

茄子 (*Solanum melongena* L.) 叶上表皮紫色 花色素苷对光合机构的保护效应

薛占军¹, 高志奎^{1,*}, 王 梅¹, 钟传飞², 高荣孚²

(1. 河北农业大学园艺学院, 保定 071001; 2. 北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083)

摘要:以茄子同一叶片上紫斑区域和绿斑区域为材料,采用发光二极管 LED 发出的混合光谱(白光)和单色光谱(红、蓝、绿光)照射后,通过光合仪(CIRAS-2)和叶绿素荧光仪(PEA 和 Dual-PAM-100)测定了茄子叶上表皮紫色花色素苷(purple anthocyanin, PA)对光合机构的影响。结果表明,分布于茄子叶片上表皮的 PA,主要截获约 53.2% ~ 73.6% 的 500 ~ 600 nm(黄绿光)可见光。紫斑区域的叶绿素 *a* 含量较低以及 PA 截获 27% 的 400 ~ 480 nm(蓝光)和 10% 的 630 ~ 700 nm(红光),可能是其最大净光合速率 $P_{n\max}$ 降低的原因。随着白光照射强度(0 ~ 3000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)的增大,茄子叶片的 PS II 最大光化学效率 F_v/F_m 、单位面积的光合机构含有的反应中心数目 RC/CS_0 和天线色素能量吸收驱动力 DF_{ABS} 下降,而初始荧光 F_0 、J 相的相对可变荧光 V_j 和单位反应中心耗散的能量 DI_0/RC 增加,但紫斑区域的上述参数变幅明显较小,表现为光抑制程度减轻。用 2000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的不同光质照射 30 min 后,茄子叶片 F_v/F_m 降低,但只有绿光和白光下紫斑区域的 F_v/F_m 显著的高于绿斑区域;同时白光照射后,茄子叶片的 P700 氧化还原动力学曲线降幅明显的大于 PS II 动力学曲线,但紫斑区域的这两个光系统动力学曲线的下降幅度明显减小。这反映出茄子叶上表皮 PA 有效的保护了 PS II 和 PS I 反应中心,减轻了电子传递链的还原程度和热耗散机构的运转压力,较好地维持了 PS II 与 PS I 之间的功能协调性。这种通过 PA 截获 500 ~ 600 nm(黄绿光)可见光对光合机构的保护效应属于生物物理水平的防御系统。

关键词:茄子;花色素苷;光合作用;光抑制;光系统 II;光系统 I

文章编号:1000-0933(2009)03-1374-08 中图分类号:Q945.1, S641.1 文献标识码:A

Protective action on photosynthetic apparatus by purple anthocyanin in the epidermal cells of eggplant (*Solanum melongena* L.) leaves

XUE Zhan-Jun¹, GAO Zhi-Kui^{1,*}, WANG Mei¹, ZHONG Chuan-Fei², GAO Rong-Fu²

¹ College of Horticulture, Agriculture University of Hebei, Baoding 071001, China

² College of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(3): 1374 ~ 1381.

Abstract: The paper focuses on the question if purple anthocyanin (PA) shields the photosynthetic apparatus of eggplant (*Solanum melongena* L.) leaves against excess light. Light response curves of photosynthetic activity of green-speckled parts (GSP) or purple-speckled parts (PSP) of the same leaf were measured with a CIRAS-2 instrument. Chlorophyll fluorescence transients were measured by two chlorophyll fluorometers (PEA and Dual-PAM-100) after illuminating with mixed spectrum (white light) or homo-chrome (red, blue or green) light produced by light-emitting diodes (LEDs) on GSP or PSP. The PA, which is localized in the epidermal cells of the leaves, mainly screens out green and yellow light (between 500 and 600 nm) removing 53.2% to 73.6% of the light in this range. The maximum net photosynthetic rate ($P_{n\max}$) of the PSP was smaller than that of the GSP, which may be caused not only by the smaller chlorophyll-*a*-content but also by the screening of 27% of the blue light between 400 and 480 nm and 10% of red light between 630 and 700 nm

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30571267);国家科技攻关计划资助项目(2004BA525B14)

收稿日期:2008-04-17; 修订日期:2008-12-05

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: gaozhikui2005@163.com

by PA. Increasing the intensity of the white light from 0 to 3000 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ photosynthetically active radiation (PAR), the maximum quantum yield of primary photochemistry of photosystem (PS) II (F_v/F_m), the density of reaction centers (RCs) per excited cross section (RC/CS_0) and the driving force on absorption basis of antenna chlorophyll in PSII (DF_{ABS}) declined gradually, whereas the minimum fluorescence (F_0), the relative variable fluorescence at the J-step (V_J) and the dissipated energy flux per RC (DI_0/RC) increased gradually in GSP and PSP. However, the change in the size of the parameters mentioned above was smaller in PSP than in GSP, implying that the susceptibility to photoinhibition was lower in PSP. After the GSP or PSP of eggplant were irradiated for 30 min with white, red, blue or green light of 2000 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, the F_v/F_m declined, but the F_v/F_m of PSP was significantly higher than that of GSP only in the case of an irradiation with white or green light. In addition, the decrease in the amplitude of the P700 (photosystem I) redox transients was bigger than that of PSII chlorophyll *a* fluorescence transient curves after irradiation with white light of GSP and PSP. However, the effect was smaller in PSP. We suggest that the RCs of PSI and PSII were effectively shielded by PA in the epidermal cells of the leaves. It prevents an excess reduction of electron transport chain and alleviates the need for a strong energy dissipation. It maintained the coordination between PS I and PS II. So, it is concluded that the protective effect of PA with respect to the photosynthetic apparatus is due to a screening of light in the visible spectrum between 500 and 600 nm. In other words PA is part of the biophysical defense system of the leaf.

