

NaCl 胁迫对普陀樟叶绿素荧光参数的影响

李影丽^{1,2}, 汪奎宏^{*}, 杜国坚, 许利群, 杨华, 肖纪年^{1,2}

(1. 浙江林学院林业与生物技术学院, 浙江临安 311300; 2. 浙江省林业科学研究院, 浙江杭州 310023)

摘要 [目的] 探讨NaCl胁迫对普陀樟叶绿素荧光参数的影响。[方法] 以1年生普陀樟叶片为试材, 采用田间试验的方法, 设置3种处理(NaCl溶液浓度分别为3、5、7 g/L), 以清水为对照(CK), 研究盐处理对苗木生长量、叶绿素含量及叶绿素荧光参数的影响。[结果] NaCl胁迫下, 普陀樟苗高生长量下降, 叶片的叶绿素含量下降趋于平稳; PS 潜在活性(Fv/Fo)、原初光能转化率(Fv/Fm)变化一致, 整体呈上升趋势; 随NaCl胁迫的加剧, Fo变化最明显, 叶绿素荧光参数间相关性先增强后减弱。[结论] 普陀樟具有较好的抗盐性和广泛适应性。

关键词 NaCl胁迫; 普陀樟; 叶绿素荧光特性

中图分类号 S718.43 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)22-09377-03

Effects of NaCl Stress on Chlorophyll Fluorescence Parameters in *Gnnamomum japonicum* var. *Cherii*

LI Ying-li et al. (School of Forestry and Biotechnology, Zhejiang Forestry College, Linan, Zhejiang 311300)

Abstract [Objective] Study on the changes of chlorophyll fluorescence parameters in *Gnnamomum japonicum* var. *cherii* under NaCl stress. [Method] The seedling growth increment, chlorophyll content and chlorophyll fluorescence parameters in leaves of 1-year old *Gnnamomum japonicum* var. *cherii* were investigated in field experiment. [Result] Under NaCl stress, seedling growth increment reduced and the chlorophyll content decreased to a stable value; changes of Fv/Fm and Fv/Fo assumed identical increasing trend. With the aggravation of salt stress, most variations were observed in Fo, correlations among chlorophyll fluorescence parameters assumed "rise-drop" trend (in the treatment of 7 g/L NaCl). [Conclusion] *Gnnamomum japonicum* var. *cherii* is endowed with strong salt resistance and wide adaptability.

Key words NaCl Stress; *Gnnamomum japonicum* Seb.; Chlorophyll Fluorescence Parameters

普陀樟(*Gnnamomum japonicum* Sieb.)属樟科樟属植物, 濒临灭绝, 为国家级重点保护野生植物, 分布于我国东部沿海, 浙江省主要分布于舟山群岛。关于樟科植物在栽培及园林绿化等方面的研究较多, 而对普陀樟在逆境条件下生长及荧光动力学特性的研究较少。笔者通过设置不同盐浓度, 对盐胁迫下普陀樟生长、叶片叶绿素荧光参数、叶绿素含量进行了研究, 以期弄清盐胁迫下普陀樟的生理变化, 为我国沿海防护林建设, 特别是沿海滩涂盐碱地防护林建设开发选育适生植物提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材料 供试普陀樟苗木来自浙江省舟山市, 于2007年4月28日将生长良好, 平均高度为16.85 cm的1年生实生苗移至浙江省林业科学研究院苗圃。

1.2 方法 将移植的普陀樟进行盆栽, 每盆(体积为1加仑)栽种1株, 每个处理20株。以蛭石珍珠岩(2:2:1)的混合材料作为栽培基质, 培养期间每3~5 d浇1次水, 以保持土壤湿度, 缓苗期为2个月。7月8日浇灌1次复合肥营养液, 以确保苗木生长良好。7月19日苗木接受盐处理, 此时苗木已正常生长且侧枝较多。舟山普陀樟盐处理周期为42 d。盐处理(NaCl溶液)浓度分别为3、5、7 g/L, 各浓度盐溶液pH值8.14(依据慈溪海涂土壤盐分含量和pH值测试数据), 以清水为对照。处理期间, 每7 d浸泡1次(持续24 h)盐溶液, 并分别在盐处理开始后的3、13、28、42 d混合采集处理苗木叶片(每株2~3片), 液氮处理后立即置于-78℃保存备用。生理指标测定时, 每处理3个重复。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 生长量的测定。用卷尺测量处理后13、28、42 d的苗高, 以前后2次测量值之差反映苗木当期生长情况, 精确到

