

扬麦 5 号旗叶光合功能衰退进程中光温逆境下 PSⅡ 特性的变化^X

陈国祥¹ 何 兵¹ 魏锦城¹ 张荣铎²

(¹南京师范大学生命科学学院, 江苏南京, 210097; ²南京农业大学农学系, 江苏南京, 210095)

提 要 本文比较研究了高温强光逆境对扬麦 5 号小麦旗叶光合功能衰退进程中光合膜 PSI 组分及电子传递活性的影响。在光合功能的高值持续期, PSⅡ 颗粒电子传递活性较高, 多肽组分相对稳定; 进入光合功能速降期后电子传递活性快速下降, PSⅡ 颗粒的 LHCⅡ 和作用中心组分均发生不同程度降解。在光合功能的高值持续期, 高温胁迫能加剧光逆境条件下 PSⅡ 活性下降程度和 LHCⅡ 等多肽组分损伤, 而在光合功能衰退的速降期, PSⅡ 颗粒对光温敏感的多肽组分已基本降解, 适应及抵御光温逆境胁迫的能力明显减弱。

关键词 光温逆境; 扬麦 5 号; 光合功能衰退进程; PSⅡ 颗粒; 多肽组分; 电子传递活性

Changes in Characteristics of PSⅡ from Flag Leaves of Yangmai No. 5 (*Triticum aestivum* L.) under Light-temperature Stress during Photo-synthetic Functional Decline Process

CHEN GuoXiang HE Bing WEI Jincheng ZHANG RongXian

(¹ College of Life Science, Nanjing Normal University, Jiangsu, Nanjing, 210097; ² Department of Agronomy, Nanjing Agricultural University, Jiangsu, Nanjing, 210095)

Abstract After full expansion of flag leaf, the photosynthetic functional decline process was divided into active photosynthetic duration and sharp fall phase. During the active photosynthetic duration, the PSⅡ particles maintained higher electron transport activities. The polypeptide components of PSⅡ particles remained relative steady. During the sharp fall phase, there was a rapid decrease in electron transport activities of PSⅡ particles. LHCⅡ and small molecular polypeptide of PSⅡ particles were degraded. The strong light-induced inactivation of PSⅡ electron transport at 37 °C was faster than that at 25 °C, and the degradations of LHCⅡ and other polypeptide of PSⅡ particles were aggravated in active photosynthetic duration. However during the sharp fall phase, the PSⅡ particles polypeptide components which were sensitive to light-temperature stress had been basically degraded, the adaptation and resistant capacity to light-temperature stress was remarkably declined.

Key words Light-temperature stress; Yangmai No. 5 (*Triticum aestivum* L.); Photosynthetic functional decline process; PSⅡ particles; Polypeptide component; Electron transport activity

光抑制最初被定义为强光条件下光合活性的下降^[1]。此后, 大量证据均表明, 光抑制及

X 江苏省教委自然科学基金资助项目
收稿日期: 1999204230, 接受日期: 2000201214

损伤的部位是 PS° [2~6]。和 PS° 相比, $PS^{\acute{E}}$ 所受的影响极小甚至可以忽略, 以至于光抑制可以被描述为“ PS° 的光抑制”。然而最近几年利用黄瓜等低温敏感植物叶片作为研究对象, 结合低温(4℃)进行光抑制处理, 在 PS° 活性几乎未被抑制的情况下, $PS^{\acute{E}}$ 的活性已经下降[7, 8]。生化及生物物理分析揭示, $PS^{\acute{E}}$ 受体端首先失活, P700受损, 作用中心蛋白发生降解[9]。自然条件下, 农作物在晴天中午经常发生光抑制, 尤其是强光与其他环境胁迫同时存在时更易造成光抑制, 从而可能导致光合机构较严重的破坏。在农作物经常遇到的环境胁迫中, 光温逆境常常是相互伴随的。高温胁迫特别是小麦成熟期的干热风是影响小麦减产的主要因素之一, 在此环境条件光抑制更为严重。近年来关于小麦等农作物叶片光合效率对产量影响的研究表明, 旗叶光合器的结构和功能均优于其它部位的叶片, 对籽粒的形成和产量具有重要影响, 成熟籽粒中的干物质20%~30%来自旗叶的光合作用[10]。小麦等农作物旗叶的光合效率是决定作物产量高低的关键因素[11]。而光温逆境条件下光抑制过程中小麦旗叶的光合膜特性如何变化尚不清楚, 尤其是进入光合功能衰退阶段后, 不同阶段光合膜($PS^{\acute{E}}$)特性如何变化以及强光高温逆境是否影响其光合功能衰退的进程均需进一步明确。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供试材料扬麦5号(*Triticum aestivum* L.)栽种于南京农业大学校内试验农场及南京师范大学花房室外耕地, 旗叶全展后定期取样直到叶片枯黄, 并进行相关的分析和测定。