Key Words: eggplant; anthocyanin; photosynthesis; photoinhibition; PS II; PS I

20 世纪 80 年代以来,植物光抑制机理研究进展迅速^[1, 2],逐步发现其在系统发育过程中,形成了对光合机构的光抑制或光破坏起重要保护作用的依赖叶黄素循环和 PS II 反应中心可逆失活的热能耗散的生理生化机制^[3, 4],还有通过叶片蜡质层或角质层的增厚和毛刺的增多来减少光吸收的物理或生物物理机制^[5, 6]。植物叶片中花色素苷的存在也是抗逆机制之一^[7],其合成和积累主要受 UV-B^[8]、光质^[9]、低温^[10]、渗透胁迫^[11]等诱导。

本实验室在茄子育种和栽培研究中发现,茄子叶表皮形成和积累的紫色花色素苷不仅与品种有关,也与夜低温有关。特别是幼嫩叶片在夜低温下紫色较深,随着夜温的升高或叶片发育成熟紫色花色素苷逐渐减少直至消失。近年的一些研究表明,花色素苷可以作为一种抗氧化剂来清除活性氧(O_2^- , $\text{OH}\cdot$, H_2O_2)和有机自由基 1,1-二苯基-2-苦基苯肼(DPPH $\cdot$)^[7, 12],对植物光合机构的光破坏起到重要的防御功能^[13],还可以作为渗透调节剂提高植物的抗旱性和抗寒性^[8, 14],但 Gould^[15]的研究结果却认为花色素苷没有辅助性的保护作用。然而,上述多数的研究结果是在人为诱导造成的光氧化胁迫下^[7, 13]或者以纯化的花色素苷溶液^[16]为材料而获得的,涉及活体下花色素苷对可见光的透射差异性以及这种差异性在强光胁迫下是否会对光合机构有一定影响尚无报道。

因此,本试验拟以茄子叶片上表皮中分布的紫色花色素苷的透射光谱为切入点,以同一叶片上紫斑区域和绿斑区域为材料,结合高亮型发光二极管 LED 发出的混合光谱(白光)以及单色光谱(红、蓝、绿光)照射处理,通过光合仪(CIRAS-2)测定的光合光响应曲线和叶绿素荧光仪(PEA 和 Dual-PAM-100)测试的荧光动力学参数及 PS II 和 PS I 的诱导曲线,探索紫色花色素苷对茄子叶片光合机构遭受光抑制或光破坏的保护机制以及需要紫色花色素苷庇护的光合机构薄弱环节,为茄子耐强光品种的选育和改善设施栽培的光环境提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以“黑帅”圆茄为试材,在保定市清苑县无公害蔬菜示范园区日光温室种植。2006 年 11 月中旬育苗,2007 年 2 月 2 日定植,常规管理。2007 年 4 月选取顶端第 3~5 节位完全伸展的带有紫斑区域(图 1-A)的植株 3 株,在 7:00~9:00 从每株上选取大小一致的叶片 1 片,进行下列试验测试,3 次重复。

1.2 试验方法

1.2.1 紫色花色素苷透射光谱的测定

为了反映活体叶片结构下紫色花色素苷对可见光的透射状况,本试验先剪取与比色皿长宽均相近的带状紫斑区域一条,再在该叶片另一侧相近的部位剪取大小相似的绿斑区域一条,分别放入比色皿中,使叶片与比色皿紧密相贴,然后把放有绿斑区域的比色皿放入双通道紫外分光光度计 UV-2450(岛津,日本)的参比池,而把放有紫斑区域的比色皿放入样品池,在 400 ~ 700 nm 可见光范围内进行透射光谱扫描,其测定的曲线即为茄子叶上表皮紫色花色素苷的实际透射光谱。

1.2.2 紫色花色素苷的组织定位、含量以及叶绿素含量的测定

用锋利的刀片切取紫斑区域的横截面,置于载玻片上加入 10% 蔗糖溶液^[15],封镜后以光学显微镜(蔡司,德国)观察并拍照。打取新鲜绿斑和紫斑区域的叶圆片(直径 1.5 cm),用 1% 的盐酸-甲醇(体积分数为 1:99)于暗下 4 °C 浸提花色素苷^[17],同一条件下用 80% 丙酮-乙醇(体积分数为 4:1)提取叶绿素^[18],待叶圆片褪色后,将上述两种提取液用 UV-2450 在 400 ~ 700 nm 范围内分别作吸收光谱扫描,最后进行含量的计算。

1.2.3 净光合速率(P_n)对光合有效辐射(PAR)响应曲线的测定

用 CIRAS-2 便携式光合测试系统(PP Systems,英国)测定连体茄子叶片绿斑和紫斑区域的净光合速率(P_n),使用开放气路,气体流速为 300 ml·min⁻¹,叶室温度 30 °C,CO₂ 浓度 380 μmol·mol⁻¹。在 PAR 为 0 ~ 2000 μmol·m⁻²·s⁻¹ 下测定光合作用的光响应曲线(P_n - PAR)。

