

外源 5-氨基乙酰丙酸对干旱胁迫下草珊瑚叶绿素荧光特性及能量分配的影响

张春平¹, 何平^{1*}, 袁凤刚², 喻泽莉¹, 杜丹丹¹, 韦品祥¹, 胡世俊³

1. 西南大学生命科学学院 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆市三峡库区植物生态与资源重点实验室, 重庆 400715

2. 徐州医学院 实验动物中心, 江苏 徐州 221002

3. 西南林业大学资源学院, 云南 昆明 650224

摘要: **目的** 探讨干旱胁迫对草珊瑚叶绿素荧光特性及能量分配的影响, 找到延缓干旱胁迫的方法, 为抗旱栽培提供理论依据。**方法** 考察 15% PEG-6000 模拟干旱胁迫条件下, 经过不同浓度 5-氨基乙酰丙酸 (ALA) 和不同时间处理后草珊瑚植株光合色素量、叶绿素荧光参数及能量参数等生理指标的变化。**结果** 外源 ALA 显著提高了叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素和类胡萝卜素的量, 提高了最大荧光 (F_m)、最大光化学效率 (F_v/F_m)、光系统 PSII 潜在活性 (F_v/F_o)、PSII 有效光化学效率 (F_v'/F_m')、PSII 实际光化学效率 (Φ_{PSII})、光化学淬灭系数 (qP)、电子传递率 (ETR) 和光化学速率 (PCR) 的水平, 有效地降低了初始荧光 (F_o), 非光化学淬灭系数 (NPQ) 和热耗散速率 (HDR), 经过 ALA 处理后的光化学反应能量 (P) 所占比例显著升高, 天线色素热耗散能量 (D) 和非光化学耗散能量 (E) 则表现出相反的趋势, 并且 P 成为能量利用的主要途径, ALA 促进了能量合理的再分配。**结论** 100 mg/L 的外源 ALA 能够通过减少过剩激发能的耗散, 提高光合电子传递效率, 有效地缓解干旱胁迫对草珊瑚叶片 PSII 的伤害, 提高植株的抗旱能力。

关键词: 5-氨基乙酰丙酸 (ALA); 干旱胁迫; 叶绿素荧光; 草珊瑚; 生理指标

中图分类号: R282.21

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2012)01-0164-09

Effects of exogenous 5-aminolevulinic acid on chlorophyll fluorescence characteristics and energy dissipation of *Sarcandra glabra* under drought stress

ZHANG Chun-ping¹, HE Ping¹, YUAN Feng-gang², YU Ze-li¹, DU Dan-dan¹, WEI Pin-xiang¹, HU Shi-jun³

1. Key Laboratory of Eco-environments of Three Gorges Reservoir Region, Ministry of Education, Chongqing Key Laboratory of Plant Ecology and Resources Research for Three Gorges Reservoir Region, School of Life Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

2. Laboratory Animal Center, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, China

3. School of Resource Management and Engineering, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China

Abstract: Objective To study the effects of drought stress on chlorophyll fluorescence characteristics and energy dissipation of *Sarcandra glabra* and get the method of alleviating drought stress, so as to provide theoretical basis against drought in planting. **Methods** Several physiological indexes of *S. glabra* treated by 5-aminolevulinic acid (ALA) under drought stress (PEG-6000 at the concentration of 15%) were measured, such as the contents of photosynthetic pigment, chlorophyll fluorescence parameters, and energy parameters. **Results** Exogenous ALA obviously increased the content of chlorophyll and carotenoids, enhanced the maximum fluorescence (F_m), photochemical efficiency of photosystem II (PSII, F_v/F_m), potential photochemical efficiency (F_v/F_o), photochemical efficiency (F_v'/F_m'), PSII actual photochemical efficiency (Φ_{PSII}), photochemical quenching coefficient (qP), electronic transfer rate (ETR), and photochemistry rate (PCR), as well as significantly decreased the level of minimum fluorescence (F_o), non-photochemical quenching (NPQ) coefficient, and heat dissipation rate (HDR). The proportion of ALA absorbed light in photochemistry (P) was increased, the fraction of antenna pigment heat dissipation (D) and excess energy (E) for NPQ was decreased. The fraction of P was the main pathway for excessive energy dissipation. ALA could promote the redistribution of energy reasonably. **Conclusion** Exogenous ALA (100 mg/L) could significantly reduce the dissipation of excess excitation energy, improve the photochemical electron transport efficiency,

收稿日期: 2011-03-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30070080)

作者简介: 张春平, 男, 山东潍坊人, 博士, 主要从事药用植物资源学及植物分子生物学等方面的研究。

Tel: 13667652727 E-mail: chunpingzhang520@163.com

*通讯作者 何平 Tel: (023) 68254122 E-mail: heping196373@126.com

and efficiently protect leaf blade of *S. glabra* from PSII damage under drought stress. ALA could obviously promote the drought resistance of *S. glabra* plantlet.

Key words: 5-aminolevulinic acid (ALA); drought stress; chlorophyll fluorescence; *Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai; physiological indexes

草珊瑚 *Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai 又名肿节风、九节茶、接骨木,为金粟兰科 (Chloranthaceae) 多年生植物^[1],主要分布于我国华东、西南及中南部各省区^[2]。草珊瑚全株入药,具有清热凉血、活血消斑、驱风通络的作用,常用于血热、发斑发疹、风湿痹痛、跌打损伤等症^[3]。研究表明,草珊瑚主要活性成分为黄酮类和香豆素类物质,此外还含有内酯和挥发油等化合物^[4-5],特别是所含的异嗪皮啶具有显著的抗菌和抗癌作用且量较高^[6-7]。随着草珊瑚资源的进一步开发,用量越来越大,野生资源已经不能满足现有的需要,并且资源已经受到较大程度的破坏,所以开展人工栽培是目前保护工作的重点之一。草珊瑚喜阴凉环境,忌高温和干燥环境,水分条件是限制其生长的重要因素。

