杂种杨无性系的光系统Ⅱ放氧活性、光合色素及叶绿体超微结构对光胁迫的响应

张守仁^{1,2} 高荣孚² 王连军³

(1 中国科学院植物研究所植被数量生态学重点实验室, 北京 100093)

(2 北京林业大学, 北京 100083) (3 内蒙古兴安盟林业局, 乌兰浩特 137400)

摘要 用氧电极仪、红外 CO₂ 气体分析仪及叶绿素荧光仪, 结合透射电镜技术对几个杂种杨无性系在光胁迫下的光系统Ⅱ活性、光合色素及叶绿体超微结构进行了测定。随着预处理光强的增加, 各无性系叶片的净光合速率和光系统Ⅱ放氧活性明显下降。二倍体无性系 B11 的光系统Ⅱ最大光化学效率 (F_v/F_m) 及实际光化学效率 ($(F_m' - F)/F_m'$) 高于两个三倍体无性系 B346 和 B342。强光下三倍体无性系 B346 的非光化学淬灭远高于 B342 和二倍体无性系 B11。叶绿素含量和光合速率没有明显的线性关系, 叶绿素 a/b 含量在自然光胁迫下存在季节变化, 受强光胁迫 2 个三倍体无性系的叶绿素 a/b 增大。预处理光强 PFD 超过 3 000 $\mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 各无性系的基粒类囊体片层结构遭到破坏, 但二倍体无性系的类囊体片层结构受破坏程度较三倍体无性系轻。叶绿体蛋白合成抑制剂 硫酸链霉素 (SM) 可加剧叶绿体超微结构的破坏。

关键词 光胁迫 杂种杨 光系统Ⅱ放氧活性 叶绿素荧光 光合色素 叶绿体超微结构

RESPONSE OF OXYGEN EVOLUTION ACTIVITY OF PHOTOSYSTEM II, PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS AND CHLOROPLAST ULTRASTRUCTURE OF HYBRID POPLAR CLONES TO LIGHT STRESS

ZHANG Shou-Ren^{1,2} GAO Rong-Fu² and WANG Lian-Jun³

(1 Laboratory of Quantitative Vegetation Ecology, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China)

(2 College of Biology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

(3 Hinggan Meng Forestry Bureau, Yulanhot, Inner Mongolia 137400, China)

Abstract The photosynthetic rate, oxygen evolution activity of the PS II center, and chloroplast ultrastructure of three hybrid poplar clones under light stress were investigated using an oxygen electrode, IRGA (infra-red CO₂ gas analyzer), chlorophyll fluorometer and transmission electron microscopy. The photosynthetic rate and PS II oxygen evolution varied negatively with the pretreatment-PFD (Photon Flux Density), whereas the chlorophyll a/b varied positively with the pretreatment-PFD for two triploid clones. Both the maximal and effective PS II efficiencies of the diploid clone B11 were much higher than those of the two triploid clones B346 and B342. The non-photochemical quenching of triploid B346 was higher than in the B342 and B11 clones. The photosynthetic capacity and resistance to light stress for the diploid clone was higher than in triploid clones. There was no close relationship between chlorophyll content and photosynthetic rate, there was seasonal variation in CHL content and CHLa/b, and the ratio of CHLa to CHLb decreased with enhancing pretreatment-PFDs. The chloroplast protein inhibitor streptomycin (SM) blocked the re-synthesis process of D1 protein. Transmission electron micrographs showed that 1h strong irradiance exposure could result in the decomposition of the lamellar structure of grana. Clones B11 and B342 were more resistant to light stress than clone B346.