1.2.4 照光处理

试验一:打取用去离子水冲洗干净的绿斑和紫斑区域叶圆片(直径 1.5 cm)各 3 片,放入装有湿润滤纸的自封口聚乙烯袋中,进行白光(380 ~ 760 nm)照射处理,湿润的滤纸用来保持叶片及时吸水,维持膨压,方法参照[19]且略有改进。白光的获得采用台湾亿光电子有限公司生产的发光二极管(Light Emitting Diode, LED),通过电流调控光强,设 0、500、1000、1500、2000、2500 μmol·m⁻²·s⁻¹ 和 3000 μmol·m⁻²·s⁻¹ 7 个 PAR 处理水平,每一处理 30 min 后在室温为(25 ± 1) °C 暗处恢复 30 min,再用 PEA 测定叶绿素荧光参数。

试验二:采用台湾亿光电子有限公司生产的白光(380 ~ 760 nm)、红光(660 nm ± 5 nm)、蓝光(470 nm ± 5 nm)和绿光(550 nm ± 5 nm) LED,在 PAR 为 0(CK)和 2000 μmol·m⁻²·s⁻¹ 下,照射处理茄子绿斑和紫斑区域叶圆片 30 min 后,在室温为 25 ± 1 °C 暗处恢复 30 min,测试方法同上。

试验三:采用发白光的 LED,在 PAR 为 0(CK)和 2000 μmol·m⁻²·s⁻¹ 下,照射处理茄子绿斑和紫斑区域的叶圆片 30 min 后,在室温为(25 ± 1) °C 暗处恢复 30 min,再用 Dual-PAM-100(WALZ,德国)测定其叶绿素荧光动力学曲线(OJIP)和 P700 氧化还原动力学曲线。

1.2.5 叶绿素荧光参数的测定方法

用英国 Hansatech 公司生产的植物效率仪(Plant Efficiency Analyser, PEA),进行叶绿素荧光参数的测定。具体步骤如下:叶片暗适应 10 min 后,用 1950 μmol·m⁻²·s⁻¹ 饱和红闪光照射 3 s,以 1 × 10⁻⁵ s(0.002 s 之前)和 1 × 10⁻³ s(0.002 s 之后)的采样间隔记录荧光信号,测得叶绿素荧光动力学曲线(通常称为 OJIP-test^[19])及其参数,包括:初始荧光(F_o ,即 50 μs 时的荧光 $F_{50\mu s}$)、最大荧光产量(F_m)、300 μs 时的荧光($F_{300\mu s}$)、2 ms 时的荧光(F_{2ms})。

叶绿素荧光参数的计算参考 Strasser et al.^[20] 的方法。PS II 最大光化学效率 $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$; 天线色素能量吸收驱动力 $DF_{ABS} = \log[(F_v/F_m)/(M_o/V_j)] + \log[(F_m - F_o)/F_o] + \log[(1 - V_j)/V_j]$; J 相的相对可变荧光 $V_j = (F_{2ms} - F_o)/(F_m - F_o)$; 单位面积的光合机构含有的反应中心数目 $RC/CS_o = (F_v/F_m) \times (V_j/M_o) \times F_o$; 单位反应中心耗散的能量 $DI_o/RC = (M_o/V_j)/[1 - (F_o/F_m)] - M_o/V_j$ 。其中叶绿素荧光动力学曲线(OJIP-test)的初始斜率 $M_o = 4 \times (F_{300\mu s} - F_o)/(F_m - F_o)$ 。

用德国 WALZ 公司生产的 Dual-PAM-100 同时进行 OJIP 曲线和 P700 的氧化还原动力学曲线测定。具体步骤如下:叶片暗适应 10 min 后,用 3500 μmol·m⁻²·s⁻¹ 饱和短波长红闪光和蓝闪光照射 1 s,以 3 × 10⁻⁵ s 的

采样间隔记录荧光信号,测得 PS II 和 PS I 的快速叶绿素荧光动力学曲线。

2 结果与分析

2.1 茄子叶片紫色花色素苷的组织定位、含量以及透射光谱

解剖观察表明,紫色花色素苷全部分布于茄子叶片紫斑区域的上表皮(图 1-B),其含量高达 $2.146 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$,约为绿斑区域($0.087 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$)的 25 倍(表 1)。活体下紫色花色素苷的透射光谱扫描发现,其主要截获 500 ~ 600 nm(黄绿光)可见光,其透射率约为 26.4% ~ 46.8%;而对 400 ~ 480 nm(蓝光)和 630 ~ 700 nm(红光)的透射率则分别高达 73% 和 90%(图 2)。

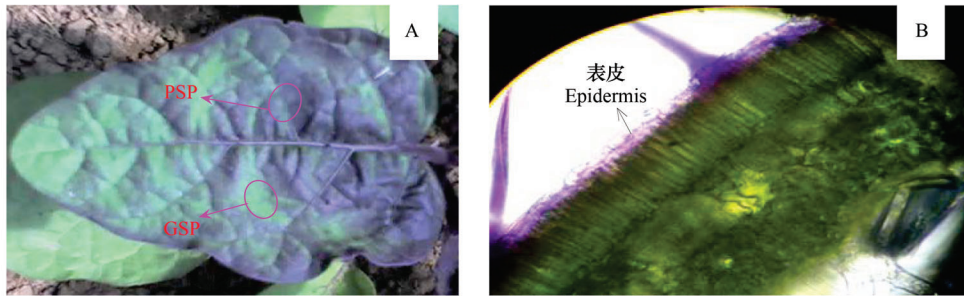


图 1 茄子叶上紫色花色素苷的分布(A)及 40 倍镜下的组织定位(B)