0.1 cm。

1.3.2 叶绿素含量的测定。参照陈福明等的方法, 采用混合液浸提法^[1], 避开主脉, 剪取碎的新鲜样品0.02 g, 共3份, 分别放入试管中, 加入5 ml 丙酮-乙醇-水(4.5:4.5:1)的混合溶液, 于黑暗处浸提24 h, 待叶片脱色后, 把提取液倒入光径1 cm的比色杯内。以丙酮-乙醇-水(4.5:4.5:1)的混合溶液为空白对照, 在波长663、645 nm下测定吸光度。根据Aron公式计算: 叶绿素总量(CH) = 8.02 × A_{663 nm} + 20.2 × A_{645 nm}

1.3.3 荧光动力学参数的测定。将待测叶片用特制的暗适应夹遮光处理30 min后, 处理第42天早上用美国Li-cor公司产Li-6400光合系统进行叶绿素荧光参数的测定。测定苗木中上部枝条从顶端数第4、5片叶的初始荧光(Fo)、最大荧光(Fm)、可变荧光(Fv = Fm - Fo)、PS 原初光能转换效率(Fv/Fm)、PS 的潜在活性(Fv/Fo), 其中Fo、Fm、Fv/Fm等参数由仪器自动给出。每个处理测3株, 重复测定10次, 以10次观察值的平均值作为每处理测定的最终结果。

1.4 数据处理 试验所得数据用Microsoft Excel 2003作图, 用SPSS13.0软件统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同氯化钠浓度对苗高生长量的影响 由图1可知, 苗高生长量随盐浓度的升高总体呈增加趋势; 随盐胁迫时间的增长而迅速下降(5 g/L处理除外)。3 g/L和7 g/L处理下苗高生长量随盐胁迫时间增长下降较迅速; 5 g/L处理下苗高生长量先下降后上升, 表明受盐胁迫影响不大。方差分析表明, 盐胁迫13 d时, 7 g/L盐处理的变化极显著(P < 0.01), 说明普陀樟有较好的抗逆性; 随盐处理时间的延长(42 d), 5 g/L盐胁迫处理的植物高度变化甚微, 3、7 g/L盐处理的植株生长高度显著降低。

2.2 不同氯化钠浓度对叶绿素含量的影响 由图1可知, 随着盐浓度的升高, 普陀樟叶绿素含量变化不大, 但不同时期叶绿素含量的变化各异。随着盐胁迫时间增长, 低浓度3 g/L处理的叶绿素含量先下降再上升, 表明低浓度盐处理并

