

刘津, 翁海勇, 程致元, 等. 脉冲电场对金边龙舌兰光合电子传递链和释放负离子能力影响 [J]. 福建农业学报, 2024, 39 (7): 801–809.

LIU J, WENG H Y, CHENG Z Y, et al. Effects of Pulsed Electric Field on Photosynthetic Electron Transport and Negative Air Ion Releasing of *Agave americana* [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2024, 39 (7): 801–809.

脉冲电场对金边龙舌兰光合电子传递链和释放负离子能力影响

刘 津^{1,2}, 翁海勇³, 程致元¹, 吴仁烨^{1,2*}

(1. 福建农林大学农学院, 福建 福州 350002; 2. 农业农村部海峡两岸农业技术合作中心, 福建 福州 350002;

3. 福建农林大学机电工程学院, 福建 福州 350002)

摘 要:【目的】探明脉冲电场刺激对金边龙舌兰 (*Agave americana* var. *Marginata*) 光合电子传递链和释放负离子能力的影响。【方法】采用 0 kV (对照, CK)、5 kV (T1) 和 7 kV (T2) 3 个不同脉冲电场处理刺激金边龙舌兰, 比较和分析不同刺激下金边龙舌兰的叶绿素含量、快速叶绿素荧光诱导动力曲线 (Rapid Chlorophyll Fluorescence Induction Kinetics Curve, OJIP 曲线)、叶绿素荧光参数和负离子释放浓度的变化情况。【结果】(1) 脉冲电场技术刺激金边龙舌兰后, 两处理组叶绿素含量分别增长 6.30%、6.70%, 两处理组与 CK 组之间存在显著差异; (2) 两处理组 OJIP 曲线, 偏转 (I) 和最高峰 (P) 值均高于原点 (O) 和拐点 (J) 值, I-P 段的上升趋势较 O-J 段平缓。同时, J-band 均大于 0, T2 处理组峰值高于 T1 处理组; (3) 叶绿素荧光参数均呈波动的变化趋势, 其中最大荧光强度 (F_m)、单位面积捕获能量 (TR_o/CS_o) 等整体呈现上升的趋势, PS II 光合系统潜在活性 (F_v/F_o)、PS II 受体侧电子传递体数 (S_m) 等整体呈现下降的趋势, 最大光量子效率 (F_v/F_m)、J 点相对可变荧光强度 (V_j) 等整体变化不大。吸收光能为基础的性能指数 (PI_{abs}) 均出现减小的趋势, 其中 T1 处理组减小 18.60%, T2 处理组减小 14.1%。CK 处理组综合性能参数 (PI_{total}) 大于 T1 处理组和 T2 处理组; (4) T1 处理组, 脉冲电场刺激 4 h 相较于脉冲刺激 3 h 时, NAI 浓度增长 87.60%。T2 处理组, 脉冲电场刺激 4 h 后, 相较于脉冲刺激 3 h 时, NAI 浓度增长 62.09%, 其中在脉冲 1~4 h, 两处理组之间、二者与 CK 组之间 NAI 释放浓度存在显著差异。【结论】脉冲电场技术对金边龙舌兰光合电子传递链产生影响, 进而对其释放负离子能力等产生影响。

关键词: 金边龙舌兰; 脉冲电场; 负离子; OJIP 曲线; 叶绿素含量; 叶绿素荧光参数

中图分类号: S563.8

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2024) 07-0801-09

Effects of Pulsed Electric Field on Photosynthetic Electron Transport and Negative Air Ion Releasing of *Agave americana*

LIU Jin^{1,2}, WENG Haiyong³, CHENG Zhiyuan¹, WU Renye^{1,2*}

(1. College of Agriculture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China; 2. Ministry of Agriculture and Rural Affairs Cross-strait Agricultural Technology Cooperation Center, Fuzhou, Fujian 350002, China; 3. College of Mechanical and Electrical Engineering, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the effects of pulsed electric field on the photosynthetic electron transport and ability to release negative air ions (NAIs) of *Agave americana* were investigated. 【Method】Chlorophyll content, rapid chlorophyll fluorescence kinetic functions (OJIP curve), chlorophyll fluorescence parameters, and NAI concentration of *A. americana* var. *Marginata* exposed to a pulsed electric field at 0 kV (CK), 5 kV (T1), or 7 kV (T2) were determined. 【Result】(1) T1 and T2 significantly increased the chlorophyll content over CK by 6.30% and 6.70%, respectively. (2) The OJIP curves had higher deflection (I) and peak (P) than the origin (O) and inflection point (J), a flatter upward trend on I-P than on O-J, and a greater than 0 J-band with the peak of T2 higher than that of T1. (3) T1 and T2 also caused the chlorophyll fluorescence parameters to

收稿日期: 2024-04-18 修回日期: 2024-05-25

作者简介: 刘津 (2000—), 男, 硕士, 主要从事植物负离子释放研究, E-mail: liujin20000606@163.com

* 通信作者: 吴仁烨 (1983—), 男, 博士, 副教授, 主要从事植物负离子释放研究, E-mail: renye.wu@fafu.edu.cn

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (2021J01077); 福建农林大学科技创新专项基金 (CXZX2019030G、CXZX2019031)

generally rise on the peak fluorescence intensity (F_m) and energy captured by unit reaction center (TR_o/CS_o), fall on the PS II light, system potential activity (F_v/F_o), and number of electron transmitters on PS II acceptor side (S_m), and maintain a stable maximum light quantum efficiency (F_v/F_m) as well as fluorescence at J-step (V_j). The performance index based on light energy absorption (PI_{abs}) decreased with an 18.60% reduction by T1 and 14.1% by T2. The comprehensive performance parameter (PI_{total}) under CK was greater than that under T1 or T2. (4) After a 4h treatment, the NAI concentration increased 87.60% under T1 and 62.09% under T2 from an hour previously. And, during that time, the concentrations differed significantly between T1 and T2, as well as in comparison with CK. 【Conclusion】 Exposure to a pulsed electric field significantly affected the photosynthetic electron transport and NAIs releasing of *A. americana*. The findings disclosed a means to identify potentially applicable germplasms and a physical treatment to enrich the unique biological function of the plant.

