崔志伟,王康才,王 乾,等. 青霉素对金银花光合生理特性的影响[J]. 江苏农业科学,2015,43(3):224-227. doi:10.15889/j. issn. 1002-1302.2015.03.073

青霉素对金银花光合生理特性的影响

崔志伟,王康才,王 乾,张晓倩,张彦南

(南京农业大学园艺学院,江苏南京 210095)

摘要:以金银花品种巨花一号为材料,研究喷施青霉素对金银花光合生理特性的影响。结果表明,随着青霉素浓度升高,叶片中抗氧化酶活性逐渐升高,高浓度(800 mg/L)处理会抑制 POD 活性;低浓度(400 mg/L)处理可显著提高实际光化学效率(Φ_{PSII})、电子传递速率(ETR)、光化学猝灭系数(q_{P}),增幅分别为 196. 6%、29. 1%、97. 5%。当青霉素浓度为 600 mg/L 时,叶绿素 a、叶绿素 b 含量分别比对照高 8. 6%、58. 8%;净光合速率(P_{n})、胞间二氧化碳浓度(C_{i})、蒸腾速率(T_{i})分别升高 52. 9%、32. 1%、27. 9%。青霉素浓度为 800 mg/L 时,气孔导读(T_{i})提高 162. 9%,但对 T_{PSII} 、ETR 产生一定的抑制作用,并降低叶绿素的含量。说明适宜浓度的青霉素可显著改善金银花的光合生理特性,对金银花生产实践起参考作用。

关键词:青霉素;金银花;光合特性;叶绿素;气体交换参数;荧光参数

中图分类号: S567.7*90.1 文献标志码: A 文章编号:1002-1302(2015)03-0224-03

青霉素是一类临床上广泛应用的广谱抗菌素,常用干临 床医学和作为动物饲料添加剂等,植物上常用于病害防治和 调控生长等,对高等植物(如水稻、小麦等)种子萌发时 α -淀 粉酶的形成、叶绿素形成与降解、内源物质代谢等具有显著影 响[1]。汤菊香等报道,适官浓度的 KH,PO。和青霉素能明显 提高小麦老化种子发芽率、发芽指数、活力指数、幼苗根系活 力、叶片叶绿素含量及幼苗长度[2]。青霉素应用在药用植物 上也有相关报道,如容绍英等研究发现,800 mg/L 青霉素水 溶液能提高菘蓝种子发芽率、幼苗株高和叶绿素含量[3];谢 德明对川芎进行外源喷施青霉素水溶液后发现,植株的叶绿 素含量提高18.28%,并降低了植物组织水势[4]。因此,青霉 素被认为是一种新的、作用强的激素类植物生长调节剂。金 银花为忍冬科(Caprifoliaceae)忍冬属(Lonicera)多年生半常 绿藤本植物,具有较高的药用价值,有"中药青霉素"的美称。 金银花为喜光类植物,当阳光充足、光合作用旺盛时,植株可 将更多的光合产物分配于营养器官,使枝条粗壮、叶大、产量 高。喷施青霉素可影响叶绿素含量,但对光合生理影响的相 关研究报道则较少,因此,笔者通过外源喷施青霉素,初步研 究其对金银花的光合生理的影响,以期为后续相关研究和生 产应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为金银花品种巨花一号,经南京农业大学中药材研究所王康才教授鉴定为忍冬科忍冬属忍冬(Lonicera japonica Thunb)。青霉素(纯度≥98%)为北京索莱宝科技有限公司生产。

收稿日期:2014-04-23

作者简介:崔志伟(1988—),男,山东东营人,硕士研究生,主要从事药用植物生理与栽培研究。E-mail:cuizhiwei1988@163.com。

通信作者:王康才,教授。E - mail:wangkc@ njau.edu.cn。

1.2 试验设计

试验在南京农业大学中药材研究所日光温室内进行,开始前20 d 停止对处理植株施用任何营养元素,试验期间(2013年4月13日至5月1日)定期对植株浇水。青霉素分别用蒸馏水配制成浓度为200、400、600、800 mg/L 的溶液,每个处理分4株,共处理3次。对照(CK)为喷施清水处理。喷施时间为16:00—17:00,以叶片正反两面全部湿润且无液体滴下为宜。