光合作用是植物重要的生命活动之一,研究光合作用对干旱胁迫的响应,对于阐明干旱胁迫对植物的伤害机制和提高植物的抗旱性是非常必要的。叶绿素荧光诱导动力学以光合作用理论为基础,是检测和分析植物光合功能的重要手段,为研究光系统 II (PSII) 及其电子传递过程提供了丰富信息^[8]。叶绿素荧光动力学技术在测定叶片光合作用过程中光系统对光能的吸收、传递、耗散、分配等方面具有独特的作用,与“表观性”的气体交换指标相比,叶绿素荧光参数更具有反映“内在性”的特点。因此,叶绿素荧光动力学技术是研究植物光合生理状况及植物与逆境胁迫关系的理想探针^[9-11]。目前关于干旱胁迫对植物体叶绿素荧光参数的影响已有报道^[12-14],但是关于干旱胁迫对草珊瑚叶绿素荧光参数的影响未见研究报道。由于 PEG6000 可以作为一种高渗物质,通过限制水分进入植物细胞的程度来模拟干旱环境,而且作为大分子物质,本身不能透过细胞膜进入细胞,产生不必要的影响。本实验利用 PEG6000 模拟干旱环境,采用外源 5-氨基乙酰丙酸 (ALA) 进行处理,研究不同浓度 ALA 处理对草珊瑚叶绿素荧光参数和能量分配的影响,以期为草珊瑚的抗旱机制提供理论依据。

1 材料

草珊瑚为两年生植株,种子采集于重庆市缙云山,经西南大学生命科学学院何平教授鉴定为 *Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai 的种子,种植于西南

大学生命科学学院实验温室内。ALA 为韩国 KAIST 提供,由于 ALA 在高浓度的水溶液中不稳定,所以实验中溶液均为现配现用。

2 方法

2.1 干旱胁迫模拟条件

采用 PEG6000 模拟干旱条件,对草珊瑚植株进行干旱胁迫,通过预试验以 5%~40% PEG6000 进行处理,最终选择 15% PEG6000 进行干旱胁迫。所用的 ALA 设 4 个处理,质量浓度分别为 25、50、100、200 mg/L。每盆中栽种一棵草珊瑚,基质为河砂-泥土 (1:1),称质量法定期向盆内添加 Hoagland 培养液,在喷施 ALA 时,要对幼苗全株进行喷施,叶片背面以滴水为限,避免光照对 ALA 的效果造成影响。分别于第 4、8、12 天后测定相关指标,具体处理见表 1。其中 CK1 为未经任何处理的空白对照,CK2 为经过 PEG-6000 单一处理的干旱处理。

表 1 对草珊瑚的不同处理组合

Table 1 Different treatment combinations to *S. glabra*

处理	PEG / %	ALA / (mg·L ⁻¹)
CK1	0	0
CK2	15	0
T1	15	25
T2	15	50
T3	15	100
T4	15	200

2.2 光合色素的测定

光合色素包括叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素和类胡萝卜素,采用张志良等^[15]的方法进行测定,用日本岛津 UV-2550 紫外分光光度计测量不同波长下的吸光度 (A) 值,每个处理 3 个重复。

2.3 叶绿素荧光参数的测定

实验处理 4 d 后开始测量相关指标,叶绿素荧光参数采用 PAM-2100 便携式荧光仪 (德国 Walz 公司) 进行测定^[16]。叶片暗适应 30 min 后,先用一束小于 0.05 μmol/(m²·s) 的测量光 (频率为 600 Hz) 照射叶片,测初始荧光 (F₀),随后施加饱和脉冲光 [5 000 μmol/(m²·s), 脉冲 0.8 s], 测得最大荧光 (F_m) 和可变荧光 (F_v), 并计算暗适

应叶片 PSII 最大潜在光化学效率 (F_v/F_m)。打开测量光[600 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$]，待实时荧光 (F_t) 稳定后，取此时的 F_t 为稳态荧光 F_s ；然后再打开一个同样强度的饱和脉冲光[5 000 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$]，荧光上升到能化类囊体最大荧光 (F_m')；叶片经过短暂的暗适应后，打开远红光[7 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$]，得到能化类囊体最小荧光 (F_o')。其他荧光参数： $F_v(F_m - F_o)$ 、 F_v/F_m 、PSII 潜在活性 (F_v/F_o)、PSII 有效光化学效率 (F_v'/F_m')、光化学猝灭系数 [$qP = (F_m' - F_s) / (F_m' - F_o')$]、非光化学猝灭系数 [$NPQ = (F_m - F_m') / F_m'$]、表观光合电子传递速率 (ETR) 和 PSII 实际光化学效率 (ΦPSII) 均由仪器自动给出；通过计算得出潜在光化学效率 (F_v/F_o)、光下光合功能相对限制值 [$\text{PED} = 1 - (qP \times F_v'/F_m') / 0.83$]、热耗散速率 [$\text{HDR} = (1 - F_v'/F_m') \times \text{PED}$]。PSII 吸收光能分配百分率参照赖齐贤等^[12]方法计算：光化学反应的能量 (P) = $F_v'/F_m' \times qP$ ；天线色素耗散能量 (D) = $1 - F_v'/F_m'$ ；非光化学反应耗散能量 (E) = $F_v'/F_m' \times (1 - qP)$ ，每次处理 3 盆，每盆重复 6 次测定。

2.4 数据处理

采用 SPSS 12.0 统计软件对数据进行方差分析，以 Duncan's 新复级差法比较不同处理间的差异性。

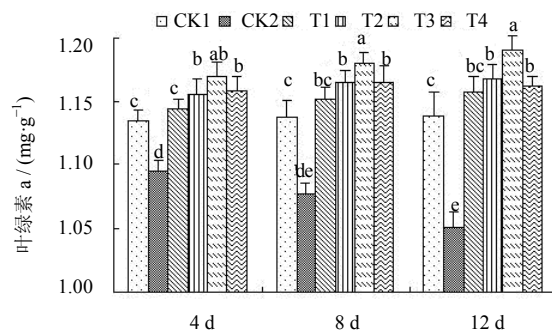
3 结果与分析

3.1 ALA 对草珊瑚外部形态的影响

草珊瑚植株在处理前生长良好，当用 15% PEG6000 模拟干旱胁迫后，进行至第 4 天并无明显的变化，到第 7 天时，植株幼嫩叶片边缘开始出现萎缩，叶柄无明显变化，至第 10 天时，幼嫩叶片和叶柄均开始出现枯黄，较大的成年叶片边缘也开始枯黄。截止到第 12 天时，幼嫩叶片全部枯黄，成年叶片边缘枯黄面积加大。经过不同质量浓度 ALA 处理后，植株并未出现明显的枯黄现象，并且在 4 个不同的处理中，100 mg/L 处理的植株叶片颜色呈深绿色，与其他处理相比变化较为明显。以上外部形态的变化表明干旱胁迫明显使草珊瑚植株的生长受到抑制，而 ALA 对于缓解干旱胁迫具有一定的积极作用。

