

高温胁迫对丹参光合生理指标及叶绿素荧光特性的影响

孙云飞^{1,2}, 巢建国¹, 谷巍¹, 李孟洋¹, 侯皓然¹, 赵君³

(1. 南京中医药大学 药学院, 江苏 南京 210023; 2. 江苏省中医院, 江苏 南京 210029;

3. 贵州信邦制药股份有限公司, 贵州 贵阳 550002)

摘要:以丹参为试材,采用土培盆栽法,于第1茬花开前进行高温胁迫处理,研究了高温胁迫对丹参生理指标、光合及叶绿素荧光特性的影响。结果表明:随着高温胁迫时间的延长,丹参叶片超氧化物歧化酶(SOD)活性呈上升趋势,而过氧化氢酶(CAT)活性呈下降趋势;丙二醛(MDA)、游离脯氨酸(Pro)含量均呈上升趋势,且与胁迫时间呈极显著多项式关系。净光合速率(Pn)、气孔导度(Gs)、胞间二氧化碳浓度(Ci)和蒸腾速率(Tr)均呈下降趋势,且各指标均与胁迫时间呈负相关。最大光化学量子产量(Fv/Fm)、PSII潜在光化学活性(Fv/Fo)、有效光化学量子产量(Fv'/Fm')、光化学淬灭系数(qP)和表观光合电子传递速率(ETR)均呈下降趋势,且各指标均与胁迫时间呈负相关,非光化学淬灭系数(NPQ)呈先上升后下降趋势。研究表明,高温(40℃)对丹参生理指标、光合及叶绿素荧光特性有较大的影响,且各功能指标共同作用,以减轻植株所受伤害。

关键词:丹参;高温胁迫;生理特性;光合特性;叶绿素荧光特性

中图分类号:S 567.5⁺3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)06-0142-06

丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge)是唇形科药用植物,具有活血化瘀、消肿止痛、养血安神等功效^[1],主产于贵州、四川、安徽、江苏、河南等地。目前随着温室效应的加强,各地区高温天气频现,而高温热害严重影响着植物的生长及生理代谢,成为限制植物生长、生产力和药材质量的主要环境因子之一^[2]。大量研究表明,高温胁迫可导致植物体内活性氧代谢失调,引起植物细胞类囊体膜脂质过氧化,质膜透性增加^[3],抑制光合电子的传递,降低光合速率。而植物在长期适应过程中,逐步形成了独特的生理生化特性^[4],如激起植物体内抗氧化酶活性短期内升高^[5]、丙二醛和脯氨酸含量积累^[6],以减轻或避免活性氧自由基的伤害。同时叶绿素荧光可以无损、快速地检测到水分胁迫下植物光合机构的真实行为,通过

分析荧光参数的变化可直观反映出胁迫对植株的影响^[7]。目前,关于丹参的高温胁迫研究尚鲜见报道。因此,深入研究高温胁迫对丹参生理指标、光合特性及叶绿素荧光特性的影响,分析丹参适应高温的生理机制对于丹参的栽培管理、抗热育种具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

丹参种苗采集于贵州铜仁,按规范化要求种植于南京中医药大学药用植物园。经南京中医药大学中药资源学教研室巢建国教授鉴定为唇形科植物丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge)。

1.2 试验方法

选取长势相近的丹参植株种于瓦盆中,盆口径60 cm,高50 cm,内装均匀打碎的砂壤土,每盆1株,6盆重复,正常水分管理,培养7 d。适应完成后将试验组植株移入人工气候箱内进行高温处理(40℃),空气湿度60%,定期补水。分别于处理0、1、3、5、7 d后,随机选取生长旺盛的功能叶测量丹参叶片光合特性及叶绿素荧光特性,每株植物取5~6片功能叶进行活体测定,每次5次重复数据。分别于处理0、2、4、6、8 d后,均匀随机选取各植株生长旺盛的功能叶,剪碎混匀,用于测定叶片

第一作者简介:孙云飞(1982-),男,硕士,主管中药师,研究方向为中药资源培育与利用。E-mail:18901595599@163.com.