1.2 $PS^{\acute{E}}$ 颗粒的制备

取全展旗叶叶片50~100g(部分后期枯黄叶片取其绿色部分), 参照Nelson(1982)方法快速制备 $PS^{\acute{E}}$ 2200颗粒[12]。参照Mullet(1980)法并加以改进制备 $PS^{\acute{E}}$ 2110颗粒[13]。

1.3 光温逆境处理

将样品(类囊体膜和 $PS^{\acute{E}}$ 颗粒)置于0.5cm光径的比色皿中, 恒温水浴控制其温度, 处理温度分别为25℃和37℃, 用幻灯机作光源进行侧面照射处理, 光照强度为2500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。光温逆境处理时, 样品加以不断搅拌。悬浮液叶绿素浓度为0.3 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

1.4 $PS^{\acute{E}}$ 颗粒电子传递活性测定

参照Mullet(1980)方法测定 $PS^{\acute{E}}$ 颗粒的还原能力, 反应液中包含0.3 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的DCPIP, 0.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的MV, 1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的ASA [13]。

1.5 叶绿素含量的测定

按Arnon(1949)方法, 用UV2754型分光光度计测定叶绿素含量[14]。

1.6 $PS^{\acute{E}}$ 颗粒多肽组分分析

照Laemmli(1970)方法, 采用SDS-PAGE分离 $PS^{\acute{E}}$ 颗粒多肽组分[15]。电泳图谱经凝胶成像及GDS28000分析系统扫描进行分析。

2 实验结果

2.1 旗叶全展后 $PS^{\acute{E}}$ -200颗粒还原能力变化

$PS^{\acute{E}}$ 2200颗粒结构、功能和光谱性质都较为完整, 含有 $PS^{\acute{E}}$ 反应中心复合体和捕光色素复合体, 能基本反映其在活体内存在的状况。旗叶全展后, 分别以ASA、DCPIP作为电子供体, MV作为电子受体测定不同时期制备的 $PS^{\acute{E}}$ 2200颗粒电子传递活性。结果显示, PS

É 2200 颗粒前期(0~ 20 天)维持较高的水平, 后期(20~ 40 天)明显降低(图 1)。

张荣铁等(1994)总结多年来对小麦旗叶全展后光合特性的研究结果, 发现小麦旗叶光合功能衰退过程中, 其叶绿素含量的变化可划分为叶绿素含量的相对稳定期(Relative Steady Phase of Chlorophyll Content)和速降期(Sharp Fall Phase of Chlorophyll Content), 在叶绿素含量的相对稳定期, 旗叶光合能力维持在相对较高的水平, 并由此而提出了小麦旗叶光合功能衰退进程可分为光合功能的高值持续期(Active Photosynthetic Duration)和速降期两个阶段, 作为判断旗叶光合进程的指标之一^[16]。旗叶全展后 PSÉ 2200 颗粒电子传递活性在不同阶段所显示的变化, 基本和旗叶光合功能的高值持续期及速降期相对应(图 1)。