3.2 ALA 对草珊瑚叶片光合色素的影响

由图 1~4 可以明显的看出经过不同质量浓度的 ALA 处理后草珊瑚叶片各种不同光合色素水平的变化。从总体来看，叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素和类胡萝卜素都表现出相似的变化趋势。经过 15% PEG6000 处理后，各种色素的量均大幅度减



不同小写字母表示处理间在 0.05 水平有显著差异，下同
Different lower-case letters mean significant differences among treatments at 0.05 level, same as below

图 1 叶绿素 a 水平变化

Fig. 1 Changes of content for chlorophyll a

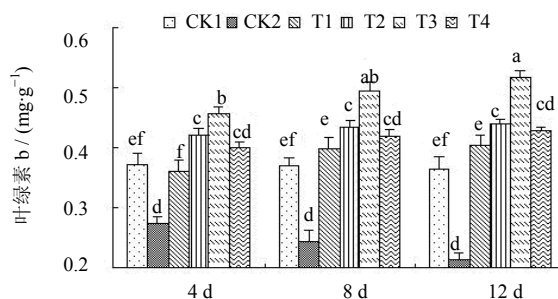


图 2 叶绿素 b 水平变化

Fig. 2 Changes of content for chlorophyll b

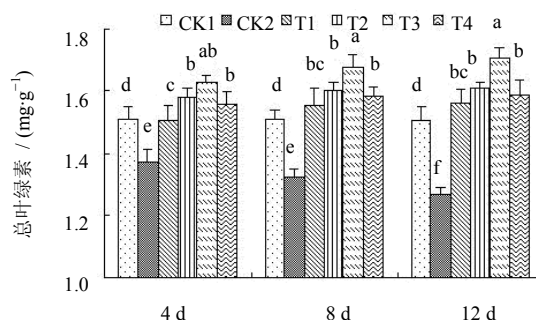


图 3 总叶绿素水平的变化

Fig. 3 Changes of content for total chlorophyll

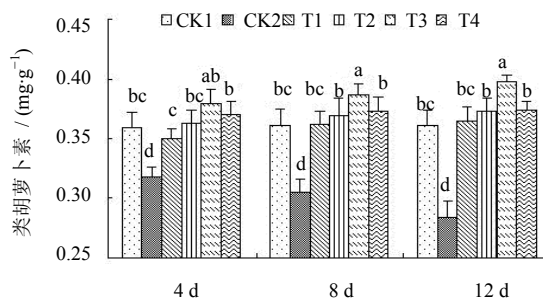


图 4 类胡萝卜素水平变化

Fig. 4 Changes of content for carotenoids

少, 且与对照 CK1 相比差异显著。并且随着胁迫时间的增加, 减少幅度增加。当用不同质量浓度的 ALA 处理后各种光合色素量减少幅度降低, 并且随着 ALA 处理时间的延长, 色素增加的趋势越来越明显, 当 ALA 为 100 mg/L, 处理时间为 12 d 时增加幅度最大, 叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素和类胡萝卜素的量分别达到 1.190、0.518、1.709 和 0.397 mg/g, 与 CK1 (1.138、0.366、1.505、0.368 mg/g) 和 CK2 (1.051、0.214、1.266、0.284 mg/g) 相比均呈显著差异, 并且其他质量浓度的 ALA 处理也使得色素量有不同程度的增加。以上结果均说明 ALA 对促进光合色素的合成具有显著作用。

3.3 ALA 对 F_o 、 F_m 、 F_v/F_m 和 F_v/F_o 的影响

F_o 表示的是 PSII 反应中心处于完全开放时的荧光产量。从图 5 可以看出对照组 CK1 的 F_o 比较稳定, 不会随着时间的延长产生大幅度的变化。而干旱处理 CK2 在第 4 天时就出现大幅度的升高, 并且随着时间的延长逐渐升高, 在第 12 天时达到最大值 (0.382)。经过 ALA 处理后, F_o 明显下降, 各 ALA 处理都与 CK2 形成显著差异, 在不同的 ALA 处理中, 100 mg/L 效果最为显著, 使 F_o 下降至 0.218, 甚至低于对照 CK1 (0.222), 并且随着时间的延长, 效果越好。 F_m 表示的是 PSII 反应中心处于完全关闭时的荧光产量, 可以用来反映通过 PSII 的电子传递情况。图 6 显示经过干旱胁迫后 F_m 呈下降趋势, 并且随着处理时间的延长, 下降幅度也越来越明显, 第 8 天和第 4 天间差异显著, 在第 12 天下降至最低 (1.169), 与对照 CK1 (1.379) 相比差异显著。在经过 ALA 处理后, F_m 开始上升, 并且不同处理 F_m 均上升。相同浓度下, 不同处理时间差异并不显著, 当 ALA 质量浓度为 100 mg/L 时 F_m 达到最大值 (1.503)。说明在干旱胁迫初期, ALA 具有显著地提升 F_m 的作用, 随着时间的延长, 提升幅度减少, 从而转变为维持较高的 F_m 作用。

