

文章编号:1001-7380(2018)04-0013-04

光周期对金银花叶片光合特性和抗氧化酶活性的影响

薛 欢¹, 朱 梅², 房海灵^{3*}, 梁呈元³

(1. 江苏省森林资源监测中心, 江苏 南京 210036; 2. 江苏省林业局, 江苏 南京 210036;
3. 江苏省中国科学院植物研究所, 江苏 南京 210014)

摘要:以金银花1年生扦插苗为材料,采用人工遮光的方式研究不同光周期处理(光照时长分别为7、10、13 h)对金银花叶片中光合色素、光合参数及抗氧化酶活性的影响,为金银花人工栽培中光照时长的调控提供理论基础。结果表明:与对照(Ph13)相比,短日照处理(Ph7和Ph10)可引起金银花叶片中叶绿素 a 、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量随光照时长的缩短而减少;同时叶片中净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(T_r)和胞间 CO_2 浓度(C_i)等光合参数降低,气孔限制值(L_s)增大。抗氧化酶包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性随光照时长的减少而升高,且随着处理时间的延长呈先升后降。综合分析表明,于金银花花期进行短日照处理不利于植物生长,在一定程度上抑制了叶片中光合色素的合成,进而影响植株光合作用,同时诱导叶片抗氧化酶活性的升高以增强其氧自由基的清除能力。

关键词:光周期;金银花;光合作用;抗氧化酶

中图分类号:Q554;Q945.11;Q945.43;S567.7⁺9

文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1001-7380.2018.04.003

Effects of photoperiod on photosynthesis and antioxidative enzyme activities of *Lonicera japonica*

Xue Huan¹, Zhu Mei², Fang Hailing^{3*}, Liang Chengyuan³

(1. Centre for Forest Resources Monitoring of Jiangsu Province, Nanjing 210036, China;
2. Jiangsu Province Administration of Forestry, Nanjing 210036, China;
3. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: The effect of different photoperiod treatments (7 h, 10 h and 13 h light) on photosynthetic pigments, photosynthetic parameters, and antioxidant enzyme activities of *Lonicera japonica* (honeysuckle) were studied by artificial shading method, which will provide the theoretical basis for artificial light regulation of this plant species. The results showed that short-day light treatments could reduce the content of chlorophyll a , chlorophyll b and carotenoids in the leaves, decrease the photosynthetic parameters, such as photosynthesis rate (P_n), stomatal conductance (G_s), transpiration rate (T_r) and intercellular CO_2 concentration (C_i), and increase stomatal limit value (L_s). The activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD) increased with the decrease of illumination time. With the prolongation of treatment time, the activities of SOD , CAT and POD increased first and then decreased. The comprehensive analysis showed that short day-light treatment at the flowering phase was not conducive to plant growth, which inhibited the photosynthesis of leaves to certain an extent, and induced the activity of antioxidant enzymes to enhance the scavenging ability of oxygen free radicals.

Key words: Photoperiod; *Lonicera japonica*; Photosynthesis; Antioxidative enzyme

收稿日期:2018-06-06;修回日期:2018-06-21

基金项目:江苏省自然科学基金项目“光照对金银花中绿原酸和木犀草苷合成积累的影响及调控机制研究”(BK20160603)

作者简介:薛欢(1984-),女,江苏启东人,工程师,大学本科毕业。主要从事林业人才培训和科技管理等工作。

* 通信作者:房海灵(1983-),女,山西晋中人,副研究员,博士。主要从事药用植物规范化种植及评价研究。E-mail:fanghailing2013@163.com。