Fig. 1 Distribution (A) and orientation (B, 40 ×) of purple anthocyanin in eggplant leaves

PSP: 紫斑区域 purple-speckled parts; GSP: 绿斑区域 green-speckled parts

2.2 净光合速率的光强响应

随 PAR 的增大,茄子叶片的净光合速率(P_n)呈现升高趋饱和型(图 3)。同一叶片紫斑区域和绿斑区域的表观量子效率(AQY)无显著差异($P > 0.05$);二者的光补偿点(LCP)和饱和光强(LSP)亦相近;但是,饱和光强下紫斑区域的最大净光合速率 $P_{n\max}$ 降低了 16.5%,且极显著地低于绿斑区域($P < 0.01$),前者的叶绿素 a 含量($1.13 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$)显著的低于后者($1.25 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$)($P < 0.05$),而叶绿素 b 含量在两者之间无显著差异($P > 0.05$)(表 1),较低的叶绿素 a 含量可能是紫斑区域 $P_{n\max}$ 降低的原因之一。

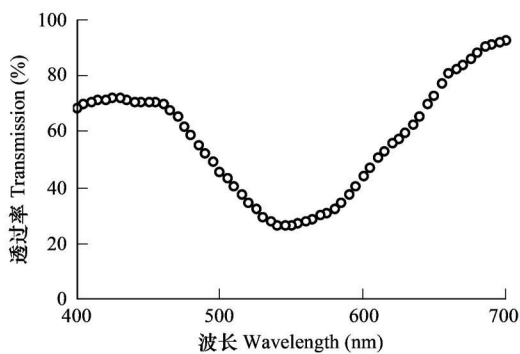


图 2 茄子叶上表皮紫色花色素苷的透射光谱

Fig. 2 Transmission spectra of purple anthocyanin in epidermal cells of eggplant leaves

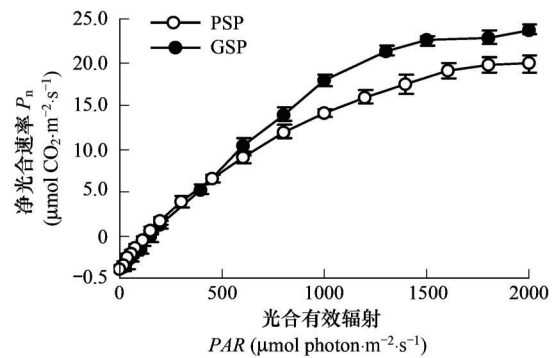


图 3 茄子叶片净光合速率对光合有效辐射的响应

Fig. 3 Response between net photosynthetic rate (P_n) and photosynthetically active radiation (PAR) of eggplant leaves

2.3 光强和光质对茄子叶片荧光参数的影响

2.3.1 光强和光质对 F_v/F_m 和 F_o 的影响

从试验一的白光照射处理结果表明,在 0 ~ 1500 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的 PAR 范围内, PAR 的上升导致绿斑区域和紫斑区域的 PS II 最大光化学效率 F_v/F_m 轻微降低(图 4),光抑制不明显。当 PAR 大于 1500 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$

后,绿斑区域和紫斑区域的 F_v/F_m 均明显下降,光抑制加重。然而,紫斑区域的 F_v/F_m 下降程度明显小于绿斑区域,且两者之间的差异性逐渐达极显著水平 ($P < 0.01$),反映出强光胁迫下紫斑区域的光抑制程度明显减轻。

表 1 茄子叶片紫斑区域和绿斑区域的色素含量 ($\pm$ 标准误)

Table 1 The pigments content (mean $\pm$ SE) in purple-speckled and green-speckled parts of eggplant leaves

实验材料 Experiment material	花色素苷含量 ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$) Anthocyanin content	叶绿素 a 含量 ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$) Chlorophyll a content	叶绿素 b 含量 ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$) Chlorophyll b content
紫斑区域 Purple-speckled	$2.15 \pm 0.19\text{Aa}$	$1.13 \pm 0.01\text{Ab}$	$0.35 \pm 0.01\text{Aa}$
绿斑区域 Green-speckled	$0.08 \pm 0.02\text{Bb}$	$1.25 \pm 0.03\text{Aa}$	$0.33 \pm 0.01\text{Aa}$

不同大、小写字母分别表示同列不同区域间差异极显著 ($P < 0.01$) 和显著 ($P < 0.05$) Different capital and small letters meant significant difference among different speckle leaf at 0.01 and 0.05 levels, respectively

