 日 November 23	11 月 24 日 November 24	11 月 25 日 November 25
天气 Weather	晴 Sunny	阴转晴 Cloudy to sunny	晴 Sunny	晴 Sunny	晴 Sunny	晴 Sunny
最高温(℃) Maximum temperature	29.3	20.0	25.3	26.0	25.7	27.3
最低温(℃) Minimum temperature	17.3	15.8	14.5	14.2	15.0	14.3
平均温(℃) Average temperature	21.2	17.8	18.0	17.8	17.9	17.7
相对湿度(%) Relative humidity	88.2	80.0	84.0	89.5	90.0	87.1

* 数据由中国科学院西双版纳热带植物园生态站提供。
* Climatic data were provided by Ecological Station, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, The Chinese Academy of Sciences.
© 1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.5 叶绿素荧光参数日变化的测定

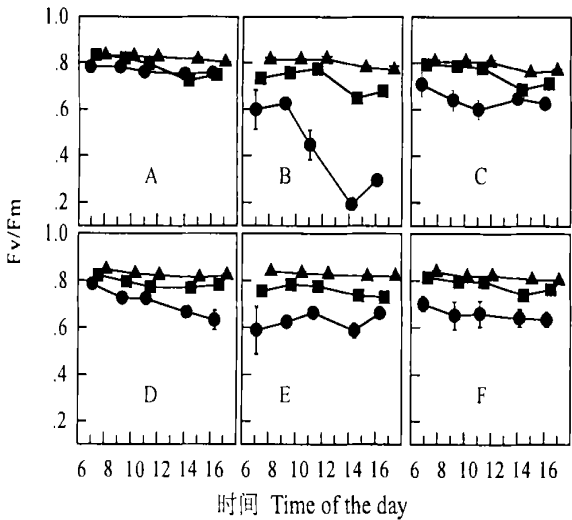
叶绿素荧光参数用 FMS2 型叶绿素荧光仪 (Hansatech, 英国) 以幼苗的成熟叶片为材料进行测定。叶片暗适应 15 min 后, 用弱检测光测定 F_0 (初始荧光), 然后用强饱和脉冲光 ($5000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) 测定最大荧光 F_m , $F_v = F_m - F_0$ 。测定中所用的作用光为 $400 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。NPQ (非光化学猝灭) $= (F_m - F_m') / F_m$ 。其中 F_m 为凌晨的测定值, F_m' 为作用光适应 (150 s) 后的荧光最大值。每个处理选择 3 株幼苗进行测定, 每株 1 个测定。每天从早上 6 时左右开始, 每隔 2 h 测定 1 次。分别以 F_v/F_m (PSII 最大光化学量子产量)、NPQ 和 F_0 作为幼苗叶片发生光抑制^[18]、热耗散能力^[19]和 PSII 反应中心活力^[20]的判断指标。

2 结果与分析

低温处理前, 生长于 3 种光照条件下的绒毛番龙眼和生长于 8% 与 25% 光照条件下的滇南风吹楠幼苗的 F_v/F_m 在一天中没有显著变化, 而生长于全光下的滇南风吹楠幼苗的 F_v/F_m 值在下午时仍然很低, 但经过一个晚上的恢复可以达到凌晨的值, 且不同光照条件下 2 个树种凌晨的 F_v/F_m 之间没有显著差异 (图 1: A, D), 表明该地区干季的夜间自然

降温不会引起长期光抑制。5 \pm 1 低温处理 3 个晚上后, 生长于 8% 与 25% 光照条件下的绒毛番龙眼和滇南风吹楠幼苗 F_v/F_m 的日进程没有受到明显的影响, 但生长于全光下绒毛番龙眼幼苗的 F_v/F_m 急剧降低, 在低温处理的第 3 d 正午光照最强的时候 (14 时) F_v/F_m 达到最低值, 发生强烈的光抑制, 表明低温 (5 \pm 1) 使 F_v/F_m 在夜间不能得到很好的恢复, 低温胁迫加剧了光抑制。经过 3 个晚上的人工低温处理使生长于全光下的滇南风吹楠的 F_v/F_m 不能恢复到低温处理前凌晨的值, 整个日进程有所下调 (图 1: B, E)。解除低温胁迫后 2 d, 全光下生长的绒毛番龙眼的 F_v/F_m 很快恢复, 滇南风吹楠幼苗的 F_v/F_m 也基本恢复到低温处理前的水平 (图 1: C, F), 表明低温处理没有导致生长于 3 种光照条件下的 2 个树种发生不可逆的光氧化损伤。