金银花为忍冬科植物忍冬 (*Lonicera japonica* Thunb.), 其干燥花蕾是我国重要的清热解毒类中药, 广泛应用于医药、食品、化妆品等领域, 市场需求量大^[1-2]。人工种植金银花是满足当前原料市场需求的主要来源。金银花在我国已有较长栽培历史, 在种植技术方面积累了丰富的经验, 有效促进了金银花产业的发展。然而多数报道集中在对其田间管理、病虫害防治等方面^[3-5], 较少针对影响其生长发育的环境因子如光^[6]、水^[7]、肥^[8]等进行研究。光(光强、光质和光周期)是影响植物生长发育的重要环境因子。赵倩^[9]研究表明, 短日照处理可使菊花初花期提前, 盛花期可溶性蛋白、可溶性糖含量降低。董伟欣等^[10]研究发现, 短日照诱导能有效缩短小豆的生育进程(含花芽分化进程), 其生育进程且随着诱导时间延长而加快, 可见光周期对植物开花具有重要调控作用^[11]。本研究通过采用人工遮光的方式, 探究不同光周期处理对金银花叶片光合特征和抗氧化酶活性的影响, 以期为人工栽培金银花中光照时间的确定提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验于江苏省中国科学院植物研究所试验基地进行, 供试金银花品种为‘四季树型’, 1年生苗。2015年11月下旬取生长一致金银花1年生扦插苗露地移栽, 株行距1.0 m×1.0 m, 常规水肥管理, 备用。

1.2 试验处理

采用罩黑箱的方法人工控制光照时间。共设3个处理, 即 Ph 7: 光照时长7 h(8:00—15:00), Ph 10: 光照时长10 h(8:00—18:00), CK: 自然光周期13 h(6:00—19:00, 利用当地自然光照长度为对照, 通常5月南京地区日光照长度13 h左右)。随机选取6株生长一致的金银花植株作为1个处理(3次重复)。试验于5月4日开始。处理开始时测量所有参试植株, 株高约30.00—32.00 cm, 地径5.20—5.30 mm, 1年生新梢生长量36.6—41.1 cm。除光照时长外, 所有处理均采用相同栽培管理措施进行管理。

1.3 检测项目及方法

1.3.1 光合色素含量测定 参考李合生^[7]的方法略加修改。取已测定光合特性的金银花成熟叶片, 去除叶脉后, 用打孔器取直径0.5 cm叶圆片0.2 g, 加25 mL 80%丙酮, 避光浸提至叶片呈白色。将浸提液分别置于紫外分光光度计470, 645, 663 nm处测定吸光度。并根据公式计算光合色素含量:

$$\text{叶绿素 } a \text{ 质量浓度 (mg/L)} = 12.21 \times A_{663 \text{ nm}} - 2.81 \times A_{646 \text{ nm}}$$

$$\text{叶绿素 } b \text{ 质量浓度 (mg/L)} = 20.13 \times A_{646 \text{ nm}} - 5.03 \times A_{663 \text{ nm}}$$

$$\text{类胡萝卜素质量浓度 (mg/L)} = (1000 \times A_{470 \text{ nm}} - 3.27 \times \text{叶绿素 } a \text{ 质量浓度} - 104 \times \text{叶绿素 } b \text{ 质量浓度}) / 229$$

根据以上色素计算结果换算成 mg/g。

1.3.2 光合参数测定 在金银花二白期, 于5月25日09:00—11:30利用LI-6400XT型光合仪测定生长一致的金银花新梢顶芽下第5—6对成熟叶片的光合特性。测定指标: 净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、胞间 CO_2 浓度(C_i)和蒸腾速率(T_r), 并依据公式 $L_s = 1 - C_i/C_a$ (C_a 为大气 CO_2 浓度)计算气孔限制值。每个处理随机选取5株, 重复叶片10片, 计算平均值。

1.3.3 抗氧化酶活性测定 分别于光周期处理7, 14, 21, 28, 35 d时采集金银花新梢顶芽下第5—6对成熟叶片, 测定其中3种抗氧化酶: 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)的活性。利用购自于南京建成生物技术有限公司的试剂盒完成。

1.4 数据统计与分析

试验所得数据采用Office Excel 2013和SPSS 19.0软件进行统计和差异显著性分析, 结果数据为平均值±标准误。

2 结果与分析

2.1 光周期处理对金银花叶片中光合色素含量的影响

由表1看出, 光照时间的长短对金银花叶片中光合色素的合成具有显著影响, 叶绿素 a ($Chla$)、叶绿素 b ($Chlb$)和类胡萝卜素(Car)含量随着光照时间的延长呈上升趋势, 其中 $Chlb$ 在光照时长10 h时增加幅度较大。 $Chla/b$ 随光照时长增加呈先降低后升高趋势。

