

外源一氧化碳供体高铁血红蛋白对盐胁迫下黄连幼苗光合参数及叶绿素荧光特性的影响

张春平^{1*}, 周立鑫¹, 周 慧¹, 何 平², 胡世俊³, 李 岩¹, 么焕开¹, 段静雨¹

1. 徐州医学院药学院, 江苏省新药研究与临床药学重点实验室, 江苏 徐州 221004

2. 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 400715

3. 西南林业大学林学院, 国家林业局西南地区生物多样性保育重点实验室, 云南 昆明 650224

摘 要: 目的 通过外源物质对黄连幼苗进行处理, 研究黄连幼苗光合特性及叶绿素荧光特性的变化, 寻找提高黄连幼苗在盐胁迫条件下抗性的途径。方法 测定 100 mmol/L 的 NaCl 模拟盐胁迫条件下, 经过不同浓度的外源一氧化碳(CO)供体高铁血红蛋白(hematin, H)处理后, 黄连幼苗光合色素量、叶绿素荧光参数及气体交换参数等光合生理指标的变化。结果 NaCl 胁迫下的黄连幼苗的光合生理受到显著抑制, 但是经过不同浓度的 H 处理后, 显著提高了叶绿素 a (Chl a)、叶绿素 b (Chl b)、Chl (a+b) 和类胡萝卜素等光合色素的量。盐胁迫下, 黄连植株的净光合速率 (P_n)、气孔导度 (G_s) 及叶片蒸腾速率 (T_r) 均下降, 并且随着胁迫时间和胁迫浓度的增加, 下降幅度逐渐增大, 胞间 CO_2 浓度 (C_i) 则呈上升趋势。在盐胁迫下, 黄连 P_n 降低的主要影响因素是非气孔因素。在应用 H 进行处理后, 黄连的 P_n 、 G_s 及 T_r 均有不同程度地提高, C_i 也有不同程度的降低, 并且不同的浓度梯度存在着显著的效果差异。H 处理还提高了最大荧光 (F_m), 最大光化学效率 (F_v/F_m), 光系统 II (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 ($\Phi PSII$), 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) 的水平。结论 外源 CO 供体 H 通过提高黄连幼苗叶片的光合色素量, 减少过剩激发能的耗散, 提高光合电子传递效率, 有效地缓解盐胁迫对黄连叶片 PSII 的伤害, 提高植株的抗盐能力。

关键词: 黄连; 一氧化碳; 高铁血红蛋白; 盐胁迫; 叶绿素荧光特性; 光合参数

中图分类号: R282.21 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)02-0262-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.02.021

Effect of exogenous carbon monoxide donor Hematin on photosynthesis parameters and chlorophyll fluorescence characteristics of *Coptis chinensis* seedlings under NaCl stress

ZHANG Chun-ping¹, ZHOU Li-Xin¹, ZHOU Hui¹, HE Ping², HU Shi-jun³, LI Yan¹, YAO Huan-kai¹, DUAN Jing-yu¹

1. Jiangsu Key Laboratory of New Drug Research and Clinical Pharmacy, School of Pharmacy, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221004, China

2. Key Laboratory of Eco-environments of Three Gorges Reservoir Region, Ministry of Education, School of Life Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

3. Key Laboratory of Biodiversity Conservation in Southwestern China, State Forestry Administration, School of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China

Abstract: Objective Using exogenous carbon monoxide (CO) donor Hematin (H) to study the changes of photosynthesis parameters and chlorophyll fluorescence characteristics in *Coptis chinensis* seedlings under NaCl stress and get the way for promoting the resistance ability of *C. chinensis* seedlings under NaCl stress. **Methods** Under 100 mmol/L NaCl stress, the several physiological

收稿日期: 2014-09-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31300222, 81302744); 江苏省自然科学基金资助项目 (BK20130214); 江苏省高校自然科学基金项目 (13KJB180025); 徐州医学院优秀人才科研启动基金

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

Tel: 13775983159 E-mail: chupingzhang520@163.com

indexes of *C. chinensis* seedlings treated by H at the different concentration, such as the contents of photosynthetic pigment and the parameters of chlorophyll fluorescence and photosynthesis, were measured. **Results** Under NaCl stress the photosynthetic physiology of *C. chinensis* seedlings was inhibited, but the contents of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, and carotenoids could be obviously increased after the treatment of H at different concentration. The levels of the net photosynthetic rate (P_n), stomatal conductance (G_s), and transpiration rate (T_r) in *C. chinensis* seedlings were all decreased, which would gradually increase with the time and concentration increase of NaCl stress, while the concentration of CO_2 (C_i) increased with the opposite tendency. These results indicated that the main influencing factor of decreasing P_n of *C. chinensis* was non-stomatal factors. After being treated with different exogenous substances, the P_n , G_s , and T_r were all increased in different degrees, but the level of C_i was decreased. And the maximum fluorescence (F_m), photochemical efficiency of photosystem II (F_v/F_m), potential photochemical efficiency (F_v/F_o), photochemical efficiency (F_v'/F_m'), PSII actual photochemical efficiency ($\Phi PSII$), photochemical quenching coefficient (qP), electronic transfer rate (ETR), and photochemistry rate (PCR) were obviously increased, while the levels of minimal fluorescence (F_o), non-photochemical quenching coefficient (NPQ), and heat dissipation rate (HDR) were effectively decreased. **Conclusion** Exogenous CO H with the appropriate concentration of 2.0 mmol/L could reduce the excess excitation dissipation, improve photochemical electron transport efficiency, and efficiently protect *C. chinensis* leaves from PSII damage by significantly alleviating the damages of salt stress to *C. chinensis* so that H could obviously promote the salt resistance to *C. chinensis* under salt stress.

Key words: *Coptis chinensis* Franch.; carbon monoxide; hematin; salt stress; chlorophyll fluorescence; photosynthesis parameters

黄连 *Coptis chinensis* Franch. 又名味连、川黄连、鸡爪连, 为毛茛科黄连属多年生草本植物, 三级渐危种^[1]。野生黄连大多分布于四川、重庆、湖南、湖北、陕西、贵州省海拔 1 200~1 700 m 的山谷密林之中。黄连性寒、味苦, 根茎入药, 具有清热燥湿、泻火解毒等作用^[2-3], 临床上还用于细菌性痢疾、局部化脓性感染、心律失常、胃炎及十二指肠溃疡等病的治疗^[4]。

由于黄连根茎有效成分小檗碱的独特药效, 使得药材市场对其需求量逐年增加。而土壤盐渍化是农业栽培生产中主要障碍之一, 目前我国的盐渍土地面积不断扩大, 对农业生产造成了巨大的经济损失。目前对黄连的研究主要集中在化学成分、药理作用、临床应用及资源保护等方面^[5-9]。对黄连栽培过程中的环境胁迫主要集中在热胁迫、冷胁迫、干旱胁迫等方面, 但是对盐胁迫的研究报道较少^[10-13]。