一般认为,捕光天线遭受破坏会导致 F_o 减小,而 PS II 反应中心受到破坏会导致 F_o 增加^[5]。随着白光照射强度的增加,紫斑和绿斑区域的 F_o 呈现并行上升趋势,且紫斑区域的 F_o 始终低于绿斑区域(图 4),且差异性极显著 ($P < 0.01$)。试验二用 $2000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的白、红、蓝和绿光照射后,紫斑和绿斑区域的 F_v/F_m 下降而 F_o 升高,但与绿斑区域相比,不管是紫斑区域 F_v/F_m 的下降程度还是 F_o 的上升程度均明显减小(图 5)。方差分析表明,只有在绿光和白光下,两者的 F_v/F_m 和 F_o 的差异性显著 ($P < 0.05$)。由此推测,茄子叶片的光抑制主要是 PS II 反应中心失活或破坏引起的,而通过上表皮中紫色花色素苷截获 $500 \sim 600 \text{ nm}$ 黄绿光后(图 2),使紫斑区域的 F_v/F_m 降幅减小,减缓了光抑制的破坏程度,保护了 PS II 反应中心的活性。

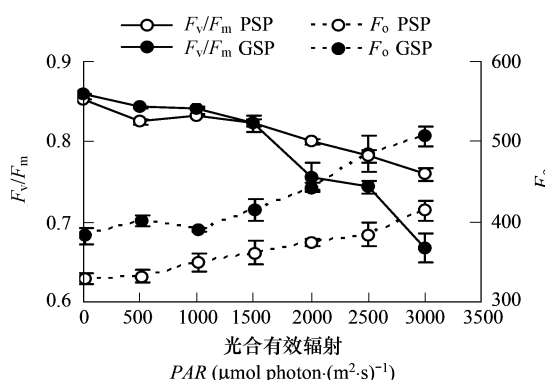


图 4 白光光强对茄子叶片 F_v/F_m 和 F_o 的影响

Fig. 4 Effect of white light intensity on F_v/F_m and F_o of eggplant leaves

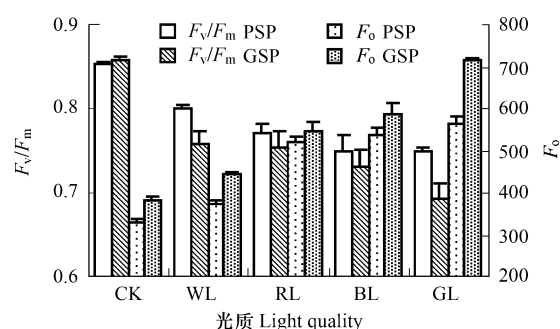


图 5 光质对茄子叶片的 F_v/F_m 和 F_o 的影响

Fig. 5 Effect of light quality on F_v/F_m and F_o of eggplant leaves

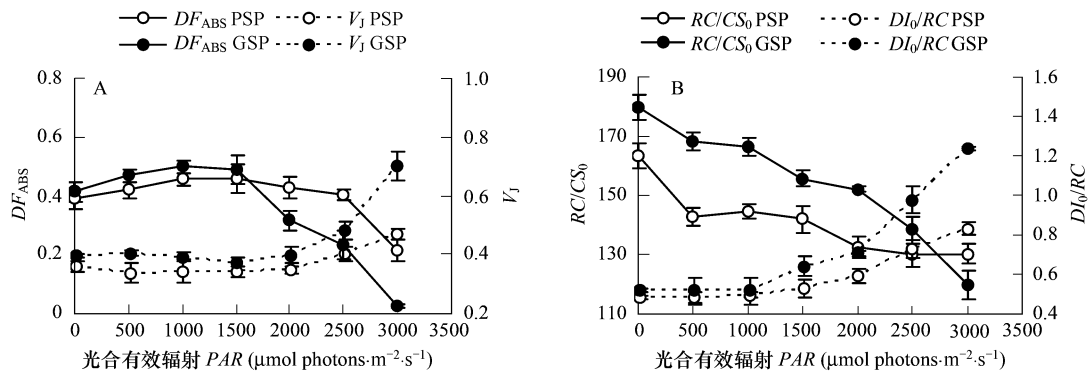
CK: 对照 no light irradiated; WL: 白光 white light; RL: 红光 red light; BL: 蓝光 blue light; GL: 绿光 green light

2.3.2 光强对 DF_{ABS} 、 V_j 、 RC/CS_0 和 DI_0/RC 的影响

通过试验一白光照射处理后的 JIP-test 分析表明,在 $0 \sim 1500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的 PAR 范围内,PAR 的增强导致茄子叶片单位面积的光合机构含有的反应中心数目 (RC/CS_0) 降低,而对天线色素能量吸收驱动力 (DF_{ABS})、J 相相对可变荧光 (V_j) 和单位反应中心耗散的能量 (DI_0/RC) 没有明显影响。当 PAR 进一步增强,无论是紫斑区域还是绿斑区域,强光胁迫导致 DF_{ABS} 和 RC/CS_0 显著降低而 V_j 和 DI_0/RC 明显升高, V_j 升高表明 Q_A^- 积累增多,电子传递链被过度还原, DI_0/RC 迅速增加来耗散过多的激发能,进一步保护光合机构的光抑制或光破坏。但是紫斑区域上述指标的变化幅度明显小于绿斑区域(图 6)。方差分析表明,在 PAR 大于 $1500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 后,除 RC/CS_0 外,其它参数的差异性逐渐达极显著水平 ($P < 0.01$)。表明茄子叶上表皮紫色花色素苷的存在有效的缓减了电子传递链的还原程度和热耗散机构的运转压力。

2.4 白光照射处理对茄子叶片 PS II 和 PS I 快速叶绿素荧光动力学曲线的影响

试验三采用 $2000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 白光照射 30 min 后,茄子叶片 PS II 和 PS I 快速叶绿素荧光动力学曲线均

