

Effect of 5-Aminolevulinic Acid on Leaf Heat Tolerance in *Ligustrum japonicum* and *Spiraea japonica*

Dongyun Wang¹, Xu Li¹, Li Xu^{1,2}, Yuyan An², Liangju Wang^{2*}

¹Sihong Institute for Garden Green Management, Sihong Jiangsu

²College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing Jiangsu

Email: *wlj@njau.edu.cn

Received: May 4th, 2018; accepted: May 23rd, 2018; published: May 30th, 2018

Abstract

The detached leaf chlorophyll fluorescence responses of *Ligustrum japonicum* and *Spiraea japonica* which were pretreated with 5-aminolevulinic acid (ALA) solution at a dosage of 50 mg·L⁻¹ for 25 d and treated at 50°C temperature for 30~90 min, were measured by a multifunctional plant efficiency analyzer (M-PEA). The results show that the leaves which were pretreated by ALA maintained higher levels of the maximal photochemical efficiency (F_v/F_m), but less inhibition of oxygen evolving complex activity at the donor side of PSII reaction centers (V_k) and the maximal close rate at the acceptor side of PSII reaction center (M_o). ALA treatment significantly increased the quantum yield in photosynthetic electron transfer (ϕE_o), the active reaction center density (RC/CS), the efficiency to reduce the terminal electron acceptors of PSI reaction center (ϕR_o), and therefore the capacity index based on the absorption (PI_{abs}). Conversely, high temperature stress impaired the reduction rate of PSI reaction center by the electrons transferred from PSII reaction center ($V_{PSII-PSI}$) more than the oxidation rate of PSI reaction center by the terminal electron acceptors (V_{PSI}). This means that the electron transfer of intersystem was more sensitive to short-term rapid heat stress than PSI itself. The results in the study show that the leaves of *S. japonica* were more heat tolerance than those of *L. japonicum*, and the improving effects by ALA were effective at the early stage of heat stress on *L. japonicum* while at the later stage on *S. japonica*. Therefore, this new regulator may be applied in garden plant production to protect heat stress in high temperature summer.

Keywords

5-Aminolevulinic Acid, Garden Plants, Heat Stress, Chlorophyll Fast Fluorescence, 820 nm Reflection Fluorescence

*通讯作者。

5-氨基乙酰丙酸(ALA)提高两种园林植物叶片耐热性效应

王冬云¹, 李旭¹, 徐丽^{1,2}, 安玉艳², 汪良驹^{2*}

¹泗洪县园林绿色管理所, 江苏 宿迁

²南京农业大学园艺学院, 江苏 南京

Email: *wlj@njau.edu.cn

收稿日期: 2018年5月4日; 录用日期: 2018年5月23日; 发布日期: 2018年5月30日

摘要

本试验以金森女贞和金山绣线菊为材料, 利用M-PEA多功能植物效率仪检测了叶面喷施50 mg/L 5-氨基乙酰丙酸(ALA) 25 d后离体叶片对高温逆境的适应性, 发现ALA处理叶片在50℃高温处理不同时间后仍能保持一定光化学效率, 降低PSII反应中心供体侧放氧复合体受抑程度, 维持PSII反应中心较高的开放程度以及用于光合电子传递的量子产额和有活性的反应中心密度, 提高了PSI反应中心最大光化学效率, 从而保证了较高的光合性能指数。PSI反应中心电子氧化速率(V_{PSI})对高温胁迫不敏感, 而PSII与PSI之间的电子传递速率($V_{PSII-PSI}$)对高温胁迫相当敏感, ALA对高温下两种园林植物叶片 $V_{PSII-PSI}$ 有较高的保护效应。以上结果说明, ALA可以提高园林植物耐高温能力。这为其在炎热夏季园林生产中应用提供了理论依据。本研究还表明, 金山绣线菊的耐热性高于金森女贞, ALA对金森女贞耐热性的促进效应在短时间高温胁迫下便可体现出来, 而对金山绣线菊耐热性的促进效应需要较长时间才能体现出来。

关键词

5-氨基乙酰丙酸, 园林植物, 高温胁迫, 叶绿素快速荧光, 820 nm光反射荧光

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

我国多数地区, 冬冷夏热, 四季分明。夏季酷暑高温, 经常威胁着植物生长发育。园林植物生产, 虽然可以通过浇水灌溉来减少土壤干旱引起的水分胁迫, 但是严热酷暑, 却无法通过常规生产技术加以避免。特别是随着全球“温室效应”和城市“热岛效应”不断加剧, 夏季高温已经成为制约园林植物生长和发育的主要环境因子[1]。提高植物耐热性是园林生产中亟待解决的实际问题。

5-氨基乙酰丙酸(ALA)是一种天然氨基酸, 但是它不直接参与生物体内蛋白质合成, 而是作为叶绿素、血红素等卟啉化合物生物合成的关键前体, 参与生命代谢诸多过程。Hotta 等(1997) [2]首先提出, ALA可以促进水稻、萝卜、大麦、马铃薯、大蒜、蚕豆等多种农作物的生长, 并且提高产量。Watanabe 等(2000) [3]观察到, ALA 可以提高棉花的耐盐性, 而且这种效应比当时所知的包括生长素、赤霉素、细胞分裂素、

脱落酸、乙烯利在内的十多种植物生长调节物质效应更为显著。因而，这是一种既能提高植物抗逆性，又能增加作物产量的新型天然植物生长调节剂，在农业生产上有着广泛应用前景[4]。近年来，有关 ALA 提高植物抗逆性研究已经不再局限于盐渍，而是涉及到低温[5] [6]、弱光[7]、强光[8]、干旱[9]、水涝[10]、缺氮[11]、重金属污染[12]等。在植物耐热性上，首先在西瓜上观察 ALA 提高幼苗耐热性效应[13]。其后，在黄瓜[14]、无花果[15]等植物上观察类似效应。但是，ALA 是否可以提高园林植物的耐热性迄今尚未见报道。本试验以金森女贞和金山绣线菊 2 种园林植物为材料，叶面喷施 50 mg/L ALA 溶液，25 d 后采集离体叶片，置于 50℃ 高温条件下，分别于 0、30、60 和 90 min 后利用 M-PEA 多功能植物效率仪检测叶片叶绿素快速荧光特性和 820 nm 光反射吸收曲线，然后利用 OJIP 法分析了 ALA 对 2 种园林植物叶片耐热性的影响，为其在园林生产上的应用提供理论依据。

2. 材料与方 法

2.1. 材料与处理

本试验所用材料金森女贞(*Ligustrum japonicum* Thunb)和金山绣线菊(*Spiraea japonica* Gold Mound)为多年生常绿小灌木，树龄 5 年，种植于泗洪县世纪公园。该地区位于北亚热带和北暖温带过渡区。冬季极端低温-23.4℃，夏季极端高温 41.4℃。7 月份高温天气长达 7~11 d，严重影响植物生长发育。2016 年 4 月 21 日用 50 mg/L 5-氨基乙酰丙酸(ALA，南京禾稼春生物科技有限公司提供)溶液喷施植株叶片，直至叶面完全湿润有液滴落下为止。每种试材各设清水对照和 ALA 处理，每个小区面积 20 m² 以上，重复 3 次，随机排列。其它正常管理。25 d 后，随机采集不同小区新梢叶片，装于自封袋内，运回实验室做进一步处理分析。

将采集的叶片置于 50℃ 恒温培养箱内，设高温处理 0、30、60 和 90 min 4 个不同处理时间，然后用 M-PEA 多功能植物效率仪测定叶片叶绿素快速荧光曲线和 820 nm 光反射荧光曲线，分析高温时间以及 ALA 处理对 2 种植物叶片光合系统 I 和光合系统 II 活性的影响，以评估其提高植物耐热性效应。

2.2. 叶绿素荧光特性测定

用英国 Hansatech 公司生产的多功能植物效率仪(Multifunctional Plant Efficiency Analyzer, M-PEA)测定不同处理植株叶片叶绿素快速荧光 OKJIP 曲线和 820 nm 光反射荧光吸收曲线，并按照前人方法[16]计算叶绿素荧光参数。其中，O 点为初始荧光(F_0)，即 PSII 反应中心完全开放时的荧光强度；K 点为照光 300 μs 时荧光(F_k)，J 点为照光 2 ms 时荧光，I 点为照光 30 ms 时荧光， F_m 为最大荧光，即 PSII 反应中心完全关闭时的荧光强度，时间大约为在 200 ms。几种主要荧光参数计算方法如下：

