

马雪梅,吴朝峰. 干旱胁迫对金银花叶片叶绿素含量及荧光特性的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(17):133-136.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.17.034

# 干旱胁迫对金银花叶片叶绿素含量及荧光特性的影响

马雪梅, 吴朝峰

(河南安阳工学院,河南安阳 455000)

**摘要:**以金丰一号、大毛花、密银花 3 个金银花品种为试验材料,研究干旱胁迫对金银花叶片叶绿素含量和荧光特性的影响。结果表明,干旱胁迫下,金银花叶片叶绿素含量下降,基础荧光( $F_0$ )显著升高,最大荧光( $F_m$ )、PS II 最大光化学效率( $F_v/F_m$ )、PS II 潜在光化学效率( $F_v/F_0$ )显著下降,干旱胁迫使金银花叶片 PS II 反应中心受到伤害;抑制 PS II 反应中心电子传递(ETR)降低,导致非光化学猝灭系数( $q_N$ )升高、光化学猝灭系数( $q_P$ )显著下降;金丰一号 PS II 反应中心对胁迫耐性相对较强,叶片光化学效率较高。

**关键词:**金银花;干旱胁迫;叶绿素;荧光特性;光化学效率

**中图分类号:** S567.7<sup>+</sup>90.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)17-0133-04

金银花为忍冬科植物忍冬(*Lonicera japonica*)的干燥花蕾,是我国常用中药材,具有抗菌、抗病毒、清热解毒、保肝利胆之功效,主要分布在我国山东、河南、河北、湖北等省。河南省金银花大多种植于丘陵地区或山区,水分短缺成为影响金银花生长发育及产量、品质的主要因素之一。

叶绿素是植物光合作用中的重要色素。在干旱胁迫下,植物叶片的片层结构会受到破坏,叶绿素发生分解而导致含量降低、叶片发黄,在一定范围内,叶绿素含量的高低会直接影响叶片的光合作用,进而影响植物抗旱性的强弱<sup>[1-2]</sup>。叶绿素荧光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、转换、耗散、分配等方面具有独特的作用,是探测分析植物光合功能、研究植物光合生理与逆境胁迫关系的一个重要手段<sup>[3]</sup>。本试验通过研究干旱胁迫对河南省金银花叶片叶绿素含量变化及荧光特性的影响,了解干旱胁迫对金银花叶片光合作用的影响机制,为河南省金银花抗旱特性的鉴定、耐旱性较强品种的选择提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

收稿日期:2017-02-18

基金项目:河南省高等学校重点科研项目(编号:15A180025)。

作者简介:马雪梅(1977—),女,河北衡水人,硕士,副教授,从事植物资源生态学与化学工程研究。E-mail: maxm2001@126.com。

通信作者:吴朝峰,硕士,副教授,从事植物生物技术研究。E-mail: wuchaofeng7811@163.com。

供试金银花品种为金丰一号、大毛花、密银花,分别来自河南省封丘县、安阳市、新密市。

### 1.2 试验处理

2014 年 3 月下旬,选择长势良好、大小基本一致的金银花扦插苗,移栽到基质相同、直径为 25 cm、深为 30 cm 的花盆内,每盆 1 株,正常管理 1 年。2015 年 7 月 27 日傍晚浇透水,次日开始分别进行轻度干旱胁迫(LS)、中度干旱胁迫(MS)、重度干旱胁迫(SS)3 种不同干旱胁迫处理,土壤相对含水量分别为田间持水量的 70%~75%、40%~45%、20%~25%,以土壤相对含水量为田间持水量的 85%~90% 为对照(CK)。每处理 5 盆,重复 3 次。采用称重法测定土壤水分含量,胁迫处理 2d 后进行常规的水分管理,保证植株生长旺盛。