责任作者:巢建国(1960-),男,硕士,教授,现主要从事中药资源开发等研究工作。E-mail:jgchaol016@163.com.

基金项目:贵州省中药现代化科技产业研究开发专项资助项目(S2013ZP00503916360);江苏高校优势学科建设工程资助项目(ysxk-2015)。

收稿日期:2015-12-14

各生理指标,3次重复。

1.3 项目测定

1.3.1 丹参生理特性的测定 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性采用试剂盒测定;丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定;游离脯氨酸(Pro)含量采用酸性茚三酮比色法^[8]测定。

1.3.2 丹参光合特性的测定 采用 LI-6400 型便携式光合测定仪(美国基因公司)测定,以开放式气路系统测量净光合速率(Pn)、气孔导度(Gs)、胞间二氧化碳浓度(Ci)和蒸腾速率(Tr)。

1.3.3 丹参叶绿素荧光参数测定 采用 LI-6400 型便携式光合测定仪(美国基因公司)测定,以开放式气路系统测量最大光化学量子产量(Fv/Fm)、PSII潜在光化学活性(Fv/Fo)、有效光化学量子产量(Fv'/Fm')、光化学淬灭系数(qP)、非光化学淬灭系数(NPQ)和表观光合电子传递速率(ETR)。

1.4 数据分析

采用 Excel 2010 软件进行数据处理,采用 SPSS16.0

软件进行相关性分析($P < 0.05$),用 LSD 法对各参数进行显著性检验和多重比较,采用 Graph Pad Prism 5 软件进行作图。

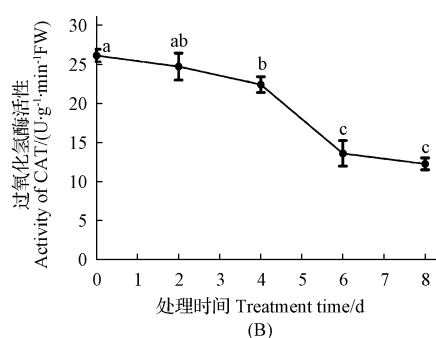
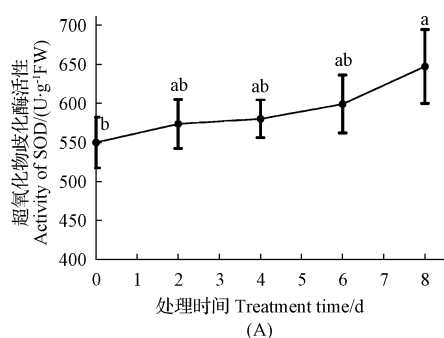
2 结果与分析

2.1 高温胁迫对丹参叶片 SOD、CAT 活性的影响

由图 1(A)可以看出,高温胁迫下丹参叶片 SOD 活性随着高温胁迫时间的延长而小幅度上升,并于处理 8 d 后达最大值 647.357 U/g FW,相对未处理时(0 d)提高了 17.65%。通过方差分析表明,高温处理下 SOD 活性虽然增幅较小,但处理 8 d 后与未处理时相比已存在显著性差异($P < 0.05$)。

与 SOD 活性相反,高温胁迫下 CAT 活性随着高温胁迫时间的延长而持续下降,如图 1(B)。处理至第 4 天时,CAT 活性已显著下降($P < 0.05$),至第 8 天时达最低值(12.293 U · g⁻¹ · min⁻¹ FW),下降了 52.94%。

通过相关性分析可知,SOD、CAT 活性与胁迫时间之间的相关性系数分别为 0.954、-0.953,呈显著性正相关或负相关。



注:不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同。

Note: Different lowercase alphabets represent significant difference at 0.05 level. The same as below.

