

热带雨林冠层树种绒毛番龙眼两种发育阶段叶片的光抑制

蔡志全 曹坤芳 齐欣

(中国科学院西双版纳热带植物园, 云南勐腊 666303)

摘要 通过测定西双版纳热带雨林冠层树种绒毛番龙眼 (*Pometia tomentosa*) 完全伸展嫩叶和成熟叶的叶片解剖、生理特征和雨季晴天自然条件下叶绿素 a 荧光以及午间强光对部分保护酶活性和膜脂过氧化作用的影响, 探讨了两种不同发育阶段叶片光合作用的光抑制与强光和温度的关系。结果表明, 绒毛番龙眼全展嫩叶和成熟叶表现出明显的解剖和生理特征差异。与全展嫩叶相比, 成熟叶的叶片较厚、叶绿素含量高、气孔导度大、羧化效率高、最大净光合速率和光饱和点高, 而气孔密度和保卫细胞长度没有显著差别。在雨季晴天自然条件下, 午间最高光强可达 $2\,200\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以上, 最高叶温比气温高 $7\sim 8\ ^\circ\text{C}$, 而成熟叶片的最高温度比全展嫩叶高 $1.5\sim 2\ ^\circ\text{C}$ 。上午随光强的增大, 两种叶片的非光化学猝灭系数 (NPQ) 增大, PS II 原初光化学效率 (F_v/F_m) 实际光化学效率 $[(F_m' - F_s)/F_m']$ 逐渐减小, 在 15:30 左右达最小。下午随着光强的减弱, F_v/F_m 逐渐恢复, 在傍晚基本恢复到清晨值。初始荧光 (F_0) 在一天中变化很小。这表明绒毛番龙眼叶片光抑制是非辐射能量耗散增加引起的保护光合机构免受光破坏的保护性反应, 而非光破坏。全展嫩叶比成熟叶有较低的光化学效率和非辐射耗散能力, 对强光和高温处理的敏感性也较强, 但在自然条件下一天中的光抑制程度与成熟叶没有显著差别。田间午间强光导致两种叶片的保护酶活性 (超氧化物歧化酶, SOD; 抗坏血酸过氧化物酶, APX) 升高, 而 H_2O_2 含量变化较小。其中, 全展嫩叶的保护酶活性高, 丙二醛 (MDA) 含量低。这表明自然条件下, 与成熟叶相比, 绒毛番龙眼全展嫩叶通过较低的光能利用效率、较低的叶温和高的保护酶活性减轻了强光高温的光抑制程度。

关键词 绒毛番龙眼 完全伸展嫩叶 成熟叶 光抑制 荧光参数

PHOTOINHIBITION OF PHOTOSYNTHESIS IN LEAVES OF TWO DEVELOPING STAGES OF A TROPICAL RAINFOREST CANOPY TREE, *POMETIA TOMENTOSA*

CAI Zhi-Quan CAO Kun-Fang and QI Xin

(Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences, Mengla, Yunnan 666303, China)

Abstract *Pometia tomentosa*, is a dominant uppermost canopy tree and a symbol species of vallyland forest in Xishuangbanna tropical rainforest. In addition to anatomical and physiological characteristics, diurnal changes in chlorophyll fluorescence parameters were measured with a modulated chlorophyll fluorescence monitoring system (FMS2) in order to explore the difference of diurnal photoinhibition in leaves of two developing stages, young fully expanded leaves and mature leaves of *Pometia tomentosa* in the rainy season. The difference in the effect of midday strong light and high temperature on the activities of partly protective enzymes was also briefly analyzed. The results showed: leaf thickness, chlorophyll contents, stomatal conductance, carboxylation efficiency, maximum net photosynthetic rate and light saturation point of mature leaves were much higher than those of young fully expanded leaves, while the stomatal density and guard cell length were similar between two leaves. On clear days in the rainy season, the highest photon flux density can exceed $2\,200\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, the highest leaf temperature was $7\sim 8\ ^\circ\text{C}$ higher than air temperature, and the highest leaf temperature of mature leaves was $1.5\sim 2\ ^\circ\text{C}$ higher than that of young fully expanded leaves. Non-photochemical quenching (NPQ) was increased, the initial photochemical efficiency (F_v/F_m) and actual photochemical efficiency $[(F_m' - F_s)/F_m']$ decreased gradually in the morning, and reached the lowest values at about 15:30. The reverse changes occurred in the afternoon, at dusk these parameters could recover to nearly the original dawn level. The decrease in F_v/F_m was mainly caused by a decrease in F_m , because initial fluorescence (F_0) did not change significantly over the course of the day. This suggested that the photoinhibition observed

in *Pometia tomentosa* was due to photoprotective process and not to photoinhibitory damage. The initial photochemical efficiency (F_v/F_m) of young fully expanded leaves was lower than that of mature leaves, and exhibited more sensitive to strong light and high temperature treatment, but their diurnal photoinhibition was statistically similar in the field. After field strong light at midday the protective enzymes (SOD, APX) increased, while H_2O_2 content was stable and the lipid peroxide level was lower in young expanded leaves compared with mature leaves. We concluded that the alleviated photoinhibition in young expanded leaves might be caused by its lower photochemical efficiency and leaf temperature, as well as active protection by higher activities of protective enzymes under the field conditions.