Key words: *Agave americana* var. Marginata; pulsed electric field; negative air ions; OJIP curves; chlorophyll content; chlorophyll fluorescence parameters

0 引言

【研究意义】金边龙舌兰 (*Agave americana* var. Marginata) 为天冬门科龙舌兰属 (*Agave americana* L.) 多年生常绿草本, 叶多丛生, 呈剑形, 大小不等^[1], 具有观赏、药用等特点, 在美化环境、治疗疾病等方面具有重要的应用价值^[2, 3]。自然状态下, 金边龙舌兰能释放空气负离子 (Negative air ion, NAI)。空气负离子具有改善小范围内的空气质量, 增强机体的记忆力和免疫力、杀菌除尘的作用^[4, 5], 故具有多种潜在的应用价值效应, 常被誉为“空气维生素”“生长素”等^[6, 7]。常态下植物释放空气负离子浓度较低, 施加人为干预可以促进植物释放更多空气负离子, 其中脉冲电场技术刺激是比较常见的一种措施。脉冲电场技术 (Pulsed electric field, PEF) 是一种新型的物理加工技术, 由于其具有处理时间短、耗能低、低碳等特点, 所以常应用于食品加工预处理、物质提取等方面^[8-10]。叶绿素荧光参数能够有效反映植物光合作用反应过程, 是植物叶片光合作用能力的反应指标, 同时揭示植物生长与外界环境的关系^[11, 12]。研究脉冲电场刺激对金边龙舌兰光合电子传递链和释放负离子能力的影响可发掘高效释放负离子的种质资源, 同时为利用生物技术手段创制高效释放负离子的植物种质资源奠定基础。

【前人研究进展】本项目在前期研究中, 从 69 个科 309 个种的数千株植物中发掘金边龙舌兰是目前发现的最耐受脉冲电场持续刺激且释放负离子能力最强的植物^[13]。习岗等^[14]研究发现低压脉冲电场影响作物幼苗抗旱性的机理, Fratianni^[15]等利用脉冲电场技术刺激胡萝卜, 研究表明脉冲电场技术可提升胡萝卜的品质^[15]。王艳英等^[16]通过脉冲电场技术刺激盆栽植物的根际, 发现可以大程度增强其释放负离子的能力, 并证明植物释放负离子是一种生理变化而非简单的物理变化。WU 等^[17]利用脉冲电场技术

刺激植物发现, 植物释放负离子的能力与叶片气孔特征关系密切, 脉冲电场作用下叶片气孔的开合度和气孔密度越大, 其释放能力越强。王红燕^[18]利用脉冲电场技术刺激植物, 研究发现植物叶绿素含量与其释放负离子的能力有关, 并且伴随着脉冲电场强度的增强, 叶绿体等细胞器出现不同程度的破损, 且随破损程度加深释放负离子的能力递减。以上表明脉冲电场技术广泛应用于处理植物领域且植物释放负离子与叶绿体有重要关系。【本研究切入点】前人研究表明脉冲电场刺激植物释放负离子的浓度水平与日光合速率、光强等因素相关^[19, 20], 而且也表明植物释放负离子的能力与光合作用以及叶绿体结构息息相关等观点^[21], 但并未深入讨论脉冲电场刺激对金边龙舌兰叶绿体产生及光合作用的影响。【拟解决的关键问题】本研究通过脉冲电场刺激金边龙舌兰, 分析其叶绿素含量变化、快速叶绿素荧光诱导动力曲线、叶绿素荧光参数变化、负离子释放量等, 以期提升金边龙舌兰释放负离子能力, 为栽培调控技术提供理论依据, 同时为利用生物技术创造高效释放负离子的植物种质资源奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验样本

2023 年 12 月初于福建漳州百花村花卉批发市场购买供试材料金边龙舌兰, 选取大小一致、生长状况相同, 平均株高 25 cm、宽 30 cm 左右的植株。之后将材料移栽到口径 20 cm 的无孔花盆中, 每盆 1 株。试验前各组供试材料在室内环境下缓苗一周左右, 以适应室内温室环境。选用 KEC-990 改进型空气正/负离子测量仪 (日本 Kyoritsu Electronics Co, Ltd), 测定范围为 $100 \sim 19.99 \times 10^4$ 个 $\cdot \text{cm}^{-3}$, 脉冲电场选用福建农林大学海峡两岸农业技术合作中心与福建农林大学机电学院联合研制的电脉冲刺激仪。

1.2 试验方法

1.2.1 脉冲电场设置

2024年1月底,选择天气晴朗、气候干燥、室外无风的天气,在福建农林大学机电工程学院试验基地内进行试验装置,室内恒温设置(26 ± 2)℃左右,脉冲装置放置于室内自行搭建空间内,避免环境和人为等因素对试验结果影响。本团队前期研究表明,金边龙舌兰最佳脉冲电场刺激参数为5 kV^[22]。本研究共设0 kV(对照,CK)、5 kV(T1)和7 kV(T2)3个试验组,实验脉冲频率为1 Hz。每组设置5盆金边龙舌兰样本,每株金边龙舌兰测量4个完全展开叶片,其中与地面呈75°左右新叶一片、与地面呈60°左右中叶两片、与地面呈40°左右老叶一片。每株叶片选取3个试验点,即每株金边龙舌兰共测量12个数据,试验设计3次重复。在测量脉冲电场作用下植物释放负离子的浓度前,将无孔花盆放在试验装置中,之后将电脉冲刺激仪的探针在离株茎外围5 cm处埋入土壤5 cm深,以免脉冲电场对金边龙舌兰根部造成损伤,对试验结果造成影响。

1.2.2 空气负离子量测定

试验时将KEC-990负氧离子检测仪一同放置在自行搭建空间内,同时将KEC-990负氧离子检测仪的接收口对准金边龙舌兰叶尖,收集释放出的负离子。因供试样本已在温室内适应一周,排除室内环境对试验结果影响。释放负离子检测时于8:00~23:00进行,8:00~13:00进行T1处理检测、13:00~18:00进行T2处理检测,18:00~23:00进行对照(CK)处理检测,每间隔1 h记录1次NAI浓度,即分别在脉冲0、1、2、3、4 h时收集各处理组数据。试验数据采用KEC-990负氧离子检测仪连接KEC-R2电压记录仪,KEC-R2电压记录仪通过RS-232接口与电脑连接存取数据,收集整理。KEC-R2电压记录仪系统设定每30 s收集1个数据,根据试验时间,各处理组每时间段共测量收集数据120个。

