

# 逆境胁迫对菜豆黄化苗转绿过程中交替呼吸途径与叶绿素荧光特征的影响

芦丽娜, 冉瑞兰, 冯汉青\*

(西北师范大学 生命科学学院, 兰州 730070)

**摘要:**以菜豆黄化幼苗作为试验材料,探讨了铅(Pb)或 PEG(聚乙二醇)胁迫下交替呼吸途径在植物转绿过程中对叶绿素含量以及叶绿素荧光特性的影响,以阐明逆境胁迫下植物交替呼吸途径的生理学作用。结果显示:(1)与菜豆黄化幼苗正常转绿过程(对照)相比,Pb 或 PEG 胁迫导致菜豆黄化幼苗的叶绿素含量积累延迟,使叶片 PS II 潜在最大光化学量子效率( $F_v/F_m$ )、光适应下最大光化学效率( $F_v'/F_m'$ )、PS II 光适应下实际光化学效率( $Y(II)$ )和光化学荧光猝灭系数( $qP$ )显著下降,而非光化学猝灭系数(NPQ)则显著增加。(2)在菜豆黄化幼苗转绿过程中,Pb 或 PEG 胁迫导致其交替呼吸途径容量较对照均显著上升。(3)Pb 或 PEG 胁迫下,交替呼吸途径抑制剂[水杨基氧肟酸(SHAM, 1 mmol/L)]使菜豆黄化幼苗转绿过程中叶绿素含量、 $F_v/F_m$ 、 $F_v'/F_m'$ 、 $Y(II)$ 和  $qP$  进一步下降, NPQ 却进一步增加,说明抑制交替呼吸途径会加剧 Pb 或 PEG 胁迫对 PS II 反应中心活性的进一步抑制,使还原力积累加剧,造成热耗散进一步增加。研究表明,Pb 或 PEG 胁迫均显著降低了菜豆黄化幼苗 PS II 对光能的利用率,进而阻碍了菜豆黄化幼苗转绿进程;交替呼吸途径有助于在胁迫条件下缓解 PS II 的过度还原,可能在一定程度上缓解了 Pb 或 PEG 胁迫对其转绿进程的阻碍作用。

**关键词:**菜豆;Pb 胁迫;PEG 胁迫;转绿;交替呼吸途径;叶绿素含量;叶绿素荧光

**中图分类号:** Q945.79; S643.1 **文献标志码:** A

## Effects of Environmental Stress on Alternative Respiratory Pathway and Chlorophyll Fluorescence Characteristics during Greening of Etiolated *Phaseolus vulgaris* Seedlings

LU Li'na, RAN Ruilan, FENG Hanqing\*

(College of Life Sciences, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** By using etiolated bean (*Phaseolus vulgaris*) seedlings, the present work studied the effects of alternative respiratory pathway on chlorophyll content and chlorophyll fluorescence characteristics during greening of etiolated bean seedlings under Pb (lead) or PEG (polyethylene glycol) stresses, to elucidate the physiological role of alternate respiratory pathway of plants under environmental stress. The results showed that: (1) during greening of etiolated bean seedlings, Pb or PEG stress caused significant decreases of the chlorophyll content,  $F_v/F_m$  (the potential maximal photochemical efficiency of PS II),  $F_v'/F_m'$  (the maximum quantum efficiency of PS II photochemistry at illumination),  $Y(II)$  (effective photochemi-

收稿日期: 2018-07-20; 修改稿收到日期: 2018-09-26

基金项目: 国家自然科学基金(31560070); 甘肃省高等学校科研项目(2015A-007); 甘肃省高校基本科研业务费项目; 西北师范大学青年创新团队项目; 甘肃省重点研发计划项目(18YF1NA051)

作者简介: 芦丽娜(1990-)女,在读硕士研究生,主要从事植物生理生态研究。E-mail: 526276295@qq.com

\* 通信作者: 冯汉青,教授,硕士生导师,主要从事植物生理学研究。E-mail: fenghanq@nwnu.edu.cn

cal quantum yield of PS II photosynthetic), and  $qP$  (photochemical quenching coefficient), while Pb or PEG stresses increased the levels of NPQ (non-photochemical quenching), compared to the controls (greening of etiolated bean seedlings without environmental stress). (2) During greening of etiolated bean seedlings, the capacity of the alternative respiratory pathway was increased significantly, compared to the controls. (3) During greening of etiolated bean seedlings under Pb (lead) or PEG stresses, the leaves pre-treated with salicylhydroxamic acid (the specific inhibitor of the alternative respiratory pathway, SHAM) exhibited lower levels of chlorophyll content,  $F_v/F_m$ ,  $F_v'/F_m'$ ,  $Y(II)$  and  $qP$ , but higher levels of NPQ than the leaves without SHAM treatment. This indicate that inhibition of alternate respiratory pathways will aggravate the inhibition of PS II reaction center activity by Pb or PEG stress and further increase the accumulation of reducing power and increase of heat dissipation. These results suggested that, during greening of etiolated bean seedlings, Pb or PEG stress can significantly reduce the utilization of light energy by PS II and hinder the greening process of etiolated bean seedlings, while the alternate respiratory pathway could alleviate the excessive reduction of PS II under stress conditions, thus alleviating the inhibition of Pb or PEG stress on the greening process to some extent.

