NaCl胁迫下二色补血草光保护机制的研究

摘 要

本文以二色补血草幼苗为实验材料，研究不同浓度NaCl处理对其光合特性、热耗散机制、活性氧清除系统以及PSⅡ光化学特性的影响，从而探讨NaCl胁迫下二色补血草所受到的伤害及其光保护机制。结果如下：

1．NaCl对二色补血草生长状况的影响

随着盐处理浓度的增加，二色补血草的干鲜重、根系的总长度、表面积、总体积、平均直径、根尖数以及鲜、干重等参数均先升高后降低，在100 mmol/L NaCl处理时达到最大值。二色补血草的根系活力随着处理盐度的增加也是先升高后降低，最高点出现在100 mmol/L NaCl处理时，且较CK升高极显著，可以认为这是二色补血草对低浓度NaCl的适应性反映，在一定程度上促进了地上部分的生长。400 mmol/L NaCl处理下，其根系活力明显低于CK，二色补血草的生长代谢显著降低。

2．NaCl对二色补血草光合特性的影响

在200、400 mmol/L NaCl处理下，Pn、Gs、Ci较CK明显降低，而Ls极显著上升。可以得出，较高盐浓度下光合速率的降低与气孔限制因素密切相关。氧电极法测得的放氧速率在不同盐度下与CK差异均不显著，进一步证明在NaCl处理下，气孔限制因素是二色补血草光合速率降低的重要原因。

φPSⅡ随着处理盐度的增加先升高后降低，最大值出现在100 mmol/L NaCl处理时，在400 mmol/L NaCl处理下较CK降低极显著。说明随着盐处理浓度的升高，二色补血草叶片发生光抑制且逐渐增强。

3．NaCl对二色补血草非辐射能量耗散（NPQ）及其三组分的影响

NPQ随着盐度升高逐渐上升，且200、400 mmol/L NaCl处理与CK有显著差异，表明二色补血草由非光化学途径耗散的光能显著增加，从而保护PSⅡ反应中心免受光抑制伤害。

NPQ的主要组分为qE，是依赖跨类囊体膜质子梯度的热耗散，在二色补血草中占NPQ的65%左右。本实验中qE随着处理盐度的升高逐渐升高，与NPQ变化趋势相同，且在200、400 mmol/L NaCl处理下较CK明显上升。表明依赖△pH的能量耗散机制在逐渐增强，可能是高盐胁迫下二色补血草的有效耗散方

式之一。

NPQ 组分之二 qT，是依赖状态 1 向状态 2 转换的热耗散。在本实验中 qT 不到 NPQ 的 10%，随着盐度的增加逐渐降低，但不同盐度处理下 qT 下降并不明显。说明 NaCl 处理下二色补血草中 qT 的保护机制受到抑制。

NPQ 组分之三 qI，是与光合作用的光抑制有关的热耗散，约占 NPQ 的 25%，随着盐度的增加逐渐上升，400 mmol/L NaCl 处理下显著升高。这可能是高盐浓度下光抑制增强所致。同时 qI 与 DPS 的变化一致，表明二色补血草中 qI 可能与叶黄素循环过程中生成的玉米黄质有关。

4．NaCl 对二色补血草叶黄素循环的影响

随着处理盐浓度的升高，叶黄素脱环化程度（DPS）逐渐升高，其变化趋势与 NPQ、qE 相一致，而且在较高盐分条件下均明显上升。表明依赖于叶黄素循环的能量耗散在盐胁迫下能起到有效的保护作用，原因可能有：其一 DPS 的升高表明玉米黄质（Z）和花药黄质（A）生成量的增加，Z 可以耗散过剩的激发能。其二与盐胁迫引起的 pH 梯度有关，不断升高的△pH 是依赖于叶黄素循环的热耗散增加的前提，而后者对前者的热耗散起到“放大器”的作用。其三可能与盐胁迫引起的类胡萝卜素相对含量增加有关。

5．NaCl 对二色补血草活性氧清除系统的影响

200、400 mmol/L NaCl 处理下，SOD、CAT 活性较 CK 均明显上升，Car、Anth 的相对含量随着盐度增加逐渐上升，其中 Car 的相对含量在不同盐度下较 CK 均显著上升。在 400 mmol/L NaCl 处理下 Anth%较 CK 上升显著。表明在二色补血草光保护的过程中，活性氧清除系统起着相当重要的作用，一方面较强的抗氧化能力增强其耐盐性；另一方面活性氧非酶系统含量的升高是其适应盐渍环境不可忽视的原因之一。

6．NaCl 对二色补血草 PSⅡ光化学特性的影响

K 相可变荧光占（F_J-F_O）振幅的比例（W_K），400 mmol/L NaCl 处理下较 CK 显著下降，表明二色补血草 PSⅡ的供体侧很有可能未受到盐胁迫伤害。400 mmol/L NaCl 处理下，与 CK 相比，标准化后的在 J-P 相和直线 $F=F_M$ 之间的面积（Sm）有所降低，从 2 ms 到 t_{Fm} 时间内 Q_A 的氧化还原次数（N）显著降低，J 相相对可变荧光（V_J）略有降低，I 相相对可变荧光（V_I）从第 3 天开始升高

显著。表明 400 mmol/L NaCl 处理下 PS II 受体侧的电子传递能力相对较低。

400 mmol/L NaCl 处理下，二色补血草单位面积内有活性的反应中心数量（RC/CSo）较 CK 明显增加。同时，单位反应中心吸收的光能（ABS/RC）有所下降，用于还原 Q_A 的能量（TRo/RC）和用于电子传递的能量（ETo/RC）均明显下降，而耗散掉的能量（DIo/RC）下降幅度并不明显，说明单位反应中心的热耗散可能相对增加了。结果表明 400 mmol/L NaCl 处理下，虽然单位反应中心吸收的光能有所降低，但是单位面积内有活性的反应中心数量增多了，从而使捕获的总光能不至于减少，以维持光合作用。

在 400 mmol/L NaCl 处理时，以吸收光能为基础的性能指数（PI_{ABS}）和推动力（D.F.）都高于 CK。这说明 400 mmol/L NaCl 冲击对二色补血草 PS II 的原初光化学反应伤害不大。

关键词：二色补血草；NaCl 胁迫；光保护；PS II 光化学特性
分类号： Q945.78

Study on the photoprotective mechanisms in *Limonium bicolor* under salt stress

Abstract

This study tries to explore the photoprotective mechanisms of *Limonium bicolor* under salt stress, through evaluating the effects of photosynthetic characteristics as well as thermal dissipation, metabolism of active oxygen and photochemical characteristics of PS II that were impacted by different concentrations of NaCl. The main results are as follows:

1. Effect of NaCl on the growth of *Limonium bicolor*

With the increase of salt treatment, the fresh weight and dry weight of the seedlings, the total length, surface area, total volume, top tips, average diameter, fresh weight and dry weght of roots of *Limonium bicolor* increased up to 100 mmol/L NaCl and then decreased. The reductive capability of TTC increased significantly under 100 mmol/L NaCl, and then gradually decreased with the increase of NaCl, which may be an adaptive reaction to low concentration of NaCl that could promote the growth of *Limonium bicolor* to some extent. Under the treatment with 400 mmol/L NaCl, the roots activities were lowered remarkably compared to the control, in which the growth metabolism greatly reduced.

2. Effect of NaCl on the photosynthetic characters of *Limonium bicolor*

Under the treatments with 200, 400 mmol/L NaCl, Pn, Gs and Ci decreased remarkably compared with the control, while Ls increased sharply. It is obvious that at higher concentration of NaCl the decrease of photosynthetic rate closely correlate with stomatal limitation factors. However, oxygen evolution rate measured by Chlorolab-2 showed slight difference between plants under NaCl treatments and the control. Furthermore, these indicated that stomatal limitation factors are the important reason in the decrease of photosynthetic rate under salt stress.

φPS II increased with the increase of NaCl up to 100 mmol/L, and then decreased obviously at 400 mmol/L. It showed that the photoinhibition of

photosynthesis in *Limonium bicolor* increased gradually with the increase of NaCl concentration.

3. Effect of NaCl on the non-radiative energy dissipation (NPQ) and its three components of *Limonium bicolor*

NPQ increased constantly with the increase of NaCl concentration and there was significant difference between plants under the treatment with 200, 400 mmol/L NaCl and the control. It indicated that thermal dissipation of *Limonium bicolor* obviously increased, which can protect the reaction centers of photosystem II from damage of photoinhibition.

qE , namely △pH-dependent quenching, is the major composition of NPQ and comprises about 65% in *Limonium bicolor*. In this experiment, qE and NPQ exhibited the similar trend, which increased with the increase of salt treatment, and significantly increased under the treatments with 200, 400 mmol/L NaCl compared with the control. It indicated that which dependent on the energization of the thylakoid membrane might be one of efficient means to dissipate the heat.

qT, state transition, is one of the composition and less than 10% in NPQ, but slightly reduced with the increase of NaCl concentration. This showsed that salt treatments inhibited the protective mechanisms of qT in *Limonium bicolor*.

qI called photoinhibition is one of the composition and exhibited about 25% of NPQ, which gradually improved with the increase of salt concentration, specially had obvious decrease under the treatment with 400 mmol/L NaCl. It was possibly due to the increasing photoinhibition at higher concentration of NaCl. qI and DPS had the similar trend, which indicated that qI of *Limonium bicolor* probably related to zeaxanthin in the xanthophyll cycle.

4. Effect of NaCl on the xanthophyll cycle of *Limonium bicolor*

The de-epoxidation content of xanthophyll cycle (DPS) increased gradually with increase of salt treatment, which had the same trend with NPQ and qE, especially increased remarkably under higher concentration. It is obvious that xanthophyll cycle under salt stress has the efficient role of protecting. One of the reasons may be that the increase of DPS showed the increase of zeaxanthin (Z) and antheraxanthin (A) which

can dissipate excited excess energy. The second reason possibly relates to △pH affected by salt stress, the increase of which resulting in the dissipation dependent on xanthophyll cycle to increase. The relative content of Car affected by salt stress might be the third reason.

5. Effect of NaCl on the reactive oxygen species of *Limonium bicolor*

The activities of SOD and CAT treated with 200, 400 mmol/L NaCl improved obviously compared with the control, while the relative contents of Car and Anth increased gradually, and the Car content increased distinctly under different salt concentrations. The relative content of Anth showed its significant increase under 400 mmol/L NaCl. The data suggested that the reactive oxygen species in *Limonium bicolor* played a great role in photoprotection under salt stress. The high antioxidant ability can enhance the salinity tolerance, meanwhile the content of non-enzymic system in ROS scavenging improves to adapt to NaCl stress.

6. Effect of NaCl on the photochemical characters of PS II in *Limonium bicolor*

The ratio of variable fluorescence F_K to the amplitude F_J -Fo (W_K) treated with 400 mmol/L NaCl decreased significantly compared with the control, which suggested the donor side of PS II in *Limonium bicolor* could not be damaged by NaCl stress. Under the treatment with 400 mmol/L NaCl, normalized complementary area corresponding to the J-P phase (Sm) reduced, turn over number of Q_A in the time span from J-step to P-step (N) sharply decreased, relative variable fluorescence at J-step (V_J) slightly decreased, and relative variable fluorescence at I-step (V_I) obviously increased started from the third day compared with control. These indicated that the capacity of electron transport in acceptor side of PS II treated with 400 mmol/L NaCl declined compared with control.

Compared to the control, the density of active reaction centers per excited cross-section (RC/CSo) of *Limonium bicolor* increased sharply under the treatment with 400 mmol/L NaCl. In addition, absorption per active reaction centers (ABS/RC) decreased, trapping (TRo/RC) and electron transport per active reaction centers (ETo/RC) both decreased sharply, and heat dissipation per active reaction centers

(DIo/RC) slightly decreased, which showed that DIo/RC might be correspondingly promoted. These suggested that under the treatment with 400 mmol/L NaCl the absorption per active reaction center reduced, while the density of active reaction centers per excited cross-section increased, and thus the total harvested light energy didn't reduce in order to retain photosynthesis.

Performance index (PI_{ABS}) and driving force (D.F.) on absorption basis both increased under the treatment of 400 mmol/L NaCl, from which we can deduce that salt shock by 400 mmol/L NaCl scarcely damaged the primary photochemical reactions of PS II in *Limonium bicolor*.

Key words: *Limonium biolor*; salt stress; photoprotection; photochemical characters of PS II

Classification number: Q945.78

Abbreviations

short form	complete form
CK	control treatment
TTC	triphenyl tetrazolium chloride
Pn	net photosynthetic rate
Gs	stomatal conductance
Ci	intercellular CO_2 concentration
Ls	stomatal limitation value
NPQ	non-radiative energy dissipation
qE	△pH-dependent quenching
qT	state transition
qI	photoinhibition
DPS	de-epoxidation content of xanthophyll cycle
Chl	chlorophyll
Car	carotenoid
Anth	anthocyanin
SOD	superoxide dismutase
CAT	catalase
MDA	malondialdehyde
W_K	ratio of variable fluorescence F_K to the amplitude F_J -Fo
Sm	normalized complementary area corresponding to the J-P phase
N	turn over number of Q_A in the time span from J-step to P-step
V_J	relative variable fluorescence at J-step
V_I	relative variable fluorescence at I-step
φ_{Po}	maximum yield of primary photochemistry
φ_{Eo}	probability that an absorbed photon will move an electron into the electron transport chain beyond Q_A^-
Ψo	efficiency that a trapped exciton moves an electron into the electron transport chain beyond Q_A^-
φ_{Do}	quantum ratio for heat dissipation
Mo	slope at the origin of the fluorescence rise
RC/CSo	density of active reaction centers per excited cross-section
ABS/RC	absorption per active reaction centers
TRo/RC	trapping per active reaction centers
ETo/RC	electron transport per active reaction centers
DIo/RC	heat dissipation per active reaction centers
PI_{ABS}	performance index on absorption basis
D.F.	driving force on absorption basis

独 创 声 明

本人声明所呈交的学位论文是本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得_____（注：如没有其他需要特别声明的，本栏可空）或其他教育机构的学位或证书使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示谢意。

学位论文作者签名：刘永慧　　导师签字：

学位论文版权使用授权书

本学位论文作者完全了解 学校 有关保留、使用学位论文的规定，有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅。本人授权 学校 可以将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。（保密的学位论文在解密后适用本授权书）

学位论文作者签名：刘永慧　　导师签字：

签字日期：2009 年 6月7日　　签字日期：2009 年 6月7日

文献综述

盐胁迫是影响农作物生长和产量最为严重的非生物因子之一[1]。大多数植物的生长发育在盐胁迫下会受到明显抑制，同时还引起一系列生理生化反应，如降低叶片水势，改变离子相互关系等。在盐渍条件下，当植物吸收的光能超过其利用能力时，会出现光能过剩，从而引起光抑制，甚至光氧化、光破坏。在长期的进化过程中，植物形成了多种光保护机制来耗散过剩光能，如热耗散、活性氧清除系统及环式电子传递等。这些机制反映了植物在生理和生化以及形态结构等方面对盐渍环境的适应性。因此，NaCl 胁迫下植物光保护机制的研究，就成为植物抗盐生理研究的一个重要课题。

1 光抑制研究概述

光抑制的发现可以追溯到 19 世纪中叶，20 世纪初就有关于光抑制方面较完整的实验报告，20 世纪 50 年代以后，叶绿体分离技术的应用，使光抑制的研究进入机理探讨阶段[2]。20 世纪 80 年代中期以前，对于大量离体材料和低等植物进行的研究表明，光抑制是由于 PS II 反应中心的破坏，且主要是 D_1 蛋白的净损失[3]。由于叶绿素 a 荧光测定技术的发展[4,5,6]，使整体植物材料无损伤测定方法在光抑制机理研究方面得到普遍应用。后来发现，光抑制有时只是反映为一些保护机制的运转[7]，即通过光能转化效率的降低来避免反应中心的过度破坏和光合能力的损失。在此基础上，Osmond[8]（1994）将光抑制分为动态光抑制（dynamic photoinhibition）和缓慢光抑制（chronic photoinhibition）两种类型，动态光抑制与依赖叶黄素循环的能量耗散有关，主要是植物应对胁迫所表现出来的一种保护性反应；缓慢光抑制与 PS II 反应中心 D_1 蛋白的净损失有关。

Björkman[9] (1987) 把植物吸收过多的能量，引起 PS II 反应中心的破坏，而使光合功能下降的现象定义为光抑制。近十余年来，以光保护机制为主的光抑制机理研究仍倾向于：光抑制包括光保护和光破坏两个方面。目前普遍被接受的光抑制定义为植物光合机构所接受的光能超过光合作用所能利用的数量时，植物光能转化效率的下降，主要表现为 PS II 光化学效率和光合效率的降低[10]。

2 植物的光保护机制

在植物界中普遍存在着光抑制现象。强光是导致光抑制发生的直接因素，其

他的叠加胁迫条件如盐渍、营养亏缺、高温等也可以加剧光抑制。为避免或减轻光抑制，植物在长期的进化过程中形成了多种光保护机制，主要是通过减少光能吸收、增强光能利用和促进光能耗散等方式实现。

2.1 减少光能吸收

叶片是植物吸收光量子进行光合作用的场所。叶片表面特性的变化、叶片运动以及叶绿体运动都可以减少植物对光能的吸收。强光下，叶片变小、变厚，单位叶面积的光合机构增多[11,12]，或叶片表面覆以绒毛和蜡质[13,14]，可减少叶片的光能吸收；叶运动和叶绿体运动对强光的快速响应[15]可有效减少叶片对光的吸收，从而避免光抑制[16]。后来的研究发现，叶绿体的运动及再定位是由蓝光受体 phototropins 所介导的[17,18]，利用突变体进行的研究也证实了这一点[19]。

2.2 增强光能利用

光能过剩时，叶片可通过增加光合电子传递载体和光合关键酶的含量及活化水平来提高光合能力，增加对光能的利用[20]。另外，当 PS II 吸收光能过多时，通过状态转换可将部分激发能传递给 PS I，从而提高光能利用率，降低了发生光抑制的可能。

2.3 热耗散

过剩光能的耗散不仅在调节光能的吸收和电子传递中起关键作用，而且在防止光合器官的光抑制甚至光氧化中起至关重要的作用。强光胁迫下，植物可以通过热耗散消耗掉天线系统所吸收光能的一半以上[21]。热耗散主要通过以下 3 种机制[22]保护光合器官：①降低 ^{1}Chl 的寿命周期从而减少 PS II 反应中心和 LCH II 中 $^1O_2$ 的产生；②阻止类囊体的过度酸化和长寿命 $P680^+$ 的产生；③降低 PS I 还原 O_2 成为 O_2^- 的速率。

