

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2020.01.003

转苜蓿 *MsOr* 基因烟草光合-光响应和光合- CO_2 响应曲线特征研究

赖帅彬¹, 潘新雅¹, 简春霞¹, 李军保², 郭尚洙³, 徐炳成^{1,4*}, 王 智^{1,4*}

(1. 西北农林科技大学水土保持研究所黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室, 陕西 杨凌 712100;
2. 陕西省治沙研究所, 陕西 榆林 719000; 3. 韩国生命工学研究院植物系统工程研究中心,
韩国 大田 305-806; 4. 中国科学院水利部水土保持研究所, 陕西 杨凌 712100)

摘要:为明确苜蓿(*Medicago sativa*) *Orange* 基因的表达对植物光合作用的影响,以转 *Orange*(*MsOr*)基因型烟草(TOR1 与 TOR2)和野生型烟草(WT)为研究材料,采用盆栽控制试验,比较研究了 WT, TOR1 和 TOR2 叶片光响应曲线和 CO_2 响应曲线,并测定其叶片类胡萝卜素含量。结果表明:直角双曲线修正模型可较好地拟合烟草光响应曲线和 CO_2 响应曲线;在一定光合有效辐射强度和 CO_2 浓度范围内,随光强和 CO_2 浓度增加, TOR1 和 TOR2 的净光合速率均显著高于 WT($P < 0.05$); TOR1 和 TOR2 的最大净光合速率、光饱和点、 CO_2 饱和点、羧化效率、暗呼吸速率和光呼吸速率显著高于 WT,而 CO_2 补偿点显著低于 WT($P < 0.05$); TOR1 和 TOR2 的叶片总类胡萝卜素含量约为 WT 的 2 倍。研究表明:苜蓿 *MsOr* 基因的表达促进了烟草植株叶片类胡萝卜素的积累,同时提高了其光能和 CO_2 利用能力,增强了植株对高光强、高 CO_2 浓度环境的适应能力。

关键词: *MsOr* 基因;类胡萝卜素;光合作用;最大净光合速率;光响应曲线; CO_2 响应曲线

中图分类号:S311

文献标识码:A

文章编号:1007-0435(2020)01-0020-11

Characteristics of Photosynthetic-Light Response and Photosynthetic- CO_2 Response Curves in Transgenic Alfalfa *MsOr* Gene Tobacco

LAI Shuai-bin¹, PAN Xin-ya¹, JIAN Chun-xia¹, LI Junbao², KWAK Sang-Soo³,
XU Bing-cheng^{1,4*}, WANG Zhi^{1,4*}

(1. State Key Laboratory of Soil Erosion and Dryland Farming on the Loess Plateau, Institute of Soil and Water Conservation, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi Province 712100, China; 2. Shaanxi Institute of Desertification Control, Yulin, Shaanxi Province 719000, China; 3. Plant Systems Engineering Research Center, Korea Research Institute of Biotechnology and Biotechnology, Daejeon 305-806, Korea; 4. Institute of Soil and Water Conservation, Chinese Academy of Sciences and Ministry of Water Resources, Yangling, Shaanxi Province 712100, China)

Abstract: In order to clarify the effect of alfalfa (*Medicago sativa*) *Orange* gene expression on plant photosynthesis, the leaf light response curves and CO_2 response curves of transgenic *Orange* (*MsOr*) (TOR1 and TOR2) and wild tobacco (WT) lines were analyzed through a pot experiment. The results showed that the right angle hyperbolic correction model could better fit the tobacco light response curve and CO_2 response curve than rectangular hyperbolic model and non-rectangular hyperbolic model. Over a range of photosynthetically active radiant and CO_2 concentration, the net photosynthetic rate of TOR1 and TOR2 were always significantly higher than that of WT ($P < 0.05$) as the increase of light intensity and CO_2 concentration; maximum net photosynthetic rate, light saturation point, CO_2 saturation point, carboxylation efficiency, dark respiration rate, and photorespiration rate of TOR1 and TOR2 were significantly higher than those of WT, while the CO_2 compensation point was significantly lower than WT ($P < 0.05$); meanwhile, the total leaf carotenoid content of TOR1 and TOR2 were about twice that of WT. These observations indicated that the expression of *MsOr* gene could efficiently improve tobacco plants adaptability through enhancing

收稿日期:2019-10-18;修回日期:2019-11-02

基金项目:陕西省重点研发计划(2019TSLNY03-01);国家自然科学基金(31700335)资助

作者简介:赖帅彬(1996-),男,陕西富县人,硕士研究生,主要从事水土保持植被研究,E-mail:1147812232@qq.com; *通信作者: Author for correspondence, E-mail: Bcxu@ms.iswc.ac.cn; wangzhi712@nwafu.edu.cn

the leaf carotenoid content accumulation and the photosynthesis and CO₂ utilization ability under high light intensity and high CO₂ concentration condition.

Key words: *MsOr* gene; Carotenoids; Photosynthesis; Maximum net photosynthetic rate; Light response curve; CO₂ response curve

光合能力是植物生理状况的综合体现,可以衡量不同植物间生长差异性以及所受环境的胁迫程度^[1]。类胡萝卜素作为一种重要的光合色素,对光合反应过程中光能捕获、吸收和传递具有明显促进作用^[2-4],也可通过叶黄素循环以非辐射的方式消耗光系统 II(PSII)中过剩光能,保护光合器官免受光氧化损伤^[5]。*Orange* 基因在植物类胡萝卜素合成与代谢过程中发挥着至关重要的作用,它可通过促进色素质体的分化与形成,有效的促进植物类胡萝卜素的积累^[6-7],例如甘薯(*Ipomoea batatas* L.)*Orange* 基因(*IbOr*) 在苜蓿中的表达使其叶片类胡萝卜素含量增加了 30%~70%^[8]。八氢番茄红素合成酶(Phytoene synthase, PSY)是类胡萝卜素生物合成途径中最重要限速酶,研究表明 *Orange* 蛋白能够保护 PSY 的稳定性并提高其活性,进而促进类胡萝卜素的合成与积累,提高植物抗氧化与耐高温能力^[9-12]。叶绿体光系统 II 中放氧复合体的外周蛋白(PsbP),是调节 PSII 光学活性的重要因子^[13-14]。*IbOr* 蛋白可能通过维持 *IbPsbP* 稳定性,增强甘薯 PSII 在高温等环境胁迫下的活性,从而提高植株的耐受性^[15]。前人研究发现,盐胁迫下 *IbOr* 基因的表达使马铃薯(*Solanum tuberosum*)^[16]和甘薯^[17]植株的光合能力得到了明显提高,同样在对苜蓿的研究中也发现,土壤水分下降的过程中转 *IbOr* 基因植株的光合速率显著高于野生型植株^[18]。由此可见,*Orange* 基因不仅可以有效的促进类胡萝卜素的积累,在高温、强光等环境胁迫下维持光合作用的稳定性中也发挥着至关重要的作用。

光强和大气 CO₂ 浓度是影响植物光合作用的两个重要环境因子^[19]。植物的光响应曲线反映了其叶片净光合速率随着光合有效辐射(Photosynthetically active radiation, PAR)改变而变化的规律^[20],CO₂ 响应曲线反映出叶片光合能力对不同 CO₂ 浓度变化的响应特性^[21-22]。通过测定植物叶片光响应曲线和 CO₂ 响应曲线可以获得植物光合特性的相关生理参数,对探究植物光合作用对光、CO₂ 响应机制和评价植物对环境的适应性具有重要意义^[19]。目前,用于拟合光响应曲线和 CO₂ 响应曲线的常见模型有直角双曲线模型^[23]、非直角双曲线模型^[24]和直角双曲线修正模型^[25]等,前两者双曲