F_v/F_m 值表示的是 PSII 原初光能转化效率, 表明 PSII 利用光能的能力与植物的光合作用光抑制程度密切相关, 又称为最大光化学量子产量。从图 7 可以看出, 正常条件下, 草珊瑚的 F_v/F_m 维持在 0.837, 并且不会随着时间的延长有大幅度的变化, 但是在经过 PEG6000 处理后, F_v/F_m 呈现出降低的趋势, 且随着胁迫时间的延长, 降低幅度增加, 与对照 CK1 呈显著差异, 且在第 12 天时达到最低值 (0.673)。当用 ALA 处理后, F_v/F_m 值升高, 并且不

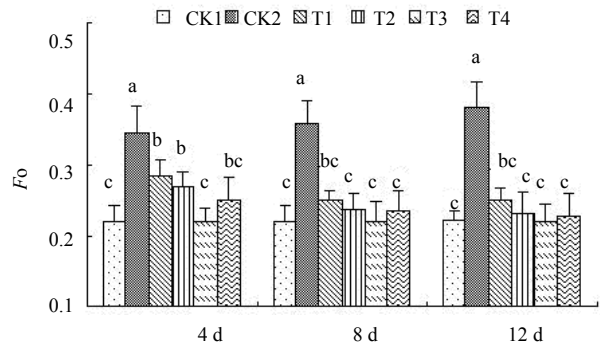


图 5 F_o 的变化

Fig. 5 Changes of minimum fluorescence (F_o)

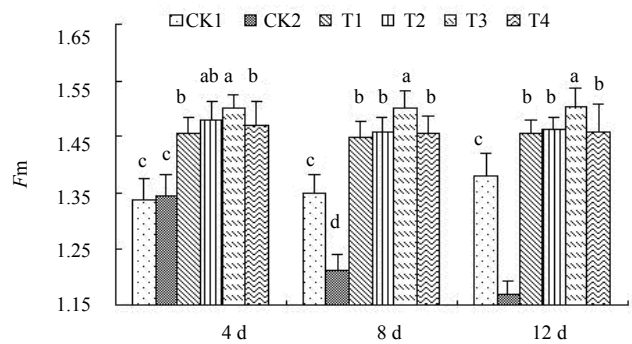


图 6 F_m 的变化

Fig. 6 Changes of maximum fluorescence (F_m)

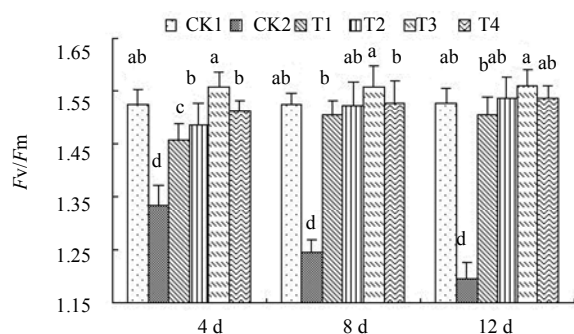
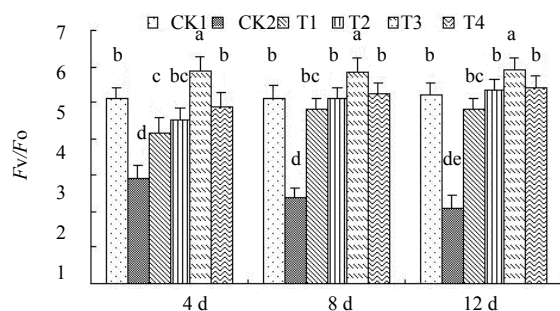
同处理浓度的升高幅度不同, 低质量浓度 (25 mg/L) 的升高幅度在处理初期较低, 但是随着时间的延长, 升高幅度越来越明显, 50、200 mg/L ALA 在处理前期就表现出良好的效果。100 mg/L ALA 处理效果最为明显, 且在处理初期就与其他处理相比呈显著差异, 在处理到第 12 天时, 达到最大值 (0.855)。

F_v/F_o 表示的是 PSII 的潜在活性, 其变化趋势与 F_v/F_m 的变化趋势相似, 均是干旱胁迫使其显著降低。图 8 显示, 当用不同质量浓度的 ALA 处理后, 其值呈现升高趋势, 当 ALA 达到 100 mg/L 时, 上升至最大值 (5.890)。

以上结果均说明, 干旱胁迫下草珊瑚 F_o 显著升高, F_m 、 F_v/F_m 和 F_v/F_o 均显著降低, 在经过 100 mg/L ALA 处理后, F_o 降低至空白对照 CK1 水平, F_m 、 F_v/F_m 和 F_v/F_o 均显著升高。

3.4 ALA 对 PSII F_v'/F_m' 和 Φ_{PSII} 的影响

F_v'/F_m' 表示的是开放的 PSII 反应中心原初光能转化效率^[17], 称为 PSII 有效光化学效率或天线色素转化率。干旱胁迫下 F_v'/F_m' 的变化趋势与 F_v/F_m 和 F_v/F_o 的变化趋势相似。当受到干旱胁迫后, F_v'/F_m' 呈下降趋势, 并且随着时间的延长, 下降幅度升高, 到第 12 天时, 降到最低值

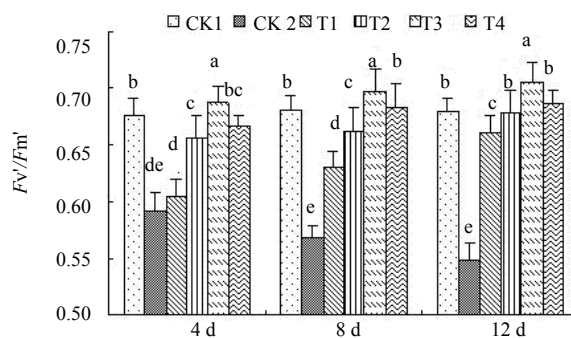
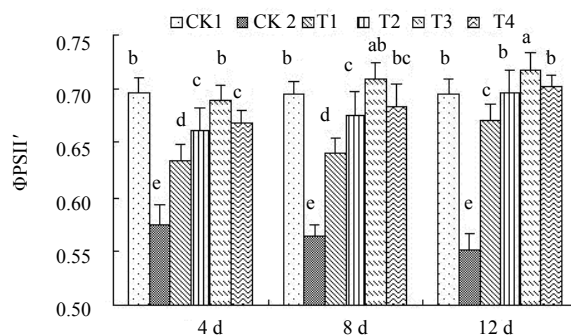
图7 F_v/F_m 的变化Fig. 7 Changes of F_v/F_m 图8 F_v/F_o 的变化Fig. 8 Changes of F_v/F_o