2.3.1 非辐射能量耗散(NPQ)

光有限条件下，较高的光化学量子效率会引起荧光产额的降低，称为光化学猝灭（qP）。其他的一些非光化学过程（如热耗散）引起的荧光猝灭，称为非光化学猝灭（NPQ 或 qN）。依赖于 qP 和 NPQ，植物能够在相对较强的光强范围内维持较低的稳态荧光和 ^{3}Chl 产量[23]。而 ^{3}Chl 和荧光的产量与 ^{1}Chl 的平均寿命成正比。这样，qP 和 NPQ 就能够最大限度地减少 LCH II 中 $^1O_2$ 的生成[24]。尤其是在强光条件下，NPQ 是植物光合器官免受损伤的一种主要防御机制。NPQ 涉及

三个不同的机理[25]：(1)qE—依赖类囊体膜内外的质子浓度差（能量猝灭），暗弛豫的半时间 $t_{1/2}$<1 min，快相；(2)qT—依赖状态 1 向状态 2 的转换（状态转换猝灭），$t_{1/2}$=8 min，中间相，它比 qE 和 qI 小得多，强光下 qE 和 qI 增加，而 qT 受抑制；(3)qI—与光合作用的光抑制有关（光抑制猝灭），它常表现为 Fv/Fm 的下降，$t_{1/2}$=40 min，慢相。

光合机构受到光照射后，伴随电子在膜上的定向传递，叶绿体内类囊体膜两侧形成一个质子梯度差，即△pH（或高能态）。此时，类囊体腔内偏酸性，叶绿体间质偏碱性。这个△pH 不只是 ATP 形成不可缺少的条件，也是叶绿体能量代谢的一个重要调节因子。强光条件下，类囊体膜两侧的质子梯度加大，触发 LCH II 将过剩的激发能以热的形式无危害地耗散掉[26,27]。这种通过类囊体膜两侧的质子梯度来进行调节的热耗散是植物保护其光合器官免受光氧化破坏的主要机制[26,27]。跨膜质子梯度的增加，是对过剩光能的最快响应[28]。Shen 等[29]的间歇短期强光照射实验也表明，在叶片光合诱导期其他保护机制还未能有效运转时，这种跨膜质子梯度就对 PS II 起到了保护作用。因此，依赖△pH 的能量耗散（qE）不仅是一种有效的保护机制，而且还是其他形式热耗散过程运转的前提。

Bonaventura 和 Myers[30]（1969）发现，暗适应后的小球藻在 PS II 优先吸收的红光照射下，光合机构向状态 2 转变，导致光能向 PS I 分配增加，PS II 的叶绿素荧光降低；在 PS I 优先吸收的远红光照射下，光合机构向状态 1 转变，导致光能向 PS II 分配增加，PS II 的叶绿素荧光上升。为适应外界条件的变化，光合机构在状态 1 和状态 2 之间的相互转换就是状态转换。激发能在两个光系统间的转移方向是由电子传递体 PQ 和 $Cytb_6f$ 的氧化还原状态决定的，任何影响电子传递的因素都能对状态转换产生一定的影响。光合机构的高效运转依赖于光能在 PS I 和 PS II 之间的均衡分配，状态转换就是保持两个光系统之间光能均衡分配的一种短期的快速调节方式。关于状态转换过程中光能分配变化的具体方式，谭新星等[31]（1997）的研究表明，激发能满溢发生在基粒边缘的 PS II 与 PS I 之间，是对光吸收不平衡的一种较快反应，而捕光截面变化涉及 LHC II 磷酸化及 LHC II-P 的转移，是一种较慢的过程。因此认为在状态转换中能量满溢与捕光截面变化两种方式并存。

关于光抑制猝灭 qI，有三种假说。假说一认为，qI 起源于 PS II 的反应中心，

部分 PS II 中心发生变化，尽管还能捕捉激发能，但不能进行光化学反应，而把能量变成热。假说二认为，qI 起源于 PS II 的天线色素，它是通过非辐射能量耗散消耗激发能，与叶黄素循环过程中生成的玉米黄质有关。假说三认为，qI 与 D_1 蛋白的失活和降解有关[28]。对于 qI 分子机制的研究以越冬的常绿植物为多。因为这些植物在秋冬季节经常出现耗散过剩光能的持续过程，并伴随光合能力下降；光合能力恢复只能在气候变暖的情况下进行，且恢复速度较慢。Demming-Adams 等[32]报道越冬植物的 qI 机制同 qE 一样，主要通过增加叶黄素循环库的值，光抑制的恢复也同玉米黄质（Z）环氧化成紫黄质（V）有关。有的研究表明，qI 在机制上部分相似于 qE，但有一些类型的 qI 并不完全依赖于类囊体腔 pH 的变化。

2.3.2 依赖叶黄素循环的能量耗散

叶黄素循环被认为在植物的抗光抑制中起到十分重要的作用[22,24]。叶黄素循环是指光合膜上三种色素组分一紫黄质(voilaxanthin，V)、花药黄质（antheraxanthin，A）和玉米黄质（zeaxanthin，Z）之间依据吸收的激发能过剩程度进行的相互转化[33]（图 1）。当激发能过剩时，含双氧的紫黄质会在脱环氧化酶（VDE）的作用下，经过中间产物含单环氧的花药黄质（又名环氧玉米黄质），转化成去环氧的玉米黄质。不再含有过剩激发能时，玉米黄质和花药黄质又会在环氧化酶（ZE）的作用下形成紫黄质。Demmig 等[34]（1987）发现玉米黄质的存在可能与过剩光能的耗散有关，此后对于叶黄素循环的研究就成为植物生理学领域的热点和前沿问题之一。

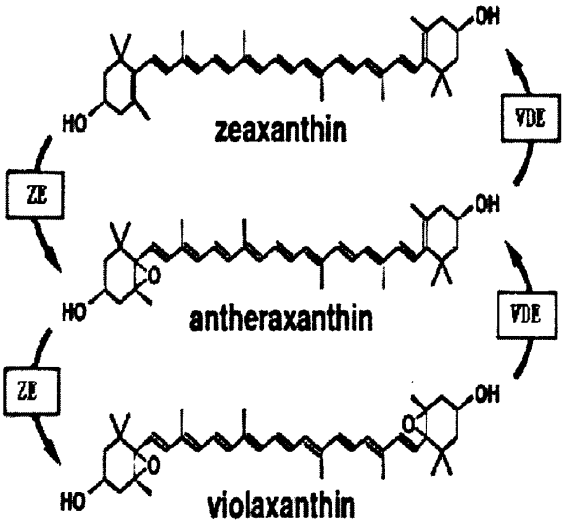


图 1 叶黄素循环组分及过程

叶黄素是结合于 LCH II 中的一类色素[35]，能够与其他色素协同作用将光能传递给叶绿素。此外，叶黄素能够通过非辐射能量耗散过量的激发能从而猝灭

^3Chl，还可以直接清除 $^1O_2$[36]。在植物叶片中，叶黄素组分主要包括叶黄素循环库三组分、黄体素（lutein）和新黄素（neoxanthin）。紫黄质和黄体素主要行使吸收光能并传递给叶绿素的功能，而花药黄质和玉米黄质，主要是玉米黄质行使耗散过剩激发能的功能[22]。自然光下的植物比实验室内具有更高水平的叶黄素循环组分库，而且增加的部分主要与 LHC II 复合物结合[37]。而在 LHC II 中，V、A、Z 主要在内周叶绿素结合蛋白 CP29、CP26 和 CP24 上[35,38,39,40]，照光条件下 V 在不同 LHC 上转化为 Z 的程度不同[35,41]。Li 等[42]（2000）则发现色素 Z 结合蛋白 CP22 在热耗散中起关键作用。最近的研究发现，黄体素也可以直接起到热耗散的作用[43]。Havaux 和 Niyogi[44]（1999）认为叶黄素循环可以保护类囊体膜脂避免光氧化，其机理除了直接猝灭自由基（如 $^1O_2$）之外，叶黄素循环库有可能起到终止过氧化自由基链式反应的作用。

大量研究表明，玉米黄质参与非辐射能量耗散有两种可能的机制[45]：（1）直接猝灭机制，认为 Z（或 A）与激发态叶绿素之间进行能量传递，将激发态叶绿素猝灭掉，Chla 吸收的过量激发能最终通过 Z 或 A 直接以热的形式耗散出体外。跨类囊体膜的△pH 主要诱导 Chla 同 Z 或 A 构象变化并相互靠近，以保证能量的正常传递。（2）间接猝灭机制，认为玉米黄质并不直接耗散过剩光能,其含量增加只是促进了 LHC II 形成有利于热耗散的构象，能量由 LHC II 最终耗散；Horton 等[46](1994) 还提出了 LHC II 聚集态理论，该理论认为光合机构从弱光转到强光下时，跨类囊体的△pH 升高，类囊体腔内 H^+增多，导致 LHC II 蛋白的羰基化和 V 向 A 和 Z 转化，促使二者形成各自的聚集态，它们进一步相互靠近而发生荧光的非化学猝灭[24,26,27]。Demming-Adams 和 Adams 有过报告[47]，24 种不同类型植物的叶黄素循环色素含量和热耗散强度对强光胁迫有类似的响应。也有研究证明，大豆叶片的重要保护机制不是依赖叶黄素循环的热耗散，而很可能是依赖反应中心可逆失活的热耗散过程[48]。因此认为叶黄素循环的防御作用在不同的植物中发挥不同的作用。

2.4 Mehler—抗坏血酸过氧化反应

Mehler 反应是 O_2 作为电子受体，在 PS I 受体侧代替 $NADP^+$接受电子生成 $O_2^{\cdot-}$，$O_2^{\cdot-}$再由 SOD 转化形成 H_2O_2，后者经 AsaPOD 等催化转化成为 H_2O 的过程（图 2），这一途径又称假环式电子传递途径或水—水循环，此过程具有较强的

光依赖性，可被 DCMU 抑制。作为光合电子传递的替代途径，Mehler 反应不仅通过消耗过剩激发能来保护光合器官，而且每氧化生成 1 分子 O_2 的同时还产生 8 个质子的跨膜梯度，对于促进叶黄素循环组分的脱环化、维系热耗散具有重要作用[49,50]。但是，陶宗娅等[51]（2001）通过加入 $O_2^{\cdot-}$ 清除剂发现，虽可减少积累，但对叶片的光合效率和光能转化效率几乎没有影响，因此认为 Mehler 反应的保护作用是很有限的。尽管 Mehler 反应是植物体内 $O_2^{\cdot-}$ 的主要产生途径，但是它可以及时地将 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 在伤害目标分子之前就清除掉，这对于保护光合器官免受光氧化破坏仍然具有重要作用。

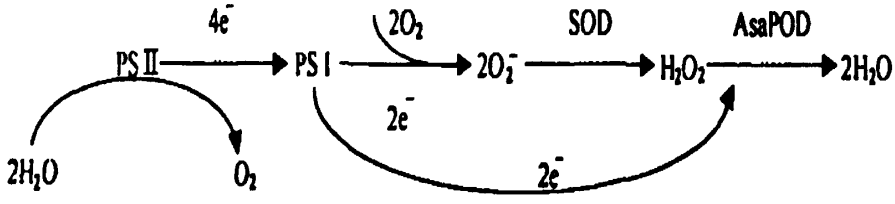


图 2 H_2O-H_2O 循环（Mehler 反应）示意图

Fig2 The sketch map of H_2O-H_2O cycle

2.5 环式电子传递

围绕 PS Ⅰ 的循环电子传递是指 PS Ⅰ 释放的电子经过 PQ 介导又重新回到 PS Ⅰ 的一个环式传递，被报道与作用光关闭后荧光的短时上升有关[52]。目前发现围绕 PS Ⅰ 的循环电子传递至少有两条途径，其一是铁氧还蛋白－质体醌氧化还原酶（FQR）途径，其二是在 NADPH/NADP 脱氢酶（NDH）的参与下完成的。许多研究证明，在光能过剩条件下，PS Ⅰ 环式电子传递可以有效地保护 PS Ⅱ[53,54]。此环式电子传递一方面通过合成 ATP 消耗吸收的光能；另一方面通过合成的 ATP 反馈抑制 ATP 酶活性，来维持跨类囊体膜的质子梯度（△pH），进而参与激发能的非辐射能量耗散过程[55]。

关于围绕 PS Ⅱ 的循环电子传递，已经建立的可能途径为 P680－PQ－Cytb559－$Chlz^-$－$P680^+$，该途径在保护 PS Ⅱ 避免光抑制方面具有重要意义[56,57]，但此环式电子传递的具体分子机制目前还不清楚。Cytb559 在其中起着关键性的作用[58]，一方面它可以从还原的 Q_A^- 获取电子，转化为高势能态，从而防止过度

还原的 Q_A^{2-}的形成[59]；另一方面当 PSⅡ供体侧电子传递受阻时，高势能态的 Cytb559 还可向 PSⅡ反应中心提供电子而防止其光氧化破坏[60]。

2.6 D1 蛋白周转与 PSⅡ反应中心的可逆失活

当光能过剩时，失活的 PSⅡ反应中心具有耗散过剩激发能、保护功能 PSⅡ的作用[61]。即使 PSⅡ反应中心是在低光强下的正常光合作用过程中，D_1 蛋白的从头合成和 PSⅡ反应中心的失活也会经常同时发生[62,63]。当 D_1 蛋白的降解和合成达到一个平衡时，PSⅡ功能的净损失不会发生；而当强光或林肯霉素阻止叶绿体编码蛋白的合成时，PSⅡ功能就会严重降低[64]。

强光胁迫下，PSⅡ反应中心转化为失活的形式，尽管已失去放氧功能却仍能进行电荷分离，主要特征是 Q_A 氧化速率极低。因为这类中心是热耗散发生的部位，并能保持 Q_A 的氧化态，可能是借助 PSⅡ功能的下调来避免反应中心的过度破坏。在类囊体内可能存在反应中心破坏一修复的循环，此循环大致是：过量的光能引起 PSⅡ的可逆失活，进而发生 D_1 蛋白的破坏，在间质片层，破坏的 D_1 蛋白被蛋白酶清除，新合成的 D_1 蛋白组装到缺少了 D_1 蛋白的反应中心，新组装的反应中心再组装到垛叠部分，被激活后行使正常功能[65]。反应中心的修复对于防止其过度破坏尤为重要。

D_1 蛋白的快速周转是 PSⅡ反应中心的内在特征，其周转过程可代表 PSⅡ抑制与恢复的循环[65]。由于 D_1 蛋白的周转速率很快，植物在高光强下生长要比在低光强下具有更快的修复能力，因此观察不到 D1 蛋白的净损失。但是 Cleland 等[66,67]认为在光抑制过程中没有 D_1 蛋白的降解。在冷锻炼过的叶片中根本没有 D_1 蛋白周转[67]。Agro[68]提出蚕豆 D_1 蛋白的降解与修复无关，菠菜实验表明修复进程不需要蛋白质合成，修复过程似乎有明显的阶段。大量研究表明，PSⅡ反应中心的可逆失活很可能是一种耗能机制。这种耗能机制可能与天线复合物从 PSⅡ反应中心脱落，D_1 蛋白的磷酸化及去磷酸化，以及 PSⅡ复合物单体与双体的相互转化有关[65]。

2.7 类囊体基粒垛叠方式对能量耗散的调控

一般认为，基粒对激发能分配的调控是其功能之一。Horton[69](1999)提出，光可以诱导基粒的结构发生变化，促使 LHCⅡ的构象在聚光状态和能量耗散状态之间转换，从而调节激发能的分配。在正常条件下，类囊体膜上基粒的垛叠方

式为 I 型（图 3），这种结构使 LHC II 间连接更紧密，可增加捕光能力和能量传递效率，并提高 PS II 和细胞色素 bf 复合体的光合电子和质子传递能力，从而能够最大程度地增加非循环电子传递速率；此外，还有利于两个光系统的协调以及同化力的形成，并在能量“满溢”时使 PS II 和 PS I 更接近以调整激发能在两个光系统之间的分配。而当过剩光能增加时，垛叠的基粒在光诱导下发生结构变化成 II 型，从而调控能量耗散，并调节 D_1 蛋白的周转以避免光合器官遭受强光破坏[69]。Anderson[70]认为，类囊体垛叠的变化能调控依赖叶黄素循环的非光化学猝灭。他们还指出，在持续的光抑制条件下，类囊体垛叠通过调节 D_1 蛋白的周转来调节 PS II 的活性。

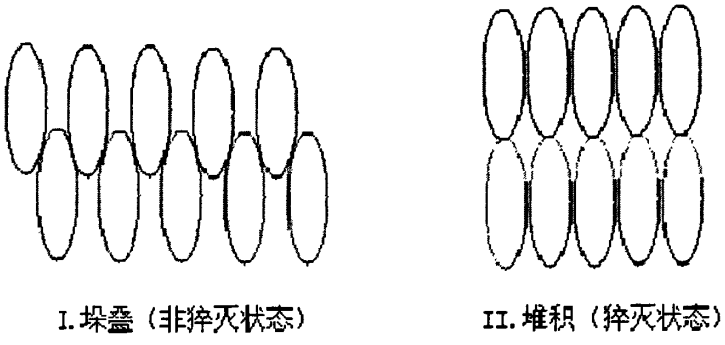


图 3 基粒膜上的垛叠及堆积的相互转换

Fig3 Interaction between packing and stacking of LHC II in grana membranes

2.8 活性氧清除机制

高盐环境严重影响细胞膜的完整性、各种酶的活性、营养物质的获得以及光合器官的功能，其中盐胁迫产生的活性氧（ROS）的破坏作用就是原因之一[71]。为了避免 ROS 可能造成的伤害，植物在进化过程中形成了一套完整的抗氧化系统，包括酶促反应系统和非酶促反应系统。

酶促反应系统包括过氧化氢酶（CAT）、抗坏血酸一过氧化物酶（AsaPOD）、超氧化物歧化酶（SOD）等。SOD 是植物体内清除活性氧系统的第一道防线，在 ROS 的清除系统中发挥着特别重要的作用，其主要功能是清除 $O_2^{\cdot-}$；叶绿体 APX 主要清除 Mehler 反应产生的 H_2O_2，而 CAT 主要清除光呼吸中产生的 H_2O_2 。非酶促反应系统主要包括抗坏血酸、谷胱甘肽、类胡萝卜素和 α-生育酚等。如类胡萝卜素包括叶黄素类，是膜结合的抗氧化物质，能够猝灭 ^3Chl 和 $^1O_2$，抑制膜