Key words *Pometia tomentosa*, Young fully expanded leaves, Mature leaves, Photoinhibition, Chlorophyll fluorescence parameters

光抑制是指植物光合机构所吸收的光能超过其所利用的限度时,引起 PS II 过量激发,造成光合能力的下降,即光能转换效率的降低(Long *et al.*, 1994; Osmond, 1994) 的现象。长期光抑制不仅影响到森林生态系统的生产力,同时对植物的不利影响可能会限制其在自然界的适应与生存(Long *et al.*, 1994)。不同植物、同一植物不同发育阶段的叶片对强光的敏感性不同。为了避免强光引起的光破坏,叶黄素循环、Mehler 反应、光呼吸及通过叶片运动以减小光能吸收等都是植物保护光合机构的有效措施(Demmig-Adams & Adams, 1992)。

在自然条件下,晴天中午植物上层叶片常常发生光抑制(许大全等, 1990)。对自然条件下农作物(孟庆伟等, 1996; 郭连旺等, 1996)、灌木(郭连旺等, 1994; 陶汉之, 1991)、小乔木(Damatta *et al.*, 1997; 孟庆伟等, 1999) 的光抑制已有大量的研究,但对热带雨林冠层植物光抑制的研究不多(Gamon & Pearcy, 1989; Krause *et al.*, 1995),特别是在热带典型的自然强光和高温季节对冠层树种不同发育阶段叶片的光抑制少见报道。雨季是热带雨林植物能物流交换、生长、发育最佳季节(吴邦兴, 1991),而在这个时期内,冠层树种上层叶片常常暴露于强光下,这时如果不能有效启动体内能量耗散机制的运转,就容易导致光合机构的光破坏,从而影响植物的适应、更新和分布。绒毛番龙眼(*Pometia tomentosa*)是西双版纳热带雨林常见的上层树种,也是该地区沟谷雨林的一个标志种(吴征镒等, 1987)。本研究选择绒毛番龙眼冠层两种不同发育阶段叶片(全展嫩叶和成熟叶)为实验材料,研究其在雨季晴天的光抑制,初步探讨以下问题: 1) 完全伸展嫩叶和成熟叶的形态解剖和光合特征的差异; 2) 两种叶片在雨季自然状况下荧光参数的日变化和光抑制; 3) 午间强光对保护酶(SOD, APX)活性和膜脂过氧化的影响; 4) 两种叶片的光合反应中心 PS II 对强光和高温敏感性的差异。

1 材料和方法

1.1 测定地点和实验材料

研究地点在西双版纳热带植物园葫芦岛沟谷林内的观测铁塔上进行,地理位置为 $21^{\circ}50' N$, $101^{\circ}12' E$,海拔约 600 m。属北热带季风气候,年平均降雨量 1 557 mm,全年干湿季分明。土壤为砖红壤,土层深厚,水分充足。

研究材料选择定位研究所建的气象铁塔旁的一株绒毛番龙眼(*Pometia tomentosa*)。绒毛番龙眼叶片为偶数羽状对生复叶,当年生小枝上叶片的叶面积特点如图 1。由于自植株顶部下数的第四对叶叶面积最大,与一年生成熟叶片(第五、六对)的叶面积没有显著差异,所以选择这对叶作为完全伸展嫩叶(叶龄大约为 20 d)和一年生枝上中部叶(成熟叶)为实验对象。观测叶片均为 25 m 处植株顶层水平伸展阳生叶。西双版纳为有名的静风区,观测日无大风,有轻微风时用薄泡沫夹住叶柄以防摇动。测定时间为 9 月 22 日、27 日和 28 日,时期正值雨季(5 月至 10 月),占年降雨量 83%。月最高温度 $30.2^{\circ}C$,最低温度 $21.3^{\circ}C$ 。

1.2 环境因子和叶片光合特性的测定

用连接数据采集器(LICOR1400)上的光量子探头测定一天中 7:00~19:00 的光因子,每 15 s 计数 1 次。气孔导度由 AP4 气孔计在观测铁塔上测定连体叶片。用 LICOR-6400 光合作用分析系统测定离体叶片(测定过程中枝条基部始终浸没在水中)的光合响应曲线(温度 $(25 \pm 0.2)^{\circ}C$, CO_2 浓度 $(380 \pm 12.5) \mu mol \cdot mol^{-1}$)和 CO_2 响应曲线(温度 $(25 \pm 0.2)^{\circ}C$, 光照 $1\,000 \mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$),羧化效率由低胞间 CO_2 浓度下直线的斜率所得。

用便携式脉冲调制荧光仪 FMS-2(英国 Hansatech 公司)测定叶绿素 a 荧光参数的日变化。叶片暗适应 15 min 后,用弱测量光测定初始荧光(F_0),随后给一个强闪光 $(5\,000 \mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1})$,脉冲时间 0.7

s)测得最大荧光 F_m , 当荧光产量从 F_m 降到 F_0 时, 打开作用光($400\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), 荧光恒定时测得稳态荧光(F_s), 加上一个强闪光($5\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 0.7 s)后测定 F_m' , 关闭作用光使叶片暗适应 3 s 后, 打开远红光, 5 s 后测定最小荧光(F_0')。光系统 II(PS II)光化学效率 F_v/F_m 、实际光化学效率($F_m' - F_s$)/ F_m' 、非光化学猝灭系数 $\text{NPQ} = F_m/F_m' - 1$ (F_m 用清晨值)由仪器自动给出, PS II 电子传递速率用公式 $\text{ETR} = (F_m' - F_s)/F_m' \times \text{PFD} \times 0.84 \times 0.5$ 计算, PFD 为叶面入射光(Maxwell & Johnson 2000)。同时用荧光仪上的温度感应探头测定叶温和环境空气温度。叶绿素荧光响应曲线的测定参照 Brodribb 和 Hill (1997)的方法测定离体叶片, 每种光强下平衡 15 min。

叶片对强光和温度敏感性的观测: 在上午直射光照到叶片之前, 将枝条剪下, 测定叶片的荧光指标, 然后用灯光($1\ 800\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)照射离体叶片 1.5 h(灯与叶片之间有流动的隔热水层, 温度(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$), 再在低光下($15\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)恢复, 测定叶片的荧光指标。用离体叶圆片测定 F_v/F_m 对温度的敏感性, 叶室内为普通空气, 外加光强约 $1\ 800\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。通过循环水的温度控制叶室内叶片的温度, 每种温度下平衡 30 min。

1.3 抑制剂的引入

在水中将叶片剪下, 然后插入 $10\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 DTT(二硫苏糖醇)溶液中, 弱光下($20 \sim 30\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)放置 1.5 h, 使叶片吸入 DTT。对照叶片置于蒸馏水中, 与处理材料一同移到 $1\ 800\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光强处, 照射 2 h(灯与叶片之间有流动的隔热水层, 温度(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$)。