一氧化碳 (carbon monoxide, CO) 是继一氧化氮 (NO) 之后发现的一种新的细胞信使分子^[14], 是一种广泛分布于生物体内的活性气体信号分子, 在体内执行多种生理功能。随着对内源性 NO 作为体内最重要的气体信使分子的研究深入, 人体内与 NO 理化性质相似的 CO 的生理调节功能才引起了不少研究者的广泛注意^[15]。低浓度的 CO 不仅能有效抑制盐胁迫下小麦生长受阻、水分流失和叶绿素衰变, 而且还能加强植物抗氧化系统的抗氧化能力^[16-18]。进一步研究发现 CO 还参与

不少的植物生理代谢过程, CO 可诱导盐胁迫下小麦种子的萌发, 通过提高过氧化氢酶 (CAT)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 及超氧化物歧化酶 (SOD) 等抗氧化酶的活性, 减少膜质过氧化作用, 缓解萌发过程所受的氧化胁迫^[19], 但有关 CO 对盐胁迫下黄连幼苗光合特性及叶绿素荧光特性的研究未见报道。

叶绿素荧光诱导动力学以光合作用理论为基础, 是探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^[20]。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^[21-23]。目前关于盐胁迫对植物体叶绿素荧光参数的影响有部分报道^[24-26], 但是关于盐胁迫对黄连叶绿素荧光方面的研究未见报道。本实验利用 NaCl 模拟盐胁迫, 采用外源物质进行恢复处理, 从而研究不同浓度的外源物质处理对黄连幼苗叶片光合色素量、叶绿素荧光参数、光合特性等一系列光合生理指标的影响, 为进一步探索外源 CO 提高黄连幼苗的抗盐机制提供理论依据, 为黄连在实际栽培中遇到的盐胁迫问题提供新的解决思路。

1 材料

供试的黄连幼苗由重庆市石柱黄连培育基地提供, 经西南大学生命科学学院何平教授鉴定为 *Coptis chinensis* Franch. 的两年生幼苗。CO 的供体高铁血红蛋白 (hematin, H) 为 Sigma 公司生产, H 预先配制成 5 $\mu\text{mol/L}$ 的母液, 4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存, 用时

按照需要进行稀释。

2 方法

2.1 黄连幼苗不同处理的实验设计

选取长势一致的两年生幼苗移入培养钵中, 每盆植入一株, 盆中基质按松针土-腐殖土-沙土=2:2:1 的比例混合形成。经过 10 d 的缓苗期后, 进行盐胁迫试验, 共设置 6 个处理: (1) Hoagland 营养液空白对照 (CK1); (2) Hoagland 营养液+100 mmol/L NaCl 盐胁迫对照 (CK2); (3) Hoagland 营养液+100 mmol/L NaCl+0.5 $\mu\text{mol/L}$ H (T1); (4) Hoagland 营养液+100 mmol/L NaCl+1.0 $\mu\text{mol/L}$ H (T2); (5) Hoagland 营养液+100 mmol/L NaCl+2.0 $\mu\text{mol/L}$ H (T3); (6) Hoagland 营养液+100 mmol/L NaCl+5.0 $\mu\text{mol/L}$ H (T4)。每个处理 10 株幼苗, 3 次重复, 每天定期向花盆内补充 Hoagland 营养液。分别于盐胁迫后的第 5、10 和 15 天进行取样, 取样时选取植株中等大小的功能叶片。测量的相关指标包括幼苗叶片叶绿素 a (Chl a)、叶绿素 b (Chl b), 总叶绿素 [Chl (a+b)] 和类胡萝卜素 (Car) 量、相关叶绿素荧光参数、黄连植株的净光合速率 (P_n)、气孔导度 (G_s)、叶片蒸腾速率 (T_r) 及胞间 CO_2 浓度 (C_i)。

2.2 黄连叶片光合色素量的测定

光合色素包括 Chl a、Chl b、Chl (a+b) 和 Car 的量均采用张志良等^[27]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段下的吸光度, 每处理 3 个重复。

2.3 黄连叶片光合作用气体交换参数的测定

测量方法为本实验室常规方法, 每次测定时间为 9:00~11:00, 测定叶片为生长完好、无病虫害、叶面积相近的第 3~4 完全展开叶。气体交换参数用 Li-6400XT (Li-Cor, 美国) 6400-01 CO_2 注入系统及 6400-02 LED 红蓝光源测定, 在 500 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 的光量子通量密度下测定叶片 P_n 、 G_s 、 C_i 和 T_r 等叶片气体交换参数, 测量时的室温设置为 25 $^{\circ}\text{C}$, CO_2 浓度设为 380 $\mu\text{mol}/\text{mol}$ 。每一重复为同叶位叶片, 每次测定 4 株, 共 3 次重复。

2.4 黄连叶片叶绿素荧光参数的测定

实验中叶绿素荧光参数采用 PAM-2100 便携式荧光仪 (德国 Walz 公司)^[28] 进行测定。叶片暗适应 30 min 后, 先用一束小于 0.05 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 的测量光 (频率为 600 Hz) 照射叶片, 测初始荧光 (F_0), 随后施加饱和脉冲光 [5 000 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 脉冲时间 0.8 s], 测

得最大荧光 (F_m) 和可变荧光 ($F_v=F_m-F_0$), 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 [500 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$], 待 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_0')。其他荧光参数如下: F_v 、 F_v/F_m 、PSII 潜在活性 (F_v/F_0)、PSII 有效光化学效率 (F_v'/F_m')、光化学猝灭系数 (qP) = $(F_m'-F_s)/(F_m'-F_0')$ 、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)、光下光合功能相对限制值 (PED) = $1-(qP \times F_v'/F_m')/0.83$ 均由仪器自动给出; 通过计算得出潜在光化学效率 (F_v/F_0), 光化学速率 (PCR) = $F_v'/F_m' \times qP \times \text{PED}$, 热耗散速率 (HDR) = $(1-F_v'/F_m') \times \text{PED}$, 每处理 3 盆, 每盆重复测定 6 次。

2.5 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 不同浓度的 H 处理对黄连植株外部形态的影响

黄连植株在处理前生长良好, 当用单一的 100 mmol/L NaCl 进行胁迫后, 截至到第 4 天并无明显的变化, 到第 6 天时, 植株幼嫩叶片边缘开始出现萎缩, 叶柄无明显变化, 到第 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。截至到第 15 天时, 幼嫩叶片全部枯黄, 成年叶片边缘枯黄面积加大, 约占 1/2。经过不同浓度 H 处理后, 植株出现枯黄的现象减少, 部分植株生长良好, 叶片未出现枯黄现象, 并且在 4 个不同的处理浓度中, 2.0 $\mu\text{mol/L}$ 处理后的植株叶片与对照组 (CK1) 相比无明显变化。以上外部形态的变化表明盐胁迫明显地使黄连植株的生长受到抑制, 而 H 对于缓解盐胁迫具有一定的积极作用。

