

冬季大叶黄杨光合电子传递动力学 室内恢复机制研究

钟传飞¹, 高荣孚², 朱俊英², 武晓颖³, 张运涛¹,
王桂霞¹, 董静¹, 王丽娜¹, 常琳琳¹

(1. 北京市农林科学院 林业果树研究所, 北京 100093; 2. 北京林业大学 生物科学与技术学院, 北京 100083;
3. 中国科学院动物所, 北京 100101)

摘要:通过 Daul-PAM100 叶绿素荧光-P700 氧化还原动力学同步分析系统, 研究冬季大叶黄杨 (*Euonymus japonicus*) 室内恢复过程, 光系统 II (PS II) 和光系统 I (PS I) 电子传递动力学的转变机制。结果表明: 冬季逆境条件下, 遭受低温和强光双重胁迫的阳生叶 PS II 光量子效率低于仅遭受低温胁迫的阴生叶, 但阳生叶 PSI 量子效率 $Y(I)$ 高于阴生叶。室内恢复过程, 阳生叶与阴生叶的 OJIP 荧光动力学和 P700 氧化还原动力学活性逐渐恢复, PS II 与 PS I 恢复过程均分快速阶段和慢速阶段, 但两个光系统并不同步, PS II 快速恢复阶段为 0~43 h, PS I 为 0~6 h, 阳生叶室内恢复 43 h, 阴生叶室内恢复 6 h 后, Pm 峰值出现时间由 20 ms 提前至 2 ms。由此可见, 冬季室内恢复过程中, 大叶黄杨阳生叶与阴生叶的两个光系统间的电子传递发生了不同的转变。

关键词:大叶黄杨; 光系统 II; P700; 阳生叶; 阴生叶

中图分类号: Q945.11 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2011)06-1088-06

Photosynthetic Electron Transport Refreshing Process of Overwintering *Buxus Spervirens* L. Leaves in Room

ZHONG Chuan-fei¹, GAO Rong-fu², ZHU Jun-ying², WU Xiao-ying³,
ZHANG Yun-tao¹, WANG Gui-xia¹, DONG Jing¹, WANG Li-na¹, CHANG Lin-lin¹

(1. Pomology and Forestry Institute of Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100093, China; 2. College of Biology Science and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 3. Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: By repairing the overwintering *Euonymus japonicus* leaves in room, the electron transport kinetics between photosystem II (PS II) and photosystem I (PS I) were studied with Daul-PAM100 chlorophyll fluorescence and P700 redox synchro-analyzer. The results indicated that the PS II efficiency of shade leaves was higher than that of sun leaves, while the PS I efficiency of sun leaves was higher. When the two kinds of leaves were transferred to room, both OJIP and P700 redox kinetics refreshed gradually, the repairing process of both PS II and PS I included two steps, while they were not synchronic. The quick step of PS II was from 0 h to 43 h, whereas that of PS I was from 0 h to 6 h. The Pm times were brought forward from 20 ms to 2 ms as the leaves were transferred in room. In a sum, refreshing process of electron transport of the sun leaves was different from that of the shade leaves.

Key words: *Euonymus japonicus*; photosystem II; P700; sun leaves; shade leaves

收稿日期: 2011-07-24 修回日期: 2011-09-21

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2009BADB8B04, 2008BAD92B04)

作者简介: 钟传飞(1981—), 男, 助理研究员, 主要从事植物生理生态研究, E-mail: zhongchuanfei2008@gmail.com。

原产于亚热带的常绿阔叶植物大叶黄杨 (*Euonymus japonicus*) 被引种并广泛应用于我国北方城市绿化, 冬季普遍发生光抑制, 尤其是生长在低温强光双重胁迫条件下的阳生叶比仅遭受低温胁迫的阴生叶光抑制更严重。原产于北温带和寒带地区的常绿针叶植物在长期进化过程中, 会通过一系列的光保护机制抵御冬季的温光胁迫^[1-2], 在天线系统热耗散、清除活性氧和非线性电子传递等光保护机制无法抵御光温胁迫的情况下^[3-5] 植物往往通过关闭 PS II 反应中心等方式将胁迫危害降至最低水平, 减小过多激发能对光合膜的伤害^[6-11]。当外界气温超出了植物承受的阈值后, 就会形成光抑制甚至光破坏。

