

# 亚硫酸氢钠对构树光合生理特性的剂量效应

李中英<sup>1</sup>, 吴沿友<sup>2,\*</sup>, 邢德科<sup>1</sup>, 谢津津<sup>1</sup>, 段荣荣<sup>1</sup>, 陈天<sup>1</sup>

(1. 现代农业装备与技术教育部重点实验室, 江苏大学 农业工程学院, 江苏 镇江 212013;

2. 中国科学院地球化学研究所 环境地球化学国家重点实验室, 贵阳 550081)

**摘要:** 亚硫酸氢钠是广泛采用的光合促进剂, 对作物产量具有一定的促进效果, 但如果亚硫酸氢钠超过一定的剂量, 可能会造成作物与土壤中硫含量超标, 对人和农业生态环境都会产生极大的危害。为了研究不同浓度亚硫酸氢钠溶液对植物光合作用的影响, 本研究以一年生构树 (*Broussonetia papyrifera*) 为实验材料, 叶面喷施 0、1、2、5、10、20、50 mmol/L 的亚硫酸氢钠, 分析各浓度处理下构树叶片的净光合速率、荧光参数以及叶绿素含量。结果表明, 1 mmol/L 的亚硫酸氢钠处理可以显著提高植株的净光合速率 ( $P_N$ )、气孔导度 ( $G_s$ ) 和光呼吸速率 ( $R_p$ ); 5 mmol/L 的亚硫酸氢钠处理下叶绿素含量显著下降, 而在超过 20 mmol/L 的亚硫酸氢钠处理下, 植株的  $P_N$ 、 $G_s$ 、 $R_p$ 、暗呼吸速率、叶绿素含量、实际光化学量子产量以及电子传递速率均较对照组显著下降, 初始荧光、调节性能量耗散的量子产额和光呼吸份额则显著增加。这些结果说明, 低浓度的亚硫酸氢钠在光呼吸所占份额基本不变的条件下, 同时提高了净光合速率和光呼吸速率, 而高浓度的亚硫酸氢钠则会对植物造成胁迫, 导致光呼吸份额的增加, 较高比例的光呼吸消耗光合产物, 净光合速率降低。

**关键词:** 构树; 亚硫酸氢钠; 光合作用; 光呼吸; 叶绿素荧光

**中图分类号:** Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-9250(2022)01-0110-09 **doi:** 10.14050/j.cnki.1672-9250.2021.49.085

亚硫酸盐是一组含有二氧化硫和相关化学同族物的分子, 主要是硫氧化物的钠、钾和钙无机盐<sup>[1]</sup>。亚硫酸盐具有许多重要的技术用途, 包括抗菌作用、稳色作用、漂白作用、抗褐变作用、抗氧化作用等, 因此被广泛地应用于食品工业中<sup>[2]</sup>。而亚硫酸氢钠 ( $\text{NaHSO}_3$ ) 是最常用的亚硫酸盐之一, 低浓度的  $\text{NaHSO}_3$  不仅可以在食品生产加工中作为防腐剂, 而且可以作为光合促进剂应用于农业生产中。陈屏昭等<sup>[3]</sup>研究表明, 喷施 5 mmol/L 的  $\text{NaHSO}_3$  显著提升了苹果的果实产量和品质。然而, 当亚硫酸氢钠浓度提高到一定程度时不仅会对植物产生伤害, 人体摄入残留在植物体内的亚硫酸氢钠会引起皮肤、呼吸或胃肠道等一系列的过敏反应, 同时还会诱导机体突变, 甚至有致癌作用<sup>[4-5]</sup>。

目前的研究中,  $\text{NaHSO}_3$  对于植物光合作用中光呼吸过程的影响仍然存在争议。Kang 等<sup>[6]</sup>研究表明, 亚硫酸氢钠抑制了锦鸡儿的光呼吸速率, 乙醛酸含量显著下降。而陈功楷等<sup>[7]</sup>研究表明, 低浓

度的亚硫酸氢钠处理大豆叶片后, 提高了光合速率, 但光呼吸速率也同步增长。在正常条件下, 光呼吸大约消耗光合总产量的四分之一, 而在大气二氧化碳对气孔产生重大影响时, 光呼吸所占份额会有所增加<sup>[8]</sup>。然而, 近年来国内外在研究叶面喷施亚硫酸氢钠对植物光呼吸的影响时主要考虑的是亚硫酸氢钠作用植物叶片后光呼吸速率的变化, 而未考虑光呼吸占总光合比例的变化。因此, 在研究  $\text{NaHSO}_3$  在植物光合生理中的作用机制时, 了解光呼吸份额的变化是十分必要的。此外, 植物在光合作用过程中既会产生和积累不同形式的活性氧物质 (ROS), 也会产生还原物质 (抗坏血酸、硫氧还蛋白、还原性谷胱甘肽等), 它们是光合相关基因表达的重要调节器<sup>[9]</sup>。而  $\text{NaHSO}_3$  是一类同时具有氧化性和还原性的化合物, 当  $\text{NaHSO}_3$  进入植物体内, 它的氧化还原性会不同程度地影响光合作用。因此, 探讨  $\text{NaHSO}_3$  的氧化还原性在植物体内产生怎样的作用对于全面理解  $\text{NaHSO}_3$  在光合作用中的生理机

收稿日期: 2021-03-13; 改回日期: 2021-05-10

基金项目: 贵州省科技计划项目 (黔科合支撑 [2021] 一般 453); 国家重点研发计划专题计划项目 (2016YFC0502602); 国家自然科学基金项目 (U1612441)。

第一作者简介: 李中英 (1997-), 女, 硕士研究生, 主要从事植物生理生态的研究。E-mail: 1055971600@qq.com.

\* 通讯作者: 吴沿友 (1966-), 男, 研究员, 主要从事喀斯特生态学/生物地球化学的研究。E-mail: wuyanyou@mail.gyig.ac.cn.

