

遮荫下 2 种热带树苗叶片光合特性和 抗氧化酶系统对自然降温的响应

蔡志全 曹坤芳

(中国科学院西双版纳热带植物园 勐腊 666303)

摘 要: 选取 2 种遮荫条件下(8%、25%全光照)西双版纳地区热带雨林上层树种滇南红厚壳和中层树种玉蕊的幼苗,测定了雨季末自然降温过程中 2 种植物叶片光合特性、抗氧化酶(SOD、CAT、APX)活性、丙二醛(MDA)含量的变化。研究结果表明:低温使 2 种植物单位面积叶绿素含量和净光合速率明显下降,生长在中等光强下的幼苗比低光强下的幼苗下降的比率大,滇南红厚壳比玉蕊下降的比率大。在降温初期,即从 10 月到 12 月初,2 种光强下 2 种植物 SOD 和 APX 活性上升,CAT 活性出现波动,黎明光化学效率和 MDA 含量基本没有变化,光合机构没有受到氧化破坏。12 月末,中等光强下滇南红厚壳黎明光化学效率降低,SOD 和 APX 活性有所下降,MDA 含量显著上升;而低光强下的滇南红厚壳和 2 种光强下玉蕊 SOD 和 APX 活性仍在上升,MDA 含量变化较小。这表明,2 种光强下 2 种热带树苗是以不同的方式响应自然降温,低温对中等光强下的植物比低光强下的影响大,上层树种滇南红厚壳受到的影响比中层树种玉蕊大。同时,根据降温过程中抗氧化酶活性和 MDA 含量的变化,大致可将西双版纳热带雨林幼苗对低温的响应分为 2 个阶段,即第 1 阶段为低温适应阶段,抗氧化酶活性上升,光合机构没有受到明显的氧化破坏;第 2 阶段,中等光强下滇南红厚壳抗氧化酶活性有所下降,MDA 含量上升,黎明光化学效率有所下降,光合机构有所伤害,这时采取必要的防范措施是很有必要的。

关键词: 热带树种, 幼苗, 遮荫, 自然降温, 抗氧化酶, 膜脂过氧化, 光化学效率

中图分类号:S718.43

文献标识码:A

文章编号:1001-7488(2004)01-0047-05

The Response of Photosynthetic Characteristics and Enzymatic Antioxidant System in Leaves of Two Tropical Seedlings Growing in Shade Conditions as Temperature Fall

Cai Zhiquan Cao Kunfang

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

Abstract: Two tropical seedlings, *Calophyllum polyanthum*, the canopy species, and *Barringtonia macrostachya*, the middle layer species, growing in man-made shade conditions (8%, 25% of full sunlight) were investigated through the whole fog season between October 2000 and December 2001 by monitoring the photosynthetic characteristics, antioxidant enzyme activities of SOD, CAT and APX, and MDA content as temperature fell in Xishuangbanna, SW China. Leaves were sampled at approximately 30 days interval. The net photosynthetic rate and chlorophyll content of two species declined markedly in late December compared with those in October. The photochemical efficiency in dawn was not different statistically in fog season except for *C. polyanthum* growing in moderate light conditions, indicating that PSII was not damaged by photoinhibition under chilling due to the protective responses of the photosynthetic system to the stress. SOD and APX activities in leaves of both species increased from October to early December, and MDA content did not change greatly during this period. While in late December, SOD and APX activities in leaves of plants growing in moderate light declined, and MDA content increased. But CAT activity fluctuated through the whole fog season. APX was important scavengers for this study. A strong positive correlation occurred between APX activities and lowest ambient temperatures, suggesting that this enzyme was temperature-regulated, and the decline of CAT activity did not mean the decline of scavenging oxygen enzymes. According to the data of net photosynthetic parameters, enzymatic activities and MDA content, we concluded that the canopy species, *C. polyanthum*, was affected more significantly by low temperature than the middle layer species, *B. macrostachya*, and the seedlings growing in moderate light were affected more significantly by low

收稿日期:2002-02-25。

基金项目:中国科学院“百人计划”部分项目资助。

temperature than those growing in low light. The results provided evidence for the ability of the tropical rainforest seedlings to activate enzymatic defense mechanisms to limit the production of free radicals to protect membrane integrity under chilling stress. The protective role of the decline of the chlorophyll was also discussed.