图 1 高温胁迫对丹参超氧化物歧化酶、过氧化氢酶活性的影响

Fig. 1 Effect of high temperature stress on the activities of SOD, CAT of *Salvia miltiorrhiza* Bga

2.2 高温胁迫对丹参叶片丙二醛、脯氨酸含量的影响

从图 2 可知,丹参叶片 MDA、Pro 含量均随着高温胁迫时间的延长而上升。当胁迫至第 4 天时,MDA 含量已显著增加($P < 0.05$),Pro 结果也较为相似。MDA、Pro 含量分别于胁迫第 8 天上升至最高值,与未处理时相比,分别上升了 3.80、4.16 倍。同时,通过相关性分析和回归分析可知,MDA、Pro 含量与胁迫时间呈显著正相关($P < 0.05$),且与胁迫时间均呈极显著的二元三次方程关系($F > 0.5229$)。

2.3 高温胁迫对丹参叶片光合作用的影响

由图 3 可知,高温胁迫下丹参 Pn、Ci、Gs 和 Tr 随胁迫时间的延长呈持续下降趋势。且 Pn、Gs、Tr 初期

下降趋势较为快速,于胁迫第 1 天时均已经显著下降($P < 0.05$),下降幅度分别达到 54.32%、34.23%、34.60%,而 Ci 值于胁迫第 3 天下降显著($P < 0.05$),下降幅度达 62.36%,随后各参数下降较为缓慢。在胁迫后期(5~7 d),Ci、Gs 和 Tr 已经降至较低值,且下降趋势平缓;第 7 天时,净光合速率已经为负值(-0.561 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$),说明丹参叶片光合能力受到严重抑制。

通过相关性分析可知,Pn、Ci、Gs、Tr 与胁迫时间均呈显著负相关($P < 0.05$),相关性系数分别为-0.889、-0.947、-0.945、-0.956,Tr 与胁迫时间相关性较大,受胁迫影响较为敏感。

