

# 温度对龙葵幼苗叶绿素含量和荧光参数的影响

杨彬, 金小青\*, 陈修斌 (河西学院农业与生物技术学院, 甘肃张掖 734000)

**摘要** [目的]研究温度处理对黑果龙葵叶片叶绿素含量和荧光参数的影响。[方法]以北方常见黑果龙葵幼苗为试材, 设置昼/夜温度(35/30、30/25、25/20、20/15、15/10), 通过对叶绿素含量和叶绿素荧光参数的测定, 分析不同温度对龙葵幼苗叶绿素含量、叶绿素荧光猝灭特性和光能分配等的影响, 研究龙葵幼苗适应性反应以及生理机制。[结果]随着温度降低, 龙葵幼苗叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素(a+b)含量、 $F_v/F_m$ 、 $\Phi PSII$ 、 $qP$  均逐渐减小,  $qN$  增大, 并且随着时间的延长增大幅度提高; 低温导致龙葵幼苗叶片 PSII 的部分失活或受到一定伤害, 原初光能转换效率下降, 电子传递活性减弱, 有效抑制了光合碳代谢电子供应效率, 从而影响植物的光合作用, 并随温度的降低抑制作用加剧。[结论]该研究为新型野生蔬菜龙葵的人工栽培提供相关理论依据。

**关键词** 龙葵幼苗; 温度; 叶绿素含量; 荧光参数; 影响

中图分类号 S647 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2018)05-0056-02

## Effects of Different Temperature on the Content of Chlorophyll in the Leaves of *Solanum nigrum* L. Seedlings and the Fluorescent Index

YANG Bin, JIN Xiao-qing, CHEN Xiu-bin (College of Agriculture and Biotechnology, Hexi University, Zhangye, Gansu 734000)

**Abstract** [Objective] The research aimed to study the effects of temperature on the chlorophyll content and fluorescence parameters of *Solanum nigrum* leaves. [Method] Taking the seedlings of *Solanum nigrum* in the north as test material, the daytime/night temperature (35/30, 30/25, 25/20, 20/15, 15/10) were set. Through the determination of chlorophyll content and chlorophyll fluorescence parameters, the effects of different temperature on the chlorophyll content, chlorophyll fluorescence quenching characteristics and light energy allocation of *Solanum nigrum* were studied, and the adaptive response and physiological mechanism of *Solanum nigrum* seedlings were studied. [Result] With the decrease of temperature, the contents of chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll (a + b),  $F_v/F_m$ ,  $\Phi PS II$  and  $qP$  in the seedlings of *Solanum nigrum* decreased gradually and  $qN$  increased, and increased with the extension of time. In low temperature, PS II in the leaves of *Solanum nigrum* seedlings will be inactive or damaged partly, the conversion efficiency of the original light energy decreased and the electron transfer activity weakened, which effectively inhibited the photosynthetic carbon metabolism electron supply efficiency and thus affected the photosynthesis of plants and decreased with temperature inhibition intensified. [Conclusion] The research provides theoretical basis for the artificial cultivation of the new wild *Solanum nigrum*.

**Key words** *Solanum nigrum* seedlings; Temperature; Content of chlorophyll; Fluorescent index; Effects

龙葵分布于我国各个地区, 性属喜温耐寒植物类型, 生长温度在 10℃ 时植株的生长发育迟缓, 而 5℃ 时植株停止生长。植物光合作用是其基本的生命特征, 有机物的合成及能量源的基本功能体现。光合器官是植物光合作用期间最敏感的部位, 在植物生长的环境条件中低温弱光照是直接影 响光合机构的性能及活性的最为直接条件。植物叶绿素荧光参数包含许多光合作用信息, 它与植物光合作用关系密切, 叶绿素荧光参数可以反映出大多数逆境胁迫对植物光合作用造成的影响。关于温度对蔬菜作物(如黄瓜、番茄、辣椒、西葫芦)的影响已有大量研究<sup>[1-5]</sup>。龙葵作为一种新型野生蔬菜, 对其研究报道内容不多<sup>[5-8]</sup>, 尤其是龙葵植物幼苗期处于低温条件下的研究报道几乎空白。该试验研究了不同温度对龙葵幼苗叶绿素含量、叶绿素荧光猝灭特性和光能分配等的影响, 通过温度处理研究龙葵幼苗适应性反应以及生理机制, 为新型野生蔬菜龙葵的人工栽培提供相关理论依据。

