

珊瑚树叶片叶绿素荧光非光化学猝灭的日变化和季节变化

武海 张树源

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

许大全 郭连旺 沈允钢

(中国科学院上海植物生理研究所, 上海 200032)

提要 用脉冲调制荧光仪观测了珊瑚树叶片叶绿素荧光非光化学猝灭(q_E)的日变化和季节变化后发现:在晴天, q_E 及其慢弛豫组分(q_{E-slow})随着光强的增加而升高,中午达最高值,之后随光强的减弱而下降;阴天时,这两个指标的日变化不明显。在不同季节,相同日时间和同一光照强度下测定珊瑚树叶片的 q_E 和 q_{E-slow} ,两个指标在冬季明显高于春、秋两季;在短时间(1 d)内改变强光下的叶片周围的温度,叶片的 q_E 和 q_{E-slow} 在高温和低温下均高于适温下测定的结果。

关键词: 叶绿素荧光, 非光化学猝灭, 日变化, 季节变化, 非辐射能量耗散, 珊瑚树

叶绿素 a 的荧光猝灭分析已成为植物生理学中光合生理研究的一个十分重要的手段。用饱和闪光法可将叶绿素 a 荧光猝灭区分为光化学猝灭和非光化学猝灭(q_E), 其中光化学猝灭是由光合作用的光化学反应造成的, q_E 则主要起因于光系统 II (PS II) 的非辐射能量耗散(Krause 和 Weis 1991), 也是本文探讨的重点。它反映出了光合机构内部一系列重要调节过程。如, 在强光或强光与其它胁迫并存的条件下, 非辐射能量耗散(用 q_E 检测)的增加以消耗光合机构吸收的过剩光能, 从而保护光合机构免受强光或强光与其它胁迫并存的破坏(Demmig-Adams 和 Adams 1992, Long 等 1994)。我们也曾证明, 依赖叶黄素循环的非辐射能量耗散在防御珊瑚树叶片光抑制破坏中起重要作用(武海和许大全

1993)。尽管非辐射能量耗散对光合机构保护作用的研究已有很多(Demmig-Adams 和 Adams 1992, Long 等 1994), 但在自然条件下该调节过程作用规律的研究较少, 未见文献中有关 q_E 的日变化和季节变化的报告。我们以常绿灌木珊瑚树的叶片为材料, 观察分析了 q_E 的日变化和季节变化, 以期揭示自然条件下, 植物光合机构通过非辐射能量耗散适应强光或强光与低温胁迫并存的调节规律。

1 材料与方 法

1.1 植物材料 常绿灌木珊瑚树 (*Viburnum odoratissimum*), 生长于中国科学院上海植物生理研究所院内, 实验期间未经明显的水分胁迫, 光照条件良好。将向阳生长外观正常的对生叶片于水中剪下, 带回实验室, 测定荧光参数。

1.2 荧光参数测定 用英国 Hansatech 公司制造的脉冲调制荧光仪 MFMS2, 在 695 nm 下测定叶片的叶绿素 a 荧光。调制的检测光强为 $4 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 频率 4.8 kHz, 波长 583 nm; 脉冲白光光强约 $12 \text{ mmol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 光照 2 s, 暗间隔 30 s; 作用光也为白光, 光强为 $300 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 。每次测定前叶片暗适应 2 min, 然后打开检测光测得初始荧光(F_0), 再打开脉冲光测得最大荧光(F_m), 可变荧光(F_v)即为 $F_m - F_0$, 从而算出光

1996-02-01收到, 1996-08-26接受。

国家自然科学基金资助项目。

缩写 q_E : 叶绿素荧光的非光化学猝灭; q_{E-fast} : 叶绿素荧光非光化学猝灭的快弛豫组分; q_{E-slow} : 叶绿素荧光非光化学猝灭的慢弛豫组分; F_v/F_m : 光系统 II 的光化学效率; F_m , F_0 and F_v : 最大的、初始的和可变的叶绿素荧光, 其中 $F_v = F_m - F_0$ 。

系统 II 的光化学效率 (F_v/F_m)。 q_E 、 q_{E-fast} 、 q_{E-slow} 分别为总的叶绿素荧光非光化学猝灭系数及其快弛豫和慢弛豫组分系数, 参照 Demmig 和 Winter (1988) 的方法计算。

1.3 日变化测定 选取以自然角度生长的向阳叶片, 于晴天 8:00~17:00, 每隔 1 h 或 2 h 剪取同一叶片的不同部分测定荧光参数, 并记录田间气温和太阳光强。晴天的这一段时间内, 叶片一直处于太阳直射光照下。

