

砂仁不同叶位叶片的光合作用和氧化胁迫

李 志^{1,2} 冯玉龙^{1,2*}

(¹中国科学院西双版纳热带植物园昆明分部, 昆明 650223; ²河北大学生命科学学院, 保定 071002)

摘要:衰老时砂仁叶片 $P_{\max}$ 降低, 这与叶片 G_s 、Chl 含量和可溶性蛋白质含量的降低有关。随着叶片的衰老, NPQ、AQY、 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 和 q_p 均降低, 热耗散减少, 光抑制加剧, 衰老后期出现光破坏。但这些参数下降的幅度均小于 $P_{\max}$ 下降幅度。光暗反应失衡, 活性氧生成增加。衰老初期(老化)叶片 MDA 含量没有升高, 衰老中后期叶片 MDA 含量显著升高, 表明老化叶片能有效地耗散或清除活性氧, 衰老叶片则不能, 尽管其 SOD、APX 和 POD 等抗氧化酶活力显著升高。上述结果表明砂仁叶片老化与氧化胁迫关系不大, 衰老与氧化胁迫密切相关。

关键词: 阳春砂仁; 老化; 衰老; 光合能力; 叶绿素荧光参数; 氧化胁迫

中图分类号: Q945

砂仁(*Amomum villosum* Lour.)属姜科多年生常绿草本植物, 是重要的药材, 喜荫好湿, 只能生长在热带和亚热带林下。砂仁栽培是西双版纳地区重要产业之一, 砂仁收入占少数民族林牧业收入一半左右。然而, 近年来砂仁叶片黄化、植株群体老化、长势衰退导致果实产量降低(王兴文等 1993, 彭建明 1996, 李荣英等 2002), 但已有的研究并未涉及砂仁老化和衰老的生理机制。艾希珍等(1998)对同科植物生姜的研究表明, 叶片衰老时叶绿素含量、光合速率和超氧化物歧化酶活性降低, 丙二醛含量明显升高, 表明活性氧伤害可能是引起生姜叶片衰老的原因。大量研究表明叶片衰老是由氧化胁迫引起的(Buchanan-Wollaston 1997, Quirino 等 2000)。但是叶片老化的机制还不清楚。已知动物老化与线粒体内的氧化胁迫有关(Rustin 等 2000), 植物老化与氧化胁迫的关系知之甚少(Munné-Bosch 和 Alegre 2002)。本试验测定了砂仁不同叶位叶片气体交换参数、叶绿素荧光参数和抗氧化酶活性, 以及叶绿体色素、可溶性蛋白质和丙二醛含量, 分析了各参数的变化规律及其相互关系, 主要关注: 1. 砂仁叶片衰老过程中光合作用降低的原因, 2. 老

化和衰老与氧化胁迫的关系。

1 材料与方法

1.1 自然概况

试验在中国科学院西双版纳热带植物园进行, 该园位于 $21^{\circ} 56' N$, $101^{\circ} 15' E$, 海拔约 600 m, 属北热带西南季风气候, 一年中有明显的干季(11~4 月)和雨季(5~10 月)之分, 年均气温 $21.5^{\circ}C$, 年均相对湿度 86%, 年均降雨量 1500~1600 mm, 80% 集中在雨季。

1.2 试验材料

用黑色尼龙网搭建相对光强(RI)为 36% 的遮荫棚(自然光强为 100%)。2002 年 5 月中旬将具有 1 片或两片小叶的砂仁幼苗(采自热带雨林下)种植在荫棚内体积约 15 L 的花盆中, 以森林表土层(砖红壤)为基质, 常规水肥管理。2003 年 9 月挑选生长健康、长势一致的植株, 从顶部开始依次选取第 1、3、5、7、9、11、15 位叶片为测定叶, 所有测定均做 3 个重复, 数据用 3 片叶的平均值加减一个标准误差表示。本文以叶位表示砂仁叶龄和发育程度。砂仁只有 1 个主茎, 没有分枝, 上部第 1 位叶为刚刚展开的新叶, 叶片柔软, 叶色较浅, 叶面积较小。随着叶位数的增加(下数), 叶面积增大, 第 3~5 位叶的叶面积基本达到了最大值, 叶片柔韧, 已成熟, 随叶位进一步增加, 叶片开始老化并逐渐衰老, 下部叶片枯黄, 已严重衰老。