### 1 材料与方 法

**1.1 试验材料** 试验在 2017 年 6—8 月在河西学院实践教学基地日光温室及实验室进行, 采用我国北方地区常见的黑果龙葵为试材。精选种子 20 g 在湿沙和 4℃ 条件下冷柜层

积处理 30 d, 种子筛选后放入湿润培养皿, 在 12 000 lx 光照 24 h, 打破龙葵种子的休眠。

**1.2 育苗** 浸种催芽, 采用规格为 10 cm × 10 cm × 10 cm 的营养钵进行定植, 基质比例为锯末: 炉渣: 蛭石: 菇渣: 牛粪 = 3: 2: 2: 2: 1, 日光温室常规育苗。

**1.3 处理** 试验设置昼/夜温度  $T_1$  35/30、 $T_2$  30/25、 $T_3$  25/20、 $T_4$  20/15、 $T_5$  15/10 这 5 个处理。幼苗 4 片真叶展开, 选择整齐一致的幼苗植株进行试验指标的测定后, 置入人工智能气候箱进行不同温度处理。处理 0、5、10 d 进行指标测定。

### 1.4 指标的测定

**1.4.1 叶绿素含量的测定。** 试验采用丙酮法<sup>[9]</sup>。取 2~3 片叶, 去叶脉, 剪碎混匀后称取 0.2 g, 重复 3 次。分别放入 3 支 25 mL 具塞试管并加入 0.5 mL 纯丙酮、20 mL 80% 丙酮, 室温下避光提取 24~36 h, 其间振荡 3 次, 直至叶片发白(叶片叶绿素浸提干净), 用 80% 丙酮溶液定容至 25 mL。试验以 80% 丙酮为空白, 用 UV-762 型紫外可见分光光度计(上海)分别在波长 663、646 nm 下于处理结束时进行测定。计算叶片的叶绿素 a(chla)、叶绿素 b(chlb)的浓度:

$$C_a(\text{mg/L}) = 12.21D_{663} - 2.81D_{646}$$

$$C_b(\text{mg/L}) = 20.13D_{646} - 5.03D_{663}$$

式中,  $C_a$ 、 $C_b$  为叶绿素 a、b 的浓度;  $D_{663}$ 、 $D_{646}$  为叶绿素 a 在波长 663 nm 和叶绿素 b 在波长 646 nm 处的吸光度。

$$\text{叶绿素含量} = C \times V / (1000 \times W)$$

式中,  $V$  为提取液体积;  $W$  为叶片组织鲜重。

**基金项目** 甘肃农业科技创新项目(GNCX2011-12)。

**作者简介** 杨彬(1977—), 男, 甘肃景泰人, 副教授, 硕士, 从事蔬菜栽培与生理研究。\* 通讯作者, 讲师, 硕士, 从事无机及分析化学与物理化学研究。

**收稿日期** 2017-11-29

**1.4.2 叶绿素荧光参数的测定。**试验用 FMS-2 型脉冲调制式荧光仪(英国汉莎科学仪器公司产)测定。测定前将叶片进行 15 min 的暗适应,以 1.6 kHz 弱检测光[光强  $0.04 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ]测定初始荧光  $F_0$ 。接着给一个饱和脉冲光[光强  $6000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,时间 2 s],获得最大荧光  $F_m$ 。当荧光从  $F_m$  快回落到  $F_0$  时,立即加上连续的作用光[ $600 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ],叶片光合作用达到稳态,获得稳态荧光  $F_s$ 。此时再叠加一个饱和光脉冲,获得光下最大荧光  $F_m'$ 。随后关闭作用光源,打开远红光,测得光下最小荧光  $F_0'$ 。公式计算 PSII 最大光化学效率( $F_v/F_m$ )、PSII 潜在活性( $F_v/F_0$ )、PSII 光合电子传递量子效率( $\Phi\text{PSII}$ )、光化学猝灭( $qP$ )和非光化学猝灭( $qN$ ),即:

$$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$$

$$F_v/F_0 = (F_m - F_0)/F_0$$

$$\Phi\text{PSII} = (F_m' - F_s)/F_m'$$

$$qP = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_0')$$

$$qN = (F_m - F_m')/(F_m - F_0')$$

## 2 结果与分析

**2.1 温度对龙葵幼苗叶绿素含量的影响** 从表 1 可看出,不同温度处理对龙葵幼苗叶片叶绿素的含量和组成比例有显著的影响,随处理温度的降低龙葵幼苗叶片中叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素(a+b)的含量均逐渐降低。

表 1 温度对龙葵幼苗叶绿素含量的影响

Table 1 Effects of temperature on the content of chlorophyll in leaves of *Solanum nigrum* seedlings

| 处理<br>Treatment | Chl a 含量<br>Content of<br>Chl a//mg/g | Chl b 含量<br>Content of<br>Chl b//mg/g | Chl(a+b) 含量<br>Content of Chl<br>(a+b)//mg/g | Chl(a/b) |
|-----------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--|----------|
| T <sub>1</sub>  | 0.987 a                               | 0.381 a                               | 1.368 a                                      | 2.591 b  |
| T <sub>2</sub>  | 0.963 b                               | 0.366 b                               | 1.329 b                                      | 2.631 a  |
| T <sub>3</sub>  | 0.888 c                               | 0.355 c                               | 1.243 c                                      | 2.502 b  |
| T <sub>4</sub>  | 0.789 d                               | 0.347 d                               | 1.136 d                                      | 2.274 c  |
| T <sub>5</sub>  | 0.695 e                               | 0.340 e                               | 1.035 e                                      | 2.044 d  |

注:同列不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )

Note: Different lowercases in the same column stand for significant differences ( $P < 0.05$ )

**2.2 温度对龙葵幼苗光化学效率的影响** 试验通过研究龙葵叶片叶绿素荧光参数的变化来探索其光合作用机制受伤害的部位。 $F_v/F_m$  代表 PS II 原初光能转化效率, $\Phi\text{PSII}$  是 PS II 反应部分关闭情况下实际的光能转化效率,与碳同化的强度密切相关。由表 2 可知,随温度的降低龙葵幼苗叶片  $F_v/F_m$  与  $\Phi\text{PSII}$  均逐渐减小,且随时间的延长而加剧。处理 10 d 后,温度小于 T<sub>3</sub> 时  $F_v/F_m$  与  $\Phi\text{PSII}$  均开始明显下降, T<sub>4</sub>、T<sub>5</sub> 均显著小于 T<sub>1</sub> 和 T<sub>2</sub>。说明低温下龙葵叶片受到了光抑制作用,导致 PS II 的部分失活或伤害,使原初光能转换效率降低,光合碳代谢的电子供应受到抑制,从而影响了植株的光合作用,并且随着温度的降低和时间的延长抑制作用愈加明显。

光化学猝灭和非光化学猝灭组成荧光猝灭。光化学猝灭系数  $qP$  反映 PS II 天线色素吸收的光能用于光化学电子

传递。要使  $qP$  值高,须使 PS II 反应中心处于开放状态,说明  $qP$  值在一定程度上反映了 PS II 反应中心的开放程度;非光化学猝灭以系数  $qN$  反映 PS II 天线色素吸收的光能没有用于光合电子传递而以热的形式消耗的光能部分,是由光合膜两侧建立起的质子梯度及形成膜的高能态造成的荧光猝灭, $qN$  值与三磷酸腺苷(ATP)的形成、积累以及光合膜的状态有关。试验结果表明(表 3),随温度降低和时间延长, $qP$  逐渐降低, $qN$  逐渐增大。处理 10 d, T<sub>1</sub>、T<sub>2</sub> 间  $qP$  没有显著差异,但显著高于 T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub>、T<sub>5</sub> 处理。说明低温导致原初电子受体(Q<sub>A</sub>)的重新氧化能力降低,形成 Q<sub>A</sub> 的量减小,导致 PS II 的非辐射能量消耗增加,即 PS II 的电子传递活性下降,使得植株光合碳同化能力受到影响,且随温度的降低而影响加剧。