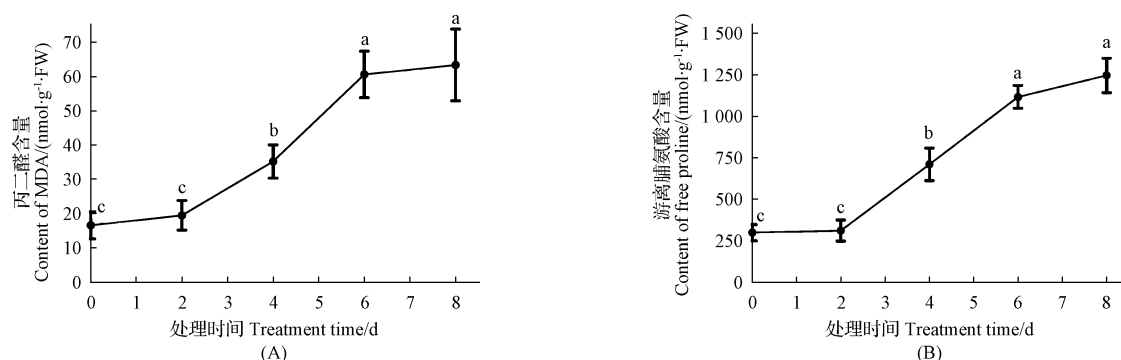


图2 高温胁迫对丹参MDA、Pro含量的影响

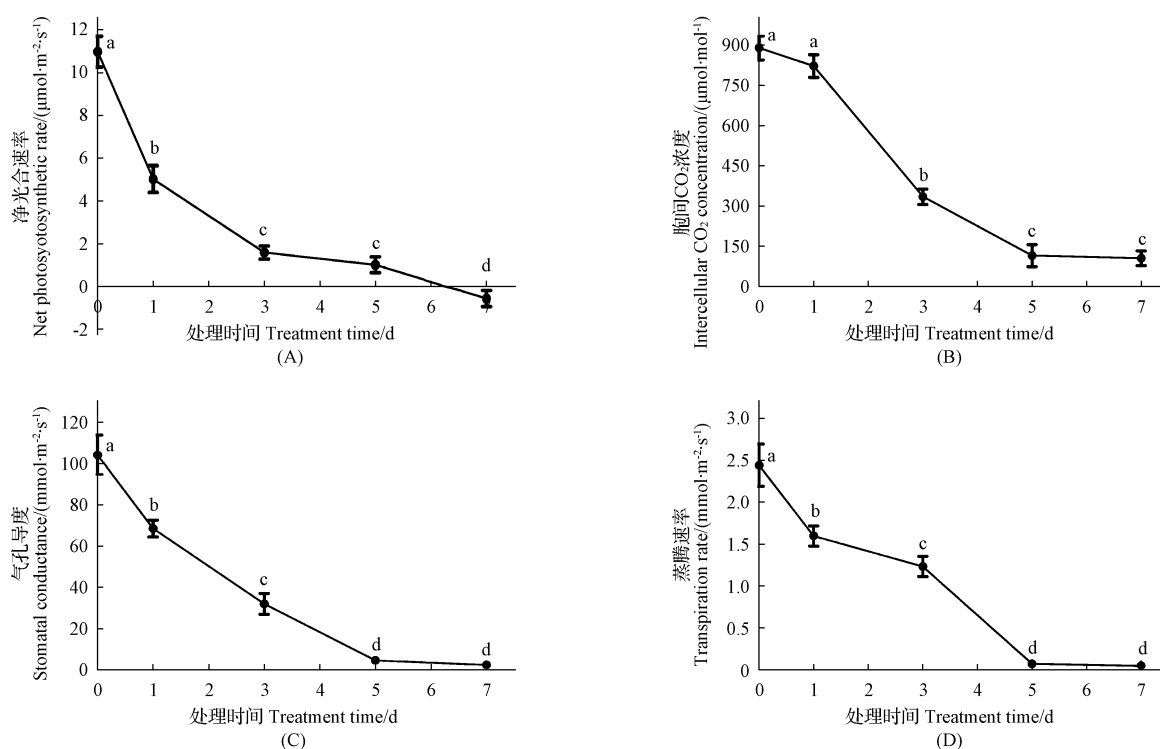
Fig. 2 Effect of high temperature stress on contents of MDA, free proline of *Salvia miltiorrhiza* Bga

图3 高温胁迫对丹参光合特性的影响

Fig. 3 Effect of high temperature stress on the photosynthesis of *Salvia miltiorrhiza* Bga

2.4 高温胁迫对丹参叶片叶绿素荧光特性的影响

由图4(A、B)可见,高温胁迫后,丹参叶片 F_v/F_o 与 F_v/F_m 变化趋势相近,均呈下降趋势, F_v/F_m 处理第5天 F_v/F_o 处理第1天与对照差异显著 ($P < 0.05$);各参数分别于胁迫第7天达最小值,分别为0.149、0.175,与未处理时相比,分别下降了81.94%、96.31%。通过相关性分析可得,各参数相关性系数分别为-0.922、-0.972, F_v/F_m 受高温影响较 F_v/F_o 敏感,与下降幅度结果相符。

随着高温胁迫时间的延长, F_v'/F_m' 、ETR 和 qP 均呈持续下降趋势,如图4(C、D、E)。分别于处理后第

3、1、3天时有明显下降 ($P < 0.05$);胁迫后期(3~7 d), F_v'/F_m' 、ETR 仍然持续显著下降 ($P < 0.05$),而 qP 则呈较为稳定状态;各参数分别于胁迫第7天达最小值,分别为0.054、1.646、0.393,与未处理时相比,分别下降了91.03%、95.57%、51.91%。通过相关性分析可得,各参数相关性系数分别为-0.995、-0.965、-0.910。

由图4(F)可以看出,随着高温胁迫时间的延长,丹参 NPQ 值总体呈先上升后下降的趋势。于处理后第3天上升至最大值,与未处理时相比提高了1.28倍;随后立即显著下降 ($P < 0.05$),于第7天时达最小值,与未处理时相比下降了91.42%。