Key words: Tropical tree species, Seedlings, Shading, Temperature fall, Antioxidant enzyme, Lipid peroxidation, Photochemical efficiency

6~10 低温可使有些热带植物遭受冷害,甚至致死(Crawford,1989)。西双版纳(21°09'~22°36'N,99°58'~101°50'E)位于云南省南部,属北热带西南季风气候。1 a中有干季(雾凉季11—2月,干热季3—4月)和雨季(5—10月)之分(张克映,1966)。该地的热带雨林是分布在热带北缘水热和海拔高度极限条件下的森林类型(Cao *et al.*,1997),不仅受季节性干旱的影响,而且还受低温的影响(朱华,1990)。雾凉季最低温可达2℃(1999年)。低温常使当地植物发生寒害,而这时的光仍很强。叶片是植物体对低温最敏感的器官之一(Sakai *et al.*,1987),低温下植物光合能力减弱,而叶片对光能的吸收却受温度的影响较小(Baker,1994),叶片吸入的光能如不能用于光合作用,会使光合机构的光化学效率降低。不能被耗散掉的过量光能还会引起叶绿体的光氧化,产生活性氧,损伤光合机构(Long *et al.*,1994)。植物抗寒能力与其对氧自由基的清除能力密切相关(周瑞莲等,2001)。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)等能有效地清除这些有害物质,是酶促防御系统的重要组成部分,被称为保护酶系统(Fridovich,1975)。

幼苗是植物生活史中对低温最敏感的时期。因为这时低温导致的低温光抑制会使生长期缩短并延迟冠层的形成,在以后的生长期也很难弥补,这样植物吸收利用光能的能力减弱,从而生产力下降(Wolfe,1991)。本研究采用西双版纳热带雨林常见的上层树种滇南红厚壳(*Calophyllum polyanthum*)和中层树种玉蕊(*Barringtonia macrostachya*)的幼苗为材料,通过测定雾凉季气温变化过程中遮荫条件下2种幼苗光合特性和叶片中抗氧化酶活性以及MDA含量的季节变化,分析光合特性和抗氧化酶系统对自然低温的响应,以解释自然低温对热带植物叶片光合机构不利的机制,为热带地区的生物多样性维持、植物引种驯化提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

西双版纳热带雨林上层种滇南红厚壳和中层种玉蕊的幼苗盆栽于用黑色尼龙网眼布遮荫的大棚中,于2000年6月初栽种,每盆1株,每种光处理20~30盆,常规水肥管理。遮光处理分别为自然全光照的8%、25%(分别用低光强和中等光强表示)。取植株顶端同龄成熟叶为实验材料,从2000年10月中旬到2001年1月下旬,每隔30d左右取一次植物叶样(共4次)。为避免午间光照的影响,取样时间为8:00—9:00。

1.2 测定方法

由高低温度计每天记录荫棚的日最高、最低温度。在取植物样的同时测定其光合特性。测定前经 $100 \sim 300 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的光充分诱导,用Li-6400光合作用分析系统(美国LICOR公司)分别于10月和12月末在不同PFD($0 \sim 1500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)下测定叶片的净光合速率,作出光响应曲线。表观量子效率(AQY)以低光(小于 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)下的光合速率与PFD的比值为准。用便携式脉冲调制荧光仪FMS-2(英国Hansatech公司)测定叶绿素a的荧光。叶片暗适应15min后用弱测量光测定初始荧光(F_0),随后给一个强闪光($5000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,脉冲时间0.7s),测得最大荧光 F_m ,光系统(PS)的光化学效率(F_v/F_m)由仪器自动给出。每个试验重复3~5次。

1.3 分析方法

叶绿素含量,SOD、CAT、APX活性和MDA(丙二醛)含量的测定参见文献(中国科学院上海植物生理研究所等,1999),每个试验重复3次。

2 结果和分析

2.1 自然降温过程中温度的变化

西双版纳地区2000年10月中旬最高气温可达33℃,最低气温22℃。以后气温逐渐降低,到12月末最

低,在 12 月 23 至 27 日期间最高温度为 22 ,最低温度达 9 (图 1)。

2.2 低温对 2 种树苗叶片光合 - 光响应的影响

从图 2 看出,雾凉季最低温度时期(12 月 25 日)2 种生长光强下叶片的光合 - 光响应曲线与雨季(10 月 10 日)差异很大。与雨季相比,光饱和点的净光合速率和表观量子效率在低温期下降(图 2)。中等光强下的滇南红厚壳和玉蕊的光饱和净光合速率分别下降了 28.9%,26.3%,表观量子效率分别下降了 11.3%,8.9%;而低光强下 2 树种光饱和净光合速率分别下降了 14.6%,12.1%,表观量子效率分别下降了 9.6%,6.4%,这说明自然降温对植物光合作用有不利的影响。