1.2.3 叶绿素含量及叶绿素荧光参数测定

CK组、T1和T2处理组在接受脉冲电场刺激,同NAI浓度测量,每间隔1 h测量1次,即分别在0、1、2、3和4 h后,分别测定叶片的叶绿素含量及叶绿素荧光参数。

选用叶绿素计SPAD-502(日本Konica Minolta)进行金边龙舌兰叶片叶绿素相对含量的检测。经脉冲电场刺激后,每处理材料选取4个叶片,由于负离子释放部位主要在叶尖^[23],所以SPAD叶绿素测

量仪选取位置为从叶尖查取5~7 cm,每个叶片每间隔1~2 cm选取1个试验点,进行3次重复。检测经过脉冲电场刺激后金边龙舌兰叶绿素含量的变化。

使用Handy PEA便携式植物效率分析仪(英国Hansatech公司)测定叶片的叶绿素荧光参数。测定前对金边龙舌兰叶片进行30 min暗适应,绘制OJIP曲线(采用JIP测验方法分析OJIP曲线的数据),并计算初始荧光强度(F_o)、最大荧光强度(F_m)、最大光量子效率(F_v/F_m)、PS II光合系统潜在活性(F_v/F_o)、J点相对可变荧光强度(V_j)、PS II受体侧电子传递体数(S_m)、电子传递量子产额(ϕ_{Eo})、每个反应中心吸收通量(ABS/RC)、每个反应中心耗散能量(DI_o/RC)、每个反应中心电子传递能量(ET_o/RC)、每个反应中心捕获能量(TR_o/RC)、单位面积传递通量(ET_o/CS_o)、单位面积捕获能量(TR_o/CS_o)、单位面积耗散能量(DI_o/CS_o)、以吸收光能为基础的性能指数(PI_{abs})和综合性能参数(PI_{total})等叶绿素荧光参数,叶绿素荧光参数可分为原始荧光参数、生理参数等,生理参数可由基础荧光参数推导。

1.3 数据统计分析

采用SPSS 16.0统计分析软件进行数据处理;利用ANOVA方法进行数据统计和分析,采用LSR法进行差异显著性分析;图表采用Excel 2016、Origin 2022制作。

2 结果与分析

2.1 经脉冲电场刺激处理后金边龙舌兰叶片叶绿素含量变化

经0 kV(CK)、5 kV(T1)和7 kV(T2)脉冲电场刺激后金边龙舌兰叶绿素含量的动态变化见表1。在经过脉冲电场刺激后的金边龙舌兰0~4 h,随着时间的延长,各处理组金边龙舌兰SPAD值呈现波动的变化趋势。

在脉冲电场刺激1、2、3、4 h后,T1和T2处理组SPAD值都有明显波动变化,大体呈现增长的趋势。CK组由于0 kV脉冲电压,SPAD值无明显变化。经过脉冲电场刺激4 h后,T1和T2组处理的SPAD值均明显高于CK组;T1处理组仅在脉冲电场刺激3 h后高于T2处理组,其余时间SPAD值均低于T2处理组。T1处理组,脉冲4 h的SPAD值较0 h情况下,增长6.30%,T2处理组增长6.70%。总体上看,经过脉冲电场刺激后,金边龙舌兰T1处理组和T2处理组SPAD值较CK组均明显上升,但T2处理组金边龙舌兰叶绿素含量变化更明显,可见脉冲电

表 1 经脉冲电场刺激处理后金边龙舌兰叶片叶绿素含量变化
Table 1 Changes on chlorophyll content in leaves of *A. americana* treated by pulsed electric field

处理 Treatment	叶片SPAD值($\bar{X} \pm SD$) SPAD value($\bar{X} \pm SD$)				
	0 h	1 h	2 h	3 h	4 h
0 kV (CK)	71.92±0.79a	71.12±1.69b	70.05±1.58b	70.39±1.16b	72.94±0.81b
5 kV (T1)	72.54±0.86a	75.72±0.74a	74.46±2.65a	76.50±0.85a	77.11±0.69a
7 kV (T2)	72.44±0.98a	75.73±0.63a	75.22±2.30a	75.51±0.71a	77.28±1.81a

同列数据后不同小写字母表示同一时间不同处理组间差异显著 ($P<0.05$)，表2、3同。
Different lowercase letters in the same column indicate the significant ($P<0.05$) difference among treatments. Same for Table 2 and 3.

场刺激对金边龙舌兰叶绿素含量有显著影响。

2.2 脉冲电场刺激后金边龙舌兰叶片 OJIP 曲线的动态变化

经 0 kV (CK)、5 kV (T1) 和 7 kV (T2) 脉冲电场刺激后金边龙舌兰叶绿素含量的动态变化见图 1。叶绿素快速荧光是在一秒内以 (OJIP) 的方式提升，提供了光合作用的结构信息。在本试验中，通过测量叶绿素荧光曲线，评估充分暗适应后的金边龙舌兰数据。不同脉冲电场刺激下曲线差异在 O 点最小，随着 J 点的电子积累，在 P 点达到最大。OJ 阶段与光合电子传递链中 Q_A 电子量积累，不能及时接收电子，导致电子在 Q_A 积累，产生 J 点^[24]。

根据图 1 显示，脉冲电场刺激 4 h 后，T1 处理组和 T2 处理组的 OJIP 曲线中，偏转 (I) 和最高峰 (P) 值均高于原点 (O) 和拐点 (J) 值。随着脉冲时间的延长，0~4 h 曲线幅度逐渐增大。T1、T2 处理组的 IP 段的上升趋势较 OJ 段平缓。JI、IP 段的缓慢上升，表明一定程度的脉冲电场可以促进质体醌库 (PQ pool, PQ 库) 的还原，提高了电子传递的能力。在同一时间内，随着脉冲电压的增强，T1 处理组的 O 值上升幅度的趋势和 P 值下降幅度的趋势较 T2 处理组明显。两个处理组中，脉冲 2 h 和 3 h 时，变化幅度较小，可能是金边龙舌兰暂时适应脉冲电压强度，但随着时间延长，曲线变化幅度有逐渐变大。