### 1.3 测定指标及方法

**1.3.1 叶绿素含量** 将胁迫处理 15 d 后的新鲜叶片洗净,擦干,快速剪成直径约为 5 mm 的碎片,分成 3 份;每份称取 0.2 g,放入 25 mL 具塞刻度试管中,加入 95% 乙醇溶液 10 mL,密封,置于暗处浸泡 2 d 待叶片全部变白;将色素提取液倒入 1 cm 光径的比色杯内,以 95% 乙醇溶液为空白,紫外分光光度计分别测定波长为 663、645 nm 的吸光度( $D$ 值),计算叶片叶绿素 a 含量( $C_a$ )、叶绿素 b 含量( $C_b$ )、叶绿素总含量( $C_t$ ),单位为 mg/g,计算公式分别为: $C_a = (12.70D_{663\text{ nm}} - 2.59D_{645\text{ nm}}) \times V / (WF \times 1\ 000)$ ;  $C_b = (22.90D_{645\text{ nm}} - 4.67D_{663\text{ nm}}) \times V / (WF \times 1\ 000)$ ;  $C_t = C_a + C_b = (22.20D_{645\text{ nm}} + 8.02D_{663\text{ nm}}) \times V / (WF \times 1\ 000)$ 。式中, $D_{663\text{ nm}}$ 、 $D_{645\text{ nm}}$ 分别为波长 663、645 nm 处的吸光度; $V$ 为提取液的总体积,mL; $WF$ 为

[11]石在强,岳海涛,郑元元,等. 解盐促生菌 Rs-5 溶磷动力学及其机制[J]. 农业工程学报,2008(增刊1):24-28.

[12]鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京:中国农业出版社,2000.

[13]李煜楠,杨再强,李平,等. 高效液相色谱法测定设施番茄土壤低分子量有机酸的色谱条件研究[J]. 土壤通报,2016,47(1):73-78.

[14]Strobel B W. Influence of vegetation on low-molecular-weight carboxylic acids in soil solution-a review[J]. Geoderma,2001,99(3/4):169-198.

[15]康貽军,程洁,梅丽娟,等. 植物根际促生菌作用机制研究进展[J]. 应用生态学报,2010,21(1):232-238.

[16]Illmer P, Barbato A, Schinner F. Solubilization of hardly-soluble  $\text{AlPO}_4$  with P-solubilizing microorganisms[J]. Soil Biology & Biochemistry,1995,27(3):265-270.

[17]Kpombekou A K, Tabatabai M A. Effect of low-molecular weight organic acids on phosphorus release and phytoavailability of phosphorus in phosphate rocks added to soils[J]. Agriculture Ecosystems & Environment,2003,100(2/3):275-284.

样品鲜质量, g。

**1.3.2 叶绿素荧光参数** 于干旱胁迫处理周期结束当天 08:00—10:00, 采用德国 WALZ 产 PAM-2100 型便携式调制叶绿素荧光仪测定金银花叶片的荧光参数。测定时, 将叶片暗适应 20 min, 照射测量光小于  $0.5 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  时测初始荧光( $F_o$ ), 照射饱和脉冲为  $2800 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  时测定最大荧光( $F_m$ ); 打开光照度为  $600 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  的内源光化光持续 5 min, 测定光适应下的稳定态荧光( $F_t$ ), 隔 20 s 打开饱和脉冲测定光适应下的最大荧光( $F_m'$ )。根据测定的参数计算光系统 II (PS II) 的潜在光化学效率( $F_v/F_o$ )、PS II 最大光化学效率( $F_v/F_m$ )、PS II 光化学量子产量( $Y$ )、表观光合电子传递速率( $ETR$ )、光化学猝灭系数( $q_p$ )、非光化学猝灭系数( $q_N$ ), 计算公式分别为:

$$F_v/F_o = (F_m - F_o)/F_o;$$

$$F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m;$$

$$Y = (F_m' - F_t)/F_m';$$

$$ETR = Y \times PAR \times 0.50 \times 0.84;$$

$$q_p = (F_m' - F_t)/(F_m' - F_o);$$

$$q_N = (F_m - F_m')/(F_m - F_o)。$$

式中,  $PAR$  为光合有效辐射。

## 2 结果与分析

### 2.1 干旱胁迫对叶绿素含量的影响

叶绿素是植物进行光合作用的重要色素, 叶绿素 a (Chla) 含量越高; 在胁迫下有利于保持较高的光合强度, 叶绿素 b (Chlb) 含量越大, 表明其在胁迫下降解速度缓慢; 叶绿素 a 与叶绿素 b 的比值(Chla/b)可反映出叶绿素 a、叶绿素 b 对胁迫的敏感性及其对二者的伤害程度。由图 1、图 2、图 3 可知, 随干旱胁迫程度加剧, 3 种金银花叶片的叶绿素 a、叶绿素 b 及叶绿素总量呈现明显的下降趋势, 叶绿素 b 含量微小变化。说明干旱胁迫引起叶绿素 a 含量显著下降, 从而导致叶绿素总量下降。整个处理过程, 金丰一号叶绿素 a 含量、叶绿素 b 含量以及叶绿素总量都最高, 其次是密银花, 大毛花最低。经 SS 处理后, 3 种金银花叶片叶绿素总量降幅大小依次为: 大毛花 (48.5%) > 密银花 (42.3%) > 金丰一号 (34.3%), 说明 3 种金银花抗旱能力的大小为: 金丰一号 > 密银花 > 大毛花。图 4 表明, 干旱胁迫程度加剧, 叶绿素 (a/b) 值呈现先升后降, 在 SS 处理下, 叶绿素 (a/b) 下降幅度数值大小顺序为大毛花 (51.6%) > 密银花 (44.1%) > 金丰一号 (33.5%)。说明随着干旱胁迫程度的加剧, 叶绿素合成受阻, 分解速率增大, 叶绿素含量下降。

### 2.2 干旱胁迫对 3 种金银花叶绿素荧光动力学参数的影响

**2.2.1 对初始荧光( $F_o$ )和最大荧光( $F_m$ )的影响** 初始荧光( $F_o$ )表示叶片 PS II 反应中心处于完全开放时的荧光水平,  $F_o$  上升表明 PS II 反应中心被破坏或可逆失活<sup>[4-5]</sup>。由图 5 可知, 3 种金银花叶片  $F_o$  均随胁迫程度加剧呈现出上升的趋势, 与 CK 相比, 经 LS 处理, 3 种金银花叶片  $F_o$  增幅不明显, 在 MS 下,  $F_o$  增幅有了一定的变化, 而在 SS 下, 金丰一号、大毛花和密银花叶片  $F_o$  比 CK 分别高 12.0%、14.3% 和 13.1%, 表明 PS II 反应中心破坏程度加剧。