1.4 实验分析方法

叶面积的测定用方格纸计数法。叶片形态解剖在显微镜下观测, 叶片厚度由徒手切片观测, 气孔密

度由无色指甲油印迹观测。

叶绿素含量的测定参照 Arnon(1949)的方法, 取一定重量的叶片, 剪碎, 用 80% 的丙酮提取。

超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定: 取 0.3 g 叶, 加入 4 ml $50\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (pH 7.8)的磷酸缓冲液(内含适量的 PVP)于冰浴上研磨, 于 $12\ 000 \times g$ 、 $4\ ^{\circ}\text{C}$ 离心 15 min, 上清液为酶液。参照 Giannoplitis 和 Ries (1977)的方法(略加修改), 定义单位时间内抑制 NBT 光化还原 50% 为一个酶活性单位(U)。

抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的测定按照沈文飏等(1996)的方法测定, 在 UV-1601 型紫外分光光度计(日本岛津公司)上测定每分钟 A_{290} 的下降, 1 min 催化 $1\ \mu\text{mol}$ 的酶量为一个酶活性单位。

过氧化氢(H_2O_2)含量的测定参照林植芳等(1988)的方法。丙二醛(MDA)含量的测定参照王以柔等(1986)的方法。

2 结 果

2.1 两种不同发育阶段叶的解剖和生理特性的比较

表 1 表明了绒毛番龙眼全展嫩叶和成熟叶的一般解剖和生理特征。两种叶片以单位面积表示的叶绿素含量有显著差异。全展嫩叶的厚度比成熟叶明显小, 气孔导度和羧化效率较低, 而气孔密度和保卫细胞长度没有差异。光合响应曲线表明成熟叶比全展嫩叶有较大的净光合速率和较高的光饱和点(图 2)。

2.2 不同田间环境条件下绒毛番龙眼叶绿素荧光参数的日变化

通过在不同田间环境条件下, 对绒毛番龙眼叶绿素荧光参数测定, 发现连续 3 天荧光参数的测定结果相似, 图 3 是其中一天的情况。雨季晴天的午间最大光强可达 $2\ 200\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以上, 最高空

表 1 全展嫩叶和成熟叶的解剖特征和一些生理特征的比较
Table 1 Comparisons of the anatomy and physiological characteristics between young fully expanded leaves (FEL) and mature leaves (ML) of *Pometia tomentosa*

叶片发育阶段 Leaf developing stage	厚度 Thickness (μm)	气孔密度 Stomata density (Number $\cdot\text{mm}^{-2}$)	保卫细胞长度 Guard cell length (μm)	叶绿素含量 Chl content ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$)	叶绿素 a/b 比值 Chl a/b ratio	气孔导度 * Gs ($\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	羧化效率 CE ($\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$)
全伸展嫩叶 Fully expanded leaves (FEL)	254.3 a (23.4)	319.5 a (18.5)	16.1 a (3.1)	17.2 a (3.5)	2.14 a (0.32)	178 a (24.5)	0.028 a (0.011)
成熟叶 Mature leaves (ML)	312.1 b (16.7)	332.1 a (23.4)	16.7 a (2.7)	49.6 b (4.6)	3.12 b (0.21)	245 b (32.3)	0.045 b (0.008)
	$p < 0.01$	NS	NS	$p < 0.05$	$p < 0.05$	$p < 0.01$	$p < 0.05$

Gs : Stomatal conductance CE : Carboxylation efficiency 括号里的数据为标准差 The data in parentheses are the standard error ($n = 3$) * 上午 11 时测定 Measurements were carried out at 11:00 NS : 无显著差异 Non-significance

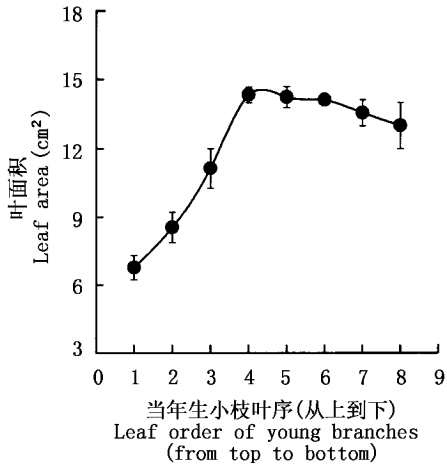


图 1 绒毛番龙眼当年生小枝上叶片的叶面积特征
Fig.1 The characteristics of leaf area in young branches of *Pometia tomentosa*

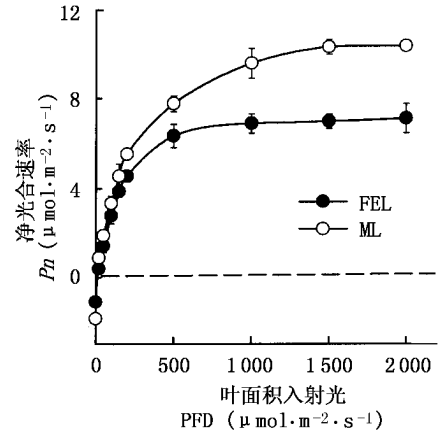


图 2 绒毛番龙眼叶片的净光合速率对光强的响应

Fig.2 The response of net photosynthesis to light intensity in leaves of *Pometia tomentosa* (means \pm SD , $n = 2$)

FEL :全展嫩叶 Young fully expanded leaves ML :成熟叶 Mature leaves

气温度可达 33 ℃ ,而最大叶温比气温高 7~8 ℃ ,成熟叶比全展嫩叶高 1.5~2 ℃ 。早晚相对湿度都在 90% 以上 ,中午最低湿度也大于 60%(图 3A),这是雨季热带地区典型的强光、高温和高湿天气。

全展嫩叶清晨的 F_v/F_m 值明显比成熟叶小($p < 0.01$)。上午随着光强的增大 ,两种叶片的荧光参数 F_v/F_m 、 $(F_m' - F_s)/F_m'$ 、 F_m 减小 , F_0 变化不大(图 3B、C、D),NPQ 增大(图 3E)。其中 ,成熟叶的最大光化学效率 F_v/F_m 和实际光化学效率 $(F_m' - F_s)/F_m'$ 比全展嫩叶的大 ,说明成熟叶在自然状况下比伸展叶有较大的光能利用能力。全展嫩叶的 F_0 比成熟叶低 ,这可能与它的叶绿素含量较低有关。一天中 , F_0 变化较小 , F_m 减小是 F_v/F_m 降低