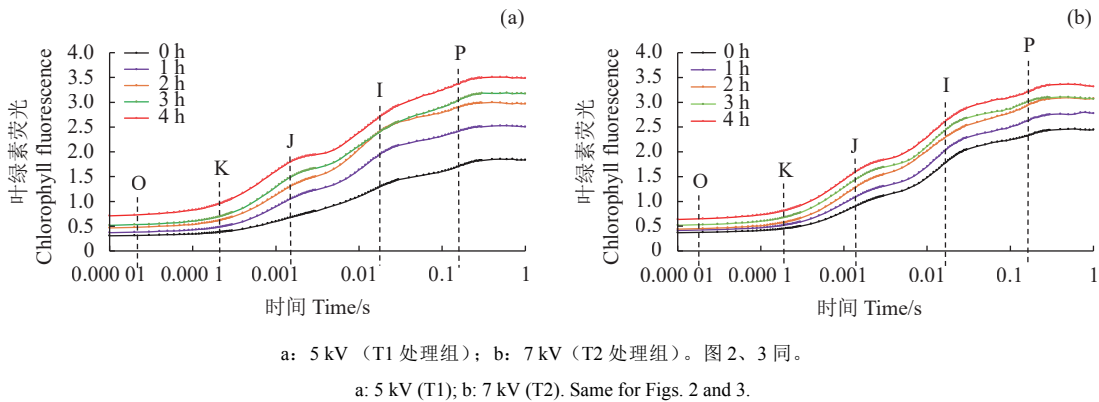


图 1 经脉冲电场刺激后金边龙舌兰叶片快速叶绿素荧光动力学曲线 (OJIP) 分析
Fig. 1 OJIP curves on leaves of *A. americana* treated by pulsed electric field

为进一步观察 OJIP 曲线各相对 O 期至 P 期的主带，对其分别进行微分曲线分析，以进一步评价在相同脉冲电场刺激下不同时间段之间 OJIP 荧光上升动力学的差异。L 带 (O 与 K 之间，WL)、K 带 (O 与 J 之间，WK) 和 J 带 (O 与 I 之间，WJ) 的曲线分别在 F_o 与 F_K 、 F_J 与 F_I 之间呈双峰化，其中 O、J、I 为 OJIP 曲线时间点对应时间荧光值，K 为 300 μs 时的瞬时荧光值。脉冲电场刺激金边龙舌兰后，叶绿素荧光在 O 与 J 之间的过渡过程中，J 带较 L 带和 K 带变化显著。J 相带相对荧光与初级醌受体 (Q_A) 的还原程度有关，图 2 显示，T1 和 T2 处理组在脉冲电场刺激的 0~4 h 内，峰值升高 (ΔW_J 大于 0)，随着脉冲时间的延长，条带幅度逐渐增大，说明随着时间

的延长，PS II 反应中心受体侧处于氧化态的 Q_A 被激发还原为 Q_A^- ，引起 Q_A^- 积累，光更多用来还原 Q_A 导致电子传递过程受阻。T2 处理组变化幅度较 T1 处理组大，可能是由于脉冲电压更强，对金边龙舌兰光合电子传递的影响更强烈。T2 处理组中，脉冲 4 h 的曲线出现波动，可能原因是金边龙舌兰根部在受到 7 kV 高强电压刺激，根部短时间内受到一个破坏作用，从而对叶绿素荧光参数造成影响，刺激后金边龙舌兰进入短暂适应期。

2.3 脉冲电场刺激后金边龙舌兰叶片叶绿素荧光参数的动态变化

经 0 kV (CK)、5 kV (T1) 和 7 kV (T2) 脉冲电场刺激后金边龙舌兰叶绿素含量的动态变化见表 2、

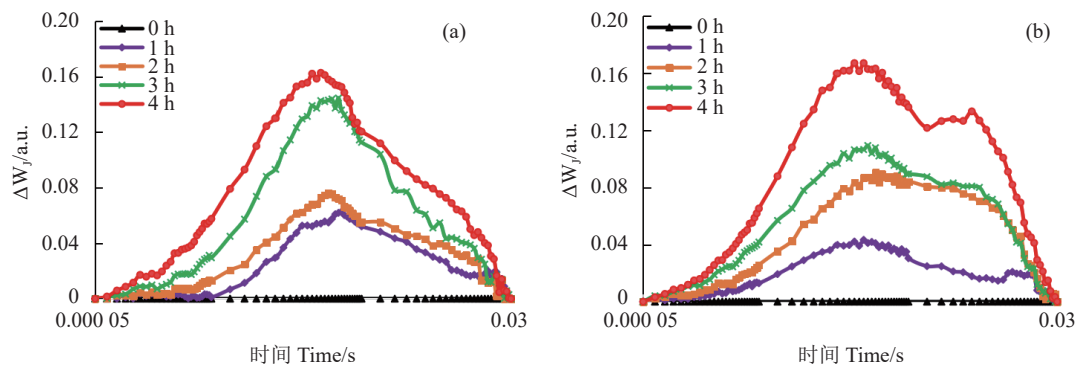


图 2 不同脉冲电场刺激金边龙舌兰叶片不同时间 ΔW_j (J-band) 的差异分析

Fig. 2 ΔW_j (J-band) of *A. americana* treated by pulse electric field for varied durations

图 3。在脉冲电场刺激 0~4 h，随着时间的延长，各叶绿素荧光参数均呈波动变化的趋势。其中 F_m 、 $DI_o/$ RC 、 TR_o/CS_o 、 ET_o/CS_o 、 DI_o/CS_o 等值整体呈现上升的趋势； F_v/F_o 、 S_m 、 ABS/RC 、 PI_{abs} 整体呈现下降的趋势。