1.3 气体交换变量的测定

用 Li-6400 便携式光合作用系统(Li-Cor, Inc, 美国)于上午 8:30~10:30 测定叶片的净光合速率(P_n)和气孔导度(G_s), 使用开放气路, 空气流速为 0.5 L/min, 温度 $25^{\circ}C$, 相对湿度 60%, CO_2 浓度 360

2004-02-17 收到, 2004-07-05 接受。

中国科学院“西部之光”人才培养计划项目资助。

* 通讯作者(E-mail: fyl@xtbg.ac.cn; Tel: 0871-5163626)。

$\mu\text{mol}/\text{mol}$ 。测定光强依次为 1 500、1 200、1 000、800、600、400、300、200、100、50、20 和 0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 测定时每一光强照射 180 s。测定前叶片在 600~800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 光强下适应 30 min, 叶片与光源间放着 8 cm 厚的流动隔热水层, 以减少叶片升温。依据 Bassman 和 Zwier (1991) 的方法拟合 P_n -PFD 曲线方程, 计算最大净光合速率($P_{\max}$)和表观量子效率(AQY)。本文 G_s 取 1000~1 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 光强下测定的最大值。

1.4 叶绿素荧光变量的测定

用 FMS 2 型脉冲调制荧光仪(英国 Hansatech 公司)于晴天测定叶绿素荧光, 从 6:00~18:00 每隔 2 h 测定 1 次。叶片暗适应 15 min 后, 用弱测量光测定初始荧光(F_0), 然后给 1 个强闪光(5 000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), 脉冲时间为 0.7 s, 测定最大荧光(F_m)。以植物的生长环境光强为作用光, 测得叶片实际生长光强下的荧光值(F_s); 再给一个强闪光(5 000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 脉冲时间为 0.7 s)后荧光上升到能化类囊体最大荧光(F_m')。暗适应几秒后, 打开远红光, 5 s 后测能化类囊体最小荧光(F_0')。光系统 II (PSII)最大光能转换效率(F_v/F_m)= $(F_m - F_0)/F_m$, 光化学猝灭系数(q_p)= $(F_m' - F_s)/(F_m' - F_0')$ (Schreiber 等 1986), PSII 量子效率(Φ_{PSII})= $(F_m' - F_s)/F_m'$ (Genty 等 1989), 非光化学猝灭系数(NPQ)= $(F_m - F_m')/F_m'$ (Bilger 和 Björkman 1990)。

1.5 叶绿体色素含量的测定

按 Lichtenthaler 和 Wellburn(1983)的方法测定叶片叶绿素和类胡萝卜素含量。

1.6 可溶性蛋白质含量的测定

可溶性蛋白质含量的测定采用考马斯亮蓝染色法(Bradford 1976)。

1.7 丙二醛(MDA)含量的测定

按王以柔等(1986)的方法测定。

1.8 抗氧化酶活性的测定

酶的提取和测定参照冯玉龙等(2001)的方法。超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定参照 Giannopolitis 和 Ries(1977)的方法, 过氧化氢酶(CAT)和愈创木酚过氧化物酶(POD)活性测定参照 Change 和 Machly(1955)的方法, 抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性测定按照 Zhang 和 Kirkham (1996)的方法测定。

2 结果

2.1 不同叶位砂仁叶片的 $P_{\max}$ 、 G_s 和 AQY

砂仁第 1 位叶, 即幼叶, $P_{\max}$ 和 G_s 较低, 随着叶位的增加, 二者均升高, 第 3 位叶达到峰值, 第 5 位叶 $P_{\max}$ 比较稳定, 但 G_s 降低, 从第 7 位叶开始二者迅速降低(图 1)。不同叶位砂仁叶片 AQY 的变化趋势与 $P_{\max}$ 相似(图 1), 但 AQY 下降较晚, 第 7 位叶 AQY 最高。

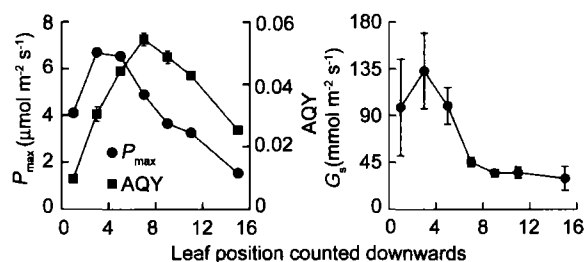


图 1 不同叶位砂仁叶片最大净光合速率($P_{\max}$)、气孔导度(G_s)和表观量子效率(AQY)

Fig.1 The maximum net photosynthetic rate ($P_{\max}$), stomatal conductance(G_s) and apparent quantum yield (AQY) of leaves at different positions in *A. villosum*

The data in this figure and the following figures are each of the mean±standard error of 3 separate measurements.