常绿阔叶植物越冬光温胁迫问题研究相对较少, 对光系统之间的电子传递动力学的研究更少。研究表明, 冬季大叶黄杨阳生叶 PS II 光抑制比其阴生叶严重, 其热耗散机制与常绿针叶植物有所差异^[12-13]。由于研究手段限制, 常绿植物越冬光温胁迫研究主要集中在 PS II 光抑制方面^[1-2], 对 PS I 研究较少。本研究将通过同步测定叶绿素荧光和 830 nm 的吸收^[14-15], 探讨大叶黄杨阳生叶和阴生叶在冬季光温胁迫条件下 PS II 和 PS I 之间的电子传递动力学及其室内恢复过程的转变机制, 从而进一步揭示大叶黄杨冬季光保护机制。

1 材料与方法

1.1 试验材料

取北京林业大学校园内自然生长在高层建筑物两侧的阴生与阳生的大叶黄杨 (*Euonymus japonicus*) 选取植株顶层叶片为实验对象。地理位置为: 40°N, 116°19'E, 海拔 50 m 左右, 属暖温带大陆性季风气候。

采样时间为 2007 年 11 月 28 日 09:00, 此时外界昼夜气温极值为 10 °C / 0 °C, 采用离体方式, 此时期整株叶片均为成熟叶片, 从室外将顶部带叶片的枝条剪下, 插入水中, 带回室内适温 (25 °C) 条件, 分别在恢复 0, 43, 98, 146 h 对第 1 片叶进行测定, 测定前暗适应 10 min, 每个处理采集 3 个枝条样本作为重复。

1.2 测定方法

叶绿素荧光与 P700 测定: 用德国 WALZ 公司生产的 Daul-PAM100 荧光-P700 同步测定系统进行荧光动力学和 P700 氧化还原动力学同步测定, 分别采用饱和脉冲和快速诱导 2 种模式。

(1) 饱和脉冲模式。饱和脉冲强度为 3 500 $\mu\text{mol photons}(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 800 ms/次, 光化光强度为 134 $\mu\text{mol photons}(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 采样频率为 2 ms/点, 测定参数包括实时荧光 (F_t)、暗(光)适应后最小荧光 F_o (F_o')、暗(光)适应后最大荧光 F_m (F_m')、稳态荧光 (F_s)、暗(光)适应后 P700 最大氧化态 Pm (Pm')、P700 实时还原态 P700red, 以及通过这几个参数计算得到的 PS II 最大量子产额 $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$, PS II 有效量子产额 $Y(II) = (F_m' - F)/F_m'$, 非光化学猝灭 $NPQ = (F_m - F_m')/F_m'$, 由于供体侧限制引起的 PS I 非光化学能量耗散的量子产量 $Y(ND) = 1 - P700\text{red}$, 由于受体侧限制引起的 PS I 非光化学能量耗散的量子产量 $Y(NA) = (Pm - Pm')/Pm$, PS I 的量子产量 $Y(I) = 1 - Y(ND) - Y(NA)$ ^[16-18]。

(2) 快速诱导模式。饱和脉冲强度为 3 500 $\mu\text{mol photons}(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 800 ms, 采样频率 10 μs /点, 在测量 OJIP 快速荧光动力学的同时, 同步测量 830 nm 吸收, 反映 P700 氧化还原状态转变, 从而测得 PS II 和 PS I 的快速变化^[19-24]。

2 结果与分析

2.1 大叶黄杨冬季室内恢复过程中 PS II 与 PS I 光量子效率变化

图 1 显示, 冬季大叶黄杨阳生叶的 $Y(II)$ 显著低于阴生叶, 说明阳生叶 PS II 遭受光抑制更严重, 当叶片被移至室内适温 (25 °C 左右) 条件下 0 ~ 43 h 内, 阳生叶 PS II 光量子效率迅速恢复, 而阴生叶变化不大, 43 h 两种叶片达到同一水平, 43 ~ 98 h 过程中阳生叶 $Y(II)$ 保持稳定, 98 h 后有下降趋势, 而阴生叶在 43 h 后先下降后回升, 两种叶片在 146 h 左右再次达到同一水平。表 1 结果表明, 电子传递速率 ETR 变化趋势与 $Y(II)$ 完全一致。