表 2 温度对龙葵幼苗  $F_v/F_m$  和  $\Phi\text{PSII}$  的影响

Table 2 Effects of temperature on  $F_v/F_m$  and  $\Phi\text{PSII}$  of *Solanum nigrum* leaves

| 处理<br>Treatment | $F_v/F_m$ |         |         | $\Phi\text{PSII}$ |         |         |
|-----------------|-----------|---------|---------|-------------------|---------|---------|
|                 | 0 d       | 5 d     | 10 d    | 0 d               | 5 d     | 10 d    |
| T <sub>1</sub>  | 0.83      | 0.82 a  | 0.81 a  | 0.83              | 0.70 a  | 0.70 a  |
| T <sub>2</sub>  | 0.83      | 0.80 ab | 0.80 ab | 0.83              | 0.68 ab | 0.68 ab |
| T <sub>3</sub>  | 0.83      | 0.78 ab | 0.76 b  | 0.83              | 0.66 b  | 0.66 b  |
| T <sub>4</sub>  | 0.83      | 0.75 b  | 0.70 c  | 0.83              | 0.63 c  | 0.60 c  |
| T <sub>5</sub>  | 0.83      | 0.70 c  | 0.65 d  | 0.83              | 0.56 d  | 0.50 d  |

注:同列不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )

Note: Different lowercases in the same column stand for significant differences ( $P < 0.05$ )

表 3 温度对龙葵幼苗  $qP$  和  $qN$  的影响

Table 3 Effects of temperature on  $qP$  and  $qN$  of *Solanum nigrum* leaves

| 处理<br>Treatment | 光化学猝灭系数( $qP$ )<br>Fluorescence quenching<br>characteristic |         |         | 非光化学猝灭( $qN$ )<br>Non-photochemical<br>quenching |         |         |
|-----------------|---|---------|---------|--|---------|---------|
|                 | 0 d   | 5 d     | 10 d    | 0 d  | 5 d     | 10 d    |
| T <sub>1</sub>  | 0.968   | 0.869 a | 0.798 a | 0.685  | 0.915 c | 1.113 c |
| T <sub>2</sub>  | 0.968   | 0.861 a | 0.783 a | 0.685  | 1.593 b | 2.786 b |
| T <sub>3</sub>  | 0.968   | 0.498 b | 0.469 b | 0.685  | 1.718 b | 2.877 b |
| T <sub>4</sub>  | 0.968   | 0.466 c | 0.434 c | 0.685  | 2.481 a | 3.563 a |
| T <sub>5</sub>  | 0.968   | 0.049 d | 0.028 d | 0.685  | 2.558 a | 3.867 a |

注:同列不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )

Note: Different lowercases in the same column stand for significant differences ( $P < 0.05$ )

## 3 讨论与结论

植物叶绿素含量不仅关系到植物的光合同化过程,也是衡量植物低温、弱光胁迫的重要生理指标。陈青君等<sup>[10]</sup>在黄瓜叶片的试验研究证实,其叶绿素含量受低温胁迫强度的不同而存在一定差异。该试验结果证实,在弱光逆境下,龙葵幼苗叶片中叶绿素 a 含量、叶绿素 b 含量、叶绿素(a+b)的含量以及叶绿素(a/b)比值均显著降低,且随温度的降低和时间的延长而差异显著。以 35/30、30/25 昼夜温度处理,有利于龙葵幼苗叶片光合色素的积累。

植物叶绿素 a 荧光诱导动力学检测技术以其体内叶绿素 a 为标志,包括光合作用信息,很容易受到逆境影响,是快速实效研究逆境胁迫对植物光合作用影响的直接方法。该

(下转第 72 页)