Key words Light stress, Hybrid poplar clones, Oxygen evolution activity of PS II, Chlorophyll fluorescence, Photosynthetic pigments, Chloroplast ultrastructure

光是植物生长和分布的最重要的环境因子之一, 没有光植物就不能生存, 但过量的光对植物也是有害的。随着环境污染的加剧, 特别是大气臭氧层的减少, 光因子作为环境胁迫的作用会越来越突出。

一般认为, 高等植物在其一生中均会受到光胁迫的作用, 并且从极地到赤道这种现象是普遍存在的。据测定植物处于光胁迫下光合作用的光抑制造成约 10% 的碳损失 (Long *et al.*, 1994)。这种碳损失对植

物的生存和分布都起巨大影响。搞清植物在光胁迫下光合作用的变化规律有很高的理论价值和实际意义。叶片或叶绿体暴露在强光下会导致光合作用下降。已有证据表明造成光合作用下降的机理有气孔因素(Terashima *et al.* ,1988) PS II 失活(Powles & Björkman ,1983)及叶黄素循环(Bilger & Björkman ,1990 ; Demmig-Adams ,1990 ,) ,到目前为止尚无统一的定论。但光系统 II 反应中心作为光抑制的主要部位已达成共识。并且许多学者意识到 :光抑制可能是植物叶片保护光合机构免遭强光胁迫的一种途径(Bilger & Björkman ,1990 ;Björkman & Demmig-Adams ,1994 ; Demmig-Adams ,1990 ; Demmig-Adams *et al.* ,1996)。处于光胁迫下的植物往往会主动或被动地采取一些保护性反应以避免由于接收太多过量的辐射从而使光合机构遭受破坏或失活。但植物的这种保护也是有范围的 ,不是无限的。光胁迫超过一定的范围时 ,植物的光合机构不可避免地要受到一定程度的损害。

本研究以若干杨属(*Populus*)白杨派种间双杂交三倍体和二倍体无性系为试验材料。这些无性系生长迅速、材质好 ,是优良的纸浆林和防护林及庭院绿化树种。评判一个无性系的优劣性 ,观察其在环境胁迫条件下的表现是至关重要的。在非集约经营条件下 ,其生态适应性特别是这些无性系抵抗环境胁迫的能力是其生存生态对策的重要指标。已有的气孔生理生态研究表明 ,三倍体和二倍体无性系气孔对环境变化的敏感性是存在差异的(张守仁等 ,1998)。本研究试图通过测定这些无性系在光胁迫下的光系统 II 活性、叶绿素荧光、叶绿素 a 和 b 含量、比率及叶绿体超微结构变化 ,探讨强光对植物光合功能和机构的胁迫机制。

1 材料和方法

1.1 实验材料

供试材料为北京林业大学育种研究室培育的银腺杨(*Populus alba* × *P. glandulosa*)× 毛新杨(*P. tomentosa* × *P. bolleana*)双杂交 F_1 代三倍体无性系 B342 和二倍体无性系 B11 ,毛新杨 × 银腺杨双杂交 F_1 代三倍体无性系 B346。上述无性系于 1994 年春季扦插在北京林业大学苗圃 ,定期施肥、浇水 ,并于 1995 年秋季平茬。选择生长状况一致或接近的各无性系作为研究对象 ,每个无性系 3~5 株重复。实验测定从 1997 年 7 月开始到 9 月份结束。

1.2 试验方法

1.2.1 叶绿体超微结构观察

取从顶部数完全展开的第六片新鲜叶 ,以直径 1 cm 的打孔器打取叶圆片 ,然后将叶圆片放入已盛有一定蒸馏水的小烧杯中使其漂浮在水面 ,以直流可调溴钨灯作为光源 ,分别调整成光通量密度为 $4\,000\,\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、 $3\,000\,\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、 $1\,000\,\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 对叶圆片处理 1 h ,光源和叶样品间加 6 cm 的水层隔热 ,处理过的样品迅速置入 5% 戊二醛液中固定 ,梯度脱水 ,环氧树脂包埋 ,制成超薄切片。在日立 H-650 型透射电子显微镜下观察(照相)叶绿体的超微结构。

1.2.2 抑制剂处理后的叶绿体超微结构观察

取上述新鲜叶片 ,将叶柄浸入盛水的大烧杯中 ,然后用锋利剪刀将叶柄在水中剪掉一小段 ,迅速将带剩余叶柄的叶移到预先配好的含有 $3\,\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸链霉素(Streptomycin SM)溶液的小烧杯中 ,将这些叶样放置于光通量密度为 $700\sim 800\,\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的光下照光 ,每隔 1 h 以打孔器取样 ,光胁迫处理及固定、脱水、包埋及制片过程同 1.2.1。

