

5-氨基乙酰丙酸对苹果叶片耐弱光能力的影响

安玉艳¹, 张丽颖¹, 冯新新¹, 田 凡², 李 洁², 汪良驹^{1*}

(1 南京农业大学 园艺学院, 南京 210095; 2 江苏省丰县临风果蔬专业合作社, 江苏徐州 221723)

摘 要: 为了探讨 5-氨基乙酰丙酸(ALA)对苹果耐弱光性的影响, 以‘润太 2 号’和‘郑优 3 号’两个品种苹果为材料, 设置露天对照(CK)、轻度遮荫(LS)和重度遮荫(SS)3 种光照条件, 通过根际浇灌法研究了 10 mg · L⁻¹ ALA 处理对弱光条件下苹果叶片活性氧代谢与叶绿素荧光特性的影响。结果显示: (1) 与 CK 相比, 弱光胁迫显著降低了两品种苹果叶片的超氧化物歧化酶(SOD)与过氧化物酶(POD)的活性, 增大了超氧阴离子(O₂⁻)产生速率以及过氧化氢(H₂O₂)和丙二醛(MDA)含量, 且‘郑优 3 号’的活性氧产生速率及 MDA 含量在弱光下的升高幅度更大; ALA 处理显著提高了弱光胁迫下两品种的保护酶活性, 降低了活性氧产生速率和 MDA 含量, 并以耐弱光性较差的‘郑优 3 号’的变化更显著。(2) 在弱光胁迫下, 苹果叶片的叶绿素含量和叶绿素 b/a 升高, 而 ALA 处理使二者进一步显著升高。(3) 弱光胁迫下, 苹果叶片的叶绿素荧光参数 V_j 、 M_0 、 DI_0/RC 显著升高, 而 ϕ_0 、 ϕE_0 、 ϕR_0 、 PI_{ABS} 、 PI_{CS} 和 PI_{total} 显著降低; ALA 处理抑制了叶绿素荧光参数在弱光胁迫下的变化, 甚至使其达到优于对照的水平。研究表明, 弱光条件下苹果的抗氧化能力较差, 受到明显的氧化伤害, 且‘郑优 3 号’的耐弱光能力比‘润太 2 号’差; ALA 处理提高了苹果在弱光下的抗氧化能力, 降低了弱光对苹果叶片的氧化伤害, 同时还提高了弱光条件下苹果叶片捕捉、传递和转化光能的效率, 改善了光合电子传递情况, 增大了苹果叶片在弱光胁迫下的光能利用效率, 改善了光合性能; 根灌 ALA 可以明显提高苹果的耐弱光性。

关键词: 5-氨基乙酰丙酸(ALA); 遮荫胁迫; 活性氧代谢; 叶绿素荧光特性; 苹果

中图分类号: Q945.79; S661.1

文献标志码: A

Effect of 5-Aminolevulinic Acid on Low Light Tolerance of Apple Leaves

AN Yuyan¹, ZHANG Liying¹, FENG Xinxin¹, TIAN Fan², LI Jie², WANG Liangju^{1*}

(1 College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2 Fengxian Linfeng Fruit and Vegetable Professional Cooperatives of Jiangsu Province, Xuzhou, Jiangsu 221723, China)

Abstract: In order to provide theoretical basis for improvement of apple production under rain-shelter cultivation, we evaluated the effect of 5-aminolevulinic acid (ALA) on low light tolerance of apple trees in this study. Specifically, the effects of 10 mg · L⁻¹ ALA on reactive oxygen metabolism and fast chlorophyll fluorescence characteristics of apple trees under low light conditions were investigated by root ALA application. Two apple cultivars, ‘Runtai 2’ and ‘Zhengyou 3’, were used, and three light conditions including normal natural condition (Control), light shading stress (LS), and severe shading stress (SS), were

收稿日期: 2016-01-18; 修改稿收到日期: 2016-04-15

基金项目: 国家自然科学基金(31401820); 中央高校基本科研业务费专项基金(KJQN201538); 江苏省自然科学基金(BK20140702); 江苏省苏北科技发展规划项目(BN2012035)

作者简介: 安玉艳(1983—), 博士, 讲师, 主要从事植物逆境生理以及植物生长调节物质作用及其机制研究。E-mail: anyuyan0447@njau.edu.cn;

* 通信作者: 汪良驹, 教授, 博士生导师, 主要从事果树生理与分子生物学研究。E-mail: wlj@njau.edu.cn

designed in our experiment. The main results were as follows: (1) Compared to the control, shading stress significantly decreased superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) activities, and increased the production rates of super anion ($O_2^{\cdot-}$) and hydrogen dioxide (H_2O_2) and malondialdehyde (MDA) content in both apple cultivars. More increases in MDA content and the production rates of $O_2^{\cdot-}$ and H_2O_2 were found in ‘Zhengyou 3’. ALA significantly improved antioxidant enzyme activities, and reduced the production rates of $O_2^{\cdot-}$ and H_2O_2 and MDA content. The antioxidant capacity of ‘Zhengyou 3’ was improved more significantly by ALA than that in ‘Runtai 2’. (2) Chlorophyll contents and chlorophyll b/a ratio in apple trees increased under shading stress. ALA further promoted chlorophyll contents and chlorophyll b/a ratio in apple trees under shading stress. (3) Chlorophyll fluorescence parameter V_J , M_o , and DI_o/RC significantly increased, and ψ_o , ψE_o , ψR_o , PI_{ABS} , PI_{CS} , and PI_{total} dramatically decreased under shading stress. ALA inhibited changes of these chlorophyll fluorescence parameters under shading stress, even made them recover to the control levels. These results suggested that oxidative damage occurred in apple trees under low light conditions due to their low antioxidant capacities, and antioxidant capacity in ‘Zhengyou 3’ was lower than that in ‘Runtai 2’. ALA enhanced antioxidant capacity of apple trees, decreased low light-induced oxidative damage, and improved ability of trapping and utilization of light energy, photosynthetic electron transfer ability, light use efficiency, and photosynthetic performance in apple trees under shading stress. Taken together, our results demonstrated that ALA improves low light tolerance of apple trees.