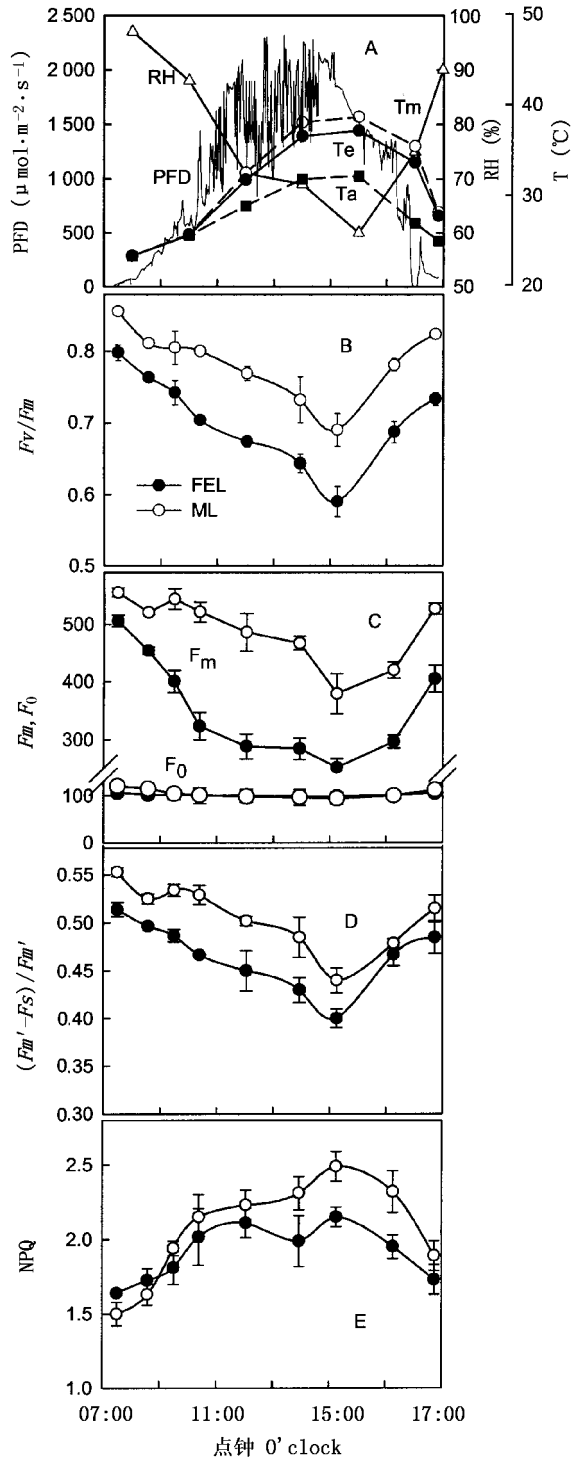


图 3 不同田间环境条件下绒毛番龙眼叶片荧光参数的日变化 (2001-09-28)

Fig.3 Diurnal changes of chlorophyll fluorescence parameters (means \pm SD , $n = 3$) in leaves of *Pometia tomentosa* (September 28 , 2001) under different field environmental conditions

RH 相对湿度 Relative humidity Tm :成熟叶的温度 Temperature of mature leaves Te :全展嫩叶温度 Young fully expanded leaves Ta :空气温度 Air temperature NPQ :非光化学猝灭系数 Non-photochemical quenching FEL、ML : 同图 2 See Fig.2

的主要原因。而成熟叶非光化学猝灭系数 NPQ 在上午低光时($< 400 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)比全展嫩叶小 ,

但在高光下上升较快。午间约 4 h 的强光照射后 , 全展嫩叶和成熟叶的光化学效率 F_v/F_m 分别比清晨下降了 17.6%、18.1 % , 下降的比率没有显著差异 ($p > 0.05$) , 傍晚 7:00 左右绒毛番龙眼两种叶片 F_v/F_m 都恢复到清晨值的 95% 以上。

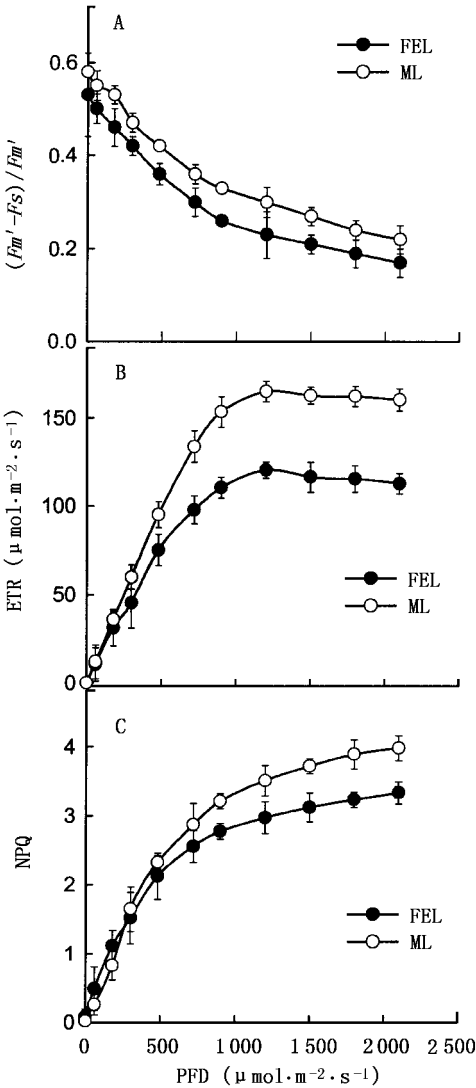


图 4 绒毛番龙眼叶片荧光参数对光强的光响应曲线
Fig.4 The response of actual quantum yield [$(F_m' - F_s) / F_m'$], apparent electron transport rate (ETR) and non-photochemical quenching (NPQ) to photon flux density (PFD) in the leaves of *Pometia tomentosa* (means \pm SD, $n = 2$)
FEL, ML: 同图 2 See Fig.2

