

广藿香八倍体叶片叶绿素荧光的日变化

严寒静,熊 洋,张宏意,何梦玲

(广东药学院 中药学院,广东 广州 510006)

摘 要:以广藿香同源八倍体不同株系为试材,四倍体广藿香为对照,在生长季节采用 Handy-PEA 便携式植物效率仪对广藿香八倍体叶绿素荧光参数进行了日变化测定和分析。结果表明:初始荧光(F_0)、最大荧光(F_m)、PSII 原初光能转化效率(F_v/F_m)、以吸收光能为基础的光合性能指数(PI)均存在明显的日变化。其中 F_v/F_m 、 PI 变化趋势基本一致,总体上呈现先下降后上升的趋势,最低值基本出现在 16:00; F_0 均为双峰曲线。说明不同株系广藿香防御强光破坏的主要机制可能不同。

关键词:广藿香;同源八倍体;叶绿素荧光;日变化

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)24-0153-04

多倍化是植物进化变异的自然现象,也是促进植物发生进化改变的重要力量^[1],植物界约有二分之一的物

种属于多倍体。药用植物中的多倍体也普遍存在,一般具有植株巨大、叶色深绿、抗逆性强等特点^[2]。广藿香(*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.)属唇形科刺蕊草属植物,以干燥地上部分入药,具有芳香化湿,开胃止呕,发表解暑的功效^[3]。广藿香为广东道地药材,我国分布的广藿香普遍为四倍体,在利用现有优良品种基因背景的基础上,用秋水仙素诱导获得广藿香八倍体,不仅可以解决四倍体产量低的问题,也会得到更多的广藿香新品种。目前,叶绿素荧光参数分析技术被广泛应用到农作物、果树等的逆境生理、品质鉴定和抗性品种的选择中^[4-6],对于药用植物的研究鲜见报道。

第一作者简介:严寒静(1972-),女,博士,副教授,现主要从事药用植物资源开发与品质评价等研究工作。E-mail:yanhanjing1211@163.com.

责任作者:何梦玲(1975-),女,博士,副教授,现主要从事药用植物生物技术等研究工作。E-mail:hmlmf@126.com.

基金项目:广东省科技厅资助项目(2015A030302084);广东省中医药管理局资助项目(20111252);中山市科技计划资助项目(20101H019)。

收稿日期:2015-08-19

A Comparative Study on Effective Composition Among Different Varieties of *Aloe vera*

WANG Yidan¹, WANG Liang², LIU Bingyan²

(1. Biological Engineering Branch, Jilin College of Engineering, Siping, Jilin 136001; 2. Yanbian Korean Autonomous Prefecture of Agricultural Sciences, Longjing, Jilin 133400)

Abstract: Taking *Aloe vera* as test materials, using anthrone-sulfuric acid method, Folin-phenol A, Folin-phenol B to research the content of polysaccharides, protein and moisture. The results showed that the effect of growing on the polysaccharide extracting rate was significant difference, six-year-old aloe was significantly better than other years, the content of polysaccharide of *Aloe vera* L. var. *Chinesis* (haw) were significantly better than the *Aloe vera* L., up to 3.092 mg/mL. The content of protein of whole leaf of six-year-old *Aloe vera* L. var. *Chinesis* (haw) was significantly better than other varieties, up to 0.845 mg/mL, the gel and water content of six-year-old *Aloe vera* whole leaf was significantly lower than other years, amounting to 97.70%, it is an ideal material for the development of pharmaceuticals, beauty and health.

Keywords: *Aloe vera*; polysaccharide; protein; moisture

该课题组前期以石牌广藿香为试材,通过秋水仙素诱导获得了八倍体植株^[7],该研究对移至大田 6 个月的 5 个八倍体株系的叶绿素荧光参数及其日变化进行分析比较,以期了解不同株系广藿香八倍体荧光特性的差异,为广藿香的高效优质栽培及优良品种选育提供重要依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

广藿香 5 个不同八倍体株系(PC1~PC5)由该课题组经秋水仙素浸泡丛生芽诱导培育所得,经根尖染色体观察和流式细胞仪鉴定为八倍体($2n=8x=128$)^[6]。

1.2 试验方法

自 2013 年 5 月大田种植,常规管理。于 2013 年 11 月 16—18 日晴天时,用 Handy-PEA 便携式植物效率仪测定叶片叶绿素荧光参数。

1.3 项目测定

1.3.1 叶绿素荧光参数的测定 参照 GENTY 等^[8]的方法进行计算。从 8:00—18:00,每隔 2 h 测定广藿香叶绿素荧光参数 F_o 、 F_m 、 F_v/F_m 、 PI 日变化,以正常四倍体植物为对照组,同时记录温度和相对湿度。