- 1) 可变荧光 $F_v = F_m - F_0$;
- 2) PSII 最大光化学效率 $\phi P_o = (F_m - F_0)/F_m = F_v/F_m$;
- 3) K 相相对荧光 $V_k = (F_k - F_0)/(F_m - F_0)$;
- 4) I 相相对荧光 $V_i = (F_i - F_0)/(F_m - F_0)$;
- 5) Q_A 被还原的最大速率 $M_o = 4 \times (F_{300\mu s} - F_0)/(F_m - F_0)$ ，反映 PSII 反应中心关闭程度；
- 6) 捕获的激子将电子传递到电子传递链中 Q_A 下游其他电子受体的概率 $\Psi_o = 1 - (F_j - F_0)/(F_m - F_0)$;
- 7) PSII 反应中心吸收光能用于电子传递的量子产额 $\phi E_o = (F_m - F_0)/F_m \times \Psi_o$;
- 8) 单位面积上有活性的反应中心的密度 $RC/CS = \phi P_o \times (V_j/M_o) \times (ABS/CS)$;
- 9) 以吸收光能为基础的光合性能指数 $PI_{abs} = RC/ABS \times \phi P_o/(1 - \phi P_o) \times \Psi_o/(1 - \Psi_o)$;
- 10) PSI 反应中心最大光化学效率 $\phi R_o = RE/ABS = TR_o/ABS \times (1 - V_i)$;
- 11) PSI 反应中心失去电子被氧化的速率 $V_{PSI} = (MR_o/MR_{0.7ms} - MR_o/MR_{3ms})/(3 - 0.7)$;

12) PSII传递来的电子还原PSI反应中心的速率 $V_{\text{PSII-PSI}} = (MR_0/MR_{100\text{ms}} - MR_0/MR_{7\text{ms}})/(100 - 7)$ 。

以上所有参数, 均重复测定10张不同叶片, 取平均值。

2.3. 统计分析

所得数据经 SPSS20.0 软件进行多因素方差分析和 Duncan's 检验。当 $P < 0.05$ 时, 认为试验效应显著; 当 $P < 0.01$ 时, 认为试验效应极显著。

3. 结果与分析

3.1. ALA 处理对两种植物离体叶片高温后叶绿素快速荧光曲线的影响

图 1 展示的是 ALA 处理对金森女贞和金山绣线菊离体叶片经 50°C 高温处理不同时间后的叶绿素快速荧光曲线的影响。从中可以看出, 正常条件下, 未经处理的植物叶片具有典型的 OKJIP 变化曲线, 而经 ALA 处理后, 金森女贞叶片 K、J、I 和 P 点都有极显著上升, 而金山绣线菊 OJIP 曲线也有一定上升, 只是上升幅度不如前者那么大。因而, 在非高温条件下, ALA 对金森女贞叶片叶绿素快速荧光曲线的促进效应更明显。

图 1 还显示, 高温处理对两种植物离体叶片 OKJIP 曲线有明显影响。在处理的 30~90 min 内, 所有叶片 O 点显著上升, 而且出现一个原先并不明显的 K 点, 同时 J、I 和 P 点都显著下降, 甚至消失, 说明高温处理显著抑制 PSII 反应中心供体侧放氧复合体(Oxygen evolving complex, OEC)活性, 并因此抑制受体侧光合电子传递。

未经 ALA 处理的对照叶片, 经高温处理后 JIP 几乎一蹶不起; 而 ALA 处理叶片经 50°C 高温胁迫 30 min 的叶绿素荧光在 100 ms 后仍然有一定的上升。所有经 ALA 处理叶片荧光曲线均明显高于对照, 暗示着该药剂处理可以提高热胁迫下两种植物叶片 PSII 反应中心荧光活性。

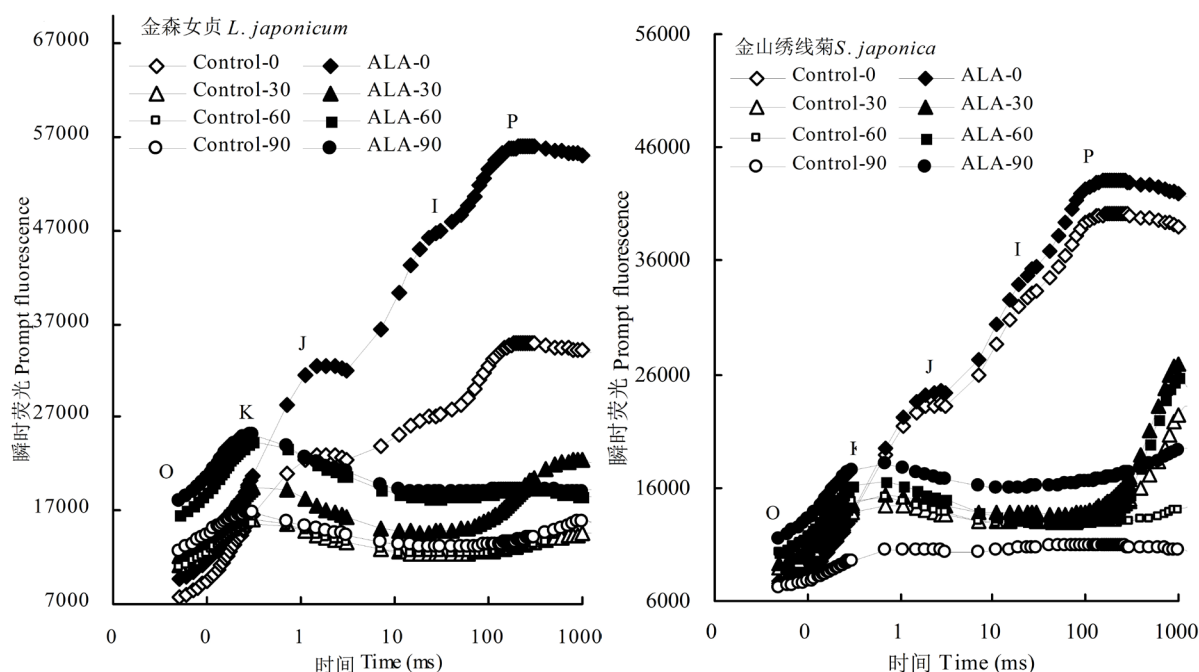


Figure 1. Effects of ALA treatment on chlorophyll fast fluorescence curves of detached leaves of *L. japonicum* and *S. japonica* after 50°C high temperature stress for different times

图 1. ALA 处理对金森女贞和金山绣线菊离体叶片经 50°C 高温处理不同时间后的叶绿素快速荧光曲线的影响

3.2. ALA 处理对两种植物离体叶片高温后 PSI 反应中心 820 nm 光反射荧光曲线的影响

图 2 显示, 金森女贞和金山绣线菊叶片 820 nm 光反射荧光曲线呈 V 字型, 即从 0.7 ms (JIP 时间) 到大约 10 ms 间, MR_0/MR 荧光迅速下降, 代表着照光初期 PSI 反应中心 P_{700} 失去电子被氧化成 P_{700}^* 过程; 而从那以后, MR_0/MR 荧光缓慢上升, 代表着 P_{700} 通过自身环式电子传递链或来自 PSII 反应中心非环式电子传递链得到电子被还原的过程。实际上, 在 MR_0/MR 下降阶段, 一方面存在着 P_{700} 被氧化, 另一方面, 也存在着得到电子被还原, 但是由于氧化速率大于还原速率, 因而, 氧化过程占优势。当 MR_0/MR 达到最低值时, 失去电子与获得电子达到平衡状态, 但从那以后, 来自于 PSII 反应中心的电子增多, P_{700} 逐渐呈还原状态, MR_0/MR 荧光曲线上升。当光照时间达 100 ms 以上时, PSII 反应中心完全被氧化, 处于完全关闭状态, 它能够传递给 PSI 的电子逐渐下降, MR_0/MR 曲线又开始下降。因而, 10 ms 附近的 MR_0/MR 最低值代表着 PSI 反应中心能够被氧化的电子载体量, 而 100 ms 以后的 MR_0/MR 最高值代表着 PSII 反应中心能够传递给 PSI 末端电子受体的电子负荷量。

