

杨树无性系幼苗光合作用的光抑制^{*}

冯玉龙^{1,2} 张亚杰² 巨关升³ 朱春全³

(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)

(3. 中国林业科学研究院林业研究所, 北京 100093)

摘 要 为更多地了解自然条件下活体叶片的光抑制, 以 LI-6200 便携式光合系统测定了杨树无性系幼苗叶片叶的净光合速率(Pn)、表观量子产量(AQY)等, 比色法测定了超氧化物歧化酶(SOD)活性。结果表明, 中午 Pn 降低, 出现光合“午休”现象, 此时 Pn 受非气孔因素限制, Pn 的降低与气孔关闭关系不大。低温、高温、强光条件下杨树无性系幼苗叶片 AQY 降低, 发生了明显的光抑制。SOD 对光合作用具有保护作用, SOD 抑制剂使光抑制加剧, 抗氧化剂使光抑制得到缓解, 表明光抑制的发生可能与活性氧的积累有关。

关键词 杨树无性系; 光合作用; 光合效率; 光抑制; 活性氧

PHOTOINHIBITION OF PHOTOSYNTHESIS OF ATTACHED LEAVES IN POPLAR CLONE SEEDLINGS

FENG Yu-long^{1,2} ZHANG Ya-jie² JU Guan-sheng³ ZHU Chun-quan³

(1. Kunming Section, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223)

(2. College of Life Science, Hebei University, Baoding 071002)

(3. Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091)

Abstract Net photosynthetic rate(Pn) and apparent quantum yield(AQY) were measured with Li-6200 portable photosynthesis system in parallel with superoxide dismutase(SOD) activity determined with UV-754 ultraviolet spectrophotometer in attached leaves of poplar clone seedlings. It was found that Pn decreased, and photosynthesis depression phenomenon occurred at noon. At this conditions Pn was limited by non-stomatal factors, and the decline of Pn had no relations with the closure of stomata. AQY in attached leaves of poplar clone seedlings decreased and photoinhibition of photosynthesis occurred evidently under stressful conditions. SOD could protect photosynthesis. The inhibitor of SOD could intensified, while antioxidant could alleviated, photoinhibition of photosynthesis. The conclusion was that photoinhibition of photosynthesis in attached leaves of poplar clone seedlings had intrinsic relations with the accumulation of reactive oxygen species.

Key words Poplar clone; Photosynthesis; Photoinhibition of photosynthesis; Reactive oxygen species

光合机构吸收的光能超过其所能利用的量时, 过剩光能引起光能转化效率的降低被称为光抑

* 第一作者简介: 冯玉龙(1964-), 男, 副教授, 博士研究生, 主要从事植物生理生态研究。

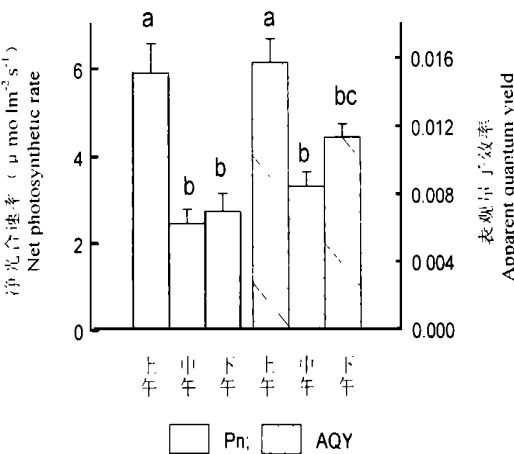
国家“九五”科技攻关项目“杨树纸浆用材林树种良种选育及培育技术研究”(96-011-01-02)部分研究内容。

收稿日期: 2001-05-28

制^[1], 光抑制主要表现为 PSII 光化学效率和光合效率(既 AQY) 的降低。植物的生产力高低主要由光合效率和它所截获的光能来决定。除光外没有其它胁迫的条件下光抑制可使碳积累降低 10%, 如有其它胁迫同时存在碳积累会降低的更多^[2]。胁迫诱导的长期光抑制可抑制植物的生长^[1, 3, 4], 导致树木落叶甚至死亡^[5]。晴天光抑制经常发生, 即使在非胁迫条件下也是如此^[6, 7], 光抑制不仅会影响到森林生态系统的生产力, 光抑制敏感程度的种间差异还会影响到干扰后森林的动态^[8], 值得研究。但有关研究绝大多数都是在实验室中以离体的叶绿体或类囊体膜为材料进行的^[9], 环境条件也与野外完全不同, 因此, 迫切需要以活体植物为材料进行田间研究。“九五”期间作者比较研究了杨树不同无性系幼苗对光抑制、水分胁迫的抗性差异及与活性氧的关系等, 旨在研究杨树抗性的生理生态机制, 为杨树栽培及良种选育提供理论依据。本文报道自然条件下杨树无性系幼苗光合作用的光抑制及其原因。