线模型无法估算饱和光强^[26],会出现光强达到饱和后 P_n 不降低而导致估测的 P_{nmax} 值大于实测值^[27],后者拟合模型是一个存在极值的方程,能够拟合出高 PAR 下 P_n 的抑制作用^[27]。目前,针对 *Orange* 基因的研究,大多数集中在其对类胡萝卜素的积累及植株在环境胁迫(盐、干旱胁迫等)下的适应性方面^[4,28-29],而关于 *Orange* 基因的表达对植株光合作用,尤其是对植株响应不同光合有效辐射和不同 CO₂ 浓度有何影响尚不清楚。

烟草(*Nicotiana benthamiana*)是一种广泛应用的模式植物,具有生长周期短、基因组小、易于转化等特点。前期研究表明,苜蓿(*Medicago sativa*)*Orange(MsOr)* 基因的表达可有效提高转基因烟草的耐旱性、耐盐碱性和耐热性^[4]。本研究将在此基础上,以课题组已获得的转 *MsOr* 基因型和野生型烟草株系为研究材料,比较转基因型与野生型株系在不同光强和 CO₂ 浓度下的光合生理特性,旨在深入了解苜蓿 *Orange* 基因的表达对植物光合特征的影响,以为高品质、适应性强苜蓿品种的选育提供技术支持与理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究以本氏烟草(Wild type, WT)为研究材料(由韩国生命工学研究院提供),通过农杆菌介导的遗传转化方法获得两个独立的转紫花苜蓿 *MsOr* 基因阳性株系(TOR1 和 TOR2)^[4]。采用盆栽控制试验,将大小一致、健康的野生型与转基因型烟草幼苗从 1/2 MS 培养基中移栽至装有等量育苗基质(山东齐鲁大学研发: pH 中性,有机质含量 > 45%)、规格为 12 cm×15 cm(内径×高度)的塑料盆中,在温度为 25℃/22℃(光照/黑暗),光周期为 16 h/8 h(光照/黑暗),相对湿度 60%,光照强度 200 μmol·m⁻²·s⁻¹的温室内培养 4 个月,培养过程中充分供水,通过自交方法(人工套袋)分别获得两个转基因株系 T2 代种子与野生型种子。随后将转基因株系 T2 代种子与野生型种子分别播种于装有等量营养基质的塑料盆中,塑料盆下垫规格为 50

cm×30 cm×5 cm(长×宽×高)的扁平塑料托盘,培养过程中充分供水(保持托盘中水位恒定),经实时定量 PCR(*MsOr*-RT-F: ACTTGGAATTTT-TAAAGAAGAGCAAGA; *MsOr*-RT-R: TCTG-CATAAGATGTGCCACC)鉴定^[4]。每盆保留一株阳性植株,在温室内培养 1 个月后,选取大小一致的转基因株系与野生型株系(每个株系 5 株)进行后续分析。

1.2 测定项目与方法

1.2.1 光合—光响应曲线

光响应曲线测定采用美国 PP System 公司生产的 CIRAS-3 光合仪,时间为上午的 09:00—11:30,测定时选取生长状况一致的植株,相同叶位且完全展开的成熟叶片进行测定,每个株系 3 个生物学重复。测定项目包括净光合速率[Net photosynthetic rate (P_n), $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$]、蒸腾速率[Transpiration rate (T_r), $\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$]、气孔导度[Stomatal conductance (G_s), $\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$]、胞间 CO_2 浓度[Inter-cellular CO_2 concentration (C_i), $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$];叶片瞬时水分利用效率[Instantaneous water use efficiency (WUE_i), $\mu\text{mol} \cdot \text{mmol}^{-1}$]= P_n/T_r 。测定时使用开放气路,参数设置为空气流速 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$,叶温为 25°C ,相对湿度为 60%,大气 CO_2 浓度设为 $400 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。模拟光强梯度由弱到强依次为 0, 25, 50, 100, 200, 400, 600, 800, 1 000, 1 200, 1 800, 2 000 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光强改变后的最小稳定时间设为 120 s,当测量结果变异率小于 0.05 时仪器自动记录。

1.2.2 光合— CO_2 响应曲线

测定时间和叶片选择同光响应曲线,测定时设置叶室温度为 25°C ,相对湿度为 60%,根据光合作用光饱和点测定的结果,光源控制光强在 $1 000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (当光强大于 $1000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时,野生型植株会出现光抑制现象),光合测定仪的流速设定为 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,通过安装高压浓缩 CO_2 小钢瓶,设定 CO_2 浓度梯度为 0, 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600, 800, 1 000, 1 200, 1 500 $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。每个 CO_2 浓度下控制测定时间为 120 s,数据稳定后仪器自动记录叶片净光合速率、蒸腾速率、气孔导度、胞间 CO_2 浓度;计算叶片瞬时水分利用效率。

根据得到的不同光合有效辐射和 CO_2 浓度下的 P_n ,分别绘制光合速率的光合—光响应曲线、 CO_2 响应曲线,根据实测数据点的走势估算最大净光合速率

[Maximum net photosynthetic rate (P_{max}), $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$]、光饱和点[Light saturation point (LSP), $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$]、 CO_2 饱和点[CO_2 saturation point (CSP), $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$]、光补偿点[Light compensation point (LCP), $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$]、 CO_2 补偿点[CO_2 compensation point (CCP), $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$]、暗呼吸速率[Dark respiration rate (R_d), $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$]和光呼吸速率[Photorespiration rate (R_p), $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$]等参数作为实测值^[27]。

1.2.3 类胡萝卜素含量测定

称取 0.1 g 充分研磨的烟草叶片样品于 15 mL 离心管中,加入 5 mL 预冷的含有 0.1% 基羟基甲苯(BHT)的丙酮溶液,超声波萃取 20 min,然后用一次性针管抽取适量样品,用 $0.45 \mu\text{m}$ 针头过滤器过滤 1 mL 到棕色色谱瓶中,即可进样分析,所有提取过程在暗环境下进行,以避免样品中类胡萝卜素降解^[8]。采用外标法与 Agilent 1100 HPLC(高效液相色谱)系统(Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA)对烟草叶片类胡萝卜素各组分进行定量分析。色谱柱为 YMC-C18 ($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}, 3 \mu\text{m}$)色谱柱;柱温: 25°C ;检测器为 UV-可见光检测器,波长 450 nm;流动相:溶剂 A(甲醇:甲基叔丁基醚:水=81:15:4)和溶剂 B(甲醇:甲基叔丁基醚:水=6:90:4);进样量 20 μL ;线性梯度洗脱:0~15 min, 100% A; 15~50 min, B 由 0% 线性递增至 100%; 50~60 min, A 由 0 线性递增至 100%;流速为 $0.7 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。 β 胡萝卜素、玉米黄质(Zeaxanthin)、叶黄素(Lutein)、紫黄质(Violaxanthin)和环氧玉米黄质(Antheraxanthin)标准样品均购于 Sigma 公司(St. Louis, MO, USA)。