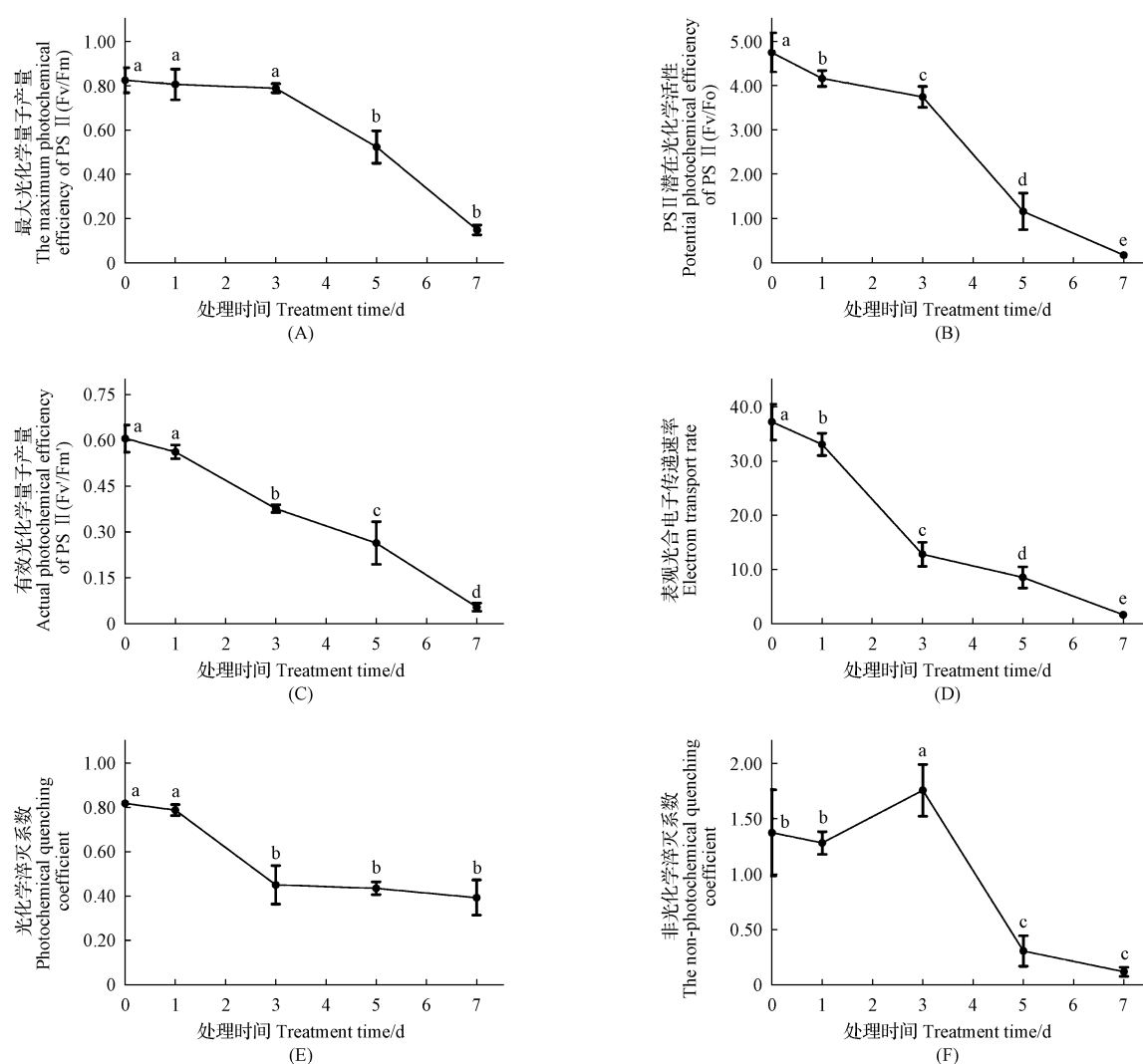


图4 高温胁迫对丹参叶绿素荧光特性的影响

Fig. 4 Effect of high temperature stress on chlorophyll fluorescence parameters of *Salvia miltiorrhiza* Bga

3 讨论

有学者称,为了抵御逆境环境下活性氧自由基的毒害作用,植物在长期进化过程中形成了一套相应的抗氧化保护系统^[4],如活性氧清除酶类(SOD、CAT)等,以减轻淹水胁迫下活性氧积累对植物的伤害^[9]。SOD是植物体内抗氧化保护系统的第一道防线,主要清除植物体内活性氧自由基^[10]。CAT能够催化SOD的歧化产物 H_2O_2 的分解,维持细胞中 H_2O_2 平衡,以避免植物组织受到伤害^[11],与SOD相辅相成。该研究结果表明,高温胁迫下丹参SOD呈不断增加趋势,但增幅并不大,活性氧清除能力可能较弱;CAT活性不断下降的原因可能是SOD活性氧清除能力较弱,而CAT抗氧化能力有限,无法维持植物体内 H_2O_2 的动态平衡,此时植物体已经遭受破坏。

