

五味子休眠前叶片的叶绿素荧光参数变化研究

许培磊, 焦竹青, 王振兴, 张庆田, 李晓红, 刘迎雪, 赵滢, 杨义明

(中国农业科学院特产研究所, 吉林 长春 130122)

摘要: 运用叶绿素荧光参数来指示植物早期休眠的状态, 为调控植物休眠提供便捷有效的参考指标。以五味子一年生幼苗为试材, 运用叶绿素荧光成像系统对五味子叶片休眠前的叶绿素荧光参数进行测定。结果显示, PS II 的最大量子效率 F_v/F_m , 光化学猝灭系数 qP , 非光化学猝灭系数 NPQ 的成像中叶脉变得突出; 五味子进入休眠前, 初始荧光 F_0 , qP 及非调节性能量耗散 $Y(NO)$ 显著升高, 而最大荧光 F_m , F_v/F_m , NPQ 及调节性能量耗散 $Y(NPQ)$ 显著降低。说明随 PS II 反应中心原初光能转化效率降低, 反应中心受到损伤失活, 电子传递严重受阻, 无法将过剩的光能以热的形式耗散, 光损伤情况加重, 光保护能力下降。综上, F_v/F_m , $Y(NPQ)$ 及 $Y(NO)$ 或许可以作为指示五味子在休眠前期机体光合结构受到损伤的标准。

关键词: 五味子; 叶绿素荧光; 休眠; 光合结构

中图分类号: S567.01 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2012)增刊-0209-04

Study the Changes of Chlorophyll Fluorescence Parameters of *Schisandra chinensis* in Predormancy

XU Pei-lei, JIAO Zhu-qing, WANG Zhen-xing, ZHANG Qing-tian, LI Xiao-hong,
LIU Ying-xue, ZHAO Ying, YANG Yi-ming

(Laboratory of Special Wild Plant Physiology, Institute of Special Wild Economic Animal
and Plant Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130122, China)

Abstract: Use of chlorophyll fluorescence parameters to indicate the status of predormancy for dormant plants, and provide convenient and effective indicators for the regulation of plant dormancy. A study was carried out on 1-year-old of *Schisandra chinensis* (Turcz) Baill to investigate the chlorophyll fluorescence characteristics of leaves in the predormancy through IMAGING-PAM. The results showed that veins in the pictures of F_v/F_m , qP and NPQ were became prominent; Compare with non-dormant, the F_0 , qP , $Y(NO)$ were significantly higher and the F_m , F_v/F_m , NPQ and $Y(NPQ)$ were much lower than *Schisandra chinensis* in the state of dormant. It indicated that dormant decreased the efficiency of primary conversion of light energy of PS II, made the reaction center damage and inactivation, disrupted electron transport severely and the excess light energy couldn't dissipated through heat, so the photo damage were higher and the photo-protection were much lower. In summary, F_v/F_m , $Y(NPQ)$ and $Y(NO)$ may be used to indicate the photosynthetic structural damage of *Schisandra chinensis* in the predormant process.

Key words: *Schisandra chinensis* (Turcz) Baill; Chlorophyll fluorescence; Predormancy; Photosynthetic structures

五味子(*Schisandra chinensis* (Turcz) Baill) 为我国东北的大宗道地药用植物, 其果实除药用外还可用于酿酒和生产果汁, 开发前景极广。从 20 世纪 50 年代起, 国内外对其资源状况、化学成分及药理作用就进行了大量研究。野生资源已远远不能满足市场的需求, 人工栽培北五味子成本的不断加大, 导

致了使用五味子果实作为原料提取药效成分成本的提高, 人们在迫切寻求除果实外的高含量药效成分部位, 提高资源整体利用率^[1]。五味子叶片中富含蛋白质、维生素及黄酮等营养成分, 可用来直接使用或制作保健茶。在栽培过程中, 研究者认为休眠是落叶果树生长发育不可逾越的阶段, 对休眠进程调

收稿日期: 2012-03-05

基金项目: 吉林省自然科学基金项目(20101566)