3.2 H 对盐胁迫下黄连幼苗叶片光合色素量的影响

由表 1 可以很明显地看出经过 100 mmol/L NaCl 处理后, 黄连幼苗叶片色素 (Chl a、b) 量都表现出相似的变化趋势, 均有不同程度的降低, 并且随着胁迫时间的延长, 减少幅度增加, 当处理进行到第 15 天时, 各色素量降至最低。其中 Chl a 量降低程度最大, 与未经处理的 CK1 差异显著。在经过不同浓度的 H 处理后, 黄连叶片光合色素量较单

表 1 盐胁迫下不同处理对黄连幼苗叶片光合色素量的影响

Table 1 Changes of photosynthetic pigment in leaves of *C. chinensis* seedlings with different treatments of H under salt stress

处理时间/d	处理	Chl a/(mg·g ⁻¹)	Chl b/(mg·g ⁻¹)	Chl (a+b)/(mg·g ⁻¹)	Car/(mg·g ⁻¹)
5	CK1	0.824±0.008 c	0.318±0.008 ab	1.141±0.038 bc	0.344±0.009 ab
	CK2	0.795±0.009 d	0.310±0.005 bc	1.105±0.039 cd	0.336±0.006 bc
	T1	0.823±0.011 c	0.318±0.006 ab	1.141±0.048 bc	0.340±0.007 b
	T2	0.835±0.006 b	0.320±0.007 ab	1.155±0.031 b	0.344±0.008 ab
	T3	0.852±0.012 a	0.318±0.008 ab	1.170±0.022 ab	0.351±0.009 a
	T4	0.831±0.011 b	0.319±0.006 ab	1.150±0.041 b	0.338±0.008 bc
10	CK1	0.825±0.014 c	0.316±0.005 b	1.141±0.034 bc	0.345±0.011 ab
	CK2	0.781±0.009 de	0.307±0.003 bc	1.088±0.024 d	0.333±0.008 c
	T1	0.826±0.009 c	0.321±0.007 a	1.147±0.059 b	0.330±0.008 cd
	T2	0.840±0.015 b	0.323±0.004 a	1.163±0.025 ab	0.337±0.012 b
	T3	0.860±0.008 a	0.322±0.006 a	1.182±0.039 a	0.345±0.009 ab
	T4	0.832±0.012 bc	0.320±0.003 ab	1.152±0.032 b	0.328±0.011 cd
15	CK1	0.826±0.019 c	0.312±0.007 b	1.139±0.041 bc	0.345±0.011 ab
	CK2	0.763±0.012 e	0.297±0.005 c	1.060±0.023 d	0.322±0.009 d
	T1	0.830±0.013 bc	0.322±0.004 a	1.152±0.042 b	0.324±0.008 d
	T2	0.842±0.011 b	0.325±0.006 a	1.167±0.021 ab	0.330±0.008 cd
	T3	0.861±0.012 a	0.326±0.006 a	1.187±0.031 a	0.337±0.004 c
	T4	0.836±0.013 bc	0.323±0.004 a	1.159±0.048 b	0.326±0.006 d

不同小写字母表示各处理间在 0.05 水平有显著差异, 下同

Different lowercase letters mean significant differences among treatments at 0.05 level, same as below

一盐对照 CK2 来讲均有不同的提升, 并且随着 H 处理时间的延长, 光合色素增加的趋势越来越明显。H 处理提高了 Chl a 的量, 在第 5 天浓度为 2.0 μmol/L 时, 效果最好, 量达到 0.852 mg/g, 随着时间的延长, 在此处理浓度下, 量略有增加, 但与第 5 天时处理相比, 差异并不显著, 这说明了 H 处理对盐胁迫下的黄连幼苗有一定程度的持续作用。H 对盐胁迫下黄连幼苗叶片 Chl b 量的影响显示, 在处理初期效果不显著, 随着处理时间的延长(15 d), 效果才逐渐表现出来, 并且与对照 CK2 形成了显著性差异。另外, 各浓度梯度之间的差异性不显著。以上结果表明, 盐胁迫对黄连叶片 Chl b 量有一定的抑制效应, 在胁迫初期表现的并不突出, 但是随着时间延长, 胁迫作用显著, H 对盐胁迫引起的光合色素量降低有一定的缓解作用。

总的来讲, 随着胁迫时间的延长, 黄连幼苗叶片 Chl (a+b) 及 Car 量均呈下降趋势。在胁迫初期, Chl (a+b) 量在 NaCl 胁迫下变化并不显著, 但是随着胁迫时间的延长, 其量呈现出显著降低的趋势, Car 表现出相似的变化趋势, 这说明盐胁迫均显著

抑制了叶绿素及 Car 的合成, 并有可能加速了两者的降解。当用不同浓度的 H 进行处理后, Chl (a+b) 量均有不同程度的增加, 在处理初期, 不同浓度梯度之间的变化并不显著, 随着时间的延长, 效果逐渐明显, 均在 2.0 μmol/L 的浓度下与盐对照 CK2 相比形成显著差异。Car 的变化趋势与 Chl (a+b) 的变化趋势基本相似, 量均有一定程度地升高。在处理初期升幅最大, 随着胁迫时间的延长, 量升高幅度呈下降趋势, 在第 15 天时其量较第 10 天相比都有所降低, 但是差异并不显著。这说明 H 对 Car 的影响较为迟缓, 及 Car 在遭受到盐胁迫时降低程度并不像叶绿素那样明显, 同样的在用外源物质进行处理时, 增加幅度也是有限的, 这从另一个方面反映了 Car 的稳定性。以上结果均说明外源 H 对促进光合色素量的提升具有显著的作用, 有效地缓解了盐胁迫对光合色素合成的抑制效应。