1.3 测定指标及方法

- 1.3.1 抗氧化酶体系活性 超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定采用核黄素 NBT 光还原法,以抑制氯化硝基氮蓝四唑 (NBT) 光化还原 50% 为 1 个酶活单位。过氧化物酶(POD)活性的测定采用愈创木酚法,以 1 $\min D_{470 \, \mathrm{nm}}$ 变化 0.01 为 1 个酶活单位。丙二醛(MDA)含量的测定采用硫代巴比妥酸 (TBA) 显色法。
- 1.3.2 叶绿素含量 用岛津 UV 1601 分光光度计按 Lichtenthaler 等的方法^[5]测定并计算叶片单位鲜质量的叶绿素 a/叶绿素 b 含量。
- 1.3.3 光合作用参数 选取生长势较好、发育完全的叶片,用便携式光合作用分析系统(Li 6400XT, 美国 Li Cor 公司)于晴天 09:00—11:00 测定植株光合作用。测定时使用开放气路,叶室 温度 控制 在(25 ± 1) °C,PPFD 控制 在800 μ mol/($m^2 \cdot s$),参比室 CO_2 浓度为(380 ± 10) μ mol/L,相对湿度为 60% ~ 70%。测定的气体交换参数有净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、胞间 CO_2 浓度(C_i)、蒸腾速率(T_r)。1.3.4 叶绿素荧光参数 Imaging PAM M series 调制叶绿素荧光成像系统(德国 Walz 公司)测定叶绿素荧光参数。选取各处理生长点下第 3 张完全展开功能叶,20 min 充分暗适应后,取下叶片,在每个叶圆片上选定一个直径为 1 cm 的测试目标区域(AOI),测定时先用测量光[0.5 μ mol/($m^2 \cdot s$)]测定初始荧光 F_0 ,饱和光脉冲 2 700 μ mol/($m^2 \cdot s$)(脉冲时间 0.8 s)诱导 FM,光化光强度为 145 μ mol/($m^2 \cdot s$)。在软件

基金项目: 江苏省镇江市农业重点项目。

的 Kinetics 窗口检测各叶绿素荧光参数的动力学变化曲线,相应数据可直接从 Report 窗口导出。

1.4 数据分析

应用 Excel 进行数据图表处理,采用 SPSS 20.0 统计分析 软件进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 青霉素对金银花抗氧化酶体系的影响

SOD 与 POD 是植物体内的一种抗氧化保护酶,与膜脂过氧化有关,还可以清除植物细胞内产生的少量超氧阴离子自由基(O_2 ·)。从表 1 可看出, SOD 活性在青霉素浓度为800 mg/L 时最强; POD 活性在青霉素浓度为600 mg/L 时最强,浓度继续升高时,活性则减弱。MDA作为 H_2O_2 的解毒剂,主要存在于植物的微体中,其含量可以反映出对细胞膜受伤害的程度以及抗氧化酶体系对细胞膜的保护程度,由表 1 可知,总体而言,MDA含量随着青霉素浓度升高而逐渐上升,表明高浓度的青霉素处理不利于金银花的生长。

2.2 青霉素对金银花叶绿素含量的影响

叶绿素是植物进行光合作用的主要色素,其含量反映了

表 1 不同青霉素浓度对抗氧化酶体系的影响

_	处理 (mg/L)	SOD 活性 (U/g)	POD 活性 (U/g)	MDA 含量 (μmol/g)
	CK	$157.11 \pm 8.55c$	$261.07 \pm 3.65 c$	$8.57 \pm 0.18c$
	200	$163.09 \pm 2.81 \mathrm{c}$	$267.96 \pm 5.77 \mathrm{c}$	$8.81 \pm 0.29\mathrm{c}$
	400	$159.73 \pm 10.24c$	$273.11 \pm 9.33\mathrm{c}$	$10.42 \pm 0.23\mathrm{b}$
	600	$288.97 \pm 3.92\mathrm{b}$	$319.88 \pm 5.41a$	$10.37 \pm 0.11\mathrm{b}$
	800	$347.44 \pm 7.51a$	293.15 ± 9.31 b	$13.19 \pm 0.36a$

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著(P < 0.05)。表2同。

植物同化物质的能力。如表 2 所示,与对照相比,外源喷施青霉素对叶绿素含量产生一定的影响。随着青霉素浓度升高,叶绿素 a 含量、叶绿素 b 含量及叶绿素总量均有所增加,以浓度为 600 mg/L 时效果显著,分别比对照增加了 8.6%、58.8%、22.1%;当浓度为 800 mg/L 时,叶绿素含量则显著降低,以叶绿素总量下降幅度最大,比对照降低 32.3%。与对照相比,200、400 mg/L 青霉素可降低叶绿素 a/叶绿素 b 的值,高浓度(600、800 mg/L)青霉素可提高叶绿素 a/叶绿素 b 的值,最大增幅达 15.4%。