**Key words:** *Phaseolus vulgaris*; Pb stress; PEG stress; greening; alternative respiratory pathway; content of chlorophyll; chlorophyll fluorescence

铅(Pb)在土壤、水源中广泛存在,其通过吸收入植物体内而对植物产生严重的毒害,被认为是一种主要的植物重金属毒性物质<sup>[1]</sup>。已有研究表明,铅胁迫会导致植物细胞膜透性的改变、线粒体及细胞核等细胞器结构破坏、抗坏血酸含量减少、硝酸还原酶和脱氢酶等酶活力降低以及 DNA 的损伤;此外,铅胁迫能阻止  $Ca^{2+}$  的跨膜内流,使钙调素和 Ca-ATP 酶无法被激活,并抑制有丝分裂的进行,甚至导致植物细胞的死亡<sup>[2-3]</sup>。同时,高温、干旱、盐渍等诸多逆境均会导致植物遭受渗透胁迫,其被认为是限制植物正常生长发育的主要环境因素<sup>[4]</sup>。而渗透胁迫也会破坏植物细胞生物膜系统,改变膜的透性,导致植物细胞核和线粒体等细胞器超微结构的破坏;此外,渗透胁迫还会引起植物细胞离子外漏,影响生物大分子生物合成,改变饱和和脂肪酸含量,阻碍根系生长和营养吸收,从而严重影响植物的正常生长<sup>[5]</sup>。

在高等植物中,线粒体呼吸存在两条不同的途径:细胞色素途径和交替呼吸途径<sup>[6]</sup>。交替氧化酶是存在于植物细胞线粒体交替呼吸途径的末端氧化酶,交替呼吸途径可以使电子从泛醌处分支,绕过线粒体电子传递链中的两个 ATP 形成位点(复合物 III 和复合物 IV),直接由交替氧化酶催化分子氧的 4 个电子还原成水<sup>[7-8]</sup>。因此,与细胞色素途径相比,交替呼吸途径的运行减少了 ATP 的产生,而将本应生成 ATP 的能量以热的形式释放<sup>[9]</sup>。研究发现,当外界环境对植物造成胁迫时,交替呼吸途径能够通过减少细胞内活性氧(ROS)的产生、维持呼吸的运行、加速碳骨架的供应等多种方式降低环境胁

迫对植物造成的压力<sup>[6-9]</sup>。

黑暗下生长的黄化状态的幼苗通过光照转绿是一个涉及到叶绿素生物合成、光合机构装配和叶绿体发育的过程<sup>[10-11]</sup>。植物黄化幼苗为研究外在环境和内部因素对植物叶绿素合成以及光合机构建成的影响等工作提供了良好的材料<sup>[12]</sup>。有研究表明,铅或渗透胁迫均可以影响正常生长的植物的叶绿素合成和光化学反应<sup>[3,5,13]</sup>,但对于在植物黄化叶片转绿过程中 Pb 或渗透胁迫对于植物叶绿素合成和光化学反应的影响鲜有报道。另据报道,交替呼吸途径能够调节植物的叶绿素合成和光化学反应<sup>[14-15]</sup>。然而,在铅或渗透胁迫影响黄化状态植物转绿的过程中,交替呼吸途径所起的生理学角色在国内外尚无研究。

基于此,本研究以菜豆黄化幼苗为实验材料,以叶绿素含量和叶绿素荧光参数作为菜豆黄化幼苗转绿进程的衡量指标,探讨了在 Pb 胁迫或 PEG 诱导的渗透胁迫下交替呼吸途径对菜豆黄化幼苗转绿过程中叶绿素含量及叶绿素荧光特性的影响,该工作有助于进一步了解和丰富在逆境胁迫下植物交替呼吸途径的生理学作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料培养

本试验所用菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.)品种为‘农普 12 号’,种子由广州市农业科学院提供。使用 W/V 为 1% 的 NaClO 溶液对菜豆种子表面消毒 10~15 min,之后充分冲洗(清除残留的 NaClO)。将用蒸馏水浸湿的多层纱布覆盖于培养皿

中,再将已消毒的种子置于纱布中覆盖,将培养皿置于恒温培养箱于 26 ℃ 黑暗下进行萌发。选取萌发均一的种子在含有 Hoagland 培养液的锥形瓶中于 26 ℃ 下继续黑暗培养,每 2 d 更换营养液 1 次。

## 1.2 材料处理

选取 8 d 龄,长势均一的菜豆黄化幼苗作为供试材料,并进行如下两个实验处理,分别在实验 1 和实验 2 光照 0、24、48、72 h 时测量叶绿素含量和叶绿素荧光参数,且分别在实验 1 光照 0 h、24 h、72 h 时测量交替呼吸途径容量。

实验 1:以 Hoagland 培养液为溶剂,配制 0、0.3、0.6、1 mmol/L 的  $Pb(NO_3)_2$  溶液,或以 Hoagland 培养液为溶剂,配制 0、5%、10%、15% 的 PEG-6000 溶液。将黄化幼苗置于上述溶液中于黑暗下预处理 12 h(温度 26 ℃),之后在 26 ℃ 下给予光强为  $(170 \pm 30) \mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$  光照 72 h。

实验 2:配制 1 mmol/L 的水杨基氧肟酸(salicylhydroxamic acid, SHAM, 交替氧化酶的抑制剂),溶剂为质量体积比为 1% 的乙醇。用 1 mmol/L 的 SHAM 或 1% 的乙醇喷洒叶片,于黑暗中孵育 4 h,之后移入含有或不含有 0.3 mmol/L 的  $Pb(NO_3)_2$  的 Hoagland 营养液中,或移入含有 5% PEG-6000 的 Hoagland 营养液中,然后将上述溶液中黄化幼苗置于黑暗下预处理 12 h(温度 26 ℃),后在 26 ℃ 下给予光强为  $(170 \pm 30) \mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$  光照 72 h。

## 1.3 测定指标及方法

**1.3.1 叶绿素含量** 参考李祖祥等<sup>[16]</sup>的方法并略加修改,将研磨提取法修改为暗处丙酮浸泡提取法,以减少叶绿素在提取过程中的损耗。具体方法:称取叶片材料 0.05 g,剪碎,加入 3 mL 80%(体积比)丙酮提取液,暗处浸提过夜,用分光光度计分别测定在 663 nm 和 645 nm 下光吸收值,空白对照为 80%(体积比)丙酮。

**1.3.2 叶绿素荧光参数** 使用叶绿素荧光仪 IM-AGING-PAM(Waltz, Germany)进行叶绿素荧光参数的测定。将待测叶片经过充分的暗适应后,打开测量光,测定初始荧光( $F_0$ )和最大荧光( $F_m$ ),之后打开光化光,当实时荧光( $F_s$ )达到稳态后打开饱和脉冲光,测得最大荧光( $F_m'$ ),关闭光化光,在远红光下测得最小荧光( $F_0'$ )。根据以上参数计算出潜在最大光化学量子效率 $[F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m]$ 、最大光化学效率 $[F_v'/F_m' = (F_m' - F_0')/F_m']$ 、实际光化学效率 $[Y(II) = (F_m' - F_t)/F_m']$ 、光化学猝