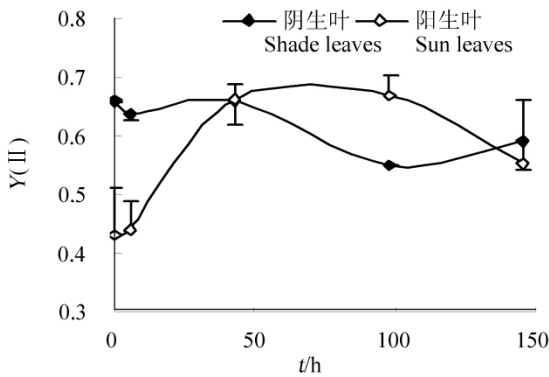


图1 冬季(2007-11-28)大叶黄杨室内恢复过程中 Y(II) 变化

Fig. 1 Y(II) s measured with refreshing leaves of overwintering *Euonymus japonicus* in room

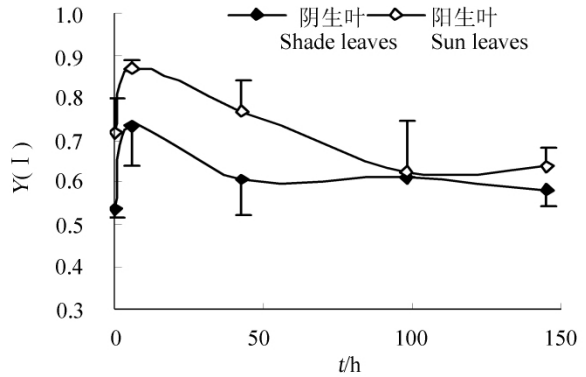


图2 冬季(2007-11-28)大叶黄杨室内恢复过程中 Y(I) 变化

Fig. 2 Y(I) s measured with refreshing leaves of overwintering *Euonymus japonicus* in room

图2表明,室内恢复前,阳生叶的 Y(I) 显著高于阴生叶,说明阳生叶 PS I 光量子效率高于阴生叶,这与两种叶片 PS II 的状态相反,当叶片被移至室内适温条件后 0~6 h,两种叶片 PS I 光量子效率均迅速增加,6 h 之后均缓慢下降,阴生叶在 43 h 左右下降至稳定值,而阳生叶在 98 h 时降至稳定值,且强度稍低于恢复前。

表1 冬季(2007-11-28)大叶黄杨室内恢复过程中 ETR 变化
Tab. 1 ETRs measured with refreshing leaves of overwintering *Euonymus japonicus* in room

恢复时间/h	ETR/($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	
	阳生叶 Sun leaves	阴生叶 Shade leaves
0	15.20 ± 3.54	28.10 ± 3.70
6	16.60 ± 3.81	28.60 ± 2.77
21	20.83 ± 3.98	32.07 ± 2.25
52	25.90 ± 2.27	30.93 ± 1.70
138	30.33 ± 5.40	37.70 ± 0.00

图3表明,阳生叶的 Y(I) / Y(II) 在 1.5 左右,说明低温强光双重胁迫导致 PS II 与 PS I 光量子效率不平衡,PS I 相对光量子效率较高,阴生叶室内恢复过程中始终在 1 ± 0.25 内波动,可见仅遭受低温胁迫的阴生叶 PS II 与 PS I 光量子效率保持相对平衡。从变化趋势来看,室内恢复

6 h 时,两种叶片均迅速升高,这是 PS I 恢复速度较快的结果(图2);6 h 之后均逐渐降低,46 h 时均降至稳定值 1 左右,说明 PS II 与 PS I 的光化学效率达到平衡,阳生叶变化幅度较大。

如图4所示,阴生叶 F_o 显著高于阳生叶,室内恢复 0~6 h 的阳生叶和 0~43 h 的阴生叶的 F_o 强度变化较小,之后呈现上升趋势,98 h 后阴生叶与阳生叶 F_o 水平相当。