2.3 自然降温过程叶片叶绿素含量和 PS 光化学效率的变化

随着温度的降低,2 种光强下 2 树种幼苗叶片的单位面积叶绿素含量明显降低(图 3A),到 12 月末,中等光强和低光强下滇南红厚壳叶绿素含量比雨季(10 月 10 日)分别下降了 23.4%,21.3%,玉蕊则分别下降了 17.3%,15.8%。光系统 (PS) 的光化学效率是表明光化学反应状况的一个重要参数,叶绿素荧光参数 F_v/F_m 的降低是植物发生光抑制的一个显著特征(Long *et al.*, 1994)。与雨季相比,在降温过程中,除了中等光强下滇南红厚壳的最大光化学效率在 12 月末有所变化外,2 树种其余大部分时间的黎明光化学效率非常接近,变化在 0.80~0.84 之间,没有显著差异 [$F = 1.93 < F_{0.05}(8, 28) = 2.29$],均没有 PS 光化学反应的抑制现象(图 3B)。这说明低温期间,低温引起了光合色素含量的下降,但没有显著影响最大光化学效率。

2.4 自然降温过程中保护酶活性和 MDA 含量的变化

低温初期,2 种光强下生长的植物叶片 SOD 和 APX 活性都随气温下降而上升。中等光强下生长的滇南红厚壳和玉蕊 SOD 和 APX 活性在 12 月初达到最高,与 10 月相比,SOD 活性分别上升了 31.0%,29.9%,APX 活性分别上升了 31.5%,33.7%。到 12 月末,SOD、APX 活性有所下降。

而低光强下生长的滇南红厚壳和玉蕊 SOD、APX 活性在低温期一直在上升,SOD 活性比 10 月上升了 27.5%,51.7%,APX 则上升了 47.1%,33.9%。与 SOD、APX 相比,在降温过程中,CAT 活性出现波动性变化。统计分析表明,APX 与最低温度成显著正相关($r = 0.91$)。

从 10 月到 12 月初,2 种光强下 2 种幼苗叶片单位面积 MDA 含量变化很小。12 月末,中等光强下的滇南红厚壳 MDA 含量有较明显升高 [$F = 5.64 > F_{0.05}(3, 11) = 3.59$],中等光强下的玉蕊 MDA 含量则稍有上升;低光强下滇南红厚壳和玉蕊的 MDA 含量变化较小(图 4)。对不同光强下 2 种植物叶片 CAT、APX、SOD 活性和 MDA 含量的相关分析表明,SOD、APX 与膜脂过氧化产物都呈现显著负相关($r_1 = -0.87$, $r_2 = -0.93$)。

3 结论和讨论

3.1 低温对植物光合特性的影响

植物光合作用是受低温影响最明显的过程之一(Berry *et al.*, 1980)。由于热带森林中光强分布的异质性,研究低温对植物光合的影响,生长光强是一个不可忽视的因子。通过生长在 2 种光强下的 2 种植物对自

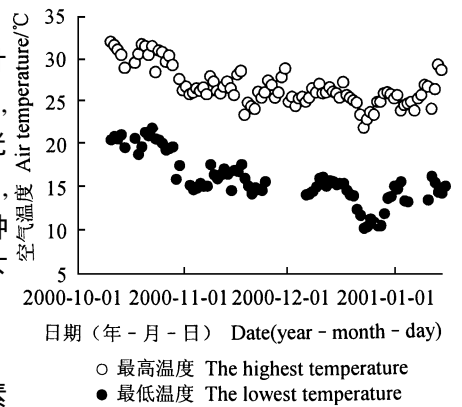


图 1 西双版纳地区 2000 年 10 月到 2001 年 2 月每天中最高气温和最低气温的变化

Fig. 1 The highest and lowest air temperature (every day) of Xishuangbanna from Oct. 2000 to Feb. 2001