灭系数 $[qP = (F_m' - F_t)/(F_m' - F_0)]$ 和非光化学猝灭系数 $[NPQ = F_m/F_m' - 1]$ 等参数。

**1.3.3 交替呼吸途径容量** 交替呼吸途径容量的测定参照 Clark 型氧电极方法<sup>[17]</sup>进行:将叶片材料剪碎,在 KCN 存在下测量叶片耗氧速率;并在 KCN 和 SHAM 共同存在下测量剩余呼吸,交替呼吸途径容量为在 KCN 存在下测得的叶片耗氧速率与剩余呼吸的差值。

## 1.4 数据分析

上述检测均为 4 次独立重复实验结果的平均值,采用 Excel 和 Origin 统计软件完成试验原始数据处理:计算平均值、标准差、显著性差异检验( $t$ -检测,  $\alpha = 0.05$ ),并完成图表绘制工作。

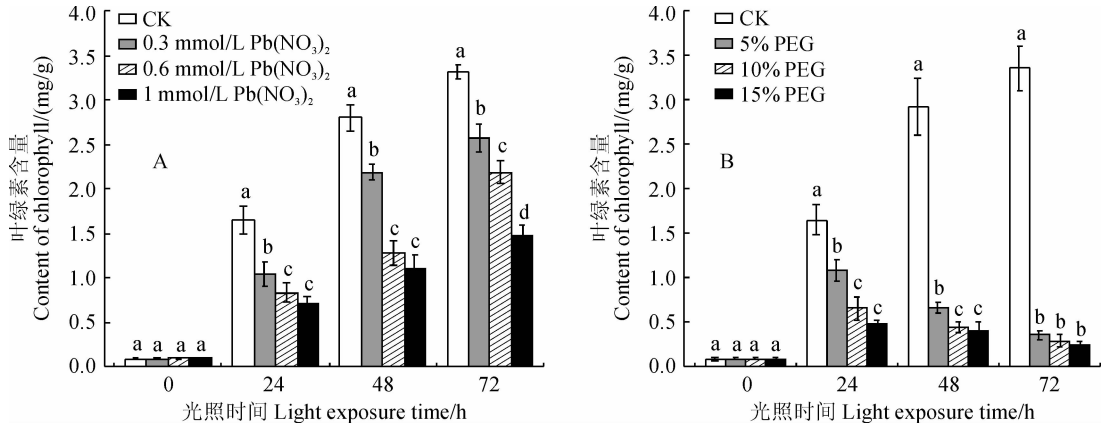
## 2 结果及分析

### 2.1 Pb 或 PEG 胁迫对菜豆黄化幼苗转绿过程中叶绿素含量的影响

图 1 显示,在经历 24、48、72 h 光照后,各浓度 Pb 或 PEG 胁迫处理黄化菜豆叶片叶绿素含量均比照光前明显上升;随着光照时间延长,对照(CK)、各浓度 Pb 胁迫处理黄化菜豆叶片叶绿素含量均逐渐增加,而各浓度 PEG 胁迫处理的叶绿素含量均逐渐降低;在相同光照时间内,各浓度 Pb 或 PEG 胁迫处理黄化菜豆叶片叶绿素含量均比相应对照显著降低,且胁迫浓度越高下降幅度越大。其中,在光照 72 h 后,菜豆黄化幼苗叶片的叶绿素含量在 0.3、0.6、1.0 mmol/L 的  $Pb(NO_3)_2$  胁迫下分别比同期对照(CK)显著降低了 22.73%、34.18% 和 55.8%,而在 5%、10%、15% 的 PEG 胁迫下分别比同期对照显著降低 89.4%、91.22% 和 92.267% ( $P < 0.05$ )。上述结果表明,Pb 或者 PEG 胁迫下菜豆黄化幼苗叶片转绿过程中叶绿素的合成受到显著抑制;随着胁迫浓度的增大和时间的延长,叶绿素的合成受到抑制越严重,且 PEG 胁迫对叶绿素含量的影响趋势显著强于  $Pb(NO_3)_2$  胁迫。

### 2.2 Pb 或 PEG 胁迫对菜豆黄化幼苗转绿过程中叶绿素荧光参数的影响

由表 1、2 可知,在经历 24、48、72 h 光照后,Pb 或 PEG 胁迫黄化菜豆幼苗叶片的  $F_v/F_m$ 、 $F_v'/F_m'$ 、 $Y(II)$ 、 $qP$ 、 $NPQ$  均较照光前(0 h 光照)大幅度增加。在光照 24 h 后,随光照时间继续增加,正常转绿的叶片(CK)的  $F_v/F_m$ 、 $F_v'/F_m'$ 、 $Y(II)$ 、 $qP$  均持续增加,而其  $NPQ$  则逐渐降低;各浓度 Pb 或 PEG 胁迫处理叶片的  $F_v/F_m$ 、 $F_v'/F_m'$ 、 $Y(II)$ 、 $qP$  随光



同期不同小写字母表示处理之间在 0.05 水平存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 以下图表同。

图 1 不同浓度  $Pb(NO_3)_2$  (A) 或 PEG (B) 胁迫下转绿过程中菜豆叶片叶绿素含量的变化

Different lower cases with the same time indicate significant differences between treatments at 0.05 level ( $P < 0.05$ ); the same as below table and figures

Fig. 1 The change of chlorophyll content in greening leaves of bean seedlings under  $Pb(NO_3)_2$  (A) or PEG (B) stress

表 1  $Pb(NO_3)_2$  胁迫下转绿过程中菜豆叶绿素荧光参数的变化

Table 1 The change of chlorophyll fluorescence characteristics in greening leaves of bean seedlings under  $Pb(NO_3)_2$  stress