1.3 拟合模型

1.3.1 直角双曲线模型

直角双曲线模型^[23]的数学表达式为:

$$P_n = \frac{\alpha \text{PAR} P_{\text{max}}}{\alpha \text{PAR} + P_{\text{max}}} - R_d \quad (1)$$

式中, P_n 为净光合速率, PAR 为光合有效辐射, α 为光响应曲线的初始斜率[Apparent quantum yield (α), $\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$], P_{max} 为最大净光合速率, R_d 为暗呼吸速率。在 CO_2 响应曲线拟合中,大气 CO_2 浓度用 PAR 表示,记作 CO_{2r} , α 记作 CE, CE 为初始羧化效率[Carboxylation efficiency (CE), $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$], R_d 记作 R_p , 为光呼吸速率,其他参数涵义同光响应曲线。

1.3.2 非直角双曲线模型 非直角双曲线模型^[24]的数学表达式为:

$$P_n = \frac{\alpha PAR + P_{nmax} - \sqrt{(\alpha PAR + P_{nmax})^2 - 4\alpha k PAR P_{nmax}}}{2k} - R_d \quad (2)$$

式中, k 为光响应曲线曲角, 其他参数含义同(1)。

1.3.3 直角双曲线修正模型 直角双曲线修正模型^[25-26]的数学表达式为:

$$P_n = \alpha PAR \frac{1 - \beta PAR}{1 + \gamma PAR} - R_d \quad (3)$$

式中, α 是光响应曲线的初始斜率, β , γ 是修正系数; β 为光抑制项; γ 为光饱和项, 其值为 α/P_{nmax} , PAR 为光合有效辐射, 其他参数含义同(1)。

饱和光强用 LSP 表示为:

$$LSP = \frac{\sqrt{(\beta + \gamma)/\beta} - 1}{\gamma} \quad (4)$$

最大净光合速率用 P_{nmax} 为:

$$P_{nmax} = \alpha \frac{\sqrt{\beta + \gamma} - \beta}{\gamma} - R_d \quad (5)$$

1.4 数据处理

试验数据采用 Microsoft office Excel 2010 软件进行均值计算。光合-光响应曲线、光合-CO₂ 的响应曲线采用叶子飘开发的光合计算软件(4.1.1 版本)进行拟合^[26]。采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析, 通过最小显著差异法(LSD)对不同基因型烟草光合特征参数进行显著性检验($P < 0.05$), 单因素方差分析(One-way ANOVA)检验不同基因型烟草光合响应参数(表观量子效率、最大净光合速率、光饱和点、光补偿点、暗呼吸速率)和 CO₂ 响应参数(羧化效率、最大净光合速率、CO₂ 饱和点、CO₂ 补偿点、光呼吸速率)。采用 SigmaPlot 12.5 进行作图。

2 结果与分析

2.1 烟草光合生理特征随光照强度的变化

随着光合有效辐射(Photosynthetically active radiation, PAR)增加, 转基因型(TOR1 和 TOR2)与野生型(WT)烟草光合参数曲线变化趋势基本一致, TOR1 和

TOR2 的 P_n , T_r 和 G_s 均显著高于 WT($P < 0.05$), C_i 和 WT 间差异不显著(图 1)。在光强小于 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, WT, TOR1 和 TOR2 的 P_n 随 PAR 的增加迅速升高。PAR 在 200 ~ 400 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 范围内, 随光照强度的增加 WT 的 P_n 增加变缓, PAR 在 400 ~ 1 000 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, P_n 逐渐趋于平稳; 当 PAR 达到 1 000 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, WT 的 P_n 达到最大值(8.9 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), 之后随着 PAR 的增加 WT 的 P_n 略微下降。PAR 在 200 ~ 1 000 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, TOR1 和 TOR2 的 P_n 随 PAR 上升逐渐减缓, 但显著高于 WT($P < 0.05$); 当 PAR 达到 1 600 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, TOR1 和 TOR2 的 P_n 达到最大值(11.4 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 和 12.3 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), 即光饱和点, 随后 TOR1 和 TOR2 的 P_n 有明显的下降趋势。 T_r 和 G_s 随 PAR 变化趋势相同, PAR 小于 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, WT, TOR1 和 TOR2 的 T_r 和 G_s 均迅速增加, 100 ~ 1 300 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, WT 的 T_r 和 G_s 逐渐下降, 但当 $PAR \geq 1 300 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, WT 的 T_r 和 G_s 开始缓慢增加, 增长速率与 TOR1, TOR2 相同; 当 $PAR \geq 100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, TOR1, TOR2 的 T_r 和 G_s 增长放缓, 但显著高于 WT, 未出现下降现象。WT, TOR1 和 TOR2 的 WUE_i 随 PAR 增加呈先上升后下降的趋势, PAR 在 0 ~ 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, WT, TOR1 和 TOR2 的 WUE_i 随光强增加增长速率相同。当 PAR 在 100 ~ 1 000 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, WT 的 WUE_i 显著高于 TOR1 和 TOR2($P < 0.05$); TOR1 和 TOR2 的 WUE_i 在 PAR 达到 800 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时达到最大值(4.74 $\mu\text{mol} \cdot \text{mmol}^{-1}$ 和 3.44 $\mu\text{mol} \cdot \text{mmol}^{-1}$), 而 WT 的 WUE_i 在 PAR 达到 1 000 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时达到最大值(4.81 $\mu\text{mol} \cdot \text{mmol}^{-1}$); 当 PAR 达到 2 000 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, WT 的 WUE_i 与 TOR1 和 TOR2 几乎相同。三种株系的 C_i 保持相同变化趋势, PAR 在 0 ~ 1 000 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 范围内, C_i 迅速减小, 当 $PAR \geq 1 000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, C_i 开始缓慢上升。

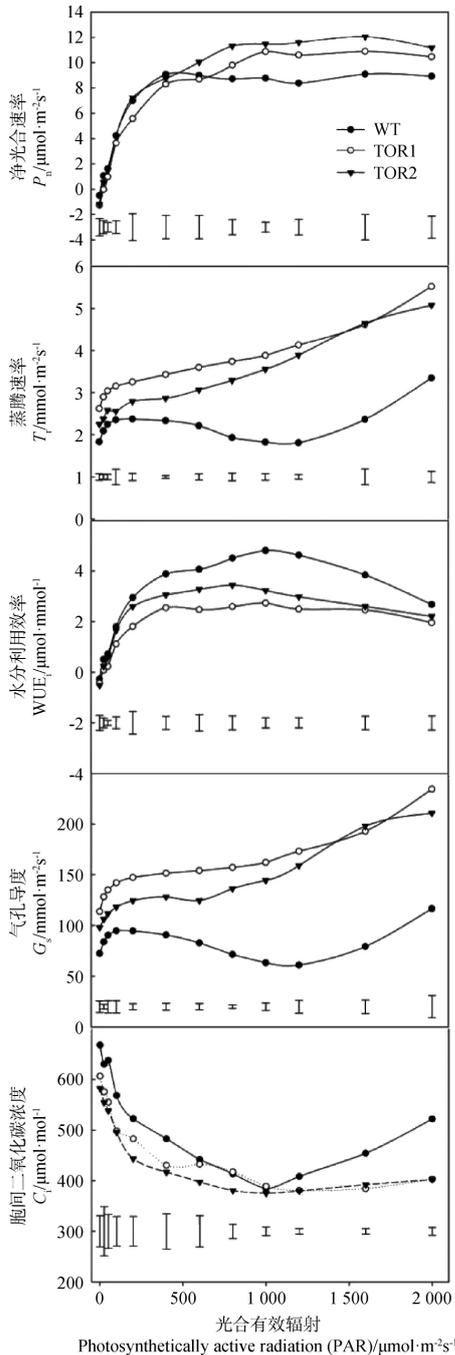


图 1 转基因型 (TOR1 与 TOR2) 与野生型 (WT) 烟草叶片净光合速率 (P_n)、蒸腾速率 (T_r)、水分利用效率 (WUE_i)、气孔导度 (G_s) 与胞间 CO_2 浓度 (C_i) 随光合有效辐射变化