1 材料与方法

1.1 试验材料



相同字母标记的柱间无显著差异 ($p > 0.05$), 不同字母标记的柱间具有极显著差异 ($p < 0.01$), 只有一个字母相同的柱间具有显著差异 ($p < 0.05$) The bars sharing the same letter are similar at $p > 0.05$, the bars sharing different letter are different at $p < 0.01$, the bars sharing only one same letter are different at $p < 0.05$

图 1 杨树无性系幼苗叶片 Pn 和 AQY 的日变化

Fig. 1 The diurnal variation of Pn and AQY in poplar clone seedlings

试验材料为昭林杨 6 号 (*Populus × xizhaozhuanica* ‘Zhaolin- 6’)。2000 年 4 月初在辽宁省建平县黑水林场选大小一致的插穗 100 个, 在河北大学生命科学学院温室(透光率约为 60 %)中用

Hoagland 培养液于 2 L 瓷盆中培养, 每天上下午各通气 1 次, 每次 10 min。6 月初选大小一致的单杆幼苗(平均高 41.4 cm, 平均地径 3.9 mm), 随机分组, 进行如下处理: 1. 二乙基二硫代氨基甲酸铜盐(DDTC)处理。将 DDTC 溶于 0.05mol/L 的磷酸缓冲液(pH 7.8, 含 0.04 % 的吐温- 20)中, 使终浓度为 1%, 于测定当日上午 7 时叶面喷施; 2. 抗坏血酸(AsA)处理。25 mmol/L 的 AsA 溶液(含 0.04 % 吐温)于测定前一天 20:00 叶面喷施, 喷湿为止。以喷施含吐温的磷酸缓冲液为对照。

1.2 实验方法

用 LI- 6200 便携式光合系统(Li- Cor, Inc, USA)测定不同处理组内幼苗的完全展开叶片(约第 5 片叶)的净光合速率(Pn)、气孔导度(Gs)、胞间 CO₂ 浓度(Ci)等, 气孔限制值(Ls)按 Berry 和 Downton^[10]方法计算。每一参数均为 3 株苗木的 6 次测定结果的平均值。表观量子效率(AQY)由低光强下叶片的光- 光合曲线推算出^[7], 本文 AQY 为 3 个叶片的平均值。超氧化物歧化酶(SOD)的提取、活性测定按冯玉龙等^[11]的方法, 酶活单位定义为单位时间内(1 h)1 ml 反应液中抑制 NBT 光化还原 50 % 的酶量为一个酶活力单位。本文 SOD 活性为 3 个叶片的平均值。以上所有参数均于每日 09:00、12:00、16:00 测定 3 次。

2 实验结果

2.1 杨树无性系幼苗叶片光合参数的日变化

晴天杨树无性系幼苗的光合作用具有明显的“午休”现象, 上午 Pn 最高, 中午明显降低(图 1)。AQY(即光合效率)的日变化呈“V”字形, 中午明显低于上、下午, t 检验结果表明差异分别达极显著和显著水平(图 1)。杨树幼苗叶片气孔导度日变化亦呈“V”字形, 中午明显低于上午, 下午再度升高(图 2)。测定过程中杨树幼苗叶片气孔限制值逐渐降低, 胞间 CO₂ 浓度逐渐增大(图 2)。

2.2 DDTC 对杨树幼苗 Pn 和 AQY 的影响

DDTC 使杨树无性系幼苗叶片 Pn 明显降低, 上午和中午与对照的差异分别达显著、极显著水平, Pn 日变化也由双峰型变为单峰型(下午不回升)(图 3)。DDTC 处理后上午杨树幼苗叶片 AQY 与对照差异不明显, 中午和下午明显低于对照, 且下午也没有回升趋势(图 4)。