Key words: 5-aminolevulinic acid (ALA); shading stress; reactive oxygen metabolism; chlorophyll fluorescence characteristics; apple (*Malus domestica* Borkh)

苹果(*Malus domestica* Borkh)是一种喜光性比较强的落叶果树,主要分布于中国干旱或半干旱地区^[1]。但是,江苏地区也是中国苹果的重要产地^[2]。然而,由于地处江南,高温高湿导致江苏地区苹果树体生长旺盛,病虫滋生,产量和品质都会受到不同程度影响。特别是近年来,人们对食品安全的日益关注,减少农药施用量已经成为刻不容缓的关键问题。避雨栽培是针对雨水过多不利于植物生产而发展起来的一种简单、实用的设施栽培形式。实践表明,避雨栽培可有效减少果树病害发生^[3]、降低农药使用、减少果实的农药残留、提高坐果率^[4]。此外,与露地栽培相比,避雨栽培加大了昼夜温差,有利于着色,并可增加果实含糖量,即具有改善果实品质的作用^[4]。因此,避雨栽培可能可以作为南缘地区苹果生产的重要方式,逐渐得以推广发展。但是,避雨栽培也存在负面效应,其中最大的问题是削弱光照强度,导致弱光胁迫^[3]。弱光会造成植物叶片变薄,光合能力下降,光合积累减少,不利于果树花果发育^[5]。因此,提高植株耐弱光性是推广苹果避雨栽培的前提之一。

5-氨基乙酰丙酸(ALA)是一种天然、无毒、可生物降解且对环境友好的新型植物生长调节物质^[6]。近30年来的研究表明,ALA具有多种生理功能,其中最重要的便是提高植物的抗逆性。据报道,外源ALA可显著提高水稻(*Oryza sativa*)^[7]、

甜瓜(*Cucumis melo*)^[8]、大豆(*Glycine max*)^[9]和胡椒(*Capsicum annuum*)^[10]植株的耐寒性,增强棉花^[11]、小白菜(*Brassica campestris*)^[12]、马铃薯(*Solanum tuberosum*)^[13]、枣椰树(*Phoenix dactylifera*)^[14]、油菜(*Brassica napus*)^[15]及黄瓜(*Cucumis sativus*)^[16]植株的耐盐性。此外,ALA还可以显著提高植物的抗旱性^[17]、抗高温能力^[18]等。这些研究说明,ALA提高植物抵抗非生物胁迫的能力具有普遍性。关于ALA提高植物耐弱光性的研究也已有报道。Wang等^[8]于2004年率先提出ALA显著提高甜瓜幼苗的耐弱光性。此后,柳翠霞^[19]、郭晓青等^[20]相继报道,ALA能显著改善弱光下黄瓜和番茄的生长。这些研究说明ALA具有提高草本植物耐弱光性的作用。但有关ALA能否提高木本果树作物耐弱光能力的研究尚未见报道。

ALA的另一个显著的生理功能是提高植物的光合能力,其不仅可以提高植物在正常条件下的光合生长能力,而且还可提高冷害^[7]、盐胁迫^[21]、弱光^[8]、水分亏缺^[17]和高温^[18]等多种逆境条件下多种植物的光合作用和生长能力。这些研究表明ALA提高植物光合产量的效应也具有普遍性。因此,在避雨栽培条件下,施用ALA可能是改善苹果光合作用,提高苹果耐弱光性的一种安全有效措施。

为此,本试验以‘润太2号’和‘郑优3号’两个耐弱光性不同的苹果品种为试材,以在树冠顶层之

上覆盖避雨大棚和遮阳网的方式,研究了根际浇灌 10 mg · L⁻¹ ALA 对弱光下苹果叶片叶绿素含量、叶绿素荧光特性、膜脂过氧化水平以及保护酶活性等生理特性的影响,探讨了 ALA 缓解弱光对苹果生理、生长不利影响的效应及其机制,以期利用 ALA 提高苹果耐弱光性提供理论依据,为苹果避雨栽培模式推广奠定理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料及处理

试验于 2014 年 7-8 月在江苏省丰县赵庄镇田坑村优质苹果避雨栽培示范园内进行。供试苹果树 5 年生(结果后第 3 年),选择集约化栽培品种‘润太 2 号’柱状苹果和常规大树冠苹果品种‘郑优 3 号’为试材。‘润太 2 号’和‘郑优 3 号’株行距分别为 0.6 m×2 m 和 2 m×4 m,砧木为八棱海棠。大棚高度 4 m,单栋跨度 4 m。试验共设自然光(Control)、轻度遮荫胁迫(Light shading, LS)、重度遮荫胁迫(Severe shading, SS)、自然光+ALA、LS+ALA 和 SS+ALA 等 6 个处理。其中,自然光(即露地栽培)为对照,在树冠顶层之上覆盖塑料薄膜为轻度弱光胁迫,在树冠顶层之上同时覆盖塑料薄膜和遮阳网为重度弱光胁迫;ALA 处理为在遮荫覆盖实施当天(7 月 27 号),向每棵苹果树的根盘内浇灌 10 kg 10 mg · L⁻¹ ALA,未根灌 ALA 的处理向每棵苹果树的根盘内浇灌 10 kg 清水。每个处理重复 5 次,单株小区,随机排列,处理间间隔 1 株作为隔离区。其他田间管理完全相同。1 个月后,选取树冠外围新梢中上部成熟叶片,活体测定叶绿素荧光特性;然后,选取相同部位叶样,用冰盒保存,快速带回室内,并分为两组,一组立即测定叶绿素含量,另一组液氮速冻后保存于-80℃,用于抗氧化酶活性和膜脂过氧化水平测定。

1.2 环境因子测定

7 月 29 日(多云-晴),利用辐照计和温湿度计检测不同处理条件下果树行间 1.5 m 处的光照强度、温度和湿度。从 8:00~18:00,每个小时测定一次,重复 4 次,取平均值。

1.3 生理生化指标测定

叶绿素快速荧光特性采用英国 Hansatech 公司多功能植物效率仪(M-PEA)测定,每个处理重复测定 10~15 张叶片,取平均值;并按照 Srivastava 等^[22]方法进行 JIP-test 分析,研究 ALA 处理对苹果叶片光合性能的影响。叶片叶绿素含量测定采用

95%酒精浸提法^[23];叶片超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性按 An 等^[24]方法测定;超氧阴离子(O₂⁻)产生速率用羟胺法^[25]测定;过氧化氢(H₂O₂)含量按 Patterson 等^[26]方法测定;丙二醛(MDA)含量用硫代巴比妥酸法^[27]测定。