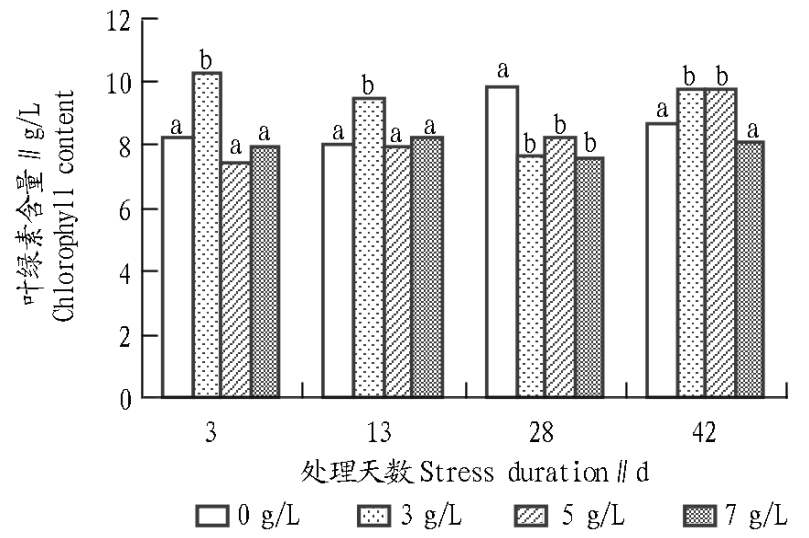
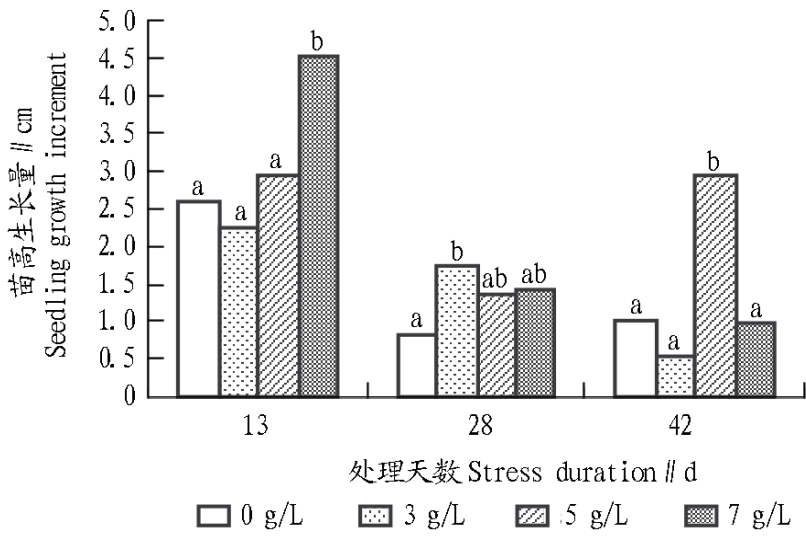
基金项目 浙江省重大攻关项目(2005C12004)。

作者简介 李影丽(1981-), 女, 河南周口人, 在读硕士, 从事沿海防护林研究。* 通讯作者。

收稿日期 2008-05-15

不影响普陀樟叶片的光合潜力;5、7 g/L 盐处理的叶绿素含

量略低于3 g/L 盐处理并趋于稳定。



注:小写字母不同表示同一处理时间不同处理水平下的差异显著 (P < 0.05)。

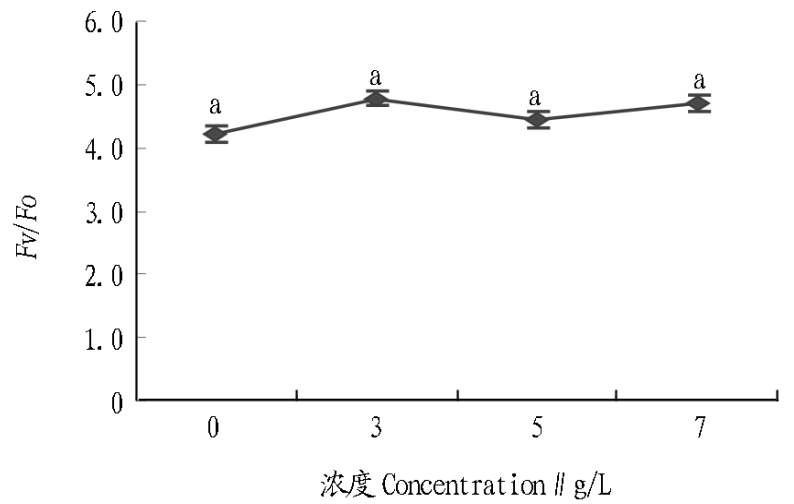
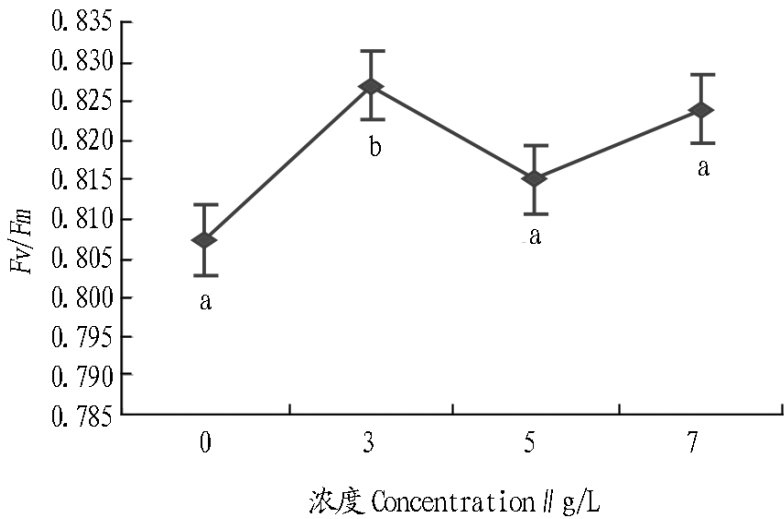
Note: Different small letters indicate significant difference under different treatment level at the same time.