脂过氧化；α-生育酚又称维生素 E，主要存在于类囊体膜的膜脂中，可以猝灭或消除类囊体膜上的 $^1O_2$、$O_2^{\cdot-}$和·OH，以防止膜脂过氧化的发生。花青素是一种多元酚类化合物，具有重要的生理作用；花青素能清除自由基从而减轻逆境造成的伤害，有利于逆境下植物的生长发育[72]。叶片中花青素具有光保护作用，是基于它能接受光能减少叶绿体的光能负担。

实际上，清除活性氧酶系统和非酶系统在光合器官中总是同时存在并协同作用的。例如抗坏血酸又名维生素 C，既可以直接清除 $^1O_2$、$O_2^{\cdot-}$和·OH 等活性氧物质，还参与 α-生育酚的再生，又可以参与 AsaPOD 反应和紫黄质的脱环化反应，在植物的抗光氧化中起到中心机制的作用。又如谷胱甘肽可以直接清除 $^1O_2$ 和·OH，也可以参与 α-生育酚和抗坏血酸的再生。所有这些活性氧清除机制互相配合，互相交叉，使植物体内活性氧的产生与猝灭处于一种动态平衡，从而减轻光抑制或避免光氧化伤害。

3 快速叶绿素荧光诱导动力学分析

叶绿素荧光诱导现象是 Kautsky 于 1931 年首次发现的，因此称为 Kautsky 效应。叶绿素荧光动力学是指经过暗适应的绿色植物（或含有叶绿素的部分组织）突然转到可见光下之后，其叶绿素分子发出一种暗红色荧光，荧光强度随时间有规律的变化。根据现在国际上的统一命名，可把荧光诱导曲线（图 4）划分为：*O*(原点)→*I*(偏转)→*D*(小坑)或*pl*(台阶)→*P*(最高峰)→*S*(半稳态)→*M*(次峰)→*T*(终点)这几个相(phase)，有时在 *O* 和 *I* 之间还可辨认出一个拐点称为 J 相。其中 *O* →*P* 为荧光快速上升阶段(1～2 sec)，从 *P* →*T* 为荧光慢速下降（猝灭）阶段（可持续几分钟）。快速叶绿素荧光动力学曲线是指从 O 点到 P

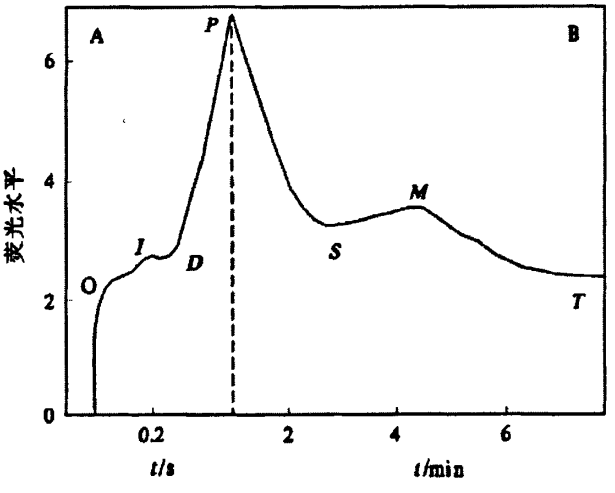


图 4 叶绿素荧光诱导动力学曲线

A:快相动力学　B:慢相动力学

点的荧光变化过程，主要反映 PSⅡ的原初光化学反应及光合机构的结构和状态等的变化[73,74,75,76]，而下降阶段主要反映光合碳代谢的变化，随着光合碳代谢速率的上升，荧光强度逐渐下降[73]。

3.1 快速叶绿素荧光诱导动力学曲线的测定及意义

荧光动力学曲线的测定可采用调制脉冲式和连续激发式两种荧光仪。由于时间分辨率及信噪比的限制，对于O-P上升过程中荧光变化信息量的获得，调制式荧光仪远不及连续激发式荧光仪。连续激发式荧光仪（PEA或Handy PEA）主要是通过短时间照光后荧光信号的瞬时变化反映暗反应活化前PSⅡ的光化学变化，它具有相当高的分辨率（初始记录速度为100 kHz），能够从O-P上升过程中捕捉到更多的荧光变化信息，如O-P变化过程中的另外两个拐点（J、I相）[77]。从照光后的10 μs到5 min内不同时间的荧光信号都能被Handy-PEA按时记录。对快速叶绿素荧光动力学曲线作图时，为更好地观察J相和I相，一般以对数时间为横坐标，结果得到O-J-I-P诱导曲线[77]。与调制式荧光仪相比，连续激发式荧光仪有以下优点：获得信息量大、操作简便快捷、测定易于多次重复，存储量大、仪器便于携带等[77]。

光合机构吸收的光能主要用于推动光化学反应，还有一部分能量以热和荧光的形式耗散掉。这三者之间是相互竞争关系，若电子传递受阻，荧光和热耗散就会上升。典型的快速叶绿素荧光诱导动力学曲线有O、J、I、P等相[74,75,76,78,79]。植物绿色器官经充分暗适应后，PSⅡ的电子受体(Q_A、Q_B及PQ等)均完全失去电子而被氧化[73,74]。这时PSⅡ受体侧接受电子的能力最大，PSⅡ反应中心可最大限度地接受光量子，即处于“完全开放”状态；此时样品受光后发射的荧光最小，处于初始相“O”[77]。当样品照以强光时，PSⅡ反应中心被激发后产生的电子经由Pheo传给Q_A，将其还原生成Q_A^-。此时，由于Q_B不能及时从Q_A^-接受电子将它氧化（$P_{680}^*\rightarrow Pheo^-$需要3 ps，$Pheo^-\rightarrow Q_A$需要250~300 ps，而$Q_A^-\rightarrow Q_B$需要100~200 μs[73]），造成$Q_A^-$的大量积累，荧光迅速上升至J相[74,75,76,80]。Q_B能够从Q_A^-接受电子形成Q_B^{2-}，导致Q_A和Pheo完全进入还原状态。此时PSⅡ反应中心完全关闭，不再接受光量子，荧光产量最高，出现P相。在电子从Q_A^-向Q_B传递过程中，出现的I相反映了PQ库的异质性，即快还原型PQ库先被完全还原（J-I），随后慢还原型PQ库才被还原（I-P）[77]。目前对于I-P荧光上升的过程还存在其它一些解释，

所以I点出现的原因需要进一步研究。

3.2 JIP-test的分析基础

植物快速荧光诱导曲线中包含着大量关于 PS II 反应中心原初光化学反应的信息，通过分析曲线荧光参数，可以知道在环境因子影响下植物光合机构的变化[77]。从动力学曲线上可得到大量的原始数据，为了能更好地反映动力学曲线和被测样品材料的关系，Strasser 和 Strasser[74](1995)以生物膜中能量流动理论为基础，通过计算能量流和能量比率来衡量在给定物理状态下样品材料内部变化，建立了高度简化的能量流动模型图（图 5）。依据能量流动模型[77]，天线色素（Chl）吸收的能量（ABS）其中一小部分主要以热能和荧光（F）的形式耗散掉，大部分则被反应中心（RC，在 JIP-test 中 RC 指有活性的反应中心）所捕获（TR），在反应中心激发能被转化为还原能，将 Q_A 还原成 Q_A^-，后者又可以被重新氧化，从而产生电子传递（ET），把传递的电子用于固定 CO_2 或其他途径。在此基础上发展起来的数据处理称为“JIP-测定”。JIP-测定为我们提供了大量被测样品材料的信息，如光合器官在不同环境条件下的结构、功能的变化[81,82,83,84,85]。

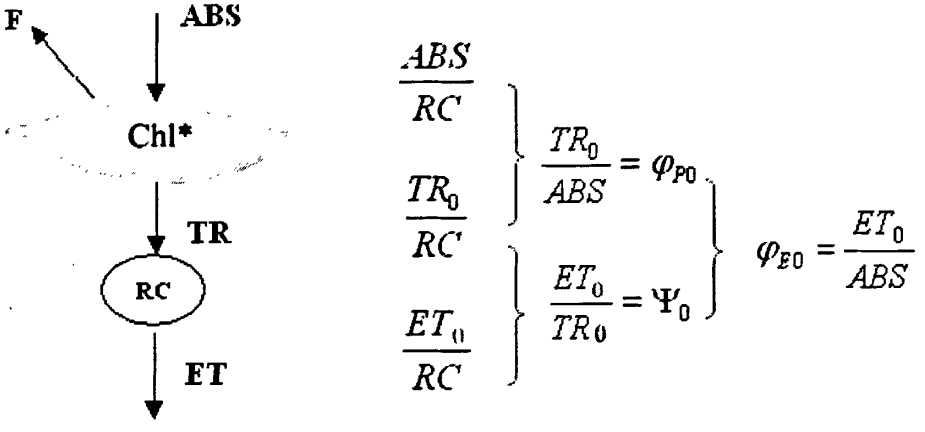


图5 高度简化的能量在光合器官中的流动模型

（根据Strasser and Strasser, 1995绘制）

Fig 5 highly simplified scheme for the energy cascade from light absorption to electron transport (adapted from Strasser and Strasser 1995)

3.3 快速叶绿素荧光诱导动力学曲线在光合作用研究中的应用

大量文献表明，植物本身的生理变化如衰老，或者逆境胁迫如缺铁或锰饥饿、高温、低温、盐胁迫及干旱等都能够直接或间接地影响植物PS II 的功能[77]。当环境条件变化时，植物体内叶绿素荧光的变化可以在一定程度上反映环境因子对植物的影响[73,82,86]。通过分析不同环境条件下快速荧光诱导动力学曲线，可以深入了解此环境对植物光合机构（主要是PS II ）的影响以及光合机构对环境的适应机制。

4 研究目的和意义

随着全球沙漠化和盐碱化的不断加剧，耐盐植物在开发盐土资源和发展盐土农业领域具有重要的研究和应用意义。培育高效的耐盐经济作物是改良和利用盐碱地最经济、最有效的措施之一。因此，搞清盐生植物如何适应盐渍环境，以及盐胁迫下各种光保护机制的运转，有利于大面积种植抗盐品种的筛选，充分开发利用盐渍土地。

二色补血草(*Limonium bicolor* Bge. Kuntz)又名付氏矶松、草原干枝梅，是一种典型泌盐植物，具有较强的抗盐能力，能够生长在较强的盐碱地段，是碱化较严重地区的理想绿化植物。花期较长，有“自然干燥花”之称，可采回长期贮存观赏，还可以喷上各种颜色，作为插花应用，另外其植物有止血等药用功能，所以具有较高的园林应用和经济价值。

关于二色补血草的抗盐性及盐害机理，人们曾经做过较多的研究，但研究的重点多局限于其泌盐能力方面，我们实验室也曾做过相关方面的研究。与此同时，我们也从光合气体交换及植物对光能的利用方面做了一些初步的研究，发现高浓度NaCl处理后二色补血草的生长下降，光合速率降低，光下实际光化学效率φPS II 下降，但我们同时也发现能反映植物光系统光化学活性的指标Fv/Fm在盐处理下保持相对稳定，即对盐胁迫不敏感。但是，毕竟φPS II 的变化在很大程度上受到暗反应CO_2同化的影响，Fv/Fm反映的是暗适应后的PS II 的潜在光化学效率，而对于盐胁迫下PS II 光化学反应的每一个过程却反映不出。鉴于这一问题，我们决定综合利用多种技术来研究盐胁迫对植物的光合作用到底有无伤害，如果有伤害，伤害发生在光合作用的哪一步？如果没有伤害或对于光合作用中的某些部位（某一过程）没有伤害或伤害较轻，那么这一过程的保护机制又是什么？为了达到这一研究目的，我们采用了光合气体交换分析技术、调制式荧光技术、快

速叶绿素荧光技术和色素分析技术等，研究盐胁迫对二色补血草的光合气体交换、色素组分、叶黄素循环、叶绿素荧光动力学的影响。尤其是在快速荧光动力学实验中，为了研究二色补血草的PS II 在盐胁迫下的变化，我们设计了盐激实验，即通过直接施加400 mM NaCl来测定二色补血草PS II 的各项参数随时间的变化情况，通过对NaCl胁迫下二色补血草PS II 原初光化学反应影响的研究，分析其PS II 供体侧、受体侧及其反应中心在盐胁迫下的变化趋势，来研究二色补血草的PS II 到底是否在盐胁迫下受到伤害，以及其对盐胁迫是否存在着缓慢的盐适应过程。然后结合其它的实验结果，分析其在盐胁迫下的伤害机制或光保护机制。

材料与方法

1 材料和处理

1.1 实验材料的准备

二色补血草（*Limonium biolor*）种子经0.1% $HgCl_2$消毒10 min，用自来水充分冲洗后，均匀播种于装有洗净细沙的塑料盆中。出苗后浇以1/2 Hoagland营养液，培养室的昼夜温度为25±3 ℃ /15±3 ℃，光周期为15 h/9 h(光/暗)，光强约600±100 μmol/m^2·s，相对湿度为70%～80%。出苗约20天后幼苗长至4～5片真叶，进行移栽，每盆3棵。用完全Hoagland溶液浇灌，培养30多天后进行处理。

1.2 实验材料的处理

处理一：NaCl处理的预定浓度为0（CK）、100、200、400 mmol/L（NaCl溶液用完全Hoagland营养液配置），每个处理至少6个重复。为避免盐冲击效应，NaCl处理的浓度每12 h递增50 mmol/L，直至预定浓度。每天定时定量浇灌一次，浇灌量为细砂持水量的3倍，约2/3的溶液流出（交换以前的积余盐），以保持NaCl浓度恒定为预定浓度。处理15天后，测定各相关指标。

处理二：对照（CK）用完全Hoagland营养液培养，NaCl处理的材料直接用含有400 mmol/L NaCl的完全Hoagland溶液浇灌，各设15个重复，进行盐冲击实验。从处理的第1天开始，每天定时定量浇灌两次，连续7天测定快速叶绿素荧光诱导动力学曲线，连续7天测定时所用的叶片全部做好标记，保证为相同的叶片及部位。

2 实验方法

2.1 根系生理指标的测定

2.1.1 根系生长状况的分析

小心取出植株根系，剪去地上部分，将根部细沙轻轻洗去，放入盛满清水的根盘中，将根系理顺后扫描，用 WinRHIZO 软件进行根系分析。

2.1.2 根系鲜干重测定

小心取出根系，剪去地上部分，轻轻洗去根部细沙，用吸水纸吸干表面水分，称其鲜重；鲜根系放入 105 ℃ 的烘箱中杀青 15 min 后，80 ℃ 烘干至恒重，称其干重。

2.1.3 根系活力的测定

参考李合生根系活力测定方法[87]。称取根尖0.5 g放入10 ml烧杯中，加入0.4% TTC溶液和磷酸缓冲液等量混合液10 ml，将根完全浸没在溶液内，在37 ℃下暗保温2 h后，此后加入1 mol/L硫酸2 ml，以终止反应；同时做一空白实验，先加硫酸，再加根样品。把根取出吸干水分后与乙酸乙酯4 ml和少量石英砂一起在研钵内磨碎，以提取甲臜。红色提取液移入试管，并用少量乙酸乙酯把残渣洗涤3、4次，移入试管，最后加乙酸乙酯定容至10 ml，用分光光度计在波长485 nm下比色，以空白作参比，测出吸光值，根据标准曲线求出四氮唑还原量。单位根鲜重的四氮唑还原强度=四氮唑还原量/（根重×时间）[$\mu g \cdot g^{-1}FW \cdot h^{-1}$]。

2.2 光合特性的测定

2.2.1 单株植物净光合速率（Pn）、气孔导度（Gs）及胞间CO_2浓度（Ci）的测定及气孔限制值（Ls）的计算

采用CIRAS-2便携式光合作用测定系统（PP Systems, UK）进行测定。测定条件为光强1000 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$，RH 70%，温度25 ℃。

气孔限制值（Ls）按照Ls=1-Ci/Ca计算（Berry等1982）[88]。

2.2.2 NPQ及其三组分等叶绿素荧光参数的测定

采用英国Hansatech公司生产的FMS-2型便携调制式荧光仪测定。分别测定φPSⅡ、NPQ及其三组分。测定方法如下：

φPSⅡ，植物放于日光下适应至少一小时后，光合作用达到稳态，开启荧光仪得到稳态荧光Fs。这时再给一个饱和脉冲光（约为15000 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ PPFD，时间0.7 s）后关闭，得到荧光参数Fm'，于是可以计算作用光存在时PSⅡ的实际的量子效率φPSⅡ即 (Fm'-Fs)/Fm'。

NPQ及其三组分，参照Horton等的方法[89]：叶片充分暗适应后，用仪器先测得最大荧光Fm，再打开作用光(约为500 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ PPFD)，每隔2 min给一个饱和脉冲光(约为15000 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ PPFD，时间0.7 s)测定fm'，测6次后关闭作用光，作用光稳定下的fm'值为Fm'。在暗恢复条件下，同样是每隔2 min给一个饱和脉冲光来测定fm'的恢复值，共6次，暗恢复6 min的fm'值为α，12 min的fm'值为β。NPQ及其三组分按下列公式计算：NPQ=(Fm-Fm')/Fm'， qE=(α-Fm')/ Fm'， qT=(β-α)/ Fm'， qI=(Fm -β)/ Fm'。

2.2.3 放氧速率的测定

采用 Chlorolab-2 型液相氧电极（Hansatech, UK）测定。取完全展开叶片，避开大的叶脉剪取 1 cm^2，并将其剪成约 1 mm^2 的碎片，置于 2 ml $NaHCO_3$ 溶液 (0.1 mol/L)中进行数据测定。测定放氧速率时光强为 1000 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$，温度 25±3 °C。