### 3 结论

(1) 研究区水源涵养量呈降低趋势。1998、2005、2013年水源涵养总量分别为56.93亿、59.68亿、56.25亿  $m^3$ 。从流域看,昌化江流域贡献了最高的水源涵养量,其次为万泉河流域。研究区产水量亦逐年降低。1998、2005、2013年中部山区总产水量分别为97.3亿、97.6亿、93.5亿  $m^3$ 。从各流域情况看,昌化江流域贡献了最高的产水量,其次为万泉河流域。

(2) 中东部地区橡胶园面积增长较快,水源涵养量逐年降低。

(3) 海南中部国家级重点生态功能保护区自2005年开始建设以来,天然林面积显著增加,防洪调水的功能大为加强。2005—2013年,天然林面积增加了474.02  $km^2$ ,增加了5.13%,与建设前相比,1998—2013年增加了457.00  $km^2$ ,增加了9.37%。从产水量表现看,2013年丰水年,产水量降低,1998年枯水年,产水量较大,对防洪调水有较大作用。

(4) 2013年产水量模拟结果与实际水资源量有较大偏差,原因在于2013年降雨量比常年高出60%左右,对模拟结果有影响。为了提高模拟结果的精确性,下一步将运用逐月气象数据,对水源涵养量和防洪调蓄功能进行精确模拟。

### 参考文献

- [1] 李文华,刘向华,欧阳志云. 生态系统服务功能价值评估的理论、方法与应用[M]. 北京: 中国人民大学出版社,2008.
- [2] 李凌浩,林鹏,王其兵,等. 武夷山甜槠林水文学效应的研究[J]. 植物生态学报,1997,21(5):393-402.
- [3] 周光益,曾庆波,黄全,等. 热带山地雨林林冠对降雨的影响分析[J]. 植物生态学报,1995,19(3):201-207.
- [4] 张海博. 基于SEBS与SCS模型的区域水源涵养量估算研究:以北京北部山区为例[D]. 北京:中国环境科学研究院,2012:39-43.
- [5] 刘贤德,李效熊,张学龙,等. 干旱半干旱区山地森林类型的土壤水文特征[J]. 干旱区地理,2009,32(5):691-697.

- [6] 李佳,邵全琴,刘纪远. 基于综合蓄水能力法的森林水源涵养功能估算:以江西兴国县为例[J]. 西北林学院学报,2012,27(4):83-87.
- [7] 杨金明. 基于分布式水文模型的森林水源涵养功能评价[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2014.
- [8] 石青. 北京密云水库集水区水源涵养林耗水规律研究[D]. 北京:北京林业大学,2004.
- [9] 张彪,李文华,谢高地,等. 森林生态系统的水源涵养功能及其计量方法[J]. 生态学杂志,2009,28(3):529-534.
- [10] 白杨,郑华,庄长伟,等. 白洋淀流域生态系统服务评估及其调控[J]. 生态学报,2013,33(3):711-717.
- [11] 张灿强,李文华,张彪,刘某承. 基于InVEST模型的西苕溪流域产水量分析(英文)[J]. Journal of resources and ecology,2012,3(1):50-54.
- [12] 傅斌,徐佩,王玉宽,等. 都江堰市水源涵养功能空间格局[J]. 生态学报,2013,33(3):789-797.
- [13] 王小琳. 基于InVEST模型的贵州省水源涵养功能研究[D]. 贵阳:贵州师范大学,2016.
- [14] 龚诗涵,肖洋,郑华,等. 中国生态系统水源涵养空间特征及其影响因素[J]. 生态学报,2017,37(7):2455-2462.
- [15] 李盈盈. 陕西省北洛河流域水源涵养生态服务功能及其价值估算[D]. 西安:西北大学,2015.
- [16] 肖强,肖洋,欧阳志云,等. 重庆市森林生态系统服务功能价值评估[J]. 生态学报,2014,34(1):216-223.
- [17] 潘韬,吴绍洪,戴尔阜,等. 基于InVEST模型的三江源区生态系统水源供给服务时空变化[J]. 应用生态学报,2013,24(1):183-189.
- [18] 包玉斌,李婷,柳辉,等. 基于InVEST模型的陕北黄土高原水源涵养功能时空变化[J]. 地理研究,2016,35(4):664-676.
- [19] InVEST User Guide [EB/OL]. [2017-11-20]. <http://data.naturalcapitalproject.org/nightly-build/invest-users-guide/html/>.
- [20] 饶恩明,肖懿,欧阳志云,等. 海南岛生态系统土壤保持功能空间特征及影响因素[J]. 生态学报,2013,33(3):746-755.
- [21] 吴哲,陈敬,刘贝贝,等. 基于InVEST模型的海南岛氮磷营养物负荷的风险评估[J]. 热带作物学报,2013,34(9):1791-1797.
- [22] 国务院关于印发全国主体功能区规划的通知: 国发[2010]46号[A/OL]. (2011-06-08)[2017-11-20]. [http://www.gov.cn/zwgg/2011-06/08/content\\_1879180.htm](http://www.gov.cn/zwgg/2011-06/08/content_1879180.htm).
- [23] 海南中部山区国家级生态功能保护区规划[EB/OL]. (2005-06-23)[2017-11-20]. <http://www.hinews.cn/news/system/2005/06/23/000051350.shtml>.
- [24] 陈焕镛. 海南植物志:第4卷[M]. 北京:科学出版社,1964.