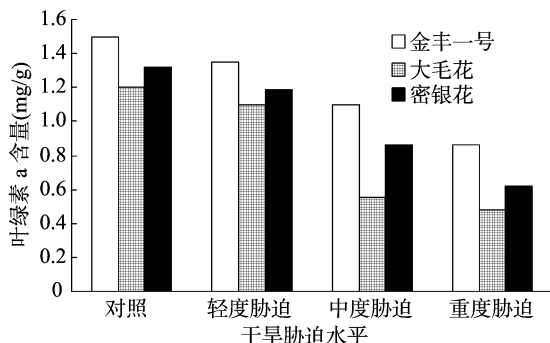


图1 干旱胁迫对叶绿素 a 含量的影响

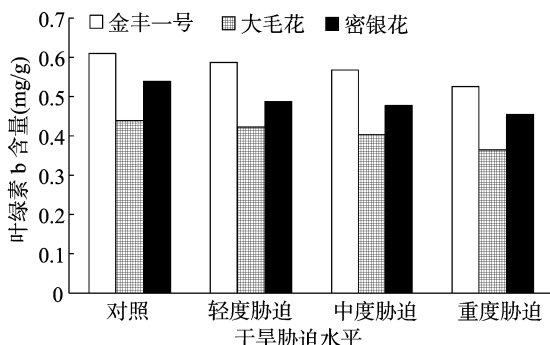


图2 干旱胁迫对叶绿素 b 含量的影响

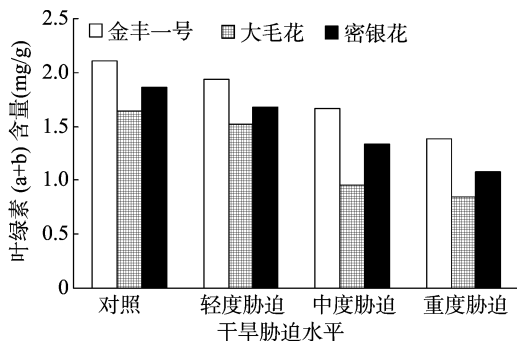


图3 干旱胁迫对叶绿素 a+b 含量的影响

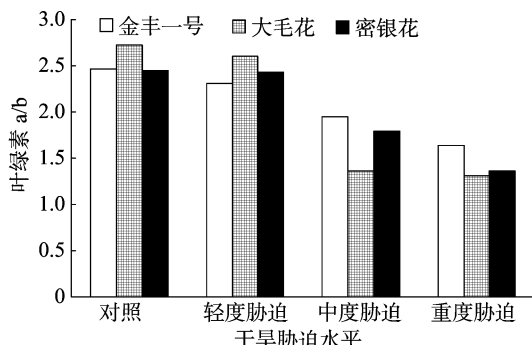


图4 干旱胁迫对叶绿素 a/b 含量的影响

最大荧光( $F_m$ )是 PS II 反应中心处于完全关闭时的荧光产量, 其数值降低可作为光抑制的一个特征<sup>[6]</sup>。由图 6 可知, 3 种金银花均表现出胁迫程度加剧、叶片  $F_m$  明显下降的特性。与 CK 相比, 在 LS、MS 下,  $F_m$  降幅不明显, 重度干旱胁迫下,  $F_m$  明显下降, 其中金丰一号叶片  $F_m$  降低了 23.1%, 大毛花降低了 26.4%, 密银花降低了 24.5%。

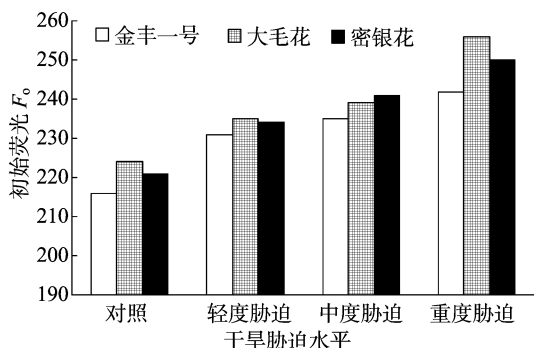


图5 干旱胁迫对初始荧光的影响

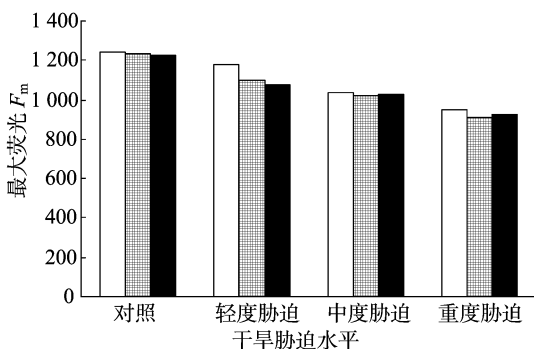


图6 干旱胁迫对最大荧光的影响

### 2.2.2 潜在光化学效率( $F_v/F_0$ )和最大光化学效率( $F_v/F_m$ )

可变荧光  $F_v$  反映 PS II 原初电子受体 QA 的还原情况,代表 PS II 光化学活性的大小<sup>[7]</sup>。 $F_v/F_0$  和  $F_v/F_m$  是研究叶绿素荧光的 2 个重要参数,分别代表 PS II 的潜在活性和原初光能转化效率。图 7、图 8 表明,3 种金银花叶片  $F_v/F_m$  和  $F_v/F_0$  均呈现出随胁迫程度加剧下降幅度增加的特点,说明干旱胁迫使 PS II 潜在活性中心受损,进而影响到植物光合作用的原初反应,光合电子传递过程受到影响,而光化学效率的高低直接决定叶片光合作用的高低。与 CK 相比,3 种金银花叶片  $F_v/F_0$  下降显著,且在 SS 下,金丰一号、大毛花和密银花  $F_v/F_0$  值比 CK 分别下降了 38%、43.5% 和 40.4%。表明重度干旱胁迫使金银花 3 个品种受到较大程度的伤害。由图 8 可知,正常供水情况下,3 种金银花叶片  $F_v/F_m$  在 0.80 以上。且随干旱胁迫程度加剧, $F_v/F_m$  明显下降。与 CK 相比,金丰一号、大毛花和密银花  $F_v/F_m$  值分别下降了 9.66%、12.3% 和 10.9%,最大光化学效率顺序为金丰一号 > 密银花 > 大毛花。表明大毛花光合作用受干旱胁迫影响较大。