光照时间 Light exposure time/h	$Pb(NO_3)_2$ 浓度 $Pb(NO_3)_2$ concentration (mmol/L)	叶绿素荧光参数 Chlorophyll fluorescence characteristic				
		$F_v/F_m$	$F_v'/F_m'$	$Y(II)$	$qP$	NPQ
0	0(CK)	0.151±0.003a	0.140±0.006a	0	0	0.037±0.003a
	0.3	0.152±0.037a	0.138±0.051a	0	0	0.039±0.003a
	0.6	0.151±0.005a	0.140±0.003a	0	0	0.037±0.004a
	1.0	0.151±0.002a	0.141±0.006a	0	0	0.039±0.005a
24	0(CK)	0.757±0.013a	0.688±0.008a	0.478±0.007a	0.691±0.008a	0.085±0.004c
	0.3	0.661±0.025b	0.662±0.006b	0.436±0.012b	0.667±0.009b	0.107±0.007b
	0.6	0.595±0.013c	0.661±0.013b	0.406±0.016c	0.644±0.014b	0.131±0.006a
	1.0	0.556±0.018c	0.638±0.015b	0.385±0.015c	0.585±0.018c	0.143±0.007a
48	0(CK)	0.782±0.012a	0.710±0.013a	0.514±0.015a	0.743±0.019a	0.061±0.012c
	0.3	0.620±0.021b	0.649±0.014b	0.417±0.010b	0.596±0.021b	0.139±0.011b
	0.6	0.542±0.025c	0.635±0.009b	0.394±0.009c	0.548±0.008b	0.154±0.009b
	1.0	0.530±0.014c	0.611±0.004c	0.340±0.009d	0.522±0.007c	0.191±0.011a
72	0(CK)	0.813±0.012a	0.756±0.012a	0.557±0.010a	0.761±0.032a	0.048±0.007d
	0.3	0.591±0.015b	0.662±0.009b	0.402±0.017b	0.569±0.013b	0.153±0.005c
	0.6	0.522±0.015c	0.634±0.010c	0.365±0.008c	0.520±0.012c	0.182±0.006b
	1.0	0.473±0.013d	0.596±0.011d	0.308±0.012d	0.457±0.009d	0.248±0.012a

注:  $F_v/F_m$ . PSII 潜在最大光化学量子效率;  $F_v'/F_m'$ . 光适应下最大光化学效率;  $Y(II)$ . PSII 光适应下实际光化学效率;  $qP$ . 光化学荧光猝灭系数; NPQ. 非光化学猝灭系数; 下同

Note:  $F_v/F_m$ . The potential maximal photochemical efficiency of PSII;  $F_v'/F_m'$ . The maximum quantum efficiency of PSII photochemistry at illumination;  $Y(II)$ . Effective photochemical quantum yield of PSII photochemistry at illumination;  $qP$ . Photochemical quenching coefficient; NPQ. Non-photochemical quenching; The same as below

表 2 PEG 胁迫下转绿过程中菜豆叶绿素荧光参数的变化

Table 2 The change of chlorophyll fluorescence characteristics in greening leaves of bean seedlings under PEG stress

光照时间 Light exposure time/h	PEG 浓度 PEG concentration /%	叶绿素荧光参数 Chlorophyll fluorescence characteristic				
		$F_v/F_m$	$F_v'/F_m'$	Y(II)	qP	NPQ
0	0(CK)	0.153±0.013a	0.138±0.004a	0	0	0.035±0.006a
	5	0.154±0.011a	0.137±0.006a	0	0	0.036±0.006a
	10	0.153±0.004a	0.139±0.008a	0	0	0.035±0.011a
	15	0.152±0.003a	0.138±0.006a	0	0	0.039±0.007a
24	0(CK)	0.756±0.021a	0.687±0.018a	0.484±0.016a	0.684±0.020a	0.080±0.013c
	5	0.693±0.012b	0.620±0.017b	0.417±0.013b	0.613±0.016b	0.107±0.011c
	10	0.632±0.012c	0.578±0.014c	0.365±0.022c	0.507±0.020c	0.159±0.014b
	15	0.61±0.009c	0.556±0.014c	0.322±0.008d	0.469±0.018c	0.188±0.005a
48	0(CK)	0.782±0.014a	0.710±0.026a	0.512±0.018a	0.739±0.031a	0.058±0.018d
	5	0.593±0.024b	0.606±0.016b	0.367±0.017b	0.558±0.013b	0.142±0.007c
	10	0.534±0.013c	0.556±0.012c	0.285±0.008c	0.425±0.011c	0.190±0.009b
	15	0.506±0.009d	0.510±0.019d	0.247±0.023c	0.384±0.007d	0.219±0.011a
72	0(CK)	0.813±0.015a	0.756±0.014a	0.549±0.021a	0.780±0.023a	0.048±0.009d
	5	0.557±0.019b	0.406±0.012b	0.248±0.017b	0.480±0.022b	0.168±0.015c
	10	0.491±0.019c	0.372±0.016c	0.201±0.010c	0.310±0.015c	0.233±0.009b
	15	0.422±0.011d	0.337±0.013d	0.141±0.018d	0.251±0.011d	0.289±0.014a

照时间继续增加均逐渐降低,而其 NPQ 则持续增加。在相同光照时间内,与正常转绿的叶片(CK)相比,各浓度 Pb 或者 PEG 胁迫黄化幼苗转绿过程中叶片  $F_v/F_m$ 、 $F_v'/F_m'$ 、Y(II)、qP 数值均显著下降,但 NPQ 数值同时显著增加,且胁迫浓度越高各叶绿素荧光参数的升降幅度越大。其中,在光照 72 h 后,0.3、0.6、1 mmol/L 的  $Pb(NO_3)_2$  溶液处理菜豆幼苗叶片  $F_v/F_m$  分别比对照(CK)显著降低 27.3%、35.79% 和 36.4%,  $F_v'/F_m'$  分别降低 12.43%、16.13% 和 24.7%, Y(II) 分别降低 27.71%、34.47% 和 44.8%, qP 分别降低 25.13%、31.57% 和 39.86%, 而 NPQ 分别显著增加 222%、283% 和 413% ( $P < 0.05$ ); 同时,在光照 72 h 后,5%、10%、15% 的 PEG 胁迫菜豆叶片的  $F_v/F_m$  分别比对照(CK)显著降低 31.48%、39.61% 和 48.09%,  $F_v'/F_m'$  分别显著降低 46.29%、50.39% 和 55.42%, Y(II) 分别显著降低 54.82%、45.78% 和 74.31%, qP 分别显著降低 38.20%、60.28%、67.94%, 但 NPQ 分别显著增加 257%、395.7% 和 514% ( $P < 0.05$ )。以上结果说明 Pb 或 PEG 胁迫会引起菜豆黄化幼苗叶片转绿过程中 PS II 开放程度的降低,对电子的接受、传递能力下降,抑制 PS II 对光能的吸收以及运行效率,使得更多的光能无法