1.4 模拟日变化测定 早晨在叶片受到太阳直射光照以前, 剪取对生叶片, 将其中的一片暗置 12 h 作为计算 q_{E-slow} 的暗对照, 另一片照以模拟晴天太阳光强变化的人工光照, 光线与叶片垂直。采用 50 w 冷光灯作光源, 叶片与光源之间有隔热水层, 间隔 1 h 测定一次荧光参数。

1.5 季节变化测定 自 1994 年 9 月初至翌年 5 月底, 在不同季节的早晨 8:00 左右剪取叶片, 这时由于房屋的遮挡叶片尚未照到直射阳光。先将叶片在约 $200 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 低光下适应 0.5 h, 然后再用相当于自然条件下晴天中午日照强度的 $1200 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 的强光照射叶片 (方法同上), 强光处理 3 h 后测定荧光参数。在进行强光处理时记录空气温度。

1.6 短时间温度变化影响的测定 在叶片受到太阳直射光照前取样, 置于泡沫塑料箱内, 改变箱内温度, 在每个温度下照以 $1200 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 的强光 1 h, 并测定一次荧光参数。

叶片离体后处理和测定期间, 叶柄切口始终在水中以避免水分胁迫。每个实验重复 3 次以上。

2 结 果

2.1 珊瑚树叶片叶绿素荧光参数 (F_v/F_m 、 q_E 、 q_{E-fast} 和 q_{E-slow}) 的日变化

从几个季节的晴天多次观察自然条件下珊瑚树叶片各荧光参数的日变化中可以看出, 晴天各荧光参数呈规律性变化 (图 1)。珊瑚树叶片的荧光参数 F_v/F_m 和 q_{E-fast} 随着光强上升而下降, 到 13 时左右降到最低值, 之后又随光强的减弱逐渐回升; 与此相反, q_E 和 q_{E-slow} 则随光强上升而增加, 13 时左右达到最高值, 之后逐渐降低。为了

探讨光照变化和荧光参数变化的关系, 我们分别在阴天 (图 2) 和模拟的晴天光照条件下 (图 3) 测定了珊瑚树叶片各荧光参数的日变化。由图 2 可见, 在阴雨天, 光强未超过 $50 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 温度保持在 18°C 左右。一天中, q_{E-slow} 随光强的轻微上升或下降略有轻微上升或下降的趋势; q_E 和 q_{E-fast} 则随光强轻微上升或下降而略有轻微下降或上升之趋势; F_v/F_m 没有随光强的变化发生明显变化。在室内模拟的晴天光照条件下, 各荧光参数变化趋势与图 1 晴天日变化一致, 只是变化幅度略大 (图 3)。这可能是室内光照垂直于叶片, 因而使叶片接受到的光照比自然条件下强得多的缘故。

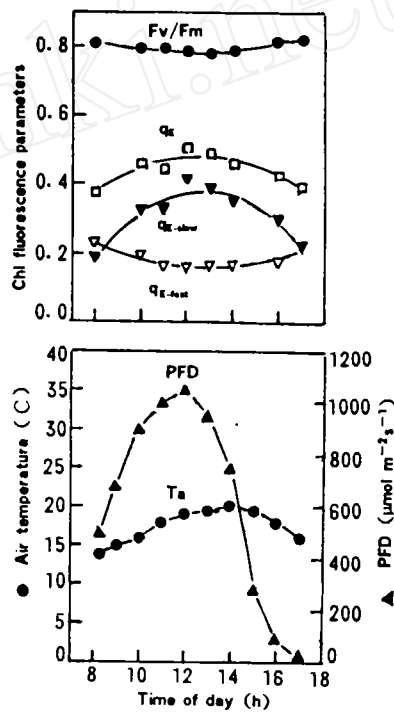


图 1 晴天珊瑚树叶片叶绿素荧光参数的日变化
Fig. 1 Diurnal changes of chlorophyll fluorescence parameters in leaves of sweet viburnum on a clear day (April 7, 1995)

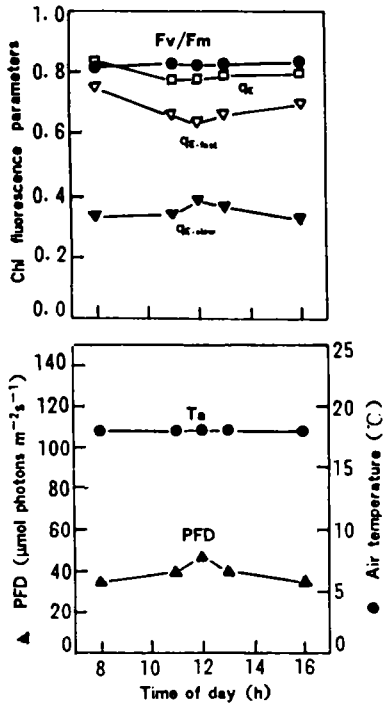


图 2 阴天珊瑚树叶片叶绿素荧光参数的日变化
 Fig. 2 Diurnal changes of chlorophyll fluorescence parameters in leaves of sweet viburnum on a cloudy day (May 19, 1995)