3.3 H 对盐胁迫下黄连幼苗叶片 Chl a/Chl b 和 Car/Chl (a+b) 量的影响

图 1 所示为盐胁迫下 Chl a/Chl b 及 Car/Chl (a+b) 的变化情况, 随着盐胁迫时间的延长, Chl a/Chl b 呈

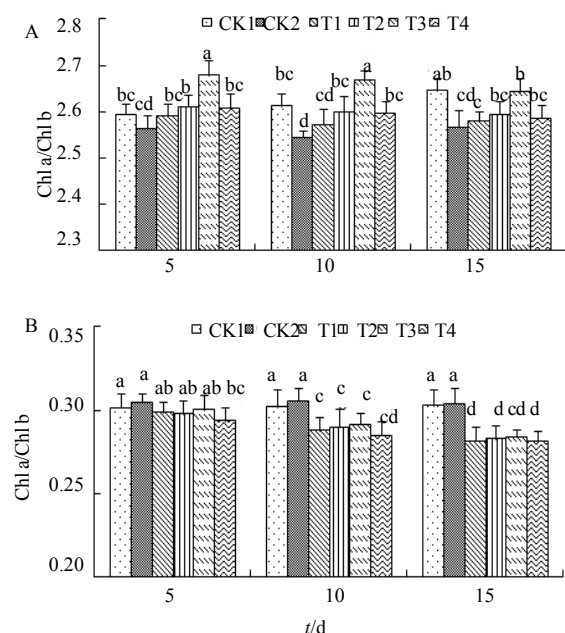


图1 Chl a/Chl b (A) 和 Car/Chl (a+b) (B) 的变化
Fig. 1 Changes of Chl a/Chl b (A) and Car/Chl (a+b) (B)

现出规律的降低现象。Car/Chl (a+b) 的变化则自始至终都呈现出升高的趋势, 在处理至第 10 天时, 升高幅度最明显, 在处理至第 15 天时, 幅度有所降低。这说明在盐胁迫下, Chl a 的稳定性不及 Chl b 高, 并且 Chl (a+b) 的稳定性不及 Car 高。在用 H 进行处理后, Chl a/Chl b 值情况发生了不同程度地改变, 不同浓度的处理均升高了 Chl a/Chl b, 即对 Chl a 的量的促进作用大于对 Chl b 的作用, 并且在第 10 天时, 效果最佳, 随着时间的延长, 效果略有降低, 但是仍然与对照相比差异显著。对 Car/Chl (a+b) 的比值则随着处理时间的延长呈现出降低趋势, 此结果表明外源物质处理显著增加了 Chl (a+b) 量, 且增加幅度高于 Car。以上结果均表明, 盐胁迫对 Chl a 的伤害较 Chl b 更大, 对 Chl (a+b) 的伤害较 Car 的伤害更大。外源物质有效地提高了叶绿素的量, 特别是 Chl a 的量。

3.4 H 对盐胁迫下黄连幼苗叶片 F_o 、 F_m 、 F_v/F_m 和 F_v/F_o 的影响

从图 2-A 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。而盐胁迫处理 CK2 在第 5 天时就出现大幅度的升高, 并且随着时间的延长逐渐升高, 并且在第 15 天时达到最大值 (0.326)。经过 H 处理后, F_o 明显下降, 各不同处理都与 CK2 形成显著差异。在各不同 H 处理浓度中, 2.0 $\mu\text{mol/L}$ 的处理效果最为显著, 使 F_o 下降至 0.189,

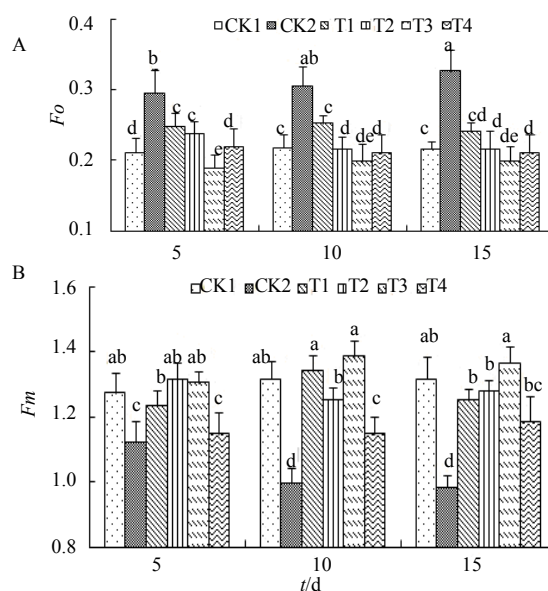


图2 F_o (A) 和 F_m (B) 的变化
Fig. 2 Changes of F_o (A) and F_m (B)

甚至低于对照 CK1 (0.211), 并且随着时间的延长, 一直保持在一个较低的水平。 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 2-B 显示经过盐胁迫后 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 5 天和第 10 天之间形成显著差异, 在第 15 天下降至最低 (0.982), 与对照 CK1 (1.315) 相比差异显著。在经过 H 处理后, F_m 开始上升, 并且不同浓度的处理均显著提高了 F_m 值。相同浓度下, 不同处理时间差异并不显著, 当浓度为 2.0 $\mu\text{mol/L}$ 处理时间为 10 d 时, F_m 达到最大值 (1.385)。以上结果均说明, 在盐胁迫初期, H 具有显著提升 F_m 的作用。

图 3 所示为黄连植株在 100 mmol/L 的 NaCl 下, 随着胁迫时间的延长, 叶片 F_v/F_m 和 F_v/F_o 的变化趋势。正常条件下, 黄连的 F_v/F_m 维持在 0.834 左右, 并且不会随着时间的延长有大幅度的变化, 但是在经过 NaCl 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。并与对照 CK1 形成显著差异, 且在第 15 天时达到最低值 (0.668)。当用 H 进行处理后, F_v/F_m 值升高, 并且不同浓度的升高幅度不同, 低浓度 (0.5 $\mu\text{mol/L}$) 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, 1.0 $\mu\text{mol/L}$ (T2) 和 5.0 $\mu\text{mol/L}$ (T4) 的 H 在处理前期就表现出良好的效果。2.0 $\mu\text{mol/L}$ 的处理效果最为明显, 且在处理初期就与其

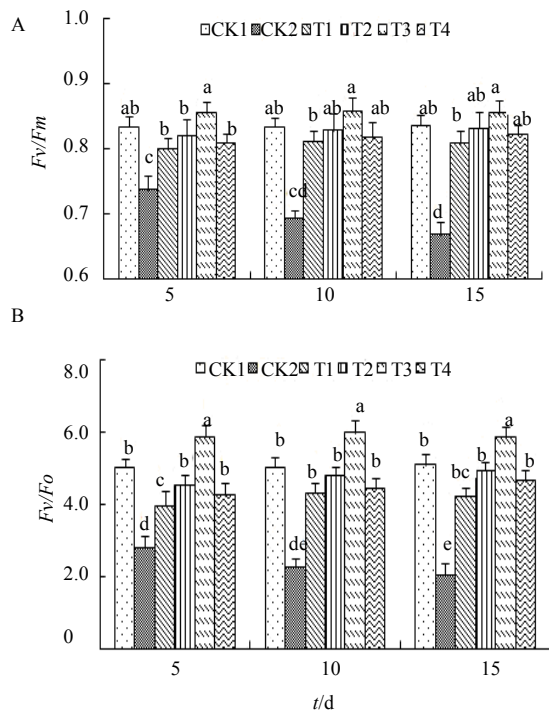


图 3 F_v/F_m (A) 和 F_v/F_o (B) 的变化
Fig. 3 Changes of F_v/F_m (A) and F_v/F_o (B)