1.4 数据统计分析

所有指标测定均有 4 次以上生物学重复。经单因素或多因素方差分析和 Duncan 氏测验,当 $P < 0.05$ 或 0.01 时,认为差异显著或极显著。

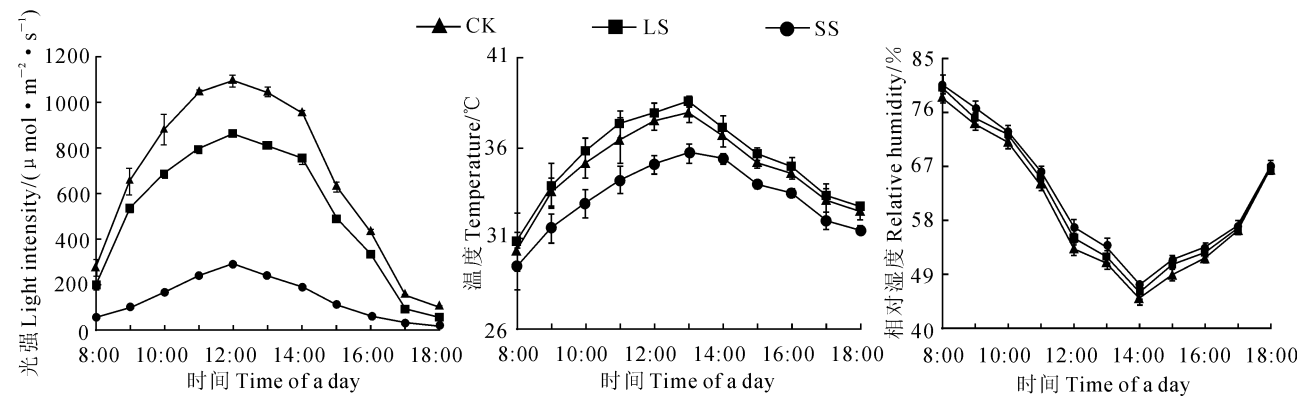
2 结果与分析

2.1 遮荫对苹果园环境因子的影响

为了确定遮荫设施对苹果园微环境的具体影响,我们随机选择了一个多云-晴(7 月 29 日)的天气对苹果园内光照强度、温度和湿度进行了监测(图 1)。可以看出,在树冠顶层之上覆盖塑料薄膜或遮阳网显著地降低了果园内的光照强度,其中覆盖塑料薄膜使光照强度约降为全自然光的 73%,可称为轻度弱光胁迫(LS),覆盖塑料薄膜+遮阳网使光照强度降为全自然光的 20%,可称为重度弱光胁迫(SS)。此外,覆盖还不同程度影响到果园温度和相对湿度。与露天条件相比,在 LS 条件下,果园内温度略有升高,幅度约在 0.23~0.87℃之间,但未达到显著性水平;在 SS 条件下,果园内温度虽显著低于露天与 LS 处理,但下降幅度仅在 1.03~2.40℃之间。同时,果园内相对湿度在 3 种光照条件下无显著性差异。

2.2 遮荫及 ALA 处理对苹果叶片膜脂过氧化水平的影响

遮荫和 ALA 处理对苹果叶片的活性氧产生速率以及膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)含量均有较大影响(表 1)。首先,在同一光照条件下,‘郑优 3 号’苹果叶片超氧阴离子产生速率(O₂⁻)显著高于‘润太 2 号’,表明‘郑优 3 号’能够以更快的速度产生活性氧自由基,可能喻示其抗氧化能力不如‘润太 2 号’。2 种苹果叶片 O₂⁻ 产生速率在遮荫胁迫下均显著增大,且均呈现为随胁迫加剧而增大的趋势。与自然光照(CK)相比,LS 和 SS 两种胁迫条件下‘润太 2 号’的 O₂⁻ 产生速率分别升高 18.12%和 32.97%,‘郑优 3 号’O₂⁻ 产生速率则分别升高 81.82%和 122.76%,即‘郑优 3 号’O₂⁻ 产生速率在遮荫胁迫下的升高幅度远大于‘润太 2 号’。ALA 处理使两品种在 3 种光环境条件下的 O₂⁻ 产生速率均显著



CK、LS 和 SS 分别代表自然光对照、轻度遮荫胁迫(73%自然光照)和严重遮荫胁迫(20%自然光照);
误差线表示生物学重复间的标准偏差 (n = 4);下同
图 1 遮荫设施对苹果园内环境因子的影响
CK, LS and SS indicate natural condition (control), light shading stress(73% natural condition) and severe shading stress(20% natural condition), respectively;The error bars means standard deviation (SD) of four biological replicates; The same as below

Fig. 1 Effects of shading facilities on environmental factors in apple orchards

表 1 遮荫与 ALA 处理下两苹果品种叶片膜脂过氧化水平的变化

Table 1 Changes of membrane lipid peroxidation in apple leaves of two cultivars under shading stress and ALA treatment

处理 Treatment	O ₂ ⁻ 产生速率 O ₂ ⁻ production rate /(nmol·min ⁻¹ ·g ⁻¹)		H ₂ O ₂ 含量 H ₂ O ₂ content /(μmol·g ⁻¹)		MDA 含量 MDA content /(μmol·g ⁻¹)	
	润太 2 号 Runtai 2	郑优 3 号 Zhengyou 3	润太 2 号 Runtai 2	郑优 3 号 Zhengyou 3	润太 2 号 Runtai 2	郑优 3 号 Zhengyou 3
自然光照 CK	20.32 ± 0.34 d	15.73 ± 0.96 f	24.27 ± 0.42 d	16.15 ± 0.41 f	19.26 ± 0.67 d	19.40 ± 0.32 d
轻度遮荫 LS	24.00 ± 0.41 c	28.60 ± 0.74 b	26.34 ± 0.84 c	28.31 ± 0.48 b	22.62 ± 0.68 c	25.53 ± 0.47 b
重度遮荫 SS	27.02 ± 0.76 b	35.04 ± 1.07 a	28.13 ± 0.85 b	30.21 ± 0.41 a	25.17 ± 0.80 b	30.61 ± 0.63 a
自然光照+ALA CK+ALA	12.57 ± 0.78 g	8.50 ± 0.56 h	16.22 ± 0.91 f	8.96 ± 0.35 h	14.04 ± 0.60 f	11.59 ± 0.87 g
轻度遮荫+ALA LS+ALA	14.27 ± 0.73 fg	14.15 ± 0.84 fg	17.24 ± 0.54 ef	14.41 ± 0.32 g	16.96 ± 0.84 de	15.24 ± 1.39 ef
重度遮荫+ALA SS+ALA	16.66 ± 0.74 ef	18.70 ± 1.21 de	18.23 ± 0.72 e	17.22 ± 0.61 ef	18.43 ± 0.55 d	19.23 ± 0.70 d

注:同一指标下不同小写字母表示处理间或品种间在 0.05 水平上差异显著;下同。

Note: The different letters behind the same parameter indicate significant differences between treatments or cultivars at 0.05 level. The same as below.