从图 2 可以看出, ALA 处理后金森女贞和金山绣线菊叶片 MR_0/MR 最低值均显著低于对照, 而最高值都高于或略高于对照, 说明 ALA 处理不仅可以提高两种园林植物叶片 PSI 电子供体量, 也能提高 PSII 反应中心提供给 PSI 反应中心的电子负荷量。其中, ALA 对金森女贞的促进作用大于金山绣线菊。

高温胁迫极显著提高了 MR_0/MR 的最低值, 同时也降低了 MR_0/MR 最高值, 说明两个光合系统活性都受到伤害。与金山绣线菊相比, 金森女贞 PSI 活性对高温胁迫更为敏感, 因为 50°C 高温处理 30 min 时, 金山绣线菊叶片 MR_0/MR 曲线下降后仍然有比较明显的上升, 而金森女贞的上升过程相对比较弱。类似地, ALA 处理后金山绣线菊叶片 MR_0/MR 曲线也有明显的下降-上升过程, 而金森女贞的反应较弱。这些数据反映出, ALA 处理显著提高未经高温胁迫的金森女贞叶片 PSI 活性, 但是 ALA 处理的金山绣线菊叶片具有更强的耐热性。

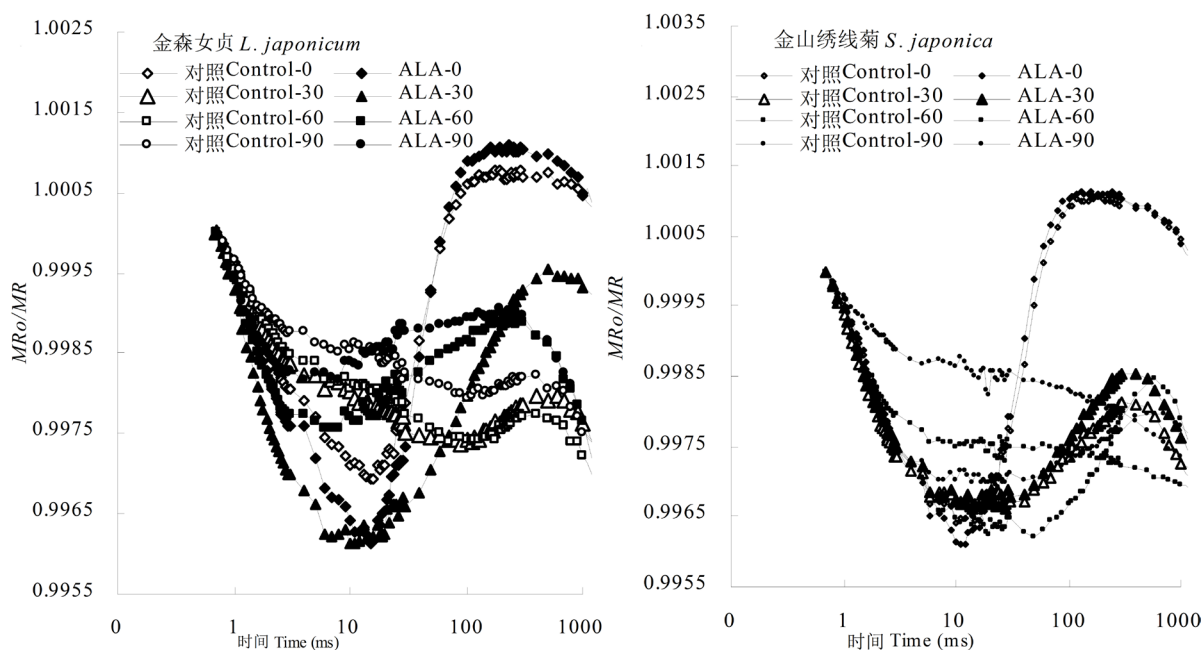


Figure 2. Effect of ALA treatment on the modulated 820 nm reflection curves of leaves of *L. japonicum* and *S. japonica* after 50°C high temperature stress for different times

图 2. ALA 处理对金森女贞和金山绣线菊离体叶片经 50°C 高温处理不同时间后的 820 nm 光反射动力学曲线的影响

3.3. ALA 处理对两种植物离体叶片叶绿素荧光参数的影响

3.3.1. 初始荧光 F_0

图 3 显示, 高温胁迫后, 两种植物初始荧光 F_0 显著上升, 而 ALA 处理进一步导致 F_0 上升。对于金森女贞来说, 当高温超过 60 min, ALA 处理叶片 F_0 极显著高于对照。对于金山绣线菊来说, F_0 也表现出类似趋势, 但只有高温 90 min 时, ALA 处理叶片 F_0 才极显著高于对照, 而在此之前, 两者间没有显著差异。高温 90 min 时, ALA 处理 F_0 明显高于对照的原因, 一方面是对照叶片 F_0 下降, 另一方面是 ALA 处理叶片 F_0 继续上升。这说明, F_0 上升是植物叶片光合膜对高温胁迫的反应。也许, 只有有活性的光合膜才能对高温胁迫产生这种生物学反应。未经 ALA 处理的金森女贞叶片在高温处理 60 min 后已经失去对高温胁迫的响应, 其 F_0 与高温 30 min 的没有显著差异, 而 ALA 处理叶片 F_0 仍然大量上升, 暗示着这些叶片的光合膜仍然具有高温热反应。类似情况存在于金山绣线菊叶片。高温处理 90 min 时, 对照叶片 F_0 已经失去对高温的反应能力, 而 ALA 处理叶片的 F_0 继续上升, 说明其仍然保持着生物学活性。

3.3.2. 最大荧光 F_m

图 4 显示, 高温处理极显著降低金森女贞和金山绣线菊叶片最大荧光值 F_m , 其中 50℃ 高温处理 30 min 对金森女贞的效应与 60 或 90 min 的相似, F_m 值下降一半以上, 但金山绣线菊 F_m 下降程度与高温处理时间有关。时间越长, 下降越多, 两者呈直线关系($r = 0.958, P < 0.05$)。这说明该物种对高温胁迫具有较强耐受力。高温处理 90 min, 其叶片 F_m 仍然对高温胁迫有响应。但对金森女贞来说, 高温处理 30 min 后叶片 F_m 已经丧失了对热胁迫响应。再次说明, 金森女贞对高温胁迫更敏感。

从 ALA 处理效应上看, 高温处理前, ALA 处理的金森女贞叶片 F_m 比对照高出 60% ($P < 0.01$), 而金山绣线菊叶片仅高出 7%, 未达到差异显著水平($P > 0.05$)。随着高温时间延长, ALA 对金森女贞叶片 F_m 的促进效应均维持在 45% 左右, 没有明显变化; 但 ALA 对金山绣线菊 F_m 的促进效应随着高温处理时

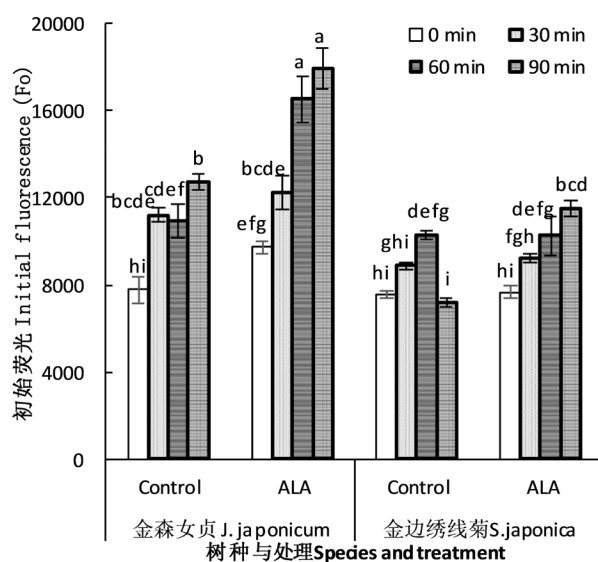


Figure 3. Effect of ALA treatment on the initial fluorescence (F_0) of detached leaves of *J. japonicum* and *S. japonica* after heat stress. The same lowercases above the histogram represent no significant difference at $P = 0.05$ level. The same as below

图 3. ALA 处理对金森女贞和金山绣线菊离体叶片高温胁迫后叶绿素快速荧光的初始荧光(F_0)的影响。柱形图上相同小写字母表示在 $P = 0.05$ 水平上差异不显著, 下同