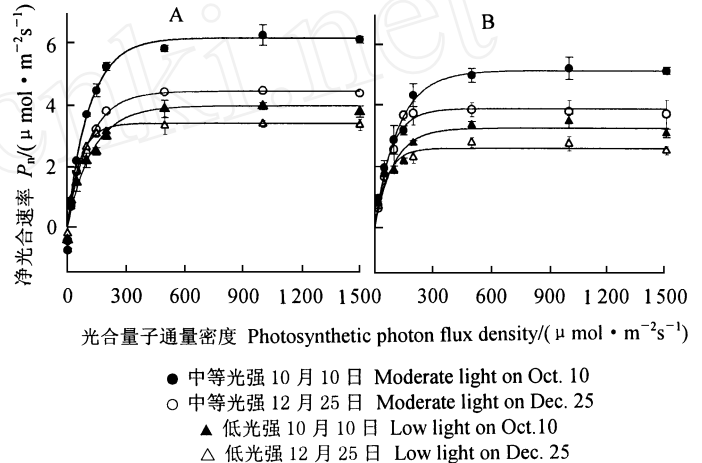
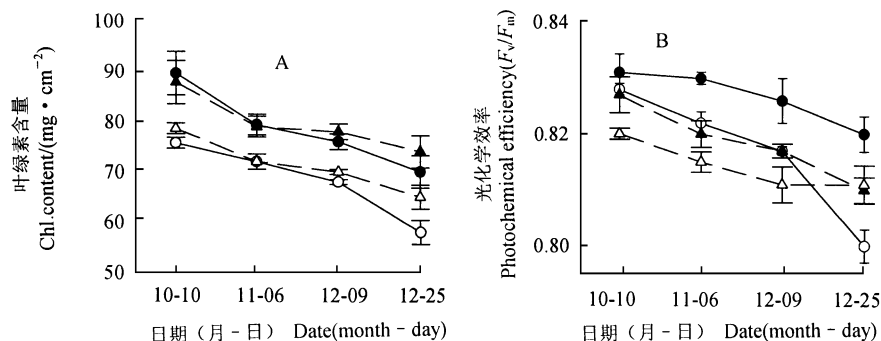


图 2 低温对遮荫下滇南红厚壳(A)和玉蕊(B)净光合速率的影响

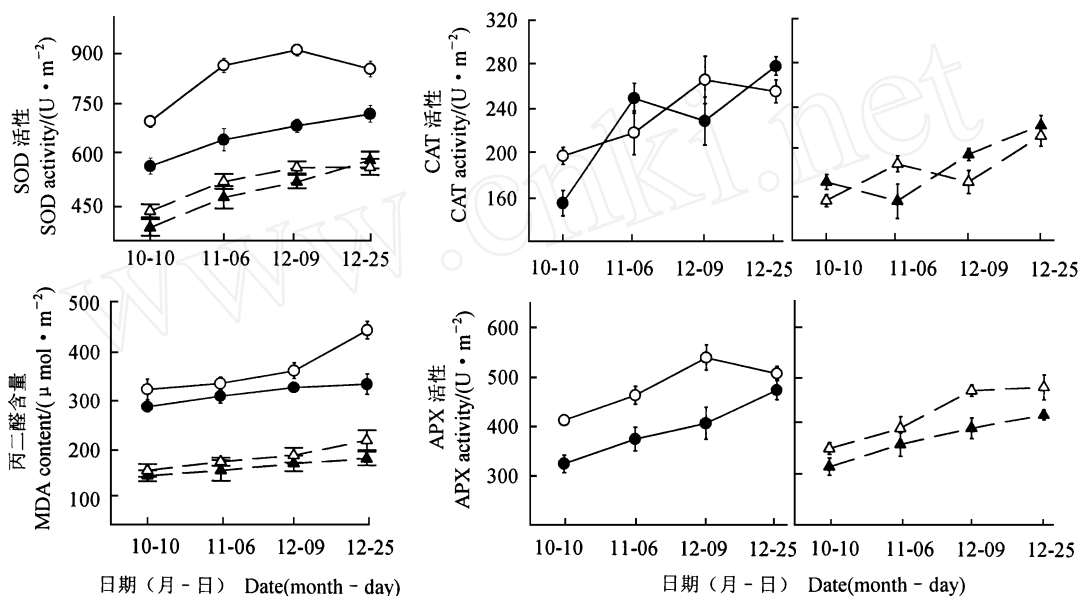
Fig. 2 Effects of low air temperature on net photosynthetic rate in leaves of *C. polyanthum* (A) and *B. macrostachya* (B) growing in shade conditions. Vertical bars showed the standard errors of the mean of 3 replications per treatment. 下同。The same below.