(0.549), 与对照 CK1 相比差异显著。当用 ALA 处理后, 其值呈升高趋势, 并且随着处理时间的延长逐渐升高, 100 mg/L ALA 处理组在第 12 天时达到最高值 (0.706), 与 CK2 相比, 提高幅度为 28.59% (图 9)。

$\Phi PSII$ 表示的是 PSII 反应中心受到环境胁迫时, 存在部分反应中心关闭情况下的实际光化学效率。在受到干旱胁迫时, $\Phi PSII$ 在胁迫初期显著降低, 随着胁迫时间的延长, 持续降低, 但降低程度在时间梯度上差异不显著。经过 ALA 处理后, $\Phi PSII$ 升高, 当处理至第 12 天时, 达到最大值 (0.567), 甚至超过未经任何处理的 CK1 (0.545)。与 CK2 相比, 提高幅度为 41.39% (图 10)。ALA 对 $\Phi PSII$ 的提高幅度远远大于对 F_v/F_m' 的提高幅度, 说明 ALA 对于干旱胁迫下草珊瑚有效光化学效率和实际光化学效率都有显著提高, 且对实际光化学效率的提高幅度更大。

3.5 ALA 对 qP 、NPQ 和 HDR 的影响

qP 主要反映处于激发态的 PSII 反应中心通过电荷分离进行原初光化学反应, 产生去激能力的大小, 也是对 PSII 原初电子受体 QA 氧化态的一种量度, 代表 PSII 反应中心开放部分的比例^[18-20]。由图

图9 F_v/F_m' 的变化Fig. 9 Changes of F_v/F_m' 图10 $\Phi PSII$ 的变化Fig. 10 Changes of $\Phi PSII$

11~13 可以看出, 在受到干旱胁迫后, qP 呈下降趋势, 并且随着胁迫时间的延长, 下降趋势也越来越明显, 并且不同处理时间之间形成显著差异, 说明胁迫对此项指标的影响较为明显。

NPQ 的变化趋势与 qP 正好相反, 在受到干旱胁迫时, 其数值呈现上升趋势, 不同的是 NPQ 并没有随着时间的延长而出现大幅度的变化, 各处理时间之间差异并不显著。但是与 CK1 相比形成显著差异。在经过 ALA 处理后 qP 呈上升趋势, 且随着时间的延长, 上升幅度增加, ALA 为 100 mg/L 处理时间为第 12 天时达到最大值 (0.896), 与对照 CK1 (0.825) 相比, 差异显著。其他处理也具有相似的变化趋势且均与对照 CK2 形成显著差异, 说明 ALA 处理效果较为显著。NPQ 在经过 ALA 处理后呈现出下降趋势, 并且也是随着时间延长, 下降幅度增加, 最低下降到 0.236, 与对照 CK1 (0.235) 相比无明显差异。HDR 随着干旱胁迫时间的延长而升高, 并且不同时间之间差异显著。在经过 ALA 处理后呈现下降趋势, 但是同处理浓度之间差异并不显著。NPQ 通常是用来表示 PSII 反应中心非光化学能量耗散能力的大小的^[21], 与 HDR 都是通常用来反映热耗散情况的重

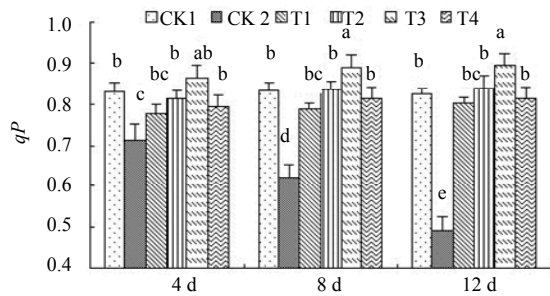
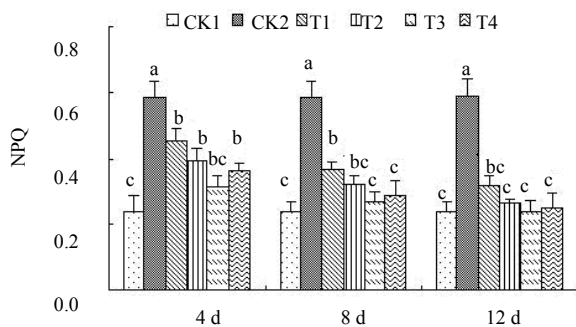
图 11 qP 的变化Fig. 11 Changes of qP 

图 12 NPQ 的变化

Fig. 12 Changes of NPQ

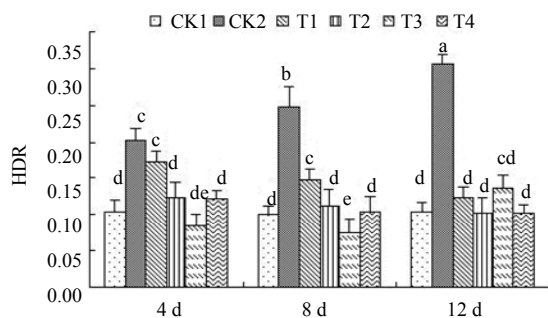


图 13 HDR 的变化

Fig. 13 Changes of HDR

要指标。经过 ALA 处理后, NPQ 和 HDR 降低, qP 升高, 说明 ALA 有效地促进了光化学反应的进行。

3.6 ALA 对电子传递率 ETR 和光化学速率 PCR 的影响

由图 14、15 可以看出, ETR 和 PCR 的变化趋势相似, 当未经任何处理时, 两者基本不发生任何变化, 当进行单一干旱胁迫后, 两者均大幅度下降, 并且 PCR 随着胁迫时间的延长, 下降程度逐渐增大。在第 12 天时两者均达到最低值, 分别是 29.474 和 46.981, 与对照 CK1 (40.058 和 98.031) 相比, 形成显著差异。当经过不同质量浓度 ALA 处理后, ETR 和 PCR 均呈上升趋势, 并且各不同质量浓度