图6 白光光强对茄子叶片的 DF_{ABS} 和 V_j (A)、 RC/CS_0 和 DI_0/RC (B) 的影响Fig. 6 Effect of white light intensity on DF_{ABS} and V_j (A) 、 RC/CS_0 and DI_0/RC (B) of eggplant leaves

降低,但 PS I 曲线的下降幅度明显的大于 PS II (图 7),表明 PS I 受到的伤害可能较 PS II 严重。然而,紫斑区域 PS II 和 PS I 动力学曲线下降幅度明显小于绿斑区域,反应了叶上表皮紫色花色素苷的存在,有效的庇护了紫斑区域两个光系统的反应中心活性。

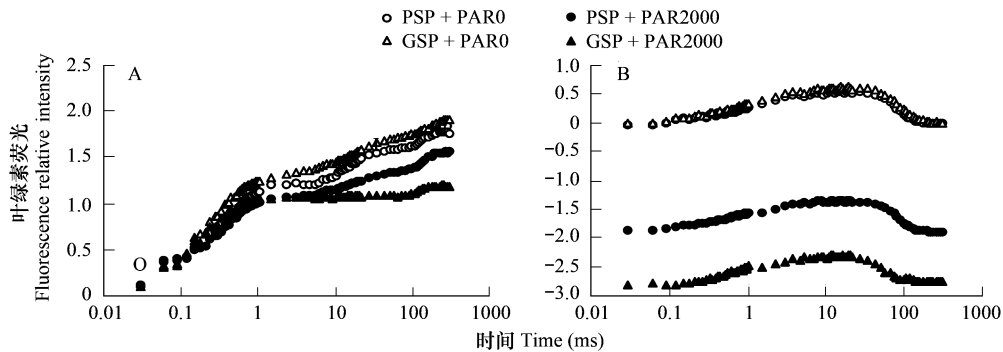
图7 白光($2000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)处理对茄子叶片 PS II (A) 和 PS I (B) 叶绿素荧光动力学曲线的影响

Fig. 7 Effect of white light ($2000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) on chlorophyll a fluorescence transient curves of PS II (A) and PS I (B) in eggplant leaves
PSP + PAR 0 和 GSP + PAR0: 未受光照的 PSP 和 GSP, PSP and GSP by no light irradiated, respectively; PSP + PAR2000 和 GSP + PAR2000: 经过光照的 PSP 和 GSP, PSP and GSP by light irradiated, respectively

3 讨论

高等植物的绿色叶片在太阳强光胁迫下,吸收的光能远远超过其利用能力,过剩激发能的产生导致光合机构的光抑制,甚至光破坏^[1],乃至造成细胞水平或组织水平的伤害,发生日灼伤现象。研究发现,自然光下高等植物叶片在系统发育过程中逐步形成了光抑制或光破坏的防御系统。既有生物化学水平的防御系统,如依赖叶黄素循环或 PS II 反应中心可逆失活的能量耗散、加强光呼吸或梅勒(Mehler)反应的耗能代谢和抗氧化酶类组建的活性氧清除系统等^[21],也有物理或生物物理水平的防御系统,如叶角的改变、叶绿体的避光运动或叶片表面毛刺来减少光吸收等^[22, 23]。

本研究中的一系列试验结果证实,茄子叶上表皮紫色花色素苷对光合机构的保护效应亦属于生物物理水平的防御系统。黄光明显的促进植物叶片中花色素苷的合成和积累^[9],而花色素苷主要作为致害因子或致害波长的吸收剂^[8],通过对可见光和紫外光的吸收或屏蔽来保护光合机构^[12, 24]。用 $2000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的不同光质照射后,茄子叶片发生了明显的光抑制,但只有绿光和白光下紫斑区域的光抑制程度显著的轻于绿斑区域(图 5),表明茄子叶上表皮紫色花色素苷主要对绿光光谱下光合机构的光抑制或光破坏发挥着更明显的保护效应。本试验活体下紫色花色素苷透射光谱的扫描结果(图 2)亦有力地证实了这一点。

一般认为,光合作用过程中能量的吸收、传递和转换都发生在类囊体膜上,而类囊体膜上分布的膜蛋白复合体中,PS II 蛋白复合体对逆境胁迫最为敏感^[25]。强光胁迫将产生过剩的激发能,其不可能被及时耗散掉,从而增加活性氧产生的几率,过量的活性氧能破坏光合机构^[26],导致 Q_A^- 积累增多,电子传递受阻,PS II 反应中心活性降低^[20]。然而,富含花色素苷的红色莧菜和紫叶水稻均具有明显的抵抗外源活性氧介导的光氧化伤害的能力^[13,16]。本试验观察到 PAR 大于 $1500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以后,强光胁迫对茄子叶片 PS II 叶绿素荧光参数影响显著,但对紫斑区域的影响程度显著的小于绿斑区域(图 4 和 6),表明茄子叶上表皮紫色花色素苷在吸收 500 ~ 600 nm 黄绿可见光后(图 2),减少了 Q_A^- 积累和 PS II 反应中心失活的同时,也减轻了电子传递链的还原程度和 PS II 热耗散机构的运转压力,从而实现了光合机构的保护效应。