Fig. 1 Leaf photosynthetic rate (P_n), transpiration rate (T_r), water use efficiency (WUE_i), stomatal conductance (G_s) and intercellular CO_2 concentration (C_i) between the transgenic (TOR1 and TOR2) and wild type (WT) tobacco lines in response to photosynthetically active radiation (PAR) change

注: 误差线表示同一光强下三株系间的 LSD 值 ($P < 0.05$)。下同
Note: The vertical bars indicate LSD values among three lines at each PAR ($P < 0.05$). The same as below

2.2 光合一光响应曲线

3 种模型决定系数 (R^2) 均大于 0.95, 均能满足统计分析上精度要求 (表 1)。对比 3 种模型拟合的 P_{nmax} 结果得出, 直角双曲线模型和非直角双曲线模型拟合的 P_{nmax} 均高于实测值, 直角双曲线修正模型的拟合值 P_{nmax} 与实测值最为接近, 而且能够直接拟合出光饱和点 (LSP) (表 1)。当 PAR 增加达到 LSP 后, 直角双曲线修正模型模拟的结果出现了比较明显的光抑制现象, 而双曲线模型依旧维持上升趋势, 这不符合植物正常光合生理特征 (图 2)。综合来看, 直角双曲线修正模型能较好的反映烟草光合光响应的实际情况。因此, 以下将采用直角双曲线修正模型的拟合结果来阐述 WT, TOR1 和 TOR2 间的光合光响应规律及其差异。

由表 1 可知, WT, TOR1 和 TOR2 株系间表观量子效率差异不显著。各株系间 P_{nmax} 大小依次为 TOR2 ($11.65 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) $>$ TOR1 ($10.73 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) $>$ WT ($9.17 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), TOR1 和 TOR2 的 P_{nmax} 显著高于 WT ($P < 0.05$), 其中 TOR2 的 P_{nmax} 约为 WT 的 1.3 倍。WT, TOR1 和 TOR2 的 LSP 由大到小依次为 TOR1 ($1664 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) $>$ TOR2 ($1501 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) $>$ WT ($1010 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), LCP 大小依次为 TOR1 ($23.19 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) $>$ TOR2 ($17.36 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) $>$ WT ($10.30 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)。TOR1 和 TOR2 的 LSP 高于 WT, 分别为 WT 的 2.3 倍和 1.7 倍 ($P < 0.05$); TOR1 的 LCP 显著高于 WT ($P < 0.05$), TOR2 的 LCP 与 WT 差异不显著。WT, TOR1 和 TOR2 的 R_d 大小依次为 TOR1 ($1.38 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) $>$ TOR2 ($1.25 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) $>$ WT ($0.86 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), WT, TOR1 和 TOR2 之间 R_d 差异不显著。

2.3 烟草光合生理特征随 CO_2 浓度的变化

随着 CO_2 浓度的增加, WT, TOR1 和 TOR2 光合特征的变化趋势基本一致, 其中 TOR1 和 TOR2 的 P_n , T_r 和 G_s 均显著高于 WT ($P < 0.05$), 但 TOR1 和 TOR2 的 WUE_i 和 C_i 几乎与 WT 相同 (图 3)。 CO_2 浓度在 $0 \sim 100 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 时, TOR1 和 TOR2 的 P_n 和 WT 几乎相同; CO_2 浓度在 $100 \sim 600 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 时, TOR1 和 TOR2 的 P_n 显著高于 WT ($P < 0.05$); 当 CO_2 浓度大于 $600 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 时, WT 的 P_n 增长减缓并逐渐趋于平稳, 而 TOR1 和 TOR2 的 P_n 呈持续上升的趋势。

WT, TOR1 和 TOR2 的 T_r 和 G_s 变化趋势相同,均随 CO₂ 浓度增加呈先增加后降低趋势;当 CO₂ 浓度达到 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 时,WT 的 T_r 和 G_s 开始缓慢下降并逐渐趋于平缓;CO₂ 浓度为 300 ~ 500 $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 时, T_r 和 G_s 急剧下降后趋于平缓;当 CO₂ 浓度分别达到 300 $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 和 400 $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 时, TOR1 和 TOR2 的 T_r 和 G_s 开始

下降;当 CO₂ 浓度为 1 200 ~ 1 500 $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 时, TOR1 和 TOR2 的 T_r 和 G_s 渐趋于平缓,但显著高于 WT ($P < 0.05$)。随 CO₂ 浓度增加, WT, TOR1 和 TOR2 的 C_i 呈直线上升,株系间无明显差异; WT, TOR1 和 TOR2 的 WUE_i 呈直线上升,其中当 CO₂ 浓度达到 600 $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 时, TOR1 的 WUE_i 略微高于 WT 和 TOR2。

表 1 转基因型与野生型烟草的光合-光响应曲线特征参数

Table 1 Characteristics of photosynthesis-light response curve of transgenic and wild type tobacco lines

模型 Model	株系 Line	光合参数 Photosynthetic parameter						决策系数 Decision coefficient R ²
		表观量子效率 Apparent quantum yield	最大净光合速率 Maximum net photosynthetic rate	光饱和点 Light saturation point LSP/	光补偿点 Light compensation point	暗呼吸速率 Dark respiration rate R _d /		
		$\alpha/\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$	$P_{n\text{max}}/\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	$\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	LCP/ $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	$\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$		
直角双曲线模型 Rectangular hyperbolic model	WT	0.11 ^a	10.94 ^b	—	9.94 ^b	1.01 ^a	0.97	
	TOR1	0.08 ^a	13.84 ^a	—	22.82 ^a	1.55 ^a	0.99	
	TOR2	0.09 ^a	14.62 ^a	—	17.38 ^a	1.46 ^a	0.99	
非直角双曲线模型 Non-rectangular hyperbolic model	WT	0.04 ^a	9.31 ^b	—	7.56 ^b	0.34 ^a	0.99	
	TOR1	0.06 ^a	13.11 ^a	—	24.16 ^a	1.35 ^a	0.99	
	TOR2	0.07 ^a	13.75 ^a	—	18.32 ^a	1.21 ^a	0.99	
直角双曲线修正模型 Modified rectangular hyperbolic model	WT	0.09 ^a	9.17 ^c	1 010 ^b	10.30 ^b	0.86 ^a	0.96	
	TOR1	0.07 ^a	10.73 ^b	1 664 ^a	23.19 ^a	1.38 ^a	0.98	
	TOR2	0.08 ^a	11.65 ^a	1 501 ^a	17.36 ^a	1.25 ^a	0.99	
实测值 Measured value	WT	—	8.94	1 000~1 100	8.04	0.50	—	
	TOR1	—	11.37	1 500~1 600	25.26	1.20	—	
	TOR2	—	12.32	1 500~1 600	17.09	1.18	—	