制具有一定的帮助。

构树 (*Broussonetia papyrifera*) 是一种桑科落叶乔木,广泛分布于中国、日本及其它亚洲国家,其生长速度快、适应性强,具有耐旱、耐盐、耐贫瘠等生长特性,是城市园林绿化以及土壤植被修复的理想树种之一<sup>[10-11]</sup>。此外,构树对于硫的吸收积累能力在落叶树种中相对较强,具有净化大气中 SO<sub>2</sub> 污染的能力<sup>[12]</sup>。一些学者研究了构树作为园林绿化树种在 SO<sub>2</sub> 胁迫下的生理生长特性<sup>[13]</sup>。然而,NaHSO<sub>3</sub> 同样作为外源硫素的一种,对构树的光合生理会产生怎样的影响还未见报道。因此,本文以构树为实验材料,研究不同剂量 NaHSO<sub>3</sub> 在构树光合生理中的作用机制,在明确 NaHSO<sub>3</sub> 安全浓度范围的同时,筛选出适合构树生长的最佳 NaHSO<sub>3</sub> 浓度,从而为促进农业生产、保障农业生态环境安全、减少食品安全风险等提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料培养与处理

实验于江苏大学农业工程学院现代农业装备与技术教育部重点实验室以及江苏大学温室内进行(N 32°11', E 119°27')。构树一年生苗来自江苏宿迁,在江苏大学温室于自然光照下盆栽培养,盆栽土由校园本地土壤与富含有机质的营养土混合配制而成,并使用 1/2 霍格兰营养液浇灌实验材料。

移栽后 30 天开始处理,于早晨 9:00~10:00 向植株叶面分别喷施 0、1、2、5、10、20、50 mmol/L 的亚硫酸氢钠溶液(每个处理组重复 3 次),每盆 50 mL 分别距离植株顶端以及 4 个侧面 5 cm 垂直喷施,每天喷施 1 次,连续喷施 7 天。

### 1.2 指标测定

#### 1.2.1 气体交换的测定

于晴朗的天气早晨 9:00~12:00,取待测植物第 3 或第 4 完全展开叶(从植株上部第一片叶往下数),使用便携式光合作用测定系统 LI-6400XT(LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA)进行气体交换的测定,设定流速为 500 μmol/s,叶温为 30±2 °C。测定构树叶片的净光合速率、胞间 CO<sub>2</sub> 浓度、气孔导度、蒸腾速率等光合参数,每个处理选取 5 片叶子,每片叶子重复 3 次,取平均值。测定光响应曲线时,设定二氧化碳浓度为 400 μmol/s,通过内置红蓝光源(O2B-LED)控制光合有效辐射(PAR)的大小(光强

梯度设置为:1 500、1 000、800、600、400、300、250、200、150、100、50 μmol/s)。测定二氧化碳响应曲线时,设定光照强度为 1 000 μmol/s,通过 CO<sub>2</sub> 小钢瓶提供碳源,控制二氧化碳浓度大小(CO<sub>2</sub> 浓度梯度设置为:1 500、1 200、1 000、800、600、400、350、300、250、200、100、50 μmol/mol)。测定两种响应曲线均采用自动测量程序。

光合作用光响应曲线采用的是非直角双曲线模型<sup>[14]</sup>:

$$P_N = \frac{I + A_{max} - \sqrt{(I + A_{max})^2 - 4kIA_{max}}}{2k} - R_d \quad (1)$$

式中,  $P_N$  为净光合速率(μmol/(m<sup>2</sup>·s));  $I$  为光合有效辐射(μmol/(m<sup>2</sup>·s));  $\alpha$  为表观量子效率(μmol/μmol),即光响应曲线在  $I=0$  时的斜率;  $A_{max}$  为 CO<sub>2</sub> 一定,光强不定情况下的最大净光合速率(μmol/(m<sup>2</sup>·s));  $k$  为代表曲线弯曲程度的曲角,取值[0, 1];  $R_d$  为暗呼吸速率(μmol/(m<sup>2</sup>·s))。

光合作用二氧化碳响应曲线采用的是直角双曲线模型<sup>[14]</sup>:

$$P_N = \frac{CEB_{max}C_i}{CEC_i + B_{max}} - R_t \quad (2)$$

式中,  $CE$  为植物光合作用对 CO<sub>2</sub> 响应曲线在  $C_i=0$  时的斜率,即 CO<sub>2</sub> 响应曲线的初始斜率,也称为初始羧化效率;  $C_i$  为胞间 CO<sub>2</sub> 浓度(μmol/mol);  $B_{max}$  为光强一定,CO<sub>2</sub> 不定情况下的最大净光合速率(μmol/(m<sup>2</sup>·s));  $R_t$  为总呼吸速率(μmol/(m<sup>2</sup>·s))。

基于光/CO<sub>2</sub> 响应曲线的植物光呼吸份额的计算<sup>[15]</sup>:

$$R_p = R_t - R_d; P_t = P_N + R_t; S_p = R_p / P_t \quad (3)$$

式中,  $R_p$  为光呼吸速率(μmol/(m<sup>2</sup>·s));  $P_N$  和  $P_t$  分别为特定二氧化碳浓度和特定光强下的净光合速率(μmol/(m<sup>2</sup>·s)) 和总光合速率(μmol/(m<sup>2</sup>·s));  $S_p$  为光呼吸占总光合之比,即光呼吸份额。

#### 1.2.2 叶绿素荧光参数的测定

于晚上 19:00~21:00 间使用调制式叶绿素荧光成像系统 IMAGING-PAM(Heinz WALZ GmbH)进行测定。首先打开测量光(小于 0.5 μmol/(m<sup>2</sup>·s))测定其初始荧光  $F_o$  和最大荧光  $F_m$ ,待测量结束后打开光化光(340 μmol/(m<sup>2</sup>·s))并将叶片照光 4 min,待荧光值稳定,打开饱和脉冲光(2 800 μmol/(m<sup>2</sup>·s)),完成光下最大荧光  $F_m'$  和 PS II 最大光化

学效率  $F_v/F_m$  的测定。基于以上参数,系统自动计算出 PS II 实际光合效率  $Y_{II}$ 、PS II 调节性能量耗散的量子产额  $Y_{NPQ}$ 、表观光合电子传递速率  $ETR$  等荧光参数。

### 1.2.3 光合色素含量的测定

95%的乙醇对叶片进行研磨浸提,使用 7230G 可见分光光度计分别在 665、649、470 nm 下测定其吸光度,并算出叶绿素 a、叶绿素 b、胡萝卜素的含量<sup>[16]</sup>。