2.2 不同叶位砂仁叶片的叶绿素荧光变量

砂仁各叶位叶片叶绿素荧光参数均有明显的日变化。无论是上位叶(第 1 位叶)、中位叶(第 3、5、7 位叶)、还是下位叶(第 9、11、15 位叶), 黎明时 F_v/F_m 、 q_p 和 Φ_{PSII} 均最大, 随着日间光强的升高, 上述参数均降低, 降到最低点后随着光强的减弱缓慢上升。18:00 光强较弱时, 各位叶的 F_v/F_m 和 q_p 基本恢复到黎明时的水平, 但 Φ_{PSII} 则不能。与上述参数不同, 黎明时 NPQ 最低, 随着光强的升高 NPQ 升高, 下午光最强时达到最高点, 之后随着光强的减弱逐渐降低。一天内不同时刻下位叶各荧光参数均最低, 中位略高于上位叶(图 2, 其它叶位结果未列出)。

比较各叶位砂仁叶片黎明时的 F_v/F_m , 以及 12:00 的 q_p 、 Φ_{PSII} 和 NPQ 发现, 随着叶位的增加各参数的值升高, 达到最大值后随着叶位的升高而降低(图 3)。第 5 位叶的 q_p 、 Φ_{PSII} 和 NPQ 最高, 第 7 位叶的 F_v/F_m 最高。为更清楚地表示出成熟后

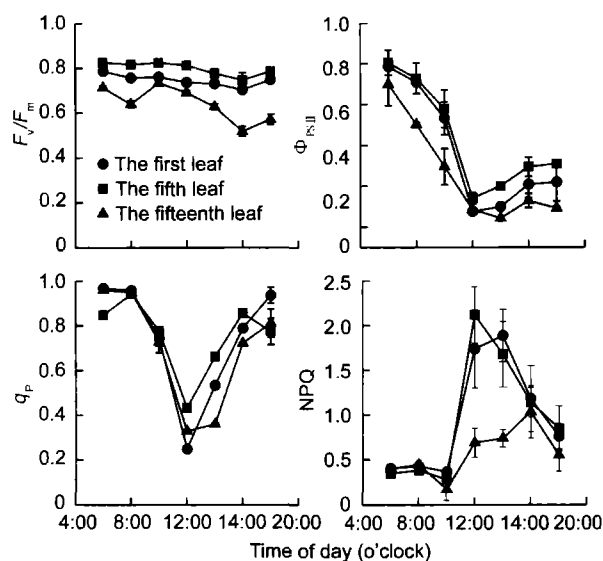


图2 不同叶位砂仁叶片荧光变量的日变化

Fig.2 The diurnal changes in chlorophyll fluorescence variables of leaves at different positions in *A. villosum*

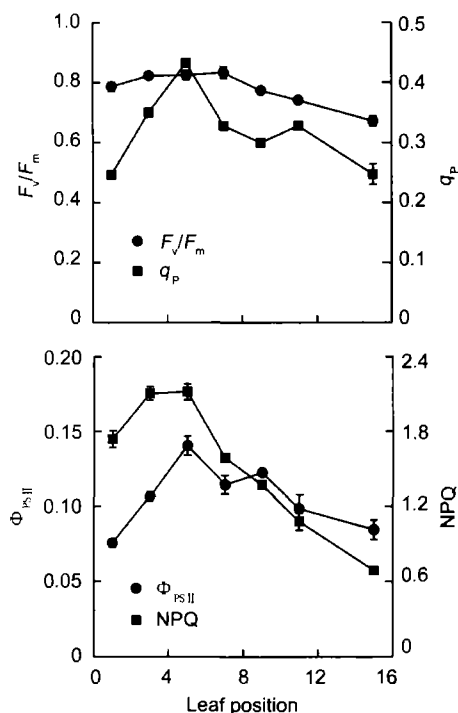


图3 不同叶位砂仁叶片叶绿素荧光变量

Fig.3 Chlorophyll fluorescence variables of leaves at different positions in *A. villosum*

砂仁叶片 P_{max} 和荧光变量下降的先后顺序和幅度, 表1给出了各变量的相对值, 可见衰老时砂仁叶片叶绿素荧光变量的降低比 P_{max} 的降低晚, 而且