作者简介: 许培磊(1984-), 女, 吉林扶余人, 研究实习员, 硕士, 主要从事野生果树病害防治与逆境生理研究。

通讯作者: 李晓红(1960-), 女, 吉林省吉林市人, 副研究员, 主要从事野生果树资源开发及利用研究。

控是目前果树设施栽培中亟待解决的问题^[2]。早期休眠是指外界环境条件的适宜范围逐渐缩小,植物生命活动相应减弱的状态。在这个过程中,植株体内进行着复杂的生理生化变化,研究者已经对叶片中的碳水化合物^[3]、激素含量^[4]、酶活性、光合作用^[5]等方面的变化进行了报道。为提高五味子叶片的药用利用效率,预防早期休眠引发的叶片有效成分流失等问题,研究休眠前叶片的生理生化变化显得尤为重要。

目前,研究者已经对杏树^[3]、葡萄^[2]、桃^[6]、苹果^[7]等果树在休眠前后的生理生化变化进行了研究,然而对于果树休眠前期叶绿素荧光参数的研究尚未见报道。本试验以五味子实生苗为试材,研究了叶绿素荧光在休眠前期的变化,试图运用叶绿素荧光成像系统观察五味子休眠前叶片的荧光参数变化,以此来指示植物早期休眠的状态,为调控植物休眠提供便捷有效的参考指标,为延长五味子叶片的药用利用时间提供思路。

1 材料和方法

1.1 试验材料

选自中国农业科学院特产研究所一年生五味子幼苗。

1.2 研究方法

2011年4月播种五味子于直径8 cm的营养钵中,按照常规管理,在9月2日(为对照CK)和10月28日(为休眠Predormancy)分别选取长势一致的五味子幼苗进行叶绿素荧光参数测定,采用调制式IMAGING-PAM叶绿素荧光仪(德国Walz公司)测定叶绿素荧光参数,叶片经暗适应20 min,在软件的Kinetics窗口检测各叶绿素荧光参数的动力学变化曲线,相应的数据可直接从Report窗口导出。相关的叶绿素荧光参数分别包括:初始荧光 F_o ,最大荧光 F_m ,PS II的最大量子效率 F_v/F_m ,光化学猝灭系数 qP ,非光化学猝灭系数NPQ,电子传递速率ETR,调节性能量耗散 $Y(NPQ)$ 和非调节性能量耗散 $Y(NO)$ 。

1.3 统计方法

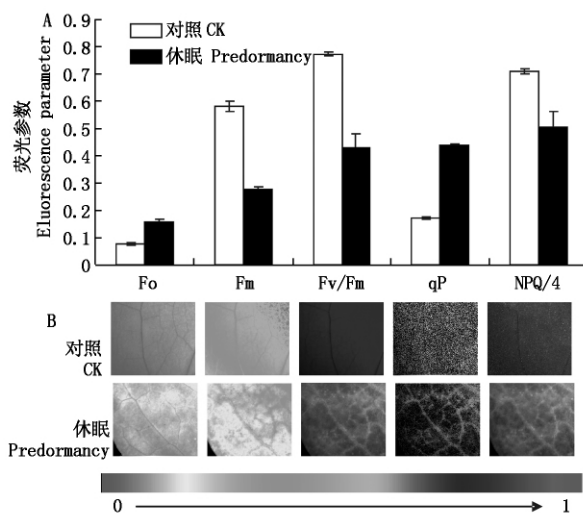
所有测定项目重复至少3次,数据均采用Microsoft excel作图,并用SAS 8.0软件进行单因素方差分析,对不同处理下的各参数进行显著性检验。

2 结果与分析

2.1 休眠前叶片的叶绿素荧光参数变化

叶绿素荧光是光合作用的探针,可反映光合机

构内一系列重要调节过程。通过对叶绿素荧光参数的分析,可以揭示植物光能吸收、传递和光合结构的生理状态^[8]。从图1-A可以看出,五味子在休眠前,叶片叶绿素荧光发生明显变化,其中 F_o 和 qP 升高,而 F_m , F_v/F_m ,NPQ降低。在图1-B中,可以清晰地看出休眠前叶绿素荧光成像发生的变化,CK显示的正常叶片的荧光成像,而在休眠前期各个参数图片的颜色都发生了变化,其中 F_v/F_m , qP ,NPQ的图像中叶脉变得更加突出。



A. 荧光参数数据; B. 荧光成像分析。

图例显示,自左至右随颜色的变化,荧光数值越增大。

A. Fluorescence parameter data; B. Fluorescence imaging analysis. The legend shows with the color changes from left to right the fluorescence data are greater.