适宜温度下的荧光响应曲线表明 : 在一定的光强下 , 全展嫩叶的实际光化学效率 ($F_m' - F_s) / F_m'$ 、电子传递速率 ETR 值和非光化学猝灭系数 NPQ 比成熟叶的小 (图 4A、B、C) , 这表明冠层成熟叶的光能利用能力比伸展叶的大 , 非辐射耗散过剩光能的能力也强。

2.3 田间午间强光对部分保护酶活性和叶片膜脂

过氧化的影响
午间强光和高温后 , 绒毛番龙眼两种叶片保护酶 SOD、APX 活性仍有所升高 (图 5A) 。 其中 , 全展嫩叶和成熟叶的 SOD 活性增大到原来的 1.5、1.4 倍 , 全展嫩叶的 APX 活性比成熟叶高 , 午后分别增大到原来的 1.8、1.2 倍。两种叶片 H_2O_2 的含量变化不大 , 而成熟叶的 MDA 含量比全展嫩叶稍高 , 午后全展嫩叶的 MDA 含量变化不大 , 而成熟叶的 MDA 含量有所上升 (图 5B) 。

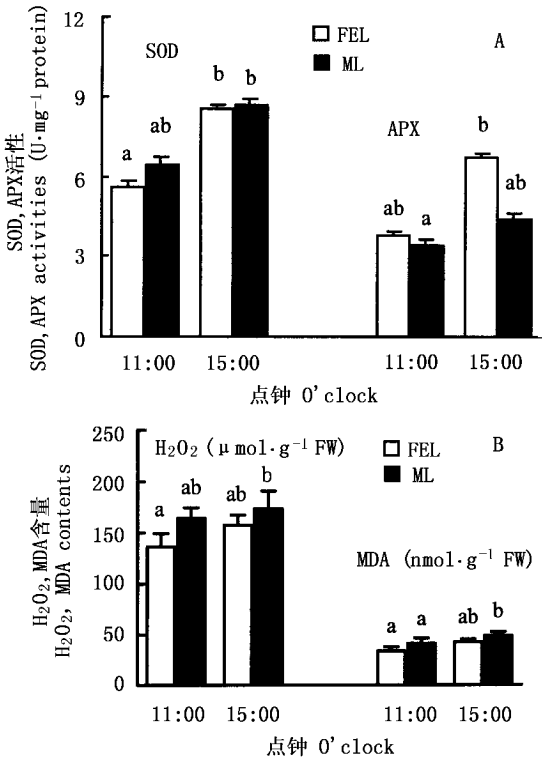


图 5 田间午间强光对保护酶 (SOD、APX) 活性和膜脂过氧化作用的影响
Fig.5 The effects of filed strong light in midday on the activities of protective enzymes (SOD、APX) and lipid peroxide in young fully expanded leaves and mature leaves
FEL, ML: 同图 2 See Fig.2

2.4 DTT 对绒毛番龙眼光抑制的影响以及两种发育阶段的叶片对强光和温度敏感性的差异

1.5 h 的强光照射使全展嫩叶和成熟叶的光化学效率 F_v/F_m 分别下降了 8.5%、7.9% , 而强光下用 DTT 处理使其荧光参数 F_v/F_m 分别下降了 15.2%、18.9% (图 6) 。 与单一强光照射相比 , DTT 处理显著降低了绒毛番龙眼叶片的 F_v/F_m 值 , 这表明抑制玉米黄质的形成后光抑制程度加重 , 成熟叶抑制的程度比全展嫩叶大。

一定温度下 (25 ℃) , 经强光照射 1.5 h 后 , 两种不同类型的叶片光化学效率均呈下降趋势 (图 7) 。

其中,全展嫩叶的光化学效率下降了 12.3%,而成熟叶下降了 10.8%,两种叶片下降的比率存在显著差异($p < 0.05$)。在弱光下恢复 4 h 后,成熟叶恢复到原初值的 95.8%,而伸展叶只恢复了 91.7%。全展嫩叶经强光照射下降的比比较大,在弱光下恢复慢,说明全展嫩叶对强光比成熟叶敏感。

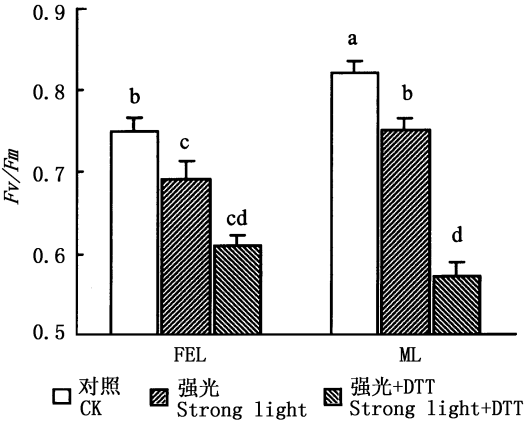


图 6 强光和 DTT 处理对绒毛番龙眼 PS II 光化学效率的影响
Fig.6 The effect of strong light ($1\,800\,\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) and DTT on the photochemical efficiency (F_v/F_m) in the leaves of *Pometia tomentosa* (means \pm SD, $n = 3$)
FEL, ML: 同图 2 See Fig.2

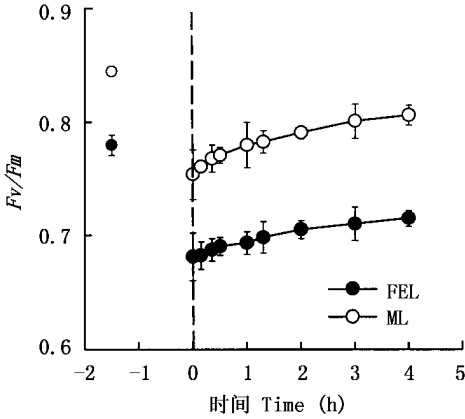


图 7 1.5 h 强光处理对绒毛番龙眼离体叶片光抑制程度及在弱光下恢复的影响
Fig.7 The effects of 1.5 h strong light ($1\,800\,\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) treatment on photoinhibition and its recovery in weak light ($15\,\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) in detached leaves of *Pometia tomentosa* (means \pm SD, $n = 3$)
FEL, ML: 同图 2 See Fig.2