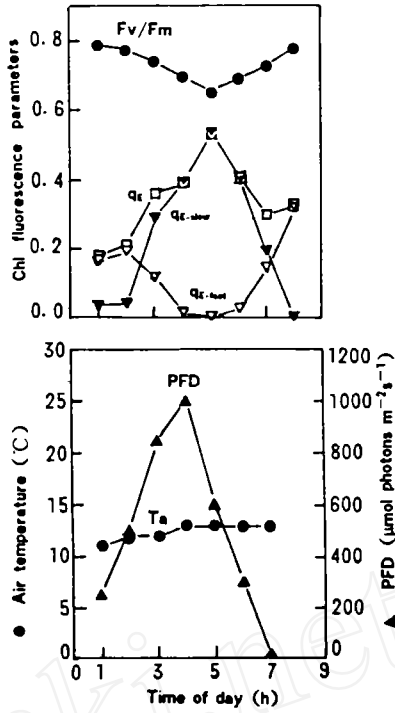


图 3 在模拟晴天光照条件下珊瑚树叶片叶绿素荧光参数的日变化
 Fig. 3 Diurnal changes of chlorophyll fluorescence parameters in leaves of sweet viburnum under simulated light conditions of a clear day (March 20, 1995)

2.2 珊瑚树叶片叶绿素荧光非光化学猝灭的季节变化

由不同季节,同一日时间、特定光强下测定的珊瑚树叶片 q_E 的季节变化可知, q_E 和 q_{E-slow} 的值在冬季(1994年12月至1995年2月)明显高于春、秋两季,这段时间气温较低,一般在15°C以下(图4)。虽然未能测得夏季极端高温(38°C)下的数据,但从图4中9月初的高温(33°C)和翌年5月底较高温(28°C)下的情况来看,高温强光条件不像低温强光那样强烈地影响 q_E 和 q_{E-slow} 的值。从不同季节的不同温度下珊瑚树叶片发生光抑制和恢复过程中 q_{E-slow} 的变化(图5)可以看出,在低温条件下,照光前 q_{E-slow} 的水平较高,照光后其增加幅度也较大。

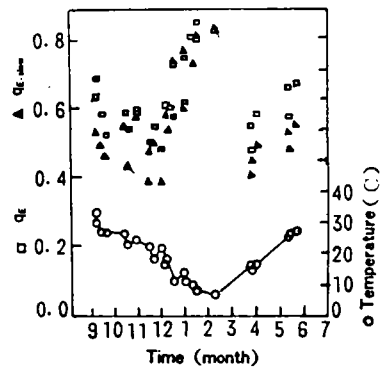


图 4 珊瑚树叶片非光化学荧光猝灭的季节变化
 Fig. 4 Seasonal changes of non-photochemical fluorescence quenching in leaves of sweet viburnum (September, 1994~May, 1995)

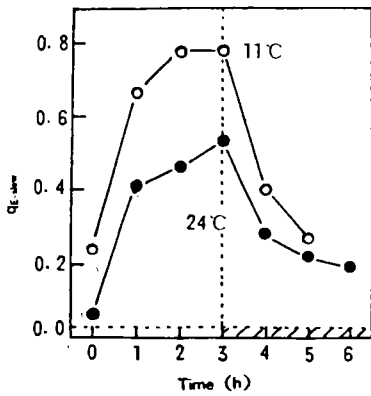


图5 不同季节的温度差异对珊瑚树叶片光抑制与后来的恢复过程中 q_{E-slow} 的影响

Fig. 5 Effect of temperature difference of the different season on q_{E-slow} during photoinhibition and the following recovery in leaves of sweet viburnum. Recovery process is shown as the shaded part.