渗透调节是指植物抵抗逆境胁迫的重要方式,而植

物体内Pro与MDA是最有效的渗透压调节物质之一^[12]。植物体内Pro的大量积累常常被认作是植物对逆境胁迫的适应性反应^[13]。在该试验中,丹参叶片中Pro含量在整个过程中均随着胁迫时间的延长而呈现上升趋势,说明Pro在丹参抗高温机制中具有较大的作用。此外,高温胁迫造成丹参叶片内MDA含量显著升高,反映其加剧了丹参叶片细胞的膜脂过氧化程度,这与多数前人研究结果相符^[14]。同时,研究发现,Pro、MDA含量与胁迫时间之间呈极显著的二元三次方差关系,可以作为判断丹参受高温影响的关键指标。

光合作用是植物体内极为重要的代谢过程之一,可作为判断植物生长及抗逆性强弱的重要指标^[15]。在高温胁迫环境下,丹参叶片的Pn、Gs、Ci和Tr均随着胁迫时间的延长而降低,这与郑宇等^[16]对西洋杜鹃的研究结果类似。受高温胁迫的影响,丹参叶片Gs值均显著下

降。作为与外界连接通道的气孔的关闭,必将限制植株对 CO_2 的获取,光合酶底物的减少,从而 Pn 下降^[17]。同时,光合过程受到抑制,将导致植物对水分的需求较正常水分管理时有所下降,因此 Tr 下降,这在黄菖蒲上的研究亦有表明^[18]。

PSII对逆境胁迫非常敏感,高温会导致其结构和功能发生变化。也有研究表明 Fv/Fm 、 Fv/Fo 、 Fv'/Fm' 、 qP 、 ETR 、 NPQ 等参数与植株耐热性有关^[19],因此叶绿素荧光技术是研究植株对高温逆境适应性的理想探针。该试验结果表明,胁迫处理下 Fv/Fm 、 Fv/Fo 、 Fv'/Fm' 、 qP 、 ETR 均显著降低,说明高温抑制了丹参的光合碳代谢的电子供应,这与前人的研究结果一致^[20]。 Fv/Fm 指开放的 PSII反应中心量子效率,反映 PSII的光能转换效率; Fv/Fo 是表明 PSII光化学反应状况的另一个重要叶绿素荧光动力学参数,与 Fv/Fm 都可度量 PSII反应中心的潜在最大光能转换效率^[21]。经高温处理, Fv/Fo 与 Fv/Fm 变化趋势相似,但 Fv/Fo 的下降幅度较高于 Fv/Fm 的下降幅度,说明高温对丹参传能效率的抑制比对其光能转化效率的抑制更为明显。 Fv'/Fm' 反映光下 PSII反应中心部分关闭情况下的实际光化学效率,较高的 Fv'/Fm' 有利于提高植物的光能转换效率,促进同化效率和有机物的积累^[22]。该试验结果显示,高温处理导致丹参 Fv'/Fm' 持续下降,抑制其同化积累过程,最终可导致生物量降低,不利于丹参农业发展。同时,研究中 Fv'/Fm' 和 qP 的降低,以及 NPQ 值短期内的升高,说明丹参叶片捕光能力降低,用于光化学反应的能量减少^[23],导致了 ETR 的下降,从而导致了 Pn 降低。