表1 不同叶位砂仁叶片 P_{max} 、AQY 和叶绿素荧光变量的相对值(最大值的%)

Table 1 The relative values of P_{max} , AQY, and chlorophyll fluorescence variables of leaves at different positions in *A. villosum* (percent of the maximum value)

Leaf position	P_{max}	AQY	F_v/F_m	q_p	Φ_{PSII}	NPQ
1	61%	18%	94%	57%	54%	82%
3	100%	56%	99%	81%	76%	99%
5	98%	82%	99%	100%	100%	100%
7	73%	100%	100%	76%	82%	75%
9	55%	90%	93%	69%	87%	65%
11	49%	79%	89%	76%	70%	51%
15	23%	46%	81%	57%	60%	33%

它们的降幅也明显小于 P_{max} , 表明衰老时砂仁叶片光合作用光反应受到的影响比光合碳同化小。

2.3 不同叶位砂仁叶片的色素含量

随着叶位的增加砂仁叶片的 Chl 和 Car 含量、Chl a/b 升高, 于第5位叶达到最大值后随叶位增加而降低(图4)。随着叶位的增加 Chl a/b 降低, 表明叶位的增加对 Chl a 的影响更大。第3位叶 Car/Chl 最低, 随叶位增加 Car/Chl 逐渐升高, 表明叶位增加对 Chl 的影响大于对 Car 的影响。

2.4 不同叶位砂仁叶片可溶性蛋白质和MDA含量

随着叶位的增加砂仁叶片可溶性蛋白质含量升高, 第5位叶达到峰值, 之后迅速下降(图5)。第1~7位叶砂仁叶片的 MDA 含量较低, 且较稳定, 之后随着叶位的增加, 其含量明显升高(图5)。MDA 含量明显升高的叶位与可溶性蛋白质含量明显降低的叶位相同(图5)。

2.5 不同叶位砂仁叶片抗氧化酶活性

第1~9位叶的 SOD 活力变化不大, 从第11

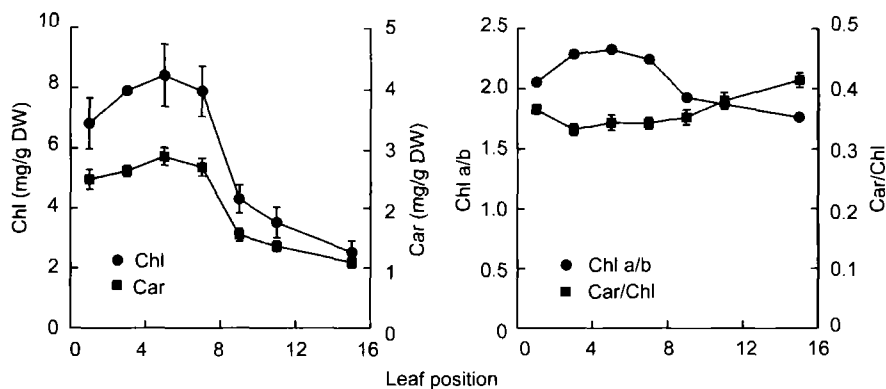


图4 不同叶位砂仁叶片的叶绿素(Chl)、类胡萝卜素(Car)含量及Chl a/b和Car/Chl

Fig.4 The chlorophyll (Chl) and carotenoid (Car) concentrations, Chl a/b and Car/Chl ratios of leaves at different positions in *A. villosum*

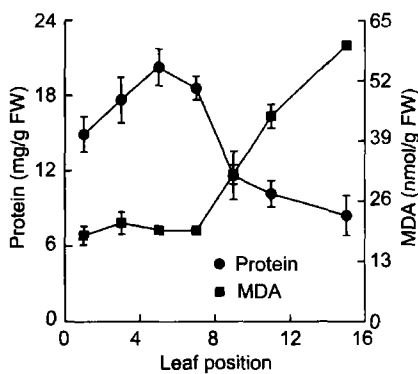


图5 不同叶位砂仁叶片丙二醛(MDA)和可溶性蛋白质含量

Fig.5 The malondialdehyde (MDA) and protein concentration of leaves at different positions in *A. villosum*

位叶开始 SOD 活力略有升高(图 6)。CAT 活力随叶位的增加而升高, 第 7 位叶达到最高值, 以后

大幅度降低。与 SOD 和 CAT 不同, APX 和 POD 的活性随叶位的增加持续升高, 分别于第 9 和 11 位叶达到峰值, 以后开始下降, 但仍保持在较高水平。