被利用,而是以热的形式耗散掉,即 Pb 或 PEG 胁迫显著降低了 PS II 对光能的利用率。

### 2.3 Pb 或 PEG 胁迫对菜豆黄化幼苗叶片转绿过程中交替呼吸途径容量的影响

由图 2 可看出,在经历 24、72 h 光照后,各处理黄化的菜豆幼苗叶片交替呼吸途径容量均比光照前(0 h)大幅上升,且光照时间越长增幅越大。在相同光照时间内,转绿过程中菜豆黄化幼苗叶片交替呼吸途径容量随着  $Pb(NO_3)_2$  浓度的升高而逐渐增加,而随着 PEG 胁迫浓度的增加而先上升后降低,并在 10% PEG 胁迫下达到最大值,且各浓度 Pb 或者 PEG 胁迫处理均显著高于同期对照(CK)。其中,经 72 h 光照后,菜豆黄化幼苗叶片抗氰呼吸途径容量在 0.3、0.6、1 mmol/L 的  $Pb(NO_3)_2$  胁迫处理下分别比对照显著增加 632.8%、816.6%、1 065%、1 129.6%, 在 5%、10%、15% PEG 胁迫下分别显著上升 479.9%、555%、629.6%、374.8%。以上结果说明不同浓度的 Pb 或 PEG 胁迫均显著增加了菜豆黄化幼苗转绿过程中叶片交替呼吸途径容量。

### 2.4 Pb 或 PEG 胁迫下 SHAM 对黄化叶片转绿过程中叶绿素含量的影响

为了研究在 Pb 或 PEG 胁迫下交替呼吸途径对菜豆黄化幼苗转绿过程中叶绿素含量的影响,我

们分别在 0.3 mmol/L  $Pb(NO_3)_2$  和 5% PEG 胁迫下考察了交替呼吸途径抑制剂 SHAM(1 mmol/L) 处理叶片在转绿过程中叶绿素含量的变化。图 3 显示,在菜豆幼苗叶片正常(无胁迫)转绿过程中,单独经过 SHAM 处理(1 mmol/L)的叶片叶绿素含量未受到显著影响。然而, $Pb(NO_3)_2$  + SHAM 处理均使黄化菜豆叶片转绿过程中叶绿素含量比  $Pb(NO_3)_2$  胁迫处理显著下降,且降幅随光照时间的延长进一步加大。相似地,PEG 胁迫下,PEG + SHAM 处理也使得黄化菜豆叶片转绿过程中叶绿素含量比 PEG 胁迫处理进一步显著下降,并以 PEG + SHAM 处理降幅更大,且下降幅度随光照时间的延长而加剧。另外,随着胁迫浓度的增大及时间的延长,PEG 胁迫下交替呼吸途径对黄化菜豆叶片叶绿素含量的影响程度显著高于相应  $Pb$  胁迫。以上结果说明  $Pb(NO_3)_2$  或 PEG 胁迫下交替呼吸途径受到的抑制导致了黄化菜豆幼苗转绿过程

中叶绿素含量进一步下降,因此交替呼吸途径在植物细胞内很有可能是通过调节叶绿素的含量来促进植物在环境胁迫下维持 PS II 正常运行。

## 2.5 $Pb$ 或 PEG 胁迫下 SHAM 对菜豆黄化幼苗叶片转绿过程中叶绿素荧光参数的影响

由表 3、4 可知,菜豆黄化幼苗正常转绿过程中,单独 1 mmol/L SHAM 处理均没有使得叶片各叶绿素荧光参数发生显著变化;在  $Pb$  或者 PEG 胁迫下,SHAM 处理使得黄化菜豆叶片转绿过程中  $F_v/F_m$ 、 $F_v'/F_m'$ 、 $Y(II)$  和  $qP$  均比相应的  $Pb$  或者 PEG 胁迫处理显著下降,而同期却均 NPQ 则显著上升,且各参数的升降幅度随着光照时间的延长而加大。以上结果说明抑制交替呼吸途径会加剧  $Pb$  或 PEG 胁迫对光系统 II (PS II) 反应中心活性的进一步抑制,还原力的积累加剧,造成热耗散进一步增加,这可能暗示在胁迫条件下交替呼吸途径是有助于缓解 PS II 的过度还原,帮助维持其正常运行。

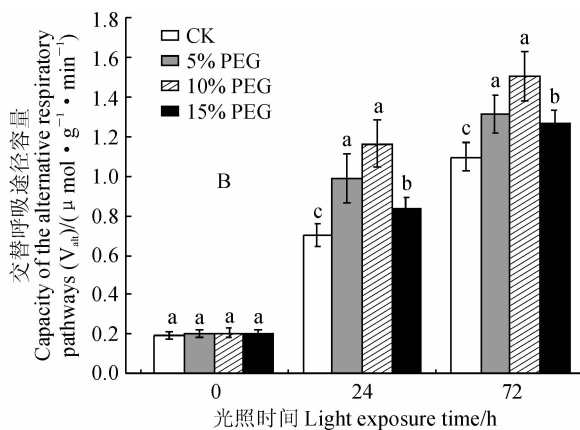
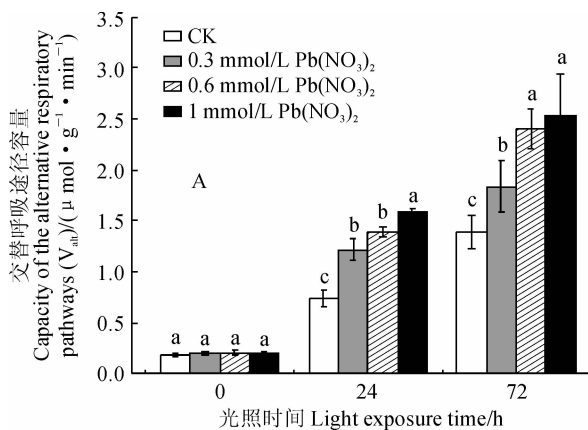