1.3.2 叶绿素含量的测定 采用 80% 丙酮浸提法^[9],用 Unicam 5625 UV 分光光度计测定提取液在波长 663 nm 和 645 nm 处的光密度值,按 Arnon 法的公式^[9],计算叶片叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素总含量。

1.4 数据分析

采用 Excel 和 DPS 软件对数据进行分析。

表 1 不同倍性广藿香叶绿素含量比较(n=6)

Table 1 Chlorophyll content of *P. cablin*

株系 Strain	叶绿素 a 含量 Chlorophyll a content /($\mu\text{g} \cdot \text{mm}^{-2}$)	叶绿素 b 含量 Chlorophyll b content /($\mu\text{g} \cdot \text{mm}^{-2}$)	总叶绿素含量 Total chlorophyll content /($\mu\text{g} \cdot \text{mm}^{-2}$)	叶绿素 a/b 比值 Chlorophyll a/b value
PC1	0.35±0.03**	0.10±0.01*	0.45±0.02**	3.52±0.57
PC2	0.57±0.02**	0.18±0.02**	0.75±0.03**	3.24±0.31
PC3	0.36±0.04*	0.09±0.01**	0.45±0.04*	3.88±0.63
PC4	0.41±0.02	0.11±0.02	0.52±0.03	4.00±0.87
PC5	0.41±0.02	0.10±0.01**	0.51±0.02*	4.25±0.23**
对照组 CK	0.44±0.00	0.12±0.00	0.56±0.01	3.55±0.12

注:数字右上方*表示与对照组差异显著($P<0.05$),**表示与对照组差异显著($P<0.01$)。

Note: * show significant difference $P<0.05$, ** show significant difference $P<0.01$.

2.3 广藿香八倍体株系叶绿素荧光参数日变化

2.3.1 F_o 的日变化 从图 2A 可知,广藿香四倍体与八倍体初始荧光值均为双峰曲线,日变化趋势表现明显差异,具体分为 2 种情况:1) PC1、PC3、PC4 为先上升后下降再上升的趋势,8:00—12:00 上升,达到最高点后下降,16:00 时最低,然后回升至清晨水平,变化幅度较大。

2 结果与分析

2.1 环境因素日变化

由图 1 可知,一天中,温度与湿度变化刚好相反。清晨和傍晚温度较低、湿度较大,14:00 左右,温度达到最高,湿度则降到最低。

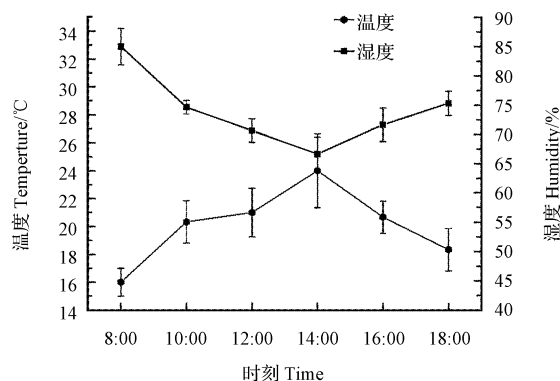


图 1 广藿香大田环境温湿度日变化

Fig. 1 Environmental temperature and humidity changes of *P. cablin*

2.2 广藿香八倍体株系叶绿素含量测定

由表 1 可知,PC1、PC2、PC3、PC5 株系的叶绿素 a、b、总叶绿素单位面积含量均与对照组存在显著或极显著性差异,其中 PC2 株系表现为极显著高于对照组($P<0.01$),PC4 株系低于对照组。而叶绿素 a/b 比值则仅有 PC5 株系极显著高于对照组($P<0.01$),而 PC1、PC2 株系低于对照组。

这种变化趋势表明当光照开始增强时,就出现光抑制现象,12:00 下降是因为叶片开启了对光保护的调节机制。2) 对照组、PC2、PC5 则相对平缓,先下降后上升再下降。说明当光照有所增强后才出现光抑制。PC2 的 F_o 值一直小于对照组(除 18:00 外),说明其高光强和高温保护作用的调节机制更强。