他处理相比形成显著差异, 在处理到第 10 天时, 达到最大值 (0.857)。 F_v/F_o 变化趋势与 F_v/F_m 相似。当用不同浓度的 H 处理后, 其值呈现升高趋势, 当 H 浓度达到 2.0 $\mu\text{mol/L}$ (T3) 时, 上升至最大值 (5.993)。以上结果均说明, 盐胁迫下黄连 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 2.0 $\mu\text{mol/L}$ 的 H 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。

3.5 H 处理对 F_v/F_m' 和 ΦPSII 的影响

图 4 所示为盐胁迫下黄连 F_v/F_m' 和 ΦPSII 的变化趋势, 两者表现出了相似的变化趋势, F_v/F_m' 和 ΦPSII 随着盐胁迫浓度以及胁迫时间的延长呈现出持续下降的趋势。 F_v/F_m' 表示的是开放的 PSII 反应中心原初光能转化效率^[29], 称为 PSII 有效光化学效率或天线色素转化率。盐胁迫下 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。当受到盐胁迫后, 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 15 天时, 降到最低值 (0.533), 与对照 CK1 相比, 差异显著。当用 H 处理 (T3) 后, 其值呈升高趋势, 并且随着处理时间的延长逐渐升高, 在第 15 天时达到最高 (0.696), 与 CK2 相比, 提高幅度为 30.58%, 并且其他浓度的处理也不同程度的提高了 F_v/F_m' 值。 ΦPSII 表示的是 PSII

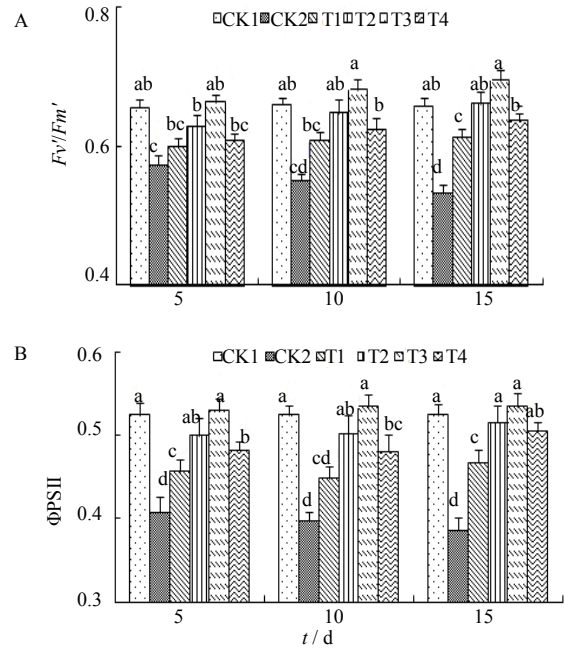


图 4 F_v/F_m' (A) 和 ΦPSII (B) 的变化
Fig. 4 Changes of F_v/F_m' (A) and ΦPSII (B)

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。在受到盐胁迫时, ΦPSII 在胁迫初期就显著降低, 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 H 处理 (T3) 后, ΦPSII 升高, 当处理至第 15 天时, 达到最大值 (0.534), 甚至超过未经任何处理的 CK1 (0.524), 与 CK2 相比, 提高幅度为 38.34%, H 对 ΦPSII 的提高幅度远远大于对 F_v/F_m' 的提高幅度, 这说明 H 对盐胁迫下黄连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最大。

3.6 H 对 qP 、NPQ 以及 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, 代表 PSII 反应中心开放部分的比例^[30-32]。由图 5 可以看出, 在受到盐胁迫后, qP 呈下降趋势, 并且随着胁迫时间的延长, 下降趋势也越来越大, 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, 在受到盐胁迫时, 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 H 处理后 qP 呈上升趋势, 且随着时间的延长, 上升幅度增加, 在浓度为 2.0 $\mu\text{mol/L}$, 处理时间为第 10 天时达到最大值 (0.859), 与对照 CK1 (0.809)

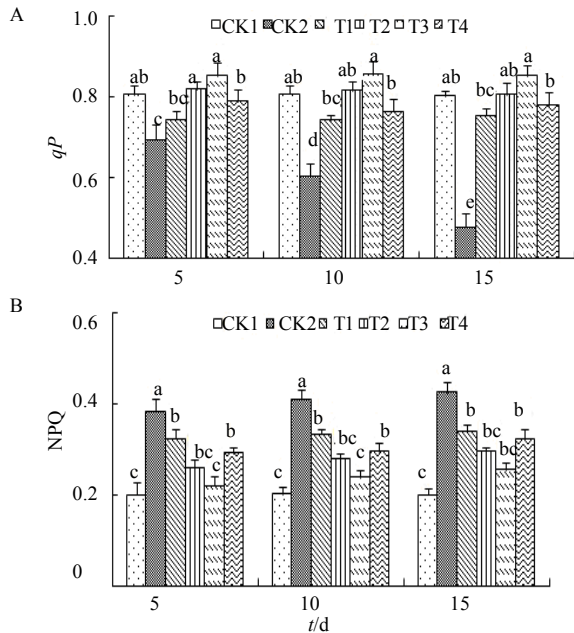


图 5 qP (A) 和 NPQ (B) 的变化
Fig. 5 Changes of qP (A) and NPQ (B)

相比, 差异显著。其他浓度处理也具有相似的变化趋势且均与对照 CK2 形成显著差异, 这说明了, H 处理显著地恢复了因盐胁迫而导致的黄连 qP 下降的情况, 并且将其水平恢复到正常值以上。NPQ 在经过 H 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, 最后下降到 0.255, 与对照 CK1 (0.201) 相比无明显差异。图 6 显示 HDR 随着盐胁迫时间的延长而增加, 并且不同时间之间差异显著。在经过 H 处理后呈现下降趋势, 但是不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^[33], 它与 HDR 都是通常用来反映热耗散情况的重要指标。经过 H 处理后, NPQ 和 HDR 降低, qP 升高, 以上说明 H 有效地促进了光化学反应的进行。