图 2  $Pb(NO_3)_2$  (A) 或 PEG (B) 胁迫下转绿过程中菜豆叶片交替呼吸途径容量的变化

Fig. 2 The capacity of alternative respiratory pathways in greening leaves of bean seedlings under  $Pb(NO_3)_2$  (A) or PEG (B) stress

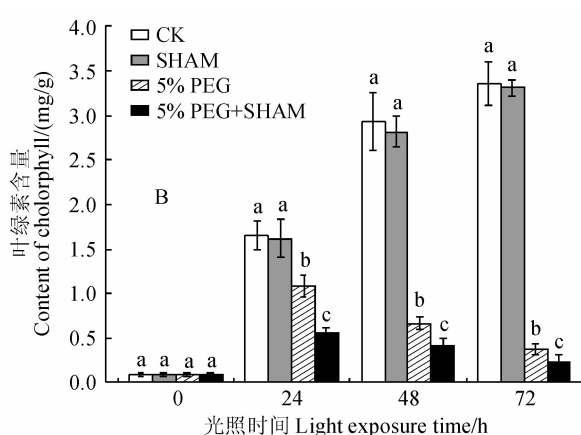
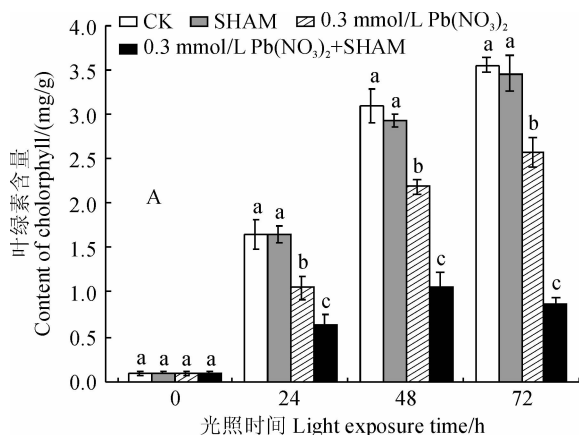


图 3  $Pb(NO_3)_2$  (A) 或 PEG (B) 胁迫下 SHAM 处理对转绿过程中菜豆叶片叶绿素含量的影响

Fig. 3 The effects of SHAM treatment on chlorophyll content in greening leaves of bean seedlings under  $Pb(NO_3)_2$  (A) or PEG (B) stress

表 3 Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 胁迫下 SHAM 处理对转绿过程中菜豆叶片叶绿素荧光参数的影响Table 3 The effects of SHAM treatment on chlorophyll fluorescence characteristics in greening leaves of bean seedlings under Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> stress

光照时间 Light exposure time/h	处理 Treatment	叶绿素荧光参数 Chlorophyll fluorescence characteristic				
		$F_v/F_m$	$F_v'/F_m'$	Y(II)	qP	NPQ
0	CK	0.151±0.003a	0.140±0.006a	0	0	0.037±0.003a
	SHAM	0.152±0.037a	0.138±0.051a	0	0	0.039±0.003a
	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0.151±0.005a	0.140±0.003a	0	0	0.037±0.004a
	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> +SHAM	0.151±0.002a	0.141±0.006a	0	0	0.039±0.005a
24	CK	0.756±0.017a	0.688±0.098a	0.477±0.074a	0.691±0.007a	0.084±0.004c
	SHAM	0.751±0.011a	0.681±0.015a	0.481±0.034a	0.689±0.011a	0.083±0.006c
	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0.660±0.024b	0.661±0.007a	0.436±0.011b	0.653±0.005b	0.106±0.007b
	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> +SHAM	0.569±0.018c	0.626±0.007b	0.385±0.023c	0.616±0.011c	0.132±0.002a
48	CK	0.782±0.012a	0.710±0.026a	0.513±0.014a	0.743±0.019a	0.061±0.011c
	SHAM	0.788±0.016a	0.718±0.019a	0.509±0.023a	0.742±0.009a	0.061±0.008c
	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0.619±0.021b	0.649±0.017b	0.417±0.020b	0.595±0.009b	0.143±0.008b
	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> +SHAM	0.540±0.014c	0.606±0.018c	0.348±0.010c	0.532±0.015c	0.163±0.036a
72	CK	0.813±0.012a	0.756±0.014a	0.557±0.010a	0.780±0.022a	0.048±0.007c
	SHAM	0.802±0.024a	0.750±0.015a	0.542±0.015a	0.773±0.017a	0.047±0.006c
	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0.574±0.011b	0.662±0.011b	0.402±0.017b	0.569±0.013b	0.153±0.006b
	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> +SHAM	0.518±0.011c	0.590±0.018c	0.325±0.015c	0.513±0.008c	0.201±0.008a

表 4 PEG 胁迫下 SHAM 处理对转绿过程中菜豆叶片叶绿素荧光参数的影响

Table 4 The effects of SHAM treatment on chlorophyll fluorescence characteristics in greening leaves of bean seedlings under PEG stress