试验结果表明,高温对丹参生理指标、光合及叶绿素荧光特性有较大的影响,且各功能指标共同作用,以减轻植株所受伤害。然而,高温胁迫对植物的影响是多方面的,目前可以利用光合特性、叶绿素荧光特性来无损的测定植物受逆境胁迫的程度。同时,植物也可以通过保护酶活性、渗透压调节物质等多种生理机制来共同作用来缓解或延缓伤害的发生。分析丹参适应高温的生理机制对于丹参的栽培管理、抗热育种具有重要意义。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.《中国药典》[M]. 1 部. 北京:中国医药科技出版社,2010,70-71.
- [2] GULEN H,ERIS A. Effect of heat stress on peroxidase activity and total protein content in strawberry plants[J]. Plant Science,2004,166(3):739-744.
- [3] MA X J,ZHU D H. Functional roles of the plant superoxide dismutase [J]. Hereditas,2003,25(2):225-31.
- [4] TAN S D,ZHU M Y,ZHANG Q F. Physiological responses of bermudagrass (*Cynodon dactylon*) to submergence[J]. Acta Physiologiae Plantarum,2010,32(1):133-140.
- [5] 任飞,邓少红,卢春玲,等. 蔷薇植物对高温胁迫的生理响应[J]. 南方农业学报,2012,43(11):1664-1667.
- [6] CHEN L,WANG W,LIN P. Photosynthetic and physiological responses of *Kandelia candel* L. Druce seedlings to duration of tidal immersion in artificial seawater[J]. Environmental and Experimental Botany,2005,54(3):256-266.
- [7] SHARP R E,POROYKO V,HEJLEK L G,et al. Root growth maintenance during water deficits:physiology to functional genomics [J]. Journal of Experimental Botany,2004,54(407):20-20.
- [8] 陈建勋,王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州:华南理工大学出版社,2010,24-74.
- [9] BLOKHINA O,VIROLANINEN E,FAGERSTEDT K V. Antioxidants,oxidative damage and oxygen deprivation stress:a review [J]. Annals of Botany,2003,91(2):179-194.
- [10] 初敏,庄志群,王秀峰,等. 不同耐热性萝卜幼苗对高温胁迫的生理响应[J]. 山东农业大学学报(自然科学版),2014,45(3):334-339.
- [11] 刘大林,王秀萍,胡楷崎,等. 高温胁迫对两种冷季型草坪生理生化特性的影响[J]. 生态学杂志,2012,31(4):811-815.
- [12] 李品明,杨丙贤,孙玉芳,等. 高温胁迫对黄连幼苗活性氧代谢及保护酶活性的影响[J]. 安徽农业科学,2011,39(18):10796-10798.
- [13] 张晓平,方炎明,陈永江. 淹涝胁迫对鹅掌楸属植物叶片部分生理指标的影响[J]. 植物资源与环境学报,2006,15(1):41-44.
- [14] 马英姿,张慧,宋荣,等. 高温胁迫对蛇足石杉生理特性的影响[J]. 中草药,2013,41(2):224-228.
- [15] GLAZ B,MORRIS D R,DAROUB S H. Sugarcane photosynthesis,transpiration,and stomatal conductance due to flooding and water table[J]. Crop Science,2004,44(5):1633-1641.
- [16] 郑宇,何天友,陈凌艳,等. 高温胁迫对西洋杜鹃光合作用和叶绿素荧光动力学参数的影响[J]. 福建农林大学学报(自然科学版),2012,41(6):608-615.
- [17] FARQUHAR G D,SHARKEY T D. Stomatal conductance and photosynthesis[J]. Annual Review of Plant Physiology,1982,33(4):317-345.
- [18] YOU C Y. Microbial distribution in constructed wetland of *Iris pseudacorus* L. [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences,2010,11(9-10):26-28,44.
- [19] 杜尧东,李健陵,王华,等. 高温胁迫对水稻剑叶光合和叶绿素荧光特征的影响[J]. 生态学杂志,2012,31(10):2541-2548.
- [20] 张顺堂,张桂莲,陈立云,等. 高温胁迫对水稻剑叶净光合速率和叶绿素荧光参数的影响[J]. 中国水稻科学,2011,25(3):335-338.
- [21] 陈梅,唐运来. 高温胁迫下苋菜的叶绿素荧光特性[J]. 生态学杂志,2013,32(7):1813-1818.
- [22] 胡凡波,刘玲,隆小华,等. 外源 NO 对 NaCl 胁迫下长春花幼苗生物量和叶绿素荧光的影响[J]. 生态学杂志,2011,30(8):1620-1626.
- [23] CPSTA E S,BRESSAN-SMITH R. Chlorophyll a fluorescence analysis in response to excitation irradiance in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. and *Vigna unguiculata* L. Walp) submitted to high temperature stress[J]. Photosynthetica,2003,41(1):77-82.