中等光强(○)和低光强(●)下的滇南红厚壳 *C. polyanthum* growing in moderate light(○) and low light(●)
中等光强(△)和低光强(▲)下的玉蕊 *B. macrostachya* growing in moderate light(△) and low light(▲)

图3 自然降温过程中遮荫下滇南红厚壳和玉蕊叶片叶绿素含量(A)和光化学效率(B)的变化

Fig. 3 Changes in chlorophyll contents (A) and PS photochemical efficiency in dawn (B) in leaves of *C. polyanthum* and *B. macrostachya* growing in shade conditions as temperature fall



中等光强(○)和低光强(●)下的滇南红厚壳 *C. polyanthum* growing in moderate light(○) and low light(●)
中等光强(△)和低光强(▲)下的玉蕊 *B. macrostachya* growing in moderate light(△) and low light(▲)

图4 自然降温过程中遮荫下滇南红厚壳和玉蕊叶片保护酶(SOD, CAT, APX)活性和丙二醛含量的变化

Fig. 4 Changes in activities of protective enzymes (SOD, CAT, APX) and malondialdehyde contents in leaves of *C. polyanthum* and *B. macrostachya* growing in shade conditions as temperature fall

然低温响应的研究表明:2种植物在自然降温过程中,叶绿素含量和净光合速率明显下降。生长在中等光强下的幼苗比低光强下的幼苗下降的比率大,滇南红厚壳比玉蕊下降的比率大,说明自然降温对中等光强下的幼苗和上层树种的影响大。除中等光强下滇南红厚壳黎明最大光化学效率在低温末期有所下降外,2种光强下幼苗的 F_v/F_m 变化较小,初始荧光 F_0 也基本没有变化(数据没有显示),说明其光合机构并未受到明显氧化破坏。叶绿素减少的同时减小了吸收的光能,并减轻由过剩光能产生的活性氧对光合机构的伤害,因而有助于提高吸收单位量子光能的保护能力和抗氧化能力(蒋明义等,1994; Munne-Bosch *et al.*, 2000)。叶绿素减少既是对低温胁迫的反应,同时也可能是长期适应低温的响应。本研究中,这种变化是否与减轻活性氧损伤有关需要进一步的证据。

3.2 低温对植物抗氧化系统的影响

很多研究表明 SOD 活性可作为判断植物抗逆性大小的指标(陶大立等,1990; 周瑞莲等,2001)。本研究中,在自然降温初期,植物体内 SOD 活性的升高能更有效地清除活性氧,保护植物细胞免受伤害,这与陶大

立等(1990)和严寒静等(2000)的结论一致。而在低温后期,中等光强下生长的滇南红厚壳 SOD 活性下降,MDA 含量上升,说明植物体内活性氧的产生与清除的动态平衡没有维持在良好的水平。SOD 的下降可能是植物体内积累的高含量活性氧导致叶绿体内的 SOD 失活或降解(Tannaka *et al.*, 1988; 宴斌等,1996)。

高等植物 H_2O_2 的清除主要靠 CAT、APX 等酶催化(Asada,1992)。APX 是叶绿体中清除 H_2O_2 的关键酶(Neubauer *et al.*,1992)。CAT 活性出现波动性变化,APX 活性仍在上升,这可能是机体内补偿因 CAT 活力下降引起的 H_2O_2 不断积累的一种协调性反应。而此时 MDA 含量基本没有变化,细胞没有明显的过氧化破坏,这进一步说明 APX 在保护细胞免受伤害中起重要作用。随着低温的进行,到 12 月末,中等光强下滇南红厚壳 APX 活力下降,MDA 含量上升,说明这时细胞受到一定伤害。APX 与最低温度成显著正相关,说明此酶受温度调控,这与 Peltzer 等(2001)的结论相似。以上说明各酶适应低温的特点不同。SOD、APX 通过提高酶活性来增强保护能力,CAT 则在降温过程中出现不均衡反应,CAT 活性下降并不意味着清除自由基能力的下降。光合机构活性氧的产生是光合电子传递的必然结果(Asada,1992),活性氧的积累与光抑制有着紧密联系(徐志防等,1999; Long *et al.*,1994)。自然低温过程中,除中等光强下滇南红厚壳外,其它植物光合机构没有受到明显损伤,表明保护酶能有效地防御活性氧的损害,因而使活性氧参与低温下叶片光抑制的作用较小。