2.3 AsA 对杨树幼苗 Pn 和 AQY 的影响

上午 AsA 处理使杨树幼苗叶片 Pn 略高于对照, 差异不显著, 中午和下午 AsA 处理使杨树幼苗

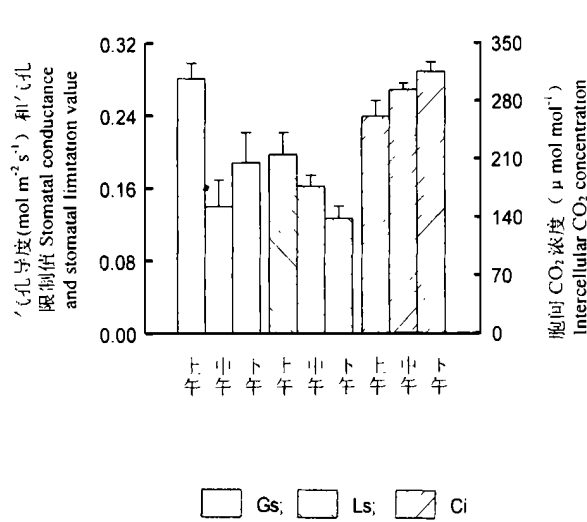
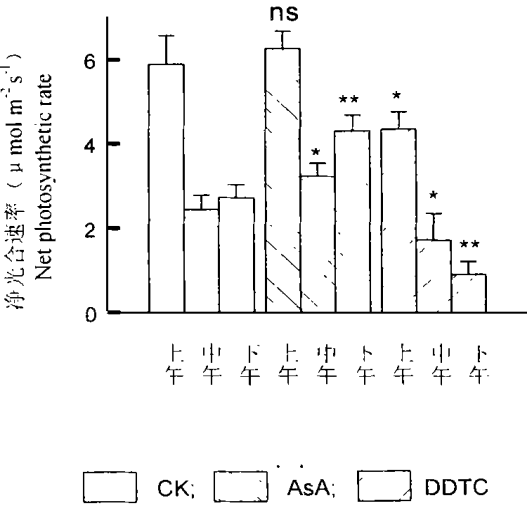


图 2 杨树无性系幼苗叶片气孔导度、气孔限制值和胞间 CO_2 浓度

Fig. 2 Stomatal conductance, stomatal limitation value and intercellular CO_2 concentration



处理与对照相对应柱间的差异: **, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$; ns, $p > 0.05$

Significance levels of the corresponding bars between CK and treatment: **, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$; ns, $p > 0.05$

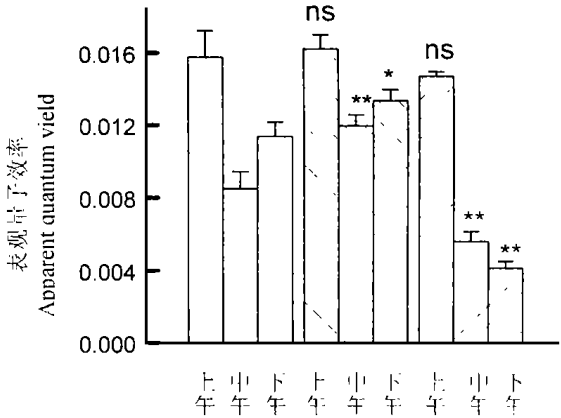
图 3 DDTC 和 AsA 对杨树无性系幼苗叶片净光合速率的影响

Fig. 3 The effects of DDTC and AsA on net photosynthetic rate in poplar clone seedlings

叶片 Pn 明显高于对照, 差异分别达显著和极显著水平(图 3)。与 Pn 相似, AsA 处理使杨树幼苗叶片 AQY 明显高于对照(图 4)。

2.4 DDTC 对杨树幼苗叶片 SOD 活性的影响

自然条件下杨树幼苗叶片 SOD 活性有明显的日变化(图 5), 中午 SOD 活性高, 上午 SOD 活性最



处理 Treatment, **, *, ns 见图 3 See Fig 3

图 4 DDTC 和 AsA 对杨树无性系幼苗叶片光合效率的影响

Fig. 4 The effects of DDTC and AsA on apparent quantum yield in poplar clone seedlings

低。DDTC 处理后 SOD 活性明显降低, 其日变化也不明显。

3 讨论

中午杨树无性系幼苗叶片 Pn 降低, Gs 也同时降低, 气孔关闭, CO_2 扩散阻力增大, 这必然要限制叶肉细胞 CO_2 供应, 但此时气孔关闭并不是 Pn 降低的主要原因。 Pn 降低, 胞间 CO_2 浓度升高, 气孔限制值降低, 表明叶肉细胞的 CO_2 固定能力降低,

非气孔因素是 Pn 降低的主要原因^[12]。 低温时番茄叶片 Pn 降低也是由非气孔因素引起的^[13]。 中午杨树无性系幼苗叶片 AQY 降低, 表明发生了光合作用的光抑制^[1]。 气孔关闭虽不是中午杨树无性系幼苗叶片 Pn 降低的原因, 但却可能与光抑制有关。 轻度胁迫时光合作用受气孔限制^[14], 高辉远等^[15] (1994) 报道午前大豆 Pn 降低主要由气孔因素引起, 午后非气孔因素逐渐起主导作用。 气孔关闭, Pn 下降使碳同化利用的光能减少, 过剩光能增加。 这些过剩光能若不能及时耗散掉, 就会发生光抑制, 甚至光氧化, 破坏光合器官^[16]。 测定日的光较强、气温较高, 相对湿度较低(图 6), 使杨树无性系幼苗受到了复合胁迫, 表现出明显光抑制。