较好的维持 PS II 与 PS I 之间的功能协调性对防御光合机构的光抑制或光破坏亦十分重要^[27]。这与 PS I 反应中心的活性和围绕 PS I 循环电子传递的能力有关。PS I 的光抑制或光破坏主要是 FeS 反应中心受到破坏^[28],导致电子在 A_0 (原初电子受体 chl a) 和 F_X (第三电子受体) 间的传递受阻,活性氧产生几率增加。该氧化物对 Rubisco 和生物膜产生氧化破坏^[29],并促进 *psaB* 基因编码的亚基降解^[30]。而围绕 PS I 循环电子传递能力的增强即能促进跨类囊体膜质子梯度 (ΔpH) 的形成,也能与 Mehler 反应竞争电子,减少活性氧的积累,从而减轻光氧化对光合机构的破坏作用^[29, 31]。由本研究可见, $2000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 强白光照射后,茄子叶片 P700 (PS I) 氧化还原曲线降低的幅度明显的大于同步测定的 PS II 动力学曲线,表明 PS I 受到的伤害比 PS II 大(图 7),这与以往的研究结论有所不同^[2];可是,在叶片上表皮紫色花色素苷的庇护下,紫斑区域的 P700 (PS I) 氧化还原能力显著提高(图 7-B),增强了对 PS II 传来电子的接受能力,减缓了与 V_j 增加有关的 PS II 激发压,使 PS II 受到的伤害也减小(图 7-A),较好的维持了两个光系统间的功能协调性。但是,这种对 P700 (PS I) 的庇护机制有待深入研究。

Burger 和 Edwards^[32] 曾报道富含花色素苷的洋紫苏属 (*Coleus*) 植物叶片并未减弱光合作用能力。通过分析茄子叶片的光合光响应特性表明,叶片上表皮紫色花色素苷的形成和积累对 *AQY*、*LCP* 和 *LSP* 无显著影响,但最大净光合速率 ($P_n\text{max}$) 明显降低(图 3)。本实验结果显示强光胁迫下,紫斑区域的光抑制程度明显较绿斑区域轻(图 4),但其饱和光强下的 $P_n\text{max}$ 却低于绿斑区域,一方面与其较低的 chl a 含量有关(表 1);另一方面可能与紫色花色素苷降低 400 ~ 480 nm (蓝光) 和 630 ~ 700 nm (红光) 的透过率有关(图 2)。但是否与光合作用的暗反应过程中相关的 Rubisco 和 PEPC 酶活性的降低或含量的减少有关尚待深入研究。

References:

- [1] Long S P, Humphries S, Folkowski P G. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1994, 45: 633 — 662.
- [2] Powles S B. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Annual Review of Plant Physiology*, 1984, 35: 15 — 44.
- [3] Björkman O, Demming-Adams B. Regulation of photosynthetic light energy capture, conversion, and dissipation in leaves of higher plants. In: Schulze E D, Caldwell M M eds. *Ecophysiology of Photosynthesis*. Berlin: Springer, 1994. 17 — 47.
- [4] Demming-Adams B, Adams III W. W. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1992, 43: 599 — 626.
- [5] Demmig B, Winter K, Kruger A, *et al.* Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves: a possible role of the xanthophyll cycle in the dissipation of excess light energy. *Plant Physiology*, 1987, 84: 218 — 222.
- [6] Dong L, Jia G X. Change of the leaf tissue structure of evergreen broad-leaf plants during overwintering. *Acta Horticulturae Sinica*, 2003, 30 (1): 59 — 64.
- [7] Tsuda T, Shiga K, Ohshima K, *et al.* Inhibition of lipid peroxidation and the active oxygen radical scavenging effect of anthocyanin pigments isolated from *Phaseolus vulgaris* L. *Biochemical Pharmacology*, 1996, 52: 1033 — 1039.
- [8] Sun M X, Wang B Z, Fan H, *et al.* Anthocyanins of leaves and their environmental significance in plant stress response. *Plant Physiology Communications*, 2003, 39 (6): 688 — 694.
- [9] Zhang Z C, Wang N B. Effects of light quality on anthocyanin of tea. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2002, 20 (4): 337 — 339.
- [10] Shvarts. Low temperature enhances petunia flower pigmentation and indole synthase gene expression. *Physiologia Plantarum*, 1997, 99 (1): 67 — 72.
- [11] Kaliyamoorthy S, Rao A S. Effect of salinity on anthocyanin accumulation in the root of maize. *Indian Journal of Plant Physiology*, 1994, 37: 169

—170.