性降低。在同一光照条件下,ALA 处理对‘郑优 3 号’叶片 O₂⁻ 产生速率的缓解作用远大于对‘润太 2 号’的作用,这表明 ALA 可有效减缓弱光环境下苹果叶片 O₂⁻ 的产生,且对耐弱光性较差的品种 的缓解作用更强。

其次,与 O₂⁻ 产生速率变化趋势相似,‘郑优 3 号’叶片 H₂O₂ 和 MDA 含量在遮荫胁迫下的增加幅度也远大于‘润太 2 号’(表 1)。在 LS 和 SS 条件下,‘润太 2 号’叶片的 H₂O₂ 含量分别比 CK 显著上升 8.53%和 15.90%,MDA 含量则分别显著上升 17.45%和 30.69%,而‘郑优 3 号’的 H₂O₂ 含量分别比 CK 显著上升 75.29%和 87.06%,MDA 含量分别显著上升 31.6%和 57.8%。这说明‘郑优 3 号’叶片 H₂O₂ 产生与清除间的平衡在弱光胁迫下

更易遭到破坏,膜脂更容易受到伤害,即‘郑优 3 号’对弱光胁迫更敏感。ALA 处理也使两品种在 3 种光环境条件下的 H₂O₂ 和 MDA 含量均显著性降低。需要指出的是,在 ALA 处理下,‘润太 2 号’在遮荫胁迫下 H₂O₂ 和 MDA 含量的升高幅度远低于‘郑优 3 号’;但在同一光照条件下,ALA 降低‘郑优 3 号’H₂O₂ 和 MDA 含量的作用大于对‘润太 2 号’的作用。这些结果表明,遮荫胁迫使苹果叶片活性氧(ROS)产生速率升高,膜脂过氧化水平增大,施用 ALA 可有效降低 ROS 产生速率,缓解膜脂过氧化水平,且 ALA 对耐弱光性较差的‘郑优 3 号’的缓解作用更强。整体上,两品种中‘润太 2 号’对遮荫胁迫相对不敏感,且从 3 个指标随不同胁迫程度的变化情况来看,ALA 处理使‘润太 2 号’对遮荫胁迫

的敏感性进一步降低。

2.3 遮荫及 ALA 处理对苹果叶片保护酶活性的影响

表 2 显示,在同一光照条件下,‘润太 2 号’叶片的 SOD 和 POD 活性均高于‘郑优 3 号’;随着遮荫胁迫的加剧,2 种苹果叶片的 SOD 和 POD 活性均逐渐降低,但‘郑优 3 号’在遮荫胁迫下的降低幅度远大于‘润太 2 号’。与 CK 相比,LS 和 SS 处理‘润太 2 号’SOD 活性分别下降 2.01%和 8.01%,而‘郑优 3 号’的 SOD 活性则分别显著下降 30.46%和 54.96%;同时,‘润太 2 号’POD 活性分别显著下

降 12.91%和 22.88%,而‘郑优 3 号’的 POD 活性则分别显著下降 28.38%和 39.23%。ALA 处理使两品种在 3 种光照环境条件下的 SOD 和 POD 活性均显著性升高;两品种相比,在同一光照条件下,ALA 处理使‘郑优 3 号’保护酶活性的升高幅度大于‘润太 2 号’。以上结果表明‘郑优 3 号’的抗氧化酶系统对遮荫胁迫反应更敏感,受遮荫胁迫影响较大,而‘润太 2 号’的抗氧化酶系统在遮荫胁迫下相对稳定,受影响较小;ALA 处理可有效激活苹果叶片抗氧化酶防御系统,提高苹果在遮荫胁迫下抗氧化酶活性的能力,且对耐弱光性较差的品种的效果更显著。

表 2 遮荫与 ALA 处理下两苹果品种叶片 SOD 和 POD 活性的变化

处理 Treatment	SOD 活性 SOD activity /(U · g ⁻¹ · min ⁻¹)		POD 活性 POD activity /(U · g ⁻¹ · min ⁻¹)	
	润太 2 号 Runtai 2	郑优 3 号 Zhengyou 3	润太 2 号 Runtai 2	郑优 3 号 Zhengyou 3
自然光照 CK	34.84 ± 0.33 c	30.53 ± 0.70 d	24.78 ± 0.83 e	23.68 ± 0.54 e
轻度遮荫 LS	34.14 ± 0.56 c	21.23 ± 0.65 e	21.58 ± 1.00 f	16.96 ± 0.54 h
重度遮荫 SS	32.05 ± 0.21 d	13.75 ± 0.34 g	19.11 ± 0.71 g	14.39 ± 0.62 i
自然光照+ALA CK+ALA	41.32 ± 0.52 a	41.77 ± 0.57 a	32.80 ± 0.40 b	35.06 ± 0.88 a
轻度遮荫+ALA LS+ALA	41.70 ± 0.41 a	30.39 ± 0.90 d	29.66 ± 0.63 c	27.04 ± 0.93 d
重度遮荫+ALA SS+ALA	38.46 ± 0.46 b	18.87 ± 0.71 f	24.20 ± 0.73 e	21.55 ± 0.44 f