### 1.3 数据统计与分析

使用 Excel 2010 软件统计试验数据,SPSS 16.0 软件进行模型构建以及差异显著性分析,Origin 8.0 软件作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度 NaHSO<sub>3</sub> 溶液喷施后对构树叶片光合参数的影响

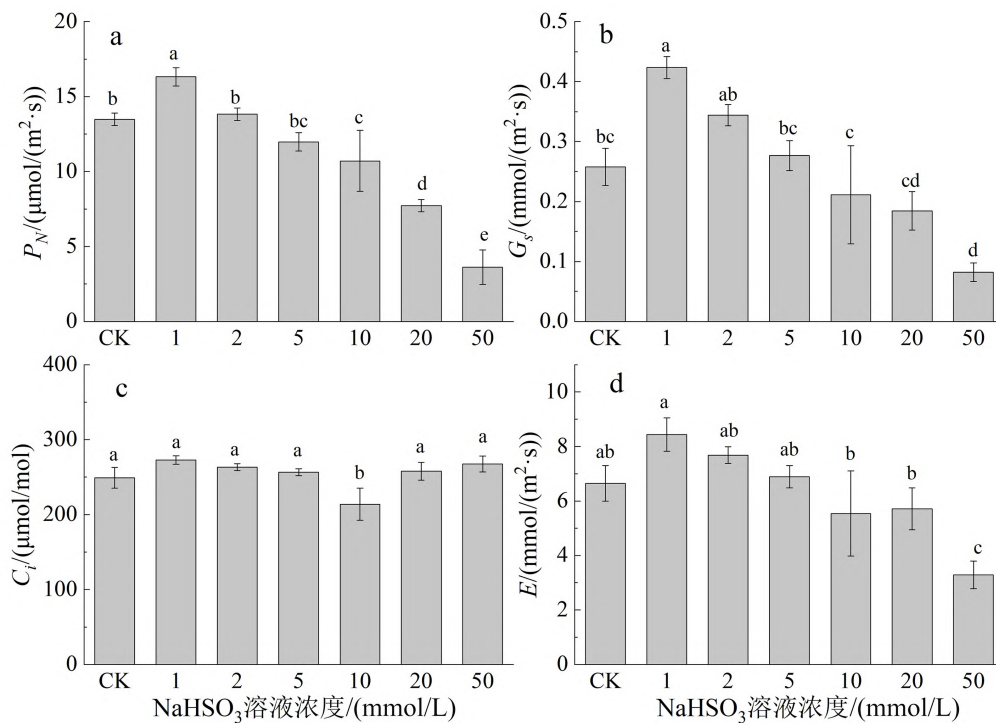
如图 1 所示,与对照组相比,1 mmol/L NaHSO<sub>3</sub> 处理下显著提高了构树净光合速率和气孔导度的值,而随着处理浓度的增加,净光合速率、气孔导度以及蒸腾速率的值均逐渐降低。其中 2、5 mmol/L

NaHSO<sub>3</sub> 处理下各项光合参数与对照组差异不显著,而在 50 mmol/L NaHSO<sub>3</sub> 处理下构树的净光合速率、气孔导度以及蒸腾速率的值均显著低于对照组。说明 1 mmol/L NaHSO<sub>3</sub> 能够改善构树的光合作用,而当浓度增加到一定程度时则会抑制光合作用。

### 2.2 不同浓度 NaHSO<sub>3</sub> 处理下构树净光合-光响应曲线和二氧化碳响应曲线模拟

通过非直角双曲线模型拟合的净光合-光响应曲线与直角双曲线模型拟合的净光合-二氧化碳曲线的相关系数  $R^2$  均达到了 0.99 以上,说明这两种模型能够较好地拟合净光合随光强及二氧化碳的变化情况。

由图 2a 可知,不同浓度 NaHSO<sub>3</sub> 处理会影响构树叶片净光合的光响应过程。在光合有效辐射小于 200  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  时,  $P_N$  随着光强的增加而迅速提升,不同处理间  $P_N$  变化差异不明显;在光合有效辐射大于 200  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  时, 50 mmol/L 的 NaHSO<sub>3</sub> 处理下的  $P_N$  值较对照组提升缓慢,且当光强达到光饱和点 ( $LSP$ ) 时的  $P_N$  明显低于对照组,说明 50 mmol/L 的 NaHSO<sub>3</sub> 降低了构树的光饱和点,



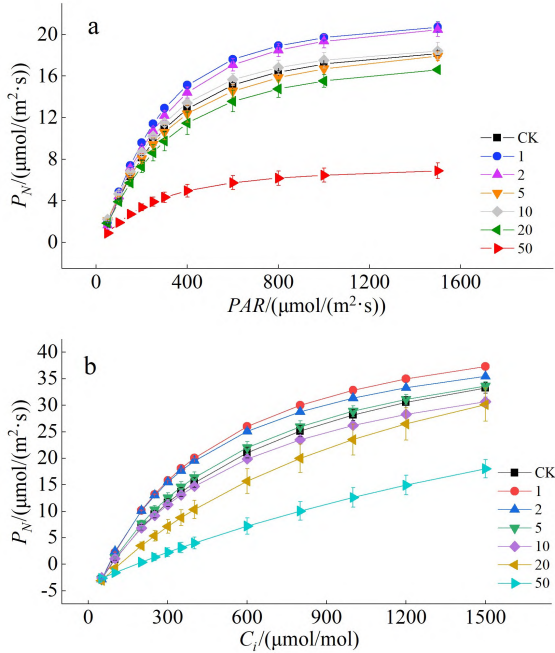
a, b, c, d 表示平均值  $\pm$  标准误差在  $P \leq 0.05$  时差异显著

图 1 不同浓度 NaHSO<sub>3</sub> 对构树叶片净光合速率 ( $P_N$ )、气孔导度 ( $G_s$ )、胞间二氧化碳浓度 ( $C_i$ ) 和蒸腾速率 ( $E$ ) 的影响

Fig. 1 Effects of different concentration of NaHSO<sub>3</sub> on net photosynthetic rate, stomatal conductance, intercellular carbon dioxide concentration and transpiration rate in *Broussonetia papyrifera* leaves



抑制了光合效率。与对照组相比,1和2 mmol/L的NaHSO<sub>3</sub>随光强的增加, $P_N$ 提升较快,说明1和2 mmol/L的NaHSO<sub>3</sub>提高了构树的光合能力。