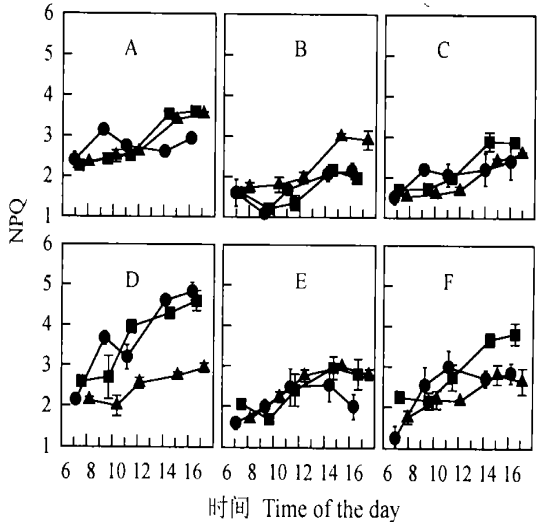
低温处理前, 生长于 3 种不同光照条件下的绒毛番龙眼幼苗 NPQ 的日进程之间没有显著的差异。生长于 25% 和全光下的滇南风吹楠幼苗的 NPQ 在一天中变化趋势基本一致, 且明显比生长于 8% 光照条件下的幼苗的 NPQ 上升的幅度要大 (图 2: A, D), 表明滇南风吹楠幼苗的热耗散能力随着生长光强的增加而增强。经过 3 个晚上的低温 (5 \pm 1) 处理后生长于不同光照条件下的绒毛番龙眼的 NPQ 值均有所下调。低温处理对生长于 8% 光照条件下滇南风吹楠幼苗的 NPQ 几乎没有影响, 但 3 个晚上的低温处理使 25% 和全光下生长的滇南风吹楠幼苗的 NPQ 明显降低, 与 8% 光照条件下的



A, D. 低温处理前; B, E. 夜间低温 (5 \pm 1, 12 h) 处理 3 d 后; C, F. 恢复 2 d 后; 数据点为平均值 \pm 标准差
A, D. Before chilling treatments; B, E. On the third day with night chilling treatments; C, F. On the second day of recovery; Data are means \pm SD
: Full sunlight; : 25% sunlight; : 8% sunlight

图 1 绒毛番龙眼 (A、B、C) 和滇南风吹楠 (D、E、F) 幼苗 F_v/F_m 的日变化

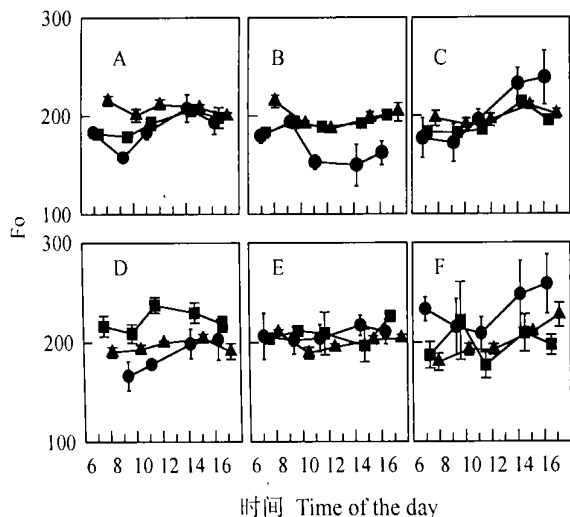
Fig. 1 The diurnal fluctuations of F_v/F_m in *Pometia tomentosa* (A, B, C) and *Horsfieldia tetratapa* (D, E, F) seedlings



A, B, C, D, E, F, , and were same as fig. 1
图 2 绒毛番龙眼和滇南风吹楠幼苗 NPQ 的日变化

Fig. 2 The diurnal fluctuations of NPQ in *Pometia tomentosa* and *Horsfieldia tetratapa* seedlings