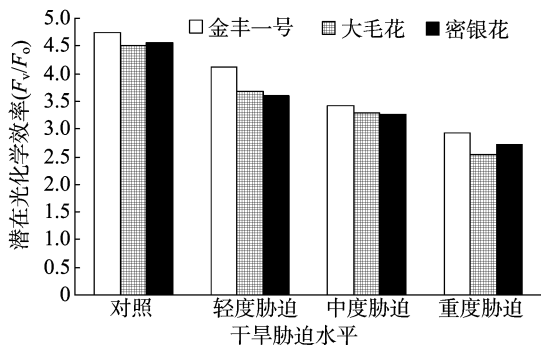


图7 干旱胁迫对潜在光化学效率的影响

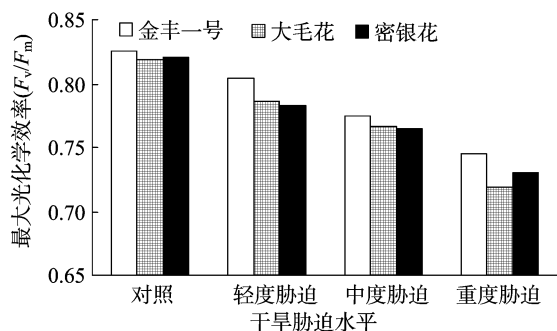


图8 干旱胁迫对最大光化学效率的影响

2.2.3 光化学量子产量( $Y$ )和表观光合电子传递速率( $ETR$ ) 光化学量子产量用来表示植物光合作用电子传递的量子产额,可作为植物光合电子传递速率快慢的相对指标<sup>[8]</sup>。表观光合电子传递速率反映实际光强条件下的表观电子传递效率。从图 9、图 10 可知,3 个金银花品种的  $Y$  和  $ETR$  均随着胁迫程度加剧呈现出下降趋势。与 CK 相比,金丰一号、密银花和大毛花  $Y$  值分别降低了 48.4%、54.1% 和 50.4%,而  $ETR$  下降了 40.7%、54.7% 和 45.9%。其中金丰一号下降幅度最小,大毛花下降幅度最大。说明干旱胁迫对大毛花光合电子传递过程破坏较大,而对金丰一号破坏较轻,进而表明金丰一号适应干旱环境的能力较强,表现出较好的抗旱性。