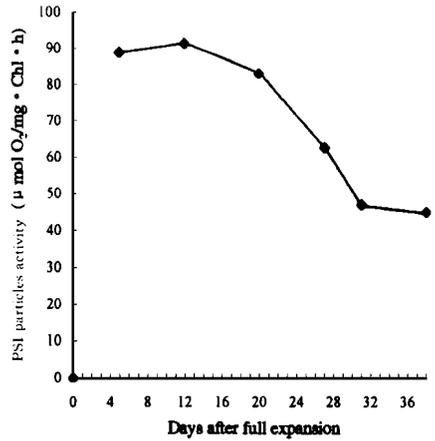


图 1 旗叶全展后 PSÉ 2200 颗粒活性的变化
Fig. 1 Changes in PSÉ 2200 particles electron transport activity after flag leaves full expansion

2.2 旗叶全展后 PSÉ -200 颗粒多肽组分的变化

对应于旗叶光合功能衰退进程的高值持续期, PSÉ 颗粒多肽组分相对稳定, 此阶段 PSÉ 颗粒维持较高的还原能力。进入速降期后, 多肽组分变化较为明显(图 2)。

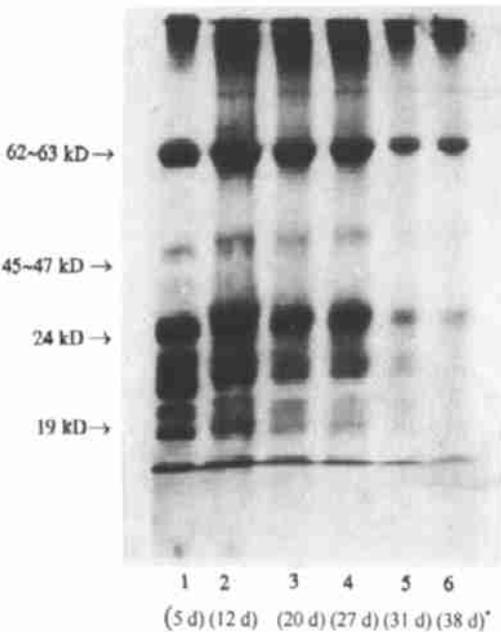


图 2 旗叶全展后 PSÉ 2200 颗粒多肽组分的变化
Fig. 2 The change of PSÉ particles polypeptide components after flag leaves full expansion
3 days after flag leaves full expansion

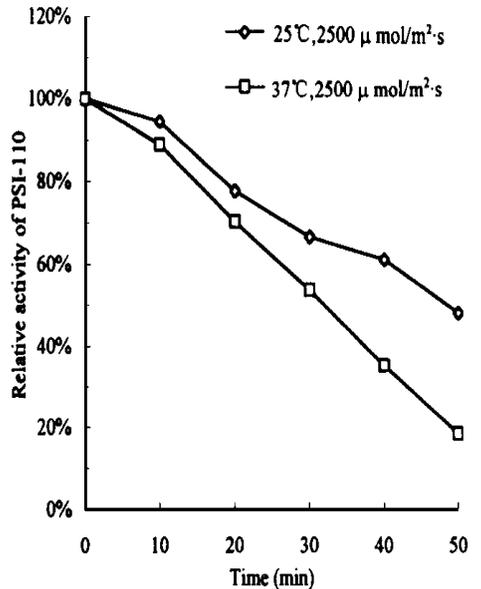


图 3 强光高温逆境对旗叶光合功能高值持续期(全展后第 12 天) PSÉ 2110 颗粒电子传递活性的影响
Fig. 3 Effects of strong light and high temperature stress on electron transport activity of PSÉ 2110 particles during the active photosynthetic duration of flag leaf (12 days after full expansion)

2.3 光温逆境对旗叶光合功能高值持续期 PSÉ-110 颗粒还原活性及多肽组分的影响

PSÉ 2110 颗粒是较为纯化的 PSÉ 反应中心复合体, 色素含量较少, 较为适用于探讨 PSÉ 复合物的多肽组分及特性变化。为此, 选用全展后第 12 天的旗叶制备 PSÉ 2110 颗粒, 以 25℃ 下未经光温逆境处理的 PSÉ 2110 颗粒活性(100%) 作为对照, 进行光温逆境处理。在 25℃ 条件下, 经 $2500 \text{ Lmol}\ddot{\text{m}}^{-2}\text{s}$ 处理 30 min 和 50 min 后, PSÉ 2110 活性分别下降约 30% 和 50%, 而 37℃ 条件下活性已降低了 40% 和 80% 以上(图 3)。这表明强光高温逆境条件下 ($2500 \text{ Lmol}\ddot{\text{m}}^{-2}\text{s}$, 37℃) PSÉ 2110 颗粒电子传递活性的下降明显快于单纯的强光逆境处理。