2.3 叶片色素组分的测定

2.3.1 光谱测量

采用 Unispec-SC 光谱分析仪（PP Systems, USA）进行测定。光谱仪的光纤前端结合一个叶片夹。叶片夹使光纤与叶片表面成垂直方向 60°（水平方向 30°）。先将植物叶片暴露在强光下 30 min，使叶黄素组分完全氧化，取受光一致的叶片进行测定。测定条件为光强为 1200 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$，温度为 26 °C。由光谱仪内置光源供光。用反射率 99%的白色标准板（Spectration, Labsphere, North Dutton, NH, USA）的反射除叶片的反射，得叶片的反射率。叶片的叶绿素含量是用参数 mSR_{705} 来估计的[90]，也可以利用相关公式估计类胡萝卜素含量和花青素含量。

mSR_{705}＝（R_{750}-R_{445}）/（R_{705}-R_{445}）

类胡萝卜素含量＝R_{800}（1/R_{520}-1/R_{700}）

花青素含量＝R_{800}（1/R_{550}-1/R_{700}）

2.3.2 叶黄素脱环化程度（DPS）的测定

参考赵世杰等[91]的方法。用内径为 1 cm 打孔器取叶圆片 15 个，放入研钵中，加入 3.5 ml 无水丙酮、少许石英砂和 $CaCO_3$，弱光和低温下研磨，匀浆后于 0-4 °C 下离心 10000 rpm×10 min，上清液用高效液相色谱测定，分析叶黄素循环组分。

叶黄素脱环化程度（DPS）＝（A+Z）/（V+A+Z）

2.4 活性氧清除酶活性的测定

2.4.1 超氧物歧化酶（SOD）活性测定

根据李合生法[87]，稍作修改。取叶片 0.5 g 剪碎放入预冷的研钵中，加入 5 ml 预冷的 50 mmol/L 磷酸缓冲液（pH 7.0）于冰上研磨成浆，在 4 °C 下，13000 rpm 离心 20 min，上清液即为酶提液。在 4 ml 反应体系中，取反应介质 3.9 ml（含有 13 mmol/L 蛋氨酸、77.12 μmol/L 硝基四唑蓝、0.1 mmol/L EDTA-Na_2、0.05 mol/L pH 7.8 的磷酸缓冲液），80.2 μmol/L 核黄素 0.1 ml，酶液 50 μl（有一支管

不加酶液，以 50 mmol/L pH 7.0 磷酸缓冲液代替酶液作为 CK)。混匀后，从加酶液的2支管中任取一支作为空白避光保存，其余的在4000 lux光照下反应20 min。在 560 nm 下测定各管 OD 值，结果以 $U \cdot g^{-1}$ FW 表示。酶活性的计算如下：

SOD 活性＝［$(OD_{MAX}-OD)\times V$］/［$0.5\times OD_{MAX}\times W\times V_t$］

其中 OD_{MAX} 为对照管的吸光度，OD 为照光样品管的吸光度，V 为样品液总体积，Vt 为测定时样品用量，W 为样品鲜重。

2.4.2 过氧化氢酶（CAT）活性测定

参考 Rao[92]和沈文飚[93]的方法，稍作修改。酶液的提取同 SOD 活性测定。测定时 3 ml 反应体系中含有 50 mmol/L 磷酸缓冲液（pH7.8）和 10 μl 30% H_2O_2，加入 100 μl 酶液启动反应，以不加 H_2O_2 为 CK，每隔 1 min 测定 240 nm 处 OD 值的变化，结果用 $A_{240} \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$FW 表示。

2.5 快速叶绿素荧光诱导动力学测定

用Handy-PEA连续激发式荧光仪（Hansatech, UK）测量快速叶绿素荧光诱导动力学曲线（O-J-I-P荧光诱导曲线）。Handy-PEA饱和脉冲光由三个发光二极管提供。叶片在测定前先暗适应30 min，然后暴露在饱和脉冲光（2500 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ PPFD）下1 s，用Handy-PEA测量O-J-I-P荧光诱导曲线。

2.6 JIP-test 分析

用JIP-test分析获得的O-J-I-P荧光诱导曲线[74,75,76]。JIP-test分析需要用到：20 μs时荧光（O相，Fo）、300 μs时荧光（K相）、2 ms时荧光（J相）、30 ms时荧光（I相）和最大荧光（P相，Fm）。

PS II 最大光化学效率（Fv/Fm, φ_{Po}）＝（1－Fo/Fm）。

捕获的激子将电子传递到电子传递链中Q_A^-下游的其它电子受体的概率（Ψo）＝1－V_J。

吸收的光量子将电子传递到电子传递链中Q_A^-下游的其它电子受体的概率（φ_{Eo}）＝(1－Fo/Fm)·Ψo。

用于热耗散的量子比率（φ_{Do}）＝1－φ_{Po}＝Fo/Fm

以吸收光能为基础的性能指数(PI_{ABS})＝$(RC/ABS)\cdot[\varphi_{Po}/(1-\varphi_{Po})]\cdot[\Psi o/(1-\Psi o)]$，$RC/ABS=V_J\cdot\varphi_{Po}/Mo$。

以吸收光能为基础的推动力（DF_{ABS}）＝log（PI_{ABS}）。

在J相和I相的相对可变荧光（V_J,V_I）=(Ft-Fo) / (Fm-Fo)，其中t=2 ms, 30 ms。

可变荧光Fv占F_J-Fo振幅的比例（W）=(Ft-Fo) / (F_J-Fo)

标准化后的O-J-I-P荧光诱导曲线、直线F=Fm及y轴之间的面积（Sm）=Area / (Fm-Fo)，反映了从2 ms到t_{Fm}时间内关闭所有反应中心需要的能量[75,76]。

从2 ms到t_{Fm}时间内Q_A氧化还原的次数（N）=Sm ·Mo ·(1/V_J), 其中（Mo）=(F_K-Fo) / (Fm-Fo)。

单位面积反应中心的密度（RC/CS）=φ_{Po}· (V_J/Mo) · (ABS/CS)。

单位反应中心的比活性参数：吸收的能量（ABS/RC）=Mo · (1/V_J) · (1/φ_{Po})，捕获的光能（TRo/RC）=Mo · (1/V_J)，用于电子传递的能量（ETo/RC）=Mo (1/V_J) · Ψo，热耗散掉的能量（DIo/RC）=(ABS/RC)—(TRo/RC)。

3 数据处理

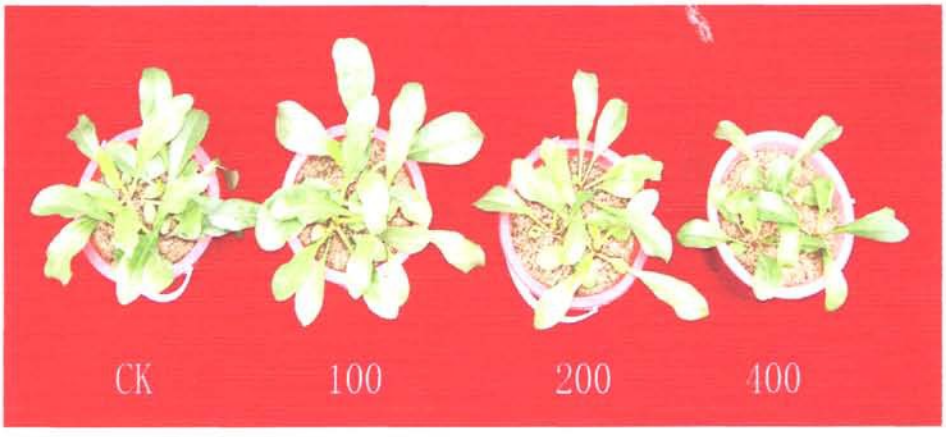
本实验的全部数据都采用SPSS 11.5 for Windows进行了t-检验或F-检验。

实验结果

1 NaCl 胁迫对二色补血草生长状况的影响

1.1 NaCl 对二色补血草地上部分生长的影响

由图版 1 可以看出，二色补血草在 100 mmol/L NaCl 处理下比 CK 长势好，但在 200 、400 mmol/L NaCl 处理下其生长逐步受到抑制，且盐度越高，受抑制程度越明显。



图版 1 不同 NaCl 处理对二色补血草生长状况的影响

Plate 1 Effect of NaCl treatments on growth of *Limonium bicolor*

同样由表 1 可以看出，二色补血草的干鲜重在 100mmol/L NaCl 下比 CK 明显增大，而在 200 和 400mmol/L NaCl 下逐渐变小，差异显著，在 400mmol/L NaCl 下鲜重和干重分别比 CK 下降了 53.8%和 43.9%。

表 1. NaCl 对二色补血草植株鲜重和干重的影响

Table 1. Effect of NaCl on the FW and DW of *Limonium biolor*. Data are means±SD (n=6)

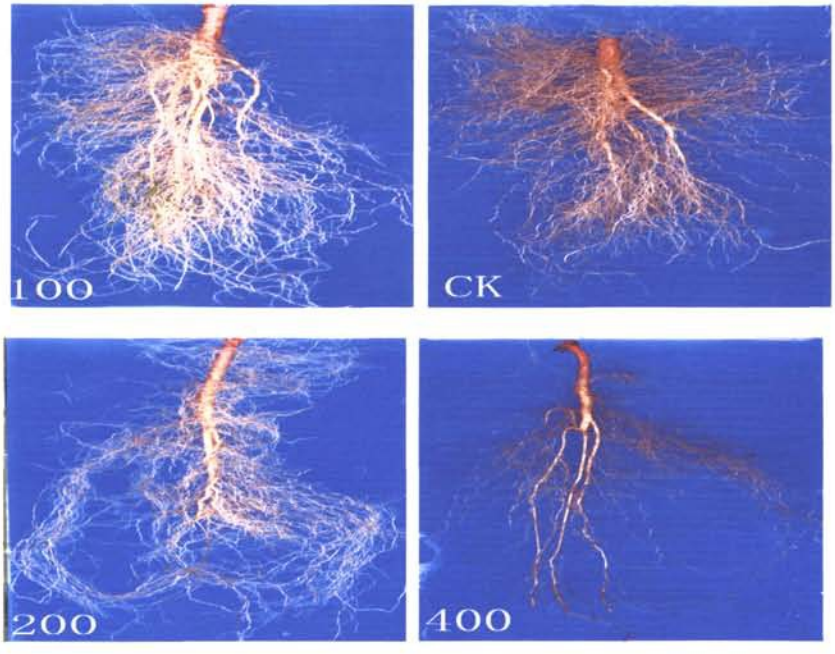
NaCl 浓度(mmol/L)	鲜重（g/plant）	干重（g/plant）
CK	11.33±2.42	1.12±0.18
100	14.87±2.26 *	1.56±0.17 *
200	9.45±1.38 *	1.03±0.15 *
400	5.23±0.92 * *	0.64±0.08 * *

注：表中与 CK 相比，“ * ”为 0.05 水平上的差异，“ * * ”为 0.01 水平上的差异，下同

1.2 NaCl 对二色补血草幼苗根系生长状况的影响

如图版 2，二色补血草的根系在 100 mmol/L NaCl 处理下比 CK 稍微好一些，之后随着处理盐浓度的升高，主根开始变细，侧根数量逐渐减少。由表 2 可以看出，随处理盐度的增加根系总长、根系表面积、总体积、平均直径和根尖数先增加后降低，在 100 mmol/L NaCl 处理时达到最大值。在 400 mmol/L NaCl 处理下，根系总长较 CK 下降显著（$P<0.05$），根系表面积、总体积、平均直径和根尖数均比 CK 下降极显著（$P<0.01$）。根尖数在 200 mmol/L NaCl 处理下较 CK 差异显著（$P<0.05$）。

由图 6、7 可见，随着 NaCl 处理浓度的增加，根系鲜重、干重先上升后下降，100 mmol/L NaCl 处理下达到最高值。在 400 mmol/L NaCl 处理时，根系鲜重与 CK 差异显著（$P<0.05$）；200、400 mmol/L NaCl 处理下，根系干重与 CK 差异极显著（$P<0.01$）。



图版 2 不同 NaCl 处理对二色补血草根系生长状况的影响

Plate 2 Effect of NaCl treatments on growth of root of *Limonium bicolor*

表 2. NaCl 对二色补血草根系生长的影响

Table 2. Effect of NaCl on root growth of *Limonium biolor*. Data are means±SD (n=6)

NaCl 浓度 (mmol/L)	总长度（cm）	表面积（cm^2）	平均直径（mm）	总体积（cm^3）	根尖数
CK	683±56	132±17	0.56±0.09	2.13±0.31	2311±151
100	698±36	136±8	0.61±0.06	2.33±0.24	2511±346
200	622±48	119±13	0.55±0.07	1.47±0.29	1680±290 *
400	546±44 *	59±17 * *	0.34±0.03 * *	0.68±0.10 * *	1464±354 * *

1.3 NaCl 对二色补血草根系活力的影响

从图 8 可以看出，NaCl 处理后二色补血草的根系活力先升高后降低，在 100 mmol/L NaCl 处理时达到最大值，且与 CK 差异极显著（$P<0.01$），之后随盐度的升高根系活力下降。在 400 mmol/L NaCl 处理时较 CK 下降显著（$P<0.05$）。

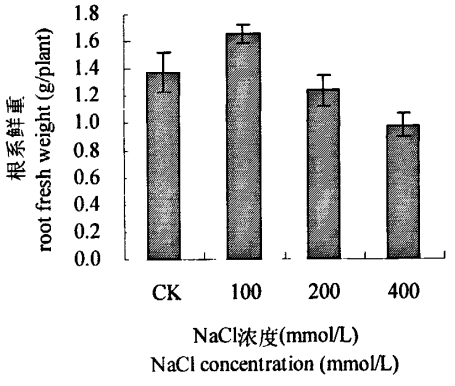


图6 不同处理对根系鲜重的影响
Fig6 Effect of salt treatment on the fresh weight of root of Limoninum bicolor. Data are means±SD (n=6)

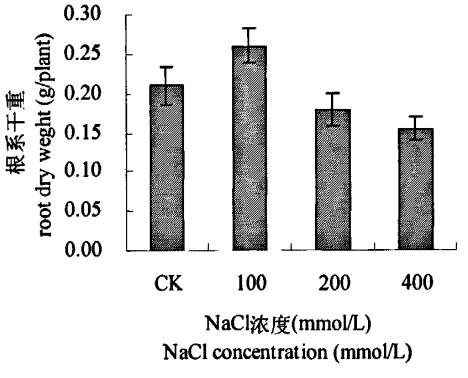


图7 不同处理对根系干重的影响
Fig7 Effect of salt treatment on the dry weight of root of Limoninum bicolor. Data are means±SD (n=6)

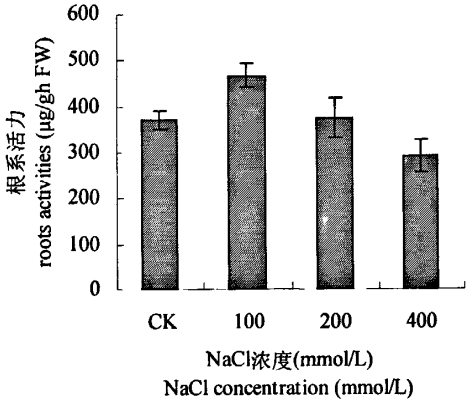


图8 不同处理对二色补血草根系活力的影响
Fig8 Effect of different treatments on the roots activities of Limoninum bicolor. Data are means±SD (n=6)

2 NaCl 胁迫对二色补血草光合特性的影响

2.1 NaCl 对二色补血草净光合速率（Pn）、气孔导度（Gs）、胞间 CO_2 浓度（Ci）和气孔限制值（Ls）的影响

如图 9-12，随着盐浓度的升高，Pn 和 Gs 先升高后下降，100 mmol/L NaCl 处理下两者达到最大值；Ci 逐渐下降，Ls 的变化与 Ci 相反，呈上升趋势。在 200、400 mmol/L NaCl 处理下，Pn 和 Gs 下降显著，且与 CK 差异显著（分别为 $P<0.05$，$P<0.01$）；与此同时，Ci 也显著下降，Ls 显著上升，均与 CK 差异极显著（$P<0.01$）。

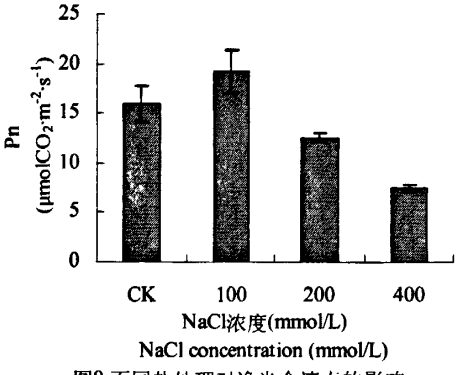


图9 不同盐处理对净光合速率的影响
Fig9 Effect of different treatments on the net photosynthetic rate (Pn) of Limonium bicolor. Data are means±SD (n=6)

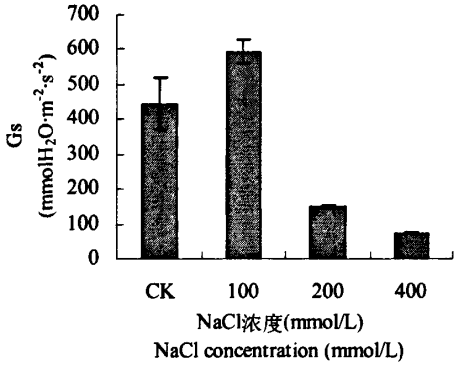


图10 不同盐处理对气孔导度的影响
Fig10 Effect of different treatments on the stomatal conductance (Gs) of Limonium bicolor. Data are means±SD (n=6)

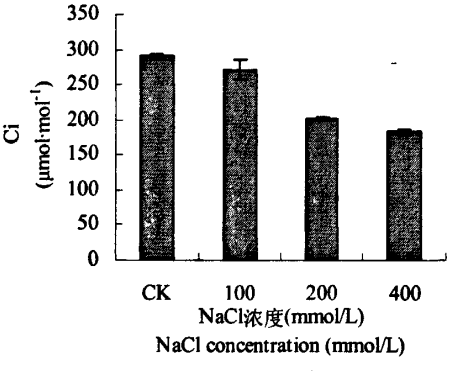


图11 不同盐处理对细胞间隙CO_2浓度的影响
Fig11 Effect of different treatments on the intercellular CO_2 concentration (Ci) of Limonium bicolor. Data are means±SD (n=6)

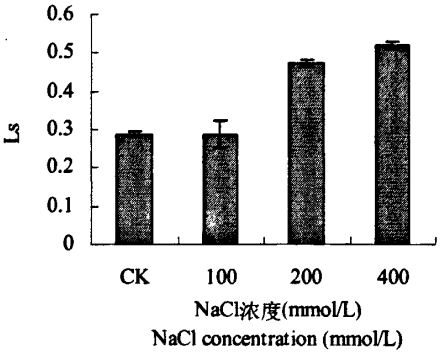


图12 不同盐处理对气孔限制值(Ls)的影响
Fig12 Effect of different treatments on the stomatal limitation (Ls) of Limonium bicolor. Data are means±SD (n=6)