图1 氯化钠胁迫对普陀樟生长和叶片叶绿素含量的影响

Fig.1 Effects of NaCl treatment on the growth and chlorophyll content of *Ginnamomum japonicum*

2.3 不同氯化钠浓度对 Fv/ Fm 和 Fv/ Fo 的影响 Fv/ Fm 代表 PS 的原初光能转换效率。由图2 可知,氯化钠胁迫 45 d 时,与对照相比,随胁迫浓度的增加,Fv/ Fm 整体呈现升-降-升趋势。3 g/L NaCl 处理下普陀樟的 Fv/ Fm 最大,比对照高 2.5%,5、7 g/L 也分别较对照高 1.0%、2.1%。方差分析表明,普陀樟 3 g/L NaCl 处理与其余各浓度处理差异达显著水平 (P < 0.05)。

Fv/ Fo 代表 PS 的潜在活性。由图2 可知,氯化钠胁迫 42 d 时,Fv/ Fo 的变化趋势与 Fv/ Fm 一致。与对照相比,各浓度 NaCl 处理下,普陀樟 Fv/ Fo 均有不同程度的升高,但各浓度处理间普陀樟的 PS 的潜在活性差异不显著 (P > 0.05)。从图2 还可以看出,随 NaCl 处理浓度的增加,普陀樟的 Fv/ Fm、Fv/ Fo 都没有降低,反而略有上升,说明普陀樟 PS 的原初光能转换效率没有受到盐胁迫的影响。



注:小写字母不同表示不同 NaCl 水平下的差异显著 (P < 0.05)。

Note: Different small letters indicate significant difference under different NaCl levels.

图2 氯化钠胁迫 42 d 时对普陀樟的 Fv/ Fm 和 Fv/ Fo 的影响

Fig.2 Effects of NaCl treatment on chlorophyll fluorescence parameters in the leaves of *Ginnamomum japonicum*

表1 叶绿素荧光参数间相关性

Table 1 Correlation coefficient among different chlorophyll fluorescence parameters

	Chl	Fo	Fm	Fv	Fv/ Fm	Fv/ Fo
Chl	1	-0.823	-0.714	-0.705	-0.628	-0.624
Fo	-0.682	1	0.977**	0.974**	0.925*	0.932*
Fm	-0.306	0.290	1	1.000**	0.983**	0.987**
Fv	-0.146	0.179	0.994**	1	0.986**	0.990**
Fv/ Fm	0.218	-0.261	0.848	0.903	1	0.999**
Fv/ Fo	0.245	-0.300	0.826	0.885	0.999**	1

注:左下角为CK, 右上角为3 g/L 处理;* 和** 分别表示显著水平 (P < 0.05) 和极显著水平 (P < 0.01)。

Notes: The data on the bottom left corner is CK and that on the top right corner is under the treatment of 3 g/L NaCl; * and ** represent significant difference at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

表2 叶绿素荧光参数间相关性

Table 2 Correlation coefficient among different chlorophyll fluorescence parameters