图1 五味子休眠前叶片叶绿素荧光参数变化

Fig. 1 Changes of chlorophyll fluorescence parameters of *Schisandra chinensis* in predormancy

初始荧光 F_o 的大小主要与PS II天线色素内的最初激子密度、天线色素到PS II反应中心的激发能传递速率的结构状态及叶绿素含量有关^[9]。试验结果表明,五味子休眠前期叶片逐渐变白,此时, F_o 的升高由叶绿素含量升高而导致的可能性不大,推测是由于PS II反应中心受到损伤失活而使 F_o 呈现升高的趋势。

最大荧光 F_m 是PS II反应中心完全关闭时,QA处于最大还原状态的荧光产量,反映了PS II的电子传递情况^[10],它的降低是光抑制的一个特征^[11]。本试验中,与对照相比,五味子叶片休眠前 F_m 显著降低,说明此时PS II的电子传递严重受阻并受到光抑制。

F_v/F_m 为PS II最大光化学量子产量,反映PS II反应中心原初光能转化效率^[12]可用于评估QA还原状态时的最大光量子产量。一般用于指示植物受到胁迫的程度。五味子休眠前, F_v/F_m 降低44.44% ($P < 0.01$),说明PS II反应中心原初光能转化效率

大幅度下降 植株受损伤严重。

叶绿素荧光猝灭是叶绿体耗散能量的一种途径,有光化学猝灭 qP 和非光化学猝灭 NPQ 两种形式。 qP 反映 PS II 所捕获的光量子转化成化学能的效率, NPQ 反映 PS II 天线色素吸收的光能以热的形式耗散的那部分光能^[13]。本试验中随着休眠期的到来,叶片会升高 qP ,降低 NPQ 来适应叶片逐渐衰老的状况。天线色素热耗散功能受到抑制,不能将过剩的光能以热的形式耗散,与对照相比, NPQ 值显著降低。

2.2 休眠期间叶片的电子传递速率变化

ETR 反映的是实际光强条件下的表观电子传递速率,在五味子休眠前期,其 ETR 显著降低,说明叶片的光合作用受阻(图2)。光抑制可以导致叶片氧化胁迫并使 PS II 反应中心失去活性,这都会引起 F_o 的升高。

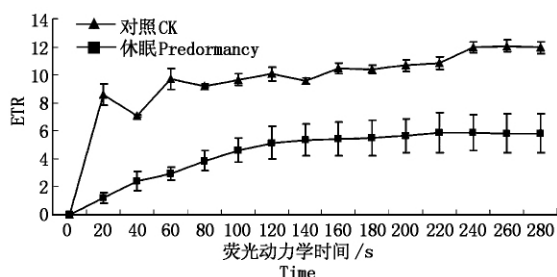


图2 五味子休眠前叶片电子传递速率变化

Fig. 2 Changes of ETR of *Schisandra chinensis* in predormancy

2.3 休眠期间叶片的调节性能量耗散

$Y(NPQ)$ 和非调节性能量耗散 $Y(NO)$ 变化 $Y(NPQ)$ 为 PS II 处调节性能量耗散的量子产量, $Y(NPQ)$ 表明植物在接受光强过剩的情况下,仍可以通过调节(如将过剩光能消耗为热)来保护自身。是光保护的重要指标。本研究结果表明,五味子进入休眠前期,其叶片的光保护能力随着荧光动力学时间的延长,先增高后保持水平,但在整个过程中, $Y(NPQ)$ 都保持在一个较低的水平上。说明叶片在休眠前期的光保护能力下降(图3)。