2.2 NaCl 对二色补血草放氧速率的影响

利用氧电极法测定的结果表明，如图 13，放氧速率随盐浓度的增加先升高后下降，最高点出现在 100 mmol/L NaCl 处理时，但各盐度处理与 CK 差异不大。

2.3 NaCl 对二色补血草光下实际光化学效率（φPSⅡ）的影响

随着 NaCl 处理浓度的升高，φPSⅡ先升高后降低（图 14），最高点出现在 100 mmol/L NaCl 处理时，400 mmol/L NaCl 处理下较 CK 降低极显著（$P<0.01$）。

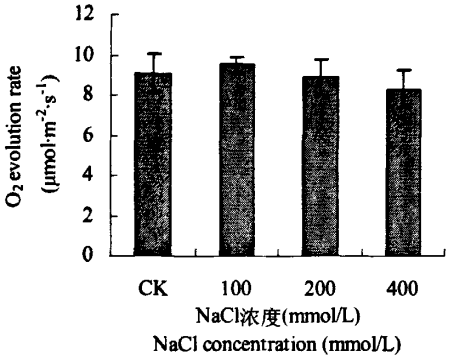


图13 不同盐处理对放氧速率的影响
Fig13 Effect of different concentrations on O_2 evolution rate of Limonium bicolor. Data are means±SD (n=9)

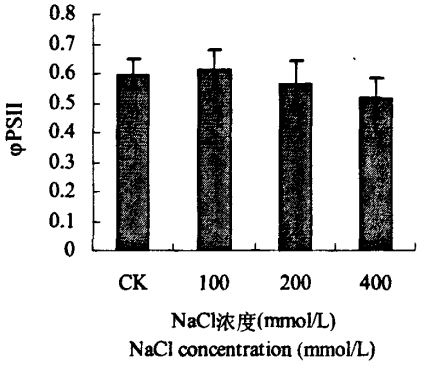


图14 不同盐处理对荧光参数φPSⅡ的影响
Fig14 Effect of different concentrations on φPSII of Limonium bicolor.Data are means±SD (n=20)

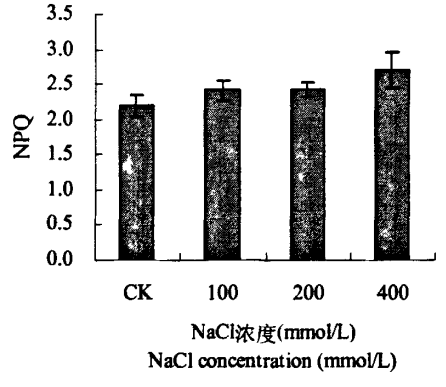


图15 不同盐处理对二色补血草NPQ的影响
Fig15 Effect of salt treatment on NPQ of Limonium bicolor. Data are means±SD (n=12)

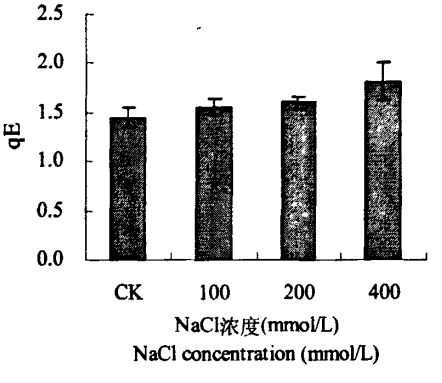


图16 不同盐处理对二色补血草qE的影响
Fig16 Effect of salt treatment on qE of Limonium bicolor. Data are means±SD (n=12)

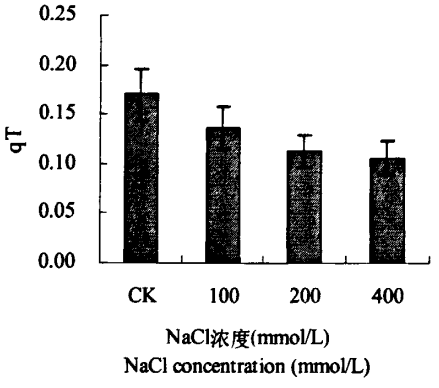


图17 不同盐处理对二色补血草qT的影响
Fig17 Effect of salt treatment on qT of Limonium bicolor. Data are means±SD (n=12)

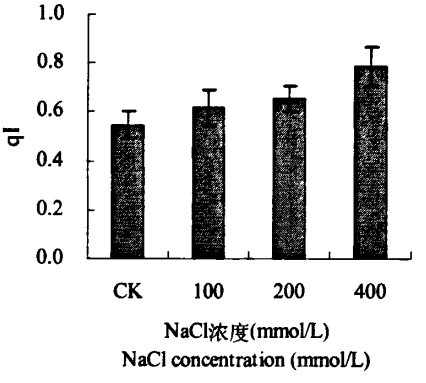


图18 不同盐处理对二色补血草qI的影响
Fig18 Effect of salt treatment on qI of Limonium bicolor. Data are means±SD(n=12)

3 NaCl 对二色补血草非光化学猝灭系数(NPQ)及其三组分的影响

随着盐浓度的增加，NPQ 逐渐上升，如图 15，200、400 mmol/L NaCl 处理与 CK 有显著差异（P<0.05）。随着盐浓度的增加，qE 也是逐渐升高，如图 16，在 200、400 mmol/L NaCl 处理下 qE 较 CK 明显上升（P<0.05）。

由图 17 可见，随着盐浓度的增加，qT 逐渐降低，100、200、400 mmol/L NaCl 处理下，qT 分别比 CK 降低了 19.9%、33.6%、37.7%。但不同盐处理下 qT 与 CK 差异均不显著（P>0.05）。

随着盐浓度的增加，qI 逐渐升高（图 18），400 mmol/L NaCl 处理较 CK 上升显著（P<0.05）。100、200、400 mmol/L NaCl 处理下，qI 分别比 CK 增加了 13.6%、20.1%、43.8%。

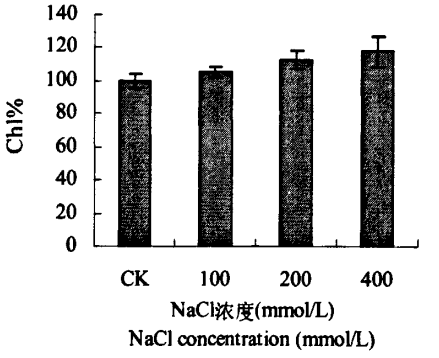


图19 不同处理对叶片叶绿素相对含量的影响
Fig19 Effect of different treatments on the relative content of chlorophyll(Chl) in leaves of Limonium bicolor. Data are means±SD (n=36)

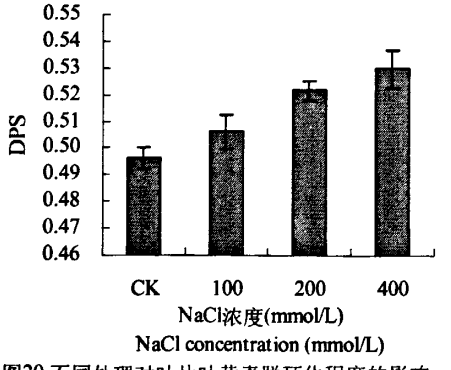


图20 不同处理对叶片叶黄素脱环化程度的影响
Fig20 Effect of different treatments on the de-epoxidation extent of xanthophyll cycle in leaves of Limonium bicolor. Data are means±SD (n=6)

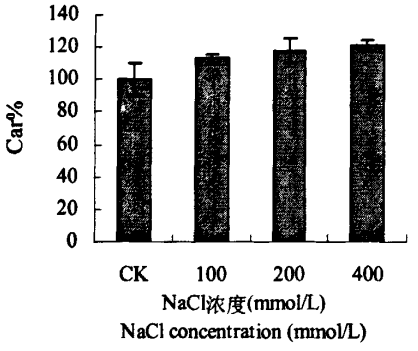


图21 不同处理对叶片类胡萝卜素相对含量的影响
Fig21 Effect of different treatments on the relative content of carotenoid (Car) in leaves of Limonium bicolor. Data are means±SD (n=36)

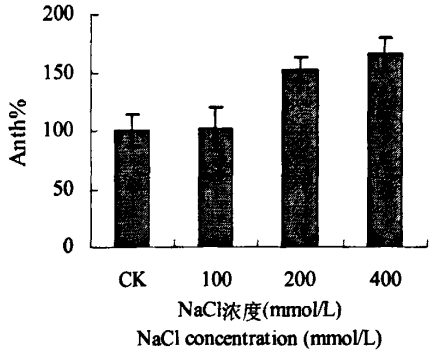


图22 不同盐处理对叶片花青素相对含量的影响
Fig22 Effect of different treatments on the relative content of anthocyanin(Anth) in leaves of Limonium bicolor. Data are means±SD (n=36)

4 NaCl 胁迫对二色补血草叶片色素组分的影响

4.1 NaCl 对二色补血草叶片叶绿素相对含量（Chl%）的影响

如图 19，随着盐浓度的升高，叶绿素相对含量逐渐升高，且在 200、400 mmol/L NaCl 处理下 Chl%较 CK 有显著的上升（$P<0.05$）。

4.2 NaCl 对二色补血草叶片叶黄素脱环化程度(DPS)的影响

由图 20 可见，随着处理盐浓度的升高，DPS 逐渐升高。在 200、400 mmol/L NaCl 处理下 DPS 较 CK 显著上升（$P<0.05$），在 400 mmol/L NaCl 处理下比 CK 增加了 8.2%。

4.3 NaCl 对二色补血草叶片类胡萝卜素相对含量(Car%)的影响

如图 21，类胡萝卜素相对含量随着盐度的增加而增加。在 100、200 mmol/L NaCl 处理下 Car%与 CK 差异显著（$P<0.05$）；在 400 mmol/L NaCl 处理下 Car%比 CK 增加了 21%，且差异极显著（$P<0.01$）。

4.4 NaCl 对二色补血草叶片花青素相对含量（Anth%）的影响

随着盐浓度的增加，花青素相对含量升高尤其显著。如图 22 所示，在 200 和 400 mmol/L NaCl 处理下，Anth%较 CK 分别上升了 52%和 66%，且差异极显著（$P<0.01$）。

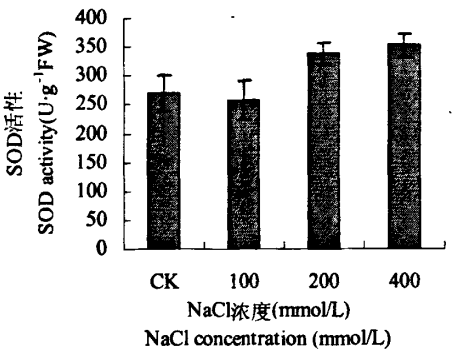


图23 不同盐处理对叶片SOD活性的影响
Fig23 Effect of different treatments on SOD activity in leaves of Limonium bicolor. Data are means±SD (n=6)

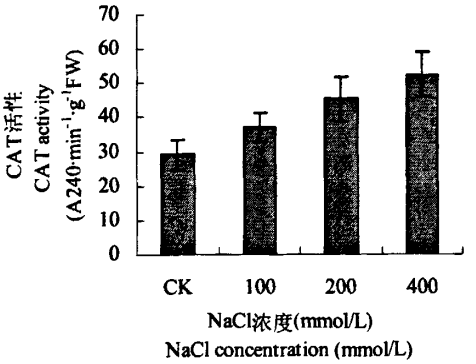


图24 不同盐处理对叶片CAT活性的影响
Fig24 Effect of different treatments on CAT activity in leaves of Limonium bicolor. Data are means±SD (n=6)

5 NaCl 胁迫对二色补血草叶片抗氧化酶活性的影响

5.1 NaCl 对二色补血草叶片 SOD 活性的影响

SOD 在生物体内专一清除 $O_2^{\cdot-}$，在活性氧清除系统中占有十分重要的位置。如图 23，随着盐浓度的升高，叶片 SOD 活性先降低后升高，最低点出现在 100 mmol/L NaCl 处理时，与 CK 相比没有显著变化；之后随盐度增加活性升高，200、400 mmol/L NaCl 处理较 CK 上升显著（$P<0.05$）。

5.2 NaCl 对二色补血草叶片 CAT 活性的影响

CAT 能直接分解 H_2O_2，普遍存在于生物细胞中，是抗氧化系统的主要组分之一。如图 24，叶片 CAT 活性随着盐浓度的增加而上升。在 200、400 mmol/L NaCl 处理下，CAT 活性较 CK 明显上升（分别为 $P<0.05$，$P<0.01$）。

6 NaCl 胁迫对二色补血草 PSⅡ光化学特性的影响

6.1 NaCl 对二色补血草叶片快速荧光诱导曲线的影响

当快速叶绿素荧光诱导曲线以对数时间坐标轴绘制时，荧光诱导呈多相上升，结果得到 O-J-I-P 诱导曲线。如图 25.A，400 mmol/L NaCl 处理下，二色补血草的 J、I、P 相都有所下降。

6.2 盐冲击对二色补血草 PSⅡ供体侧的影响

W_K 是 K 相可变荧光占（F_J-F_O）振幅的比例，可用来分析供体侧的变化。二色补血草受到盐冲击后，W_K（Fig 25.B）较 CK 显著下降（$P<0.05$）。

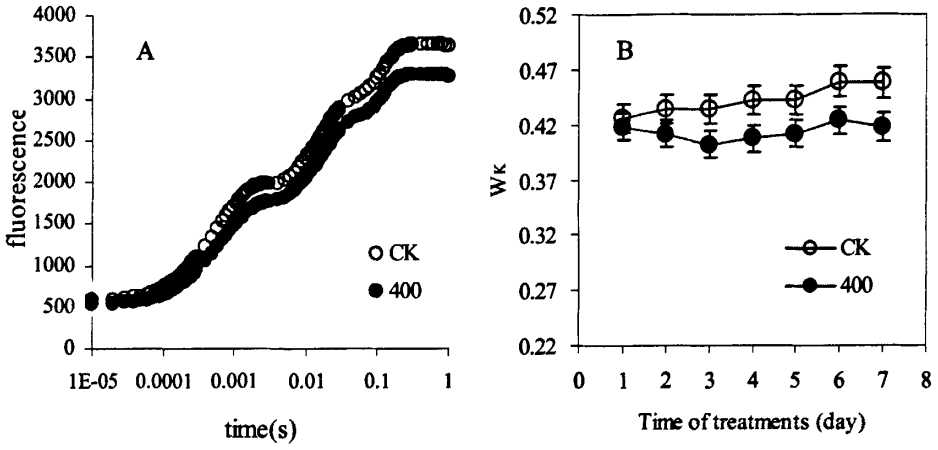


图 25. 400 mmol/L NaCl 处理下快速荧光诱导曲线（A）及 K 相可变荧光占（F_J-F_O）振幅的比例（W_K, B）的变化

Fig 25. Changes of chlorophyll a fluorescence transient (A) and the ratio of variable fluorescence F_K to the amplitude F_J –Fo (W_K, B) after treated with 400 mmol/L NaCl.

Data are means±SD (n=15)

6.3 盐冲击对二色补血草 PSⅡ受体侧的影响

Sm 反映了从 2 ms 到 t_{Fm} 时间内关闭所有反应中心需要的能量，即 PSⅡ反应中心受体侧 PQ 库的大小。400 mmol/L NaCl 处理下，Sm（Fig 26.A）较 CK 有所降低，尽管第 3 天较 CK 显著降低（$P<0.05$），但下降幅度并不大。

N 反映了从 2 ms 到 t_{Fm} 时间内 Q_A 被还原的次数。N（Fig 26.B）在 400 mmol/L NaCl 冲击处理时间内一直低于 CK，在 2～7 天内分别下降了 7.9%、12.7%、11.1%、10.8%、10.4%、11.3%，降低显著（$P<0.05$），且第 4 天处理降低极显著（$P<0.01$）。

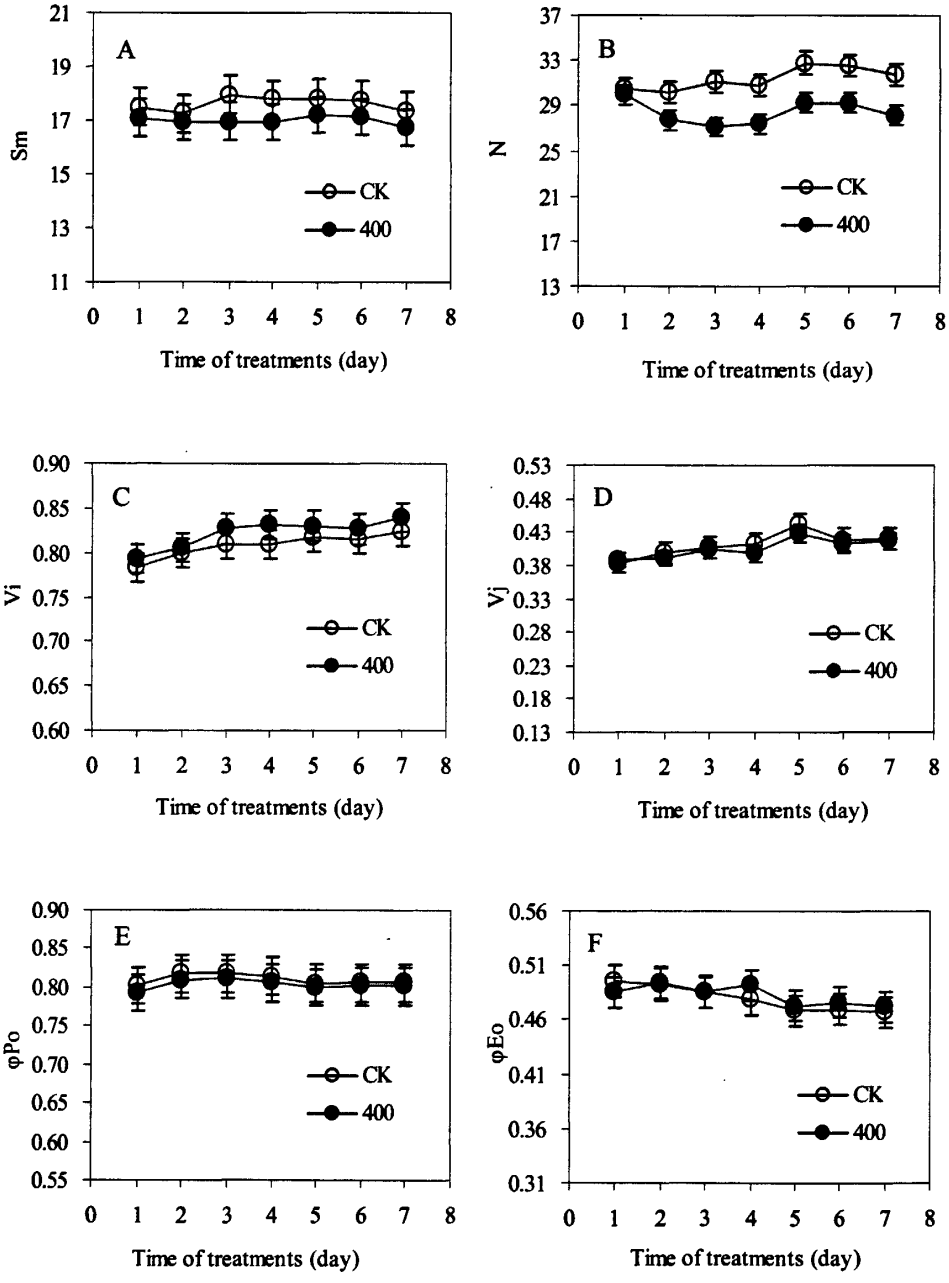
V_I（Fig 26.C）表示在 I 点的相对可变荧光，400 mmol/L NaCl 处理下从第 2 天起分别比 CK 增加了 0.6%、2.1%、2.7%、1.6%、1.4%、2.0%，且从第 3 天开始较 CK 升高显著（$P<0.05$）。