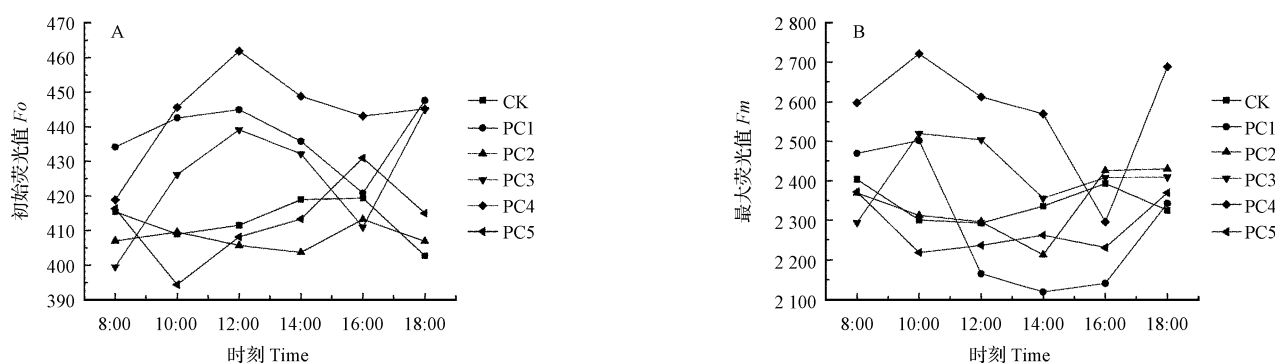


图2 不同品系八倍体广藿香初始荧光值及最大荧光值

Fig. 2 F_o and F_m of different ploidy *P. cablin*

2.3.2 F_m 的日变化 从图 2B 可知, PC1、PC3、PC4 的 F_m 变化趋势一致且与其 F_o 相似, 同样说明了光照的增强产生了光抑制。PC2、PC5 则与对照组变化趋势一致, 在光照最强的 12:00—14:00, PC2 的 F_m 值下降的幅度大于对照组, 同样说明其高光强和高温保护作用的调节机制更强。

2.3.3 F_v/F_m 的日变化 由图 3A 可知, 广藿香四倍体

与八倍体 PSII 潜在光化学效率日变化趋势基本一致, 随着时间先略有下降再回升至清晨水平, 在光照相对较强的 10:00—16:00, 该值一直处于下降状态, 说明强光抑制了广藿香的光合作用。其中 PC2、PC4 F_v/F_m 均高于对照组, 说明二者的 PSII 原初光能转化效率高。PC3 在 12:00 以前 F_v/F_m 高于对照组, 强光致使其产生的光抑制大于对照组。

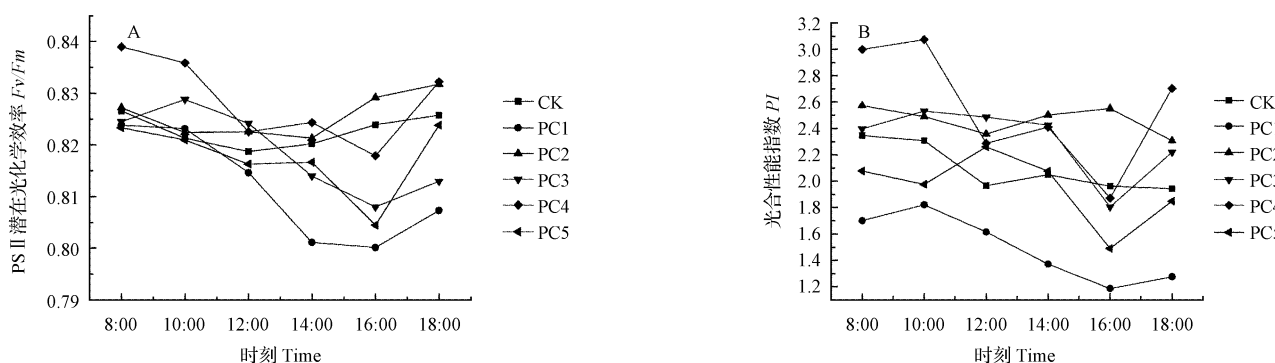


图3 不同品系八倍体广藿香潜在光化学效率及光合性能指数

Fig. 3 PSII photochemical parameters and photosynthetic performance index of different ploidy *P. cablin*

2.3.4 PI 的日变化 由图 3B 可知, 广藿香四倍体与八倍体光合性能指数日变化趋势基本一致, 随着时间先略有上升再下降到最低点, 然后回升至清晨水平。这说明了随着光强的逐渐增大, 温度的逐渐升高, 叶片的光合速率也随之缓慢上升, 但到 10:00 以后, PI 值跟着降低, 有可能是高温蒸腾作用使植物叶片气孔开度降低或关闭, 引起光合作用速率下降, 从而引发光合午休现象。四倍体 PI 值在 12:00、16:00、18:00 接近, 表现为相对较低, 八倍体 PI 值的最低点出现在 16:00 (PC2 除外), 与 F_v/F_m 相对应; 其中 PC2、PC3、PC4 三个株系的 PI 平均值均大于对照组, 分别高出 17.57%、10.27%、24.42%。其中, 8:00—10:00, PC4 的 PI 值最高, 10:00 开始下降, 16:00 达到最低, 然后回升。说明 PC4 不耐强