3 讨论

砂仁叶片成熟后, 随叶位的增加 P_{max} 、Chl 和可溶性蛋白质含量降低(图 1、4 和 5), 叶片开始衰老。Ackerly 和 Bazzaz (1995)、Kitajima 等 (1997)、Yamashita 等(2002)也发现叶片成熟后光合速率和氮含量逐渐降低。叶氮的大部分分配到光合机构中; 可溶性蛋白质的大部分是光合作用的关键酶 Rubisco, 因此, 叶氮、Chl 和可溶性蛋白质含量的降低可能是衰老叶片光合速率降低的原因。叶氮含量与植物光合能力呈正相关(张亚杰

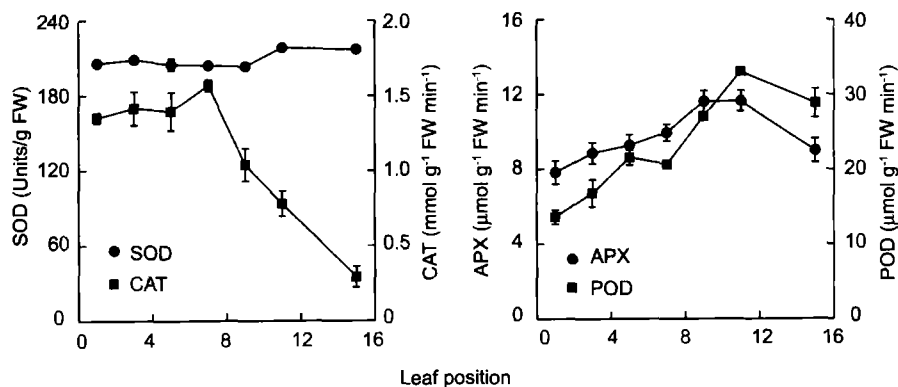


图6 不同叶位砂仁叶片抗氧化酶活性

Fig.6 The antioxidant enzyme activities of leaves at different positions in *A. villosum*

和冯玉龙 2004)。与第 5 位成熟叶片相比, 第 7 位叶片衰老初期 $P_{\max}$ 低的程度明显大于 Chl 和可溶性蛋白质含量低的程度, 表明此时砂仁叶片 $P_{\max}$ 降低还有其他原因。衰老叶片 G_s (图 1)和光合氮利用效率(PNUE)的降低也可能是 $P_{\max}$ 降低的原因。叶片衰老时 G_s 降低(Loreto 等 1994, Kitajima 等 1997), 叶肉细胞内 CO_2 导度也可能降低(Hanba 等 2001)。Witkowski 等(1992)、Reich 等(1994)、Kitajima 等(1997)、Yamashita 等(2002)发现叶片成熟后 PNUE 逐渐降低。PNUE 降低可能是因为叶氮分配到 Rubisco 的比例降低(Makino 等 1984)。 G_s 降低也能导致 PNUE 降低(郑丽和冯玉龙 2004), 因为 G_s 降低导致胞间 CO_2 浓度降低, 要固定同样量的碳必须要有更多的氮投入到 Rubisco 中。此外, 砂仁衰老叶处于植株中下部, 其所处环境光强也较低, 也可导致叶氮从老叶向新叶的再分配, 从而导致叶氮含量、PNUE 和 $P_{\max}$ 降低(张亚杰和冯玉龙 2004)。

砂仁叶片成熟后, 随着叶位的增加 NPQ 降低(图 2 和 3), 热耗散减少, 说明衰老叶片防止光合机构光破坏的能力降低, 这与衰老叶片 Car 含量降低(图 4)有关。叶片的热耗散能力与叶黄素循环有着密切的关系(Björkman 和 Demmig-Adams 1993), 而叶黄素循环组分是 Car 的组成成分。Munné-Bosch 和 Alegre(2002)发现老化的 *Cistus clusii* 植株叶片叶黄素去环氧化状态低, 这也是热耗散减少的原因。但 Lu 和 Zhang(1998)发现小麦叶片衰老时热耗散增多。砂仁衰老叶片 $P_{\max}$ 和 NPQ 降低, 光合作用利用的光能和依赖叶黄素循环耗散的光能均减少, 表明此时叶片发生光合作用光抑制的可能性增大。