2.2 光周期处理对金银花叶片中光合参数的影响

光照时长对金银花成熟叶片光合参数具有显著影响。与CK相比, Ph 7和Ph 10处理可引起金银花叶片净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、胞间 CO_2 浓度(C_i)及蒸腾速率(T_r)显著下降。而气孔限制值则与其他指标呈相反变化趋势, 即随光照时间缩短而上升。表明短日照处理可引起金银花叶片气孔导度减小, 进而影响光合速率。

表 1 光周期处理对金银花叶片中光合色素含量的影响 $\bar{x}\pm s$ ($n=3$)					
处理	叶绿素 a/(mg/g)	叶绿素 b/(mg/g)	叶绿素 a+b/(mg/g)	叶绿素 a/b	类胡萝卜素/(mg/g)
Ph7	0.343±0.024 cA	0.136±0.009 cB	0.478±0.023 bB	2.522±0.261 aA	0.132±0.007 bA
Ph10	0.416±0.045 bAB	0.212±0.015 aA	0.626±0.038 aA	1.976±0.319 bB	0.150±0.019 abA
CK(Ph13)	0.480±0.012 aA	0.192±0.021 bA	0.671±0.029 aA	2.516±0.259 aA	0.178±0.020 aA

同列数据后不同大、小写字母分别表示数据间存在极显著($P<0.01$)、显著($P<0.05$)水平差异

表 2 光周期处理对金银花叶片光合参数的影响 $\bar{x}\pm s$ ($n=10$)					
处理	$Pn/[\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})]$	$Gs/[\text{mmol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})]$	$Ci/(\text{mol}/\mu\text{mol})$	$Tr/[\text{mmol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})]$	Ls
Ph 7	9.262±0.935 c	0.150±0.025 c	143.677±12.664 b	5.685±0.717 c	0.451±0.048 a
Ph 10	11.670±0.750 b	0.202±0.024 b	148.451±6.014 b	6.959±0.541 b	0.427±0.024 b
CK(Ph13)	17.707±1.056 a	0.234±0.022 a	196.172±7.728 a	9.829±0.567 a	0.377±0.034 c

同列数据后不同大、小写字母分别表示数据间存在极显著($P<0.01$)、显著($P<0.05$)水平差异

2.3 光周期处理对金银花叶片中抗氧化酶活性的影响

2.3.1 SOD 活性 与对照(CK)相比,在 Ph 7 和 Ph 10 处理组,金银花叶片中 SOD 活性表现出急速增加的趋势;处理 28 d 时,Ph 10 处理组 SOD 活性低于 CK 组和 Ph 7 组,表明适度光照时间有效降低了高光强对金银花叶片细胞的损伤。处理 35 d 时,CK 组 SOD 活性略低于 Ph 7 和 Ph 10 处理组,分析可能是处理后期自然光照时间(Ph 13)集聚过多能量,间接引发高温胁迫,SOD 活性受到抑制。