图5显示,室内恢复 0~6 h 阴生叶与阳生叶的 NPQ 迅速升高,6 h 之后两种叶片发生不同的变化,其中,阳生叶 6~98 h 呈下降趋势,98 h 后再次出现上升趋势,而阴生叶 6~43 h 保持稳定,43~98 h 出现上升趋势,98 h 后变化相对稳定。室内恢复 146 h 时二者 NPQ 达到同一水平。

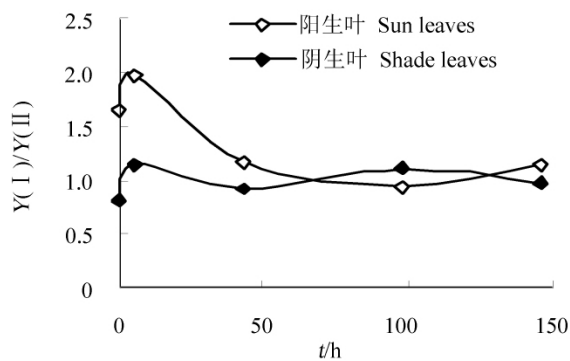


图3 冬季(2007-11-28)大叶黄杨室内恢复过程中 Y(I) / Y(II) 变化

Fig. 3 Y(I) / Y(II) s measured with refreshing leaves of overwintering *Euonymus japonicus* in room

2.2 大叶黄杨冬季室内恢复过程 PS II 与 PS I 电子传递动力学变化

通过 DaulPAM100 同步监测冬季大叶黄杨室内恢复过程的 OJIP 与 P700 结果(图6)表明,冬季阳生叶与阴生叶 OJIP 荧光强度较低,阳生叶 J-I-P 斜率和强度均低于阴生叶,阳生叶 J 与 P 的差值较小,

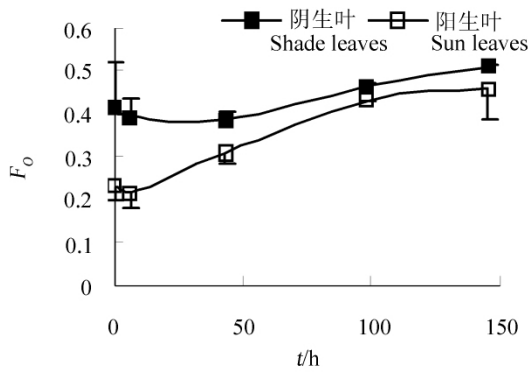


图 4 冬季(2007-11-28)大叶黄杨室内恢复过程中 F_0 变化

Fig. 4 F_0 s measured with refreshing leaves of overwintering *Euonymus japonicus* in room

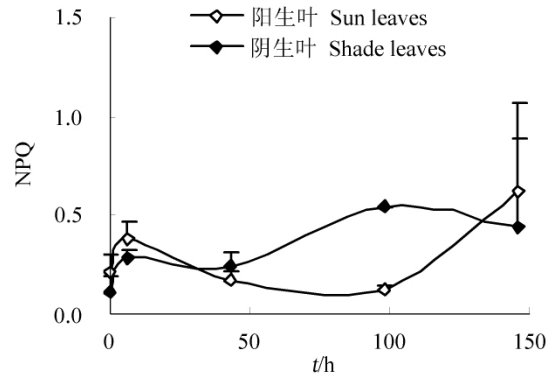


图 5 冬季(2007-11-28)大叶黄杨室内恢复过程中 NPQ 变化

Fig. 5 NPQs measured with refreshing leaves of overwintering *Euonymus japonicus* in room

即 J 的相对值较高,说明其 Q_B 非还原的 PS II 反应中心的比例较大, Q_A^- 、 Q_B^{2-} 和 PQH_2 的还原速率较低^[25]。随着室内恢复进程的推进,两种叶片的 OJIP 活性逐渐回升,98 h 基本恢复到最佳状态,98 h 和 146 h 的 OJIP 曲线基本重合。