V_J 表示在 J 点的相对可变荧光，400 mmol/L NaCl 处理下，V_J（Fig 26.D）从第 2 天开始较 CK 略有降低，差异并不明显（$P>0.05$）。

φ_{Po}（Fig 26.E）反映了暗适应后的最大光化学效率，400 mmol/L NaCl 处理下较 CK 有所降低，只在第 2 天处理时与 CK 差异显著（$P<0.05$）。φ_{Eo} 表示用于电子传递的量子产额，Ψo 表示电子传递效率；φ_{Eo}（Fig 26.F）、Ψo（Fig 26.G）在盐冲击处理后均略高于 CK。φ_{Do}（Fig 26.H）表示用于热耗散的量子比率，400

mmol/L NaCl 处理下较 CK 有所升高，约升高了 5.6%~9.2%，与 CK 差异显著（$P<0.05$）。

Mo（Fig 27.A）反映了 Q_A 被还原的最大速率，从 400 mmol/L NaCl 处理开始，Mo 一直低于 CK，在 2~7 天内分别比 CK 降低了 8.0%、8.1%、10.6%、8.3%、9.2%、8.1%，处理第 2 天时较 CK 降低显著（$P<0.05$）。



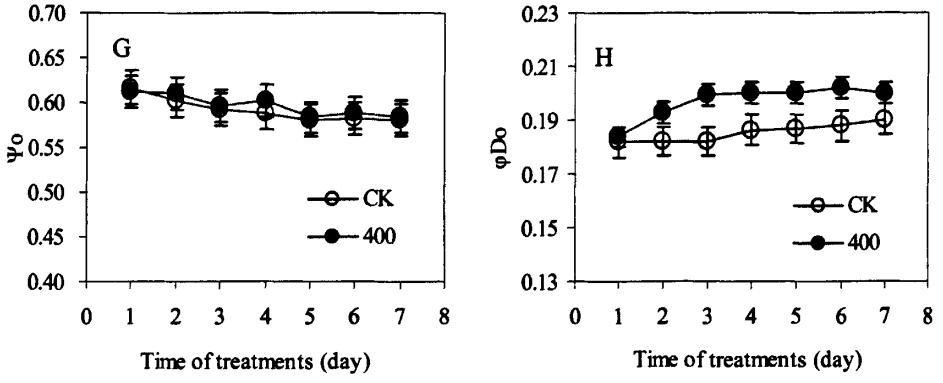


图26. 400 mmol/L NaCl处理下标准化后的在J-P相和直线F=F_M之间的面积（Sm, A），从2 ms到t_{Fm}时间内Q_A的氧化还原次数（N, B），I相相对可变荧光（V_I, C），J相相对可变荧光（V_J, D），PSⅡ最大量子效率（φ_{Po}, E），吸收的光量子将电子传递到电子传递链中Q_A^-下游的其它电子受体的概率（φ_{Eo}, F），捕获的激子将电子传递到电子传递链中Q_A^-下游的其它电子受体的概率（Ψo, G），用于热耗散的量子比率（φ_{Do}, H）的变化

Fig 26. Changes in the normalized complementary area corresponding to the J-P phase (Sm, A), turn over number of Q_A in the time span from J-step to P-step (N, B), relative variable fluorescence at I-step (V_I, C) and J-step (V_J, D), the maximum quantum yield of PS II (φ_{Po},E), probability that an absorbed photon will move an electron into the electron transport chain beyond Q_A^- (φ_{Eo},F), efficiency that a trapped exciton moves an electron into the electron transport chain beyond Q_A^- (Ψo,G), quantum ratio for heat dissipation (φ_{Do}, H) under the treatment with 400 mmol/L NaCl. Data are means±SD (n=15)

6.4 盐冲击对二色补血草 PSⅡ反应中心的影响

反应中心的密度用 RC/CSo 表示，400 mmol/L NaCl 处理下 RC/CSo（Fig 27.B），从处理第 2 天开始较 CK 即增加 6%左右（该数值比较稳定），并且第 4、6、7 天处理较 CK 升高极显著（P<0.01），其它 3 天处理升高显著（P<0.05）。

ABS/RC 表示单位反应中心吸收的光能，400 mmol/L NaCl 处理下 ABS/RC（Fig 27.C）较 CK 有所降低，处理第 2 天较 CK 降低显著（P<0.05）。

TRo/RC（Fig 27.D）表示单位反应中心捕获的用于还原 Q_A 的能量，400 mmol/L NaCl 处理下从第 2 天开始较 CK 下降了 6.2%、7.4%、7.7%、7.9%、8.1%、7.8%，且显著降低（P<0.05）。

ETo/RC（Fig 27.E）表示单位反应中心捕获的用于电子传递的能量，400 mmol/L NaCl 处理后较 CK 有所下降，从第 2 天开始降低极显著（P<0.01）。

DIo/RC（Fig 27.F）表示单位反应中心耗散掉的能量，在 400 mmol/L NaCl 处理下略有降低，在 2~7 天内分别较 CK 降低了 1.3%、3.9%、8.5%、8.2%、8.9%、7.6%。

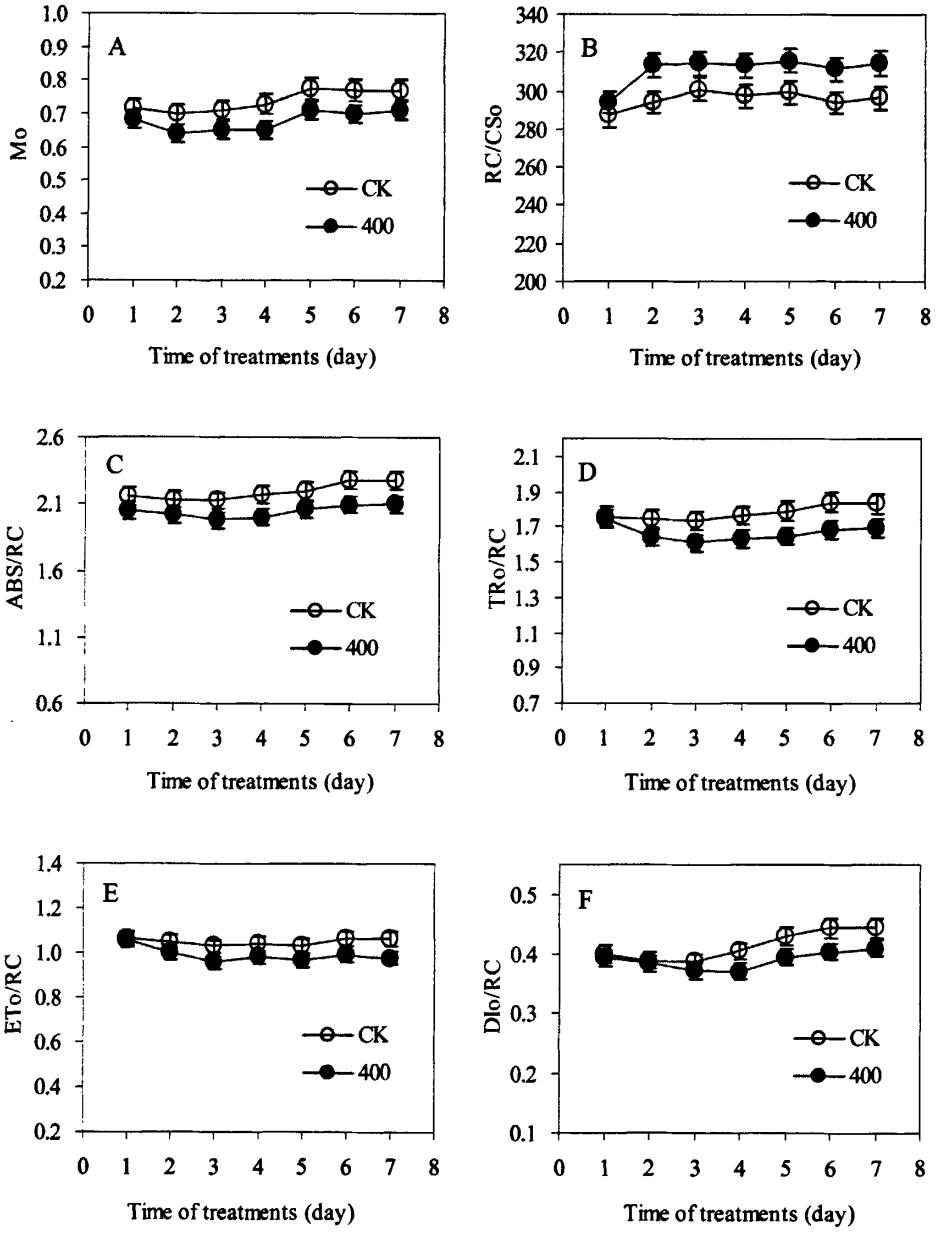


图 27. 400 mmol/L NaCl 处理下 O-J 过程中 Q_A 被还原的速率（Mo, A），单位面积内反应中心的密度（RC/CSo, B），单位反应中心吸收（ABS/RC, C），捕获（TRo/RC, D），用于电子传递（ETo/RC, E）及热耗散的能量（DIo/RC , F）的变化

Fig27. Changes in the slope at the origin of the fluorescence rise (Mo, A), the density of active

reaction centers per excited cross-section (RC/CSo, B), and in the specific energy fluxes per active reaction centers for absorption (ABS/RC,C), trapping (TRo/RC,D), electron transport (ETo/RC,E), heat dissipation (DIo/RC, F) under the treatment with 400 mmol/L NaCl.

Data are means±SD (n=15)

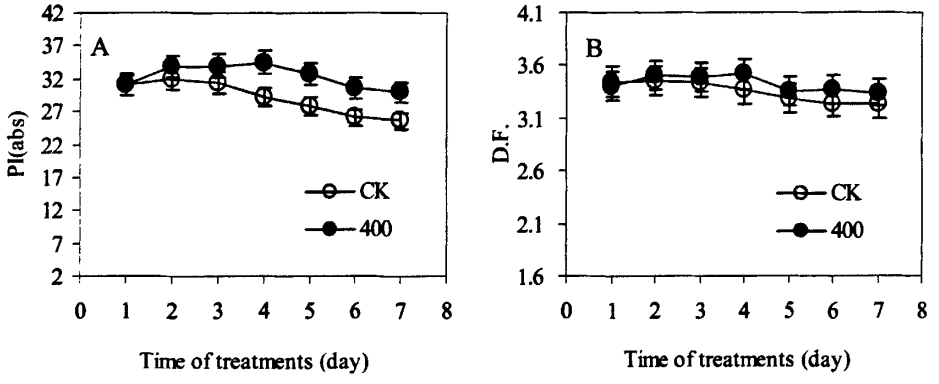


图 28. 400 mmol/L NaCl 处理下以吸收光能为基础的性能指数（PI_{ABS}, A）和推动力（D.F., B）的变化

Fig28 Changes in the performance index (PI_{ABS},A) and driving force (D.F.,B) on absorption basis under the treatment with 400 mmol/L NaCl. Data are means±SD (n=15)

PI_{ABS}是以吸收光能为基础的性能指数，在 400 mmol/L NaCl 处理下 PI_{ABS}（Fig 28.A）较 CK 均明显升高，在 2～7 天内分别比 CK 增加了 5.6%、8.3%、17.8%、17.6%、17.3%、17.2%，差异比较明显（<0.05%）。D.F.是以吸收光能为基础的推动力，D.F.（Fig 28.B）在盐处理后比 CK 也有所增加，分别增加了 1.7%、4.5%、2.3%、4.1%和 3.6%（P<0.05）。

讨 论

1. NaCl 胁迫下二色补血草的生长和光合作用

二色补血草为一盐生植物，具有一定的耐盐能力，从实验结果可以看出其在 100 mmol/L NaCl 下生长要好于无盐对照，但在高盐度下生长逐渐下降（图版 1 和表 1）。除此，我们还研究了盐胁迫下根系的生长情况，因为根系生长和活力的维持对植物地上部分生长发育和产量形成有重要意义，等渗的干旱胁迫、盐胁迫及盐碱胁迫均能引起根系活力的变化[94]。根系活力泛指根系的吸收能力、合成能力、氧化能力和还原能力等，是一种较客观地反映根系生命活动的生理指标[94]。随着 NaCl 处理浓度的增加，二色补血草的根系活力呈现先升高后降低的趋势，最大值出现在 100 mmol/L NaCl 处理时，可以认为这是二色补血草对低浓度 NaCl 的适应性反映，在一定程度上促进了地上部分的生长。400 mmol/L NaCl 处理下，二色补血草的根系活力明显低于 CK，可知二色补血草为适应高盐胁迫，生理代谢减缓，根系活力随之降低，其生长自然受到抑制。

盐胁迫下，叶片叶绿素含量或上升或下降，均有相应的报道。这可能是因为不同植物的耐盐性与耐盐机制不同。事实上，叶绿素含量的高低对于植物的抗盐性并没有直接的相关性。对于二色补血草来说，高浓度 NaCl 处理下叶绿素相对含量较 CK 有显著的上升，可能是盐分促进了叶绿素的合成，也可能与 NaCl 胁迫限制了叶面积的增大有关，因为 NaCl 胁迫抑制了二色补血草叶片的扩展（图版 1）。

低浓度 NaCl 处理下二色补血草的净光合速率上升，高盐度下其净光合速率下降，说明 Pn 对于盐度是个比较敏感的生理指标，这从图 9 可以看出。但高盐度下引起光合速率下降的原因是什么？一般认为引起光合速率下降的因素有两种类型：气孔限制因素和非气孔限制因素，根据 Farquhar 和 Sharkey 的观点[95]，只有当胞间 CO_2 浓度（Ci）降低和气孔限制值（Ls）增大时，才可以作出光合速率降低主要是由气孔导度所引起的可靠结论。本实验中，在 200、400 mmol/L NaCl 处理下，与 CK 相比，Pn、Gs、Ci 显著下降，而 Ls 显著上升。从本实验结果可以得出（图 9～12），较高盐浓度下，光合速率的降低与气孔限制因素密切相关。为了进一步验证这一结论，本实验又采用了氧电极法来测定液态环境下二色补血

草的光合放氧速率（图 13），以在撇开气孔限制因素的条件下测定植物的光合速率，测得的结果是放氧速率在不同盐度下与 CK 差异均不显著，这就进一步证明在 NaCl 处理下，气孔限制因素是二色补血草光合速率降低的重要原因。

2．NaCl 胁迫下二色补血草的光抑制与光破坏

在逆境胁迫下，由于植物的光合速率下降，从而导致植物吸收的光能不能被完全利用，过剩的光能很容易引起光抑制，严重时会发生光破坏。贾虎森[58]提出由于 φPS II 能够反映过剩光能非光化学耗散导致的光能转化效率的降低，用其作为判定光抑制的标准较 Fv/Fm 更为合理。表观光合量子效率（AQY）也是判断光抑制的重要特征。周俊山[96]发现，二色补血草 AQY 在 200、400 mmol/L NaCl 处理下与 CK 相比明显降低，说明光抑制的存在。本实验中，φPS II 随着处理盐度的增加先升高后降低，最大值出现在 100 mmol/L NaCl 处理时，在 400 mmol/L NaCl 处理下较 CK 降低极显著（图 14）。可以说明：随着 NaCl 浓度的升高，二色补血草叶片发生光抑制且逐渐增强；但周俊山实验和本实验也都发现其 PS II 的最大光化学效率 φPo 在高盐处理下并没有显著变化，这说明二色补血草的反应中心在盐胁迫下相对稳定，并未受到破坏[96]。因此有学者认为，光抑制实质上不过是 PS II 临时可逆的下调；它常是一种保护机制，代表一种 PS II 的长期调控机制。

3．NaCl 胁迫下二色补血草 PS II 光化学特性的变化

植物处于逆境胁迫下其 PS II 会发生相应的变化，如高温、缺素等都会导致 PS II 反应中心活性的下降，但在盐胁迫下 PS II 复合体的情况，却一直存在着不同的实验结果的争议。为澄清这一问题，我们采用了调制式荧光技术和快速荧光动力学技术对盐胁迫下二色补血草的 PS II 进行实验。

3.1 二色补血草 PS II 供体侧的变化

一些研究表明，在高温、干旱、缺铁等胁迫条件下，照光大约 300 μs 时会出现 K 相，这是由放氧复合体（OEC）受到伤害所引起的。本实验中，快速荧光诱导曲线并未出现 K 相，说明 400 mmol/L NaCl 处理对二色补血草从原初电子供体到 PS II 的次级电子供体的电子传递的影响很小。

W_K 是 K 点相对荧光与 J 点相对荧光之比，即 K 相可变荧光占（F_J-F_O）振幅的比例，可用来分析供体侧的变化。W_K 升高，表明 PS II 的供体侧（主要是