表 2 脉冲电场刺激后金边龙舌兰叶绿素荧光参数的动态变化

Table 2 Dynamic changes on chlorophyll fluorescence parameters in leaves of <i>A. americana</i> treated by pulsed electric field ($\bar{X} \pm SD$)		叶绿素荧光参数值 ($\bar{X} \pm SD$)				
项目	处理	Chlorophyll fluorescence parameter values ($\bar{X} \pm SD$)				
Item	Treatment	0 h	1 h	2 h	3 h	4 h
F_v/F_o	0 kV (CK)	5.25±0.14b	5.17±0.68a	5.41±0.23a	5.22±0.27a	5.39±0.15ab
	5 kV (T1)	5.53±0.09a	5.36±0.26a	5.26±0.27a	5.14±0.28a	5.10±0.23b
	7 kV (T2)	5.42±0.30ab	5.42±0.29a	5.40±0.24a	5.41±0.19a	5.30±0.24a
S_m	0 kV (CK)	27.38±5.78a	27.44±4.37a	28.78±4.82a	28.56±5.26a	28.46±4.91a
	5 kV (T1)	29.07±5.24a	29.73±4.78a	29.73±0.01a	28.32±4.29a	27.72±4.17a
	7 kV (T2)	27.47±3.09a	28.00±3.25a	27.12±3.49a	27.96±4.90a	26.77±3.73a
ϕE_o	0 kV (CK)	0.52±0.02a	0.53±0.01a	0.52±0.02a	0.50±0.02b	0.51±0.02a
	5 kV (T1)	0.52±0.01a	0.51±0.01a	0.51±0.01a	0.52±0.00a	0.50±0.01a
	7 kV (T2)	0.53±0.02a	0.52±0.02a	0.52±0.02a	0.52±0.02a	0.51±0.02a
PI_{abs}	0 kV (CK)	9.05±1.51a	8.89±2.15a	9.24±1.65a	9.16±1.65a	9.47±1.50a
	5 kV (T1)	9.77±0.30a	9.22±0.64a	8.81±0.41a	8.42±0.28a	8.24±0.53a
	7 kV (T2)	10.75±1.4a	10.25±1.1a	10.09±1.27a	9.83±1.98a	9.42±1.51a
PI_{total}	0 kV (CK)	3.20±0.70a	2.94±0.97b	3.12±0.71a	2.95±0.68b	3.22±0.57a
	5 kV (T1)	3.25±1.31a	3.23±0.65a	3.13±0.58a	3.00±0.58a	2.87±1.81a
	7 kV (T2)	3.29±0.81a	3.19±0.72b	3.15±0.87a	3.10±0.94a	2.92±0.83a

在脉冲电场连续刺激 4 h 后，T1 处理组的叶绿素荧光参数的比通能量 (ABS/RC 、 DI_o/RC 、 ET_o/RC 、 TR_o/RC) 均高于 T2 处理组。脉冲电场刺激 1、2 h 时，T2 处理组的 F_m 值大于 CK 处理组和 T1 处理组，并存在显著差异。但是脉冲电场刺激 3、4 h 时，T1 处理组和 T2 处理组之间 F_m 值无明显变化。总体来看，脉冲电场刺激 4 h 后，T1 和 T2 处理组的 F_o 、 TR_o/CS_o 、 TR_o/RC 、 ET_o/CS_o 、 DI_o/CS_o 、 F_m 等值大于 CK 组。

由表 2 可知随着脉冲时间延长，T1 和 T2 处理组 PI_{abs} 数值均出现减小的趋势，其中 T1 处理组减小 18.60%，T2 处理组减小 14.1%。脉冲 4 h 后，CK 处理组 PI_{total} 参数值大于 T1 处理组和 T2 处理组，证

明对于自然状态下生长的金边龙舌兰，脉冲电场其实也存在负面影响。

为进一步了解脉冲电场刺激对金边龙舌兰光合电子传递链变化，选取了以下 11 个 JIP-测定参数用于反映电子传递链活性变化。包括 PS II 反应中心受体侧活性有关的 ET_o/CS_o 、 ET_o/RC ，与 PS II 反应中心有关的 TR_o/RC 、 TR_o/CS_o ，能够反映 PS II 光合性能的综合表征参数 F_v/F_m 等参数。图 3 (a) 和 (b) 依次表示 T1 和 T2 处理组脉冲电场刺激金边龙舌兰叶片不同时间段叶绿素荧光参数动态变化，其中将脉冲 0 h 即自然状态下作为基准，以反映无脉冲电场刺激金边龙舌兰的叶绿素荧光参数。可以看出脉冲电场对 JIP-测定参数影响较大，主要包括 PS II 各反应

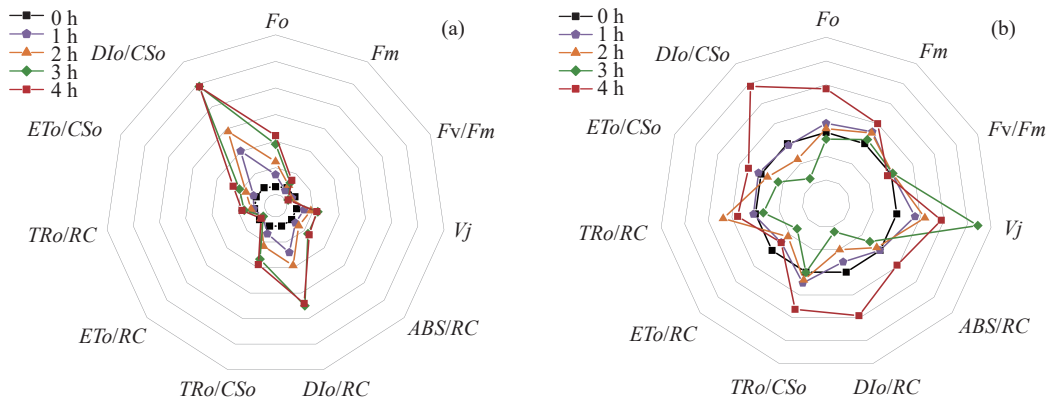


图 3 脉冲电场刺激金边龙舌兰叶片不同时间段叶绿素荧光参数动态变化

Fig. 3 Dynamic changes on chlorophyll fluorescence parameters in leaves of *A. americana* treated by pulsed electric field for varied durations

中心的比通能量 (DI_o/RC 、 TR_o/RC 、 ET_o/RC 、 ABS/RC)、J 点相对可变荧光强度 (V_j)、单位面积耗散能量 (DI_o/CS_o)、单位反应捕获能量 (TR_o/CS_o)、单位面积电子传递能量 (ET_o/CS_o) 等。