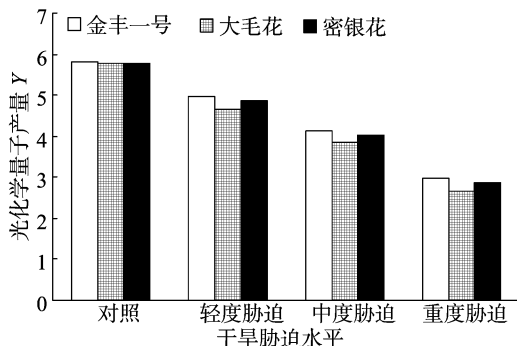


图9 干旱胁迫对光化学量子产量 Y 的影响

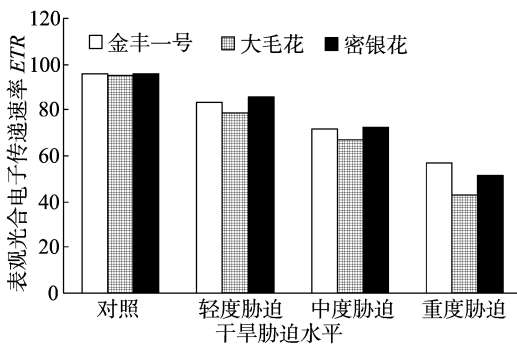


图10 干旱胁迫对光合电子传递的影响

### 2.2.4 干旱胁迫对光化学淬灭系数和非光化学淬灭系数的影响

2.2.4.1 光化学淬灭系数( $q_p$ ) 荧光淬灭是植物体内光合量子效率调节的一个重要方面,它分为光化学淬灭系数( $q_p$ )和非光化学淬灭系数( $q_n$ ), $q_p$  越大,表示光能中转化为活化学能的能量越多,植物对光能的利用效率也越高<sup>[9]</sup>。同时

说明 PS II 的电子传递活性和反应中心开放部分的比例越高<sup>[10-11]</sup>。图 11 表明,3 种金银花叶片  $q_p$  均随着干旱胁迫程度的增加而呈现出下降的趋势。在 LS 下,金丰一号、大毛花、密银花  $q_p$  降幅分别为 5.38%、9.89% 和 7.37%,差异不显著,说明金银花在轻度干旱胁迫时, $q_p$  受到的影响较小,PS II 仍能维持较高的光合电子传递活性。在 SS 下,与 CK 相比,金丰一号、大毛花和密银花金银花  $q_p$  降幅明显,分别下降 25.8%、36.3% 和 32.6%,表明 SS 下,大毛花 PS II 的电子传递活性受到抑制。总之,金丰一号抗旱性较强,密银花抗旱性居中,大毛花抗旱性弱。

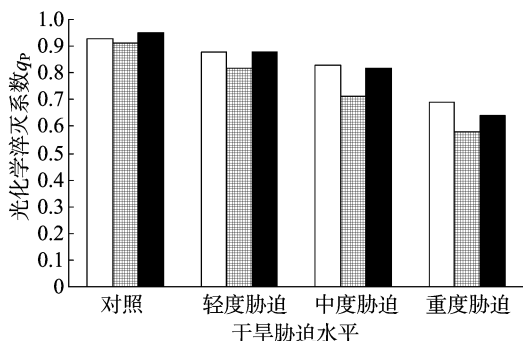


图11 干旱胁迫对光化学淬灭系数的影响

2.2.4.2 非光化学淬灭系数( $q_N$ ) 化学淬灭系数( $q_p$ )反映 PS II 反应中心天线色素吸收的光能不能用于光合电子传递而以热的形式耗散掉的光能部分<sup>[12]</sup>。 $q_N$ 是一种自我保护机制,PS II 通过提高非辐射性热耗散来消耗其吸收的过量的光能,从而保护自己免受因天线色素吸收过多光能而引起光合器官破坏或损伤,对保护器官起一定的作用。由图 12 可知,随着干旱胁迫程度的增加,3 种金银花叶片  $q_N$  值均呈现出逐渐上升的趋势,说明在干旱胁迫下,金银花各品种 PS II 反应中心潜在热耗散能力增强,从而避免因 PS II 吸收过量光能而引起光合器官损伤。在 LS 和 MS 下,3 种金银花叶片  $q_N$  增加幅度均较小,重度干旱胁迫时,3 种金银花品种的  $q_N$  显著增大,且与 CK 相比,金丰一号、大毛花和密银花的  $q_N$  值分别上升了 44.6%、19.4% 和 30.2%,表明金丰一号通过提高  $q_N$  及时耗散过剩的光能,有效保护了光合器官免受破坏。

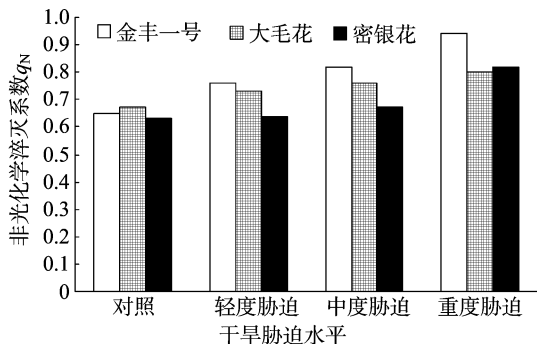


图12 干旱胁迫对非光化学淬灭系数的影响

### 3 小结

叶绿素 a、叶绿素 b 分子含量多少及降低幅度大小、Chla/

b 的比值大小可反映出叶绿素 a 和叶绿素 b 对胁迫的敏感性及胁迫对叶绿素的伤害程度。试验表明,金丰一号叶绿素 a 含量、叶绿素 b 含量以及叶绿素总量都最高,叶绿素 a/b 下降幅度最小。说明金丰一号的抗旱性优于其他金银花品种。