光, 但在清晨和傍晚光照比较柔和的时间段, 光吸收率较对照组增加了 30% 左右。PC3 表现出与 PC4 同样的特性, 但变化幅度小, 说明其光保护机制较强。PC2 变化幅度最小, 在光照不断增强的 8:00—12:00, PI 值仅略有下降, 随着叶片保护机制的开启, PI 值又有所增加, 16:00 达到最高, 随后因光照减弱 PI 值有所下降。说明了 PC2 耐强光照。这与植株的叶绿素含量及叶片特征 (如厚度等) 有关。

3 结论与讨论

植物叶片对环境的光合作用可反映植物在不同光照条件下生存和生长能力以及适应环境变化的能力^[10]。叶绿素荧光技术在测定植物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

特作用^[11]。不同物种^[12]、同一物种不同倍性^[13]叶绿素荧光参数日变化趋势多样,说明不同倍性植株防御强光破坏的主要机制可能不同。

综合叶绿素含量、叶绿素荧光参数及植株生长状况,将所获得的5个株系分成如下类型。

PC2为耐强光株系。叶绿素含量极显著高于对照组,植株生长快速,株型巨大,而且耐强光照射,适合生长在光照强烈的地区,成为今后品种筛选的重点考察对象。

PC3和PC4为不耐强光株系。二者各参数总体表现为高于其它品系,对光能的利用效率较高,强光照射会导致光合作用下降,但在光照较柔和的清晨和傍晚光合作用明显高于对照组,植株生长快速。因此,这2个株系适合生长在多阴雨的地区,在光照强烈的时间应该采取人工遮阴,或者与其它植株较高的作物进行套种,提高光照利用率。

PC1和PC5为缺陷株系,叶绿素含量、*PI*值都低于对照组,对光能利用效率较低,植株生长缓慢、矮小,不适宜进行后续的筛选工作。

参考文献

- [1] WENDEL J F. Genome evolution in polyploids [J]. *Plant Molecular Biology*, 2000, 40(1): 225-249.
- [2] 张汉明,许铁峰,郭美丽,等. 药用植物的多倍体育种[J]. *中草药*, 2002, 33(7): 附1-附3.
- [3] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典(第一部)[M]. 第9版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 42.
- [4] 徐德聪,吕芳德,潘晓杰. 叶绿素荧光分析技术在果树研究中的应用[J]. *经济林研究*, 2003, 21(3): 88-91.
- [5] 范苓,段伟,程杰山,等. 水杨酸对高温胁迫下及恢复期间葡萄幼苗叶片光合机构PSII的影响[J]. *果树学报* 2009, 26(5): 623-627.
- [6] 左力辉,段龙飞,张军,等. 新疆野苹果光合和叶绿素荧光参数季节变化[J]. *北方园艺*, 2015(1): 17-22.
- [7] 严寒静,熊洋,叶燕莹,等. 广藿香同源八倍体诱导与鉴定[J]. *热带亚热带植物学报*, 2014, 22(4): 351-356.
- [8] GENTY B, BREANTAIS 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.
- [9] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003: 134-137.
- [10] 刘建福. 澳洲坚果叶片光合速率和叶绿素荧光参数日变化[J]. *西南农业大学学报(自然科学版)*, 2006, 28(2): 271-274.
- [11] 褚建民,孟平,张劲松,等. 土壤水分胁迫对欧李幼苗光合及叶绿素荧光特性的影响[J]. *林业科学研究*, 2008, 21(3): 295-300.
- [12] 朱亚红,孙存举,朱铭强,等. 河北杨与沙棘的光合生理特性及叶绿素荧光参数比较[J]. *中南林业科技大学学报*, 2015, 35(2): 26-31.
- [13] 李林光,李芳东,王颖,等. 苹果四倍体品种叶绿素荧光参数的日变化[J]. *果树学报*, 2011, 28(1): 129-133.

Diurnal Changes in Chlorophyll Fluorescence Parameters of Homologous Octoploid *Pogostemon cablin* Leaves

YAN Hanjing, XIONG Yang, ZHANG Hongyi, HE Mengling

(College of Traditional Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou, Guangdong 510006)

Abstract: Five homologous octoploid lines of *Pogostemon cablin* as well as the tetraploid cultivar were used as materials to measure the changing of the diurnal variations of chlorophyll fluorescence parameters by Handy-PEA. The results indicated that the changes of *Fo*, *Fm*, *Fv/Fm* and *PI* in a day changed significantly. *Fv/Fm* and *PI* showed similar changes, and all the values first declined and then rose. The lowest values appeared at 16:00. *Fo* value of lines showed a double-peak curve. It showed that the main defense mechanism of light damage to the different ploidy apple varieties might be different.

Keywords: *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.; homologous octoploid; chlorophyll fluorescence parameter; diurnal change