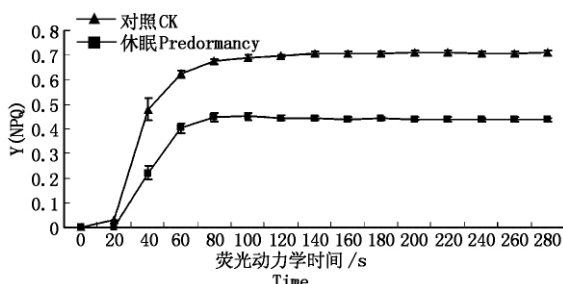


图3 五味子休眠前叶片调节性能量耗散 $Y(NPQ)$ 变化

Fig. 3 Changes of $Y(NPQ)$ of *Schisandra chinensis* in predormancy

$Y(NO)$ 为 PS II 处非调节性能量耗散的量子产量。表明入射光强超过植物能接受的程度下,光化学能量转换和保护性的调节机制不足以将植物吸收的光能完全消耗掉。 $Y(NO)$ 是光损伤的重要指标,本研究结果表明五味子休眠前期,叶片的 $Y(NO)$ 值呈现先增高,后降低的趋势,与对照相比,休眠前期的叶片光损伤情况增强,很容易受到光抑制的影响(图4)。

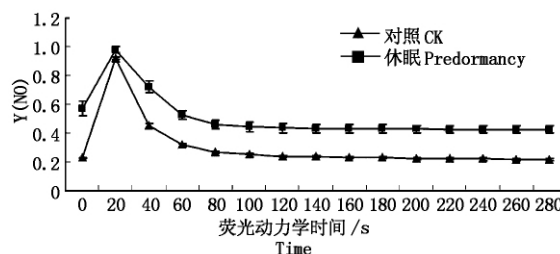


图4 五味子休眠前叶片非调节性能量耗散 $Y(NO)$ 变化

Fig. 4 Changes of $Y(NO)$ of *Schisandra chinensis* in predormancy

3 讨论

落叶休眠是温带树木在进化过程中对冬季低温环境形成的一种适应性。五味子休眠前期,机体进行了复杂的生理活动,叶片的净光合速率和光合日变化已初步探讨,但是有关于叶绿素荧光参数的研究还未见报道。运用叶绿素荧光成像仪可以获取丰富的有关于荧光方面的数据,本研究运用此方法获得荧光参数变化数据来指示植物早期休眠的状态。研究表明叶绿素荧光参数的变化能在一定程度上说明植物对逆境的耐受能力^[14]。图1-B显示,五味子叶片在休眠前期,其叶绿素荧光成像发生明显变化,叶片进入休眠前期时,其荧光成像图中叶脉清晰, F_v/F_m , qP , NPQ 图像颜色改变最为明显,本试验证实,参比对照,利用叶绿素荧光成像系统能直观地反映五味子落叶前期其叶片内部受到胁迫的伤害。

当植物在光下遭受生物胁迫或非生物胁迫的时候, F_v/F_m 往往呈现降低的趋势,并与胁迫程度成一定的相关性^[15-16]。在本研究中, F_v/F_m 在休眠期间大幅度下降($P < 0.01$),说明 PS II 反应中心原初光能转化效率降低。然而植物遭受逆境胁迫的生理过程十分复杂,因此在评价一个植物的耐胁迫能力时,要综合各个指标进行分析判定。

PS II 位于类囊体膜上,研究者认为,胁迫使叶绿体类囊体膜结构发生改变导致 F_o 缓慢增加^[17-18]。 F_m 的下降是天线降解造成,并与供体侧放氧复合体在逆境下失活有关^[19]。因此,也有研究者认为, F_o 的升高与 F_m 的降低可以作为植物经逆

境胁迫所导致的结果^[20]。毛竹幼苗在干旱胁迫中 F_o 升高, F_m 降低^[21], 与本研究结果一致。 qP 与 NPQ 的变化幅度在盐胁迫中用来鉴别植物耐受盐害的能力^[22], 也在黄瓜镉胁迫第 4 d 时表现出 qP 显著降低 NPQ 显著增加的结果, 表明这时 PS II 原初光化学反应受伤害并不大, 叶片可通过有效的热耗散机制来保护 PS II。本研究结果与上述研究结果相反, 在休眠前期, qP 显著升高而 NPQ 显著降低, 也说明了五味子叶片已经不能够通过热耗散的形式保护机体, 如麻疯树在高浓度 PEG 处理下其 NPQ 值显著下降, 表明叶片的光合机构已经受到损伤, 其 PS 天线热耗散的保护能力被显著削弱^[23]。接下来我们又测定了机体的光保护指标 $Y(NPQ)$ 和光损伤指标 $Y(NO)$, 与上述结果一致, 证实了其他荧光参数的变化, 因此 F_v/F_m , $Y(NPQ)$ 及 $Y(NO)$ 或许可以用来指示植物在休眠期间遭受胁迫, 作为机体光合结构已经受到损伤的标准。