光照时间 Light exposure time/h	处理 Treatment	叶绿素荧光参数 Chlorophyll fluorescence characteristic				
		$F_v/F_m$	$F_v'/F_m'$	Y(II)	qP	NPQ
0	CK	0.153±0.013a	0.138±0.004a	0	0	0.035±0.006a
	SHAM	0.154±0.011a	0.137±0.006a	0	0	0.036±0.006a
	PEG	0.153±0.004a	0.139±0.008a	0	0	0.035±0.011a
	PEG+SHAM	0.152±0.003a	0.138±0.006a	0	0	0.037±0.007a
24	CK	0.756±0.021a	0.688±0.098a	0.484±0.016a	0.684±0.020a	0.080±0.013c
	SHAM	0.751±0.013a	0.681±0.015a	0.487±0.010a	0.692±0.012a	0.081±0.007c
	PEG	0.693±0.012b	0.620±0.017b	0.424±0.006b	0.613±0.016b	0.107±0.011b
	PEG+SHAM	0.632±0.011c	0.576±0.012c	0.386±0.014c	0.558±0.027c	0.136±0.008a
48	CK	0.782±0.014a	0.710±0.026a	0.512±0.017a	0.739±0.032a	0.058±0.018c
	SHAM	0.788±0.019a	0.718±0.019a	0.507±0.025a	0.728±0.016a	0.055±0.016c
	PEG	0.596±0.013b	0.606±0.016b	0.367±0.017b	0.558±0.013b	0.142±0.072b
	PEG+SHAM	0.554±0.013c	0.519±0.013c	0.249±0.021c	0.431±0.025c	0.178±0.013a
72	CK	0.810±0.014a	0.756±0.014a	0.549±0.021a	0.781±0.023a	0.048±0.008c
	SHAM	0.802±0.029a	0.750±0.015a	0.542±0.015a	0.782±0.024a	0.050±0.011c
	PEG	0.557±0.019b	0.406±0.011b	0.248±0.017b	0.480±0.022b	0.164±0.010b
	PEG+SHAM	0.323±0.022c	0.294±0.028c	0.149±0.015c	0.284±0.017c	0.202±0.005a

### 3 讨论

许多研究表明,环境胁迫会影响正常生长的植物叶绿素的合成和光化学反应的进行<sup>[18-21]</sup>。同时,在环境胁迫下,PS II 比 PS I 更易受到环境胁迫的损伤,其运行水平的下降是植物光化学反应能力在环境胁迫下降低的主要原因<sup>[22-23]</sup>。本研究显示,较之正常转绿的菜豆黄化幼苗,Pb 或 PEG 胁迫导致黄化幼苗在转绿过程中叶绿素含量、 $F_v/F_m$ 、 $F_v'/F_m'$ 、 $Y(II)$ 明显下降,同时 NPQ 显著增加。这一观察结果表明,黄化幼苗在转绿过程中,Pb 或 PEG 胁迫阻碍了叶绿素的合成,降低了 PS II 的容量和运行水平。以前的研究发现,光合电子传递链中原初电子受体还原性的增加会阻碍光合电子传递链相关蛋白以及叶绿素合成酶等重要蛋白质向质体的输入<sup>[14-15]</sup>。 $qP$  反映了光合电子传递链原初电子受体氧化还原状态。本研究发现,Pb 或 PEG 胁迫均导致了黄化幼苗在转绿过程中  $qP$  明显下降,表明 Pb 或 PEG 胁迫增加了转绿过程中光合电子传递链原初电子受体的还原性。因此,Pb 或 PEG 胁迫导致的转绿过程中叶绿素合成受阻以及 PS II 容量和运行水平的下降可能均与光合电子传递链中原初电子受体还原性的增加有关。

同时,本研究中发现,在菜豆黄化幼苗转绿进程中,交替呼吸途径的容量随着光照时间而不断上升,而  $Pb(NO_3)_2$  或 PEG 胁迫使得交替呼吸途径的容量进一步增加。为了进一步查明在 Pb 或 PEG 胁迫下交替呼吸途径与转绿过程的关系,我们比较了在 Pb 或 PEG 胁迫下交替呼吸途径的抑制剂

SHAM 对转绿过程中幼苗叶绿素含量和叶绿素荧光参数水平的影响。本实验室之前工作显示,对菜豆叶片喷洒 1 mmol/L 的 SHAM 可有效抑制其交替呼吸途径的水平<sup>[24-25]</sup>。在无胁迫条件下,对菜豆黄化幼苗叶片施加 1 mmol/L SHAM 并未引起黄化幼苗转绿过程中叶绿素含量和叶绿素荧光参数水平的显著性变化;而在 Pb 或 PEG 胁迫下,对菜豆黄化幼苗叶片施加 1 mmol/L SHAM 导致了其叶绿素含量、 $F_v/F_m$ 、 $F_v'/F_m'$ 、 $Y(II)$  和  $qP$  的进一步下降和 NPQ 的进一步增加。表明在 Pb 或 PEG 胁迫下,抑制交替呼吸途径会加剧 Pb 或 PEG 胁迫对菜豆叶绿素合成的抑制,并导致了 PS II 的容量和运行水平的进一步下降和 PS II 反应中心非还原性 QB 相对比例的进一步增加。有研究发现,植物能够通过苹果酸穿梭途径以及光呼吸途径将叶绿体中过多的还原性物质(如 NADPH)转移至线粒体中,并通过交替呼吸途径将这些还原性物质消耗掉,从而有效阻止了质体中过多还原性物质的积累,降低了光合电子传递链的还原性<sup>[26-27]</sup>。据此我们推测,当 Pb 或 PEG 胁迫阻碍了菜豆黄化幼苗转绿进程时,交替呼吸途径水平的增加能够通过缓解光合电子传递链的过度还原而使得叶绿素合成酶等重要蛋白质向质体的输入维持在一定的水平,从而缓解了 Pb 或 PEG 胁迫对幼苗转绿进程的阻碍作用。但具体的机制仍需要进一步的详细研究。综上,Pb 或 PEG 胁迫阻碍了菜豆黄化幼苗转绿进程,而交替呼吸途径可在一定程度上缓解 Pb 或 PEG 胁迫对转绿进程的不良影响。

### 参考文献:

[1] 段德超,于明革,施积炎. 植物对铅的吸收、转运、累积和解毒机制研究进展[J]. 应用生态学报,2014,25(1): 287-296.  
DUAN D C, YU M G, SHI J Y. Research advances in uptake, translocation, accumulation and detoxification of Pb in plants[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2014, 25(1): 287-296.

[2] SHAMA P, DUBEY R S. Lead toxicity in plants [J]. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 2005, 17(1): 35-52.

[3] 段昌群,王焕校,曲仲湘. 重金属对蚕豆(*vicia faba*)根尖的核酸含量及核酸酶活性影响的研究[J]. 环境科学,1992,(5): 31-954.  
DUAN C Q, WANG H X, QU Z X. Studies on the effect of heavy metals on the contents of nucleic acids and activities of

nucleases in the root tip of *Vicia faba* [J]. *Environmental Science*, 1992,(5): 31-954.