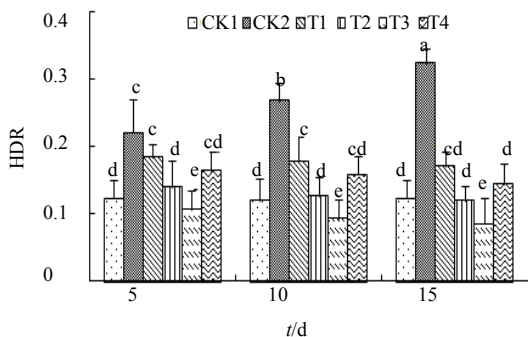


图 6 HDR 的变化
Fig. 6 Changes of heat dissipation rate

3.7 H 对 ETR 和 PCR 的影响

由图 7 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, 当进行单一盐胁迫后, 两者均大幅度下降, 并且随着胁迫时间的延长, 下降程度逐渐增大。在第 15 天时两者均达到最低值, 分别为 23.821 和 60.413, 与对照 CK1 (32.954 和 82.106) 相比, 形成显著差异。当经过不同浓度的 H 处理后, ETR 和 PCR 均呈上升趋势, 并且各不同浓度处理与对照 CK2 相比, 差异显著, 说明 H 的处理效果较为显著。当 H 处理浓度为 2.0 $\mu\text{mol/L}$ (T3), ETR 处理为第 15 天时, 达到最大值 (32.400), 而 PCR 也是在处理第 15 天时达到最大值 (97.959), 均与 CK2 形成显著性差异, 并且高于对照 CK1, 这说明 H 的处理效果较为显著。

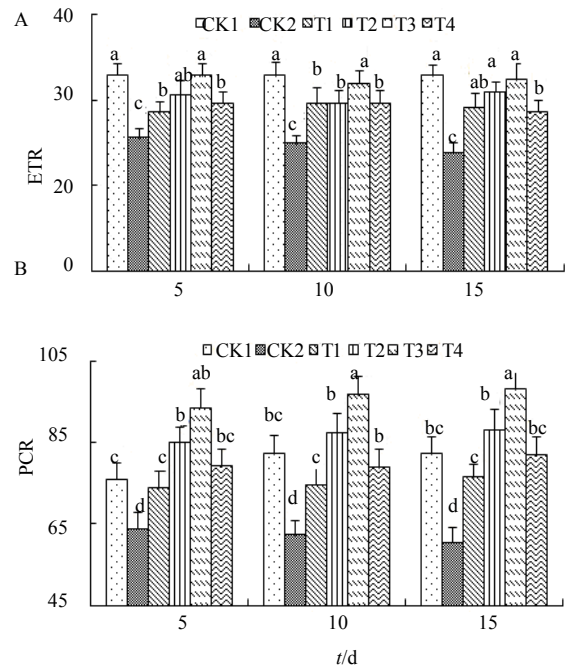


图 7 ETR (A) 和 PCR (B) 的变化
Fig. 7 Changes of ETR (A) and PCR (B)

3.8 H 对盐胁迫下黄连叶片 P_n 和 G_s 的影响

图 8-A 所示为盐胁迫下 P_n 的变化, 随着 NaCl 处理时间的延长, 黄连 P_n 呈现出持续降低的趋势, 并且在处理达到 15 d 时降低至最小值 [3.475 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$], 与空白对照 CK1 [6.671 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$] 形成显著差异。在经过 H 处理后, 显著提高了黄连叶片 P_n 的水平, 在处理时间为 5 d 时, 低浓度的 H 处理 (T1、T2) 即可显著提高 P_n 的水平, 当浓度达到 2.0 $\mu\text{mol/L}$ (T3) 时, 达到最大值 [6.361 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$], 与空白对照 CK1 [6.364 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$] 相

比, 差异不显著, 这说明 H 处理已经使得盐胁迫下的黄连幼苗 P_n 恢复到正常水平, 且与盐对照 CK2 相比差异显著。图 8-B 所示为盐胁迫下 G_s 的变化, 随着 NaCl 胁迫时间的延长, 黄连叶片 G_s 呈现出降低的趋势, 在第 15 天时 CK2 达到最小值 [$0.131 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$] 并与对照 CK1 [$0.371 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$] 形成显著差异。在经过 H 处理后, G_s 水平均有不同程度地提高, 在处理时间为 5 d 时, 各不同 H 浓度均对 G_s 有一定程度的提高, 但升幅较小, 随着处理时间的延长, 处理效果越来越明显, 在处理时间为 15 d 时, 其水平达到最高, 为 $0.349 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 处理浓度也是以 $2.0 \mu\text{mol/L}$ 为最佳, 与 P_n 的变化规律相似。

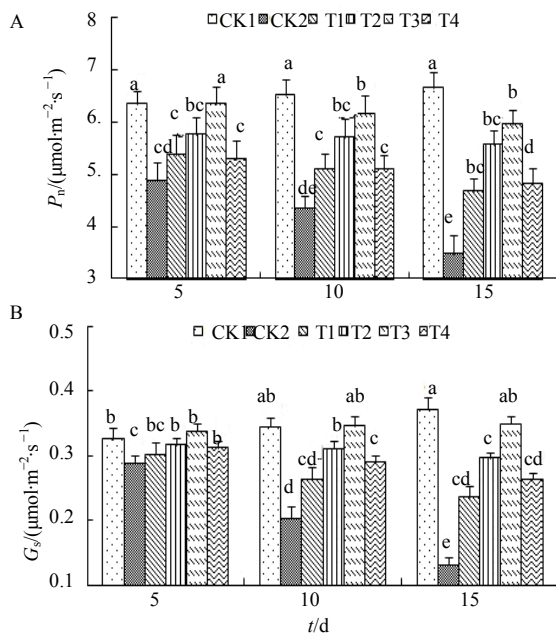


图 8 P_n (A) 和 G_s (B) 的变化
Fig. 8 Changes of P_n (A) and G_s (B)

3.9 H 对盐胁迫下黄连 C_i 和 T_r 的影响

图 9 所示为盐胁迫下 C_i 的变化, 在胁迫初期, 随着 NaCl 胁迫处理时间延长, C_i 水平呈现出持续显著地升高趋势, 并且与对照组 CK1 相比差异显著, 表明盐胁迫显著地提高了黄连叶片 C_i 的水平。当用 H 进行处理后, C_i 的升高趋势均有不同程度的缓解, 在处理初期 (5 d) 时, T3 处理 ($2.0 \mu\text{mol/L}$) 就使得 C_i 降到 $172.66 \mu\text{mol/mol}$, H 处理在整个处理过程均表现出了显著的持续性, 在 10 d 和 15 d 时, T3 处理后的结果 (179.84 和 $173.21 \mu\text{mol/mol}$) 均与各自的盐对照 CK2 (223.55 和 $240.58 \mu\text{mol/mol}$) 形成显著性差异。以上结果表明外源 H 有效地降低了盐胁迫下 C_i 水平, 减少了 CO_2 积累引起的光合作用效率的降低。