	Chl	Fo	Fm	Fv	Fv/ Fm	Fv/ Fo
Chl	1	-0.980	0.973	0.974	0.972	0.974
Fo	0.653	1	0.261	0.023	-0.764	-0.747
Fm	-0.425	-0.742	1	0.971**	0.422	0.446
Fv	-0.452	-0.794	0.997**	1	0.626	0.647
Fv/ Fm	-0.538	-0.923*	0.942*	0.966**	1	0.998**
Fv/ Fo	-0.519	-0.899*	0.960**	0.979**	0.997**	1

注:左下角为5 g/L 处理, 右上角为7 g/L 处理;* 和** 分别表示显著水平 (P < 0.05) 和极显著水平 (P < 0.01)。

Notes: The data on the bottom left corner is under the treatment of 5 g/L NaCl and that on the top right corner is under the treatment of 7 g/L NaCl; * and ** represent significant difference at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

2.4 叶绿素与荧光参数的相关分析 由表1 可知,正常条

件下,叶绿素荧光参数 Fv/ Fo、Fv/ Fm 与 Fo 呈弱相关关系,

Fv 与 Fm、Fv/Fm 与 Fv/Fo 相关性达极显著水平($P < 0.01$), 其余荧光参数间相关性均未达显著或极显著水平; 叶绿素含量与荧光参数的相关性均未达显著水平。由表1 还可以看出, 叶绿素荧光参数相关性随盐分含量的上升逐渐增加。在3 g/L 盐胁迫处理下, 各荧光参数间相关性均达显著或极显著水平; 叶绿素含量与荧光参数的相关性仍未达显著水平。由表2 可知, 5 g/L 盐胁迫处理下, 各参数相关性进一步增强; 但当盐胁迫浓度为7 g/L 时, 各参数相关性显著降低, Fo、Fv/Fm 与各参数相关性均未达显著水平。

3 结论与讨论

(1) 植物在盐胁迫下, 由于过量的 Na^+ 渗入细胞使原生质凝聚导致叶绿素被破坏, 叶绿素含量下降^[2-3], 植物细胞代谢和生长对盐逆境反应灵敏。该研究表明, 随着盐浓度的升高, 苗高生长量总体呈升高趋势, 叶绿素含量变化不大; 随着盐胁迫时间的延长, 苗高生长量下降较迅速。

(2) 该研究中 Fv/Fo 和 Fv/Fm 等值在5 g/L 处理下下降, 表明盐胁迫下, PS 反应中心处于完全关闭时的量子产量下降, 通过PS 的电子传递量减少。但随后有上升趋势, 说明普陀樟具有较高的光合电子传递活性, 其光合器官能把所捕获的光能较充足地转化为生物化学能以提高光合电子传递速率, 形成更多的ATP 和NADPH, 为光合碳同化提供充分的能量和还原力。

(3) 该研究表明, 氯化钠胁迫42 d 时, 普陀樟叶片的 Fv/Fm, 即 PS 原初光能转换效率在0.3、5、7 g/L 处理时, 分

别为0.807、0.827、0.815、0.824, 这一结果与过去许多研究中提到的0.80~0.85 一致。这表明普陀樟是阳生植物, 且光照强度已经达到其光合所需能量。

(4) 该研究还表明, 正常生长条件下, Fv 与 Fm、Fv/Fm 与 Fv/Fo 相关性达显著水平, 其余荧光参数间相关性均未达显著或极显著水平; 叶绿素含量与荧光参数的相关性均未达显著水平; 随盐胁迫浓度的增加, Fo 变化最明显, 其相关性逐渐增强, 与大多数参数相关性均达显著水平, 表明随盐胁迫的加剧, 各荧光参数间呈独立作用趋势。当胁迫达到7 g/L 的浓度时, Chl、Fo、Fv/Fm 参数相关性减弱, 均未达显著水平。因此不宜用来衡量普陀樟受胁迫程度和抗盐性强弱, 这与Fernandez 等对苹果的研究结论一致^[4]。Fm、Fv、Fv/Fo 间的相关性始终达显著或极显著水平, 可作为樟树的重要评定指标。虽然普陀樟显示了较好的耐盐性和适应性, 但由于树种自身生物学特性和周围环境的影响, 能否将其作为沿海滩涂地区防护林树种推广, 还有待于进一步研究。

参考文献

(上接第9376 页)

plays a central role in modulating reduced glutathione levels in reed callus under salt stress[J]. *Harta*, 2008, 227: 611 - 623.