分析 PSÉ 2110 颗粒的多肽组分也显示: 当强光结合高温处理时, PSÉ 2110 颗粒的结构损伤明显高于单纯强光处理(图 4)。37℃ 条件下, 处理时间超过 30 min, 除作用中心(62~ 63 kD)等多肽变化较小外, 其它多肽, 尤其是小分子多肽变化较为明显, 25℃ 条件下则变化不显著。

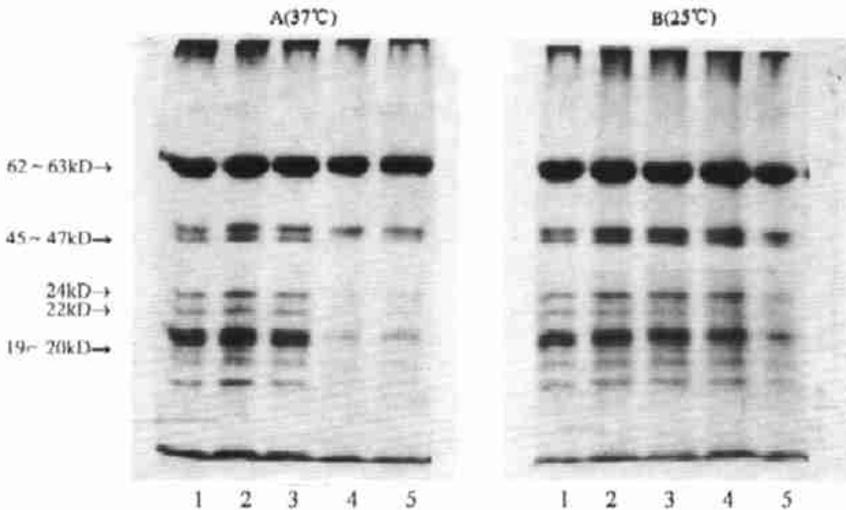


图 4 光温逆境对旗叶光合功能高值持续期(全展后第 12 天) PSÉ 2110 颗粒多肽组分的影响

Fig 4 Effects of light+temperature stress on polypeptide components of PSÉ 2110 particles during the photosynthetic functional active photosynthetic duration of flag leaf (12 days after full expansion).

A: PFD: $2500 \text{ Lmol}\ddot{\text{m}}^{-2}\text{s}$, Temperature: 37 B: PFD: $2500 \text{ Lmol}\ddot{\text{m}}^{-2}\text{s}$, Temperature: 25

lane 1- 10 min, lane 2- 20 min, lane 3- 30 min, lane 4- 40 min, lane 5- 50 min

2.4 光温逆境对旗叶光合功能速降期 PSÉ-110 颗粒电子传递活性及多肽组分的影响

对应于旗叶速降期, 全展后第 31 天的 PSÉ 2110 电子传递活性较低(小于 $50 \text{ Lmol}\ddot{\text{O}}_2\ddot{\text{m}}^{-2}\text{h}$), 以此活性为对照(100%), 单纯强光处理 PSÉ 2110 颗粒 10 min 后, 活性下降约 30%, 结合高温逆境(37℃)处理 10 min, 活性降低 60% 以上(图 5)。

多肽组分分析显示, 全展后第 31 天 PSÉ 2110 颗粒本身结构组分相对较为简单, 经光温处理后, 与活性变化相比其组分虽有改变, 但并不显著。PSÉ 2110 仅保持部分作用中心和很少量的捕光色素蛋白, 一些小分子多肽均已降解(图 6)。