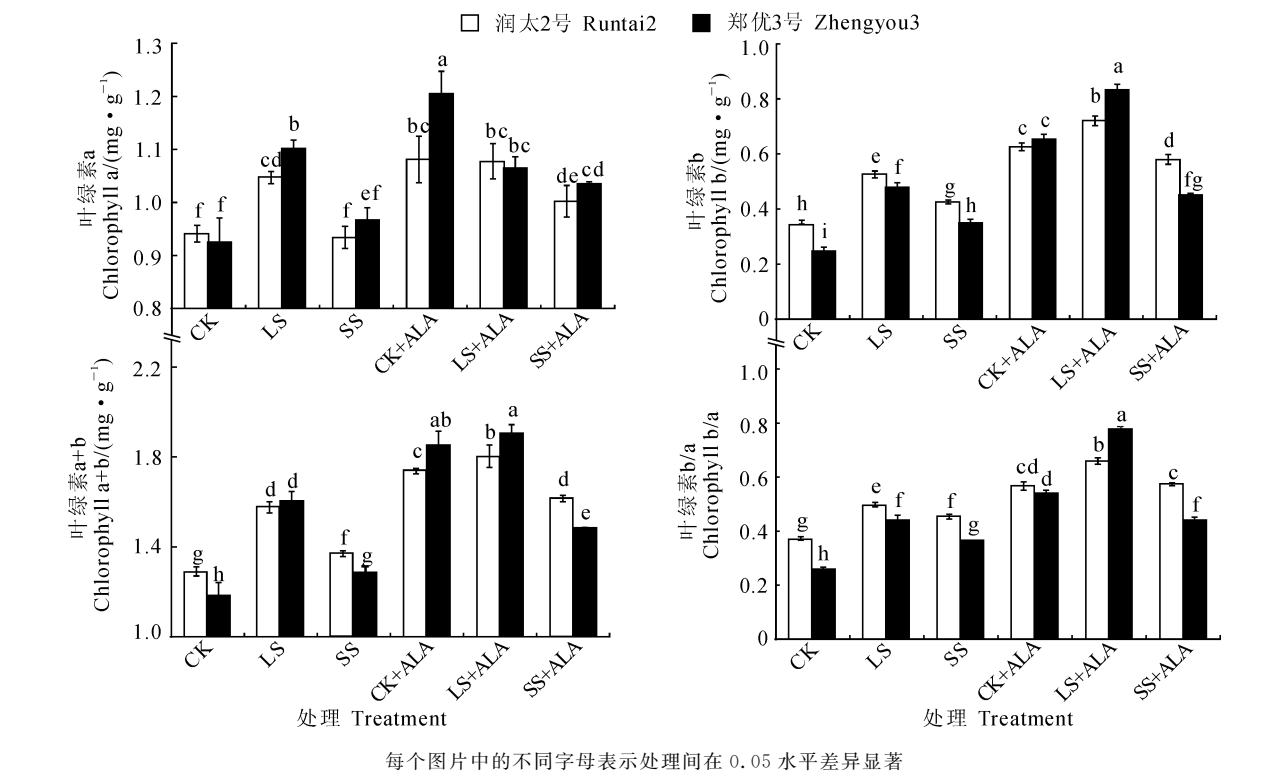


图 2 遮荫胁迫和 ALA 处理下两苹果品种叶片叶绿素含量的变化

The different letters in the same figure indicate significant differences between treatments at 0.05 level

Fig. 2 Changes of chlorophyll contents in apple leaves of two cultivars under shading stress and ALA treatment

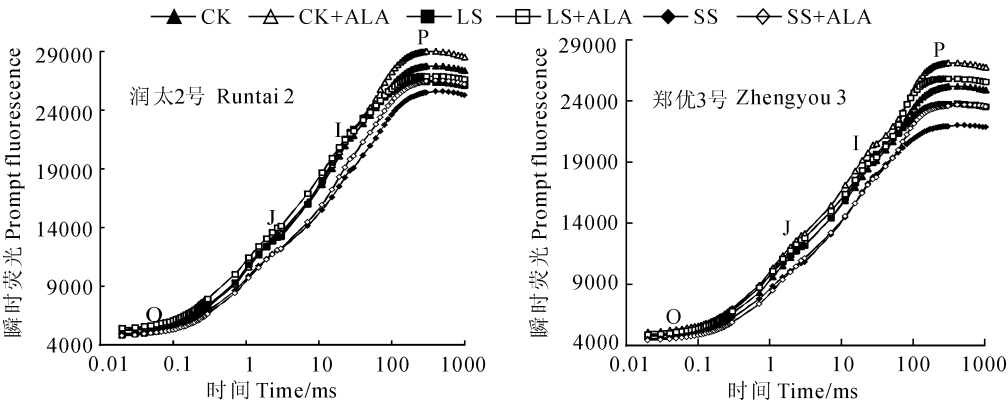


图 3 遮荫胁迫和 ALA 处理下两苹果品种叶片叶绿素瞬时荧光特性的变化
Fig. 3 Changes of chlorophyll prompt fluorescence in apple leaves of two cultivars under shading stress and ALA treatment

2.4 遮荫及 ALA 处理对苹果叶片叶绿素含量的影响

图 2 显示,两苹果品种间叶片叶绿素 a 含量在多数情况下无显著性差异,但‘润太 2 号’的叶绿素 b 含量显著高于‘郑优 3 号’,导致叶绿素总量和叶绿素 b/a 也表现为‘润太 2 号’大于‘郑优 3 号’。与对照相比,两品种的叶绿素 a 含量在 LS 条件下均显著升高,在 SS 条件下无显著性变化;ALA 处理显著增大了两苹果品种在自然光照(CK)及 SS 条件下的叶绿素 a 含量,而对 LS 条件下的叶绿素 a 含量无显著性影响。同时,叶绿素 b 含量、叶绿素总量及叶绿素 b/a 在遮荫胁迫及 ALA 处理下的变化趋势相似。与对照相比,遮荫胁迫使两品种的叶绿素 b 含量、叶绿素总量及叶绿素 b/a 均显著升高,并以 LS 胁迫条件下最高,在 LS 条件下,‘润太 2 号’这 3 个指标分别升高 50.02%,22.26%和 34.33%,‘郑优 3 号’3 个指标分别升高 96.45%,35.68%和 70.51%;ALA 处理使这 3 个指标均进一步显著升高,在 LS 条件下‘润太 2 号’3 个指标平均升高 27.95%,‘郑优 3 号’平均升高 56.66%,而在 SS 条件下‘润太 2 号’3 个指标平均升高仍达到 27.00%,而‘郑优 3 号’平均升高仅 22.10%,这说明在 LS 条件下‘郑优 3 号’的增幅较大,而在 SS 条件下‘润太 2 号’升幅较大。

2.5 遮荫及 ALA 对苹果叶片叶绿素荧光特性的影响

2.5.1 瞬时荧光特性 ALA 处理后 2 个苹果品种叶片叶绿素快速荧光诱导动力学曲线(OJIP 曲线)中,O 相为照光后 20 μ s 值,J 相为 2 ms 值,I 相为 30 ms 值,P 相在 200 ms 左右(图 3)。两品种各处理差异最大的地方均为 P 相;遮荫胁迫使 P 相荧光值下降,且胁迫程度越高下降越多。其中,两品种相比,‘润太 2

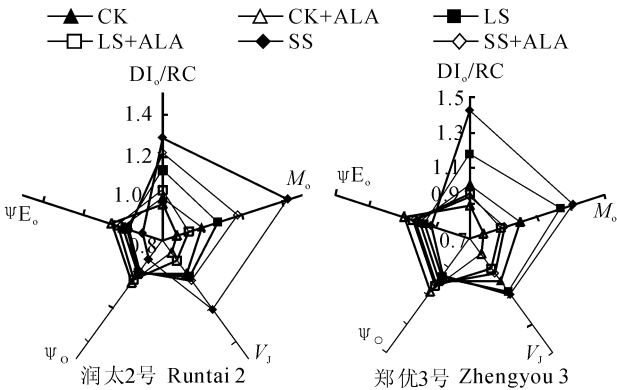


图 4 遮荫胁迫和 ALA 处理下苹果叶片光能利用及电子传递的变化

Fig. 4 Changes of light utilization efficiency and electron transfer ability in apple leaves of two cultivars under shading stress and ALA treatment