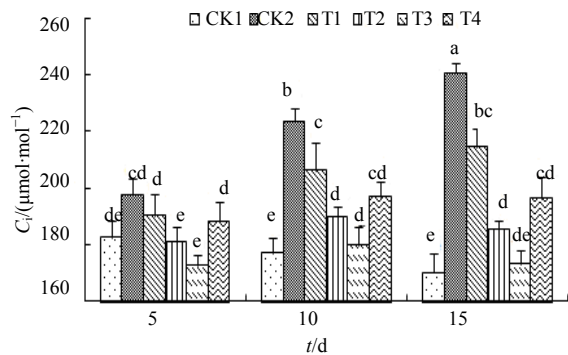


图 9 C_i 的变化
Fig. 9 Changes of C_i

图 10 可以看出, 盐胁迫下黄连叶片 T_r 在处理初期 (5 d) 与对照相比并没有显著变化, 但是当处理时间延长至 10 d 时, 蒸腾速率呈降低变化趋势, 与对照 CK1 差异显著。并且随着 NaCl 处理时间的延长, 降低幅度变大, 特别是处理后期, 到最低值。当用 H 处理后, 均不同程度提高了 T_r 水平, 在处理初期效果并不显著, 各浓度梯度处理与盐对照 CK2 相比差异并不显著。但随着处理时间的延长, 盐对照 CK2 的降低程度显著增加, 外源物质处理的效果也越来越明显, 虽然最大值出现并不是在处理中后期, 但是处理的中后期对叶片蒸腾速率 T_r 的提升幅度却远远高于处理前期。总的来看, 在 H 处理的后期, T_r 达到 $0.545 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 为盐对照 CK2 的 1.37 倍, 这说明外源 H 能有效地缓解盐胁迫下黄连叶片蒸腾速率降低的趋势。

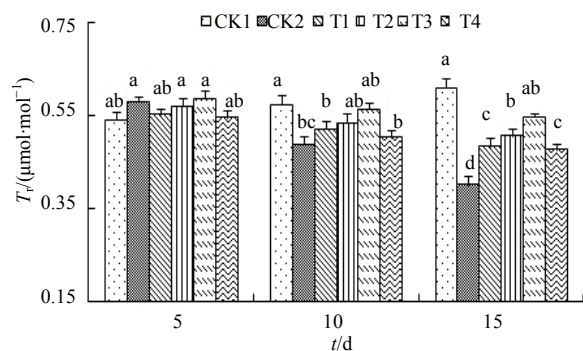


图 10 T_r 的变化
Fig. 10 Changes of T_r

4 讨论

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, 包含着丰富的光合信息, 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^[34]。许多研究已证明 PSII 是光抑制的重要部位, 许多胁迫因子, 如干旱、盐碱、热害和冷害等

都可以使 PSII 光能利用效率下降,从而使植物更易受到光抑制的伤害^[35]。目前虽然有关盐胁迫对 PSII 光能利用效率影响的报道较多,但尚缺乏统一的认识,如 Ara 等^[36]认为盐胁迫促进 PSII 的功能, Everard 等^[37]则认为盐胁迫抑制 PSII 的功能。PSII 反应中心的破坏可以引起 F_o 的增加, F_o 表示的是 PSII 反应中心处于完全开放时的荧光产量,盐胁迫引起了 F_o 的升高,说明了黄连叶片 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 为最大荧光,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。实验中,黄连在受到盐胁迫后, F_m 明显降低, F_v 也明显下降,表明盐胁迫处理降低了 PSII 反应中心 Q_A 的氧化态数量,使 $Q_A \rightarrow Q_B$ 传递电子的能力下降,从而形成较多 Q_B 非还原性 PSII 反应中心,导致 PSII 反应中心放氧活性降低^[38],尤其是高盐浓度使 F_o 值有所升高,表明 PSII 反应中心发生不可逆转的失活或破坏^[39]。

本研究中,经过盐胁迫后的黄连植株叶片叶绿素的量大幅度减少,这说明盐胁迫破坏了光合色素的合成,而外源 H 则减缓了光合色素降低的趋势,促进了光合色素的合成。 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。 F_v'/F_m' 表示的是开放的 PSII 反应中心原初光能转化效率^[40],称为 PSII 有效光化学效率或天线色素转化率。 F_v/F_m 是经常采用的叶绿素荧光指标之一,通常在胁迫条件下此指标会降低^[32],同时表明光系统 II 遭受到破坏^[41]。本研究中黄连幼苗受到盐胁迫后, F_v/F_m 和 F_v'/F_m' 均呈现出显著的下降,这说明光系统 II 遭受到破坏。 $\Phi PSII$ 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^[42]。在本实验中盐胁迫引起 $\Phi PSII$ 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 H 处理后,显著地提高了光能捕捉效率。

qP 值的大小可以反映 PSII 原初电子受体 Q_A 的氧化还原状态和 PSII 开放中心的数目^[43]。光化学猝灭系数 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。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。本实验结果表明,盐胁迫下黄连叶片的 qP 下降,说明盐胁迫导致黄连叶片 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,黄连通过提高 NPQ 及时耗散了过剩的光能,有效保护了光合机构。

本研究中通过不同浓度的 NaCl 模拟盐胁迫后,黄连的光合特性也发生了变化。 P_n 、 G_s 和 T_r 均有大幅度的降低,而 C_i 则发生显著的升高。引起植物叶片 P_n 降低的因素主要分为 2 大类;类是气孔因素阻止了 CO_2 的供应,主要受气孔数量、气孔孔径、气孔开度等的影响^[44];另一类为非气孔因素,主要受内部的酶活力和光合组分控制^[45]。因此,检查气孔限制是否是 P_n 下降的主要原因,既要看法孔导度 G_s 的大小,同时还要看 C_i 的变化。若 G_s 和 G_i 下降,则气孔因素是主要的; G_s 下降而 C_i 升高则非气孔因素是主要的。本研究显示,NaCl 胁迫导致黄连幼苗叶片 G_s 逐渐下降, C_i 逐渐升高,说明盐胁迫下尽管诱导了部分气孔的关闭,使 G_s 下降,但是非气孔限制才是光合作用的主要限制因素。外源 H 处理减轻了 NaCl 胁迫下黄连幼苗叶片 P_n 、 G_s 和 T_r 的下降幅度, C_i 的升高幅度也显著降低,表明 H 处理可以缓解盐胁迫对黄连幼苗叶片光合作用的非气孔限制,维持光系统的较高活性。这与前面 NaCl 胁迫下黄连幼苗叶片叶绿素荧光参数影响的测定结果是一致的,即 NaCl 胁迫导致黄连幼苗 PSII 反应中心受损,光化学活性降低,而不同的外源物质可以缓解 NaCl 胁迫对 PSII 的损伤,维持 PSII 光化学活性及光合电子传递的正常进行。

综合以上实验结果, H 处理显著提高了盐胁迫下黄连叶片光合色素量和 P_n 、 G_s 和 T_r 、 C_i 水平。在对叶绿素荧光方面的作用具体表现在显著提高了黄连叶片 F_m 、 F_v/F_m 、 F_v/F_o 、 $\Phi PSII$ 、 F_v'/F_m' 、 qP 、ETR 和 PCR 的水平,降低了 F_o 和 NPQ 的值,从而保护了 PSII 反应中心不受伤害,减少 PSII 和电子传递链的过分还原,进而缓解了盐胁迫对黄连造成的伤害。

参考文献

- [1] 傅立国. 中国植物红皮书—稀有濒危植物 [M]. 北京: 科学出版社, 1991.

- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [3] 赵中振, 肖培根. 当代药用植物典 [M]. 上海: 上海世界图书出版社, 2007.
- [4] 马伏英, 黄连等中药抗实验性小鼠柯萨奇 B3 病毒性心肌炎的实验研究 [J]. 武警医学, 1998, 9(4): 187-190.
- [5] 郭志刚, 赵琳, 孙瑞强, 等. 利川黄连小檗碱量 [J]. 中国医学科学院学报, 2004, 26(6): 618-621.
- [6] Chae S H, Jeong I H, Choi D H, *et al.* Growth-inhibiting effects of *Coptis japonica* root-derived isoquinoline alkaloids on human intestinal bacteria [J]. *J Agric Food Chem*, 1999, 47(3): 934-938.
- [7] Kuo C L, Chi C W, Chan T Y, *et al.* The anti-inflammatory potential of berberine *in vitro* [J]. *Cancer Lett*, 2004, 109(3): 407-414.
- [8] 薛宝娟, 李志慧, 张玉杰, 等. 吴茱萸次碱对 5 种黄连生物碱大鼠体外肝代谢的抑制作用 [J]. 中草药, 2014, 45(9): 1293-1296.
- [9] 张春平, 何平, 胡世俊, 等. 外源 5-氨基乙酰丙酸对盐胁迫下黄连种子萌发及幼苗生理特性的影响 [J]. 中草药, 2014, 45(24): 3618-3626.
- [10] 李品明, 孙玉芳, 杨丙贤, 等. 低温胁迫对黄连膜脂过氧化作用和抗氧化酶活性的影响 [J]. 中国农学通报, 2011, 27(15): 117-120.
- [11] 孙玉芳, 王三根, 尹丽, 等. 高温胁迫对黄连生理特性的影响研究 [J]. 植物生理科学, 2006, 22(4): 236-238.
- [12] 李品明, 杨丙贤, 孙玉芳, 等. 高温胁迫对黄连幼苗活性氧代谢及保护酶活性的影响 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39(18): 10796-10798.
- [13] 田桂香, 汤绍虎, 武敬亮, 等. 干旱胁迫对黄连生理作用的影响 [J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2006, 31(2): 133-136.
- [14] Dulak J, Jozkowicz A. Carbon monoxide: a "new" gaseous modulator of gene expression [J]. *Acta Biochim Pol*, 2003, 50(15): 31-48.
- [15] Longom M, Jain V, Vedernikov Y P, *et al.* Effect of nitric oxide and carbon monoxide on uterine contractility during human and rat pregnancy [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1999, 181(4): 981-988.
- [16] Huang B K, Xu S, Xuan W, *et al.* Carbon monoxide alleviates salt-induced oxidative damage in wheat seedling leaves [J]. *J Integr Plant Biol*, 2006, 48(3): 249-254.
- [17] Liu K L, Xu S, Xuan W, *et al.* Carbon monoxide counteracts the inhibition of seed germination and alleviated oxidative damage caused by salt stress in *Oryza sativa* [J]. *Plant Sci*, 2007, 172(3): 544-555.
- [18] Xu J, Xuan W, Huang B K, *et al.* Carbon monoxide-induced adventitious rooting of hypocotyl cuttings from mung bean seedling [J]. *Chin Sci Bull*, 2006, 51(6): 668-674.
- [19] Xu S, Sa Z S, Cao Z Y, *et al.* Carbon monoxide alleviates wheat seed germination inhibition and counteracts lipid peroxidation mediated by salinity [J]. *J Integr Plant Biol*, 2006, 48(10): 1168-1176.
- [20] 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学报, 2005, 31(6): 559-566.
- [21] 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.
- [22] 周洁, 张霁, 郭兰萍, 等. 稀土元素钬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.
- [23] 张春平, 何平, 袁凤刚, 等. 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 [J]. 中草药, 2012, 43(1): 164-172.
- [24] 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.
- [25] Colom M R, Vazzana C. Photosynthesis and PSII functionality of drought-resistant and drought-sensitive weeping lovegrass plants [J]. *Environ Experim Bot*, 2003, 49(2): 135-144.
- [26] 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.
- [27] 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.
- [28] 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.
- [29] Zhang S R. A discussion on chlorophyll fluorescence kinetics parameters and their significance [J]. *Chin Bull Bot*, 1999, 16(4): 444-448.
- [30] 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.
- [31] 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.
- [32] 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.

- [33] 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 Sini*, 1997, 21(5): 474-479.
- [34] 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.
- [35] Powle S B. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light [J]. *Rev Plant Physiol*, 1984, 35(6): 15-44.
- [36] Ara E M, Virgin I, Andersson B. Photoinhibition and D1 protein degradation in peas acclimated to different growth irradiance [J]. *Plant Physiol*, 1993, 103(3): 835-843.
- [37] Everard J D, Gucc R, Kann S C, *et al.* Gas exchange and carbon partitioning in the leaves of celery (*Aptium Graveolens* L.) at various level of root zone salinity [J]. *Plant Physiol*, 1994, 106(1): 281-292.
- [38] Willekens H, Vancamp W, Lnze D, *et al.* Ozone, sulfurdioxide, and ozone ultraviolet-B have similar effect on mRNA accumulation of antioxidant genes in *Nicotiana plumbaginifolia* L. [J]. *Plant Physiol*, 1994, 106(3): 1007-1014.
- [39] Demmig B, Bjorkman O. Comparison of effect of excessive light on chlorophyll fluorescence (77k) and photon yield of O₂ evolution in leaves of plant [J]. *Planta*, 1987, 171(2): 171-184.
- [40] Zhang S R. A discussion on chlorophyll fluorescence kinetics parameters and their significance [J]. *Chin Bull Bot*, 1999, 16(4): 444-448.
- [41] 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 Sini*, 1999, 25(1): 29-35.
- [42] 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.
- [43] Havaux M, Strasser R J, Greppin H. Atheoretical 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): 41-45.
- [44] Quick W P, Chaves M M, Wendler R, *et al.* The effect of water stress on photosynthetic carbon metabolism in four species grown under field conditions [J]. *Plant Cell Environ*, 1992, 15(1): 25-35.
- [45] Lal A M, Ku S B, Edwards G E. Analysis of inhibition of photosynthesis due to water stress in the C₃ species *Hordeum vulgare* and *Vicia faba*: electron transport, CO₂ fixation and carboxylation capacity [J]. *Photosyn Res*, 1996, 49(1): 57-69.