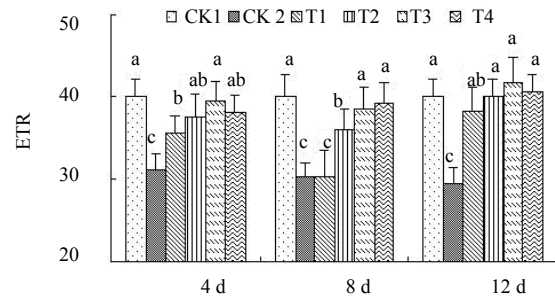


图 14 ETR 的变化

Fig. 14 Changes of ETR

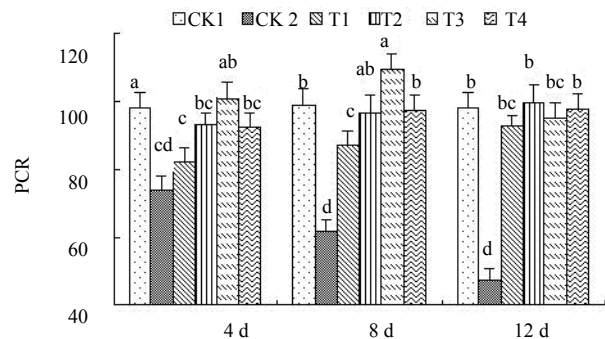


图 15 PCR 的变化

Fig. 15 Changes of PCR

处理与对照 CK2 相比, 差异显著, 说明 ALA 的处理效果较为显著。当 ALA 为 100 mg/L, ETR 第 12 天时达到最大值 (41.675), 而 PCR 是在处理第 8 天时达到最大值 (108.99), 均与 CK2 形成显著性差异, 并且高于对照 CK1, 说明 ALA 的处理效果较为显著。

3.7 ALA 处理对干旱胁迫下草珊瑚叶片吸收光能分配的影响

由图 16~18 可以看出, 各不同处理引起了草珊瑚叶片对所吸收光能的分配的变化。当进行单一的干旱胁迫时, P 呈下降趋势, 且随着胁迫时间的延长, 降低的幅度越来越大, 第 12 天时降低到最小值 (0.268), 说明可用于光化学反应的能量降到最低。当用 ALA 处理后, P 开始升高, 并且在第 8 天时 100 mg/L ALA 处理达到最大值 (0.623), 其他处理也不同程度地提高了光化学反应能量 P 值, 说明 ALA 有利于干旱胁迫下能量的再分配, 使得较不多的能量分配用于光化学反应。 D 和 E 在受到干旱胁迫后均呈现出上升的趋势, 且随着胁迫时间的延长而逐渐增加。说明在胁迫时有较多的能量用于非光化学反应, 这也是植物逆境经环境的一种适应能力和反应, 是一种通过减少 PSII 和电子传递链的过分还原, 防止过剩光能导致光合机构破坏的保护机

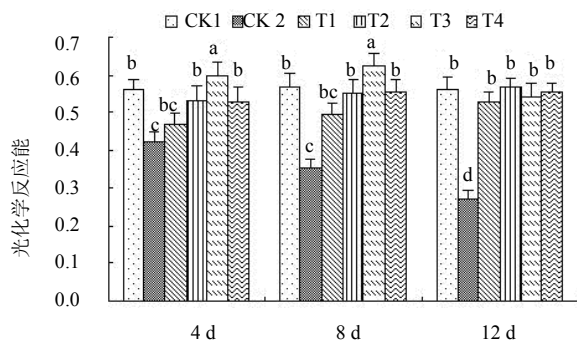
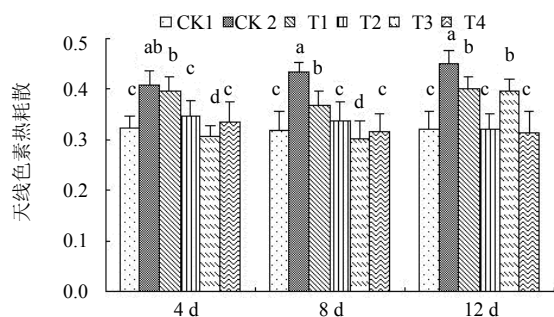
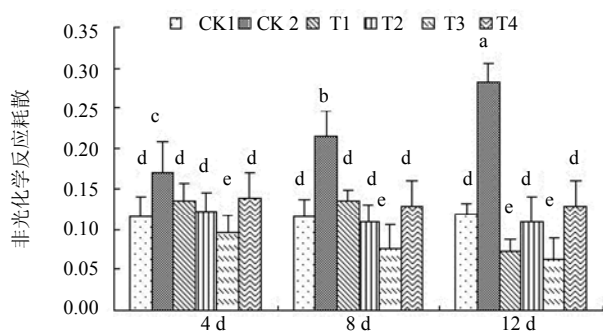
图 16 P 的变化Fig. 16 Changes of P 图 17 D 的变化Fig. 17 Changes of D 

图 18 非光化学反应耗散的影响

Fig. 18 Dissipation of E for NPQ

制。当用外源 ALA 进行处理后, D 和 E 均呈现出下降趋势, 这说明 ALA 有效地缓解胁迫所产生的伤害, 叶片吸收的能量重新进行分配。当 ALA 为 100 mg/L, 处理时间为第 8 d 时, 两者均降至最低值, 甚至低于 CK1, 与 CK2 相比差异显著。以上结果同时说明在正常情况下, P 为能量的主要利用途径, 而在干旱胁迫条件下, D 和 E 所占比例升高。ALA 处理提高了 P 的水平, 降低了 D 和 E 的水平, 对能量的合理再分配起到显著的积极作用。