3 讨论

3.1 小麦旗叶光合功能衰退进程中 PSÉ - 200 颗粒特性的变化

本实验确认在光合功能的高值持续期, PSÉ 200 颗粒电子传递活性维持较高还原能力(图 1), 在高值持续期的后期, 电子传递活性有所下降, 大约在旗叶全展 26 天后, 活性下降 1ö3。该阶段 PSÉ 颗粒多肽的组分变化并不显著(图 2 Lane 1~ 4)。这表明高值持续期 PSÉ 颗粒中叶绿素和蛋白结合未出现结构性的破坏, 因此电子传递活性也保持在一定水平。进入光合功能衰退的速降期后, PSÉ 颗粒还原能力活性则下降 1ö2 以上(图 1), PSÉ 颗粒部分小分子多肽, LHCÉ (24 kD 等)和作用中心(62~ 63 kD)等组分均出现降解, 说明这一时期, 光合机构(光合膜)也出现衰退, 最终导致了电子传递活性及光能转化效率的下降。

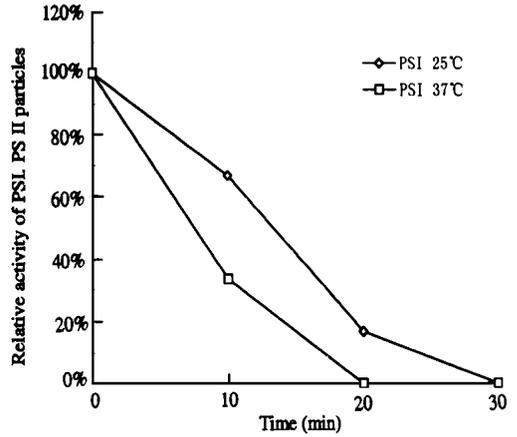


图 5 强光高温逆境对光合功能速降期旗叶(全展后第 31 天)PSÉ 2110 颗粒电子传递活性影响
 Fig. 5 Effects of strong light and high temperature stress on electron transport activity of PSÉ 2110 particles during the photosynthetic functional sharp fall phase of flag leaf(31 days after full expansion)

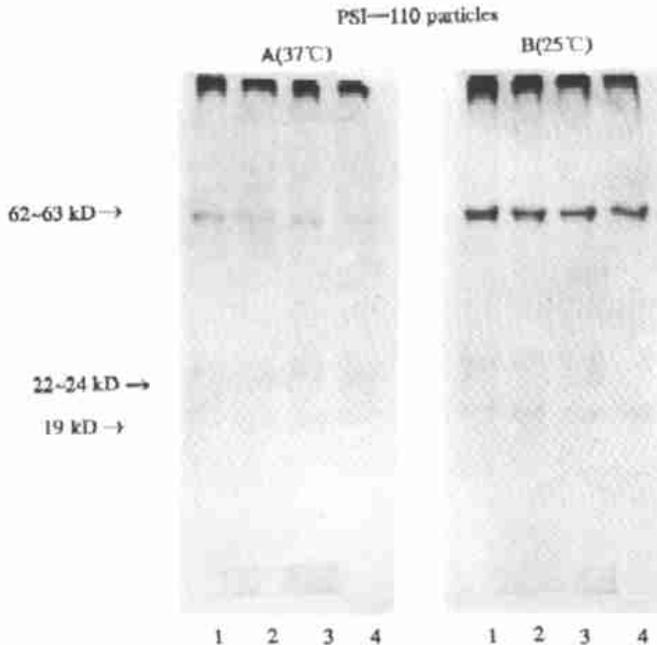


图 6 光温逆境对光合功能速降期旗叶(全展后第 31 天)PSÉ 2110 颗粒多肽组分的影响
 Fig. 6 Effects of light+temperature stress on polypeptide components of PSÉ 2110 particles during the photosynthetic functional sharp fall phase of flag leaf (31 days after full expansion)
 A, PFD: 2500 Lmolöm²s, Temperature: 37 B, PFD: 2500 Lmolöm²s, Temperature: 25
 Lane 1- control, Lane 2- 10 m in, Lane 3- 20 m in, Lane 4- 30 m in