T1 处理组中，随着脉冲电场连续刺激的时间增长， DI_o/RC 、 ET_o/RC 、 ABS/RC 增大，但是 TR_o/RC 数值变化不明显。T2 处理组，随着脉冲电场刺激时间的增长，在处理 0~3 h 内， DI_o/RC 、 ET_o/RC 、 ABS/RC 减小，但 TR_o/RC 增大，反映出 PS II 反应中心失活程度加剧，用于电子捕获和传递的能量 (TR_o/CS_o 、 ET_o/RC) 出现下降的趋势，且根据图 3 显示电子传递效率 (ϕ_{Eo}) 也有所降低。对于自然状态下生长的金边龙舌兰，脉冲电场刺激其实也算作一种逆境处理。高压脉冲可能影响光合系统的捕获光能、光合反应中心的吸收光能减少，同时可能损伤植株光合机构，使有效光合速率下降。

2.4 脉冲电场刺激后金边龙舌兰释放空气负离子浓度的动态变化

经 0 kV (CK)、5 kV (T1) 和 7 kV (T2) 脉冲电场刺激后金边龙舌兰释放负离子量的动态变化见图 4 和表 3。根据表 3 数据结果显示，脉冲电场刺激后的 1、2、3、4 h 时，T1 和 T2 处理组的负离子浓度均

大于 CK 组，CK 组负离子浓度无明显变化。在脉冲电场刺激 3、4 h 时，T1 处理组负离子浓度高于 T2 处理组。T1 处理组中，脉冲电场刺激 4 h 后，相较于脉冲刺激 3 h 时，增长 87.60%。脉冲电场刺激 3 h 后，相较于脉冲刺激 2 h 时，增长 75.89%。T2 处理组中，脉冲电场刺激 4 h 后，相较于脉冲刺激 3 h 时，增长 62.09%。但在脉冲刺激 3 h 时，负离子浓度相较于有所下降。总体来看，CK 组负离子浓度无明显变化，T1 处理组增长率趋势较 T2 处理组幅度大 (图 4)。

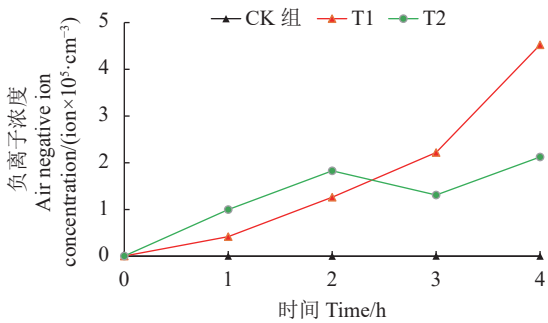


图 4 脉冲电场刺激后金边龙舌兰释放空气负离子浓度的动态变化

Fig. 4 Dynamic changes on NAI concentration after pulsed electric field treatments

表 3 脉冲电场刺激后金边龙舌兰释放空气负离子浓度的动态变化 ($\bar{X} \pm SD$)

Table 3 Dynamic changes on NAI released by *A. americana* after pulse electric field treatments ($\bar{X} \pm SD$)

不同处理组 Treatment group	负离子浓度变化 Negative ion concentration changes/(个·cm ⁻³)				
	0 h	1 h	2 h	3 h	4 h
0 kV (CK)	521.36±17.86a	406.25±32.60b	364.45±12.35b	539.33±14.29b	400.78±10.25b
5 kV (T1)	526.17±19.67a	41 986.22±5 293.44a	126 217.45±119 339.75a	222 001.80±256 322.90a	416 466.58±328 669.54a
7 kV (T2)	592.93±21.17a	32 412.12±25 969.57ab	182 844.66±93 041.30a	131 039.77±44 299.84a	212 401.10±91 149.66ab

3 讨论与结论

大量研究表明，自然条件下植物释放负离子浓

度较低，而在脉冲电场刺激下，可显著增强植物释放负离子的能力^[25, 26]。本研究表明，在脉冲电场刺激下，T1 和 T2 处理组金边龙舌兰释放负离子浓度均

大于CK组。植物通过气孔进行气体交换,植物释放负离子的能力与叶片气孔特征关系密切,脉冲电场作用下叶片气孔的开合度和气孔密度越大,其释放能力越强^[27]。植物体叶绿素含量与负离子的释放能力成正比,叶绿素含量越大植物释放负离子的能力越强;本研究表明,在脉冲电场刺激3、4 h时,T2处理组负离子浓度低于T1处理组。表明随着电压强度的增强,脉冲电场对叶绿体等细胞器造成不同程度的破损,且随破损程度释放负离子的能力递减。所以本试验在脉冲电场刺激后,测量金边龙舌兰释放负离子浓度的同时,测量叶绿素含量及叶绿体荧光参数等动态变化。

从OJIP曲线来看,在脉冲电场对金边龙舌兰连续刺激下,T1处理组和T2处理组O和J值高于CK处理组。两个脉冲处理组,T1处理组的OJIP曲线上升幅度大于T2处理组,证明脉冲电场刺激会促进金边龙舌兰叶绿素荧光参数发生变化。通过图2J-band (ΔW_j)分析曲线,T2处理组条带幅度高于T1处理组。 V_j 值反映了在J点关闭的PS II反应中心数量,即 Q_A^- 的积累量^[28,29],说明随着脉冲电场电压的增强,脉冲时间的延长,会导致金边龙舌兰光合电子传递链中 Q_A^- 的大量积累,PS II反应中心活性降低,电子传递能力低。图3(b)中 V_j 的增大也表明,T2处理组对金边龙舌兰叶绿素荧光参数有负面影响,可能原因是高压脉冲对金边龙舌兰叶绿体造成损伤。

叶绿素荧光参数可用于评价环境胁迫对植物光合特性的影响,是植物光合作用面对逆境胁迫研究的重要指标^[30,31]。本试验中,处理组与CK组相比,在脉冲电场刺激下金边龙舌兰 F_o 等值均增大, F_v/F_m 等值没有显著影响。 PI_{abs} 是基于吸收光能的PS II性能指数即以吸收光能为基础的性能指数^[32]。 PI_{abs} 对绝大部分胁迫影响具有敏感性,因此可以通过该参数了解光合机制的状态,光合机构的受损会导致该参数的数值减小^[33]。 PI_{total} 值为综合性能指数, PI_{total} 是由 PI_{abs} 和 V_j 等值计算得来^[34]。T1和T2处理组随着脉冲时间延长, PI_{abs} 数值均出现减小的趋势, PI_{total} 值脉冲4 h后,CK处理组 PI_{total} 参数值大于T1处理组和T2处理组。