4 讨论

干旱胁迫对植物的生长、光合作用、呼吸作用、营养代谢、激素调节和渗透势等产生不良影响^[22]。

光合作用是植物体内极为重要的代谢过程, 它的强弱对于植物生长、产量及其抗逆性都具有十分重要的影响, 因而可用光合作用作为判断植物生长和抗逆性强弱的指标。干旱胁迫对植物光合作用的影响是多方面的, 不仅直接引发光合机构的损伤, 同时也影响光合电子传递和光合磷酸化以及暗反应的有关酶系。叶绿素荧光诱导动力学检测技术是以植物体内叶绿素为天然探针, 包含丰富光合信息, 可以快速、灵敏、无损伤探测水分胁迫对植物光合作用的影响^[23]。

本研究中, 经过干旱胁迫后的草珊瑚植株叶片叶绿素以及类胡萝卜素等光合色素的量大幅度减少, 说明干旱胁迫破坏了光合色素的合成。有研究表明, ALA 是所有卟啉化合物生物合成的关键前体, 作为植物叶绿素合成研究的一个部分, 很早就受到重视, 而且其不单纯是一种植物体代谢中间产物, 而且可能参与植物生长发育的调节过程^[24]。ALA 作为一种新型的植物生长调节物质, 经部分研究证实, 其可以提高植物的抗逆性, 提高产量并改善品质。实验中经过 ALA 处理后, 色素水平大幅度增加, 也验证了这一点。通过提高光合色素的量, 增加了光合作用, 提高了对光能的利用率。

PSII 反应中心的破坏可以引起 F_o 的增加, 干旱胁迫引起了 F_o 的升高, 说明了草珊瑚叶片 PSII 天线色素吸收的能量流向光化学的部分减少, 以荧光形式等散失的能量增加, 并且随着时间的延长, 破坏程度越高。 F_m 降低, F_v 也明显下降, 表明 PEG 胁迫处理降低了 PSII 反应中心 QA 的氧化态数量, 使 QA→QB 传递电子的能力下降。 F_v/F_m 是经常采用的叶绿素荧光指标之一, 在胁迫条件下此指标通常会降低^[20], 同时表明 PSII 遭受到破坏^[25]。 F_v/F_o 为 PSII 潜在活性, 胁迫条件下该参数下降。研究发现, F_v/F_o 在多种胁迫下均会下降, 并且它的变化幅度大于 F_v/F_m , 所以更能有效地反映植物受到胁迫的程度大小^[26]。本实验中 PEG 胁迫下 F_v/F_m 和 F_v/F_o 均明显下降, 表明胁迫使草珊瑚幼苗叶片 PSII 受到伤害, 降低了 PSII 原初光能转化效率, 使 PSII 潜在活性受损光合作用原初反应过程受抑制, 光合电子由 PSII 反应中心向 QA、QB 及 PQ 库传递过程受到影响^[27]。在经过 ALA 处理后, F_o 、 F_m 、 F_v/F_m 以及 F_v/F_o 均有显著的变化, 并且随着处理时间的延长, ALA 的恢复效应更为明显, 有效地升高了 F_m 、 F_v/F_m 以及 F_v/F_o 的值, 并且降低了原

始荧光 F_0 的值,说明 ALA 处理较为明显地保护了 PSII,特别是 ALA 为 100 mg/L 时,效果最为明显。植物叶片通过天线色素吸收光能传递给 PSII,PSII 的有效光化学效率 F_v'/F_m' 直接影响到 PSII 的功能。 ΦPSII 反映的是 PSII 反应中心在有部分关闭情况下的实际原初光能捕获效率^[28]。在本实验中,干旱胁迫引起 F_v'/F_m' 和 ΦPSII 大幅度降低,且随着胁迫时间的延长,降低程度加大。在经过不同浓度的 ALA 处理后,显著地提升了两者的水平,提高了光能捕捉效率。

qP 数值的大小可以反映 PSII 原初电子受体 QA 的氧化还原状态和 PSII 开放中心的数目^[29]。NPQ 在一定程度上反映了 PSII 反应中心的开放程度,而 NPQ 是光合机构的一种自我保护机制^[15]。NPQ 过程是植物体为了避免光抑制和膜受到伤害,调整过量能量耗散的一套适应机制。光系统通过提高非辐射性热耗散可以消耗 PSII 吸收的过多光能,从而起到保护 PSII 反应中心免受因吸收过多光能而引起的光氧化和光抑制伤害。本研究表明,干旱胁迫下草珊瑚叶片的 qP 减少,说明干旱胁迫导致草珊瑚叶片 PSII 反应中心的开放程度降低,从天线色素上捕获的光能用于光化学反应的份额减少,PSII 反应中心的光化学活性变弱,使累积在 PSII 反应中心的光能过剩,草珊瑚通过提高 NPQ 及时耗散了过剩的光能,有效保护了光合机构。ETR 和 PCR 在受到胁迫势时也同时表现出相似的变化趋势,均发生大幅度的降低,说明胁迫严重降低了两者的效率。而经过 ALA 处理以后,很大程度的降低了 PCR 的水平,提高了 qP 、ETR 和 NPQ 的水平,说明 ALA 处理有效增加了光化学效率和电子传递率,使得过剩的光能得到充分的利用,从而降低了非光化学猝灭。在经过 ALA 处理后,提高了 ΦPSII 的水平,可能增强了假循环式光合磷酸化过程,也用来消耗多余的能量,保护光合器官免收过多光能造成的伤害,减轻膜脂过氧化作用^[30]。

天线吸收光能的两个重要去向是光化学反应和热耗散,对于每一个特定的处理来说,光化学速率和热耗散速率存在此消彼长的关系。光化学反应速率与激发能用于光化学反应的份额呈正比,在不同的处理中,激发能用于光化学反应的份额不同。一般情况下热耗散的能量主要是天线色素热耗散 D 和非光化学反应耗散 E 这两个方面,而用于光化学反应的能量为光化学能 P ^[16]。本实验结果显示,在经