根据以上结论,大致可以把西双版纳热带木本植物在自然降温过程中的低温适应性分成 2 个阶段。第 1 阶段,是雨季末到 12 月初,随着自然降温,2 种光强下的滇南红厚壳和玉蕊叶片细胞保护酶(SOD、APX)活性上升,黎明光化学效率和 MDA 含量变化不大,此时保护酶有效地清除体内的活性氧,活性氧的产生与清除维持着良好的动态平衡。第 2 阶段,是低温的后期,即 12 月末,中等光强下的植物叶片中保护酶活性有所下降,MDA 含量上升,黎明光化学效率下降,光合机构可能受到伤害。此时有必要采取一定的防范措施。

参 考 文 献

- 蒋明义,杨文英,许江等.渗透胁迫下水稻幼苗叶绿素降解的活性氧破坏.植物学报,1994,36(4):289-295
- 陶大立,新月华.越冬期间三种红松苗木和幼树电子传递活性和 SOD 酶变化的研究.林业科学,1990,26(3):289-293
- 徐志防,罗广华,王爱国等.强光和活性氧对大豆光合作用的影响.植物学报,1999,41(8):862-866
- 严寒静,谈锋.自然降温过程中柃木叶片膜保护系统的变化与半致死温度的关系.植物生态学报,2000,24(1):91-95
- 宴斌,戴秋杰.紫外线 B 对水稻叶组织中活性氧代谢及膜系统的影响.植物生理学报,1996,22(4):373-378
- 张克映.滇南气候特征及其形成因子的初步分析.气象学报,1966,33(2):210-230
- 中国科学院上海植物生理研究所,上海市植物生理学会编.现代植物生理学试验指南.北京:科学出版社,1999
- 周瑞莲,赵哈林,陈国栋.高寒山区植物根抗氧化酶系统的季节变化与抗冻性关系.生态学报,2001,26(6):865-870
- 朱华.西双版纳的热带雨林植被.热带地理,1990,10(3):233-239
- Asada K. Ascorbate peroxidase—A hydrogen peroxide scavenging enzymes in plants. *Physiol Plant*, 1992, 85:235-241
- Baker N R. Chilling stress and photosynthesis. In: Foyer C H, Mullineaux P M (ed). Causes of photooxidative stress and amelioration of defense systems in plants. CRC Press, Boca Raton, 1994: 127-154
- Berry J A, Björkman O. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Ann Rev Plant Physiol*, 1980, 31: 491-543
- Cao M, Zhang J H. Tree species diversity of tropical forest vegetation in Xishuangbanna, SW China. *Biodiv Conserv*, 1997, 6: 995-1006
- Crawford R M. Studies in plant survival, ecological case histories of plant adaptation to adversity. Blackwell Scientific publication, Melbourne, 1989
- Fridovich I. The biology of oxygen radical. *Science*, 1975, 201: 875-880
- Long S P, Humphries S. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mole Biol*, 1994, 45:633-662
- Munne-Bosch S, Alegre L. Changes in carotenoids, tocopherols and diterpenes during drought and recovery, and the biological significance of chlorophyll loss in *Rosmarinus officinalis* plants. *Planta*, 2000, 207: 925-931
- Neubauer E, Yamamoto H Y. Mehler-peroxide reaction mediates zeaxanthin formation and zeaxanthin-related fluorescence quenching in intact chloroplasts. *Plant Physiol*, 1992, 99:13-54
- Peltzer D, Polle A. Diurnal fluctuations of antioxidative systems in leaves of field-grown beech trees (*Fagus sylvatica*): Responses to light and temperature. *Physiol Plant*, 2001, 111: 158-164
- Sakai A, Larcher W. Frost survival of plants, responses and adaptation to freezing stress. Springer-Verlag, Berlin, 1987
- Tannaka K, Suda Y, Kondo N *et al.* O_3 tolerance and the ascorbate-dependent H_2O_2 decomposing system in components of spring wheat under field conditions. *Field Crops Res*, 1988, 57(2): 253-263
- Wolfe D M. Low temperature effects on early vegetative growth, leaf gas exchange and water potential of chilling sensitive and chilling-tolerant crop species. *Ann Bot*, 1991, 67: 205-212