注:不同小写字母表示株系间差异显著 ($P < 0.05$), WT 代表野生型烟草, TOR1 和 TOR2 代表两个转基因烟草株系,下同

Note: Different lowercase letters indicate significant differences among lines at the 0.05 level. WT stands for wild tobacco line, TOR1 and TOR2 represent two transgenic tobacco lines. The same as below

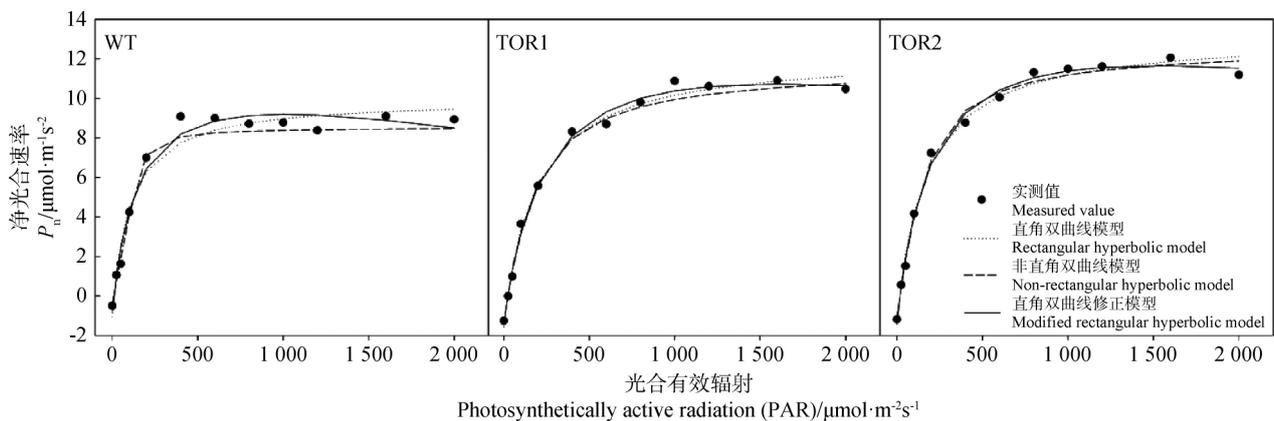


图 2 转基因型 (TOR1 与 TOR2) 与野生型 (WT) 烟草光合-光响应曲线模型估计值与实测值比较

Fig. 2 Comparisons between fitted and measured values of P_n —PAR curves between the transgenic (TOR1 and TOR2) and wild type (WT) tobacco lines

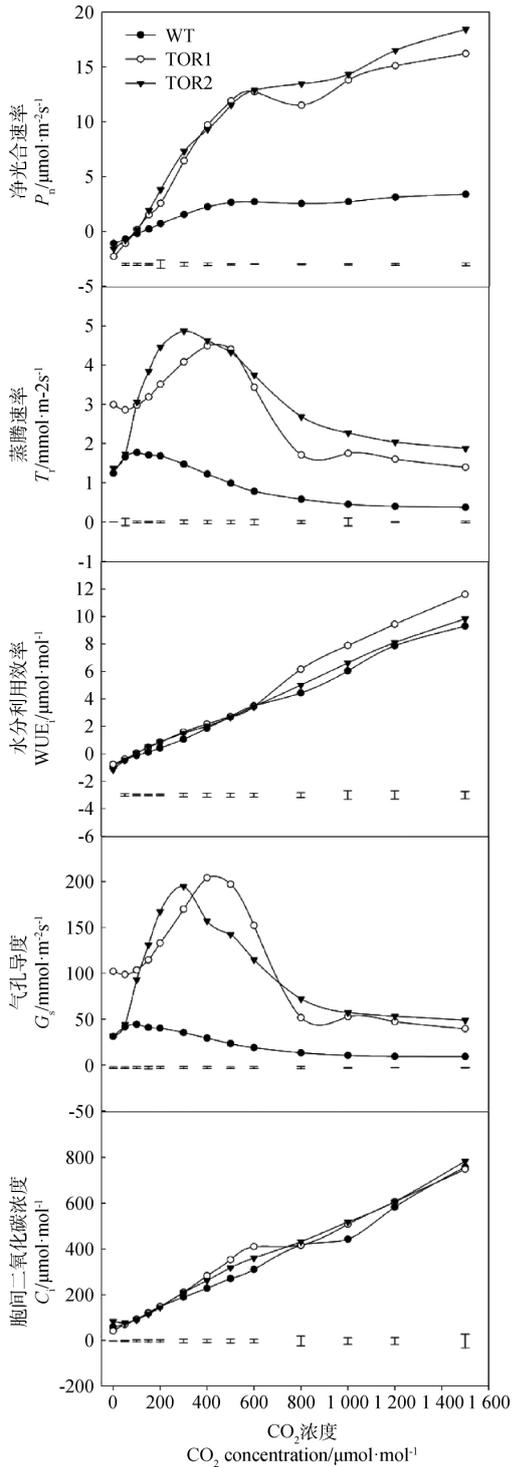


图 3 转基因型(TOR1 与 TOR2)与野生型(WT)烟草叶片净光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)、水分利用效率(WUE_i)、气孔导度(G_s)与胞间 CO_2 浓度(C_i)随 CO_2 浓度变化

Fig. 3 Leaf photosynthetic rate (P_n), transpiration rater (T_r), water use efficiency (WUE_i), stomatal conductance (G_s) and intercellular CO_2 concentration (C_i) between the transgenic (TOR1 and TOR2) and wild type (WT) tobacco lines in response to CO_2 concentration

2.4 光合- CO_2 响应曲线

直角双曲线模型、非直角双曲线模型和直角双曲线修正模型的决定系数(R^2)均大于 0.96(表 2), 表明 3 种模型均能满足统计分析上的精度要求, 能较好的拟合 P_n 随 CO_2 浓度变化情况(图 4)。直角双曲线模型和非直角双曲线模型拟合出的 P_{nmax} 相似但与实测值相差较大, 其中 TOR1 和 TOR2 的拟合值与实测值差值约为 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。直角双曲线修正模型的拟合的 P_{nmax} , LCP 和 R_p 相比于其他两种模型与实测值更为接近(表 2)。因此, 采用直角双曲线修正模型拟合不同基因型烟草的光合- CO_2 响应曲线较为适宜。

由表 2 可知, TOR1 与 TOR2 的 CE 均显著高于 WT($P < 0.05$), 约为 WT 的 2.3 倍。WT, TOR1 和 TOR2 的 P_{nmax} 大小依次为 TOR2($18.52 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) $>$ TOR1 ($15.64 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) $>$ WT ($3.17 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)。TOR1 与 TOR2 的 CO_2 饱和点(CSP)显著高于 WT($P < 0.05$), 大小依次为 TOR2($2174 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$) $>$ TOR1($1625 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$) $>$ WT ($1361 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$), 其中 TOR2 与 WT 的 CSP 差值高达 $700 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。TOR1 与 TOR2 的 CO_2 补偿点(CCP)显著低于 WT($103.83 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$), 与 WT 差值分别为 $25.2 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 和 $37.05 \mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。TOR1 和 TOR2 的 R_p 显著高于 WT($P < 0.05$), 约为 WT 的 2 倍。