强光下绒毛番龙眼两种叶片光化学效率的适应温度为 $25\,^{\circ}\text{C}$ 左右,而在 $37\,^{\circ}\text{C}$ 高温下,成熟叶和全展嫩叶的光化学效率分别比 $25\,^{\circ}\text{C}$ 时降低了 7.9%、12.6%。再增加 $3\,^{\circ}\text{C}$ 时,成熟叶的光化学效率又降低了 1.5%,全展嫩叶则降低了 4.7%(图 8)。在高温下全展嫩叶的光化学效率下降的比率大,说明全展嫩叶对高温更为敏感。

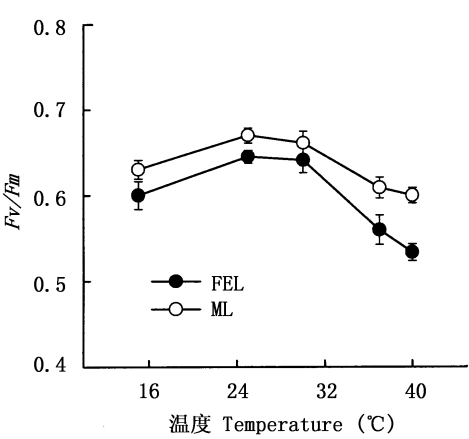


图 8 不同温度下强光对绒毛番龙眼离体叶片光化学效率的影响
Fig.8 The effects of temperature on photochemical efficiency in detached leaves of *Pometia tomentosa* were exposed to strong light ($1\,800\,\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) under various temperatures (means \pm SD, $n = 2$)
FEL, ML: 同图 2 See Fig.2

3 讨 论

3.1 绒毛番龙眼两种不同发育阶段叶片的光抑制

在热带森林里,有很多植物叶片捕光系统在叶完全伸展后仍没有完成(Kursar & Coley, 1992)。延缓变绿(Delayed greening)是很多植物叶片发育的典型特征,延缓变绿叶的叶绿素和 1,5-二磷酸核酮糖羧化氧化酶(Rubisco)含量仅是普通绿叶的 10% ~ 20%(Kursar & Coley, 1995)。绒毛番龙眼全展嫩叶的叶面积与成熟叶没有差别,而叶绿素含量仅为成熟叶的 1/3。另外,羧化效率的大小是叶片中 Rubisco 含量多少的指标(Farquhar & Sharkey, 1982),全展嫩叶羧化效率低说明叶片中活化的 Rubisco 量小,可见绒毛番龙眼全展嫩叶表现出延缓变绿现象。同时,成熟叶羧化效率高说明光合作用的羧化限制程度小,而气孔密度和保卫细胞长度没有区别,气孔导度高,其光合速率也较高(表 1,图 2),说明气孔导度是其光合作用有所区别的另一重要限制因素。

光化学效率(F_v/F_m)降低是光抑制最明显的特征之一(Osmond, 1994)。上午随光强的增加,绒毛番龙眼叶片 F_v/F_m 降低。雨季晴天中午光强远远高于叶片光合作用的饱和光强(成熟叶约 $1\,650\,\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)。过剩光能使 F_v/F_m 降低,在 15:30 左右达到最低点,表明光系统 II 的功能发生了光抑制。光抑制的发生可能是光合机构遭受过量光能破坏的结果(Baker, 1991),也可能是保护光合机构免于破坏的保护性反应(Osmond, 1994; Demmig-Adams & Adams, 1992)。一般认为自然条件下,植物的多种保护机制可能足以防止光合机构反应中心发生明显的破坏(Demmig-Adams & Adams, 1992; Long et al.,

1994) ,光化学效率整夜未恢复的现象很少见(Krause *et al.* , 1995 ; Lovelock *et al.* , 1994) 绒毛番龙眼也不例外 ,即使经过雨季午间强光高温的环境 ,其发生光抑制的机理仍可能是以非辐射能量耗散为主。因为一天中两种不同发育阶段叶片 F_0 变化很小 ,光系统 II 的光化学效率 F_v/F_m 在下午随光强的减弱和温度的降低均升高 ,光抑制得到缓解 ,在 19:00 时基本恢复(图 3B) ,表明光合器官没有受到明显的光氧化破坏。可见 绒毛番龙眼叶片光合作用的光抑制是保护光合机构免于破坏的保护性反应。

在除光以外没有其它胁迫因子同时存在的自然条件下 ,依赖叶黄素循环的非辐射能量耗散的增加可能是大多植物主要的保护机制(Demmig & Adams , 1992 ; 许大全等 , 1992 ; 郭连旺等 , 1994) 。叶绿素荧光检测的非光化学猝灭系数 NPQ 与非辐射能量耗散速度常数成比例 ,并与玉米黄质的含量密切相关(Demmig-Adams *et al.* , 1990 ; Brugnoli *et al.* , 1998) 。清晨绒毛番龙眼两种叶片 NPQ 最低 ,随光强的增大 ,NPQ 升高 ,表明一天当中叶片通过热耗散消耗掉的光能逐渐增加。用玉米黄质形成的专一抑制剂 DTT(Demmig-Adams *et al.* , 1990) 处理离体叶片时 ,光抑制程度明显增大(图 6) ,表明依赖叶黄素循环在防止光合机构的破坏中起重要作用。其中 ,成熟叶的 NPQ 值大(图 3E ,图 4C) ,DTT 处理时光抑制程度加重(图 5) ,这可能与其较高的玉米黄质含量有关。而在上午低光强时全展嫩叶的 NPQ 较大(图 3E ,图 4C) ,其原因需进一步探讨。

在实验条件下 ,全展嫩叶比成熟叶对强光和高温的敏感性强(图 7 ,图 8) ,特别在较高温度下轻微的升温明显加剧了强光下的光抑制(图 8) 。而自然条件下 ,全展嫩叶和成熟叶的光抑制程度相似。这可能与伸展叶叶绿素含量低、颜色浅有关 ,浅颜色限制叶温的升高(图 3A) (Tardy *et al.* , 1998) 而导致自然条件下低的叶温 ,对其光抑制可能起保护作用。