NPQ 水平相当。解除低温胁迫后, 绒毛番龙眼幼苗的 NPQ 有所恢复, 但低温处理前后整个日变化趋势是一致的。在原来的光照条件下恢复 2 d 后, 生长于 25% 光照条件下的滇南风吹楠幼苗 NPQ 恢复较快, 而生长于全光下的幼苗的 NPQ 仍然很低。没有寒害发生年份的夜间自然降温及 5 ± 1 低温处理 3 个晚上均没有引起不同光照条件下生长的 2 个树种幼苗 F_0 的明显变化(图 3), 表明夜间自然降温和人工低温(5 ± 1) 不会引起 2 种热带雨林树种 PSII 反应中心的失活。



A, B, C, D, E, F, and were same as fig. 1

图 3 绒毛番龙眼和滇南风吹楠幼苗 F_0 的日变化
Fig. 3 The diurnal fluctuations of F_0 in *Pometia tomentosa* and *Horsfieldia tetratapa* seedlings

3 讨论

大量的研究证明, 在遭受低温等逆境胁迫时, 植物的光能利用效率降低, 过剩光能增加。植物可以通过建立跨类囊体膜的质子梯度和启动叶黄素循环耗散过剩光能, 从而保护光合机构免受过剩光能导致的光抑制和光氧化的损伤^[21]。植物也可以通过启动抗氧化系统来高效清除体内的活性氧^[22, 23]。 5 ± 1 低温处理 3 个晚上使生长于全光下的绒毛番龙眼和滇南风吹楠的光化学效率(F_v/F_m) 降低, 且生长于全光和 25% 光下 2 个树种的热耗散受到抑制(图 1, 图 3), 这将导致过剩光能的产生。根据解除低温胁迫后 F_v/F_m 能很快恢复和低温处理前后 F_0 变化不大的结果, 作者推测低温期间绒毛番龙眼和滇南风吹楠幼苗可能通过启动其它的光保护机制, 如增强活性氧清除能力来保护幼苗叶片的光合机构免受低温光抑制和光氧化的损伤^[24]。

Sakai 等在研究中发现, 一些热带木本植物在 0 以上的低温就会受到严重的伤害^[2], $-1 \sim -4$ 的低温即可杀死热带木本植物。1999/2000 年冬寒害发生后, 云南热区引种栽培的大多数热带作物如橡胶、咖啡、芒果、甘蔗、荔枝等均遭受严重的寒害, 平均受害率达 70% 以上^[7], 但本地热带雨林树种未见明显的寒害症状。根据许再富等人的报道, 在 1973/1974 冬寒害中, 引自国外的热带植物比分布于滇南的热带土著木本植物受害严重, 并且指出, 当地的热带雨林木本植物受害较轻可能与这些植物的地理分布和历史渊源有关^[25]。由于处在热带北缘这样特殊的地理位置上, 历史上西双版纳地区可能多次发生不同规模的寒害, 使生长于该地区的热带雨林土著植物受到低温的驯化, 增强了分布于该地区的热带土著植物抵抗低温伤害的能力。

综上所述, 低温加剧了全光下生长的 2 个树种幼苗的光抑制, 而生长于遮荫条件下绒毛番龙眼和滇南风吹楠幼苗的 F_v/F_m 和 F_0 在低温处理前后变化不大。本研究结果表明, 即使在寒害发生时, 热带雨林中林窗和林下生长的 2 个树种的幼苗均不会受到伤害, 适当的遮荫可以减轻低温对光合机构的损伤。

参考文献:

- [1] Berry J, Björkman O. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants[J]. *Annu Rev Plant Physiol*, 1980, **31**: 491–543.
- [2] Sakai A, Larcher W. Frost Survival of Plants: Responses and Adaptation to Freezing Stress[M]. Berlin: Springer-Verlag, 1987. **62**: 174–195.
- [3] Gansert D, Backes K, Kakubari Y. Altitudinal and seasonal variation of frost resistance of *Fagus crenata* and *Betula ermanii* along the Pacific slope of Mt. Fuji, Japan[J]. *J Ecol*, 1999, **87**: 382–390.
- [4] Crawford R M M. Studies in Plant Survival, Ecological Case Histories of Plant Adaptation to Adversity[M]. Melbourne: Blackwell Scientific Publications, 1989. 13–26.
- [5] Cao M, Zhang J H. Tree species diversity of tropical forest vegetation in Xishuangbanna, SW China[J]. *Biodiv Cons*, 1997, **6**: 995–1006.
- [6] 张汝. 云南省热区 1999/2000 年冬低温与寒害专题调研报告[J]. 云南热作科技, 2001, **24**(增刊): 18–24.
- [7] 云南热区寒害专业调研组. 云南省热区 1999/2000 年冬热带作物寒(冻)害调研报告[J]. 云南热作科技, 2001, **24**(增刊): 1–17.