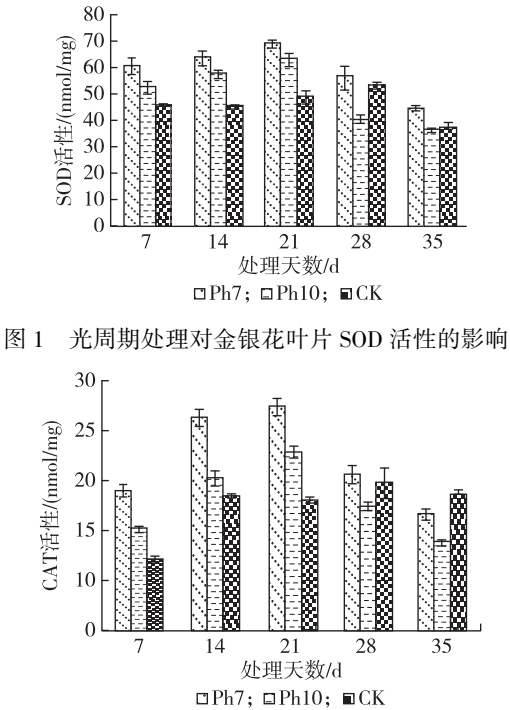


图 1 光周期处理对金银花叶片 SOD 活性的影响

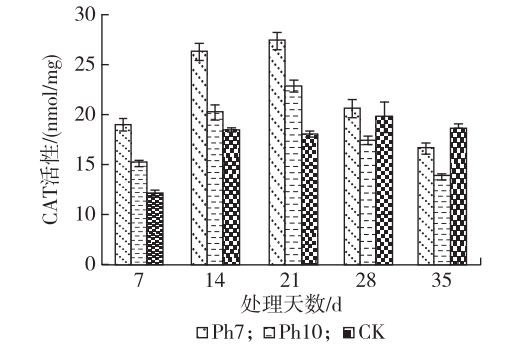


图 2 光周期处理对金银花叶片 CAT 活性的影响

2.3.2 CAT 活性 不同光照时间处理对金银花叶片中 CAT 活性具有一定的影响。表现为短日照处理(Ph 7 和 Ph 10 处理组)CAT 活性高于 CK 组;而处理时间为 28—35 d 时,Ph 10 处理组叶片中 CAT 活性低于 CK 组,而 Ph 7 处理组在处理 28 d 时略高于 CK 组,在处理 35 d 时则低于 CK 组。

2.3.3 POD 活性 由图 3 可看出,不同光照时间处理下,金银花叶片中 POD 活性变化趋势与 CAT 变化相似,表现为 Ph 7 和 Ph 10 处理组 POD 活性高于对照组;在 28—35 d 时,光照时间 10 h 处理组 POD 活性低于 Ph 7 处理组和对照组。比较同一处理组不同时间 POD 活性变化趋势发现,2 个处理组和对照组 POD 活性随处理时间延长而呈先升高后降低的趋势,但达到峰值时间不同。

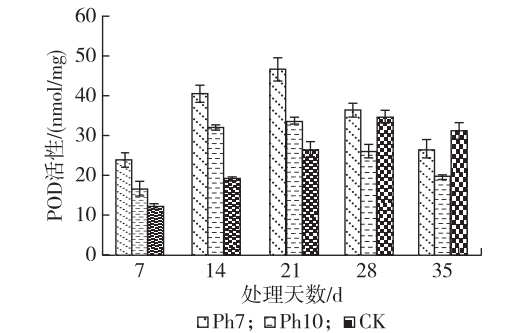


图 3 光周期处理对金银花叶片 POD 活性的影响

3 结论与讨论

3.1 光周期对金银花叶片光合特性的影响 叶片是植物吸收光能进行光合作用的场所,光周期的变化直接影响其光合色素合成及光合速率

的高低,从而影响植物生长发育^[12]。张欢等^[13]研究表明油葵芽苗菜叶绿素和类胡萝卜素含量随着光周期从 0 到 16 h/d 的延长显著提高。本研究结果与之相符,即短日照条件下金银花叶片中 *Chla*, *Chlb*, *Chl(a+b)* 和 *Car* 含量均呈降低趋势。推测可能是由于参与叶绿素和类胡萝卜素等光合色素合成的多个酶均属于光响应酶^[14],短日照处理组金银花叶片接受光照时间较短,抑制了此类光响应酶的催化活性,进而影响光合色素在叶片中的合成。

光合色素含量直接影响植物光合作用的强弱。李冬梅^[15]研究表明,短日照处理可引起桃叶片 *Pn*, *Gs* 降低, *Ci* 升高,认为短日照处理可能导致植株体内积累过多的活性氧,进而破坏光合器官结构和功能,引起叶片衰老,促使叶片维持较低 *Gs*、较高 *Ci* 状态。本研究则发现金银花叶片 *Pn*, *Gs*, *Ci* 及 *Tr* 随着光照时间减少而降低, *Ls* 呈升高趋势。分析原因可能是, (1) 气孔导度下降引起 CO_2 供应量减少,最终导致叶片光合速率降低,光合产物合成受阻; (2) 短日照处理影响了叶片光合色素合成,进而引起光合速率降低。