F_v/F_m 和 AQY 降低是光抑制的显著特征(Björkman 和 Demmig-Adams 1993)。一天中砂仁各叶位叶片均发生了光抑制(图 2)。第 7 位叶片 F_v/F_m 和 AQY 最高(图 1 和 3), 之后随叶位的增加而降低, 光抑制加剧。黎明时第 15 位叶的 F_v/F_m 明显低于 0.8, 傍晚光强较弱时仍未恢复, 表明光合机构可能受到了损伤(图 2), 事实上第 9 位叶的光合机构就可能受到了损伤(图 3)。 q_p 可用以估计 Q_A 的相对还原状态, 进而反映 PS II 承受的激发压力(Öquist 和 Huner 1993)。衰老叶片的 q_p 低(图 2 和 3), 说明还原态 Q_A 比例升高, PS II 承受的激发压力增大。如果多余的激发能不能被安全地耗散掉, 就可导致光破坏的加剧, 因为 PS II 承受的激发压力被看作是 PS II 光破坏的决定因素

(Öquist 和 Huner 1993)。 Φ_{PSII} 与 PS II 非环式电子传递速率呈正相关(Genty 等 1989), 衰老叶片的 Φ_{PSII} 低于未衰老叶片(图 2 和 3), 但其低的程度明显小于 $P_{\max}$ 低的程度(表 1, 图 1 和 3), 表明通过光反应传递的电子和形成的同化力减少, 但仍多于光合碳同化的需要, 即同化力的减少不是 $P_{\max}$ 降低的主要原因。Lu 和 Zhang (1998)也观察到衰老时小麦叶片光合速率降低的幅度大于 AQY、 F_v/F_m 、 q_p 和 Φ_{PSII} 降低的幅度, 并认为 PS II 电子传递量子效率的降低是 PS II 光化学反应功能下调的结果, 这种功能下调是调节光合电子传递和光合降低导致的同化力需求减少之间矛盾的一种机制。

衰老时砂仁叶片 AQY、 F_v/F_m 、 q_p 和 Φ_{PSII} 降低的幅度明显小于 $P_{\max}$ 降低的幅度(表 1, 图 1 和 3), 光暗反应失衡, 光合碳同化利用的电子少于 PS II 传递的电子, 这些电子如不能被消耗掉就会产生有害的活性氧。砂仁衰老初期(老化)叶片 MDA 含量没有升高(图 5), 叶片能通过光呼吸、氮同化、Mehler 反应和抗氧化作用等消耗或清除掉多余的电子, 活性氧代谢处于平衡状态, 表明砂仁叶片老化不是氧化胁迫造成的。这与 Munné-Bosch 和 Alegre(2002)的结果不同, 他们观察到老化植株氧化胁迫加剧。砂仁衰老中后期叶片抗氧化酶 SOD、APX 和 POD 活性明显升高(图 6), 但还是不能消耗或清除掉这些多余的电子, 导致膜脂过氧化, MDA 含量升高(图 5)。Car 能有效地清除包括 $\cdot\text{OH}$ 在内的活性氧, 衰老时砂仁叶片 Car 含量降低(图 4), 非酶保护作用降低, 这也可能是衰老叶片氧化胁迫加剧的原因之一。活性氧和 MDA 都能直接引起蛋白质和叶绿素等的降解, 使光合作用进一步降低, 过剩光能进一步增多, 导致活性氧和 MDA 含量进一步升高。表明砂仁叶片衰老与氧化胁迫密切相关。

参考文献

- 彭建明 (1996). 阳春砂仁衰老株群更新试验初报. 中药材, 19: 275-276
- Ai XZ (艾希珍), Zhang ZX(张振贤), Cui ZF(崔志峰), Chen LP(陈利平) (1998). Changes of photosynthetic rate, MDA content and the activities of protective enzymes during development of ginger leaves. *Acta Horti Sin* (园艺学报), 25: 294-296 (in Chinese)
- Ackerly DD, Bazzaz FA (1995). Leaf dynamics, self-shading and carbon gain in seedlings of a tropical pioneer tree. *Oecologia*, 101: 289-298
- Bassman J, Zwier JC (1991). Gas exchange characteristics of *Populus trichocarpa*, *Populus deltoides* and *Populus*