2.5 类胡萝卜素及其组分含量

TOR1 与 TOR2 总的类胡萝卜素含量显著高于 WT, 约为 WT 的 2 倍。其中 WT 和 TOR1, TOR2 中的紫黄质约为总类胡萝卜素含量的 60%, 叶黄素含量约为总类胡萝卜素含量的 22%, β -胡萝卜素约为总类胡萝卜素含量的 15%~17%。其中, TOR1 和 TOR2 的紫黄质、环氧玉米黄素、叶黄素和 β -胡萝卜素含量约为 WT 的 2 倍, 玉米黄质含量约为 WT 的 5~9 倍; TOR1 和 TOR2 间的总类胡萝卜素含量及各组分均无明显差异(表 3)。

3 讨论

本研究中, 直角双曲线修正模型拟合出的 P_{nmax} 和 LSP 最接近于实测值, 且拟合曲线在高光强下出现明显的光抑制现象, 更加符合植物生理学意义, 说明采用直角双曲线修正模型拟合烟草的光响应曲线和 CO_2 响应曲线最为适宜, 这与直角双曲线修正模

型可拟合大多数植物的光响应曲线及 CO₂ 响应曲线,本研究结论相吻合^[21,30-32]。

表 2 转基因型与野生型烟草 CO₂ 响应曲线拟合参数

Table 2 Parameters of CO₂ response curves between the transgenic and wild type tobacco lines

模型 Model	株系 Line	光合参数 Photosynthetic parameter					
		羧化效率 Carboxylation efficiency CE/ $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	最大净光合速率 Maximum net photosynthetic rate $P_{n\max}$ / $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	CO ₂ 饱和点 CO ₂ saturation point CSP/ $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$	CO ₂ 补偿点 CO ₂ compensation point CCP/ $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$	光呼吸速率 Photorespiration rate R_p / $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	决策系数 Decision coefficient R ²
		直角双曲线模型 Rectangular hyperbolic model	WT	0.02 ^c	5.75 ^c	—	97.14 ^a
非直角双曲线模型 Non-rectangular hyperbolic model	TOR1	0.05 ^b	26.26 ^b	—	74.89 ^b	3.48 ^b	0.96
	TOR2	0.04 ^a	29.68 ^a	—	65.38 ^b	2.82 ^a	0.98
直角双曲线修正模型 Modified rectangular hyperbolic model	WT	0.01 ^b	4.30 ^c	—	98.28 ^a	1.12 ^c	0.96
	TOR1	0.04 ^a	19.01 ^b	—	73.70 ^b	2.50 ^b	0.96
实测值 Measured value	TOR2	0.04 ^a	23.01 ^a	—	65.38 ^b	3.01 ^a	0.99
	WT	—	3.17 ^c	1 361 ^c	103.83 ^a	1.32 ^c	0.97
WT	TOR1	0.05 ^a	15.64 ^b	1 625 ^b	78.63 ^b	3.29 ^a	0.96
	TOR2	0.04 ^b	18.52 ^a	2 174 ^a	66.78 ^b	2.69 ^b	0.99
WT	WT	—	3.48	1 500	115.01	1.13	—
	TOR1	—	16.20	>1 500	85.25	2.34	—
TOR2	—	18.42	>1 500	75.78	1.21	—	

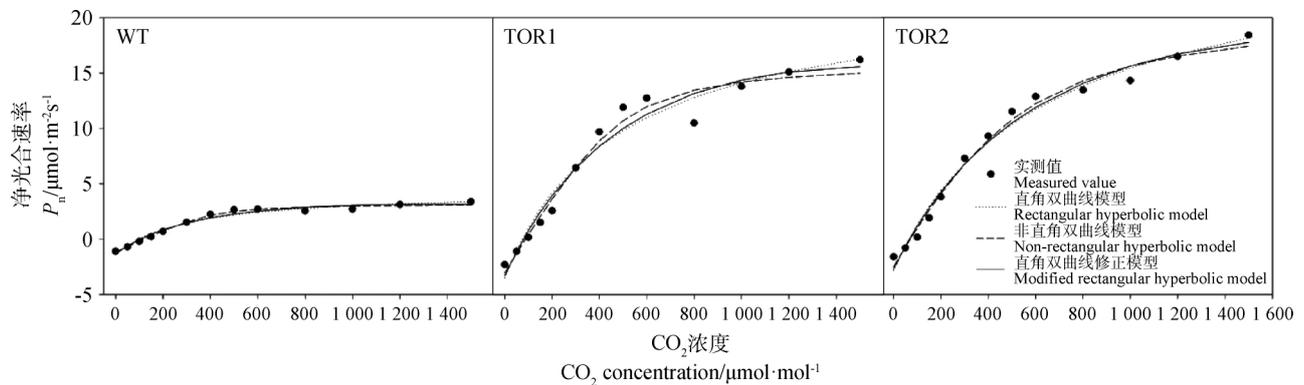


图 4 转基因型 (TOR1 与 TOR2) 与野生型 (WT) 烟草的光合-CO₂ 响应曲线模型估计值与实测值比较

Fig. 4 Comparisons between fitted and measured values of P_n -CO₂ curves between the transgenic (TOR1 and TOR2) and wild type (WT) tobacco lines

表 3 转基因型与野生型烟草植株叶片类胡萝卜素含量

Table 3 Leaf carotenoid content in transgenic and wild type tobacco lines

株系 Line	紫黄质 Violaxanthin/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	环氧玉米黄素 Antheraxanthin/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	叶黄素 Lutein/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	玉米黄质 Zeaxanthin/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	β -胡萝卜素 β -carotene/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	总类胡萝卜素 Total carotenoid content/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
WT	504 ^b	5.4 ^b	186.3 ^b	2.6 ^b	130.0 ^b	828.1 ^b
TOR1	995 ^a	9.3 ^a	363.8 ^a	24.9 ^a	288.8 ^a	1 681.7 ^a
TOR2	1 104 ^a	10.2 ^a	294.3 ^a	13.1 ^a	289.0 ^a	1 710.5 ^a

光照条件是影响植物光合作用、生长发育与物质积累的关键生态因子,光照强度过大叶片会出现光抑制现象,而类胡萝卜素在光保护与光吸收过程中能够发挥着重要作用^[5,18]。有研究表明, *IbOr* 基因的表达不仅促进了类胡萝卜素的积累,还提高了 PSII 在高光照条件下的稳定性,从而增强甘薯的耐受能力^[15,17]。本研究中, TOR1 和 TOR2 的类胡萝卜

素含量约为 WT 的 2 倍,同时 TOR1 和 TOR2 的 P_n 随着 PAR 的增加而呈持续升高趋势,当 PAR 大于 1 000 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时逐渐平稳。当 PAR 大于 400 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时, WT 的 P_n 就开始趋于平稳,可能是 *MsOr* 基因的表达促进了烟草叶片中类胡萝卜素的积累,改善了叶片中捕光天线色素蛋白复合体吸收光能的能力,从而减轻了强光所引起