3.2 光周期对金银花叶片抗氧化酶活性的影响

抗氧化酶又称为保护酶,主要包括 SOD, CAT, POD, 是植物适应逆境的重要生理指标,其活性的高低是衡量植物适应逆境能力的强弱。周天华^[16]研究光照时间对桃树叶片抗氧化系统的影响,发现长日照不同程度降低了 SOD, CAT 和 POD 活性,而短日照则激发了 3 者的活性,认为短日照处理可导致叶片细胞膜脂过氧化损伤。本研究发现,处理初期短日照不同程度地提高了 SOD, CAT 和 POD 活性,推测可能是由于短日照对于金银花生长具有胁迫作用,抗氧化酶活性的提高可有效清除植物体内的超氧自由基,增强金银花抗胁迫能力。而随着光照时间延长,植株进行光合作用时间随之延长,可促进植物产生较多的光合同化物,延缓叶片衰老,使得活性氧的积累和清除趋于动态平衡状态。

处理后期(28—35 d),短日照处理金银花叶片中,3 种酶活性与对照处理相比增加不显著,特别是光照处理 10 h,3 种抗氧化酶活性维持较低水平。

推测可能是由于随着处理后期南京地区日光照强度增加,减少日照时间可有效减轻强光对叶片的损伤,减少超氧自由基的产生,从而降低 3 种酶的活性;而长日照处理则因日光照量增加而引发高温、强光胁迫,使得叶片细胞产生过量超氧自由基,导致叶片抗氧化酶活性受到抑制。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会.中国药典:一部[M].北京:化学工业出版社, 2015: 221.
- [2] KU S K, SEO B I, PARK J H, et al. Effect of *Lonicerae* Flos extracts on reflux esophagitis with antioxidant activity[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2009, 15(38): 4799-4805.
- [3] 杜肖璇,孟 蔚,严 军,等.栽培技术对金银花品质及产量的影响[J].*中国现代中药*, 2014, 16(1): 80-82.
- [4] 管仁伟,彭延弟,周建永,等.金银花的栽培技术研究[J].*现代中药研究与实践*, 2015(1): 8-9, 16.
- [5] 王艳艳,曾 磊.中药材金银花的栽培丰产技术[J].*中国林副特产*, 2012(3): 34-36.
- [6] 张 芳,张永清.不同光照强度下忍冬花蕾大小和药材质量的比较研究[J].*时珍国医国药*, 2014, 5(11): 2760-2762.
- [7] 徐迎春,张佳宝,蒋其鳌,等.不同灌水量对忍冬生长发育及金银花质量的影响[J].*中国中药杂志*, 2006, 31(8): 634-637.
- [8] 吴世福.施肥对金银花药材产量与质量影响的研究[D].济南:山东中医药大学, 2003.
- [9] 赵 倩.短日照和乙烯利处理对菊花成花及成花过程中生理生化的影响[D].新乡:河南师范大学, 2012.
- [10] 董伟欣,尹宝重,张彦丽,等.短日照诱导对豆芽分化的影响[J].*河南农业大学学报*, 2017, 51(2): 149-155.
- [11] CERDÁN P D, CHORY J. Regulation of flowering time by light quality[J]. *Nature*, 2003, 423(6942): 881-885.
- [12] 李世栋.不同光温条件对厚皮甜瓜幼苗生长及生理特性影响的研究[D].杨凌:西北农林科技大学, 2007.
- [13] 张 欢,章丽丽,李 薇,等.不同光周期红光对油葵芽苗菜生长和品质的影响[J].*园艺学报*, 2012, 39(2): 297-304.
- [14] CORNAH J E, TERRY M J, SMITH A G. Green or red: what stops the traffic in the tetrapyrrole pathway? [J]. *Trend in Plant Science*, 2003, 8(5): 224-230.
- [15] 李冬梅.光周期诱导设施桃树休眠的生理生化变化及蛋白质组学初探[D].泰安:山东农业大学, 2012.
- [16] 周天华.桃叶片抗氧化系统对光照长度诱导休眠的响应效应[J].*中国农学通报*, 2012, 28(19): 141-145.