过干旱胁迫后光化学能 P 大幅度降低,且随着胁迫时间的延长程度逐渐加大, D 和 E 则随着时间延长升高幅度增加,这说明在受到胁迫时,草珊瑚叶片对光能的利用率大幅度降低,而多余的光能通过非光化学反应的途径消耗,减少 PSII 和电子传递链的过分还原,防止过剩光能导致光合机构的光破坏。在经过 ALA 处理后, P 升高, D 和 E 降低,且与干旱胁迫相比差异显著,说明了 ALA 通过提高对光能的利用率,对能量的重新分配,减少过剩光能对光合系统的伤害起到了积极有效的作用。综合以上实验结果,ALA 处理显著提高了草珊瑚叶片叶绿素含量、 F_m 、 F_v/F_m 、 F_v/F_0 、 F_v'/F_m 、 ΦPSII 、 qP 、ETR、PCR 和 P 的水平,降低了 F_0 、NPQ、HDR、 E 和 D 的值,从而缓解了干旱胁迫对草珊瑚造成的伤害。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第 20 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1984.
- [2] 赵中振, 肖培根. 当代药用植物典 (第 2 册) [M]. 上海: 世界图书出版社, 2007.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [4] 涂艺声, 江红如, 王碧琴. 植物离体培养产生草珊瑚有效成分 [J]. 天然产物开发研究, 1995, 7(1): 35-41.
- [5] 段营辉, 戴毅, 高昊, 等. 草珊瑚的化学成分研究 [J]. 中草药, 2010, 41(1): 29-32.
- [6] 夏绘晶, 罗永明, 曾爱华. 草珊瑚根茎中异嗟皮啉的研究 [J]. 江西中医学院学报, 2002, 14(3): 9-10.
- [7] 陈根顺, 徐丽芳, 李鹏. 草珊瑚的 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 293-296.
- [8] 李鹏民, 高辉远, Reto J S. 快速叶绿素荧光诱导动力学分析在光合作用研究中的应用 [J]. 植物生理与分子生物学报, 2005, 31(6): 559-566.
- [9] 林世青, 许春辉, 张其德, 等. 叶绿素荧光动力学在植物抗性生理学、生态学和农业现代化中的作用 [J]. 植物学通报, 1992, 9(1): 1-16.
- [10] 周洁, 张霁, 郭兰萍, 等. 稀土元素镧对黄花蒿光合作用及青蒿素积累的影响 [J]. 中草药, 2010, 41(8): 1371-1374.
- [11] 王艳茹, 郭巧生, 靳森. 光强对药用白菊花生长发育及光合特性的影响 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(13): 1632-1635.
- [12] Jaume F, Josefina B, José M. Effects of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions: an evaluation of stomatal and mesophyll limitations [J]. *Funct Plant Biol*, 2002, 29(4): 461-471.
- [13] Colom M R, Vazzana C. Photosynthesis and PSII functionality of drought-resistant and drought sensitive

- weeping lovegrass plants [J]. *Environ Exp Bot*, 2003, 49(2): 135-144.
- [14] 赖齐贤, 包志毅, 朱祝军, 等. 干旱胁迫对转基因 (PSAG12-ipt) 非洲菊光合作用的影响 [J]. *园艺学报*, 2007, 34(1): 157-162.
- [15] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2003.
- [16] Demmig-Adams B, Adams W W III, Barker D H. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation [J]. *Physiol Plant*, 1996, 98(2): 253-264.
- [17] Zhang S R. A discussion on chlorophyll fluorescence kinetics parameters and their significance [J]. *Chin Bull Bot*, 1999, 16(4): 444-448.
- [18] Krause G H, Weis E. Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology II interpretation of fluorescence signals [J]. *Photosyn Res*, 1984, 5(2): 139-157.
- [19] Genty B E, Briantais J M, Baker N R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1989, 990(1): 87-92.
- [20] van Kooten O, Snel J F H. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology [J]. *Photosyn Res*, 1990, 25(3): 147-150.
- [21] Tang L J, Li B S, Tang C Q, *et al*. Geographical variation in the parameters of chlorophyll fluorescence induction kinetics of *Pinus armandi* and its relations with the growth of tree height [J]. *Acta Phytoecol Sin*, 1997, 21(5): 474-479.
- [22] 袁建国, 金松恒. 干旱胁迫对浙江雪胆光合特性的影响 [J]. *中草药*, 2009, 39(7): 1074-1078.
- [23] 惠红霞, 许兴, 李前荣. 外源甜菜碱对盐胁迫下枸杞光合功能的改善 [J]. *西北植物学报*, 2003, 23(12): 2137-2142.
- [24] Hotta Y, Tanaka T, Takaoka H, *et al*. Promotive effects of 5-aminolevulinic acid on the yield of several crops [J]. *Plant Growth Regul*, 1997, 22(2): 109-114.
- [25] Xu C C, Zhang J H. Effect of drought on chlorophyll fluorescence and xanthophyll cycle components in winter wheat leaves with different ages [J]. *Acta Phytophysiol Sin*, 1999, 25: 29-37.
- [26] 宋丽丽, 郭延平, 徐凯, 等. 温州蜜柑叶片光合作用光抑制的保护机理 [J]. *应用生态学报*, 2003, 14(1): 47-50.
- [27] Belkhdja R, Morales F, Abadia A, *et al*. Chlorophyll fluorescence as a possible tool for salinity tolerance screening in barley (*Hordeum vulgare* L.) [J]. *Plant Physiol*, 1994, 104(2): 667-673.
- [28] Carrasco R M, Rodriguez J S, Perez P. Changes in chlorophyll fluorescence during the course of photoperiod and in response to drought in *Casuarina equisetifolia* Forst and Forst [J]. *Photosynthetica*, 2002, 40(3): 363-368.
- [29] Havaux M, Strasser R J, Greppin H. A theoretical and experimental analysis of the qP and qN coefficients of chlorophyll fluorescence quenching and their relation to photochemical and non photochemical event [J]. *Photosyn Res*, 1991, 27(1): 41-55.
- [30] 汪月霞, 孙国荣, 王建波, 等. NaCl 胁迫下星星草幼苗 MDA 含量与膜透性及叶绿素荧光参数之间的关系 [J]. *生态学报*, 2006, 26(1): 122-129.