图 6B、D 结果表明,冬季大叶黄杨两种生态型叶 P700 快速氧化还原过程的变化趋势类似,即 0~20 ms 是 P700 的氧化过程(20 ms 是 OJIP 的 I 相),20~800 ms 为重还原过程,所不同的是阴生叶的氧化过程分为两个阶段,0~2 ms 快速氧化过程(2 ms 是 OJIP 的 J 相),而 2 ms 后氧化速率有所下降;室内恢复过程 P700 的氧化还原动力学随之改变,阳生叶恢复 98 h 后的 P700 曲线与阴生叶恢复 43 h 后的曲线基本达到同一状态,即 P_m 强度降低,达到 P_m 的时间由 20 ms 缩短到 2 ms 左右,2~20 ms 由氧化过程逆转为还原过程,说明期间 P700 还原速率增加并超过了其氧化速率,20 ms 后为快速还原阶段,与室内恢复前的变化一致。

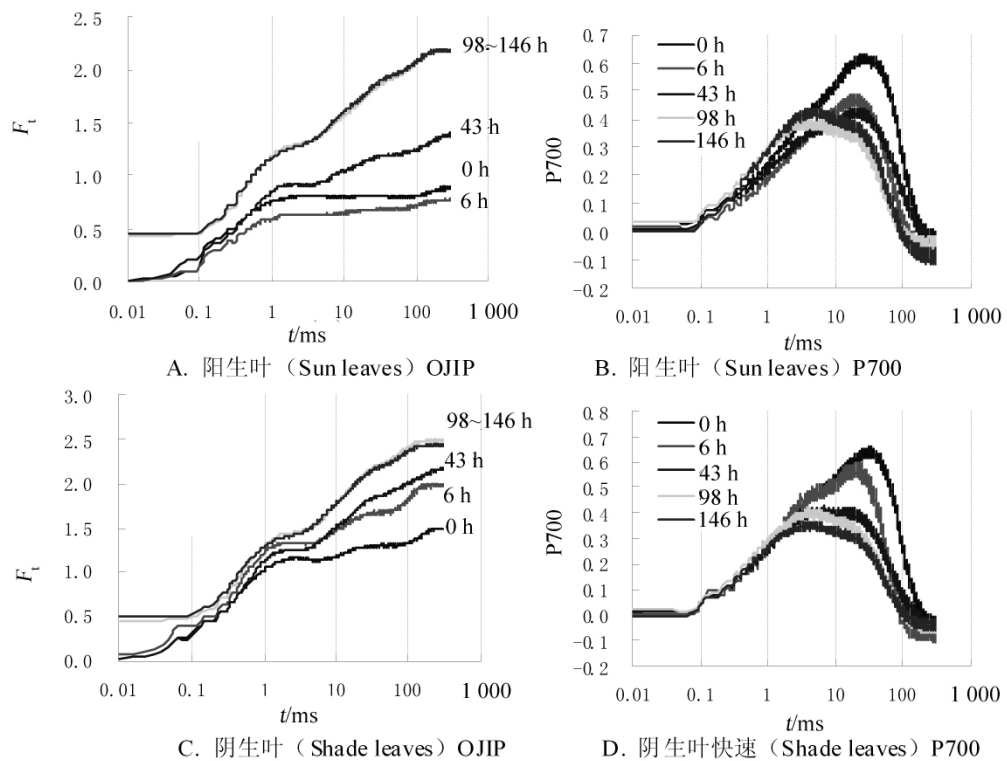


图 6 冬季(2007-11-28)大叶黄杨室内恢复 OJIP 与快速 P700 同步测定结果

Fig. 6 Synchronic OJIP - P700s measured with refreshing leaves of overwintering *Euonymus japonicus* in room

3 讨 论

人们对常绿植物越冬光抑制问题进行了大量研究,但主要集中在冬季温光胁迫条件的光系统 II 光抑制或光保护方面,且以针叶植物为主^[1-2,8]。近年来随着常绿阔叶植物在北方地区广泛应用,常绿阔叶植物越冬光抑制问题研究开始有零星报道^[12-13],但冬季胁迫下 PS II 与 PS I 电子传递动力学机制仍不清楚,对于冬季胁迫快速解除过程,光系统间电子传递动力学的恢复机制研究更少,这对于揭示光系统抵御冬季胁迫的应对机制及制定人工防御冻害的措施非常重要。