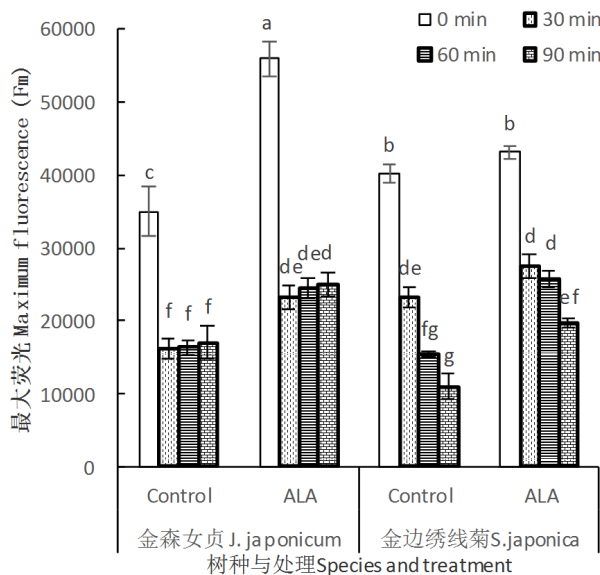


Figure 4. Effect of ALA treatment on the maximum fluorescence (F_m) of leaves of *J. japonicum* and *S. japonica* after heat stress

图 4. ALA 处理对金森女贞和金山绣线菊离体叶片高温后叶绿素快速荧光的最大荧光(F_m)的影响

间延长而呈直线上升($r = 0.966$, $P < 0.05$)。这说明,对于两种耐热性不同的园林植物来说,ALA 促进金山绣线菊耐热性效应高于金森女贞,ALA 对前者耐热性调节的幅度也大。

3.3.3. 可变荧光 F_v

与 F_m 相似,ALA 处理诱导两种植物叶片叶绿素可变荧光 F_v 显著上升($F > 0.01$),而高温处理导致 F_v 迅速下降。对金森女贞来说,未经高温处理的叶片所体现出来的 ALA 处理后增幅达 70% 以上。然而,与 50℃ 高温 30 min 相比,这个增加幅度并不大,因为在高温 30 min 后,金森女贞叶片 F_v 增幅达 118%,表明在这种胁迫条件下,ALA 可以表现出良好的调节活性。但是,随着高温时间进一步延长,ALA 诱导的 F_v 增幅又下降为 46%~62%。与此不完全相同的是,ALA 诱导金山绣线菊叶片 F_v 增幅最大的是高温处理 60 min,增幅为 198%。另外,高温处理 90 min 的叶片 F_v 增幅也达 117% (图 5)。显然,ALA 对常温条件下金山绣线菊叶片 F_v 的影响不大,但在高温胁迫下,尤其是相对较长时间的高温胁迫下,可以体现出更好的调节效应。

3.3.4. PSII 反应最大光化学效率(F_v/F_m)

F_v/F_m , 或者 ϕP_o 是暗适应叶片最大光化学效率。高温处理前,ALA 对两种园林植物叶片 ϕP_o 没有显著影响。高温胁迫 30 min 后,两种园林植物叶片 ϕP_o 都显著下降,但 ALA 处理叶片能保持较高水平,其中金森女贞显著高于对照($P < 0.05$)。高温胁迫 60 或 90 min,经 ALA 处理的金山绣线菊叶片 ϕP_o 显著高于对照,但金森女贞叶片 ϕP_o 与对照没有差异。这说明,经 ALA 处理的金森女贞叶片可以忍受短时间的高温胁迫,而金山绣线菊则可以忍受更长时间的高温逆境。

3.3.5. K 相相对荧光(V_k)

K 相相对荧光 V_k 是指暗适应叶片在强光照射 300 μs 时的相对荧光值,所反映的是 PSII 反应中心供体侧放氧复合体(OEC)相对受抑程度。与 W_k 相似, V_k 越高,说明 OEC 受抑程度越大。从图 6 可以看出,随着高温时间延长,两种植物叶片 V_k 显著上升,特别是金森女贞,高温处理 30 min 后叶片 V_k 极显著高于处理前,而且与其后高温 60 或 90 min 没有显著差异(图 7),说明 50℃ 高温处理 30 min 就已经伤害到

PSII 反应中心供体侧 OEC 活性, 因而, 即使其后延长高温时间, 也已经不再产生新的伤害。但是金山绣线菊叶片 V_k 随着高温时间延长而逐渐上升, 表明它对高温逆境的响应是一个逐渐发展的过程。这也说明了金山绣线菊对高温的忍受力高于金森女贞。

从另一方面看, ALA 处理显著降低两种植物叶片 V_k ($F > 0.01$), 但是两种植物间的响应模式有所不同。对金森女贞来说, 未经高温或高温处理 30 min 的叶片对 ALA 处理效应显著, 而更长时间高温处理则丧失处理效应。对金山绣线菊来说, 未经高温处理或者高温处理 30 min 叶片的 ALA 处理效应较小, 而高温处理 60 或 90 min 的处理效应越发明显。也就是说, 随着高温处理时间的延长, ALA 处理效应越

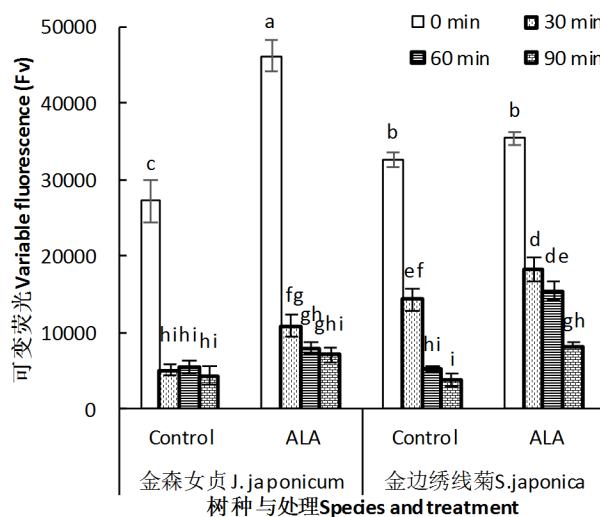


Figure 5. Effect of ALA treatment on the variable fluorescence (F_v) of leaves of *J. japonicum* and *S. japonica* after heat stress

图 5. ALA 处理对金森女贞和金山绣线菊离体叶片热胁迫后叶绿素快速荧光的可变荧光(F_v)的影响

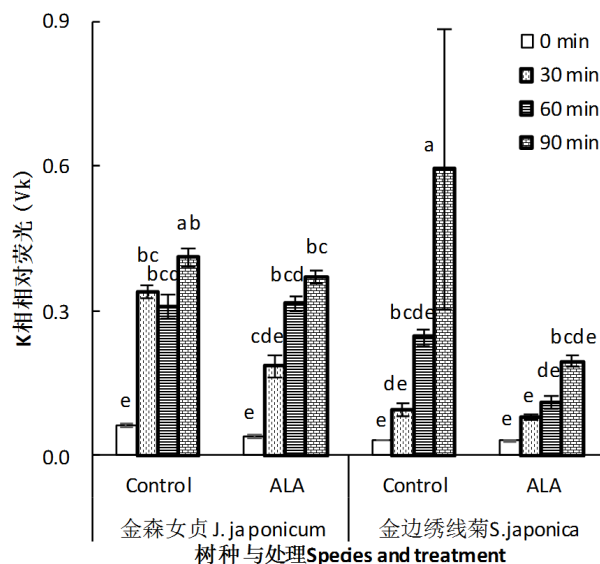


Figure 6. Effect of ALA treatment on the relative fluorescence of K phase (V_k) of detached leaves of *J. japonicum* and *S. japonica* after heat stress

图 6. ALA 处理对金森女贞和金山绣线菊离体叶片高温胁迫后 K 相相对荧光(V_k)的影响

高。因而, ALA 处理可以在短期高温条件下保护金森女贞叶片 PSII 反应中心供体侧 OEC 活性, 也可以在较长时间高温逆境中保护金山绣线菊叶片 PSII 反应中心 OEC 活性。

3.3.6. PSII 反应中心关闭最大速率(M_0)

与 V_k 相似, 高温逆境导致两种园林植物叶片 PSII 反应中心受体侧 Q_A 被完全还原的速率(M_0)迅速上升(图 8), 意味着 PSII 反应中心完全关闭的速度加快。但是, 金森女贞与金山绣线菊的响应不完全相同。