OEC）受到损害。400 mmol/L NaCl 处理下，W_K 并未升高，较 CK 反而有所下降，表明二色补血草 PS II 的供体侧并未受到盐胁迫伤害。

3.2 二色补血草 PS II 受体侧的变化

Sm反映了从2 ms到t_{Fm}时间内使Q_A完全被还原所需要的能量，即Q_A下游电子受体库的大小，从Q_A^-传递走的电子比例越低，荧光信号到达Fm所需的时间就越短，Sm就越小[77]。N反映了从2 ms到t_{Fm}时间内Q_A的氧化还原次数，若N下降则表明Q_A传递电子能力下降，反应中心的开放程度下降。Sm和N相对较低，表明从Q_A^-传递走的电子较少，即PS II 受体侧的电子传递能力相对较低。J相反映了照光2 ms时Q_A^-的第一次瞬时最大积累，也就是此时有活性反应中心的关闭程度；I相反映了30 ms时Q_A^-的瞬时最大积累[74,80]。M_O反映了Q_A被还原的最大速率，即O-J过程中Q_A被还原的速率[74,75,76]，它与反应中心色素、捕光色素和Q_A所处的状态有关。

400 mmol/L NaCl 处理下，相对于 CK，标准化后的在 J-P 相和直线 $F=F_M$ 之间的面积（Sm）有所降低，从 2 ms 到 t_{Fm} 时间内 Q_A 的氧化还原次数（N）显著降低，J 相相对可变荧光（V_J）略有降低，I 相相对可变荧光（V_I）从第 3 天开始升高显著（$P<0.05$），Q_A 被还原的最大速率（M_O）下降。可见，400 mmol/L NaCl 冲击下，二色补血草 PS II 受体侧的传递体减少，Q_A 的还原次数和速率也下降，以致于叶片从 Q_A^-传递走的电子有所减少，同时 Q_A^-的积累相对增加，此时快速荧光诱导曲线从 O 点到 J 点的上升速度加快，也说明了 400 mmol/L NaCl 胁迫阻碍了 Q_A^-往下的电子传递。这些结果表明：400 mmol/L NaCl 处理下二色补血草 PS II 受体侧的电子传递能力相对 CK 较低。

400 mmol/L NaCl 处理下，暗适应后的最大光化学效率（φ_{Po}）比 CK 略有降低，但差异并不显著，与调制式荧光仪的参数 F_V/F_M 的变化相一致。Ψo 表示电子传递效率，反映了 2 ms 时有活性的反应中心的开放程度，即捕获的激子将电子传递到电子传递链中 Q_A^-下游的其它电子受体的概率。φ_{Eo} 反映了反应中心吸收的光能用于电子传递的量子产额，即吸收的光量子将电子传递到电子传递链中 Q_A^-下游的其它电子受体的概率。φ_{Do} 表示用于热耗散的量子比率。φ_{Eo}、Ψo 在 400 mmol/L NaCl 处理下较 CK 变化不大，但 φ_{Do} 较 CK 明显升高，表明盐胁迫下热耗散增加，这与 NPQ 的实验结果是一致的。

3.3 二色补血草 PSⅡ反应中心的变化

400 mmol/L NaCl处理下，与CK相比，单位反应中心吸收的光能（ABS/RC）有所降低，单位反应中心捕获的用于还原Q_A的能量（TRo/RC）下降显著，以及用于电子传递的能量（ETo/RC）下降极显著。此时，用于热耗散的能量（DIo/RC）在ABS/RC中的比例略有升高，这说明单位反应中心的热耗散可能相对增加了。在叶片单位横截面积上，有活性的反应中心数量（RC/CSo）明显增多，这表明400 mmol/L NaCl处理下，虽然单位反应中心吸收的光能（ABS/RC）有所降低，但是单位面积内有活性的反应中心数量（RC/CSo）明显增多，从而使捕获的总光能不至于减少，以维持光合作用。

以吸收光能为基础的性能指数 PI_{ABS} 和以吸收光能为基础的推动力 D.F.包含了三个参数：RC/ABS、φ_{Po} 和 Ψo，这三个参数分别反映了 PSⅡ的原初光化学反应中光能的吸收（ABS）、激发能的捕获（TR）和电子传递（ET），所以 PI_{ABS} 和 D.F.可以更准确地综合反映出植物光合机构的状态。在 400 mmol/L NaCl 处理下，PI_{ABS} 和 D.F.起初与 CK 相比并没有显著变化，从第 4 天开始 PI_{ABS} 较 CK 升高 17.5%左右，同时 D.F.也有所升高。这说明 400 mmol/L NaCl 冲击对二色补血草 PSⅡ的原初光化学反应伤害不大，相反还有一定的促进作用，这一点对于研究二色补血草的抗盐性具有非常重要的意义。

φPSⅡ、NPQ 主要反映碳同化反应活化后 PSⅡ的光化学反应，φ_{Eo}、φ_{Do} 等快相参数主要反映 PSⅡ的原初光化学反应及光合机构的结构和状态等的变化。400 mmol/L NaCl 处理下，与 CK 相比，φPSⅡ下降了 13.3%，NPQ 上升了 22.9%；相应地，φ_{Eo}、φ_{Do} 最高分别增加 2.6%、9.2%。由此推测，NaCl 胁迫对二色补血草的影响更倾向于暗反应，而对原初光化学反应的伤害并不明显。

总之，在 400 mmol/L NaCl 盐激处理下，通过分析快速荧光诱导动力学各参数随时间的变化情况，可以看出二色补血草在受到盐激时，许多参数（如 φ_{Po}、Ψo、φ_{Eo}）相对于 CK 不仅没有太大的变化，反而从一开始就表现出较稳定的变化趋势，而且对 PSⅡ的原初光化学反应伤害也不大。另外我们也发现，二色补血草的 PSⅡ对 400 mmol/L NaCl 盐激基本没有表现出缓慢的适应过程。

4. NaCl 胁迫下二色补血草的光保护机制

在逆境条件下，由于过剩光能的比例增加，这样会很容易导致植物的光抑制

与光伤害，但植物也会采取不同的机制对过多的光能进行无害化处理，这就是光保护。一般光保护有三条途径：第一种方式是天线色素的热耗散，亦称为高能态热耗散，它是通过跨类囊体膜的 pH 梯度及叶黄素循环将过剩的光能变成热能散失掉，其最大特点是在光能尚未引起反应中心电荷分离之前就将能量处理掉，因此这种耗散方式是安全而高效的。第二种方式是反应中心的热耗散，即通过反应中心的可逆性失活，将活性反应中心转变为没有活性的反应中心，没有活性的反应中心成为热能耗散中心，通过形成围绕 PS II 的循环式电子传递将过剩光能消耗掉。事实上这种方式的热耗散已经造成了部分反应中心的伤害，使部分 PS II 复合体处于暂时或永久的失活状态，此时已发生了光伤害。第三种方式是活性氧的清除，即当上述两条防线都不足以将过剩激发能清除掉时，过剩激发能通过电子传递链会形成活性氧，植物通过活性氧清除系统将其清除，防止或减少活性氧对光系统的伤害。

4.1 NaCl 胁迫下非辐射性热耗散的光保护作用

从本实验结果（图 15）可以看出，在 NaCl 处理下二色补血草的热耗散 NPQ 明显升高，且 200、400 mmol/L NaCl 处理与 CK 有显著差异（$P<0.05$）。表明随着盐浓度的增加，光抑制现象加强，二色补血草的光系统通过提高非辐射性热耗散可以消耗 PS II 吸收的过多光能，对于保护 PS II 反应中心免受光抑制伤害起着非常重要的作用。

NPQ 的主要组分为 qE，是依赖跨类囊体膜质子梯度的热耗散，也就是上面所提到的第一条防线，它在二色补血草中占 NPQ 的 65%左右。qE 是非光化学猝灭的快相，可间接地反映类囊体膜的质子梯度状况[7,97]。本实验中，随着盐浓度的升高，qE 逐渐升高，其变化趋势与 NPQ 相同，表明依赖△pH 的能量耗散机制在逐渐增强，将过剩的能量以热的形式耗散掉。因此天线色素的热耗散在盐胁迫下二色补血草的光保护中占据了非常重要的地位。

光合机构的高效运转依赖于光能在 PS I 和 PS II 之间的均衡分配，状态转换就是保持两个光系统之间光能均衡分配的一种短期的快速调节方式。qT 是依赖状态 1 向状态 2 转换的热耗散。在本实验中 qT 不到 NPQ 的 10%，随着盐浓度的增加逐渐降低，但不同盐度处理下 qT 与 CK 差异均不显著（$P>0.05$），400 mmol/L NaCl 处理下 qT 比 CK 降低了 37.7%。这说明由于光抑制不断加剧，盐

度越高，qT 受抑制程度越明显，越不可能发生状态 1 向状态 2 的转换。也就是说，NaCl 处理下二色补血草中 qT 的保护机制受到抑制。

关于光抑制猝灭 qI，有三种假说，文献综述已有介绍。qI 是与光合作用的光抑制有关的热耗散，本实验中约占 NPQ 的 25%。qI 随着盐浓度的增加逐渐上升，与 DPS 的变化相一致，在 400 mmol/L NaCl 处理下达到显著水平（$P<0.05$）。这表明由于 PS II 光能利用率下降，其叶片发生光抑制，且随着盐度升高而增强，从而引起与光抑制有关的热耗散机制加强。qI 与 DPS 的变化一致，表明二色补血草中 qI 可能与叶黄素循环过程中生成的玉米黄质有关。有的研究表明，qI 在机制上部分相似于 qE，但有一些类型的 qI 并不完全依赖于类囊体腔 pH 的变化。

综上所述，低浓度 NaCl 对二色补血草光能利用的影响不大，高盐胁迫下，Pn 下降显著，光抑制现象加强，二色补血草通过增大非光化学耗散来消耗吸收的过多光能，以保护光合器官免受损伤。较高盐浓度下，依赖△pH 和与光抑制有关的能量耗散发挥的作用在加强，状态转换则受到抑制。

4.2 NaCl 胁迫下依赖叶黄素循环的能量耗散的光保护作用

叶黄素循环被认为在植物的抗光抑制中起到十分重要的作用[22,24]。叶黄素能够通过非辐射能量耗散过量的激发能从而猝灭 ^3Chl，也可以直接清除 $^1O_2$[36]。NPQ 主要与依赖于叶黄素循环的能量耗散有关[26]。本实验中，随着处理盐浓度的升高，DPS 逐渐升高，其变化趋势与 NPQ、qE 相一致，而且在较高盐分条件下均明显上升。表明二色补血草中依赖于叶黄素循环的能量耗散在盐胁迫下能起到有效的保护作用，原因可能有：其一 DPS 的升高表明玉米黄质（Z）和花药黄质（A）生成量的增加。毫无疑问，Z 的增加，能大幅度提高依赖于叶黄素循环的能量耗散。其二可能与盐胁迫引起的 pH 梯度有关。依赖于叶黄素循环的能量耗散除需要 Z 和 A 之外，还需要 pH 梯度[26,98]。较高盐度下，qE 的显著升高表明△pH 也在升高。所以，在二色补血草中，不断升高的△pH 是依赖于叶黄素循环的热耗散增加的前提，而后者对前者的热耗散起到“放大器”的作用。DPS 与 qE 的变化一致，可能 qE 的形成与玉米黄质的合成相关。其三可能与盐胁迫引起的类胡萝卜素含量增加有关。Car 相对含量随盐度升高一直在显著上升，到 400 mmol/L NaCl 处理时较 CK 升高极显著（$P<0.01$）。类胡萝卜素中包括一部分叶黄素循环的色素[99]，所以 Car 含量的增加可能意味着部分用于叶黄素循环的色素含量也

增加了。

热耗散的增加不可避免地导致二色补血草光化学能量转化效率的下降，但它在防御过剩光能对光合机构的破坏中具有积极的作用，是二色补血草主要的光保护机制之一。

4.3 NaCl 胁迫下活性氧清除系统的光保护作用

植物在代谢过程中会不断地产生活性氧，同时活性氧清除系统会将其清除，二者处于一个动态平衡中，但在逆境条件下活性氧的积累会增多，从而引起活性氧伤害。MDA 是膜脂过氧化的末端产物，其含量高低是判断膜脂过氧化程度的重要指标[100][101]，电解质渗漏率也是反映细胞膜受伤害程度的直接指标。周俊山[96]发现：随着 NaCl 浓度的增加，二色补血草的 MDA 和质膜透性逐渐增加，200、400 mmol/L NaCl 处理下较 CK 均显著升高。这说明：NaCl 胁迫加剧了二色补血草的活性氧伤害。

SOD、CAT 均为植物内源的自由基清除剂，属保护酶系统[102]。SOD 是植物体内清除活性氧系统的第一道防线，在 ROS 的清除系统中发挥着特别重要的作用，其主要功能是清除 $O_2^{\cdot-}$。CAT 在细胞中主要存在于过氧化体中，催化分解组织中的高浓度 H_2O_2，从而使 H_2O_2 维持在一个较低的水平。本实验中，200、400 mmol/L NaCl 处理下，SOD、CAT 活性较 CK 均明显上升，可能正是由于 NaCl 处理下保护酶活性增强或维持在较高水平，才使得二色补血草能够有效地清除 ROS，使 ROS 维持在较低水平从而防止对膜结构和功能的破坏。可见，较强的抗氧化能力是二色补血草较强耐盐性的重要原因之一。

非酶系统主要包括 AsA、GSH、Car 和 α-生育酚等。AsA 既可以直接清除 $^1O_2$、$O_2^{\cdot-}$和·OH 等活性氧物质，还参与 α-生育酚的再生，又可以参与 AsaPOD 反应和紫黄质的脱环化反应，在植物的抗光氧化中起到中心机制的作用。GSH 可以直接清除 $^1O_2$ 和·OH，也可以参与 α-生育酚和抗坏血酸的再生。鲁丽丽[71]认为，盐胁迫下二色补血草叶片 GSH、AsA 含量明显增加，说明盐处理可以激活二色补血草的非酶类自由基清除系统。因此，活性氧非酶系统含量的升高，是二色补血草适应盐渍环境不可忽视的原因之一。

4.4 NaCl 胁迫下类胡萝卜素和花青素可能的光保护作用

本实验中我们还发现：盐胁迫下二色补血草叶片中类胡萝卜素和花青素的相

对含量均有显著提高，这意味着二者对于二色补血草在盐胁迫下的光保护具有积极的意义。对于类胡萝卜素来说，它包括胡萝卜素、叶黄素类，是膜结合的抗氧化物质；提高其含量不仅能耗散掉天线上的过剩光能，还能够猝灭 ^3Chl 和 $^1O_2$，抑制膜脂过氧化，从而稳定膜结构。对于花青素来说，其含量增多一方面可以吸收光能（主要是兰紫光和紫外线），这样就减少了叶绿体色素对光能的吸收，对植物起到保护作用，另一方面，还可以清除自由基从而减轻逆境造成的伤害，有利于逆境下植物的生长发育。不过对于这一点，我们还需要进一步的研究。

总之，在高盐度下二色补血草主要通过热耗散及活性氧清除系统，有效地清除过剩光能，达到了对 PS II 保护的目的，使之在盐胁迫下保持较强的稳定性。

主要结论：

1. 在 100 mmol/L NaCl 处理下，二色补血草的根系活力达到最大值，可以认为这是二色补血草对低浓度 NaCl 的适应性反映，在一定程度上促进了地上部分的生长。较高盐分条件下，根系活力下降，其生长代谢随之显著降低。
2. NaCl 胁迫下，气孔限制因素是二色补血草光合速率降低的重要原因之一。
3. 400 mmol/L NaCl 冲击下，二色补血草 PS II 的供体侧很有可能未受到盐胁迫伤害，但 PS II 受体侧的电子传递能力相对较低。此时，以吸收光能为基础的性能指数（PI_{ABS}）和推动力（D.F.）反而高于 CK，表明 400 mmol/L NaCl 冲击下二色补血草 PS II 的原初光化学反应仍维持较高的稳定性。
4. 低浓度 NaCl 对二色补血草光能利用的影响不大，高盐胁迫下，Pn 下降显著，光抑制现象加强，二色补血草通过增大非光化学耗散来消耗吸收的过多光能，以保护光合器官免受损伤。较高盐浓度下，依赖△pH 和与光抑制有关的能量耗散发挥的作用在加强，状态转换则受到抑制。
5. 随着处理盐浓度的升高，叶黄素脱环化程度（DPS）逐渐升高，其变化趋势与 NPQ、qE 相一致，而且在较高盐分条件下均明显上升。表明依赖于叶黄素循环的能量耗散在盐胁迫下能起到有效的保护作用。
6. 在二色补血草光保护的过程中，活性氧清除系统起着相当重要的作用，它形成了盐胁迫下植物光保护的最后一道重要防线，对于二色补血草抗盐性的提高具有重要意义。
7. 盐胁迫下二色补血草叶片中类胡萝卜素和花青素的相对含量均有显著提高，这意味着二者对于二色补血草在盐胁迫下的光保护具有积极的意义。

参考文献

[1] 党瑞红. 海滨锦葵抗盐基础生理的研究. 山东师范大学硕士学位论文, 2007

[2] Ball R., Wild A. History of photoinhibition research. J. Photochem Photobiol. B: Biol. 1993, 20: 79

[3] Powles SB. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. Annu Rev Plant Physiol. 1984, 35: 15-44

[4] Schreiber U., Schliwa U., Bilger W. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. Photosynth Res, 1986, 10: 51

[5] 林世青, 许春辉, 张其德, 徐黎, 毛大璋, 匡廷云. 叶绿素荧光动力学在植物抗性生理、生态学和农业现代化中的应用. 植物学通报, 1992, 9(1): 1-16

[6] Maxwell K, Johnson G N. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. J. Exp. Bot, 2000, 51: 659-668

[7] Demmig-Adams B., Adams W W. Photoprotection and other responses of plant to high light stress. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Bio, 1992, 43: 599

[8] Osmond CB. What is photoinhibition? Some insights from comparison of shade and sun plants. In: Baker NR, Boyer JR. eds. 'Photoinhibition: molecular mechanisms to the field.' Oxford: Bios Scientific Publications, 1994, pp1-24

[9] Björkman O. Low temperature chlorophyll fluorescence in leaves and its relationship to photon yield of photosynthesis in photoinhibition. In Biggins J. eds. 'Progress in Photosynthesis Research. Vol. IV'. Dordercht: Martinus Nijihoff Publishers, Dordrecht Boston, Lancaster. 1987, pp123-144

[10] 郭连旺, 沈允钢. 高等植物光合机构避免强光破坏的保护机制. 植物生理学通讯. 1996, 32(1): 1-8

[11] Sims DA, Pearcy RW. Scaling sun and shade photosynthetic acclimation of Alocasia macrorrhuza (Araceae) to a transfer from low ti high light. American Journal of Botany, 1994, 79: 449-455