Effect of High Temperature Stress on Photosynthetic Physiological Indexes and Chlorophyll Fluorescence Characteristics of *Salvia miltiorrhiza* Bga

SUN Yunfei^{1,2}, CHAO Jianguo¹, GU Wei¹, LI Mengyang¹, HOU Haoran¹, ZHAO Jun³

(1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu 210023; 2. Jiangsu Province Hospital of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu 210019; 3. Guizhou Xinbang Pharmaceutical Co. Ltd., Guiyang, Guizhou 550002)

Abstract: In order to explore the effect of high temperature stress on the physiological indexes, photosynthesis parameters and chlorophyll fluorescence parameters of *Salvia miltiorrhiza* Bga, the physiological characteristics in *Salvia miltiorrhiza* Bga with the soil pot experiments were measured and analyzed under high temperature stress before first flowering. The results showed that the activities of superoxide dismutase (SOD) showed a rising trend with the increasing stress time, while the activities of catalase (CAT) decreased. The malondialdehyde (MDA), proline (Pro) content showed a rising trend, and the relationship between them and stress time was significant multiple nonlinearity. The net photosynthetic rate (Pn), stomatal conductance (Gs), transpiration rate (Tr) and stomatal limitation (Ls) decreased and all of them were negatively correlated with stress time. The maximum photochemical efficiency of PSII (Fv/Fm), potential photochemical efficiency (Fv/Fo), actual photochemical efficiency of PSII (Fv'/Fm'), photochemical quenching coefficient (qP) and electron transport rate (ETR) of them decreased with rising high temperature stress time, and all of them were negatively correlated with stress time. The non-photochemical quenching coefficient (NPQ) was firstly increased and then decreased. All the analysis showed that the high temperature stress was an important adversity factor in the physiological indexes, photosynthesis parameters and chlorophyll fluorescence parameters of *Salvia miltiorrhiza* Bga, and the interaction of the physiological characteristics reduced the damage of the high temperature stress.

Keywords: *Salvia miltiorrhiza* Bga; high temperature stress; physiological characteristics; photosynthesis characteristics; chlorophyll fluorescence

丹参的功効与作用及食用禁忌

知识窗

丹参为唇形科鼠尾草属多年生草本植物,别名赤参、红丹参、紫丹参。丹参具有养血安神的功效,是活血补血的传统药材之一。

化学性状:丹参味苦,性微寒,以根供药用,含有丹参酮、异丹参酮、鼠尾草酚、丹参酚、丹参酸甲酯、丹参新酮、原儿茶酚、原儿茶酸、 β -乳酸、维生素 E 等成分。

药性功效:丹参具有活血散瘀、消肿止血、消炎止痛、调经止痛、扩张冠状动脉、改善心肌缺血状况、降低血压、安神静心、降血糖和抗菌等功效,对月经不调、经闭痛经、血行不畅、跌打损伤、疮疡肿痛、心烦失眠、心绞痛等病症有一定的疗效。近代的医学试验证明,丹参还具有抗血小板凝聚、降低血液黏度及调节内外凝血系统的功能,是一种安全又可靠的治疗心脏血管疾病的天然中药。

忌食:丹参以表色呈红色且带油浸样,根条粗壮、纤维少、断面厚实、气味重者为佳,用于滋补一般每次 3~5 g 即可。丹参忌与醋等酸性食物同食,醋味甘酸、性温,凡酸味之物,多属温热之性,而丹参性微寒,能活血化淤,扩张血管,二者功用不和,故忌同食。丹参忌与羊肝同食,羊肝中的铁、钙、镁等离子可与丹参分子中的酮基氧、羟基氧发生反应而形成络合物,从而使药效降低,故服丹参时忌食羊肝。此外,丹参也忌与葱、藜芦、牛奶同食。

(摘自百度百科)