1.2.3 叶绿体的制备

按 Oku 等(1971)的方法修改提取叶绿体。破碎液 $50\,\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl 缓冲液 ,pH = 7.8 ,含 $0.5\,\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖 $0.01\,\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 0.1% (w/v)牛血清蛋白和 25% (w/v)PEG(平均分子量 4 000) ,清洗液 :在上述破碎液中除去 PEG 即成。保存液 : $50\,\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl 缓冲液 ,pH = 7.5 ,含 $1\,\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖和 $0.035\,\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl。

取新鲜各无性系完全展开叶 50 g ,洗净、除去中脉、剪碎置于匀浆杯中 ,加入 200 ml 破碎液 ,匀浆 30 s ,6 层纱布过滤 ,将过滤液倒入 50 ml 的离心管 ,迅速放入冷冻离心机(4°C)以 $700\times g$ 离心 1 min ,弃上清 ,用清洗液洗 1 次 ,再以 $300\times g$ 离心 30 s ,除去完整细胞及细胞核 ,将上清液倒入另一离心管 ,在 4°C 下以 $1\,500\times g$ 离心 2 min ,将沉淀下的叶绿体悬浮于保存液中 ,置于冰箱中待用。以上操作均在低温中进行(0°C 左右) ,一切用具均预冷。

样品光胁迫处理 :取待测的叶绿体提取液约 0.5 ml 滴到一块玻璃板上($5\,\text{cm}\times 5\,\text{cm}$) ,然后将带有样品的玻璃板移到溴钨灯下 ,样品和灯之间以 6 cm 水层隔热 ,调节输出电流使照到样品的光通量密度分别达到 $4\,000\,\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、 $3\,000\,\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、 $1\,000\,\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,处理时间为 0.5 h。

1.2.4 PS II 反应中心的活性

对上述制备的叶绿体进行放氧测定作为 PS II

反应中心的活性。测放氧的介质为 :300 mmol·L⁻¹ 蔗糖 ,10 mmol·L⁻¹ NaCl 0.05 % B.S.A 25 mmol·L⁻¹ MES ,以及 65 μmol DCIP 和 3.5 mmol·L⁻¹ FeCy 作为电子受体。测定放氧以 Clark 型氧电极仪。反应瓶容量为 8 ml ,磁棒搅拌 ,以具可透红外光灯罩的 50 V 直流聚光灯作为光源。测定时先在反应瓶内加反应介质 ,然后将预先经光处理的叶绿体提取液以微量注射器取 50 μl 加入反应介质中 ,磁棒搅拌待氧电极读数稳定 ,给反应瓶照光 ,光通量密度约 1 000 μmol·m⁻²·s⁻¹ ,照光同时启动秒表计时 ,每隔 30 s 读数 1 次 ,直到读数平稳。3~5 次重复。

1.2.5 叶绿素含量测定

采用改进的方法提取叶绿素(沈伟其 ,1988) ,用 UVIKON-810 紫外-可见分光光度仪测定和计算叶绿素含量及叶绿素 a/b 比值。

叶绿体提取液吸收光谱测定 :上述经光预处理过的叶绿体提取液用 UVIKON-810 紫外-可见分光光度仪在 300~700 nm 扫描测定吸收光谱。

1.2.6 叶片的光预处理

以离体新鲜枝条(切口浸没在水里)上完全展开叶(第六片)作为处理对象 ,以直流可调节溴钨灯作为光源(24 V 400 W) ,在光源和叶片间以 6 cm 的水层隔热 ,使光通量密度分别达到 4 000 μmol·m⁻²·s⁻¹、3 000 μmol·m⁻²·s⁻¹、2 000 μmol·m⁻²·s⁻¹、1 000 μmol·m⁻²·s⁻¹、500 μmol·m⁻²·s⁻¹(CK)作用于叶片 15 min ,处理好的叶样迅速置于红外 CO₂ 分析仪(LI-6200 ,LI-Cor Inc ,Lincoln ,Nebraska ,USA)叶室内在光通量密度 1 000 μmol·m⁻²·s⁻¹下进行测定 ,3~5 次重复。