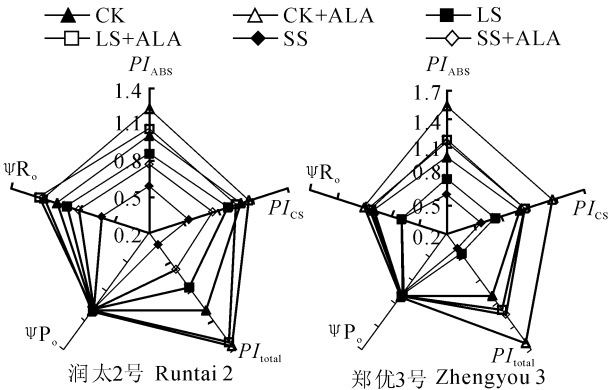


图 5 遮荫胁迫和 ALA 处理下两苹果品种叶片光合性能的变化

Fig. 5 Changes of photosynthetic performance in apple leaves of two cultivars under shading stress and ALA treatment
号’P 相荧光值显著高于‘郑优 3 号’,且遮荫处理下‘润太 2 号’P 相荧光值下降幅度较小,‘郑优 3 号’较大,这与前面各指标的试验结果一致,进一步说明‘郑

优 3 号’对遮荫胁迫更敏感。ALA 处理使两品种在 3 种光照条件下的 P 相荧光值均明显升高,且两品种中 ALA 处理使‘郑优 3 号’的升高幅度更大。为了更好地了解遮荫胁迫及 ALA 处理对苹果叶片光合能力的影响,下面进一步分析了部分可以反映光能利用、光合电子传递、光系统活性及光合性能的参数。

2.5.2 光能利用及电子传递情况 首先, V_J 反映了照光 2 ms 时有活性的反应中心的关闭程度, M_o 反映了反应中心的关闭程度, ϕ_o 反映了捕获的激子将电子传递到电子传递链中 Q_A^- 下游的其他电子受体的概率。与对照相比,遮荫胁迫显著增大了两品种叶片的 V_J 和 M_o ,降低了 ϕ_o ,而 ALA 处理显著降低了两品种 V_J 和 M_o ,明显增大了 ϕ_o (图 4)。其次, ϕE_o 反映了 PSII 反应中心吸收光能用于电子传递的量子产额, DI_o/RC 代表单位反应中心热耗散的能量。遮荫胁迫明显降低了两品种叶片的 ϕE_o ,显著增大了 DI_o/RC ,而 ALA 处理明显增大了两品种在 3 种光照条件下的 ϕE_o ,大幅度降低了 DI_o/RC 。两品种相比,ALA 处理对‘郑优 3 号’的效果更好一些,以 M_o 和 DI_o/RC 为例,在 CK、LS 和 SS 这 3 种光照条件下,ALA 处理使‘郑优 3 号’ M_o 分别降低 21.98%、28.98% 和 31.15%,使 DI_o/RC 分别降低 11.34%、19.03% 和 34.36%;而 3 种光照条件下‘润太 2 号’ M_o 在 ALA 处理下分别下降 12.96%、13.77% 和 17.55%, DI_o/RC 分别降低 2.97%、8.64% 和 5.36%。

这些结果表明,ALA 处理降低了苹果叶片在遮荫胁迫下反应中心关闭的程度,提高了捕获的激子将电子传递到电子传递链中 Q_A^- 下游的其他电子受体的概率,即降低了 Q_A 电子受体被关闭的速率。同时,ALA 增大了 PS II 反应中心吸收光能用于电子传递的量子产额,显著降低了用于热耗散的量子比率,表明 ALA 提高了苹果叶片在遮荫胁迫下的光能利用效率。两品种相比,ALA 提高光能利用效率和改善电子传递的效果在‘郑优 3 号’上更明显。

2.5.3 光合性能 ϕP_o 是 PS II 最大光化学效率,两品种的 ϕP_o 在遮荫胁迫下略有降低,ALA 处理逆转了 ϕP_o 在遮荫胁迫下的降低趋势,使其恢复至对照水平; ϕR_o 反映 PS I 反应中心活性,两品种的 ϕR_o 在遮荫胁迫下均显著降低,ALA 处理使两品种 ϕR_o 在 3 种光照条件下均显著升高; $P I_{ABS}$ 、 $P I_{CS}$ 和 $P I_{total}$ 是光合性能指数,三者遮荫胁迫下均大幅度降低,且随胁迫程度加剧降低幅度加大,ALA 处理使两品种 $P I_{ABS}$ 、 $P I_{CS}$ 和 $P I_{total}$ 在 3 种光照条件下均显著升高(图 5)。两品种相比,ALA 处理使‘郑优 3 号’

的 ϕR_o 、 $P I_{ABS}$ 、 $P I_{CS}$ 和 $P I_{total}$ 升高幅度更大。这些结果表明,遮荫胁迫降低了苹果叶片的最大光化学效率、PSI 反应中心活性和光合性能指数,而 ALA 处理不仅抑制了这些指标的降低,而且有使其高于对照的趋势,证明 ALA 处理增大了苹果叶片最大光化学效率,提高了 PSI 反应中心活性,改善了光合性能。

3 讨 论

据统计,2014 年 6~9 月江苏丰县苹果产区晴天仅占 5%,多云天气占 54%,雨天占 34%,阴天占 7%,可见该区雨水确实偏多,属于典型的温湿多雨天气,实施避雨栽培对该区果树栽培具有积极的意义。然而,除了避开过多雨水,避雨设施还不可避免地影响果园内其他的环境因子,其中最大的影响是削弱了光照,使果树处于弱光环境中^[3]。如本试验中,在苹果树冠顶层之上覆盖 1 层塑料薄膜使光照强度约降为全自然光的 73%,而对温度和湿度没有绝对大的影响,再次证明弱光是避雨栽培主要的负面影响。因此,研究苹果的耐弱光性及增强苹果耐弱光性的技术方法是提高苹果避雨栽培的可行性,从而大规模推广苹果避雨栽培的关键。为此,本试验随机选择了一种集约化栽培品种‘润太 2 号’柱状苹果和一种常规大树冠苹果品种‘郑优 3 号’,研究了其在轻度弱光胁迫和严重弱光胁迫下的生理响应,并重点探讨了新型植物生长调节物质 5-氨基乙酰丙酸(ALA)提高苹果耐弱光性的效应。

植物遭受各种逆境胁迫伤害的一个重要原因就是次级胁迫氧化胁迫带来的氧化伤害。本研究中,遮荫胁迫下两苹果品种叶片的 O_2^- 产生速率和 H_2O_2 含量均显著升高,膜脂过氧化产物 MDA 的含量也显著升高,表明苹果叶片的活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生与清除系统间的平衡在弱光胁迫下遭到了破坏,ROS 过多积累,使苹果叶片受到氧化伤害。事实上,进一步分析本研究中 SOD 和 POD 活性的变化,我们发现两品种苹果叶片的 SOD 和 POD 活性在遮荫胁迫下均显著降低,表明苹果在弱光胁迫下的抗氧化能力较差,这应该是 ROS 积累进而造成氧化伤害的重要原因。这些结果说明,苹果对弱光胁迫的适应能力较差,要实施避雨栽培必须提出能够提高苹果耐弱光性的安全有效技术以配套施用。ALA 是一种天然、无毒的新型植物生长调节物质,本试验首次研究了 ALA 对木本果树作物耐弱光性的影响。结果发现,ALA 处理显著提高了两品种苹果叶片的 SOD 与 POD 保护酶活性,降低了 O_2^- 产生