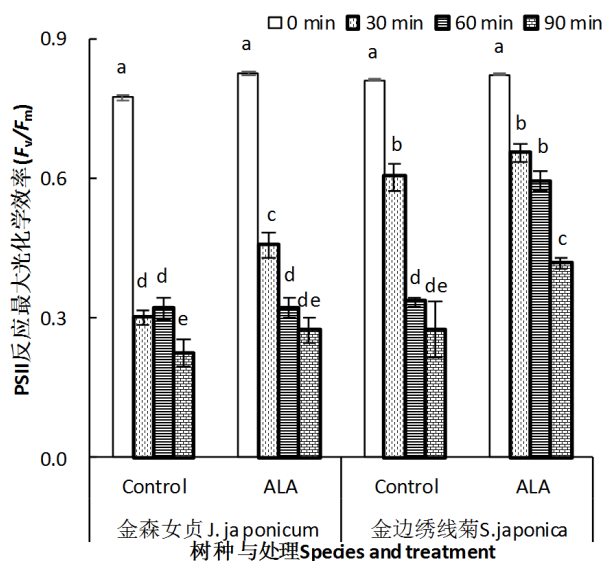


Figure 7. Effect of ALA treatment on the maximum photochemical efficiency ($F_v/F_m = \Phi P_o$) of PSII reaction center of leaves of *J. japonicum* and *S. japonica* after heat stress

图 7. ALA 处理对金森女贞和金山绣线菊离体叶片高温胁迫后 PSII 反应中心最大光化学效率($F_v/F_m = \Phi P_o$)的影响

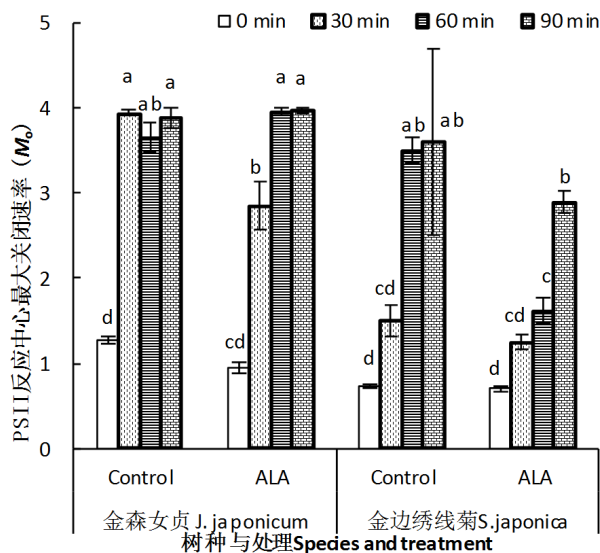


Figure 8. Effect of ALA treatment on the maximum close rate of PSII reaction center (M_0) of detached leaves of *J. japonicum* and *S. japonica* after heat stress

图 8. ALA 处理对金森女贞和金山绣线菊离体叶片经高温处理后 PSII 反应中心最大关闭速率(M_0)的影响

对前者来说, 30 min 高温处理的 M_o 与 60 或 90 min 高温处理的 M_o 几乎完全相等, 说明 30 min 高温导致了叶片 Q_A 被完全还原。对金山绣线菊来说, 高温处理 60 min 才会导致 M_o 显著高于短时间高温处理或者未经高温处理。这也说明金山绣线菊叶片 Q_A 被还原对高温的忍耐力强于金森女贞。

ALA 处理抑制高温诱导的叶片 M_o 上升效应在两种园林植物中表现模式存在差异。对金森女贞来说, ALA 抑制未经高温或者短时间高温处理的叶片 M_o 上升, 但是对高温 60 min 及其以上时间的叶片没有效应。对金山绣线菊来说, 未经高温处理或者高温处理 90 min 叶片中观察不到 ALA 处理效应, 但是, 在高温处理 30 或 60 min 时, ALA 处理效应显然存在, 尤其是在高温 60 min 的叶片。

3.3.7. PSII 捕获的光能用于光合电子传递的量子产额(ϕE_o)

图 9 显示, 高温处理导致两种园林植物叶片 PSII 反应中心捕获的光能用于光合电子传递的量子产额 ϕE_o 下降, 但是, 两者之间存在着明显差异。对金森女贞来说, 50℃ 高温处理 30 min, ϕE_o 下降 68%, 即使延长高温时间, 也是保持相似的下降幅度。但对金山绣线菊来说, 高温处理 30 min, ϕE_o 才下降 15%; 若高温处理 60 min, ϕE_o 下降 83%。再次说明, 金山绣线菊叶片 ϕE_o 对高温的忍受能力高于金森女贞。

ALA 处理可以显著提高两种园林植物叶片 ϕE_o 对高温逆境的忍耐力。其中, 金森女贞叶片在未经或 30 min 高温时, ALA 处理叶片 ϕE_o 显著高于对照, 而金山绣线菊叶片经高温处理后 ϕE_o 均显著高于对照(图 9)。

3.3.8. PSII 有活性反应中心密度(RC/CS)

图 10 展示的是两种园林植物叶片 PSII 有活性反应中心的密度(RC/CS)。从中可以看出, 50℃ 高温处理 30 min 后, 金森女贞叶片 RC/CS 下降了 79%, 金山绣线菊下降了 62%。随着高温时间延长, 金森女贞 RC/CS 几乎没有继续下降, 而金山绣线菊下降到原初值到 80% 左右便不再下降。说明高温胁迫导致两种植物叶片 RC/CS 下降程度相近, 只是金森女贞在短时间高温胁迫后就降低到最低程度, 而金山绣线菊需要更长时间才降低到最低程度。这说明, 后者更耐热。

ALA 处理显著提高两种植物叶片 PSII 有活性反应中心对高温的适应性, 其中, 金森女贞对 ALA 处

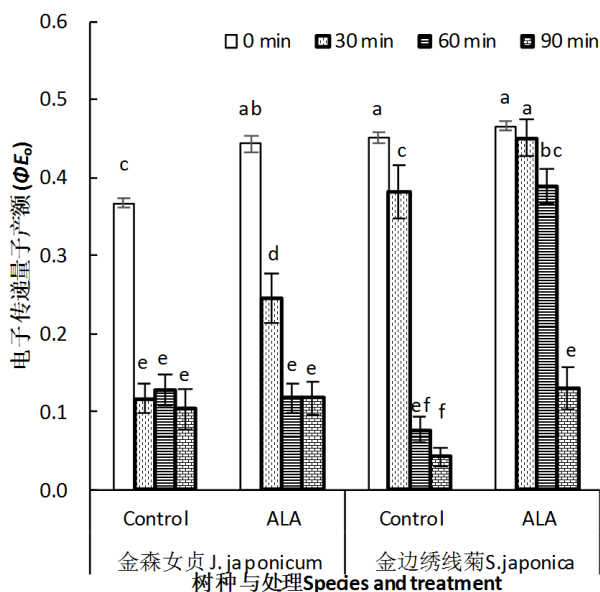


Figure 9. Effect of ALA treatment on the quantum yield for electron transport (ϕE_o) of detached leaves of *J. japonicum* and *S. japonica* after heat stress

图 9. ALA 处理对金森女贞和金山绣线菊离体叶片经高温处理后 PSII 反应中心用于电子传递的量子产额(ϕE_o)的影响

理效应比较稳定。无论是经或未经高温处理的叶片, RC/CS 比对照高出 40%~87%。但对金山绣线菊来说, 未经或仅经高温处理 30 min 的叶片, RC/CS 仅增加 5%~10%, 没有达到差异显著水平($P > 0.05$), 只有在高温处理 60 min 时, ALA 处理增幅才达到 78%, 显著高于对照($P < 0.05$)。

3.3.9. PSI 反应中心最大光化学效率(ϕR_0)

图 11 显示, 两种园林植物叶片光合系统 I 反应最大光化学效率对高温处理存在着明显差异, 其中金

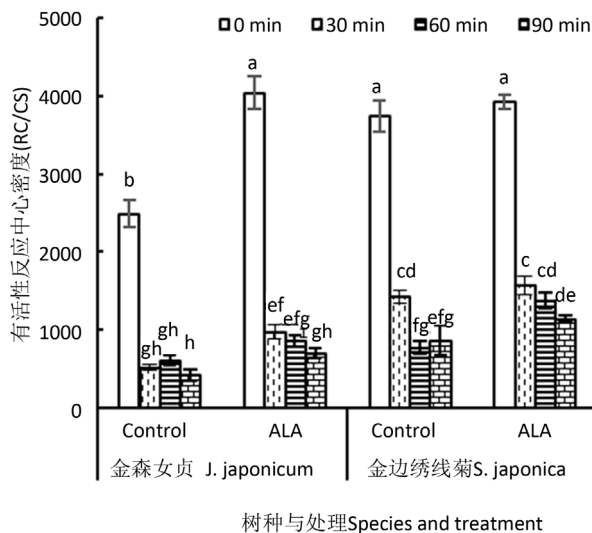


Figure 10. Effect of ALA on the active PSII reaction center density (RC/CS) of detached leaves of *J. japonicum* and *S. japonica* after heat stress