1.2.7 叶绿素荧光测定

叶绿素 a 荧光测定使用 PAM-101 + 103 调制式脉冲荧光仪(Walz 8521 ,Effeltrich ,Germany)测定 ,设置作用光(Actinic light)强度为 300 μmol·m⁻²·s⁻¹ ,饱和脉冲光(Pulse saturation light)强度为 4 000 μmol·m⁻²·s⁻¹ ,饱和脉冲光持续时间为 800 ms。样叶为从顶部数第六片完全展开叶 ,选取经不同自然光强度处理的叶片进行测定。每次测定之前先将剪下的叶放于湿纱布内并暗处理 20 min。

2 结果与讨论

2.1 叶片气体交换和光系统 II 中心放氧活性变化

3 个无性系的叶片在经受超过 PFD 为 2 000 μmol·m⁻²·s⁻¹ 光强处理后 ,净光合速率(P_n)迅速下降(图 1)。无性系 B11 的净光合速率始终高于无性

系 B346 和 B342。最低的是无性系 B346。很明显二倍体无性系的光合能力及抗光胁迫性要高于三倍体无性系。图 2 显示的是 3 个无性系的叶绿体提取液在受到不同光强预处理后 ,代表 PS II 反应中心活性的放氧速率。无性系 B346 的叶绿体在受到光强为 1 000 μmol·m⁻²·s⁻¹ 以后 ,放氧速度就开始下降 ,如处理光强超过 2 000 μmol·m⁻²·s⁻¹ 时 ,放氧速度下降幅度增大。无性系 B342 和 B11 的叶绿体在受到超过光强 2 000 μmol·m⁻²·s⁻¹ 的预处理时 ,放氧速度才开始下降。各无性系叶绿体的预处理的光强达到 3 000 μmol·m⁻²·s⁻¹ 时 ,放氧速度均减小约 50% ,从受光胁迫而导致放氧速度的下降来看 ,无性系 B346 比 B342 和 B11 要略快。

图 1 各无性系净光合速率对不同预处理光强的响应
Fig.1 Response of net photosynthetic rate of each clone to different pretreatment-PFD

图 2 各无性系光系统 II 放氧活性对不同光强预处理的响应
Fig.2 Response of PSII activity of each clone to different pretreatment-PFD

2.2 叶绿素荧光的变化

随着自然光强的增大,叶片光系统Ⅱ最大光化学效率(F_v/F_m)及实际光化学效率 $[(F_m' - F)/F_m']$ 均显著减少(图3,图4)。说明强光对两个光系统间的光合电子传递造成了抑制,这可能是由于过剩激发光能滞留的结果。在从弱光到强光的变化过程中,二倍体无性系B11的光系统Ⅱ最大光化学效率(F_v/F_m)及实际光化学效率 $[(F_m' - F)/F_m']$ 均明显高于两个三倍体无性系。显示了二倍体无性系B11的原初光化学转化效率要高于两个三倍体无性系B346和B342。这一结论和上述光合气体交换的

图3 各无性系光系统Ⅱ最大光化学效率(F_v/F_m)对不同预处理光强的响应

Fig.3 Response of maximum PS II efficiency (F_v/F_m) of each clone to different pretreatment-PFD

图4 各无性系光系统Ⅱ实际光化学效率 $[(F_m' - F)/F_m']$ 对不同光强预处理的响应

Fig.4 Response of actual PS II efficiency $[(F_m' - F)/F_m']$ of each clone to different pretreatment-PFD

测定结果一致。对非光化学淬灭的测定显示:随着光强的增大,叶片光系统Ⅱ的非光化学淬灭急剧增加(图5),说明过剩的激发光能用于热耗散的光能比率在增大。非光化学淬灭的增加是植物在强光胁迫下的自我保护机制。强光下三倍体无性系B346的非光化学淬灭远高于B342和二倍体无性系B11,可以看出三倍体无性系B346将较大比例的吸收光能用于热耗散,所以用于光合电子传递的光能相对较少。这可能是该无性系在强光下光合速率迅速下降的原因之一。

图5 各无性系光系统Ⅱ非光化学淬灭(NPQ)对不同预处理光强的响应

Fig.5 Response of PS II non-photochemical quench (NPQ) of each clone to different pretreatment-PFD