3.2 自然条件下的两种叶片保护酶的反应和膜脂过氧化作用

O_2^- 的产生是光合电子传递的必然结果(Asada , 1999) 。SOD 是叶绿体中清除 O_2^- 的主要酶 ,SOD 活性与植物抗逆性密切相关 ,它对植物叶片光合作用具有保护作用(邹琦等 , 1995) 。植物体内 SOD 活性随细胞内 O_2^- 浓度的增加而增加已为很多实验所证实(Bowler *et al.* , 1992) 。即使经过自然条件下午间强光和高温 ,绒毛番龙眼叶片 SOD 活性仍有所升高 ,间接表明了细胞内 O_2^- 水平的提高(图 5A) ,同

时又是 Mehler 反应运转加强的体现。SOD 清除 O_2^- 的同时会产生 H_2O_2 ,它是光合作用的抑制剂 ,如不及时清除 ,在很短时间内就会抑制光合作用。APX 是植物叶绿体中清除 H_2O_2 的关键酶(Neubauer & Yamamoto , 1992) 。午后绒毛番龙眼全展嫩叶 APX 酶活性升高 ,成熟叶 APX 酶也维持较高的活性 ,而 H_2O_2 含量变化较小(图 5B) ,这表明 APX 活性升高清除了一部分 H_2O_2 。 H_2O_2 的产生和分解是植物叶绿体对过剩光能的一种重要耗散过程(Schreiber *et al.* , 1995 ; Fryer *et al.* , 1998) ,它作为一个减轻光抑制损伤的反应而起作用。全展嫩叶叶绿素含量低 ,捕光能力弱 ,光化学效率低(图 3D ,图 4A) ,在高光下形成的单线态氧少些 ,同时它的保护酶活性较高(图 5A) ,因而受光破坏的可能性小 ,其较少的膜脂过氧化产物也可以说明这一点(图 5B) 。虽然 Mehler 反应被认为可起光保护作用(Osmond & Grace , 1995 ; Asada , 1999) ,但也有研究表明田间通过 Mehler 反应耗散过剩光能防御光破坏的作用是有限的(陶宗娅等 , 2001 ; Wiese *et al.* , 1998) ,因此 ,本研究中田间绒毛番龙眼叶片通过 Mehler 反应在耗散过剩光能的方面是否起重要作用有待于进一步研究。

综上所述 ,热带雨林冠层树种绒毛番龙眼的全展嫩叶和成熟叶表现出明显不同的解剖和生理特性。在雨季强光高温的自然条件下 ,两种不同发育阶段叶片的光合作用都发生了明显的光抑制 ,这种光抑制是非辐射能量耗散增加引起的保护光合机构免受光破坏的结果。虽然全展嫩叶对强光和高温比成熟叶敏感 ,但两种发育阶段叶片田间的光抑制程度相似。全展嫩叶较低的光能利用效率、较低的叶温和高的保护酶活性减轻了自然条件下强光和高温的光抑制程度。

参 考 文 献

- Amon, D. I. 1976. Copper enzymes in isolated polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Planta*, **24**: 1 ~ 15.
- Asada, K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **50**: 601 ~ 639.
- Baker, N. R. 1991. A possible role for photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis. *Physiologia Plantarum*, **81**: 563 ~ 570.
- Bowler, C., M. V. Montagu & D. Inze. 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **43**: 83 ~ 92.
- Brodrick, T. & R. S. Hill. 1997. Light response characteristics of a morphologically diver group of southern hemisphere conifers as measured by chlorophyll fluorescence. *Oecologia*, **110**: 10 ~ 17.