[4] 张士功,刘国栋,刘更另. 植物营养与作物抗旱性[J]. 植物学通报,2001,18(1): 64-69.  
ZHANG S G, LIU G D, LIU G L. Plant nutrition and drought resistance of crops[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2001, 18(1): 64-69.

[5] 闫志利,牛俊义. 作物对于旱胁迫的响应机制研究进展[J]. 河北农业科学,2009,13(4): 6-10.  
YAN Z L, NIU J Y. Progress on the response mechanism of crop to drought stress[J]. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 2009, 13(4): 6-10.

[6] 王雅英,田惠桥. 高等植物的交替氧化酶研究进展[J]. 植物分类与资源学报,2007,29(4): 447-456.



- WANG Y Y, TIAN H Q. The study progress of alternative oxidase in higher plant[J]. *Acta Botanica Yunnanica*, 2007, **29**(4):447-456.
- [7] JU SZCZU K IM, RYCHTER A M. Alternative oxidase in higher plants[J]. *Acta Biochim. Polonica*, 2003, **50**(4): 1257-1271.
- [8] MILLENAAR F F, LAMBERS H. The alternative oxidase: *in vivo* regulation and function[J]. *Plant Biology*, 2003, **5**(1): 2-15.
- [9] PURVIS A C, SHEWFELT R L. Does the alternative pathway ameliorate chilling injury in sensitive plant tissues? [J]. *Physiologia Plantarum*, 1993, **88**(4): 712-718.
- [10] AKOYUNOGLU G. Thylakoid Biogenesis in Higher Plants: Assembly and Reorganization[M]// *Advances in Photosynthesis Research*. Springer Netherlands, 1984: 595-602.
- [11] WHITELAM G C, DEVLIN P F. Light signalling in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology & Biochemistry*, 1998, **36**(1/2): 125-133.
- [12] 马红群, 梁丽娇, 周忆堂, 等. 低温胁迫对小麦黄化苗转绿过程中生理生化指标的动力学研究[J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2007, **29**(10): 71-75.
- MA H Q, LIANG L J, ZHOU Y T, *et al.* Dynamics study of the effects of low temperature stress on physiological and biochemical indexes during re-greening of wheat etiolated seedlings[J]. *Journal of Southwest University*(Natural Science Edition), 2007, **29**(10): 71-75.
- [13] CLIJSTERS H, CUYPERS A, VANGRONVELD J. Physiological responses to heavy metals in higher plants; defence against oxidative stress[J]. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 1999, **54**(9/10): 730-734.
- [14] ZHANG D W, YUAN S, XU F, *et al.* Light intensity affects chlorophyll synthesis during greening process by metabolite signal from mitochondrial alternative oxidase in *Arabidopsis*. [J]. *Journal of Wuhan Bioengineering Institute*, 2015, **39**(3): 12-25.
- [15] ZHANG D W, FEI X, ZHANG Z W, *et al.* Effects of light on cyanide-resistant respiration and alternative oxidase function in *Arabidopsis* seedlings[J]. *Plant Cell & Environment*, 2010, **33**(12): 2 121-2 131.
- [16] 李祖祥, 吕梅, 夏爱军. 遮阴对冷季型草坪草叶绿素含量和生物量的影响[J]. *草原与草坪*, 2017, (5): 69-74.
- LI Z X, LÜ M, XIA A J. Effects of shading on chlorophyll content and biomass of cool season turfgrass[J]. *Grassland and Turf*, 2017, (5): 69-74.
- [17] BINGHAM I J, FARRAR J F. Activity and capacity of respiratory pathways in barley roots deprived of inorganic nutrients[J]. *Plant Physiology & Biochemistry*, 1989, **27**(6): 847-854.
- [18] MUNNS R, TESTER M. Mechanisms of salinity tolerance [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2008, **59**(1): 651-681.
- [19] GADALLAH M A A. Effects of proline and glycinebetaine on *Vicia Faba* responses to salt stress[J]. *Biologia Plantarum*, 1999, **42**(2): 249-257.
- [20] UNGAR I A. Salt tolerance of a coastal salt marsh grass[J]. *Communications in Soil Science & Plant Analysis*, 2003, **34**(17-18): 2 595-2 605.
- [21] LU C, QIU N, LU Q, *et al.* Does salt stress lead to increased susceptibility of photosystem II to photoinhibition and changes in photosynthetic pigment composition in halophyte *Suaeda salsa*, grown outdoors? [J]. *Plant Science*, 2002, **163**(5): 1 063-1 068.
- [22] BAKER N R. A possible role for photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis [J]. *Physiologia Plantarum*, 2010, **81**(4): 563-570.
- [23] RAO G G, RAO G R. Pigment composition and chlorophyllase activity in pigeon pea (*Cajanus indicus* Spreng) and gingelly (*Sesamum indicum* L.) under NaCl salinity[J]. *Indian Journal of Experimental Biology*, 1981, **19**(8): 768-770.
- [24] FENG H Q, TANG S Z, SUN K, *et al.* Cyanide-resistant respiratory pathway is involved in the high-light systemic acquired acclimation of kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) [J]. *Photosynthetica*, 2015, **53**(2): 195-200.
- [25] FENG H Q, SUN K, WEI Y, *et al.* Role of cyanide-resistant respiration during light-induced attraction of predators to herbivore-infested leaves[J]. *Photosynthetica*, 2013, **51**(4): 583-592.
- [26] BARTOLI C G, GOMEZ F, GERGOFF G, *et al.* Up-regulation of the mitochondrial alternative oxidase pathway enhances photosynthetic electron transport under drought conditions [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005, **56**(415): 1 269-1 276.
- [27] ZHANG L T, ZHANG Z S, GAO H Y, *et al.* Mitochondrial alternative oxidase pathway protects plants against photoinhibition by alleviating inhibition of the repair of photodamaged PSII through preventing formation of reactive oxygen species in *Rumex K-1* leaves[J]. *Physiologia Plantarum*, 2011, **143**(4): 396-407.

(编辑:裴阿卫)