表 2 不同青霉素浓度对金银花叶片叶绿素含量的影响

处理 (mg/L)	叶绿素 a 含量 (mg/g)	叶绿素 b 含量 (mg/g)	叶绿素总量 (mg/g)	叶绿素 a/叶绿素 b
CK	1.520 ± 0.041 0b	0.633 ± 0.041b	2.152 ± 0.095 c	2.401 ± 0.072a
200	1.629 ± 0.006 9ab	0.783 ± 0.006 b	2.412 ± 0.046 b	2.080 ± 0.036 b
400	$1.630 \pm 0.022 \text{ 0ab}$	$0.801 \pm 0.013a$	$2.451 \pm 0.02b$	2.035 ± 0.026 b
600	$1.650 \pm 0.046 \ 0a$	$1.005 \pm 0.028 \mathrm{d}$	$2.628 \pm 0.006a$	$1.642 \pm 0.067c$
800	$1.119 \pm 0.054 0c$	$0.508 \pm 0.012c$	$1.627 \pm 0.034 d$	2.203 ± 0.145 b

2.3 青霉素对金银花叶片光合作用的影响

如图 1 所示,不同浓度青霉素处理下的气孔导度(G_s)与

对照相比差异显著,随着青霉素浓度升高,金银花气孔导度逐渐升高,以800 mg/L 处理效果最高,增幅达162.9%。

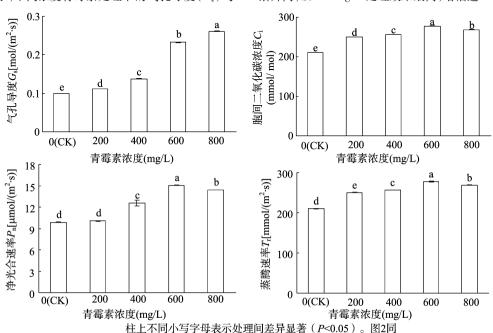


图1 不同青霉素浓度对金银花叶片气体交换参数的影响

光合生理指标如 $P_{\rm n}$ 、 $C_{\rm i}$ 、 $T_{\rm r}$ 均随着浓度升高而上升,在浓度为 600 mg/L 时达到最高值,分别比对照增加 52.9%、

32.1%、27.9%,当浓度为800 mg/L 时则抑制了蒸腾速率。 由此可知,适宜浓度的青霉素水溶液可以促进金银花的光合 作用、保持较高的光合速率。

2.4 青霉素对金银花叶片荧光参数的影响

 $F_{\text{v}}/F_{\text{m}}$ 代表 PS II 原初光能转化效率,是表明光化学反应 状况的重要参数^[6]。非胁迫条件下 $F_{\text{v}}/F_{\text{m}}$ 变化极小,不受物 种和生长条件的影响^[7]。如图 2 所示,喷施青霉素后, $F_{\text{v}}/F_{\text{m}}$ 值均显著高于对照,但不同浓度处理之间差异不显著。 Φ_{ps} II 反映了 PS II 电子传递量子效率。 q_P 是光化学淬灭系数,反映的是 PS II 天线色素吸收的光能用于光化学电子传递的份额 [8],ETR 代表电子传递速率。如图 2 所示,400 mg/L 青霉素处理可显著提高 Φ_{PSII} 、 q_P 、ETR 值,分别比对照增加 196.6%、29.1%、97.5%。当浓度升至 800 mg/L,金银花叶片光化学猝灭系数 q_P 和电子传递速率 ETR 显著降低。

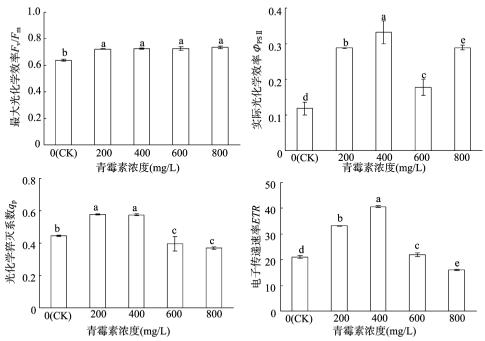


图2 不同青霉素浓度对金银花叶片荧光参数的影响

3 结论与讨论

光合作用是植物体内重要的代谢过程,其过程受各种内外环境因素的影响,如光照、水分、 CO_2 浓度等。由试验结果可知,喷施青霉素后胞间 CO_2 浓度(C_i)与净光合速率(P_n)的变化趋势一致,均随着浓度升高而上升,说明增大 CO_2 浓度可以大大提高金银花的光合生产力。不同处理下的蒸腾速率(T_r)虽表现出与胞间 CO_2 浓度(C_i)及净光合速率(P_n)同样的趋势,但其过高或过低意味着植物对水分的利用不充分,植物的光合作用。