- Brugnoli, E., A. Scartazza, C.D. Tullio, M.C. Monteverdi, M. Lauteri & A. Augusti. 1998. Zeaxanthin and non-photochemical quenching in sun and shade leaves of C_3 and C_4 plants. *Physiologia Plantarum*, **104**: 727 ~ 734.
- Damatta, F.M., M. Maestri & R.S. Barros. 1997. Photosynthetic performance of two coffee species under drought. *Photosynthetica*, **34**: 257 ~ 264.
- Demmig-Adams, B., W.W. Adams III., U. Heber, S. Neimanis, K. Winter, A. Krüger, F.C. Czygan, W. Bilger & O. Björkman. 1990. Inhibition of zeaxanthin formation and of rapid changes in radiationless energy dissipation by dithiothreitol in spinach leaves and chloroplast. *Plant Physiology*, **92**: 293 ~ 301.
- Demmig-Adams, B. & W.W. Adams III. 1992. Photoprotection and other responses of plant to high light stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **43**: 599 ~ 626.
- Farquhar, S.P. & T.D. Sharkey. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology*, **33**: 317 ~ 345.
- Fryer, M.J., J.R. Andrews, K. Oxborough, D.A. Blowers & N. R. Baker. 1998. Relationship between CO_2 assimilation, photosynthetic electron transport, and active O_2 metabolism in leaves of maize in the field during periods of low temperature. *Plant Physiology*, **116**: 571 ~ 580.
- Gamon, J. A. & R. W. Pearcy. 1989. Leaf movement, stress avoidance and photosynthesis in *Vitis californica*. *Oecologia*, **79**: 475 ~ 481.
- Giannopolitis, C.N. & S. K. Ries. 1977. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, **59**: 309 ~ 315.
- Guo, L.W. (郭连旺), D.Q. Xu(许大全) & Y.G. Shen(沈允钢). 1996. Photoinhibition of photosynthesis without net loss of D1 protein in wheat leaves under field conditions. *Acta Botanica Sinica(植物学报)*, **38**: 196 ~ 202. (in Chinese with English abstract)
- Guo, L.W. (郭连旺) & D.Q. Xu(许大全). 1994. Photoinhibition of photosynthesis in *Viburnum odoratissimum* leaves under field conditions. *Acta Phytophysiological Sinica (植物生理学报)*, **20**: 46 ~ 54. (in Chinese with English abstract)
- Krause, G.H., A. Virgo & K. Winter. 1995. High susceptibility to photoinhibition of young leaves tropical forest trees. *Planta*, **197**: 583 ~ 591.
- Kursar, T.A. & P.D. Coley. 1992. Delayed greening in tropical leaves: an antiherbivory defense? *Biotropica*, **24**: 256 ~ 262.
- Kursar, T.A. & P.D. Coley. 1995. The cost of leaf construction in shade-tolerant rainforest plants. *American Naturalist*, **141**: 421 ~ 435.
- Lin, Z.F. (林植芳), S.S. Li (李双顺) & G.Z. Lin (林桂珠). 1988. The accumulation of hydrogen peroxide in senescing leaves and chloroplasts in relation to lipid peroxidation. *Acta Phytophysiological Sinica (植物生理学报)*, **14**: 16 ~ 22. (in Chinese with English abstract)
- Long, S.P., S. Humphries & P.G. Falkowski. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **45**: 633 ~ 662.
- Lovelock, C.E., M. Jebb & C.B. Osmond. 1994. Photoinhibition and recovery in tropical plant species: response to disturbance. *Oecologia*, **97**: 297 ~ 307.
- Maxwell, K. & G.N. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, **51**: 659 ~ 668.
- Meng, Q.W., W. Engelbert, Q. Zou & S.J. Zhao. 1999. Photoinhibition and photoprotection in *Ginkgo biloba* leaves: influence of temperature, CO_2 and O_2 . *Acta Botanica Sinica(植物学报)*, **41**: 398 ~ 404.
- Meng, Q.W. (孟庆伟), S.J. Zhao(赵世杰), C.C. Xu (许长城) & Q. Zou(邹琦). 1996. Photoinhibition of photosynthesis and protective effect of photorespiration in winter wheat leaves under field conditions. *Acta Agronomica Sinica (作物学报)*, **22**: 470 ~ 475. (in Chinese with English abstract)
- Neubauer, E. & H.Y. Yamamoto. 1992. Mehler-peroxide reaction mediates zeaxanthin formation and zeaxanthin-related fluorescence quenching in intact chloroplasts. *Plant Physiology*, **99**: 13 ~ 54.
- Osmond, C.B. 1994. What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. In: Baker, N.R. & J. R. Bowyer eds. *Photoinhibition of photosynthesis from molecular mechanisms to the field*. Oxford: Bios Scientific Publishers. 1 ~ 24.
- Osmond, C.B. & S.C. Grace. 1995. Perspectives on photoinhibition and photorespiration in the field: quintessential inefficiencies of the light and dark reactions of photosynthesis? *Journal of Experimental Botany*, **46**: 1351 ~ 1362.
- Schreiber, U., H.K. Hormann, K. Asada & C. Neubauer. 1995. O_2^- dependent electron flow on intact spinach chloroplasts: properties and possible regulation of the Mehler-ascorbate peroxidase cycle. In: Mathis, P. ed. *Photosynthesis: from light to biosphere*. Vol. II. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 813 ~ 818.
- Shen, W.B. (沈文飏), L.L. Xu(徐郎莱), M.B. Ye(叶茂炳) & R.X. Zhang(张荣铎). 1996. Study on determination of ASP activity. *Plant Physiology Communication (植物生理学通讯)*, **32**: 203 ~ 205. (in Chinese with English abstract)
- Tao, Z.Y. (陶宗娅) & Q. Zou (邹琦). 2001. Roles of Mehler reaction in dissipating excess light energy in soybean leaves. *Acta Phytophysiological Sinica (植物生理学报)*, **27**: 66 ~ 72. (in Chinese with English abstract)
- Tao, H.Z. (陶汉之). 1991. Studies on the diurnal variations of the photosynthesis of tea plant (*Camellia sinensis*). *Acta Agronomica Sinica (作物学报)*, **17**: 444 ~ 452. (in Chinese with English abstract)
- Tardy, F., A. Creach & M. Havaux. 1998. Photosynthetic pigment concentration, organization and interconversions in a pale green Syrian landrace of barley (*Hordeum vulgare* L. Tardmor) adapted to harsh climate conditions. *Plant, Cell and Environment*, **21**: 479 ~ 489.
- Wang, Y.R. (王以柔), H.X. Liu(刘鸿先), P. Li(李平), S. X. Zeng(曾韶西), L.P. Zhen(甄立平) & J.Y. Guo(郭俊彦). 1986. The effect of chilling stress on membrane-lipid peroxidation of photosynthetic apparatus in rice seedlings in the dark and light. *Acta Phytophysiological Sinica (植物生理学报)*, **12**: 244 ~ 251. (in Chinese with English abstract)
- Wiese, C., C.B. Shi & U. Heber. 1998. Oxygen reduction in the Mehler reactions is sufficient to protect photosystem I and II of leaves against photoinhibition. *Physiologia Plantarum*, **102**: 437 ~ 446.
- Wu, B. X. (吴邦兴). 1991. Studies on the vertical structure of seasonal rain-forest in Xishuangbanna of Yunnan. *Acta Botanica Sinica(植物学报)*, **33**: 232 ~ 239. (in Chinese with English abstract)
- Wu, Z.Y. (吴征镒) & Y.C. Zhu(朱彦丞). 1987. Yunnan vegetation. Beijing: Science Press. 109 ~ 143. (in Chinese)
- Xu, D.Q., B.J. Xu & Y.G. Shen. 1990. Diurnal variation of photosynthetic efficiency in C_3 plants. *Acta Phytophysiological Sinica (植物生理学报)*, **16**: 1 ~ 5.
- Xu, D.Q. (许大全), Y.Z. Zhang(张玉忠) & R.X. Zhang(张荣铎). 1992. Photoinhibition of photosynthesis in plants. *Plant Physiology Communication (植物生理学通讯)*, **28**: 237 ~ 243. (in Chinese)
- Zou, Q. (邹琦), C.C. Xu(许长城), S.J. Zhao(赵世杰) & Q. W. Meng (孟庆伟). 1995. The role of SOD in protecting the photosynthetic apparatus of soybean leaves from midday high light stress. *Acta Phytophysiological Sinica (植物生理学报)*, **21**: 397 ~ 401. (in Chinese with English abstract)