CK=0 mmol/L NaHSO<sub>3</sub>, 1=1 mmol/L NaHSO<sub>3</sub>, 2=2 mmol/L NaHSO<sub>3</sub>, 5=5 mmol/L NaHSO<sub>3</sub>, 20=20 mmol/L NaHSO<sub>3</sub>, 50=50 mmol/L NaHSO<sub>3</sub>

图2 不同浓度NaHSO<sub>3</sub>处理下经过模型拟合后的构树净光合-光响应曲线(a)和净光合-二氧化碳响应曲线(b)

Fig. 2 Net photosynthesis-light response curve (a) and net photosynthesis-carbon dioxide curve (b) of *Broussonetia papyrifera* after model fitting under treatment with different concentration of NaHSO<sub>3</sub>

由图2b可知,不同浓度NaHSO<sub>3</sub>处理会影响构树叶片净光合的二氧化碳响应过程。在二氧化碳浓度小于400 µmol/mol时, $P_N$ 随着二氧化碳浓度的增加而迅速提升,当二氧化碳浓度大于600 µmol/mol时, $P_N$ 的提升速度减缓。与对照组相比,1和2 mmol/L的NaHSO<sub>3</sub>处理下总体的 $P_N$ 值较高,且在1 mmol/L的NaHSO<sub>3</sub>处理下 $P_N$ 值最高,而5 mmol/L NaHSO<sub>3</sub>处理下的 $P_N$ 值在不同二氧化碳浓度下均与对照组差异不显著,随着处理浓度的增加,50 mmol/L NaHSO<sub>3</sub>处理下构树叶片的 $P_N$ 值则较对照组显著降低。这说明1 mmol/L是一个临界浓度,低于或者高于1 mmol/L都会使构树的光合能力下降。

### 2.3 不同浓度NaHSO<sub>3</sub>溶液喷施后对构树叶片光合拟合参数的影响

由表1可知,随着NaHSO<sub>3</sub>处理浓度的增加,构树叶片的最大光合能力( $A_{max}$ )呈现出先升高后降低的趋势。其中,1、2 mmol/L NaHSO<sub>3</sub>处理下的 $A_{max}$ 较对照组有所增加,但差异不显著,而20和50 mmol/L NaHSO<sub>3</sub>处理下的 $A_{max}$ 分别较对照组显著下降了7.25%和61.50%;1 mmol/L NaHSO<sub>3</sub>使构树叶片的表观量子效率( $\alpha$ )较对照组显著增加了18.97%,而50 mmol/L NaHSO<sub>3</sub>处理下的 $\alpha$ 则较对照组显著降低了50%。各浓度NaHSO<sub>3</sub>处理下构树的光饱和点( $LSP$ )均无显著差异,而20 mmol/L NaHSO<sub>3</sub>处理下的光补偿点 $LCP$ 则较对照组显著下降了76.08%。此外,不同浓度NaHSO<sub>3</sub>水平明显影响了构树叶片的初始羧化效率( $CE$ )。其中,1 mmol/L NaHSO<sub>3</sub>使 $CE$ 值较对照组显著增加了59.14%,50 mmol/L NaHSO<sub>3</sub>则使 $CE$ 值则显著降低了75.27%;高浓度的NaHSO<sub>3</sub>处理显著提高了构树叶片的CO<sub>2</sub>补偿点( $CCP$ ),20和50 mmol/L NaHSO<sub>3</sub>处理下的 $CCP$ 值分别较对照组增加了34.58%和109.91%。

由图3可知,随着处理浓度的增加, $R_i$ 先升高后降低, $R_p$ 与 $R_i$ 的变化基本一致,其中1 mmol/L NaHSO<sub>3</sub>处理下的 $R_i$ 和 $R_p$ 值分别较对照组显著增加了36.68%和35.76%; $R_d$ 值则逐渐降低,其中50 mmol/L NaHSO<sub>3</sub>处理下的 $R_d$ 值较对照组显著降低了58.87%;而 $S_p$ 值逐渐增加,50 mmol/L NaHSO<sub>3</sub>处理下的 $S_p$ 值较对照组极显著增加了49.54%。

### 2.4 喷施不同浓度NaHSO<sub>3</sub>溶液对构树叶片光合色素含量的影响

由表2可知,低浓度的NaHSO<sub>3</sub>(1、2 mmol/L)喷施处理后,叶绿素含量变化与对照组相比差异不显著,而随着处理浓度的增加,叶绿素a、类胡萝卜素以及总叶绿素含量均较对照组显著下降,且在高浓度(20、50 mmol/L)时降至最低值。

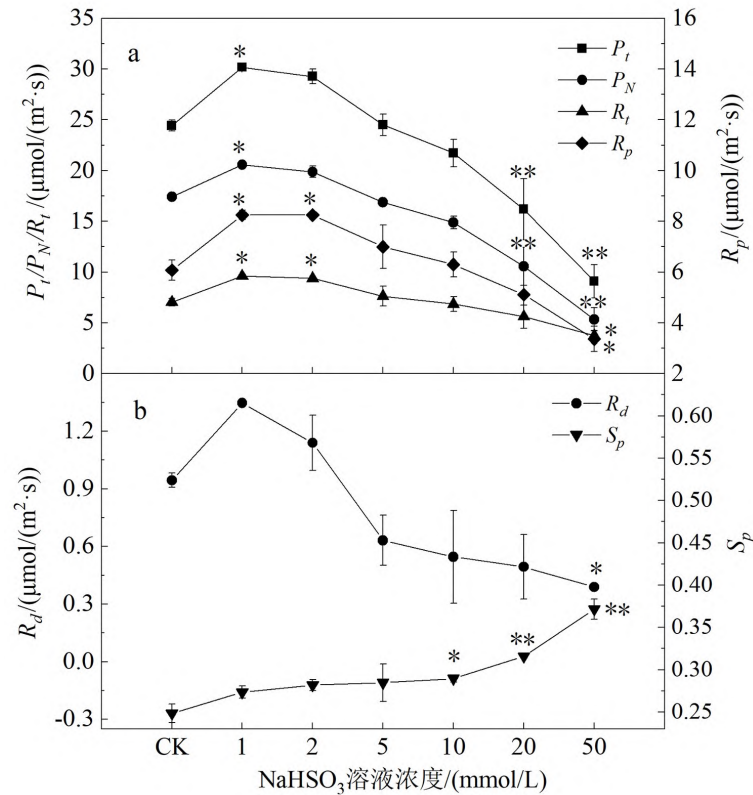
### 2.5 喷施不同浓度NaHSO<sub>3</sub>溶液对构树叶片荧光参数的影响