Mehler 反应被认为是植物耗散过剩光能的机制之一^[17], 但 Mehler 反应的有益作用需要有活性氧清除系统的 SOD、抗坏血酸过氧化物酶(APX) 等的协同运行。 中午杨树无性系幼苗叶片 SOD 活性增加(图 5), 可能是 Mehler 反应启动运行的结果。 SOD 抑制剂 DDTC 处理, 使杨树无性系幼苗叶片

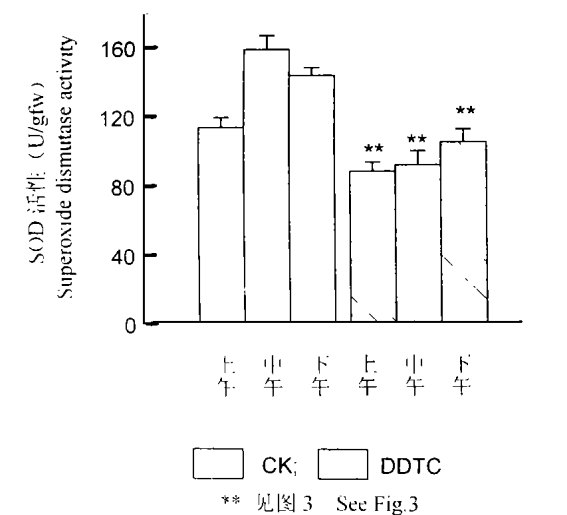


图 5 DDTC 对杨树无性系幼苗叶片 SOD 活性的影响
Fig. 5 The effects of DDTC on SOD activity

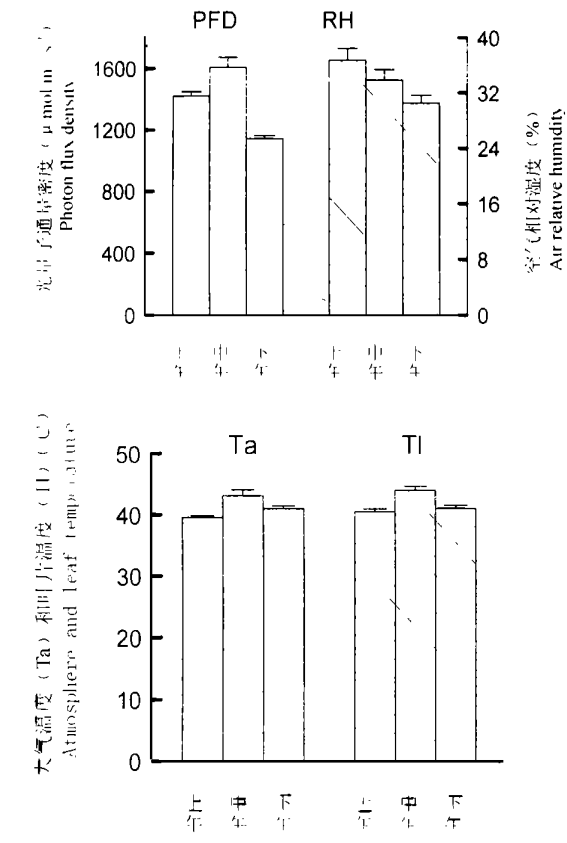


图 6 测定日的环境因子
Fig. 6 Environmental factors of the experimental day

SOD 活性明显降低(图 5), Pn、AQY 亦明显低于对照(图 3 和 4), 表明 SOD 对杨树无性系幼苗叶片光合作用具有保护作用, 抑制 SOD 活性则加剧光抑制^[18], 即光抑制与叶片中活性氧的积累有关。SOD 属诱导酶, 其活性随细胞内 O₂⁻ 浓度的增加而增加^[19], 发生光抑制时杨树无性系幼苗叶片 SOD 活

性强, 间接说明了细胞内具有高水平的 O₂⁻。对 O₂⁻ 的直接测定证明了这一点(未发表资料)。

AsA 属广谱抗氧化剂, 在体内 AsA 即能猝灭 O₂⁻ 和 ¹O₂, 又能清除·OH 和 H₂O。AsA 处理使杨树无性系幼苗叶片 Pn、AQY 明显升高, 说明抗氧化剂对杨树光合机构起到了保护作用。但光合作用和光合效率的日变化并没有发生本质变化, 仍具有光抑制, 抗氧化剂不能防止光抑制的发生, 只能起到一定的缓解作用^[20]。这说明活性氧只是导致光抑制的原因之一。