3.2 强光高温对旗叶不同衰退阶段 PSÉ -110 颗粒多肽组分及活性的影响

光合膜电子传递活性对光以外的逆境反应同样也非常敏感。有报道指出, 高温下叶片光合作用降低的部分原因是由于光合膜电子传递系统的损伤^[17]。温度逆境能增加叶片对光逆境的敏感程度, 而光合膜是最先感受光逆境的部位。比较强光高温对不同衰退阶段 PSÉ 颗粒活性的影响, 可发现高温加剧 PSÉ 颗粒的光抑制程度, 光合功能速降期 PSÉ 颗粒抗强光高温胁迫能力明显小于高值持续期(图 3、5), 因此高温结合强光逆境有可能导致衰退进程加速。光合功能高值持续期的 PSÉ 颗粒经光温逆境处理后, 捕光色素蛋白(LHCÉ)及作用中心的部分小分子多肽产生显著变化, 而单纯光逆境条件下在处理后期才出现降解。可见高温胁迫能加剧光逆境条件下 PSÉ 多肽组分的损伤, 从而造成活性的下降。在旗叶光合功能衰退的速降期, 其 PSÉ 颗粒的多肽组分已趋于简单, 对光温敏感的组分大体上已降解, 仅剩作用中心等核心多肽组分, 对光温逆境的反应“迟钝”, 因此, 多肽组分在光温逆境条件下的变化并不像高值持续期单纯光逆境下的变化那样显著, 结合强光高温逆境胁迫下 PSÉ 2110 颗粒活性的变化可发现, 在光合功能衰退的速降期, 由于结构组分的不完整, PSÉ 颗粒对强光高温逆境的适应调节能力降低, 抗强光高温逆境胁迫的能力明显减弱。

本文对小麦旗叶光合功能衰退过程中光合膜特性的研究显示: 类囊体膜、PSÉ 颗粒中参与光能捕获及转化的多肽组分在光合功能的高值持续期维持相对稳定, 而在速降期则出现降解, 电子传递活性也产生相应的改变, 并且光温逆境对两个不同阶段 PSÉ 组分及活性的影响程度存在明显差异。光合功能衰退过程中 PSÉ 光化学活性、结构组分的变化及对环境适应等机理, 是一个值得进一步深入研究的课题。

参 考 文 献

- 1 Kok B. *B iochim B iophys A cta*, 1956, 21: 234~ 244
- 2 Pow les S B. *A nn Rev P lant P hysiol*, 1984, 35: 15~ 44
- 3 Cleland R E, A Melis, P Neale. *J P hotosynth Res*, 1986, 9: 79~ 88
- 4 许大全, 张玉忠, 张荣铎. *植物生理学通讯*, 1992, 28(4): 237~ 243
- 5 A ro E M , I V irgin, B Andersson. *B iochim B iophys A cta*, 1993, 1143: 113~ 134
- 6 Ono T, T Noguchi, Y Nakajima. *B iochim B iophys A cta*, 1995, 1229(2): 239~ 248
- 7 Sonoike K, I Terashima. *P lanta* 1994, 194: 287~ 293
- 8 Sonoike K. *P lant Cell P hysiol*, 1995, 36(5): 825~ 830
- 9 Sonoike K. *P lant Science*, 1996, 115(2): 157~ 164
- 10 徐恒永, 赵君实. *作物学报*, 1995, 21(2): 204~ 209
- 11 左宝玉. *植物生理和农业现代化*. 北京: 农业出版社, 1985. 49~ 53
- 12 Nelson N. In: M Edelman (ed), *M ethods in Chlorep last M olecular B iology*, Am sterdam: Elsevier Biomedical Press, 1982. 907~ 915
- 13 M ullet J, J J Burke, C A rntzen. *P lant P hysiol*, 1980, 65: 814~ 822
- 14 A rnon D I. *P lant P hysiol*, 1949, 24: 1~ 15
- 15 L aemm li U K. *N ature*, 1970, 227: 680~ 685
- 16 张荣铎, 高忠. 见: 邹琦等主编, *作物高产高效生理学研究进展(第一集)*, 北京: 科学出版社, 1994. 35~ 44
- 17 Berry J, O Björkman. *A nn Rev P lant P hysiol*, 1980, 31: 491~ 543