由表3可知,NaHSO<sub>3</sub>在低浓度以及中等浓度处理下各项荧光参数均较对照组差异不显著,而在高浓度(20、50 mmol/L)的NaHSO<sub>3</sub>处理下 $Y_{II}$ 值和 $F_v/F_m$ 值较对照组显著降低, $Y_{NPQ}$ 值和 $F_o$ 值较对照组显著增加, $Y_{No}$ 的值则基本保持不变。此外,

表1 不同浓度 NaHSO<sub>3</sub> 处理下构树的光合参数Table 1 Photosynthetic parameters of *Broussonetia papyrifera* under treatment with different concentrations of NaHSO<sub>3</sub>

参数	CK	1 mmol/L	2 mmol/L	5 mmol/L	20 mmol/L	50 mmol/L
$A_{max}$	21.09±0.70ab	23.94±1.05a	23.97±0.22a	21.64±2.12ab	19.56±0.99b	8.12±0.41c
$\alpha$	0.058±0.00b	0.069±0.07a	0.067±0.00a	0.059±0.00b	0.050±0.00c	0.029±0.00d
$CE$	0.093±0.01b	0.148±0.00a	0.150±0.01a	0.110±0.02b	0.053±0.01c	0.023±0.01c
$B_{max}$	57.37±1.33a	59.53±0.52a	56.11±0.82a	66.08±0.38a	74.59±1.67a	33.31±19.27a
$LSP$	537.08±38.96a	495.35±39.86a	532.92±12.46a	525.64±60.32a	550.72±93.95a	499.94±25.32a
$LCP$	16.70±0.76ab	19.88±0.15a	17.30±1.55ab	10.96±2.55b	10.05±3.29b	13.93±1.14ab
$CSP$	1081.74±128.62b	980.88±43.71b	977.44±18.75b	1199.13±19.91b	1794.05±57.27b	2273.36±152.39a
$CCP$	86.35±2.46c	77.55±0.54c	75.52±2.09c	83.45±0.49c	116.21±0.74b	181.26±17.47a

注:同一行不同字母表示不同处理间存在显著性差异( $P<0.05$ ),每个值表示平均值±标准误差。 $A_{max}$ 净光合-光响应曲线的最大光合值; $\alpha$ 表观量子效率; $CE$ 初始羧化效率; $B_{max}$ 净光合-二氧化碳响应曲线的最大光合值; $LSP$ 光饱和点; $LCP$ 光补偿点; $CSP$ 二氧化碳饱和点; $CCP$ 二氧化碳补偿点。



对照与处理之间的显著差异用星号表示,\*表示 $P<0.05$ ,\*\*表示 $P<0.01$ ; $R_d$ 暗呼吸速率;

$R_t$ 总呼吸速率; $R_p$ 光呼吸速率; $P_t$ 总光合速率; $S_p$ 光呼吸份额

图3 不同浓度 NaHSO<sub>3</sub> 处理下构树的光呼吸相关参数Fig. 3 Photorespiration related parameters of *Broussonetia papyrifera* under treatment with different concentrations of NaHSO<sub>3</sub>

20、50 mmol/L 的 NaHSO<sub>3</sub> 处理下  $ETR$  值分别较对照组减少了 16.57% 和 24.00%, 而其它处理组与对照组相比均无显著差异。

### 3 讨论

光合作用提供了植株生长所需的有机物,是物

表 2 不同浓度 NaHSO<sub>3</sub> 溶液对构树叶片光合色素含量的影响Table 2 Effects of different concentration of NaHSO<sub>3</sub> solution on photosynthetic pigment content in *Broussonetia papyrifera* leaves

NaHSO <sub>3</sub> 处理	叶绿素 a	叶绿素 b	叶绿素 a+b	叶绿素 a/b	类胡萝卜素
CK	1.775±0.032a	0.590±0.034ab	2.365±0.051ab	3.027±0.163a	0.409±0.013a
1 mmol/L	1.691±0.031a	0.524±0.022ab	2.280±0.051bc	2.878±0.063ab	0.335±0.028abc
2 mmol/L	1.807±0.050a	0.662±0.040a	2.518±0.024a	2.563±0.200ab	0.394±0.005ab
5 mmol/L	1.486±0.052b	0.566±0.017ab	2.084±0.067cd	2.485±0.044ab	0.322±0.011bc
10 mmol/L	1.458±0.070b	0.555±0.038b	2.006±0.096de	2.674±0.148ab	0.332±0.008abc
20 mmol/L	1.246±0.049c	0.519±0.053b	1.742±0.101f	2.550±0.199ab	0.313±0.009c
50 mmol/L	1.285±0.019c	0.541±0.054b	1.826±0.037ef	2.429±0.273b	0.326±0.053bc

注:同一列不同字母表示不同处理间存在显著性差异( $P < 0.05$ ),每个值表示平均值±标准误差。

表 3 不同浓度 NaHSO<sub>3</sub> 溶液对构树叶片荧光参数的影响Table 3 Effects of different concentration of NaHSO<sub>3</sub> solution on fluorescence parameters in *Broussonetia papyrifera* leaves

NaHSO <sub>3</sub> 处理	$F_o$	$F_v/F_m$	$Y_{II}$	$Y_{NPQ}$	$Y_{NO}$	$ETR$
CK	0.110±0.002c	0.768±0.008a	0.459±0.003a	0.319±0.012b	0.219±0.219ab	25.811±0.165a
1 mmol/L	0.112±0.002c	0.770±0.005a	0.447±0.013a	0.322±0.013b	0.231±0.014ab	25.174±0.741ab
2 mmol/L	0.113±0.002c	0.749±0.004a	0.460±0.010a	0.324±0.015b	0.216±0.006ab	26.628±1.293a
5 mmol/L	0.118±0.002bc	0.738±0.007a	0.439±0.015a	0.333±0.021b	0.228±0.010ab	24.694±0.824ab
10 mmol/L	0.111±0.005c	0.746±0.009a	0.467±0.014a	0.324±0.019b	0.206±0.004b	25.489±0.184a
20 mmol/L	0.134±0.013ab	0.629±0.067b	0.379±0.042b	0.353±0.009ab	0.269±0.039a	21.534±2.579bc
50 mmol/L	0.141±0.010a	0.609±0.045b	0.349±0.014b	0.386±0.010a	0.266±0.023ab	19.617±0.794c