光合色素在植物光合作用的原初光反应过程中起着关键作用^[9],其含量高有利于增加光合产物的积累及叶片对花蕾营养物质的供应能力,从而促进花蕾的发育。青霉素可促进叶片中核酸和蛋白质的合成,并且降低叶片中叶绿炼色素的含量^[1]。由试验结果可知,在环境相同的条件下,外源喷施适宜浓度的青霉素可以增加叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量,600~800 mg/L 青霉素水溶液还可提高叶绿素 a/叶绿素 b 值,叶绿素 b 含量的提高可以增加用于吸收光能的集光色素蛋白的相对含量,从而保证叶片吸收更多的光能用于光合作用^[10],而叶绿素 a/叶绿素 b 值的提高有助于植物适应周围环境光强,又可提高对逆境的适应性^[11]。

同时,本试验通过不同浓度处理下金银花的叶绿素荧光 特性的测定发现,适宜浓度的青霉素喷施后叶片均比对照有 更高的 F_{\cdot}/F_{m} 、 Φ_{PSII} 、 q_{P} 、ETR 值。 F_{\cdot}/F_{m} 值增加说明其 PS II 的实际光能捕获效率较高,能够把所捕获的光能更多地用于光化学反应 [12]。 处理后的 ETR、 q_{P} 值也有所升高,说明其 PS II 反应中心原初电子受体 QA 库较大,使 PS II 反应中心开放的比列增大,它能够通过光合电子传递途径将较多的光能用于二氧化碳的同化,阻止了过量的激发能在 PS II 反应中心积累,这有助于为光合碳同化提供更多的能量 (ATP) 和还原力 (NADPH),形成更多的光合产物 [13],从而分配于植株各器官,促进植株的生长。

目前,关于青霉素对植物作用机理的相关文献未见报道, 笔者只是初步探讨对金银花的影响,但在不同物种及不同环境条件下的作用是否类似,仍需进一步的探讨。同时,由于青霉素可以抑制内生菌的繁殖,外源喷施青霉素是否会影响金银花相关成分指标以及青霉素在金银花中的残留是否影响药效,仍需进一步研究。

参考文献:

- [1]李海航,潘瑞炽. 青霉素在高等植物中的作用[J]. 植物生理学通讯,1987,23(5):1-6.
- [2]汤菊香,冯艳芳. KH_2PO_4 和青霉素对小麦老化种子发芽及幼苗 生长的影响[J]. 种子,2001(4):19-20,25.
- [3] 容绍英, 刘冬莲, 石洪凌, 等. 青霉素和氨苄青霉素对菘蓝种子的 生物学效应[J]. 中药材, 2006, 29(12); 1270-1272.
- [4]谢德明. 川芎喷施青霉素研究初报[J]. 中国中药杂志,1994,19

章 琼,蒋高中,李 冰. 水产动物对氨氮胁迫响应的转录组分析研究进展[J]. 江苏农业科学,2015,43(3):227-230. doi:10.15889/j. issn. 1002-1302.2015.03.074

水产动物对氨氮胁迫响应的转录组分析研究进展

章 琼1, 蒋高中2, 李 冰2

(1. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏无锡 214081; 2. 南京农业大学无锡渔业学院/中国水产科学研究院淡水渔业研究中心/农业部淡水渔业和种质资源利用重点实验室, 江苏无锡 214081)

摘要: 氨氮胁迫是影响水产养殖和生态环境的重要非生物胁迫之一; 而转录组学是一个新兴的研究细胞表型和功能的重要手段, 在研究基因结构、表达和功能上开拓了一个新型的研究方向。简述了水产养殖中氨氮的危害以及氨氮胁迫而引起的生理和生化反应, 同时介绍了常见的转录组学平台技术及其在一些胁迫反应代谢调控机制及分子机制研究中的应用, 认为水产动物氨氮胁迫的转录组分析将为水产动物的毒理学效应提供重要的理论依据和线索, 也将在水产动物分子育种中发挥重要作用。