综上所述,叶绿体是植物释放负离子最关键的细胞器,脉冲电场处理可促进较CK组金边龙舌兰释放更多负离子,同时增加金边龙舌兰叶绿素含量,荧光参数也随之发生影响。但脉冲电场刺激下,T1处理组 TR_o/RC 数值变化不明显,但T2处理组 DI_o/RC 、 ET_o/RC 、 ABS/RC 减小, TR_o/RC 增大, TR_o/RC

代表单位反应中心捕获的能量, TR_o/RC 增大代表放氧复合物(OEC)的损伤,反映出PS II反应中心失活程度加剧^[35]。同时 ϕ_{Eo} 、 PI_{total} 、 V_j 等数值变化,结合释放负离子浓度、叶绿素含量的波动变化,表明脉冲电场虽会促进PQ库的还原,提高了电子传递的能力,但随着时间延长仍会导致PS II反应中心受体侧 Q_A^- 积累,光更多用来还原 Q_A 导致电子传递过程受阻,从而对金边龙舌兰光合电子传递链产生影响。

参考文献:

- [1] 杨志坚,温杭凯,陈选阳,等.金边龙舌兰组织培养技术研究[J].江苏农业科学,2019,47(5):37-39.
YANG Z J, WEN H K, CHEN X Y, et al. Study on tissue culture technology of *Agave americana* var. *marginata* [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2019, 47(5): 37-39. (in Chinese)
- [2] 焦淑萍,陈彪,姜虹.龙舌兰抗炎作用的实验研究[J].北华大学学报(自然科学版),2001,2(5):377-379.
JIAO S P, CHEN B, JIANG H. On the Anti-inflammatory of *Agave americana* var. *marginata* hort [J]. *Journal of Beihua University (Natural Science)*, 2001, 2(5): 377-379. (in Chinese)
- [3] 兑宝峰.龙舌兰属植物栽培与繁殖[J].中国花卉园艺,2012(20):34-36.
DUI B F. Cultivation and propagation of *Agave* plant [J]. *China Flowers & Horticulture*, 2012(20): 34-36. (in Chinese)
- [4] BUCKLEY R, ZHONG L S, YU H, et al. Health benefits of airborne terpenoids and aeroanions: Insights from thematic review of Chinese-language research on forest sensory experiences [J]. *Environments*, 2024, 11(4): 79.
- [5] TIKHONOV V P, TSVETKOV V D, LITVINOVA E G, et al. Generation of negative air ions by plants upon pulsed electrical stimulation applied to soil [J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2004, 51(3): 414-419.
- [6] 李娜,魏天静,肖明扬,等.空气负离子对原发性高血压大鼠血压、氧化应激和炎症水平的影响及机制[J].卫生研究,2024,53(02):300-309.
LI N, WEI T J, XIAO M Y, et al. Effects and mechanisms of air anions on levels of blood pressure, oxidative stress and inflammation in primary hypertensive rats [J]. *Health Research*, 2024, 53(02): 300-309.
- [7] 张超英.空气负离子对室内环境颗粒物影响的研究[D].北京:北京化工大学,2020.
ZHANG C Y. Study on the influence of negative air ions on indoor environmental particles[D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2020. (in Chinese)
- [8] 罗诗茵,聂菁,韩文敏,等.脉冲电场回收农产品加工废料中生物活性物质的研究进展[J].食品工业科技,2024,45(19):392-398.
LUO S Y, NIE J, HAN W M, et al. Recovery of bioactive substances in agricultural processing waste by pulsed electric field[J]. *Food Industry Technology*, 2024, 45(19): 392-398.