$Y(II)$ 与 OJIP 测定结果均表明,冬季同时遭受低温强光双重胁迫的大叶黄杨阳生叶比仅遭受低温胁迫的阴生叶的 PS II 光抑制更严重,但阳生叶 PS I 光量子效率较高,这是 PS II 光抑制减少过多激发能对 PS I 胁迫的结果。室内恢复过程中,阳生叶两个光系统的光量子效率逐渐恢复,但并不同步,PS II 光量子效率需要 50 h 左右才恢复到正常状态,PS I 在 6 h 内迅速增加,随后逐渐降低,这可能是非线性电子传递速率变化的结果;而 F_o 的变化说明天线系统的恢复需要更长的时间。因此,导致两种叶片的两个光系统间的平衡性的差异,阳生叶 PS II 天线系统和反应中心均发生了较严重的光抑制,PS II 与 PS I 平衡性较差, $Y(I)/Y(II)$ 大于 1.5,而阴生叶光抑制程度相对较低,两个光系统保持较稳定的平衡性, $Y(I)/Y(II)$ 在 1 左右。室内恢复过程,阳生叶 PS II 迅速恢复促使两个光系统的平衡性在 50 h 左右逐渐恢复,即 $Y(I)/Y(II)$ 比恢复到 1 左右(图 2)。

光量子效率与电子传递动力学并不同步,同步监测 PS II 与 PS I 快速氧化还原动力学结果,进一步揭示了两个光系统之间电子传递动力学相互作用的恢复机制。室内恢复前,阴生叶 P700 快速氧化过程分两个阶段,第二阶段(2~20 ms)氧化速率下降暗示着 PS I 供体侧电子传递速率较强,而阳生叶 0~20 ms 始终保持较快的氧化速率,说明阴生叶 PS I 供体侧电子传递能力较强,可能存在较强的非线性电子传递途径。室内恢复过程,两类叶片的 OJIP 快速荧光与 P700 氧化还原动力学发生相应变化, J-I-P 强度和斜率逐渐恢复,具备 Q_B 还原能力的 PS II 反应中心的比例增加,促使 PS II 向 PS I 供给电子能力逐渐恢复,因此 2~20 ms 的 P700 氧化过程逆转为还原过程;阳生叶 Q_B 非还原的 PS II 反应中心的比例高于阴生叶,导致阳生叶电子传递动力学的室内恢复所需时间较长,在 100 h 左右,而阴生叶仅需要 50 h 左右。

4 结 论

综上所述,冬季大叶黄杨阳生叶 PS II 光抑制程度比阴生叶严重,PS II 光抑制对 PS I 形成了光保护;阳生叶 PS I 光量子效率较高,其两个光系统间的平衡性较差。室内恢复过程中,大叶黄杨两种叶片的两个光系统恢复速率不同步;PS II 反应中心和天线系统恢复速率也不同步,反应中心恢复较快;阳生叶 Q_B 非还原的 PS II 反应中心的比例较高,导致其电子传递动力学恢复滞后于阴生叶。

参考文献:

- [1] öquist G, Huner N P A. Photosynthesis of overwintering evergreen plants [J]. *Ann Rev Plant Biol* 2003 54: 329-355.
- [2] Huner N P A, Ivanov A G, Sane P V, et al. Photoprotection of Photosystem II: Reaction center quenching versus antenna quenching [M]// *Advances in photosynthesis and respiration: Photoprotection, Photoinhibition, Gene Regulation and Environment* Netherlands: Springer Press, 2006: 155-173.
- [3] Niyogi K K. Safety valves for photosynthesis [J]. *Curr Op Plant Biol* 2000 3: 455-460.
- [4] Weindruch R, Sohal R S. Caloric intake and aging [J]. *New Engl J Med* 1997 337: 986-994.
- [5] Maher P, Schubert D. Signaling by reactive oxygen species in the nervous system [J]. *Cell Mol Life Sci* 2000 57: 1287-1305.
- [6] Melis A. Photosystem-II damage and repair cycle in chloroplasts: What modulates the rate of photodamage in vivo [J]. *Trends Plant Sci* 1999 4: 130-135.
- [7] Noguchi T. Dual role of triplet localization on the accessory chlorophyll in the photosystem II reaction center: Photoprotection and photodamage of the D1 protein [J]. *Plan Cell Physiol* 2002 43: 1112-1116.
- [8] Adams WW III, Demmig-Adams B. Chlorophyll fluorescence as a tool to monitor plant response to the environment [M]//