$F_o$ 、 $F_v$ 、 $F_v/F_m$  和  $Y$  等荧光参数的变化程度可用来鉴别植物抵抗或忍耐干旱的能力<sup>[13-14]</sup>。本研究表明,正常供水条件下,3 个金银花品种的  $F_o$  有一定的差异, $F_m$ 、 $F_v$ 、 $F_v/F_o$ 、 $Yield$ 、 $q_p$ 、 $ETR$  等荧光参数差异较小。说明正常供水条件下,3 个金银花品种叶片的 PS II 反应中心的开放程度有所不同。水分胁迫下,3 个金银花品种的荧光参数都发生变化,以重度干旱胁迫为例,金丰一号叶片的  $F_v/F_m$ 、 $F_v/F_o$ 、 $Y$ 、 $q_p$ 、 $q_N$ 、 $ETR$  等各个荧光参数的平均值均高于其他 2 种金银花,而  $F_o$  低于其他品种;从荧光参数在干旱胁迫下的变化幅度看,与其他 2 种金银花品种相比,金丰一号  $F_v/F_m$ 、 $F_v/F_o$ 、 $q_p$ 、 $Y$ 、 $ETR$  下降幅度最小,但金丰一号叶片  $F_o$  增加幅度最小、 $q_N$  增加幅度最大。说明干旱胁迫下金丰一号 PS II 反应中心的胁迫耐性较强,叶片的光化学效率较高,因此,金丰一号具有较强的抗旱性。

### 参考文献:

- [1] 邹琦,李德全,郑国生. 作物耐旱生理生态研究[M]. 济南:山东科学技术出版社,1994.
- [2] 张明生,谈锋. 水分胁迫下甘薯叶绿素 a/b 比值的变化及其与抗旱性的关系[J]. 种子,2001(4):23-25.
- [3] 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.
- [4] Peterson R B, Sivak M N, Walker D A. Relationship between steady-state fluorescence yield and photosynthetic efficiency in spinach leaf tissue[J]. Plant Physiology, 1988, 88(1):158-163.
- [5] 许大全,张玉忠,张荣铎. 植物光合作用的光抑制[J]. 植物生理学通讯,1992,28(4):237-243.
- [6] 汤章城. 逆境条件下植物脯氨酸的累积及其可能的意义[J]. 植物生理学通讯,1984(1):15-21.
- [7] 卢从明,张其德,匡廷云. 水分胁迫对小麦叶绿体激发能分配和光系统 II 原初光能转换效率的影响[J]. 生物物理学报,1995,11(1):82-86.
- [8] 孙志勇,季孔庶. 干旱胁迫对 4 个杂交鹅掌楸无性系叶绿素荧光特性的影响[J]. 西北林学院学报,2010,25(4):35-39.
- [9] 杨柳青,廖飞勇,赵坤,等. 不同除草剂对加拿大一枝黄花生长的影响[J]. 中南林业科技大学学报,2011,31(4):109-113.
- [10] 史胜青,袁玉欣,杨敏生,等. 水分胁迫对 4 种苗木叶绿素荧光的光化学淬灭和非光化学淬灭的影响[J]. 林业科学,2004,40(1):168-173.
- [11] 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.
- [12] 杨玉珍,陈刚,彭方仁. 干旱胁迫对不同种源香椿主要叶绿素荧光参数的影响[J]. 东北林业大学学报,2010,38(7):49-51.
- [13] 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.
- [14] 匡廷云. 作物光能利用效率与调控[M]. 济南:山东科学技术出版社,2004.