2.3 夏季自然强光环境下叶绿素a/b含量的变化

表1列出的是各无性系叶片的叶绿素含量在夏秋季节3个典型月份的变化情况。7月上旬的叶绿素含量明显高于8月下旬的相应值,9月中旬各无性系叶片的叶绿素含量又有所上升。在7~8月份,B11的叶绿素含量仅次于B342,B346的叶绿素含量又低于B11。值得注意的是在9月中旬无性系B346的叶绿素含量超过其它两个无性系,这可能与该无性系具较持久的光合功能有关。

叶绿素a/b以7月份为最高。在3个月中无性系B342的叶绿素a/b相对较低,说明总叶绿素中叶绿素b的比例高,即捕光色素系统发达,这可能导致其具有较高的光能转化效率。无性系B342在7月份的叶绿素a/b低于无性系B11、B346,该月份中B346的叶绿素a/b最高,至8月和9月无性系B346的叶绿素a/b变小。

可以看出三倍体无性系B346维持高含量的光合色素的时间要长于二倍体无性系B11,并且维持

表 1 各无性系不同月份的叶绿素含量(mg 叶绿素·g⁻¹叶鲜重)
Table 1 Chlorophyll contents of each clone in different months(mg chl·g⁻¹ fresh leaf weight)

无性系 Clone	叶绿素 a Chlorophyll a			叶绿素 b Chlorophyll b			叶绿素总量 Chlorophyll a + b			叶绿素 a/b Chlorophyll a/b		
	7 月 July	8 月 Aug.	9 月 Sept.	7 月 July	8 月 Aug.	9 月 Sept.	7 月 July	8 月 Aug.	9 月 Sept.	7 月 July	8 月 Aug.	9 月 Sept.
B346	1.64 (0.12)	1.48 (0.08)	2.19 (0.22)	0.40 (0.01)	0.50 (0.01)	0.60 (0.02)	2.04 (0.15)	1.98 (0.13)	2.79 (0.09)	4.09 (0.33)	2.95 (0.25)	3.64 (0.33)
B342	2.35 (0.07)	1.62 (0.11)	1.74 (0.09)	0.63 (0.01)	0.44 (0.01)	0.48 (0.03)	2.98 (0.21)	2.06 (0.06)	2.22 (0.16)	3.74 (0.29)	3.69 (0.47)	3.62 (0.24)
B11	2.27 (0.22)	1.61 (0.15)	1.98 (0.09)	0.61 (0.02)	0.43 (0.03)	0.54 (0.04)	2.88 (0.26)	2.03 (0.16)	2.51 (0.07)	3.75 (0.27)	3.77 (0.19)	3.69 (0.38)

表中值为 3 次测定平均值 , 括号内值为标准差 The value in the table is the mean of three measurements and the value in the bracket is the standard deviation

表 2 不同光强预处理后各无性系的叶绿素 a/b 变化
Table 2 Chlorophyll a/b of each clone after pretreatment-PFD

无性系 Clone	预处理光强 Pretreatment of PFD ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)			
	4 000	3 000	1 000	CK
B346	3.32	3.23	3.25	3.18
B342	3.49	3.61	3.60	3.34
B11	3.10	3.15	3.10	3.07

高功效的捕光色素系统的时间也长。

表 2 是无性系 B346、B342、B11 的叶绿体悬浮液在受到 30 min 不同光强预处理后 , 叶绿素 a/b 的变化情况。从表 2 中可以看出 3 个无性系的叶绿体悬浮液在受到 30 min 不同光强预处理后 , 叶绿素 a/b 的变化情况是有差别的。随着预处理光强的增大 , 无性系 B346 和 B342 的叶绿素 a/b 值变大。这一结果和 Lee (1989) 对生长于不同光环境豌豆叶的研究结果是一致的。这意味着强光对叶绿素 b 的破坏程度要高于叶绿素 a。这可能是强光破坏了光系统 II (PS II) 的捕光色素蛋白复合物(LHCP) , 而 LHCP 是叶绿体中唯一含有叶绿素 b 的色素蛋白复合物(Thornber , 1975 ; Brown *et al.* , 1975)。LHCP 占整个类囊体膜叶绿素蛋白复合物总量的 50% 左右 , 在光能的吸收、传递和激发能在两个光系统中的分配等方面具有重要的功能。而无性系 B11 的叶绿素 a/b 值相对变化不大 , 这可能与该无性系有较强的抵抗光胁迫能力有关。