图 10. ALA 处理对金森女贞和金山绣线菊离体叶片高温处理后有活性反应中心密度(RC/CS)的影响

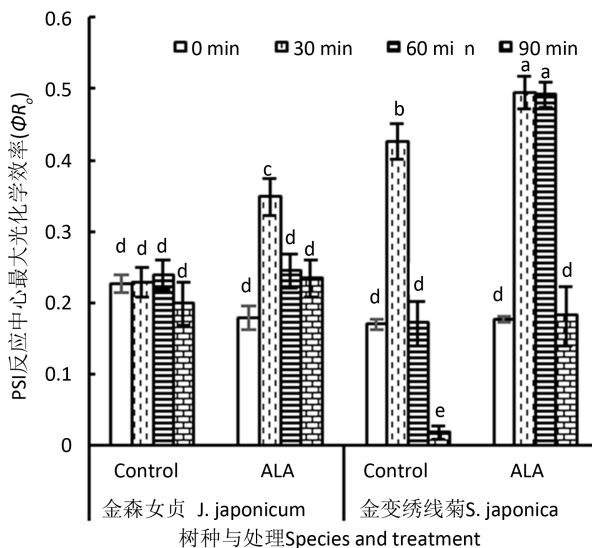


Figure 11. Effect of ALA on the maximum photochemical efficiency to reduce the end electron receptors of PSI reaction centers (ϕR_0) of detached leaves of *J. japonicum* and *S. japonica* after heat stress

图 11. ALA 处理对金森女贞和金山绣线菊离体叶片经高温处理后 PSI 反应中心最大光化学效率(ϕR_0)的影响

森女贞叶片 ϕR_o 对 50℃ 高温处理没有明显反应, 而金山绣线菊叶片 ϕR_o 在高温处理 30 min 时显著上升, 但在高温 90 min 后则极显著低于未处理对照, 表明该物种叶片 PSI 反应中心对高温胁迫有相当灵活的调节能力。短时间高温胁迫诱导 PSI 活性上升, 长时间高温逆境导致 ϕR_o 下降。 ϕR_o 下降是高温胁迫引起的伤害结果。

ALA 处理对两种植物 ϕR_o 的影响也存在显著差异。未经高温处理的金森女贞叶片 ϕR_o 对 ALA 处理没有反应, 高温 30 min 处理诱导 ϕR_o 上升; 更长时间高温后, ALA 处理效应消失。对金山绣线菊来说, 未经高温处理叶片 ϕR_o 没有因 ALA 处理而出现明显效应, 而高温处理不同时间后, 所有叶片 ϕR_o 均显著上升。其中, 高温处理 30 min 叶片 ϕR_o 增加 16%, 高温处理 60 或 90 min 则分别比对照高出 1.87 倍和 8.69 倍。

3.3.10. 以吸收为基础的光合性能指数(PI_{abs})

图 12 显示, 两种园林植物叶片以吸收为基础的光合性能指数 PI_{abs} 对高温胁迫非常敏感, 只要 50℃ 高温处理 30 min, 金森女贞叶片 PI_{abs} 下降 99%, 金山绣线菊叶片也下降 78%。如果高温延长到 60 或 90 min, 金山绣线菊 PI_{abs} 下降 99.5%。这些现象一方面说明, PI_{abs} 的确是一个非常敏感的高温伤害指标, 同时也证明, 金山绣线菊叶片对高温的忍受能力强于金森女贞。

ALA 处理显著提高两种植物 PI_{abs} , 但两种植物之间存在着差异。对金森女贞来说, ALA 处理提高了未经或仅经高温 30 min 叶片的 PI_{abs} , 增幅达 1.35 和 6.80 倍。但从统计角度看, 只有前者差异达到 $P = 0.05$ 水平。对金山绣线菊来说, ALA 提高所有叶片 PI_{abs} , 其中未经高温处理叶片增加 16%, 经高温处理 60 min 叶片的 PI_{abs} 增加 35.78 倍。两者与对照相比, 差异达到 $P = 0.01$ 显著水平。

3.3.11. PSI 反应中心氧化还原速率(V_{PSI} 和 $V_{PSII-PSI}$)

图 2 已经列出来的“V”字型 820 nm 调制反射曲线, 其 MR_o/MR 下降阶段为 PSI 反应中心失去电子被氧化过程, 上升阶段为 PSII 反应中心传递来的电子还原 PSI 反应中心过程。以 0.7 ms 到 3 ms 间 MR_o/MR 下降值, 可以计算出 PSI 反应中心被氧化的速率 V_{PSI} (见图 13A); 以 7 ms 到 100 ms 间 MR_o/MR 上升值,

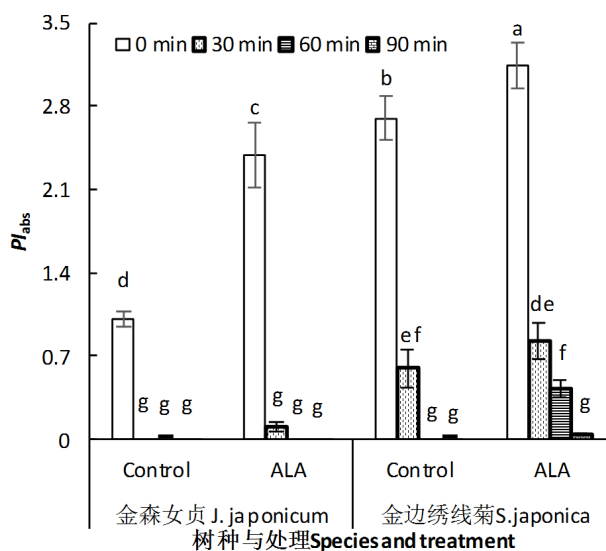


Figure 12. Effect of ALA on the capacity index based on absorption (PI_{abs}) of detached leaves of *J. japonicum* and *S. japonica* after heat stress

图 12. ALA 处理对金森女贞和金山绣线菊离体叶片经高温处理后以吸收为基础的性能指数(PI_{abs})的影响

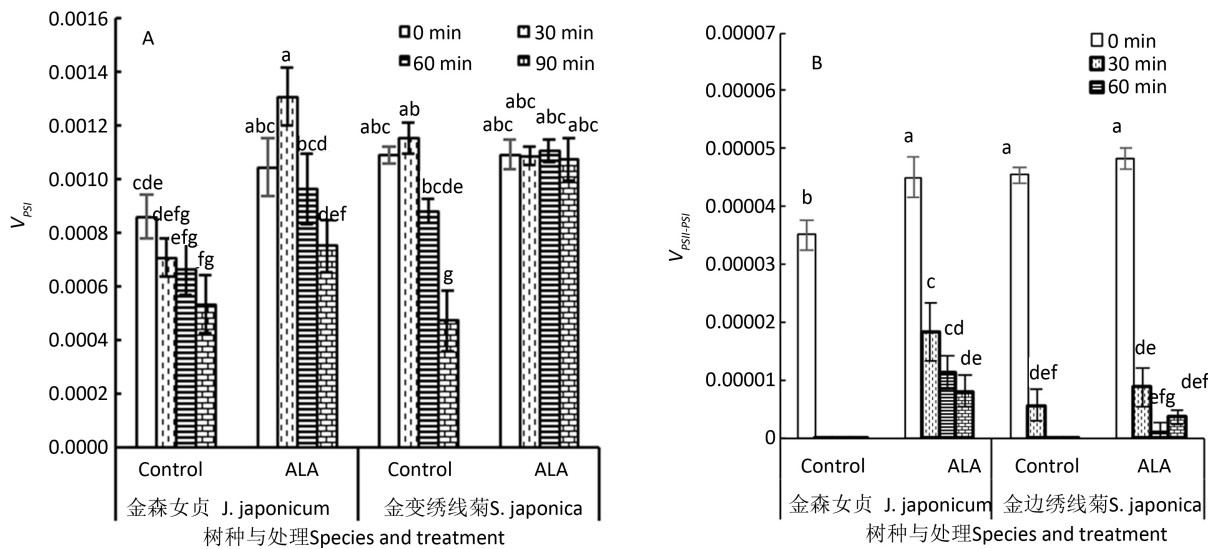


Figure 13. Effect of ALA on the oxidation (V_{PSI}) and reduction rates ($V_{PSII-PSI}$) of PSI reaction center of detached leaves of *J. japonicum* and *S. japonica* after heat stress