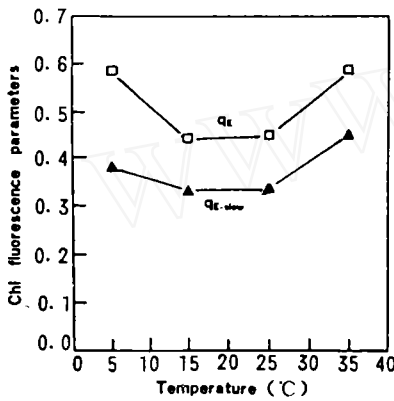


图6 珊瑚树叶片的荧光参数 q_E 和 q_{E-slow} 对短期温度变化的响应

Fig. 6 The responses of fluorescence parameters q_E and q_{E-slow} in leaves of sweet viburnum to a short-term variation of temperature

为了进一步探讨 q_E 和 q_{E-slow} 与温度变化的关系,我们选取同一叶片,在短时期 (1 200 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 光照 1 h) 内改

变温度的办法,测定叶片 q_E 和 q_{E-slow} 的变化 (图6)。结果发现, q_E 和 q_{E-slow} 的值在温度偏低和偏高时都较高,而在温度适宜时则较低。

3 讨 论

生长于自然条件下的植物经常会受到太阳的强光照射,叶片吸收的过剩光能会引起 F_v/F_m 的降低,即光抑制 (Demmig-Adams 和 Adams 1992, Long 等 1994)。图1的结果表明,珊瑚树叶片在晴天极易发生光抑制,光抑制严重时可能会引发反应中心的降解等破坏性反应。在许多情况下,非辐射能量耗散是避免这种破坏的保护性过程,这一过程往往用 q_E 来检测 (Krause 和 Weis 1991, Demmig-Adams 和 Adams 1992, Long 等 1994)。Demmig 和 Winter (1988) 将 q_E 分为 q_{E-fast} 和 q_{E-slow} 两个组分,并用植物叶片为材料证明前者是依赖 ΔpH 的非辐射能量耗散,后者则是主要依赖叶黄素循环的非辐射能量耗散。我们曾用珊瑚树叶片为材料研究表明了 q_{E-slow} 能很好地反映依赖叶黄素循环的非辐射能量耗散过程 (武海和许大全 1993)。这里主要探讨 q_E 和 q_{E-slow} 的日变化和季节变化。

本实验中, q_E 日变化的结果表明,晴天太阳光照的增强是 q_E 增加的主要原因。这可以从图1晴天, q_E 随光强增加而升高;图2阴天,光照无明显变化, q_E 基本保持不变;以及图3室内模拟晴天光照日变化,温度无明显变化的情况下, q_E 与图1一样,也随光强增加而升高的结果得到证实。这些都说明了光强是决定 q_E 变化的主要因素。也就是说,晴天 q_E 随光强的变化很可能意味着非辐射能量耗散受强光的诱导而增加了,从而保护了光合机构免受强光的破坏。

对比 q_E 及其 q_{E-fast} 和 q_{E-slow} 两个组分的日变化可以看出, q_E 的增加主要是 q_{E-slow} 的增加所致 (图1)。这表明依赖叶黄素循环的

非辐射能量耗散可能是耗散过剩光能的主要途径。我们这个推测的一个有力旁证是, Adams 和 Demmig-Adams (1992) 在晴天已经观察到了植物叶片中玉米黄素的含量变化与太阳光强变化相平行。而 q_{E-fast} 随光强增加而降低的结果(图1), 可能表明非辐射能量耗散的绝大部分已经从依赖 ΔpH 的途径转向依赖叶黄素循环的途径。

在不同季节的晴天测定的 q_E 日变化中, q_E 及其 q_{E-fast} 和 q_{E-slow} 两个组分的变化特点与图1相似, 说明非辐射能量耗散在各个季节都有保护光合机构免遭强光破坏的作用。而且, 叶黄素循环是非辐射能量耗散的主要途径, 在耗散过剩光能, 保护光合机构免遭强光破坏中起主导作用。然而, 在不同季节发生光抑制时, 珊瑚树叶片的 q_E 水平并不一致。在不同季节、不同温度、相同日时间、同一光强下, 珊瑚树叶片 q_E 和 q_{E-slow} 的水平显示出冬季明显高于春、秋两季的规律(图4)。这种变化显然是随不同季节里不同温度变化的结果。图5中, 冬季低温下强光照射后 q_{E-slow} 较高。一方面因为冬季叶片的 q_{E-slow} 在照光处理前就较高, 另一方面因为在照光过程中 q_{E-slow} 增加的幅度也较大。在叶黄素循环中, 催化紫堇质向玉米黄素转化的去环氧化酶的活性在低温下受到抑制 (Bilger 和 Bjorkman 1991), 也就是说, 在低温下, 紫堇质转化成玉米黄素的量, 不仅少, 而且速度也较慢。然而, 却不要忘记, 在光合机构受到强光的破坏之前, 非辐射能量耗散增加的幅度仍然依赖于光合机构吸收过剩光能的量 (Demmig-Adams 和 Adams 1992, Long 等1994); 珊瑚树叶片光合作用最适温度的季节变化基本上在 $15\sim 35^\circ\text{C}$ 的范围内。而且, 冬季叶片最适温度下的净光合速率也远比春、秋两季的低得多 (贺东祥和沈允钢1995), 而我们在冬季的多次测定是在低于 15°C 的低温条件下进行的(图4)。显然, 珊瑚树叶片在冬季晴天吸收过剩光能的量要高于温度较适