[12] Wentworth M, Murchie EH, Gray JE, Villegas D, Pastenes C, Pinto M, Horton P. Differential adaptation of two varieties of common bean to abiotic stress. Journal of Experimental Botany, 2006, 57:699-709

[13] Björkman O, Demmig-Adams B. Regulation of photosynthetic light energy capture, conversion, and dissipation in leaves of higher plants. In: Schulze E-D,

Caldwell MM (eds) Ecophysiology of Photosynthesis. Berlin: Springer-Verlag, 1994, pp17-47

[14] Wada M, Kagawa T, Sato Y. Chloroplast movement. Annu Rev Plant Biol, 2003, 54: 455-468

[15] Haupt W., Scheuerlein R. Chloroplast movement. Plant Cell Environ, 1990, 13: 595-614

[16] 许大全, 张玉忠, 张荣铣. 植物光合作用的光抑制. 植物生理学通讯. 1992, 28(4): 273-243

[17] Kagawa T., Sakai T., Suetsygu N., Oikawa K., Ishiguro S., Kata T., Tabata S., Okada K., Wada M. ArabidoPS I s nph1: blue light receptors that mediate both phototropism and chloroplast relocation. Science, 2001, 291: 2138-2141

[18] Jarillo JA., Gabrys H., Capel J., Alonso JM., Ecker JR., Cashmore AR. Phototropin-related NPL2 controls chloroplast relocation induced by blue light. Nature, 2001, 410: 952-954

[19] Kasahara M., Kagawa T., Oikawa K., Suetsugu N., Miyao M., Wada M. Chloroplast avoidance movement reduces photodamage in plants. Nature, 2002, 420: 829-832

[20] 沈允钢, 施教耐, 许大全. 动态光合作用. 科学出版社, 1998, pp143-145

[21] Deming-Adams B, Adams W W III, Baker D H, Logan B A, Bowling D R, Verhieven A S. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. Physiol Plant, 1996, 98: 253-264

[22] Niyogi K K. Photoprotection revisited: genetic and molecular approaches. Annu Rev Plant Phys, 1999, 50: 333-359

[23] 王强, 温晓刚, 张其德. 光合作用光抑制的研究进展. 植物学通报, 2003, 20(5): 539-548

[24] Müller P, Li X P, Niyogi K K. Non-photochemical quenching: a response to excess light energy. Plant Physiol, 2001, 125:1558-1566

[25] Quick W P, Stitt M. An examination of factors contributing to non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in barley leaves [J]. Biochim Biophys Axta, 1989, 977: 287-296

[26] Horton P., Ruban A V, Walters R G. Regulation of light harvesting in green plants. Annu Rev Plant Phys, 1996, 47: 655-684

[27] Gilmore A M. Mechanistic aspects of xanthophylls cycle-dependent

photoprotection in higher plant chloroplasts and leaves. Physiol Plant, 1997, 99: 197-209

[28] 许大全. 光合作用效率[M]. 第一版, 上海: 上海科学技术出版社; 2002

[29] Shen Y K, Chow W S, Park Y I, Anderson J M. Photoinactivation of photosystemII by cumulative exposure to short light pulses during the induction period of photosynthesis. Photosynth Res, 1996, 47: 51-59

[30] Bonaventura C, Myers J. Fluorescence and oxygen evolution form Chlorella pyrenoidosa. Biochim Biophys Acta, 1969, 189: 366–383

[31] 谭新星，许大全，沈允钢. 小麦叶片状态转换和光合作用的光抑制的关系. 科学通报, 1997, 42: 2208-2211

[32] Demming-Adams B, Adams W W III, Ebbert V, Logan B A. Ecophysiology of the xanthophyll cycle. In: Frank H A, Young A J, Britton G, Cogdell R J eds. The Photochemistry Carotenoids. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1999, 245-269

[33] 董高峰, 陈贻竹, 蒋跃明. 植物叶黄素循环与非辐射能量耗散. 植物生理学通讯, 1999, 35(2): 141-144

[34] Demmig B., Winter K., Kruger A., Czygan FC. Photoinhibition and zeaxanthin formationin intach leaves. Plant Physiol, 1987, 84: 218-224

[35] Ruban A V, Young A J, Pascal A A, Horton P. The effects of illumination on the xanthophyll composition of the photosystem II light harvesting complexes of spinach thylakoid membranes. Plant Physiol, 1994, 104: 227-234

[36] Foyer C H, Harbinson J. Relationships between antioxidant metabolism and carotenoids in the regulation of photosynthesis. In Frank H A, Young A J, Britton G, Cogdell R J, eds, The Photochemistry of Carotenoids. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1999, 305-325

[37] Verhoeven AS., Adams W W III, Demmig-Adams B., Croce R., Bassi R. Xanthophyll cycle pigment localization and dynamics during exposure to low temperatures and light stress in Vince major. Plant Physiol, 1999, 120: 727-737

[38] Bassi R., Pineau B., Dainese P., Marquadt J. Carotenoid-binding proteins of photosystem II. Europe J of Biochem, 1993, 212: 297-303

[39] Lee ALC., Thornber JP. Analysis of the pigment stoichiometry of pigment-protein complexes from barley (Hordeum vulgare). Plant Physiol, 1995, 107: 565-574

[40] Goss R., Richter M., Wild A. Pigment composition of PS II pigment protein

complexes purified by anion exchange chromatography: identification of xanthophyll cycle pigment binding proteins. J Plant Physiol, 1997, 151: 115-119

[41] Croce R., Breton J., Bassi R. Conformational changes induced by phosphorylation in the CP29 subunit of photosystem II. Biochemistry, 1996, 35: 11142-11148

[42] Li X P., Björkman O., Grossman A R. A pigment-binding protein essential for regulation of photosynthetic light harvesting. Nature, 2000, 403: 391-374

[43] Niyogi K K, Shih C, Chow W S, Pogson B J, DellaPenna D, Björkman O. Photoprotection in a zeaxanthin-and lutein-deficient double mutant of ArabidoPS Ⅰ s. Photosyn Res, 2001, 67: 139-145

[44] Havaux M, Niyogi K K. The violaxanthin cycle protects plants from photooxidative damage by more than one mechanism. Proc Nat Acad Sci USA, 1999, 96: 8762-8767

[45] 董高峰, 陈贻竹, 蒋跃明. 植物叶黄素循环与非辐射能量耗散. 植物生理学通讯, 1999, 35(2): 141-144

[46] Horton P, Ruban A V, Walters R G. Regulation of light harvesting in green plant indication by nonphotochemical quenching of chlorophyll fluorescence. Plant Physiol, 1994, 106: 415-420

[47] Demming-Adams B, Adams W W III. Xanthophyll cycle and light stress in nature: uniform response to excess direct sunlight among higher plant species. Planta, 1996, 198: 460-470

[48] 洪双松, 许大全. 小麦和大豆叶片荧光参数对强光响应的差异. 科学通报, 1997, 42: 753-756

[49] Neubauer C., Karry Y., Yamamoto HY. Mehler-peroxidase reaction mediates Zeaxanthin formation and Zeaxanthin-related fluorescence quenching in intact chloroplast. Plant Physiol. 1992, 99: 1354-1361

[50] Osmond CB., Grace SC. Perspectives on photoinhibition and photorespiration in the field: quintessential inefficiencies of the light and dark reactions of photosynthesis? J Exp Bot, 1995, 48: 1351-1362

[51] 陶宗娅, 邹琦. Mehler 反应在大豆叶片耗散过剩光能中的作用. 植物生理学报, 2001, 27(1): 66-72

[52] 叶济宇, 米华玲, 王颖君, 沈允钢. 菠菜类囊体中的作用光关闭后荧光短时上升. 科学通报, 1997, 42(17): 1867-1871

[53] Endo T, Shikanai T, Takabayashi A, Asada K, Sato F. The role of chloroplastic

NAD(P)H dehydrogenase in photoprotection. FEBS Lett, 1999, 457: 5-8

[54] Thomas D J, Thomas J, Youderian P A, Herbert S K. Photoinhibition and light-induced cyclic electron transport in *ndhB*- and *psaE*- mutants of synechocystis sp. PCC 6803. Plant Cell Physiol, 2001, 42: 803-812

[55] Heber U., Walker D. Concerning a dual function of coupled cyclic electron transport in leaves. Plant Physiol. 1992, 100: 1621-1626

[56] Krieger A., Moya I., Weis E. Energy-dependent quenching of chlorophyll a fluorescence: effect of pH on stationary fluorescence and picosecond-relaxation kinetics in thylakoid membranes and photosystem II preparations. Biochim Biophys Acta, 1992, 1102: 167-176

[57] Miyake C., Okamura M. Cyclic electron flow within PS II protects PS II from its photoinhibition in thylakoid membranes from Spinach chloroplasts. Plant Cell Physiol. 2003, 44(4): 457-463

[58] 贾虎森, 李德全, 韩亚琴. 叶绿体中的细胞色素 b-559. 植物学通报, 2001, 18(2): 158-162

[59] Thompson LK., Brudvig GW. Cytochrone b-559 may function to protect photosystem II from photoinhibition. Biochemistry, 1988, 27: 6653-6658

[60] Baber J., De LR. A functional model for the role of cytochrome b-559 in the protection against donor and acceptor side photoinhibition. Proc Natl Acad Sci USA, 1993, 90: 10942-10946

[61] 许大全. 光系统 II 反应中心的可逆失活及其生理意义. 植物生理学通讯, 1999, 35(4): 273-276

[62] Aro E-M., Virgon I., Andersson B. Photoinhibition of photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover. Biochim Biophys Acta, 1993, 1143: 113-134

[63] Melis A. Photosystem-II damage and repair cycle in chloroplasts: what modulates the rate of photodamage in vivo? Trends Plant Sci, 1999, 4: 130-135

[64] 管雪强. 干旱胁迫下光呼吸在葡萄光保护中的作用. 山东农业大学博士学位论文, 2004

[65] 魏爱丽, 王志敏. 高等植物 PS II 的光抑制与光破坏研究进展. 西北植物学报, 2004, 24(7): 1342-1347

[66] Jan M. Photoinactivation and photoprotection of photosystem II in nature [J]. Physiologia Plantarum, 1997, 100: 214-223

[67] Christa Critchley, A. Wendy Russell. Photoinhibition of Photosynthesis in vivo:

The role of protein turnover in photosystem II. Physiologia Plantarum, 1994, 92: 188-196

[68] XU ZH F(徐志防), LUO G H(罗广华), WANG A G(王爱国), et al. Photoinhibition of photosynthesis and the metaholism of active oxygen in photosynthetic organs[J]. Plant Physiology Communications(植物生理学通讯), 1999, 35(4): 325-331(inChinese)

[69] Horton P. Are grana necessary for regulation of light harvesting? Aust J Plant Physiol, 1999, 26: 659-699

[70] Anderson JM. Insights into the grana stacking of thylakoid membranes in vascular plants: a personal perspective. Aust J Plant Physiol, 1999, 26: 625-639

[71] 鲁丽丽. GSH 对 NaCl 胁迫下二色补血草盐害缓冲机理的研究. 山东师范大学硕士学位论文, 2006

[72] Wei Kang, Shamsi Imran Haider, Zhang Guo-ping. Synergistic interaction of NaCl and Cd on growth and photosynthetic parameters in soybean genotypes differing in salinity tolerance. Journal of Zhejiang University-Science B, 2007, 8: 266-271

[73] Krause GH, Weis E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1991, 42: 313–349

[74] Strasser BJ, Strasser RJ. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP test. In: Mathis P (eds). Photosynthesis: from Light to VBiosphere. Dordrecht: KAP Press, 1995, Vol 5: 977-980

[75] Strasser RJ, Srivastava A, Tsimilli-Michael M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: Yunus M, Pathre U, Mohanty P (eds). Probing Photosynthesis: Mechanism, Regulation and Adaptation. London: Taylor and Francis Press, 2000, chapter 25: 445-483

[76] Strasser RJ, Tsimill-Michael M, Srivastava. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: Papageorgiou G and Govindjee (eds). Advances in Photosynthesis and Respiration. Netherlands: KAP Press, 2004, chapter 12, 1-47

[77] 李鹏民, 高辉远, Reto J. Strasser. 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. 植物生理与分子生物学学报, 2005, 31(6): 559-566

[78] Strasser RJ, Govindjee. The Fo and the O-J-I-P fluorescence rise in higher plants and algae. In: Argyroudi-Akoyunoglou JH (eds). Regulation of Chloroplast Biogenesis. New York: Plenum Press, 1991, 423-436

[79] Strasser RJ, Govindjee. On the O-J-I-P fluorescence transients in leaves and D_1

mutants of *Chlamydomonas reinhardtii*. In: Murata N (eds). Research in Photosynthesis. Dordrecht: KAP Press, 1992, Vol 4: 29-32

[80] Govindjee. Sixty-three years since Kautsky: Chlorophyll a fluorescence. Australian J Plant Physiol, 1995, 22: 131-160

[81] Strivastava A, Strasser RJ. Stress and stress management of land plants during a regular day. J Plant Physiol, 1996, 148: 445-455

[82] Jiang CD Gao HY, Zou Q. Changes of donor and accepter side in photosystem II complex induced by iron deficiency in attached soybean and maize leaves. Photosynthetica, 2003, 41: 267-71

[83] Hermans C, Smeyers M, Rodriguez RM, Eyletters M, Strasser RJ, Delhaye JP. Quality assessment of urban trees: A comparative study of physiological characterization, airborne imaging and on site of fluorescence monitoring by the OJIP-test. J Plant Physiol, 2003, 160: 81-90

[84] Van Heerden PDR, Strasser RJ, Krüger GHJ. Reduction of dark chilling stress in N2-fixing soybean by nitrate as indicated by chlorophyll a fluorescence kinetics. Physiol Plant, 2004, 121: 239-249

[85] Van Heerden PDR, Tsimilli-Michael M, Krüger GHJ, Strasser RJ. Dark chilling effects on soybean genotypes during vegetative development: parallel studies of CO_2 assimilation, chlorophyll a fluorescence kinetics O-J-I-P and nitrogen fixation. Physiol Plant, 2003, 117: 476-491

[86] Maxwell K, Johnson GN (2000). Chlorophyll fluorescence—a practical guide. J Exp Bot, 2000, 51: 659-668

[87] 李合生. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社，2000

[88] Berry J A，Downton W J S. Environmental regulation of photosynthesis [A]，In Govindjee. (ed.) Photosynthesis Vol II[C]，New York：Academia Press，1982, 263-343

[89] Horton P., Hague A. Studies on the induction of chlorophyll fluorescence in isolated barley protoplasts. IV: Resolution of non-photochemical quenching. Biochimica et Biophysica Acta, 1998, 932: 107-115

[90] Sims DA and Gamon JA. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. Remote Sensing of Environment, 2002, 81: 337-354

[91] 赵世杰, 孟庆伟, 许长城等. 植物组织中叶黄素循环组分的高效液相色谱分析[J]. 植物生理学通讯, 1995, 31(6): 438-442

[92] Nakano Y, Kozi A. Hydrogen peroxide is scavenged by ascrorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts [J]. Plant Cell Physiol, 1981, 22: 867-880.

[93] 沈文飚, 叶茂炳, 徐朗莱等. 小麦旗叶自然衰老过程中清除活性氧能力的变化. 植物学报, 1997, 39 (7): 634-640

[94] 斯琴巴尔特, 吴红英. 不同逆境对玉米幼苗根系活力及硝酸还原酶活性的影响. 干旱地区农业研究, 2001, 67-70

[95] Farquhar G D, Sharkey T D. Stomatal conductance and photosynthesis[J]. Ann Rev Plant Physiol, 1982, 33 : 317-345

[96] 周俊山. NaCl 对二色补血草光合作用的影响. 山东师范大学硕士学位论文, 2007

[97] Demming-Adams B, Adams W W III. Photoprotection and other responses of plants to high light stress[J]. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol Biol, 1992, 43: 599-626

[98] Thiele A, Krause GH. Xanthophyll cycle and thermal energy dissipation in photosystem II: Relationship between zeaxathin formation, energy-dependent fluorescence quenching and photoinhibition. J Plant Physiol, 1994, 144: 324-332

[99] Demming-Adams B, Adams W W III. Capacity for energy dissipation in the pigment bed in leaves with different xanthophylls cycle pools. Aust J Plant Physiol, 1994, 21: 575-588

[100] Liang YC, Chen Q, Liu Q, et al. Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgareL.*)[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2003, 160: 1157-1164

[101] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants[J]. *Plant Physiol*, 1977, 59: 309-314

[102] 王宝山. 生物自由基与植物膜伤害[J]. 植物生理学通讯, 1988(2): 12-16

致 谢

时间总是不吝惜自己的脚步，三年的学习生活很快就过去了。回顾昨天，对于山师给予我的一切，无论是关爱还是善意的批评，我都会深深的感恩。

首先，我要感谢我的导师范海教授！三年来，导师不仅在我的学业上倾注了大量心血，而且在生活上也给予我无微不至的关怀。导师渊博的学识、严谨的治学态度、高尚的人格和平易近人的作风，为我树立了真正的师者风范。恩师的教诲和启迪将使我受益终生。

衷心感谢赵遵田教授、王宝山教授、宋杰副教授、陈敏副教授的关心和帮助！衷心感谢在准备实验工作中谢英渤老师的指导和鼓励！

在实验过程中周俊山师兄、党瑞红师姐、闫留华师姐、张艳师姐、赵勐师兄给予了很多帮助，还有张玉灿、宋开侠、李兆平、史功伟、高静、李亭亭、高奔、范运梁、韩琴琴、王琼、陈冠宜、高彬、刘金萍诸位学友的帮助，在此一并致以诚挚的谢意！感谢曹靖、宋成香诸位师妹在生活上给予我的关心！

最后，我要感谢我的至爱家人，是他们的理解、支持和无私关爱使我顺利完成学业！

在此，向所有在工作、学习和生活中关心和帮助过我的人们表示深深的感谢！

刘永慧

2009 年 3 月 26 日

攻读硕士学位期间发表的论文

1. 张艳, 林莺, 刘永慧, 范海. NaCl 对海滨锦葵活性氧清除能力的影响. 山东师范大学学报（自然科学版）, 2007, 22(4): 117-119.
2. 刘永慧, 高静, 李亭亭, 王琼, 范海. NaCl 对二色补血草气体交换及非辐射能量耗散的影响. 山东师范大学学报（自然科学版）, 2008, 23(2): 119-121.