2.4 叶绿体的超微结构变化

图 6 是无性系 B346、B342、B11 的叶片在分别经受光通量密度 4 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、3 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (CK) 处理 1 h 后 , 通过透射电镜照相记录的叶绿体超微结构情况 , 从照片中可以看到 , 离体叶在预处理光强较低时 , 叶绿体的基粒类囊体的片层结构是完整的。当经受强光(高于 3 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 作用后 , 叶绿体的基粒类囊体结构都遭到不同程度的破坏 , 基粒的片层

结构散开 , 特别是无性系 B346 的情况最为明显 , 而 B11 的变化则不明显。造成各无性系叶绿体的基粒类囊体结构都遭到破坏的临界光强是不同的 , 无性系 B346 的 PFD 要高于无性系 B342 和 B11。说明前者抵御光胁迫的能力比后者要弱。这一结果和前面对各无性系光系统 II 放氧活性和叶片光合速率的测定结果是一致的。

图 6 中的 13 ~ 16 是无性系 B11 从叶柄导入 SM 1 h 叶片在分别经受光通量密度 4 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、3 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (CK) 处理 1 h 后 , 以透射电镜照相记录的叶绿体超微结构。可以看到叶片导入 SM 后 , 加速了叶绿体片层结构的破坏。SM 是叶绿体蛋白合成抑制剂 , D₁ 蛋白的快速周转由于 SM 的作用使合成过程受阻 , 从而使净降解增大 , 叶绿体的超微结构也就会受到破坏。

PS II 的功能易遭受强光胁迫而失活。失活的 PS II 可以被修复。连续的 D₁ 蛋白降解与合成称为 D₁ 蛋白的快速周转(Mattoo *et al.* , 1984 ; 1989) , 当 D₁ 蛋白降解和合成处于平衡的时候 , 并不导致光合功能的下降 , 只有当 D₁ 蛋白的光破坏超过了合成过程 , 才明显表现光合能力的损失。本试验叶绿体的超微结构图提供了 SM 阻止 PS II 反应中心复合物 D₁ 蛋白合成的证据。

3 讨 论

随着预处理光强的增加 , 各无性系叶片的净光合速率和光系统 II 放氧活性明显下降。造成各无性系叶片的净光合速率和光系统 II 放氧活性下降的临界光强是不同的 , 无性系 B346 的 PFD 要低于无性系 B342 和 B11。说明前者光合系统对光的敏感程度要高于后者。

图 6 透射电镜照片记录暴露在不同光强(1 h)下的叶绿体超微结构(放大倍数: $\times 3\,000 \sim 5\,000$)

Fig.6 Changes (Magnification: $\times 3\,000 \sim 5\,000$) of chloroplast ultrastructure exposed to 1 h pretreatment-PFD for leaf discs from clone B346 (1)~(4): 为无性系 B346 (5)~(8): 为无性系 B342 (9)~(12): 为无性系 B11 (13)~(16): 为受 SM 处理后的无性系 B11. 对每个无性系的预处理光强(PFD)分别为 $4\,000, 3\,000, 1\,000, 100$ (CK) $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (电镜照片处理结果为从左到右)
(1)~(4): B346 (5)~(8): B342 (9)~(12): B11 (13)~(16): With combined pretreatment of chloroplast protein inhibitor streptomycin (SM). Micrographs (1)~(4), (5)~(8), (9)~(12), (13)~(16) represent pretreatment-PFD with $4\,000, 3\,000, 1\,000, 100$ (CK) $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, respectively

二倍体无性系 B11 的光系统 II 最大和实际光化学效率均高于三倍体无性系 B346 和 B342。强光下三倍体无性系 B346 的非光化学淬灭远高于 B342 和二倍体无性系 B11。