(上接第57页)

研究中,随温度的降低龙葵幼苗叶片  $F_v/F_m$ 、 $\Phi PSII$ 、 $qP$  均减小,  $qN$  增大,并随时间延长而加剧,35/30、30/25 昼夜温度处理,使龙葵幼苗叶片具有较高的光化学效率。表明龙葵幼苗在低温条件下,因叶片  $CO_2$  同化能力的减弱,导致植株叶绿体对 ATP 和还原型辅酶 II (NADPH) 的需求下降,从而影响 PS II 的氧化还原作用;其次,PSII 光化学反应是通过降低光合电子传递的形式接受其碳代谢对 ATP、NADPH 需求。光合作用电子传递是与形成 ATP 的光合磷酸化相耦联,且全链电子传递以  $NADP^+$  为最终电子受体。低温时  $qP$  值大幅下降,说明光合结构以及 PSII 活性中心损害,PSII 反应中心开放比例下降,天线色素捕获的光能无法推动光合电子的传递,影响 PSII 功能,光能利用率下降。低温条件植物叶片通过 PSII 电子传递的量子效率下调机制使 ATP 和 NADPH 的产量匹

配卡尔文循环对还原力需求的减少来达到相对平衡。

### 参考文献

- [1] 张国斌. 低温弱光对辣椒幼苗生长与光合生理特性的影响[D]. 兰州:甘肃农业大学,2005:23-26.
- [2] 康恩祥,陈年来,安翠香,等. 低温弱光对西葫芦幼苗抗氧化酶活性和质膜透性的影响[J]. 中国蔬菜,2007(4):16-19.
- [3] 杨彬,金小青,陈修斌. 温度对龙葵幼苗生长指标的影响[J]. 北方园艺,2013(3):45-46.
- [4] 吴征镒. 云南植物志:第2卷[M]. 北京:科学出版社,1979:568-569.
- [5] 朱立新. 中国野菜开发与利用[M]. 北京:金盾出版社,1996:113-114.
- [6] 龙荣华,李学林. 云南野生蔬菜的开发利用[J]. 中国蔬菜,2000(5):33-36.
- [7] 龙荣华,刘关所. 野生蔬菜龙葵[J]. 北方园艺,2002(2):42-44.
- [8] 徐淑云,孙怀志,谭雪. 保健野生蔬菜——少花龙葵的栽培技术[J]. 广西园艺,2002(4):30-31.
- [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,2000.
- [10] 陈青君,张福漫,王永健,等. 临界低温弱光对黄瓜光合特性及其酶变化的影响[J]. 华北农学报,2003,18(4):31-34.