- trichocarpa* × *P. deltoides* clone. *Tree Physiol*, **8**: 145–159
- Bilger W, Björkman O (1990). Role of the xanthophylls cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in *Hedera canariensis*. *Photosynth Res*, **25**: 173–185
- Björkman O, Demmig-Adams B (1993). Regulation of photosynthetic light energy capture, conversion and dissipation in leaves of higher plants. In: Schulze ED, Caldwell MM (eds). *Ecophysiology Photosynthesis*. Berlin: Springer-Verlag, 17–47
- Bradford MM (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, **72**: 248–254
- Buchanan-Wollaston V (1997). The molecular biology of leaf senescence. *J Exp Bot*, **48**: 181–199
- Change B, Machly AC (1955). Assay of catalases and peroxidases. *Methods Enzymol*, **2**: 764–775
- Feng YL (冯玉龙), Zhang YJ (张亚杰), Zhu CQ (朱春全) (2001). The effects of manipulated activated oxygen metabolism on photoinhibition in leaves of poplars suffering root osmotic stress. *Acta Phytoecol Sin* (植物生态学报), **25**: 451–459 (in Chinese)
- Genty B, Briantais JM, Baker NR (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim Biophys Acta*, **990**: 87–92
- Giannopolitis CN, Ries SK (1977). Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol*, **59**: 261–265
- Hanba YT, Miyazawa SI, Kogami H, Terashima I (2001). Effects of leaf age on internal CO₂ transfer conductance and photosynthesis in tree species having different types of shoot phenology. *Aust J Plant Physiol*, **28**: 1075–1084
- Kitajima K, Mulkey SS, Wright SJ (1997). Decline of photosynthetic capacity with leaf age in relation to leaf longevity for five tropical canopy tree species. *Am J Bot*, **84**: 702–708
- Li RY (李荣英), Li XL (李学兰), Li E (李 二), Gun ZB (管志斌) (2002). Investigative report on caducity of *Amomum villosum* in Jinghong. *J Yunnan Trop Crops Sci Tech* (云南热带作物科技), **25** (3): 18–19 (in Chinese)
- Lichtenthaler HK, Wellburn AR (1983). Determination of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem Soc T*, **600**: 591–592
- Loreto F, Marco GD, Tricoli D, Sharkey TD (1994). Measurements of mesophyll conductance, photosynthetic electron transport and alternative electron sinks of field grown wheat leaves. *Photosynth Res*, **41**: 397–403
- Lu CM, Zhang JH (1998). Changes in photosystem II function during senescence of wheat leaves. *Physiol Plant*, **104**: 239–247
- Makino A, Mae T, Ohira K (1984). Relation between nitrogen and rubulose-1,5-bisphosphate carboxylase in rice leaves from emergence through senescence. *Plant Cell Physiol*, **25**: 429–437
- Munné-Bosch S, Alegre L (2002). Plant aging increases oxidative stress in chloroplasts. *Planta*, **214**: 608–615
- Öquist G, Huner NPA (1993). Cold-hardening-induced resistance to photoinhibition of photosynthesis in winter rye is dependent upon an increased capacity for photosynthesis. *Planta*, **189**: 150–156
- Quirinto BF, Noh Y, Himelblau E, Amasino RM (2000). Molecular aspects of leaf senescence. *Trends Plant Sci*, **5**: 278–282
- Reich PB, Walters MB, Ellsworth DS, Uhl C (1994). Photosynthesis-nitrogen relations in Amazonian tree species. I. Patterns among species and communities. *Oecologia*, **97**: 62–72
- Rustin P, Kleist-Retzow J, Vajo Z, Rotig A, Munnich A (2000). For debate: defective mitochondria, free radicals, cell death, aging-reality or myth-mitochondria? *Mech Ageing Dev*, **114**: 201–206
- Schreiber U, Schliwa U, Bilger W (1986). Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosynth Res*, **10**: 511–562
- Wang XW (王兴文), Zhang XL (张晓林), Luo TG (罗天浩), Ma ZA (马治安), Zhang RL (张仁礼) (1993). Studies on the cause of senescence in *Amomum villosum* Lour. from Yunnan and its prevention. *China J Chin Mat Med* (中国中药杂志), **18**: 335–337 (in Chinese)
- Wang YR (王以柔), Liu HX (刘鸿先), Li P (李 平), Zeng SX (曾韶西), Zhen LP (甄利平), Guo JY (郭峻彦) (1986). The effect of chilling stress on membrane-lipid peroxidation of photosynthetic apparatus in rice seedling in the dark and light. *Acta Phytophysiol Sin* (植物生理学报), **12**: 244–251 (in Chinese)
- Witkowski ETF, Lamont BB, Walton CS, Radford S (1992). Leaf demography, sclerophylly and ecophysiology of two *Banksias* with contrasting leaf life spans. *Aust J Bot*, **40**: 849–862
- Yamashita N, Koike N, Ishida A (2002). Leaf ontogenetic dependence of light acclimation in invasive and native subtropical trees of different successional status. *Plant Cell Environ*, **25**: 1341–1356
- Zhang JX, Kirkham MB (1996). Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. *New Phytol*, **132**: 361–373
- Zhang YJ (张亚杰), Feng YL (冯玉龙) (2004). Mass per unit area, nitrogen content and partitioning among different photosynthetic apparatus in seedlings of two *Ficus* species grown under different irradiance. *J Plant Physiol Mol Biol* (植物生理与分子生物学学报), **30**: 269–276 (in Chinese)
- Zheng L (郑 丽), Feng YL (冯玉龙) (2004). Ecophysiological traits influencing carbon gain in invasive plant species. *Acta Ecol Sin* (生态学报), **24**: (in press) (in Chinese)