光抑制是目前光合作用研究中的一个较引人注目的领域, 强光不仅使植物发生光抑制, 它还刺激体内活性氧的产生, 因此人们将光抑制与活性氧联系起来^[1], Richter 等^[21] 认为强光引起光抑制的一个主要原因是活性氧作用的结果。本文结果表明, 中午杨树无性系幼苗叶片 Pn 降低与气孔关闭无关, 此时光合作用受非气孔因素限制。低湿、高温、强光条件下杨树无性系幼苗叶片发生了明显的光抑制, 抗氧化酶(SOD)抑制剂 DDT C 使光抑制加剧, 抗氧化剂(AsA)使光抑制得到缓解, 表明光抑制的发生可能与活性氧的积累有关。

参 考 文 献

1. Long S P, Humphries S, Filkowski P G. Photoinhibition of photosynthesis in nature. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1994(45): 633~ 662
2. Ögren E, Sjöström M. Estimation of the effect of photoinhibition on the carbon gain in leaves of a willow canopy. Planta, 1990, 181: 560~ 567
3. Baker N R, Bradbury M, Farage P K, Ireland C R, Long S P. Measurements of the quantum yield of carbon assimilation and chlorophyll fluorescence for assessment of photosynthetic performance of crops in field. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, 1989, 323: 295~ 308
4. Farage P K, Long S P. The occurrence of photoinhibition in an over- wintering crop of oil- seed rape (*Brassica napus* L.) and its correlation with changes in crop growth. Planta, 1991, 185: 279~ 286
5. 陶大立, 靳月华, 杜英君. 红松苗越冬光氧化伤害机制. 林业科学, 1988, 24(4): 148~ 155
6. Ögren E. Photoinhibition of photosynthesis in willow leaves under field conditions. Planta, 1988, 175: 229~ 236
7. 许大全, 徐宝基, 沈允钢. C3 植物光合效率的日变化. 植物生理学报, 1990, 16: 1~ 5
8. Whitmore T C. An introduction to Tropical Rainforests. Oxford: Clarendon Press. 1992. 226
9. Xu D Q, Shen Y G. Diurnal variations in the photosynthetic

- efficiency in plants. 植物生理学报, 1997, 23: 410~ 416
10. Berry J A, Downton W J S. Environmental regulation of photosynthesis. In: Govindjee N Y. ed, Photosynthesis. vol. II. New York: Academic Press. 1982. 263~ 343
11. 冯玉龙, 张亚杰, 朱春全. 调控活性氧代谢对渗透胁迫时杨树光合作用光抑制的影响. 植物生态学报, 2001, 25(4): 451~ 459
12. 许大全. 光合作用气孔限制分析中的一些问题. 植物生理学通讯, 1997, 33: 241~ 244
13. 冯玉龙, 刘恩举, 崔臻祥. 根系温度对番茄的影响(II) - 根系温度对番茄光合作用和水分代谢的影响. 植物研究, 1996, 16(2): 214~ 218
14. 薛崧, 汪沛洪, 许大全, 李立人. 水分胁迫对冬小麦 CO_2 同化作用的影响. 植物生理学报, 1992, 18: 1~ 7
15. 高辉远, 邹琦, 陈敬峰, 程炳嵩. 大豆光合午休原因的分析. 作物学报, 1994, 20: 357~ 362
16. Demmig- Adams B, Adams W W III. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1992, 43: 599~ 626
17. 郭连旺, 沈允钢. 高等植物光合机构避免强光破坏的保护机制. 植物生理学通讯, 1996, 32: 1~ 8
18. 邹琦, 许长成, 赵世杰, 孟庆伟. 午间强光胁迫下 SOD 对大豆叶片光合机构的保护作用. 植物生理学报, 1995, 21: 397~ 401
19. Bowler C, Van Montagu M, Inze D. Superoxide dismutase and stress tolerance . Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1992, 43: 83~ 116
20. 徐志防, 罗广华, 王爱国, 陈贻竹, 郭俊彦. 强光及活性氧对大豆光合作用的影响. 植物学报, 1999, 41: 862~ 866
21. Richter M, Ruhle W, Wild A. Studies on the mechanism of photosystem II photoinhibition II. The involvement of toxic oxygen species. Photosynthesis Research, 1990, 24: 237 ~ 243