[5] HUANG C H, HE W L, GUO J K, et al. Increased sensitivity to salt stress in an ascorbate deficient *Aralidopsis* mutant[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005, 56: 3041 - 3049.

[6] YUKIKA SANADA, HROKO UEDA, KAZUHIRO KURIBAYASHI. Novel light dark change of proline levels in halophyte (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) and glycophytes (*Hordeum vulgare* L. and *Triticum aestivum* L.) leaves and roots under salt stress[J]. *Hart Cell Physiol*, 1995, 36(6): 965 - 970.

[7] WANG H L, ZHANG C L, LIANG H G. Seasonal changes of polyamines in habitat adaptation of different ecotypes of reed plants[J]. *Oecologia*, 1995, 101: 119 - 123.

[8] CUI S X, WANG W, ZHANG C L. Plant generation from callus cultures in two ecotypes of reed (*Phragmites communis* Trinus) [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Hart*, 2002, 38: 325 - 329.

[9] HEATH R L, PACKER L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation[J]. *Arch Biochem Biophys*, 1968, 125: 189 - 198.

[10] CUI S X, ZHAO L Q, ZHAO M G, et al. The tolerance of Embryogenic suspension cultures from two reed ecotypes to salt- Changes of respiration pathway [J]. *Israel J Hart Sci*, 2005, 53: 11 - 18.

[11] 张殿忠, 汪沛洪, 赵会贤. 测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法[J]. *植物生理学通讯*, 1990(4): 62 - 65.

[12] VELJOMIC JOVANOMIC S D, NOCTOR G, FOYER C H. Are leaf hydrogen peroxide concentrations commonly overestimated? The potential influence of artefactual interference by tissue phenolics and ascorbate[J]. *Hart Physiol*, 2002, 40: 501 - 507.

[13] ELSNER E F, HELPEL A. Inhibition of nitrite formation from hydroxylamine and nitrite: A simple assay for superoxide dismutase[J]. *Arch Biochem Biophys*, 1976, 70: 616 - 620.

[14] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantity of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Arch Biochem Biophys*, 1976, 72: 248 - 254.

[15] FRIDOMCHI. Biological effects of the superoxide radical[J]. *Arch Biochem Biophys*, 1986, 247: 1 - 11.

[16] KRUSE E, MOCK H P, GRIMM B. Reduction of coproporphyrinogen oxidase level by antisense RNA synthesis leads to deregulated gene expression of plastid proteins and affects the oxidative stress defense system[J]. *EMBO J*, 1995, 14: 3712 - 3720.

[17] POLLE A, OTTER T, SIEFERT F. Apoplastic peroxidases and lignification in needles of Norway spruce (*Picea abies* L.) [J]. *Hart Physiol*, 1994, 106: 53 - 60.

[18] CHENG X, ASADA K. Ascorbate peroxidase in tea leaves: Occurrence of two isozymes and the differences in their enzymatic and molecular properties[J]. *Hart Cell Physiol*, 1989, 30: 987 - 998.

[19] SOLOMONA, BEER S, WISEL Y, et al. Effect of NaCl on the carboxylating activity of Rubisco from *Taraxacum* in the presence and absence of proline related compatible solutes[J]. *Physiologia Hartarum*, 1994, 90: 198 - 204.

[20] VAN RENSBURG L, KRUGER C H J, KRUGER H. Proline accumulation as drought tolerance selection criterion: Its relationship to membrane integrity and chloroplast ultrastructure in *Nicotiana tabacum* L. [J]. *Journal of Hart Physiol*, 1993, 141: 188 - 194.

[21] SMIRONOFF N, CUMES Q J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes[J]. *Phytochem*, 1989, 28: 1057 - 1060.

[22] 张俊环, 黄卫东. 植物对温度逆境的交叉适应性及其机制研究进展 [J]. *中国农学通报* 2003, 19(2): 95 - 100.