Photosynthesis and Oxidative Stress of Leaves at Different Positions in *Amomum villosum* Lour.

LI Zhi^{1,2}, FENG Yu-Long^{1,2*}

(¹Kunming Division, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China; ²College of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071002, China)

Abstract: *Amomum villosum* Lour. (Zingiberaceae) is a perennial herb that occurs in the understory of tropical and subtropical forests, and is an important medicinal plant. *A. villosum*, native to Guangdong province, was introduced intentionally to Xishuangbanna, Yunnan province in 1963, and was planted under tropical rainforest. The income from planting *A. villosum* in rainforest is very important for minority in Xishuangbanna. But now *A. villosum* fruit yield has decreased greatly due to plant senescence. The senescence mechanism of *A. villosum* is not known clearly. *A. villosum* has only one main stem without branch. The leaf age can be estimated by its position at the stem. In this study we measured the variables of photosynthesis and chlorophyll fluorescence, the content of chlorophyll (Chl), Carotenoid, protein and malondialdehyde (MDA), and the activities of antioxidant enzymes of leaves at different positions in *A. villosum*. We want to know (1) the reasons of leaf photosynthesis decreasing during aging and senescence, and (2) the relationships between oxidative stress and aging/senescence.

Leaf age, maximum net photosynthetic rates ($P_{\max}$), Chl and soluble protein content increased with the increase of leaf position in *A. villosum* (Figs.1, 4 and 5). $P_{\max}$ was biggest at the third leaf, while Chl and protein content reached its maximum values at the fifth leaf. They decreased at the 7th leaf, and began to decrease sharply at 9th leaf. MDA content was lower in the first to 7th leaves, and increased greatly at 9th leaf (Fig. 5). AQY and F_v/F_m began to decrease at 9th leaf too (Figs.1 and 3). The results presented above suggested that the third to 5th leaves were mature leaves with vigorous physiological function,

the 7th leaf was aging one, the 9th leaf began senescent, the 11th to 15th leaves were senescent. The decrease of Chl and protein content, and stomatal conductance might be the important reason of $P_{\max}$ decreasing in aging and senescent leaves of *A. villosum*. NPQ, AQY, F_v/F_m , Φ_{PSII} and q_p decreased with leaf aging and senescence (Fig.3), which indicated that thermal dissipation decreased, and photoinhibition of photosynthesis intensified. Furthermore, photodamage occurred at the late stage of senescence. But the reducing extent of AQY, F_v/F_m , Φ_{PSII} and q_p was smaller than that of $P_{\max}$, indicating that the electrons transported by PS II was more than those used by carbon assimilation. The excessive electron might induce production of reactive oxygen species (ROS). The excessive electron and then ROS were smaller in aging leaf than in senescent leaf. The ROS could be scavenged effectively by antioxidant enzymes and antioxidants in aging leaf, but not in senescent leaf, although the activities of antioxidant enzymes increased significantly (Fig.6). The ROS could result in membrane peroxidation, so MDA content increased, which could intensify leaf senescence further. The results above indicated that aging was not associated with oxidative stress, but senescence was in *A. villosum*.

Key words: *Amomum villosum* Lour.; aging; senescence; photosynthetic capacity; chlorophyll fluorescence; oxidative stress

This work was supported by the Project of Distinguished Scientists in the West from Chinese Academy of Sciences.

*Corresponding author (E-mail: fyl@xtbg.ac.cn).