关键词:水产动物;氨氮胁迫;代谢调控机制;转录组;转录组测序

中图分类号: S917.4 文献标志码: A 文章编号:1002-1302(2015)03-0227-04

氨氮是水产养殖中常见的胁迫因子,以2种形式存在于水体中,即非离子氨(NH₃)和离子铵(NH₄⁺),离子铵的存在对水产动物是无毒的,对水产动物产生危害的是非离子氨,主要影响它们的游泳行为、生长性能、呼吸及代谢的变化、渗透调节、免疫力等。随着转录组学、蛋白质组学和代谢组学等的出现,标志着生命科学的研究已经跨入后基因组时代。转录组(transcriptome)概念最先是由 Velcalescu 和 Kinzler 等在1997年提出的,是指某一特定生物体在特定状态下所有基因转录产物的总和,主要包括 mRNA 和非编码 RNA,其中mRNA 较为引人关注,被研究得较多,因此狭义上的转录组一般指的是所有 mRNA 的总和。目前,人们已经对机体受氨氮胁迫时的生理和生化反应做了大量深入的研究,然而对引起这些反应的代谢调控机制、分子机制的相关研究报道其少。

收稿日期:2014-04-13

- 基金项目:国家科技支撑计划(编号:2012BAD25B07);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(编号:2013JBFC08)。
- 作者简介:章 琼(1989—),女,湖北孝感人,硕士研究生,研究方向 为水产动物健康养殖。E-mail;819153429@qq.com。
- 通信作者: 蒋高中, 博士, 研究员, 从事渔业文化与科技发展、渔业科技史等方面的研究。 Tel: (0510) 85550702; E mail: jianggz @ ffrc. cn。

- (2):76-77,126.
- [5] Lichtenthaler H K, Wellburn A R. Determination of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf extracts in different solvents [J]. Biochem Soc Trans, 1983,603:591.
- [6] 杨晓青, 张岁岐, 梁宗锁, 等. 水分胁迫对不同抗旱类型冬小麦幼苗叶绿素荧光参数的影响[J]. 西北植物学报, 2004, 24(5): 812-816.
- [7] 许大全, 张玉忠, 张荣铣. 植物光合作用的光抑制[J]. 植物生理学通讯, 1992, 28(4): 237-243.
- [8] Enty 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;87 92.

本文主要通过综述氨氮胁迫的危害及生理生化反应,以及转录组平台技术的应用,以期为氨氮胁迫的代谢调控机制提供线索,并对其分子机制的研究提出展望。

1 水产养殖中氨氮的来源及其危害

1.1 氮素的循环及水体中氨氮的来源

自然界中的各种元素都是守恒的,都可以循环利用,在水体中也是如此,而影响水产养殖业发展最大的因素是氮元素的循环。天然水体中溶解的有机氮主要来自动物分泌物、动植物尸体以及人类的排放等,这些有机氮首先在微生物的作用下分解为氨(NH₃),如果水体中溶氧充足,总氨会迅速在亚硝化细菌和硝化细菌的联合作用下氧化为 NO₃;而在溶氧偏低的水体中,由于反硝化细菌的大量繁殖,不仅使总氨无法进一步氧化,而且使原有的亚硝态氮和硝态氮被还原为总氨,总氨也被进一步还原为氮,从而溢出水面。氮元素在自然界的循环过程如图 1^[1]所示。

在养殖水体中,氨氮的来源主要有以下几个方面:(1)动物粪便残饵等有机物经过异养细菌的氨化作用产生;(2)养殖生物自身的转氨和脱氨作用产生;(3)人类活动如农药、肥料的过度利用,工业废水等含氮化学试剂的排放;其中前2个方面是氨氮的主要来源。

[9]李雪芹,徐礼根,金松恒,等. 4 种草坪草叶绿素荧光特性的比较 [J]. 园艺学报,2006,33(1):164-167.

- [10]迟 伟,王荣富,张成林. 遮荫条件下草莓的光合特性变化[J]. 应用生态学报,2001,12(4):566-568.
- [11] Ma C C, Gao Y B, Guo H Y, et al. Morphological adaptation of four dominant *Caragana* species in the desert area of the Inner Mongolia plateau[J] Acta Ecol Sin, 2006, 26(7):2308 23121.
- [12]张 杰,邹学忠,杨传平,等. 不同蒙古栎种源的叶绿素荧光特性[J]. 东北林业大学学报,2005,33(3):20-21.
- [13] Mao L Z, Lu H F, Wang Q, et al. Comparative photosynthesis characteristics of *Calycanthus chinensis* and *Chimonanthus praecox* [J]. Photosynthetica, 2007, 45 (4):601-605.