- [12] Smillie R M, Hetherington S E. Photoabatement by anthocyanins shields Photosynthetic systems from light stress. *Photosynthetica*, 1999, 36: 451—463.
- [13] Peng C L, Lin Z F, Shao L, *et al.* Research protective effect of anthocyanin on photodamage. Photosynthetic Scientific Conference of China. Cheng du, 2007, 9: 39.
- [14] Chalker-Scott L. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Photochemistry Photobiology*, 1999, 70: 1—9.
- [15] Gould K S, Markham K R, Smith R H, *et al.* Functional role of anthocyanins in the leaves of *Quinnia serrata* A. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51: 1107—1115.
- [16] Peng C L, Lin Z F, Lin G Z, *et al.* Anti-photooxidation of anthocyanins in purple rice leaves. *Science in China Series C: Life Sciences*, 2006, 36(3): 209—216.
- [17] Nogues S, Baker N R. Effects of drought on photosynthesis in mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51: 1309—1317.
- [18] Aron D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyenoxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 1949, 24: 1—15.
- [19] Peng C L, Lin Z F, Lin G Z. Superoxide production rate and photosynthetic feature in leaves of some plant species under photooxidation. *Acta Phytophysiological Sinica*, 2000, 26(2): 81—87.
- [20] Strasser R J, Tsimilli-Michael M, Srivastava A. Analysis of the chlorophyll *a* fluorescence transient. In: Papageorgiou G, Govindjee eds. *Advance in Photosynthesis and Respiration*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2004. 321—362.
- [21] Xu D Q. Photosynthetic efficiency. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 2002. 136—150.
- [22] Jiang C D, Gao H Y, Zou Q, *et al.* The co-operation of leaf orientation, photorespiration and thermal dissipation alleviate photoinhibition in young leaves of soybean plants. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(2): 319—325.
- [23] Zhang S R, Gao R F. Light induces leaf orientation and chloroplast movements of hybrid poplar clones. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(1): 68—74.
- [24] Chen J, Chen Q L, Cheng Z H, *et al.* Protective effect of anthocyanin on photosynthetic apparatus of tomato (*L. esculentum* Mill.) seedling leaves exposed to low temperature and low irradiance. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(4): 788—793.
- [25] Mamedov M, Hayashi H, Murata N. Effects of glycinebetaine and unsaturation membrane lipids on heat stability of photosynthetic electron transport and phosphorylation reactions in *Synechocystis* PCC6803. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1993, 11(42): 1—5.
- [26] Foyer C H, Noctor G. Oxidant and antioxidant signalling in plants: are-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant, Cell & Environment*, 2005, 28: 1056—1071.
- [27] Ren L L, Gao H Y. Effects of Chilling Stress under Weak Light on Functions of Photosystems in Leaves of Wild Soybean and Cultivar Soybean. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2007, 33(4): 333—340.
- [28] Inoue K, Fujii T, Yokoyama E, *et al.* The photoinhibition site of photosystem I in isolated chloroplasts under extremely reducing. *Plant Cell Physiology*, 1989, 30: 65—71.
- [29] Wang P, Ye J Y, Shen Y G, *et al.* The role of chloroplast NAD(P)H dehydrogenase in protection of tobacco plant against heat stress. *Science in China Series C: Life Sciences*, 2006, 49(4): 311—321.
- [30] Sonoike K. Degradation of *psaB* gene product, the reaction center subunit of photosystem I, is caused during photoinhibition of photosystem I: possible involvement of active oxygen species. *Plant Science*, 1996, 115: 157—164.
- [31] Li X G, Bi Y P, Zhao S J, *et al.* Cooperation of xanthophyll cycle with water-water cycle in the protection of photosystems I and II against inactivation during chilling stress under low irradiance. *Photosynthetica*, 2005, 43(2): 261—266.
- [32] Burger J, Edwards G E. Photosynthetic efficiency and photodamage by UV and visible in red versus green leaf coleus varieties. *Plant Cell Physiology*, 1996, 37(3): 395—399.

参考文献:

- [6] 董丽, 贾桂霞. 常绿阔叶植物越冬期间叶片组织结构的适应性变化. *园艺学报*, 2003, 30(1): 59—64.
- [8] 孙明霞, 王宝增, 范海, 等. 叶片中的花色素苷及其对植物适应环境的意义. *植物生理学通讯*, 2003, 39(6): 688—694.
- [9] 张泽岑, 王能彬. 光质对茶树花青素含量的影响. *四川农业大学学报*, 2002, 20(4): 337—339.
- [13] 彭长连, 林植芳, 邵玲, 等. 花色素苷的光破坏防御功能的研究. 成都: 全国光合作用学术研讨会, 2007. 9: 39.
- [16] 彭长连, 林植芳, 林桂珠, 等. 富含花色素苷的紫叶稻叶片的抗光氧化作用. *中国科学 c 辑: 生命科学*, 2006, 36(3): 209—216.
- [19] 彭长连, 林植芳, 林桂珠. 光氧化胁迫下几种植物叶片的超氧自由基产生速率和光合特性. *植物生理学报*, 2000, 26(2): 81—87.
- [21] 许大全. 光合作用效率. 上海科学技术出版社, 2002. 136—150.
- [22] 姜闯道, 高辉远, 邹琦, 等. 叶角、光呼吸和热耗散协同作用减轻大豆幼叶光抑制. *生态学报*, 2005, 25(2): 319—325.
- [23] 张守仁, 高荣孚. 光诱导下杂种杨无性系叶角和叶绿体的运动. *生态学报*, 2001, 21(1): 68—74.
- [24] 陈静, 陈启林, 程智慧, 等. 花青苷对低温弱光处理的番茄 (*L. esculentum* Mill.) 幼苗光合机构的保护作用. *中国农业科学*, 2007, 40(4): 788—793.
- [27] 任丽丽, 高辉远. 低温弱光胁迫对野生大豆和大豆栽培种光系统功能的影响. *植物生理与分子生物学报*, 2007, 33(4): 333—340.
- [29] 王鹏, 叶济宇, 沈允钢, 等. 叶绿体 NAD(P)H 脱氢酶在烟草热胁迫中的保护作用. *中国科学 c 辑: 生命科学*, 2006, 49(4): 311—321.