速率和 H₂O₂、MDA 含量,证实 ALA 处理显著提高了弱光胁迫下苹果叶片的抗氧化能力,降低了氧化伤害程度。因此,对避雨栽培苹果根际浇灌低浓度 ALA 可视为一种减轻苹果弱光胁迫的安全有效措施。

弱光对植物生长发育的影响与弱光环境中植物的光合作用特性有着密切关系。本研究中,两苹果品种叶片叶绿素含量及叶绿素 b/a 在遮荫胁迫下均显著升高,这与戴强等^[28]的研究结果一致,表明苹果叶片也具备增大叶绿素含量进而提高对有限光量子的吸收、利用能力的适应弱光环境的策略。但与 LS 条件相比,SS 条件下两品种的叶绿素含量与叶绿素 b/a 均显著降低,又表明苹果的这一适应能力有限。根际浇灌 ALA 显著提高了遮荫胁迫下两品种苹果叶片的叶绿素含量,这一方面与其作为叶绿素生物合成的关键前体^[29],参与叶绿素合成调节有关;另一方面与其降低 ROS 产生速率从而减小叶绿素的降解损失有关^[30]。除此之外,汪良驹等提出 ALA 还可能作为一种植物生长调节物质参与调控叶绿素合成进而调节植物生长。ALA 显著提高苹果叶片叶绿素 b/a 比值,说明 ALA 对叶绿素 b 合成的促进效应更大。这印证了前人有关 ALA 促进叶绿素 a 向叶绿素 b 转化的论断^[31]。由于叶绿素 b 的主要功能是吸收散射光,而弱光下以蓝紫光为主的散光所占比例增加,所以 ALA 处理提高苹果叶片叶绿素 b 含量,更有利于植物叶片在弱光下更好地吸收散射光,增强捕获光能的能力,这对植物提高耐弱光性具有重要意义。

叶绿素荧光是光合作用研究的活体探针。国内外在植物逆境生理研究中已广泛利用叶绿素荧光特性了解植物对光能的吸收、传递、耗散以及光化学反应等光合性能情况。近年来,快速叶绿素荧光诱导动力学的应用,使光合机构及其活性的研究更加深入^[32]。本试验中,从 OJIP 曲线和各叶绿素荧光参

数的变化来看,弱光胁迫下苹果叶片用于热耗散的光能比率增大,光合电子传递受到抑制,光合性能被削弱,说明弱光胁迫使苹果叶片的光合光反应的能力下降。ALA 处理降低了苹果叶片在遮荫胁迫下反应中心关闭的程度和 QA 电子受体被关闭的速率,改善了电子传递情况。同时,ALA 显著降低了用于热耗散的量子比率,提高了苹果叶片在遮荫胁迫下的光能利用能力。而且,ALA 处理还增大了苹果叶片最大光化学效率,提高了 PSI 反应中心活性,改善了光合性能。因此,ALA 显著提高了苹果在弱光下的光合能力,这与在甜瓜^[8]、番茄^[20]上的研究结果一致,ALA 提高植物光能捕获能力,改善光合效率应该是其提高植物耐弱光性的重要机制。

从叶片 ROS 积累及氧化伤害程度来看,‘郑优 3 号’对遮荫胁迫的敏感程度大于‘润太 2 号’,说明‘郑优 3 号’更容易受弱光影响,耐弱光性低于‘润太 2 号’。从保护酶活性、叶绿素含量及叶绿素荧光特性的变化来看,ALA 使两品种苹果的耐弱光能力均显著提高;两品种相比,ALA 对‘郑优 3 号’氧化伤害的降低程度、保护酶活性的升高程度及光合性能的改善幅度更显著,这又说明 ALA 提高苹果耐弱光性的作用可能具有普遍性,且对耐弱光性差的品种的改善效果更明显。

综上所述,在弱光条件下,根灌 ALA 显著提高了苹果叶片的抗氧化活性,降低了氧化伤害程度,提高了其光能捕获、传递、利用的能力,改善了光合电子传递、光系统活性并最终提高了光合性能,即 ALA 处理使苹果的耐弱光性显著提升。由于 ALA 是一种无毒、可生物降解且对环境友好的天然物质,将 ALA 应用于果树作物不会带来食品安全问题,且已证实 ALA 具有显著提高果实品质的作用,因此,可将 ALA 应用于避雨栽培苹果以降低弱光的不利影响,提高苹果的产量与品质。

参考文献:

[1] 束怀瑞. 苹果学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.
[2] 盛炳成. 黄河故道地区果树综论[M]. 北京: 中国农业出版社, 2008.
[3] 栗进朝,段罗顺,张晓申. 避雨对葡萄病害和光照强度的影响[J]. 果树学报, 2009, 26(6): 847-850.
LI J C, DUAN L S, ZHANG X S. Effect of rainproof cultivation on grape disease incidence and light intensity under the shelter [J]. *Journal of Fruit Science*, 2009, 26(6): 847-850.
[4] 叶明儿,陈志银,等. 大鹏覆盖对京优葡萄座果和果实品质的影响[J]. 浙江农业大学学报, 1998, 24(6): 613-616.

YE M E, CHEN Z Y, *et al.* Effects of plastic house on fruit setting and fruit quality of Jingyou Grape [J]. *Journal of Zhejiang Agricultural University*, 1998, 24(6): 613-616.
[5] 安 锋,林位夫. 植物耐荫性研究的意义与现状[J]. 热带农业科学, 2005, 25(2): 68-72.
AN F, LIN W F. Significances of plant shade-tolerance study and its advances [J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 2005, 25(2): 68-72.
[6] AKRAM N A, ASHRAF M. Regulation in plant stress tolerance by a potential plant growth regulator, 5-aminolevulinic acid [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2013, 32: 663-679.