注:同一列不同字母表示不同处理间存在显著性差异( $P < 0.05$ ),每个值表示平均值±标准误差。 $F_o$  初始荧光; $F_v/F_m$  PS II 最大光化学效率; $Y_{II}$  实际光化学量子产量; $Y_{NPQ}$  调节性能量耗散的量子产额; $Y_{NO}$  非调节性能量耗散; $ETR$  电子传递效率。

质生产的基础<sup>[17]</sup>。而光呼吸是植物在光照条件下固定氧气释放二氧化碳的过程,它在光合作用中具有两面性。一方面,光呼吸可以减轻光抑制,消除有毒中间产物以及为其他代谢途径提供原料等,在光合作用中发挥着积极作用<sup>[18]</sup>。Aliyev 研究<sup>[19]</sup>表明,高产基因型小麦的 RuBP 羧化酶和 RuBP 加氧酶活性均高于低产基因型小麦,因此指出高的光合作用和光呼吸强度均是保证小麦高产的重要条件之一。Guo 等<sup>[20]</sup>研究表明,低浓度的 NaHSO<sub>3</sub> 喷施柑橘叶片后,ATP 产量增加,光抑制作用减轻,净光合速率显著提高。本研究中,1 mmol/L 的 NaHSO<sub>3</sub> 处理构树叶片后可以提高总光合速率,同时也会提高光呼吸速率,在  $S_p$  不变的情况下,即光呼吸对光合产物的消耗比例保持在一定水平的情况下,光呼吸在光合作用中发挥着积极作用,消耗过剩的光能,保护光合机构从而间接地使光合作用维持在较高水平。而另一方面,光呼吸消耗光合产物而不产生 ATP,因此在很长一段时间被认为是光合作用中的一个消极因素。本研究中,随着 NaHSO<sub>3</sub> 浓度的提高  $S_p$  逐渐增加,在 10~50 mmol/L 的浓度范围内  $S_p$  值均较对照组显著提高,较高比例的光呼吸消耗大量的光合产物,因此净光合速率降低。

亚硫酸盐类物质中,硫的化合价为+4价,既有还原性又有氧化性。亚硫酸盐溶于水既可以得到电子生成硫沉淀: $SO_3^{2-} + 3H_2O + 4e^- \rightleftharpoons S + 6OH^-$  ( $E = -0.66$ );也可以失去电子生成硫酸盐: $SO_3^{2-} + H_2O - 2e^- \rightleftharpoons SO_4^{2-} + 2H^+$  ( $E = +0.2$ )。而在植物体中,亚硫酸盐由于自身同时具有还原性和氧化性,对植物光合生理的作用也随其浓度的不同而具有双重性,既有保护效应也有抑制效应。Wei 等<sup>[21]</sup>研究表明,适量的 NaHSO<sub>3</sub> 可与莱茵衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*) PS I 受体侧产生的超氧阴离子反应,建立厌氧环境,从而激活氢化酶 ( $H_2ase$ ),产氢能力显著提高。Golan 等<sup>[22]</sup>研究发现 NaHSO<sub>3</sub> 作为一种还原剂明显抑制蘑菇多酚氧化酶 (PPO) 的活性。本研究中,1 mmol/L 的 NaHSO<sub>3</sub> 处理下构树叶片的光合能力明显提升。据此推测,NaHSO<sub>3</sub> 在浓度合适的条件下由于其具有一定的还原性,可能与活性氧反应减少强氧化性物质对细胞的伤害,从而间接使光合作用维持在较高的水平。而另一方面,亚硫酸盐又是一种亲核物质,它可以通过裂解多肽中二硫键的方式攻击不同的底物,从而使化合物失活,这一过程称为亚硫酸分解。亚硫酸分解会导致叶绿素分解,使光合作用受到抑制、细胞损伤坏死以及

生长迟缓等<sup>[23]</sup>。因此,亚硫酸盐如果不能迅速代谢而在植物体内累积,会在细胞水平以及整个植物水平造成严重损伤<sup>[24]</sup>。本研究结果表明,当 NaHSO<sub>3</sub> 浓度大于 5 mmol/L 时,叶绿素含量明显下降,且在其浓度为 20、50 mmol/L 时,构树叶片的  $P_N$ 、 $G_s$  以及  $E$  的值与对照组相比显著降低。叶绿素是植物进行光合作用所必需的分子,其含量的增加或减少会直接影响植物对光能的吸收、转化和利用<sup>[25]</sup>。由此可见,NaHSO<sub>3</sub> 浓度过高会引起叶绿素的分解,植物无法通过叶绿素来吸收并转化光能,因此光合作用受到抑制。在这种胁迫状态下,植物基本的生理活动如蛋白质的合成、营养物质的吸收和运输等均会受到影响,因此  $R_d$  显著降低。

叶绿素荧光参数可作为检测植物受胁迫伤害程度的指标<sup>[26]</sup>。 $F_o$  为基础荧光,是 PS II 反应中心完全开放时的荧光产量,光合机构被破坏则使其升高<sup>[27]</sup>。 $F_v/F_m$  反映了潜在的最大光量子产量,能够表征植物进行光化学反应的能力<sup>[28]</sup>。本研究中,20、50 mmol/L NaHSO<sub>3</sub> 处理下, $F_o$  显著增加,而  $F_v/F_m$  显著降低。因此, $F_o$  的增加可能是因为 PS II 反应中心受到破坏或可逆性失活。Lüttge 等<sup>[29]</sup> 研究表明,一定浓度的亚硫酸氢盐化合物可能干扰膜蛋白和脂质,使膜完整性受损,从而抑制光合 CO<sub>2</sub> 固定以及离子转运等过程。Lin 等<sup>[30]</sup> 研究表明水稻幼苗叶片中的活性氧含量随 NaHSO<sub>3</sub> 处理浓度的增加而明显增多。因此推测,过量的 HSO<sub>3</sub><sup>-</sup> 不仅具有氧化性而且可以诱导活性氧的产生,这些强氧化性物质在植物体内攻击细胞生物膜系统,对光合机构甚至各种细胞器产生伤害。PS II 最大光化学效率  $F_v/F_m$  值在健康生理条件下趋于稳定,而在逆境胁迫条件下会显著降低<sup>[31]</sup>。说明高浓度 NaHSO<sub>3</sub> 胁迫已经严重损害了构树正常的生理功能。PS II 反应中心吸收的光能主要向三个部分分配,光化学途径