各无性系的叶绿素含量存在季节变化, 叶绿素含量在 7 月份和 9 月份高于 8 月份。受强光胁迫叶绿素 a/b 增大。叶绿素含量和光合速率没有明显的关系, 但可能与维持光合作用的时间有关。

预处理光强 PFD 超过 $3\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 各无性系的基粒类囊体片层结构遭到破坏, 但二倍体无性系的类囊体片层结构受破坏程度较三倍体无性系轻。导入叶绿体蛋白合成抑制剂 SM, 加速了叶绿体片层结构的破坏。

参 考 文 献

- Bilger, W. & O. Björkman. 1990. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in *Hedera canariensis*. *Photosynthesis Research*, **25**: 173 ~ 185.
- Björkman, O. & B. Demmig-Adams. 1994. Regulation of photosynthetic light energy capture, conversion, and dissipation in leaves of higher plants. In: Schulze, E. D. & M. M. Caldwell eds. *Ecophysiology of photosynthesis*. Berlin: Springer-Verlag. 17 ~ 47.
- Brown, J. S., R. S. Alberty & J. P. Thornber. 1975. Comparative studies on the occurrence and spectral composition of chlorophyll-protein complexes in a wide variety of plant material. In: Avron, M. ed. *Proceedings of the third international congress on photosynthesis*. Rehovot, Israel: Elsevier Amsterdam. 1951 ~ 1962.
- Demmig-Adams, B. 1990. Carotenoids and photoprotection in plants. A role for the xanthophyll zeaxanthin. *Biochemica et Biophysica*, **1020**: 1 ~ 24.
- Demmig-Adams, B., A. M. Gilmore & W. W. Adams III. 1996. *In vivo* functions of carotenoids in higher plants. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, **10**: 403 ~ 412.
- Lee, W. J. 1989. Characterization of the composition and activity of the photosynthetic apparatus in chloroplasts. Wisconsin-Madison: Wisconsin-Madison PhD Dissertation Press.
- Long, S. P., S. Humphries & P. G. Folkowski. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **45**: 633.
- Mattoo, A. K., H. Hoffmann-Falk, J. B. Marder & M. Edelman. 1984. Regulation of protein metabolism: coupling of photosynthetic electron transport *in vivo* degradation of the rapidly metabolized 32-Kilodalton protein of the chloroplast membranes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **81**: 1380 ~ 1384.
- Mattoo, A. K., J. B. Marder & M. Edelman. 1989. Dynamics of the photosystem II reaction center. *Cell*, **56**: 241 ~ 246.
- Ögren, E. 1991. Prediction of photoinhibition of photosynthesis from measurements of fluorescence quenching components. *Planta*, **184**: 538 ~ 544.
- Oku, T., H. Kawahara & G. Tomita. 1971. The Hill reaction and oxygen uptake in isolated pine chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, **12**: 559 ~ 566.
- Powles, S. B. & O. Björkman. 1983. Photoinhibition of photosynthesis: effect on chlorophyll fluorescence at 77K in intact leaves and in chloroplast membranes of *Nerium oleander*. *Planta*, **156**: 97 ~ 107.
- Shen, W. Q. (沈伟其). 1988. Extraction of mixed solution for determination of chlorophyll content in rice leaf blade. *Plant Physiology Communications (植物生理学通讯)*, (3): 62 ~ 64. (in Chinese)
- Terashima, I., S. C. Wong, C. B. Osmond & G. D. Farquhar. 1988. Characterisation of non-uniform photosynthesis induced by abscisic acid in leaves having different mesophyll anatomies. *Plant and Cell Physiology*, **29**: 385.
- Thornber, J. P. 1975. Chlorophyll-proteins: light-harvesting and reaction center components in plant. *Annual Review of Plant Physiology*, **26**: 127 ~ 158.
- Zhang, S. R. (张守仁) & R. F. Gao (高荣孚). 1998. Study on the stomatal ecophysiological characteristics of two new clones of sect. *Leuce*. *Acta Ecologica Sinica (生态学报)*, **18**: 358 ~ 363. (in Chinese with English abstract)

责任编辑: 蒋高明 责任编辑: 姜联合