- Papageorgiou G and Govindjee (eds) Chlorophyll fluorescence: A signature of Photosynthesis Kluwer Academic Publishers , Dordrecht , The Netherlands 2004 583-604.
- [9] Anderson J M. Photoregulation of the composition , function , and structure of thylakoid membranes [J]. Annu Rev Plant Physiol ,1986 37: 93-136.
- [10] Bailey S , Walters R G , Jansson S , et al. Acclimation of *Arabidopsis thaliana* to the light environment: the existence of separate lowlight and high light responses [J]. Planta 2001 213: 794-801.
- [11] Peltier G , Cournac L. Chlororespiration [J]. Annu Rev Plant Biol 2002 53: 523-550.
- [12] 钟传飞 ,高志奎 ,李伟 ,等. 北京地区大叶黄杨越冬进程中光系统 II 的行为特征 [J]. 河北农业大学学报 2008 31 (5): 9-13.
- [13] 钟传飞 ,武晓颖 ,姚洪军 ,等. 北京地区大叶黄杨春初返青过程的荧光动力学研究 [J]. 北京林业大学学报 2008 30 (6): 9-15.
- [14] Tóth S Z , Schansker G , Strasser R J. In intact leaves , the maximum fluorescence level (F_M) is independent of the redox state of the plastoquinone pool: a DCMU inhibition study , Biochim Biophys [J]. Acta 2005 1708: 275-282.
- [15] Oja V , Eichelmann H , Peterson R B , et al. Deciphering the 820 nm signal: redox state of donor side and quantum yield of Photosystem I in leaves [J]. Photosynthesis Research 2003 78: 1-15.
- [16] Schreiber U , Schliwa U , Bilger W. Continuous recording of photochemical and non-photochemical Chlorophyll a fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer [J]. Photosynthesis Research , 1986 10: 51-62.
- [17] Schreiber U , Endo T , Hualing M , et al. Quenching analysis of chlorophyll fluorescence by the saturation pulse method: particular aspects relating to study of eukaryotic algae and cyanobacteria [J]. Plant Cell Physiol , 1995 36: 873-882.
- [18] Kramer D M , Johnson G , Kilrats O , et al. New fluorescence parameters for the determination of QA redox state and excitation energy flux [J]. Photosynthesis Research , 2004 79: 209-218.
- [19] Schreiber U , Neubauer C. The polyphasic rise of chlorophyll fluorescence upon onset of strong continuous illumination: II. Partial control by the photosystem II donor side and possible ways of interpretation [J]. Z Naturforsch , 1987 42c: 1255-1264.
- [20] Strasser R J , Srivastava A , Govindjee. Polyphasic chlorophyll a fluorescence transient in plants and cyanobacteria [J]. Photochem Photobiol , 1995 61: 32-42.
- [21] Klughammer C , Schreiber U. Analysis of light-induced absorbance changes in the near-infrared region. I. Characterization of various components in isolated chloroplasts [J]. Zeitschrift für Naturforschung , 1991 46: 233-244.
- [22] Schansker G , Srivastava A , Govindjee , et al. Characterization of the 820 nm transmission signal paralleling the chlorophyll a fluorescence rise (OJIP) in pea leaves [J]. Functional Plant Biology 2003 30: 785-796.
- [23] Cruz S , Goss R , Wilhelm C , et al. Impact of chlororespiration on non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence and on the regulation of the diadinoxanthin cycle in the diatom *Thalassiosira pseudonana* [J]. J Exp Bot , 2011 62(2): 509-519.
- [24] Tóth S Z , Schansker G , Garab G , et al. Photosynthetic electron transport activity in heat-treated barley leaves: The role of internal alternative electron donors to photosystem II [J]. Biochimica et Biophysica Acta 2007 1767: 295-305.
- [25] Zhu X G , Govindjee , Baker N R , et al. Chlorophyll a fluorescence induction kinetics in leaves predicted from a model describing each discrete step of excitation energy and electron transfer associated with Photosystem II [J]. Planta 2005 223: 114-133.