图 13. ALA 处理对金森女贞和金山绣线菊离体叶片经高温处理后 PSI 反应中心氧化速率(V_{PSI})和还原速率($V_{PSII-PSI}$)的影响

可以计算出 PSII 传递过来电子还原 PSI 反应中心的速率 $V_{PSII-PSI}$ (见图 13B)。

从图 13A 上看, 高温胁迫导致两种植物叶片 V_{PSI} 下降, 而 ALA 处理可以提高植物 PSI 反应中心的耐热性。就常温对照而言, 经 ALA 处理的金森女贞叶片 V_{PSI} 虽然高于对照, 但从统计学上看, 两者差异不显著。当叶片经 50℃ 高温处理 30 或 60 min 时, ALA 处理叶片 V_{PSI} 上升, 对照下降, 两者呈现出极显著差异($P < 0.01$)。对金边绣线菊来说, 常温或短时间高温胁迫时, ALA 对 V_{PSI} 的影响不大, 而在 60 min, 特别是 90 min 高温胁迫时, ALA 处理叶片 V_{PSI} 显著高于对照。从而说明, ALA 对两种园林植物叶片 PSI 反应中心耐高温能力有显著促进效应。

从图 13B 可以看出, 从 PSII 反应中心传递来的电子还原 PSI 反应中心的速率($V_{PSII-PSI}$)比 PSI 自身氧化速率(V_{PSI})低 1 个数量位, 但是, $V_{PSII-PSI}$ 对高温的敏感性却远远高于 V_{PSI} 。无论是金森女贞还是金边绣线菊, 50℃ 高温处理后, $V_{PSII-PSI}$ 迅速下降, 而且金森女贞下降速度大于金边绣线菊, 未经 ALA 处理叶片大于经处理叶片。这说明两个光合系统间电子传递对高温胁迫非常敏感, 而 ALA 处理可以提高两种园林植物 $V_{PSII-PSI}$ 对高温胁迫的敏感性。

4. 讨论

4.1. 植物耐热性与叶绿素荧光特性

金森女贞和金山绣线菊均是园林生产中常用的金黄叶彩色树种。其中前者原产于日本, 在我国种植有十多年历史; 后者来自于北美, 喜欢光照温暖湿润气候和肥沃土壤, 而且耐寒性较强[17][18], 适宜在长江以北多数地区栽培。有人提出, 金森女贞比金叶女贞更耐高温[19], 适应我国南方夏季高温环境。但也有人[20]提出, 金森女贞属于最不耐热的一类园林植物, 而金山绣线菊的耐热性尚未见报道。本试验利用离体叶片经高温胁迫后再用 M-PEA 检测叶绿素荧光特性, 所获证据表明, 金森女贞的耐热性的确不如金山绣线菊。一般植物叶片经充分暗适应后照光, 其叶绿素可以发出一系列荧光, 形成典型的 OJIP 荧光变化。但是, 金森女贞的 OJIP 变化幅度明显不如金山绣线菊(图 1)。特别是在 50℃ 高温处理后, 金森女贞荧光曲线除了 K 点上升外, 其它的 JIP 点几乎不再起来, 且恢复得比金山绣线菊少。由此看来, 金森

女贞叶片(离体)对高温的忍耐力不如金山绣线菊。从 PSI 反应中心 820 nm 光反射吸收荧光曲线上看, 高温处理后, 金森女贞的 MR_0/MR 最低值迅速上升, 而最高值迅速下降, 说明其 PSI 反应中心活性很容易失活。从其它叶绿素荧光参数(见下文)上看, 两种植物的特性差异也明显存在。

不同的荧光参数代表着不同的生物学意义。比如, F_0 , 代表着光合膜结构的稳定性。一般认为 F_0 越低越好。逆境胁迫导致 F_0 上升, 是一种伤害症状[21] [22]。但是, 从本试验结果看, 50℃ 高温胁迫 30 min 导致金森女贞叶片 F_0 显著上升; 高温时间再延长, F_0 却不再有明显反应。相反, 金山绣线菊叶片 F_0 在高温处理 60 min 时仍然处于上升状态。这一结果说明, 不能简单地以 F_0 高低来判定高温对光合膜的影响。 F_0 变化是一种正常的生理反应。但若不再变化, 那么, 光合膜可能受到了不可逆的伤害。小麦上, 如果将叶片以 2℃/min 速率缓慢加热上升, F_0 会在某一温度临界点突然上升[23]。为此, 作者提出, F_0 的这一温度变化临界点可以作为判定该物种耐热性的指标。本试验没有研究梯度升温效应, 但是从高温处理的时间效应上看, 两种园林植物叶片 F_0 都存在着先上升, 然后不变或者下降的变化动态(图 3)。我们认为, 可以把 F_0 这个上升点作为物种耐热性的关键点, 也可以将 F_0 不变或下降的时间点作为该物种耐热性判定的依据。也许后者更为可靠。因而, 我们应该动态而不是静态地看待 F_0 这一荧光参数。

除了 F_0 之外, F_m 、 F_v 、 $F_{300\mu s}$ (或者叫 F_k)、 F_j 、 F_i 等都是非常重要的荧光数据点, 经常用来探讨植物叶片 PSII 反应中心供体侧和受体侧活性。然而, 在本试验研究中, 常用的生理指标 W_k (K 相占 J 相的相对荧光)、 V_j 、 V_i 以及 Ψ_0 等都没有表现出前人报道的那种特有规律, 只有 V_k (K 相相对荧光)和 F_v/F_m 等表现出对热胁迫的良好响应。因而, 图 4~图 8 (分别为 F_m 、 F_v 、 F_v/F_m 、 V_k 和 M_0)均反映出两种植物对热胁迫的响应特征。 F_m 是最大荧光, F_v 是可变荧光, V_k 代表 PSII 反应中心供体侧放氧复合体活性受抑制程度, F_v/F_m 代表 PSII 反应中心最大光化学效率, M_0 反映 PSII 反应中心受体侧 Q_A 被完全还原的速率。因而, F_m 、 F_v 、 F_v/F_m 越高, 说明光化学能力越强, 而 V_k 和 M_0 越小, 说明光合原初反应活性越高。从本试验研究结果看, 这些荧光参数对高温胁迫的反应与 F_0 相似, 金森女贞离体叶片由于耐热性弱于金山绣线菊, 因而, 在 50℃ 高温处理 30 min 后, 便迅速下降, 而金山绣线菊耐热性较强, 在高温处理的 30~90 min 内, 随着处理时间延长, 而呈现有规律性的变化。这些结果说明, 这些荧光参数能够较好地反映出物种叶片在高温胁迫下的伤害程度。

除此之外, PSII 反应中心捕获的光能用于电子传递的量子产额 ϕE_0 (图 9)、有活性的反应中心密度 RC/CS (图 10)、PSI 反应中心用于还原受体侧末端电子受体的量子产额 ϕR_0 (图 11)、以吸收为基础的光合性能指数 PI_{abs} (图 12)以及 PSI 反应中心氧化还原速率 V_{PSI} 和 $V_{PSII-PSI}$ (图 13)等, 都能很好地反映出金森女贞和金山绣线菊叶片对高温胁迫的响应, 可以作为植物耐热性评判的重要指标。

4.2. ALA 与园林植物耐热性

5-氨基乙酰丙酸(ALA)是一种天然氨基酸, 同时具有多种生长发育调节活性[24]。有关 ALA 提高植物抗逆性的研究已经很多报道[2] [5] [6] [7] [9] [10] [16] [25] [26] [27]。它们涉及到植物耐盐性、耐寒性、耐弱光性、耐旱性、耐涝性等, 但是与植物耐高温性的研究报道相对较少[14] [15]。ALA 与园林植物耐热性的关系迄今未见有报道。本试验以金森女贞和金山绣线菊为材料, 研究了叶面喷施 ALA 溶液 25 d 后离体叶片的耐热性, 发现 ALA 能显著提高植物耐热性。这不仅表现在它对 PSII 反应中心供体侧放氧复合体活性的维护效应(V_k 极显著下降, 图 7), 同时也表现在对 PSII 反应中心最大光化学效率(F_v/F_m , 图 6)以及受体侧 Q_A 开放程度(M_0 较低, 图 8)。因而, ALA 对高温胁迫下园林植物叶片 PSII 反应中心的保护效应是显著的。而且, 这种保护作用与其它逆境如低温[16]、弱光[8]、水涝[10]等一样, 都与 PSII 反应中心有关。本试验还观察到, ALA 处理提高金森女贞和金山绣线菊叶片耐热性还与其提高叶片 PSI 反应中心还原末端电子受体活性 ϕR_0 有关(图 11)。这与谢荔等[28]在葡萄上观察的结果相吻合。他们提出,