- [7] HOTTA Y, TANAKA T, BINGSHAN L, *et al.* Improvement of cold resistance in rice seedlings by 5-aminolevulinic acid [J]. *Journal of Pesticide Science*, 1998, **23**: 29-33.
- [8] WANG L J, JIANG W B, HUANG B J. Promotion of 5-aminolevulinic acid on photosynthesis of melon (*Cucumis melo*) seedlings under low light and chilling stress conditions [J]. *Physiologia Plantarum*, 2004, **121**: 258-264.
- [9] BALESTRASSE K B, TONARO M L, BATLLE A, *et al.* The role of 5-aminolevulinic acid in the response to cold stress in soybean plants [J]. *Phytochemistry*, 2010, **71**: 2 038-2 045.
- [10] KORKMAZ A, KORKMAZ Y, DEMIRKRAN A R. Enhancing chilling stress tolerance of pepper seedlings by exogenous application of 5-aminolevulinic acid [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2010, **67**: 495-501.
- [11] WATANABE K, TANAKA T, HOTTA Y, *et al.* Improving salt tolerance of cotton seedlings with 5-aminolevulinic acid [J]. *Plant Growth Regulation*, 2000, **32**: 97-101.
- [12] WANG L J, JIANG W B, LIU H, *et al.* Promotion by 5-aminolevulinic acid of germination of pakchoi (*Brassica campestris* ssp. *chinensis* var. *communis* Tsen et Lee) seeds under salt stress [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2005, **47**: 1 084-1 091.
- [13] ZHANG Z, LI H, ZHOU W, *et al.* Effect of 5-aminolevulinic acid on development and salt tolerance of potato (*Solanum tuberosum* L.) microtubules *in vitro* [J]. *Plant Growth Regulation*, 2006, **49**: 27-34.
- [14] YOUSSEF T, AWAD M A. Mechanisms of enhancing photosynthetic gas exchange in date palm seedlings (*Phoenix dactylifera* L.) under salinity stress by a 5-aminolevulinic acid-based fertilizer [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2008, **27**: 1-9.
- [15] NAEEM M S, JIN Z L, WANG L, *et al.* 5-Aminolevulinic acid improves photosynthetic gas exchange capacity and ion uptake under salinity stress in oilseed rape (*Brassica napus* L.) [J]. *Plant and Soil*, 2010, **332**: 405-415.
- [16] NAEEM M S, WARUSAWITHARANA H, LIU H B, *et al.* 5-Aminolevulinic acid alleviates the salinity induced changes in *Brassica napus* as revealed by the ultrastructural study of chloroplast [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2012, **57**: 84-92.
- [17] LIU D, PEI Z F, NAEEM M S, *et al.* 5-Aminolevulinic acid activates antioxidative defence system and seedling growth in *Brassica napus* L. under water-deficit stress [J]. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 2011, **197**: 284-295.
- [18] ZHANG J, LI D M, GAO Y, *et al.* Pretreatment with 5-aminolevulinic acid mitigates heat stress of cucumber leaves [J]. *Biologia Plantarum*, 2012, **56**: 780-784.
- [19] 柳翠霞, 罗庆熙, 等. 外源 5-氨基乙酰丙酸(ALA)对弱光下黄瓜生长指标及抗氧化酶活性的影响[J]. *中国蔬菜*, 2011, **16**: 72-78.
- LIU C X, LUO Q X, *et al.* Effect of exogenous ALA on cucumber growth indices and antioxidant enzymes activity under suboptimal light [J]. *China Vegetables*, 2011, **16**: 72-78.
- [20] 郭晓青, 李超汉, 等. 叶面喷施 5-氨基乙酰丙酸对遮荫条件下番茄生长、光合特性和产量的影响[J]. *山东农业科学*, 2011, **9**: 30-34.
- GUO X Q, LI C H, *et al.* Effects of foliar spraying 5-aminolevulinic acid on growth, photosynthesis and yield of tomato under shade conditions [J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2011, **9**: 30-34.
- [21] NISHIHARA E, KONDO K, PARVEZ M M, *et al.* Role of 5-aminolevulinic acid (ALA) on active oxygen-scavenging system in NaCl-treated spinach (*Spinacia oleracea*) [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2003, **160**: 1 085-1 091.
- [22] SRIVASTAVA A, GUISSSE B, GREPPIN H, *et al.* Regulation of antenna structure and electron transport in Photosystem II of *Pisum sativum* under elevated temperature probed by the fast polyphasic chlorophyll a fluorescence transient; OKJIP [J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics*, 1997, **1 320**: 95-106.
- [23] LICHTENTHALER H K, WELLBURN A R. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents [J]. *Biochemical Society Transactions*, 1983, **603**: 591-592.
- [24] AN Y Y, LIANG Z S. Drought tolerance of *Periploca sepium* during seed germination: antioxidant defense and compatible solutes accumulation [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2013, **35**: 959-967.
- [25] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧物自由基与羟胺反应的定量关系 [J]. *植物生理学通讯*, 1990, **26**(6): 55-57.
- WANG A G, LUO G H. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants [J]. *Plant Physiology Communication*, 1990, **26**(6): 55-57.
- [26] PATTERSON B D, MACRAE E A, FERGUSON I B. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium (IV) [J]. *Analytical Biochemistry*, 1984, **139**: 487-492.
- [27] AN Y Y, LIANG Z S, *et al.* Organ-dependent responses of *Periploca sepium* to repeated dehydration and rehydration [J]. *South African Journal of Botany*, 2011, **77**(2): 446-454.
- [28] 戴强, 章镇, 罗昌国, 等. 避雨栽培对苹果叶片生长的影响 [J]. *中国农学通报*, 2012, **28**(22): 168-172.
- DAI Q, ZHANG Z, LUO C G, *et al.* Effect of sheltering from rain on apple leaf growth [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2012, **28**(22): 168-172.
- [29] 汪良驹, 姜卫兵, 章镇, 等. 5-氨基乙酰丙酸的生物合成和生理活性及其在农业生产中的潜在应用 [J]. *植物生理学通讯*, 2003, **39**(3): 185-192.
- WANG L J, JIANG W B, ZHANG Z, *et al.* Biosynthesis and physiological activities of 5-aminolevulinic acid (ALA) and its potential application in agriculture [J]. *Plant Physiology Communication*, 2003, **39**(3): 185-192.
- [30] AHMED S, NAWATA E, HOSOKAWA M, *et al.* Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mungbean subjected to waterlogging [J]. *Plant Science*, 2002, **163**: 117-123.
- [31] 谢荔, 成学慧, 等. 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.
- XIE L, CHENG X H, *et al.* Effects of an amino acid fertilizer on the leaf photosynthesis and fruit quality of ‘Summer Black’ grape [J]. *Journal of Nanjing Agriculture University*, 2013, **36**(2): 31-37.
- [32] 李鹏民, 高辉远, STRASSER R J. 快速叶绿素荧光诱导动力学分析在光合作用研究中的应用 [J]. *植物生理与分子生物学报*, 2005, **31**(6): 559-566.
- LI P M, GAO H Y, STRASSER R J. Application of the fast chlorophyll fluorescence induction dynamics analysis in photosynthesis study [J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2005, **31**(6): 559-566.