- [9] SIDDEEG A, ZENG X N, RAHAMAN A, et al. Effect of pulsed electric field pretreatment of date palm fruits on free amino acids, bioactive components, and physicochemical characteristics of the alcoholic beverage [J]. *Journal of Food Science*, 2019, 84(11): 3156–3162.
- [10] 张良, 王丽娟, 钱建亚. 脉冲电场处理油菜籽对菜籽油品质的影响 [J]. *中国油脂*, 2017, 42 (11): 33–37.
- ZHANG L, WANG L J, QIAN J Y. Effect of pulsed electric field on quality of canola oil by treating oilseed grain [J]. *China Oils and Fats*, 2017, 42(11): 33–37. (in Chinese)
- [11] 宋婷, 张谧, 高吉喜, 等. 快速叶绿素荧光动力学及其在植物抗逆生理研究中的应用 [J]. *生物学报*, 2011, 28 (6): 81–86.
- SONG T, ZHANG M, GAO J X, et al. Fast chlorophyll fluorescence kinetics and its application in plant physiology research [J]. *Journal of Biology*, 2011, 28(6): 81–86. (in Chinese)
- [12] KALAJI H M, JAJOO A, OUKARROUM A, et al. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2016, 38(4): 102.
- [13] 吴仁烨, 邓传远, 王彬, 等. 具备释放负离子功能室内植物的种质资源研究 [J]. *中国农学通报*, 2011, 27 (8): 91–97.
- WU R Y, DENG C Y, WANG B, et al. Study on indoor plant germplasm resources which generate negative air ions [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27(8): 91–97. (in Chinese)
- [14] 习岗, 贺瑞瑞, 刘锴, 等. 脉冲电场对渗透胁迫下玉米幼苗自发光子辐射的影响 [J]. *农业工程学报*, 2015 (3): 319–324.
- XI G, HE R R, LIU K, et al. Effect of pulsed electric field on spontaneous photon emission of corn seedlings under osmotic stress [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2015(3): 319–324. (in Chinese)
- [15] FRATIANNI A, NIRO S, MESSIA M C, et al. Evaluation of carotenoids and furosine content in air dried carrots and parsnips pretreated with pulsed electric field (PEF) [J]. *European Food Research and Technology*, 2019, 245(11): 2529–2537.
- [16] 王艳英, 邓传远, 郑金贵, 等. 植物源负离子发生器室内应用的研究 [J]. *广州大学学报 (自然科学版)*, 2014, 13 (1): 29–37.
- WANG Y Y, DENG C Y, ZHENG J G, et al. Study on the indoor application of the plants-NAI generator [J]. *Journal of Guangzhou University (Natural Science Edition)*, 2014, 13(1): 29–37. (in Chinese)
- [17] WU R Y. Research on generation of negative air ions by plants and stomatal characteristics under pulsed electrical field stimulation [J]. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2017, 19(5): 1235–1245.
- [18] 王红燕. 龙舌兰科植物在脉冲电场刺激下释放负离子浓度及叶肉细胞超微结构的变化 [D]. 福州: 福建农林大学, 2013
- WANG H Y. Changes of negative ion concentration and ultrastructure of mesophyll cells released by Agavaceae plants under pulsed electric field stimulation [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2013. (in Chinese)
- [19] WANG J, LI S H. Changes in negative air ions concentration under different light intensities and development of a model to relate light intensity to directional change [J]. *Journal of Environmental Management*, 2009, 90(8): 2746–2754.
- [20] TIKHONOV V P, TSVETKOV V D, LITVINOVA E G, et al. Generation of negative air ions by wheat seedlings in a high voltage electrization of soil [J]. *Biofizika*, 2002, 47(1): 130–134.
- [21] 危也宁. 脉冲电场作用对植物释放负离子及生理机制的研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2015.
- WEI Y N. Study on the release of negative ions from plants by pulsed electric field and its physiological mechanism [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2015. (in Chinese)
- [22] 吴仁烨. 功能型植物高效释放负离子及其发生器的研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2011.
- WU R Y. Study on efficient release of negative ions from functional plants and its generator [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2011. (in Chinese)
- [23] 杨运经, 习岗, 刘锴, 等. 应用负高压脉冲技术提高植物空气净化能力的探讨 [J]. *高电压技术*, 2011, 37 (1): 190–197.
- YANG Y J, XI G, LIU K, et al. Application of negative high-voltage pulse technology to improve air purification ability of plants [J]. *High Voltage Engineering*, 2011, 37(1): 190–197. (in Chinese)
- [24] STRASSERF R J, SRIVASTAVA A, GOVINDJEE. Polyphasic chlorophyll a fluorescence transient in plants and cyanobacteria [J]. *Photochemistry and Photobiology*, 1995, 61(1): 32–42.
- [25] 丁旭玲, 张万超, 黄龙飞, 等. 常态下仙人掌科植物负离子释放量与其刺尖数量的相关性研究 [J]. *安徽农业大学学报*, 2015, 42 (2): 263–267.
- DING X L, ZHANG W C, HUANG L F, et al. Correlation between the spine number and the release of negative air ions by cactaceous in the natural state [J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2015, 42(2): 263–267. (in Chinese)
- [26] 张万超, 郑俊鸣, 丁旭玲, 等. 3 种仙人掌科植物负离子释放量与释放通道的相关性研究 [J]. *热带作物学报*, 2016, 37 (7): 1298–1305.
- ZHANG W C, ZHENG J M, DING X L, et al. Correlation between the negative air ions released by 3 species in Cactaceae and the releasing passage [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2016, 37(7): 1298–1305. (in Chinese)
- [27] 吴仁烨, 郑金贵, 翁海勇, 等. 脉冲电场刺激对植物释放负离子的影响及其机理 [J]. *生态学杂志*, 2017, 36 (5): 1224–1233.
- WU R Y, ZHENG J G, WENG H Y, et al. Influence of pulsed electrical fields on generation of negative air ions by plants and its mechanism [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2017, 36(5): 1224–1233. (in Chinese)
- [28] 原佳乐, 马超, 冯雅岚, 等. 不同抗旱性小麦快速叶绿素荧光诱导动力学曲线对于干旱及复水的响应 [J]. *植物生理学报*, 2018, 54 (6): 1119–1129.
- YUAN J L, MA C, FENG Y L, et al. Response of chlorophyll fluorescence transient in leaves of wheats with different drought resistances to drought stresses and rehydration [J]. *Plant Physiology Journal*, 2018, 54(6): 1119–1129. (in Chinese)
- [29] 陈文胜, 出佳范, 吕再辉, 等. 模拟酸雨处理后番茄叶片叶绿素含量

- 及叶绿素荧光参数的动态变化 [J]. 植物资源与环境学报, 2019, 28 (3): 108–116.
- CHEN W S, CHU J F, LYU Z H, et al. Dynamic changes in chlorophyll content and chlorophyll fluorescence parameters of leaf of *Lycopersicon esculentum* after simulated acid rain treatment [J]. *Journal of Plant Resources and Environment*, 2019, 28(3): 108–116. (in Chinese)
- [30] 王兰兰, 李琦, 宋晓卉, 等. 环境条件对植物叶绿素荧光参数影响研究进展 [J]. 沈阳师范大学学报 (自然科学版), 2019, 37 (4): 362–367.
- WANG L L, LI Q, SONG X H, et al. Effects of environmental conditions on chlorophyll fluorescence parameters of plants [J]. *Journal of Shenyang Normal University (Natural Science Edition)*, 2019, 37(4): 362–367. (in Chinese)
- [31] SPERANZA A, CROSTI P, MALERBA M, et al. The environmental endocrine disruptor, bisphenol A, affects germination, elicits stress response and alters steroid hormone production in kiwifruit pollen [J]. *Plant Biology*, 2011, 13(1): 209–217.
- [32] 谢丰璞, 王楠, 高静, 等. 干旱及复水循环对苗期药用大黄叶片光合碳同化功能和光化学活性的影响 [J]. 西北植物学报, 2023, 43 (11): 1872–1887.
- XIE F P, WANG N, GAO J, et al. Effects of drought and re-watering cycle on photosynthetic carbon assimilation function and photochemical activity of *Rheum* of ficinale Baill. Leaves at seedling stage [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2023, 43(11): 1872–1887. (in Chinese)
- [33] APPENROTH K J, STÖCKEL J, SRIVASTAVA A, et al. Multiple effects of chromate on the photosynthetic apparatus of *Spirodela polyrhiza* as probed by OJIP chlorophyll a fluorescence measurements [J]. *Environmental Pollution*, 2001, 115(1): 49–64.
- [34] SNIDER J L, THANGTHONG N, PILON C, et al. OJIP-fluorescence parameters as rapid indicators of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seedling vigor under contrasting growth temperature regimes [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, 132: 249–257.
- [35] WENG H Y, WU M Y, LI X B, et al. High-throughput phenotyping salt tolerance in JUNCAOs by combining prompt chlorophyll a fluorescence with hyperspectral spectroscopy [J]. *Plant Science*, 2023, 330: 111660.

(责任编辑：黄爱萍)