ALA 处理可以诱导植物叶片抗氧化酶活性提高, 其中 SOD 等位于叶绿体光合系统 I 附近, 可以清除光合电子传递链中产生的过剩的活性氧, 通过水-水循环[29], 消除活性氧对光合系统的伤害效应, 保持电子传递链流畅, 提高植物光合效率。因而, 在园林植物中推广应用 ALA, 可以提高植物耐高温胁迫能力, 提高植物光合性能, 促进植株生长, 在炎热的夏季达到美化和绿化效果。

参考文献

- [1] 蒋昌华, 胡永红, 秦俊, 王玉勤, 张明丽. 高温胁迫对月季品种部分生理指标的影响研究[J]. 种子, 2008, 27(6): 31-34, 38.
- [2] Hotta, Y., Tanaka, T., Takaoka, H., Takeuchi, Y. and Konnai, M. (1997) New Physiological Effects of 5-Aminolevulinic Acid in Plants: The Increase of Photosynthesis, Chlorophyll Content, and Plant Growth. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **61**, 2025-2028. <https://doi.org/10.1271/bbb.61.2025>
- [3] Watanabe, K., Tanaka, T., Hotta, Y., Kuramochi, H. and Takeuchi, Y. (2000) Improving Salt Tolerance of Cotton Seedlings with 5-Aminolevulinic Acid. *Plant Growth Regulation*, **32**, 99-103. <https://doi.org/10.1023/A:1006369404273>
- [4] 汪良驹, 姜卫兵, 章镇, 松井弘之, 小原均. 5-氨基乙酰丙酸的生物合成和生理活性及其在农业中的潜在应用[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(3): 185-192.
- [5] 康琅, 程云, 汪良驹. 5-氨基乙酰丙酸对秋冬季大棚西瓜叶片光合作用及抗氧化酶活性的影响[J]. 西北植物学报, 2006, 26(11): 2297-2301.
- [6] 陈慧, 徐丽, 李旭, 王冬云, 安玉艳, 汪良驹. 5-氨基乙酰丙酸提高杜鹃和香樟叶片耐寒性效应[J]. 植物生理学报, 2017, 53(12): 2103-2113.
- [7] 汪良驹, 姜卫兵, 黄保健. 5-氨基乙酰丙酸对弱光下甜瓜幼苗光合作用和抗冷性的促进作用[J]. 园艺学报, 2004, 31(3): 321-326.
- [8] 孙永平, 魏震宇, 张治平, 汪良驹. ALA 对遮荫条件下西瓜幼苗强光抑制的保护效应[J]. 西北植物学报, 2008, 28(7): 1384-1390.
- [9] 程菊娥, 肖启明, 成飞雪, 刘勇. 5-氨基乙酰丙酸对温室烟草的光合作用及抗逆性的促进效应[J]. 湖南农业科学, 2007(4): 58-60.
- [10] An, Y., Qi, L. and Wang, L.J. (2016) ALA Pretreatment Improves Waterlogging Tolerance of Fig Plants. *PLoS ONE*, **11**, e0147202. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147202>
- [11] Wei, Z.Y., Zhang, Z.P., Lee, R.M., Sun, Y.P. and Wang, L.J. (2012) Effect of 5-Aminolevulinic Acid on Leaf Senescence and Nitrogen Metabolism of Pakchoi under Different Nitrate Levels. *Journal of Plant Nutrition*, **35**, 49-63. <https://doi.org/10.1080/01904167.2012.631666>
- [12] Ali, B., Xu, X., Gill, R.A., Yang, S., Ali, S., Tahir, M. And Zhou, W.J. (2014) Promotive Role of 5-Aminolevulinic Acid on Mineral Nutrients and Antioxidative Defense System under Lead Toxicity in Brassica Napus. *Industrial Crops and Products*, **52**, 617-626. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.11.033>
- [13] 孙永平. 5-氨基乙酰丙酸(ALA)提高逆境条件下西瓜幼苗叶片光合与光抑制保护机理研究[D]: [博士学位论文]. 南京: 南京农业大学, 2009.
- [14] Zhang, J., Li, D.M., Gao, Y., Yu, B., Xia, C.X. and Bai, J.G. (2012) Pretreatment with 5-Aminolevulinic Acid Mitigates Heat Stress of Cucumber Leaves. *Biologia Plantarum*, **56**, 780-784. <https://doi.org/10.1007/s10535-012-0136-9>
- [15] 马娜, 齐琳, 高晶晶, 巢克昌, 胡巧芳, 蒋红国, 汪良驹. 5-ALA 对高温下无花果扦插幼苗的生长及叶片叶绿素荧光特性的影响[J]. 南京农业大学学报, 2015, 38(4): 546-553.
- [16] 孙永平, 张治平, 徐呈祥, 申春苗, 高充, 汪良驹. 5-氨基乙酰丙酸处理对低温下西瓜叶片快速叶绿素荧光诱导曲线的影响[J]. 园艺学报, 2009, 36(5): 671-678.
- [17] 郁永英, 马立华, 李广武, 古淑芬. 金山绣线菊引种及繁殖技术[J]. 东北林业大学学报, 2006, 34(1): 45-47.
- [18] 张志法, 唐道城, 杨春江, 周洪. 金叶菖与金山绣线菊的生理抗寒性评价[J]. 北方园艺, 2010(5): 97-100.
- [19] 孙越信, 孙向云, 许东海, 王翔. 浅析金森女贞和金叶女贞的区别及在园林绿化中的应用[J]. 上海农业科技, 2009(3): 106.
- [20] 李晟, 方明, 廖建. 持续高温天气下衡阳市园林植物损伤调查分析与对策[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(19): 6237-6238, 6240.
- [21] 郭延平, 张良诚, 洪双松, 沈允钢. 温州蜜柑叶片气体交换和叶绿素荧光对低温的响应[J]. 植物生理学报, 2000,

26(2): 88-94.

- [22] 吴韩英, 寿森炎, 朱祝军, 杨信廷. 高温胁迫对甜椒光合作用和叶绿素荧光的影响[J]. 园艺学报, 2001, 28(6): 517-521.
- [23] 温晓刚, 林世青, 匡廷云. 高温胁迫对光系统 II 的影响[J]. 生物物理学报, 1996, 12(4): 714-718.
- [24] Akram, N.A. and Ashraf, M. (2013) Regulation in Plant Stress Tolerance by a Potential Plant Growth Regulator, 5-Aminolevulinic Acid. *Journal of Plant Growth Regulation*, **32**, 663-679. <https://doi.org/10.1007/s00344-013-9325-9>
- [25] Nishihara, E., Kondo, K., Parvez, M.M., Takahashi, K., Watanabe, K. and Tanaka, K. (2003) Role of 5-Aminolevulinic Acid (ALA) on Active Oxygen-Scavenging System in NaCl-Treated Spinach (*Spinacia oleracea*). *Journal of Plant Physiology*, **160**, 1085-1091. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00991>
- [26] 刘卫琴, 康琅, 汪良驹. ALA 对草莓光合作用的影响及其与抗氧化酶的关系[J]. 西北植物学报, 2006, 26(1): 57-62.
- [27] 刘晖, 康琅, 汪良驹. ALA 对盐胁迫下西瓜种子萌发的促进效应[J]. 果树学报, 2006, 23(6): 854-859.
- [28] 谢荔, 成学慧, 冯新新, 杨涛, 张治平, 汪良驹. 氨基酸肥料对“夏黑”葡萄叶片光合特性与果实品质的影响[J]. 南京农业大学学报, 2013, 36(2): 31-37.
- [29] Asada, K. (2006) Production and Scavenging of Reactive Oxygen Species in Chloroplasts and Their Functions. *Plant Physiology*, **141**, 391-396. <https://doi.org/10.1104/pp.106.082040>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2168-5665, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: br@hanspub.org