- [8] 吴以德. 热带植物冻害时体内水分变化[J]. 植物生理学报, 1982, **8**(1): 17—25.
- [9] Åström J, Savitch L V, Ivanov A G, *et al.* Effects of low temperature stress and cold acclimation on photosynthesis in *Arabidopsis thaliana* leaves [A]. In: Garab G ed. Photosynthesis: Mechanisms and Effects [C]. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1998. IV: 2 501—2 504.
- [10] Demmig-Adams B, Adams III W W. Photoprotection and other responses of plants to high light stress [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1992, **43**: 599—626.
- [11] Long S P, Humphries S, Falkowski P G. Photoinhibition of photosynthesis in nature [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1994, **45**: 633—662.
- [12] Huner N P A, Öquist G, Sarhan F. Energy balance and acclimation to light and cold [J]. *Trends Plant Sci*, 1998, **3**: 224—230.
- [13] Haldimann P. Chilling-induced changes to carotenoid composition, photosynthesis and maximum quantum yield of photosystem II photochemistry in two maize genotypes differing in tolerance to low temperature [J]. *J Plant Physiol*, 1997, **151**: 610—619.
- [14] Haldimann P. How do changes in temperature during growth affect leaf pigment composition and photosynthesis in *Zea mays* genotypes differing in sensitivity to low temperature? [J]. *J Exp Bot*, 1999, **50**: 543—550.
- [15] Allen D J, Ratner K, Giller Y E, *et al.* An overnight chill induced a delayed inhibition of photosynthesis at midday in mango (*Mangifera indica* L.) [J]. *J Exp Bot*, 2000, **51**: 1 893—1 902.
- [16] Will R. Effect of different daytime and night-time temperature regimes on the foliar respiration of *Pinus taeda*: Predicting the effect of variable temperature on acclimation [J]. *J Exp Bot*, 2000, **51**: 1 733—1 739.
- [17] 吴征镒. 云南植被 [M]. 北京: 科学出版社, 1987. 109—143.
- [18] Ball M C, Butterworth J A, Roden J S, *et al.* Applications of chlorophyll fluorescence to forest ecology [J]. *Austr J Plant Physiol*, 1994, **22**: 311—319.
- [19] Björkman O, Demmig-Adams B. Regulation of photosynthetic light energy capture, conversion, and dissipation in leaves of higher plants [A]. In: Schulze E D, Caldwell M M ed. Ecophysiology of Photosynthesis [C]. Berlin: Springer-Verlag, 1995. 17—47.
- [20] Satoh K, Yamane Y, Emi T, *et al.* Effects of high temperatures on photosynthetic systems: Fluorescence F_0 increases in *Cyanobacteria* [A]. In: Garab G ed. Photosynthesis: Mechanisms and Effects [C]. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1998. IV: 2 469—2 472.
- [21] Gilmore A M. Mechanistic aspects of xanthophyll cycle-dependent photoprotection in higher plant chloroplasts and leaves [J]. *Physiol Plant*, 1997, **99**: 197—209.
- [22] Alscher R G, Donahue J L, Cramer C L. Reactive oxygen species and antioxidants: Relationships in green cells [J]. *Physiol Plant*, 1997, **100**: 224—233.
- [23] Pinhero R G, Rao M V, Paliyath G, *et al.* Changes in activities of antioxidant enzymes and their relationship to genetic and paclobutrazol-induced chilling tolerance of maize seedlings [J]. *Plant Physiol*, 1997, **114**: 695—704.
- [24] 张教林, 曹坤芳. 光照对两种热带雨林树种幼苗光合能力、热耗散和抗氧化系统的影响 [J]. 植物生态学报, 2002, **26**(6): 639—646.
- [25] 许再富, 禹平华. 引种的龙脑香科植物对低温适应性的探讨 [J]. 云南植物研究, 1982, **4**(3): 297—301.