宜的春、秋两季。因此, 我们认为, 尽管冬季低温条件下, 紫堇质向玉米黄素转化的速度较慢, 但由于光合机构经常处于光能过剩的状况下, 这种转化经常在进行。因而, 玉米黄素仍然会积累到较高的水平。与此一致的是, Adams 和 Demmig-Adams (1994) 也曾观察到了松树针叶的玉米黄素含量冬季偏高。我们在短时间内改变照光叶片周围的温度, 以避免叶片光合作用对温度变化产生适应性的干扰, q_E 和 q_{E-slow} 在较适宜的温度 ($15\sim 25^\circ\text{C}$) 下较低, 而在偏高和偏低的温度 ($25\sim 35^\circ\text{C}$, 或者 $5\sim 15^\circ\text{C}$) 下则较高 (图6)。这就说明了 q_E 的确是随着过剩光能量的变化而变化的。

从 q_E 的日变化和季节变化的规律来看, 常绿植物珊瑚树叶片的光合机构对自然条件下的强光胁迫有很强的适应能力, 这种适应能力常常表现为非辐射能量耗散随着叶片吸收过剩光能量的增加而增加。吸收过剩光能的量越多, 非辐射能量耗散越强, 越能耗散过剩光能, 保护光合机构免遭强光破坏。

参考文献

- 武海, 许大全 (1993). 依赖叶黄素循环的非辐射能量耗散在防御珊瑚树叶片光抑制破坏中的作用. 植物生理学报, 19: 181
- 贺东祥, 沈允钢 (1995). 几种常绿植物光合特性的季节变化. 植物生理学报, 21: 1
- Adams WW III, Demmig-Adams B (1992). Operation of the xanthophyll cycle in higher plants in response to diurnal changes in incident sunlight. *Planta*, 186: 390
- Adams WW III, Demmig-Adams B (1994). Carotenoid and down regulation of photosystem II in three conifer species during the winter. *Physiol Plant*, 92: 451
- Bilger W, Bjorkman O (1991). Temperature dependence of violaxanthin de-epoxidation and non-photochemical fluorescence quenching in intact leaves of *Gossypium hirsutum* L. and *Malva parviflora* L. *Planta*, 184: 226

- Demmig B, Winter K (1988). Characterization of three components of non-photochemical fluorescence quenching and their response to photoinhibition. *Aust J Plant Physiol*, **15**: 163
- Demmig-Adams B, Adams WW III (1992). Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, **43**: 599
- Krause GH, Weis E (1991). Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The Basics. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, **42**: 313
- Long SP, Humphries S, Falkowski PG (1994). Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, **45**: 633

Diurnal and Seasonal Variations of Non-photochemical Quenching of Chlorophyll Fluorescence in Sweet Viburnum Leaves

WU Hai and ZHANG Shu-Yuan

(Northwest Plateau Institute of Biology, The Chinese Academy of Sciences, Xining 810001)

XU Da-Quan, GUO Lian-Wang and SHEN Yun-Gang

(Shanghai Institute of Plant Physiology, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032)

Diurnal and seasonal changes in non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in sweet viburnum were observed with a modulated fluorimeter, in order to explore the regularities of the radiationless energy dissipation under natural conditions. On clear days, non-photochemical quenching (q_E) and its slowly-relaxing component (q_{E-slow}) rose with an increase of sunlight intensity, and reached their maxima at noon, then declined with the decrease of sunlight intensity. On cloudy days, however, the changes of q_E and q_{E-slow} were not significant. The q_E and q_{E-slow} measured in winter were higher

than those measured in spring and autumn. The q_E and q_{E-slow} measured at both high and low temperatures were higher than those measured at optimum temperature. These results indicate that the predominant factors causing the diurnal and seasonal changes in non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in sweet viburnum are sunlight intensity and air temperature, respectively.

Key words: chlorophyll fluorescence, non-photochemical quenching, diurnal variation, seasonal variation, radiationless energy dissipation, sweet viburnum