$Y_{II}$ 、用于光保护机制散失的能量  $Y_{NPQ}$  和其他非光化学能量  $Y_{NO}$ ,且  $Y_{II}+Y_{NPQ}+Y_{NO}=1$ <sup>[32]</sup>。表观光合电子传递速率  $ETR$  主要反映的是 PS II 反应中心的电子输运情况<sup>[33]</sup>。本研究结果表明,20、50 mmol/L NaHSO<sub>3</sub> 处理下  $ETR$  显著降低, $Y_{II}$  显著降低,而  $Y_{NPQ}$  则显著增加。这说明高浓度的 NaHSO<sub>3</sub> 对构树叶片的胁迫并阻碍了其光合电子传递的过程。有研究表明,电子传递受阻会导致 PS II 反应中心不能正常接受光子,引起光子的过量累积,从而导致光抑制的产生<sup>[34]</sup>。据此推测,高浓度 NaHSO<sub>3</sub> 胁迫使植物的光合电子传递受阻,导致光抑制的产生,植物为了缓解过剩光能所造成的伤害,通过热耗散机制将部分捕获的光能转化为热能,因此  $Y_{NPQ}$  值增加,而  $Y_{II}$  值则降低。

## 4 结论

叶面喷施不同浓度的 NaHSO<sub>3</sub> 溶液对构树的光合能力表现为低促高抑的作用。1 mmol/L 为促进构树光合生长的最佳浓度,当浓度大于 5 mmol/L 时则会抑制其光合作用,而在浓度超过 20 mmol/L 时,会对植物造成胁迫,从而影响植物正常的生长发育。具体的生理机制可能是:低浓度的 NaHSO<sub>3</sub> 进入植物体内,促使光合速率和光呼吸速率同步提高,在  $S_p$  基本不变的条件下,光呼吸起着消耗过剩光能,保护光合器官的作用;而高浓度的 NaHSO<sub>3</sub> 本身具有一定的氧化性,同时也可以诱导产生活性氧,对光合机构以及各种细胞器产生的伤害时不可逆转的。在这种胁迫条件下,植物正常的生理功能受到损伤,总光合速率明显下降,而光呼吸在植物受到胁迫时具有一定的保护作用,因而导致了光呼吸比例的增加,但较高比例的光呼吸同时也会消耗光合产物,净光合速率降低。

## 参 考 文 献

- [1] D'Amore T, Taranto A D, Berardi G, et al. Sulfites in meat: Occurrence, activity, toxicity, regulation, and detection. A comprehensive review [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2020, 19(5): 2701-2720.
- [2] Taylor S L, Higley N A, Bush R K. Sulfites in foods: Uses, analytical methods, residues, fate, exposure assessment, metabolism, toxicity, and hypersensitivity [J]. *Advances in Food Research*, 1986, 30: 1-76.
- [3] 陈屏昭,刘忠荣,蒋彬,等. 套袋和喷施 NaHSO<sub>3</sub> 溶液对红富士苹果产量和品质的影响 [J]. *广东农业科学*, 2012, 39(8): 46-48, 56.
- [4] Meng Z Q, Zhang L Z. Cytogenetic damage induced in human lymphocytes by sodium bisulfite [J]. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 1992, 298(2): 63-69.
- [5] Rawal R, Pundir C S. Development of electrochemical sulfite biosensor based on SO<sub>x</sub>/PBNPs/PPY modified Au electrode [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2013, 71: 30-37.
- [6] Kang T, Wu H D, Lu B Y, et al. Low concentrations of glycine inhibit photorespiration and enhance the net rate of photosynthesis in *Caragana*