参考文献:

- [1] 魏盼盼. 北五味子木脂素高含量部位筛选与提取工艺研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2011: 9-10.
- [2] 高东升, 李宪利, 束怀瑞, 等. 几种化学药剂对破除葡萄与桃自然休眠的效果[J]. 果树学报, 2002, 19(6): 385-388.
- [4] 钱芝惠. 胡杨生长的激素调节与矿质元素分析[D]. 北京: 中央民族大学, 2006: 24-25.
- [3] 于艳琴, 呼凤兰. 设施栽培杏树休眠前叶片中碳水化合物含量的变化[J]. 北方果树, 2011, 1: 11-12.
- [5] 杨恕玲, 单守明, 巩传银, 等. 水杨酸对休眠期茶树光合作和抗冻性的影响[J]. 中国农学通报, 2009, 25(15): 121-124.
- [6] 高东升, 李宪利, 束怀瑞. 化学脱叶对桃自然休眠的调控效应[J]. 果树学报, 2002, 19(4): 269-271.
- [7] 王连荣, 李振侠, 常美花. 落叶果树休眠生理研究进展[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(7): 2657-2659.
- [8] 林世青, 许春辉, 张其得, 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应用[J]. 植物学通报, 1992, 9(1): 1-10.
- [9] 卢从明, 张其德, 匡廷云. 水分胁迫对小麦光系统 II 的影响[J]. 1994, 36(2): 93-98.
- [10] Ji X B, Hollocher T C. Reduction of nitrite to nitric oxide by enteric bacteria[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1988, 157: 106-108.
- [11] 付连双, 谢甫绶. 土壤水分对越冬期间冬小麦叶绿素荧光参数的影响[J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(4): 36-41.
- [12] 张守仁. 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论植物学通报[J]. 1999, 16(4): 444-448.
- [13] 周朝彬, 宋于洋, 王炳举, 等. 干旱胁迫对胡杨光合和叶绿素荧光参数的影响[J]. 西北林学院学报, 2009, 24(4): 5-9.
- [14] 莫亿伟, 郭振飞, 谢江辉. 温度胁迫对柱花草叶绿素荧光参数和光合速率的影响[J]. 草业学报, 2011, 20(1): 96-101.
- [15] 余小龙, 余树全, 伊力塔, 等. UV-B 辐射胁迫对细叶青冈幼苗叶绿素荧光特性的影响[J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(10): 114-119.
- [16] 陈建明, 俞晓平, 程家安. 叶绿素荧光动力学及其在植物抗逆生理研究中的应用[J]. 浙江农业学报, 2006, 18(1): 51-55.
- [17] 吴韩英, 寿森炎, 朱祝军, 等. 高温胁迫对甜椒光合作用和叶绿素荧光的影响[J]. 园艺学报, 2001, 28(6): 517-521.
- [18] 綦伟, 谭浩, 翟衡. 干旱胁迫对不同葡萄砧木光合特性和荧光参数的影响[J]. 应用生态学报, 2006, 17(5): 835-838.
- [19] 王梅, 高志奎, 黄瑞虹, 等. 茄子光系统 II 的热胁迫特性[J]. 应用生态学报, 2007, 18: 63-68.
- [20] Baker N R. Chlorophyll Fluorescence: A probe of Photosynthesis In Vivo[J]. Annu Rev Plant Biol, 2008, 59: 89-113.
- [21] 应叶青, 郭璟, 魏建芬, 等. 水分胁迫下毛竹幼苗光合及叶绿素荧光特性的响应[J]. 北京林业大学学报, 2009, 31(6): 128-133.
- [22] 秦红艳, 沈育杰, 艾军, 等. 盐胁迫对不同葡萄品种叶片中叶绿素荧光参数的影响[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2010, 5: 35-38.
- [23] 冀新永, 吴国江, 黄红英, 等. 麻疯树幼苗对干旱胁迫的响应[J]. 应用生态学报, 2008, 19(7): 1425-1430.