的光氧化损伤,提高了植株光能利用效率^[17,33]。 P_{nmax} 反映了植物潜在的光合能力,该值越高说明植物在强光下不易出现光抑制现象。本研究中,TOR1和TOR2的 P_{nmax} 显著高于WT($P < 0.05$),表明了TOR1和TOR2在强光下光合作用更加稳定,且能更好的适应高光强环境^[34-36],这可能是由于 $MsOr$ 基因的表达提高了叶绿体中PsbP的稳定性从而维持了PSII的稳定性,使TOR1和TOR2的叶片具有较高的PSII电子传递效率^[15]。LSP反映了植物对强光的利用能力^[32]。本研究中,TOR1和TOR2的LSP均显著高于WT($P < 0.05$),且TOR1和TOR2的紫黄质和玉米黄质含量约为WT的2倍,这可能是由于转基因烟草叶片中增加的紫黄质和玉米黄质对PSII补光天线复合体中三线态叶绿素($^3Chl^*$)的猝灭起了重要作用^[37-38],这进一步说明了 $MsOr$ 基因不仅增强了烟草光能利用效率,还提高了烟草对强光的保护能力^[39]。此外,WT具有较高的 C_i 说明了其叶片净光合速率降低是由非气孔因素限制^[17],这表明转基因型株系在强光下具有较高的光合作用。

表观量子效率(α)反映了植物在弱光情况下的光合能力,暗呼吸速率(R_d)反映的是植物在无光照条件下的呼吸速率,其值高低与叶片代谢活性的强弱有关^[34],而LCP反映了植物对弱光的利用能力^[32]。本研究中,TOR1和TOR2的LCP和 R_d 显著高于WT,但三者间的 α 无显著差异。这可能是由于TOR1和TOR2具有较高的 P_{nmax} ,转基因植株1,5-二磷酸核酮糖羧化氧化酶(Rubisco)活性增强^[31],同时合成较多的类胡萝卜素增加了植株对有机质的消耗,从而使得TOR1和TOR2的LCP和 R_d 高于WT。由此可见, $MsOr$ 基因的表达并没有改善烟草植株对弱光的利用能力。

植物的光合作用不仅受光照条件的影响,还受 CO_2 浓度的影响^[22]。短时间内大气 CO_2 浓度升高,植物的光合速率随之显著增加^[21]。本研究中,当 CO_2 浓度在 $0 \sim 600 \mu mol \cdot mol^{-1}$ 范围内时TOR1和TOR2的 P_n 迅速上升,而 P_n 在 $600 \sim 1500 \mu mol \cdot mol^{-1}$ CO_2 浓度范围内上升趋势逐渐减缓,但WT在 $0 \sim 1500 \mu mol \cdot mol^{-1}$ 范围内时其 P_n 整体上升趋势较为缓慢,且TOR1和TOR2的类胡萝卜素含量约为WT的2倍。这可能是由于 $MsOr$ 基因表达增加了转基因植株叶片类胡萝卜素的含量,进而提高了植株对光能的利用效率^[3-4],表明野生烟草株系光合作用较弱的原因并不是 CO_2 供应

不足,而是由于光捕获色素分子所吸收光能的不足^[19]。当 CO_2 浓度升高过程中,TOR1和TOR2的 P_n 始终呈现上升趋势,且 CO_2 饱和时的 P_{nmax} 约为WT的5.3倍,说明转基因株系烟草1,5-二磷酸核酮糖羧化氧化酶(Rubisco)活性和 CO_2 的同化能力与利用效率均高于野生株系烟草^[31]。此外,TOR1和TOR2在 CO_2 饱和时的 P_{nmax} 显著高于光饱和时的 P_{nmax} 而WT呈显著相反趋势,这进一步说明了转基因株系烟草在强光下光合速率更大程度上受 CO_2 浓度的限制^[31]。气孔导度 G_s 反映植物气孔开闭程度,一般低浓度 CO_2 促进气孔张开,高浓度 CO_2 会抑制气孔的开放^[40]。本研究中,三者的 G_s 和 T_r 均随 CO_2 浓度的升高呈现先增加后降低的变化趋势,而其 WUE_i 和 C_i 随 CO_2 浓度的升高呈现持续增加变化趋势,这可能是由于 P_n 随着 CO_2 浓度升高而升高,但 G_s 和 T_r 出现相反变化趋势从而提高了水分利用率^[41]。

一般认为,植物的CSP越高说明其对高 CO_2 浓度环境适应能力强,而CCP低的植物则有净光合速率高且生长较快的特点,因此CSP和CCP也常被用作选育高产品种的指标^[22]。本研究表明TOR1和TOR2的CSP均显著最高且其CCP和CE显著最低($P < 0.05$),这表明转基因株系的烟草在较低 CO_2 浓度下具有保持较高的光合速率的能力^[22],并提高了烟草对 CO_2 浓度范围的广幅利用能力,说明 $MsOr$ 基因表达增强了植物对不同 CO_2 浓度环境条件的适应性。郭连旺^[42]等研究认为 C_3 植物的光呼吸可能是耗散过剩光能与保护光合机构免于强光胁迫的重要机制。本研究表明,转基因株系TOR1和TOR2的 R_p 显著高于WT,同时,TOR1和TOR2的叶黄素含量约为WT的1.8倍。这可能是由于转基因株系叶黄素含量高于野生型株系将多余的光能通过非光化学能量的方式耗散进而保护光合机构免受强光胁迫,有利于保护光合机构的稳定性并维持较高的光合速率^[5]。我们前期的研究表明^[18],转 $IbOr$ 基因新疆大叶苜蓿株系总类胡萝卜素及其组分叶黄素、紫黄质的含量较高,从而使得转基因株系具有较高的光合速率,这也说明了转苜蓿 $MsOr$ 基因的表达有利于提高烟草光合速率。

4 结论

直角双曲线修正模型能更好拟合光合—光响应曲线和光合— CO_2 响应曲线;相比于野生株系,转

MsOr 基因型株系具有相对较高的光饱和点、CO₂ 饱和点、最大净光合速率、羧化效率暗呼吸速率和光呼吸速率以及相对较低的 CO₂ 补偿点。*MsOr* 基因在烟草中的成功表达使得转基因烟草植株不仅具有较高的类胡萝卜素含量,还具有较强的光合能力与 CO₂ 利用能力,有效提高了植株对高光强环境及不同 CO₂ 浓度条件的适应性。由此可见,*MsOr* 基因能够通过促进植物类胡萝卜素的积累来提高光合能力,增强植株对高光强的耐受性以及 CO₂ 的利用能力。