- korshinskii*[J]. *Photosynthetica*, 2018, 56(2):512-519.
- [7] 陈功楷, 王晓艳, 康华靖, 等. NaHSO<sub>3</sub> 处理对大豆和玉米叶片气体交换及荧光参数的影响[J]. *核农学报*, 2017, 31(2):379-385.
- [8] Busch FA. Photorespiration in the context of Rubisco biochemistry, CO<sub>2</sub> diffusion and metabolism[J]. *The Plant Journal*, 2020, 101(4):919-939.
- [9] Queval G, Foyer C H. Redox regulation of photosynthetic gene expression [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2012, 367:3475-3485.
- [10] 丁建领, 皇建业, 刘岩. 杂交构树产业发展前景分析[J]. *现代农村科技*, 2020, 10:104-105.
- [11] Tian C H, Chen Y Y, Guo Y Q, et al. Effect of *Broussonetia papyrifera* silage on the serum indicators, hindgut parameters and fecal bacterial community of Holstein heifers[J]. *AMB Express*, 2020, 10(1):197.
- [12] 胡舒, 肖昕, 贾含帅. 不同污染条件下绿化树种对大气二氧化硫吸收积累能力的研究[J]. *北方园艺*, 2012(11):69-72.
- [13] 孙华. 二氧化硫胁迫对园林植物生长和叶片含硫量的影响[J]. *山东农业大学学报(自然科学版)*, 2015, 46(2):168-172.
- [14] 叶子飘. 光合作用对光和 CO<sub>2</sub> 响应模型的研究进展[J]. *植物生态学报*, 2010, 34(6):727-740.
- [15] 吴沿友, 饶森, 张开艳, 等. 一种定量测定植物光呼吸途径份额的方法[P]. 中国:2016105277715, 2016-07-06.
- [16] 王学奎, 黄见良. 植物生理生化实验原理与技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2015:131-133.
- [17] Ramana S, Ghildiyal M C. Contribution of leaf photosynthesis towards seed yield in Brassica species[J]. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 1997, 178(3):185-187.
- [18] Sunil B, Saini D, Bapatla R B, et al. Photorespiration is complemented by cyclic electron flow and the alternative oxidase pathway to optimize photosynthesis and protect against abiotic stress[J]. *Photosynthesis Research*, 2019, 139(1-3):67-69.
- [19] Aliyev J A. Photosynthesis, photorespiration and productivity of wheat and soybean genotypes[J]. *Physiologia Plantarum*, 2012, 145(3):369-383.
- [20] Guo Y P, Hu M J, Zhou H F, et al. Low concentrations of NaHSO<sub>3</sub> increase photosynthesis, biomass, and attenuate photoinhibition in Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) plants[J]. *Photosynthetica*, 2006, 44(3):333-337.
- [21] Wei L, Li X, Fan B, et al. A stepwise NaHSO<sub>3</sub> addition mode greatly improves H<sub>2</sub> photoproduction in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9:1532.
- [22] Golan A, Whitaker J R. Effect of ascorbic acid, sodium bisulfite, and thiol compounds on mushroom polyphenol oxidase[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1984, 32(5):1003-1009.
- [23] Yarmolinsky D, Brychkova G, Fluhr R, et al. Sulfite reductase protects plants against sulfite toxicity[J]. *Plant Physiol.* 2013, 161(2):725-743.
- [24] Brychkova G, Grishkevich V, Fluhr R, et al. An essential role for tomato sulfite oxidase and enzymes of the sulfite network in maintaining leaf sulfite homeostasis[J]. *Plant Physiology*, 2013, 161(1):148-164.
- [25] Masuda T. Recent overview of the Mg branch of the tetrapyrrole biosynthesis leading to chlorophylls[J]. *Photosynthesis Research*, 2008, 96(2):121-143.
- [26] 张利霞, 常青山, 薛娴, 等. 酸胁迫对夏枯草叶绿素荧光特性和根系抗氧化酶活性的影响[J]. *草业学报*, 2020, 29(8):134-142.
- [27] 崔波, 程邵丽, 袁秀云, 等. 低温胁迫对白及光合作用及叶绿素荧光参数的影响[J]. *热带作物学报*, 2019, 40(5):67-73.
- [28] 侯红乾, 林洪鑫, 刘秀梅, 等. 长期施肥处理对双季晚稻叶绿素荧光特征及籽粒产量的影响[J]. *作物学报*, 2020, 46(2):280-289.
- [29] Lüttge U, Osmond C B, Ball E, et al. Bisulfite compounds as metabolic inhibitors: Nonspecific effects on membranes[J]. *Plant Cell Physiol*, 1972, 13(3):505-514.
- [30] Lin Z F, Liu N, Chen S W, et al. Bisulfite (HSO<sub>3</sub>) hydroponics induced oxidative stress and its effect on nutrient element compositions in rice seedlings[J]. *Botanical Studies*, 2011, 52:173-181.
- [31] 胡能兵, 隋益虎, 舒英杰, 等. 高温干旱胁迫对辣椒热害指标及叶绿素荧光参数  $F_v/F_m$  的影响[J]. *基因组学与应用生物学*, 2018, 37(12):5421-5428.
- [32] Xiang F, Zhou Q, Tian X R, et al. Leaf morphology and PS II chlorophyll fluorescence parameters in leaves of *Sinosenecio jishouensis* in different habitats[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(2):337-344.
- [33] Hu H, Wang LH, Wang Q Q, et al. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence characteristics and chlorophyll content of soybean seedlings under combined stress of bisphenol A and cadmium[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2014, 33(11):2455-2462.
- [34] 曹春晖, 孙世春, 王学魁, 等. 锰浓度对米氏凯伦藻叶绿素荧光特性及生长的影响[J]. *生态学报*, 2010(19):5280-5288.



## Dose Effect of Sodium Bisulfite on Photosynthetic Physiological Characteristics of *Broussonetia papyrifera*

LI Zhongying<sup>1</sup>, WU Yanyou<sup>2</sup>, XING Deke<sup>1</sup>, XIE Jinjin<sup>1</sup>, DUAN Rongrong<sup>1</sup>, CHEN Tian<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Modern Agricultural Equipment and Technology, Ministry of Education, Institute of Agricultural Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 2. State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550081, China)

**Abstract:** Sodium bisulfite ( $\text{NaHSO}_3$ ) is a widely used photosynthetic promoter, which has a certain promoting effect on crop yield. However, if  $\text{NaHSO}_3$  exceeds a certain dose, it may cause excessive sulfur content in crops and soil, which will cause great harm to human and agricultural ecological environment. In this study, *Broussonetia papyrifera* were used as experimental materials and seven  $\text{NaHSO}_3$  concentration gradients (i. e. , 0, 1, 2, 5, 10, 20, 50 mmol/L) were simultaneously sprayed on the leaf surface of different seedlings separately. The photosynthetic parameters, fluorescence parameters and chlorophyll content of the leaves under different concentrations were analyzed. The results showed that the 1 mmol/L  $\text{NaHSO}_3$  treatment was clearly conducive to the net photosynthetic rate ( $P_N$ ), stomatal conductance ( $G_s$ ) and photorespiration rate ( $R_p$ ). Chlorophyll content decreased significantly under 5 mmol/L  $\text{NaHSO}_3$  treatment. Under the treatment of  $\text{NaHSO}_3$  exceeding 20 mmol/L, the  $P_N$ ,  $G_s$ , dark respiration rate ( $R_d$ ), photorespiration rate ( $R_p$ ), chlorophyll content, actual photochemical quantum yield ( $Y_{II}$ ) and electron transport rate ( $ETR$ ) showed significant decreases, while the initial fluorescence ( $F_o$ ), quantum yield of regulated energy dissipation ( $Y_{NPQ}$ ) and photorespiration portion ( $S_p$ ) significantly increased. These results indicate that low concentrations of  $\text{NaHSO}_3$  increases the  $P_N$  and  $R_p$  under the condition that  $S_p$  is basically unchanged, while high concentration of  $\text{NaHSO}_3$  can cause stress to plants, resulting in a decrease in photorespiration share. A higher proportion of  $S_p$  consumes photosynthetic products, and the  $P_N$  decreases.

**Key words:** *Broussonetia papyrifera*; sodium bisulfite; photosynthesis; photorespiration; chlorophyll fluorescence