参考文献

- [1] Flexas J, Bota J, Jeroni Galmés, *et al.* Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: Responses of photosynthesis and respiration to water stress[J]. *Physiologia Plantarum*, 2006, 127(3): 343-352
- [2] Ohmiya A. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids[J]. *The Plant Journal*, 2008, 54(4): 733-749
- [3] Esteban R, Moran J F, Becerril J M, *et al.* Versatility of carotenoids: An integrated view on diversity, evolution, functional roles and environmental interactions[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2015, 119: 63-75
- [4] Wang Z, Xu W Z, Kang J Y, *et al.* Overexpression of alfalfa *Orange* gene in tobacco enhances carotenoid accumulation and tolerance to multiple abiotic stresses[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, 130: 613-622
- [5] Nisar N, Li L, Lu S, *et al.* Carotenoid metabolism in plants[J]. *Molecular Plant*, 2015, 8(1): 68-82
- [6] Lu S, Van Eck J, Zhou X, *et al.* The cauliflower *Or* gene encodes a DnaJ cysteine-rich domain-containing protein that mediates high levels of carotene accumulation[J]. *The Plant Cell*, 2006, 18(12): 3594-3605
- [7] Lopez A B, Van E J, Conlin B J, *et al.* Effect of the cauliflower *Or* transgene on carotenoid accumulation and chromoplast formation in transgenic potato tubers[J]. *Journal of experimental botany*, 2008, 59(2): 213-223
- [8] Wang Z, Qingbo K, Duck K M, *et al.* Transgenic alfalfa plants expressing the sweetpotato *Orange* gene exhibit enhanced abiotic stress tolerance[J]. *PLOS ONE*, 2015, 10(5): e0126050
- [9] Busch M, Seuter A, Hain R. Functional analysis of the early steps of carotenoid biosynthesis in tobacco[J]. *Plant Physiology*, 2002, 128(2): 439-453
- [10] Zhang J C, Tao N G, Xu Q, *et al.* Functional characterization of *Citrus PSY* gene in Hongkong kumquat (*Fortunella hindsii* Swingle)[J]. *Plant Cell Reports*, 2009, 28(11): 1737
- [11] Park S, Kim H S, Jung Y J, *et al.* Orange protein has a role in phytoene synthase stabilization in sweetpotato[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 33563
- [12] Karppinen K, Zoratti L, Sarala M, *et al.* Carotenoid metabolism during bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruit development under different light conditions is regulated by biosynthesis and degradation[J]. *BMC Plant Biology*, 2016, 16(1): 95
- [13] Ido K, Ifuku K, Yamamoto Y, *et al.* Knockdown of the PsbP protein does not prevent assembly of the dimeric PSII core complex but impairs accumulation of photosystem II supercomplexes in tobacco[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)/Bioenergetics*, 2009, 1787(7): 873-881
- [14] Ifuku K, Ido K, Sato F. Molecular functions of PsbP and PsbQ proteins in the photosystem II supercomplex[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2011, 104(1-2): 158-164
- [15] Kang L, Kim H S, Kwon Y S, *et al.* IbOr regulates photosynthesis under heat stress by stabilizing IbPsbp in sweetpotato[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 989
- [16] Goo Y M, Han E H, Jeong J C, *et al.* Overexpression of the sweet potato *IbOr* gene results in the increased accumulation of carotenoid and confers tolerance to environmental stresses in transgenic potato[J]. *Comptes Rendus Biologies*, 2015, 338(1): 12-20
- [17] 张丽娟, 李红兵, 孙振玫, 等. 过表达 *IbOr* 基因甘薯增强抗盐性的生理机制[J]. *应用与环境生物学报*, 2017, 23(1): 54-59
- [18] 李敏, 苏国霞, 熊沛枫, 等. 转多抗基因新疆大叶苜蓿光合生理特征对土壤水分变化的响应[J]. *草业学报*, 2018, 27(11): 95-105
- [19] 叶子飘, 王怡娟, 王伶俐, 等. 大豆叶片光呼吸对光强和 CO₂ 浓度的响应[J]. *生态学杂志*, 2017, 36(9): 2535-2541
- [20] 刘玉萍, 周勇辉, 吕婷, 张晓宇, 苏旭. 青藏高原 3 种野豌豆光合生理特性的比较[J]. *草地学报*, 2017, 25(1): 122-129
- [21] 任博, 李俊, 同小娟, 等. 太行山南麓栓皮栎和刺槐光合作用 CO₂ 响应模拟[J]. *应用生态学报*, 2018, 29(1): 1-10
- [22] 刘超, 胡正华, 陈健, 等. 不同 CO₂ 浓度升高水平对水稻光合特性的影响[J]. *生态环境学报*, 2018, 27(2): 246-254
- [23] Baly E C. The Kinetics of Photosynthesis[J]. *Proceedings of the Royal Society of London*, 1935, 149(868): 596-596
- [24] Thornley J H M. *Mathematical models in plant physiology* [M]. London: Academic Press, 1976: 86-110
- [25] 叶子飘, 于强. 一个光合作用光响应新模型与传统模型比较[J]. *沈阳农业大学学报*, 2007, 38(6): 771-775
- [26] 叶子飘, 康华靖, 段世华, 等. 不同 CO₂ 浓度下大豆叶片的光合生理生态特性[J]. *应用生态学报*, 2018, 29(2): 583-591
- [27] 叶子飘. 光合作用对光和 CO₂ 响应模型的研究进展[J]. *植物生态学报*, 2010, 34(6): 727-740
- [28] Kim S H, Ahn Y O, Ahn M J, *et al.* Cloning and characterization of an *Orange* gene that increases carotenoid accumulation and salt stress tolerance in transgenic sweetpotato cultures[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2013, 70(1): 445-454
- [29] Cho K S. Expressing the sweet potato *Orange* gene in transgenic potato improves drought tolerance and marketable tuber production[J]. *Comptes Rendus Biologies*, 2016, 339(5-6): 207-213
- [30] 周玉霞, 巨天珍, 王引弟, 等. 4 种光响应曲线模型对 3 种高寒

- 草甸植物的实用性分析[J]. 草地学报, 2018, 26(2): 488-496
- [31] 吕扬, 刘廷玺, 闫雪, 等. 科尔沁沙丘-草甸相间地区黄柳和小叶锦鸡儿光合速率对光照强度和 CO₂ 浓度的响应[J]. 生态学杂志, 2016, 35(12): 3157-3164
- [32] 王荣荣, 夏江宝, 杨吉华, 等. 贝壳砂生境干旱胁迫下杠柳叶片光合光响应模型比较[J]. 植物生态学报, 2013, 37(2): 111-121
- [33] 孙小玲, 许岳飞, 马鲁沂, 等. 植株叶片的光合色素构成对遮阴的响应[J]. 植物生态学报, 2010, 34(8): 989-999
- [34] 魏明月, 云菲, 刘国顺, 等. 不同光环境下烟草光合特性及同化产物的积累与分配机制[J]. 应用生态学报, 2017, 28(1): 159-168
- [35] 上官周平. 冬小麦对有限水分高效利用的生理机制[J]. 应用生态学报, 1999(5): 567-569
- [36] 钟平安, 邵东, 黄英金, 等. 不同光环境下辣椒光合特性和瞬时水分利用效率[J]. 生态学杂志, 2019, 25(7): 1-8
- [37] Davison P A, Hunter C N, Horton P. Overexpression of β -carotene hydroxylase enhances stress tolerance in *Arabidopsis* [J]. Nature, 2002, 418(6894): 203-206
- [38] GÖTz T, Sandmann G, RÖMer S. Expression of a bacterial carotene hydroxylase gene (*crtZ*) enhances UV tolerance in tobacco [J]. Plant Molecular Biology, 2002, 50(1): 127-140
- [39] 吴爱姣, 徐伟洲, 郭亚力, 等. 不同水肥条件下达乌里胡枝子的光合-光响应曲线特征[J]. 草地学报, 2015, 23(4): 785-792
- [40] 樊良新, 刘国彬, 薛蕙, 等. CO₂ 浓度倍增及干旱胁迫对紫花苜蓿光合生理特性的协同影响[J]. 草地学报, 2014, 22(1): 85-93
- [41] Leakey A D B, Uribeharrea M, Ainsworth E A, *et al.* Photosynthesis, productivity and yield of maize are not affected by open-air elevation of CO₂ concentration in the absence of drought [J]. Plant physiology, 2006, 140(2): 779-790
- [42] 郭连旺, 沈允钢. 高等植物光合机构避免强光破坏的保护机制 [J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(1): 1-8

(责任编辑 闵芝智)