

DOI: 10.5846/stxb201211271688

付翔, 翟红昌, 刘诚刚, 郝镔, 吕振波. 应用非光化学淬灭初始变化率作为浮游植物光保护能力指标的可行性. 生态学报, 2014, 34(14): 3859-3865.

Fu X, Zhai H C, Liu C G, Hao Q, Lü Z B. A preliminary study on the reasonability of using the primary change rate of non-photochemical quenching as an indicator of photoprotective capacity of phytoplankton. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(14): 3859-3865.

应用非光化学淬灭初始变化率作为浮游植物光保护能力指标的可行性

付 翔^{1,2,*}, 翟红昌², 刘诚刚², 郝 镔², 吕振波¹

(1. 山东省海洋资源与环境研究院, 山东省海洋生态修复重点实验室, 烟台 264006;

2. 国家海洋局第二海洋研究所, 杭州 310012)

摘要:在非光化学淬灭(Non-Photochemical Quenching, NPQ)荧光诱导的早期(<1 min), NPQ 随时间的变化率(NPQ/t)可作为衡量浮游植物光保护能力的指标,与常用的传统指标 NPQ_m(最大 NPQ)相比,这一新指标具有更易标准化、测量效率更高且包含的信息更丰富的优点。通过实验测量和理论推导证明了 NPQ/t 的常数性质,并通过可控光照条件下的室内培养实验证明了应用 NPQ/t 反映浮游植物光保护能力的合理性和有效性;NPQ/t 和 NPQ_m、光保护色素浓度呈线性相关,高光强下培养的藻类其 NPQ/t 高于低光强下培养的藻类,不同藻种之间的 NPQ/t: 扁藻(*Tetraselmis chui*)>牟氏角毛藻(*Chaetoceros mulleri*)>叉鞭金藻(*Dicrateria inornata*)。这一方法解决了野外实测研究中传统指标难以满足结果标准化和快速测量等要求的问题,对于推动浮游植物光保护生态学研究具有重要意义。

关键词:非光化学淬灭;活体叶绿素荧光;光保护;浮游植物

A preliminary study on the reasonability of using the primary change rate of non-photochemical quenching as an indicator of photoprotective capacity of phytoplankton

FU Xiang^{1,2,*}, ZHAI Hongchang², LIU Chenggang², HAO Qiang², LÜ Zhenbo¹

1 Shandong Provincial Key Laboratory of Restoration for Marine Ecology, Shandong Marine Resource and Environment Research Institute, Yantai 264006, China

2 The Second Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, Hangzhou 310012, China

Abstract: Excess absorbed light energy can damage the photosynthetic apparatus of photoautotrophs and lead to the photoinhibition. Most photoautotrophs possess a xanthophyll cycle mediated regulatory mechanism that dissipates the excess absorbed light energy through harmless non-radiative pathways to prevent photodamage, known as the photoprotective mechanism. The photoprotective capacity of phytoplankton has attracted much attention in recent marine ecological studies in view of its significant influence on the distribution of phytoplankton in the water column. The photoprotective mechanism will lead to a depression of the chlorophyll fluorescence yield, known as the non-photochemical quenching (NPQ), hence it can be measured by *in vivo* chlorophyll fluorescence detection. However, the commonly used fluorescence parameter for evaluating the photoprotective capacity of phytoplankton, NPQ_m(maximum NPQ), is not an ideal parameter for practical

基金项目:国家海洋局青年科学基金资助项目(2011129);山东省优秀中青年科学家科研奖励基金资助项目(BS2010HZ018);泰山学者岗位经费资助项目(2007—2012)(水生动物营养与饲料)

收稿日期:2012-11-27; **网络出版日期:**2014-02-27

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: fuxiangde@hotmail.com

applications in field ecological studies. In this study, we propose that the initial slope of the NPQ induction curves (denoted as NPQ/t), which indicates the change rate of NPQ at the beginning of induction (<1 min), can be used as a fine indicator of the photoprotective capacity. Compared to NPQ_m , NPQ/t is easier for standardization, and it can be measured faster, and it provides more comprehensive information on the photoprotective capacity.

Experiments were conducted to validate the reasonability and effectiveness of using NPQ/t as an indicator of the photoprotective capacity of phytoplankton. Three phytoplankton species (*Tetraselmis chui*, *Chaetoceros mulleri*, and *Dicrateria inornata*) were used in the experiments. Culture samples of each species were incubated under different light intensities (150, 50, and $10 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectively) and adapted for 72 h. NPQ/t , NPQ_m and photoprotective pigment content were then measured for each culture sample using a Water-PAM fluorometer and high-performance liquid chromatography (HPLC), respectively.

Our results showed the following: (1) The NPQ/t value was linearly correlated with time at the beginning of fluorescence induction (averaged linear regression $R^2 = 0.786$); hence, NPQ/t was proved to be a constant for a given sample. The NPQ/t values measured in this study ranged from 0.00012 s^{-1} to 0.016 s^{-1} , depending on the culture conditions. (2) NPQ/t was significantly correlated with NPQ_m and the photoprotective pigment content for all algal species tested, indicating that NPQ/t is equivalent to the traditional indicators used for evaluating the photoprotective capacity of phytoplankton. (3) High-light adapted cultures showed larger NPQ/t than low-light adapted cultures for all species tested; NPQ/t values of the different species were in the order: *T. chui* $>$ *C. mulleri* $>$ *D. inornata*, which was independent of light intensity. These results showed that NPQ/t is an effective indicator for evaluating the photoprotective capacity of phytoplankton. A theoretical analysis based on a dynamic model of the xanthophyll cycle was conducted to demonstrate the intrinsic biological characteristics of NPQ/t . It revealed that NPQ/t is equal to the product of NPQ_m and k_{NPQ} (rate constant of NPQ induction), which confirmed that NPQ/t is a constant for a given sample. The new method developed in this study is more efficient and applicable in ecological studies of photoprotective capacity of phytoplankton than the traditional methods. In addition, we believe that this method can also be useful in studies of the photoprotective mechanism in higher plants.

Key Words: non-photochemical quenching; *in vivo* chlorophyll fluorescence; photoprotection; phytoplankton

光合自养生物通常具有某种将过剩的吸收光能以热的形式耗散从而保护光合器官免受光损伤的机制,称为光保护机制,其作用机制通常与植物体内的叶黄素循环有关。叶黄素在其环氧化和去环氧化状态之间的可逆转换(即叶黄素循环)控制着吸收光能在光化学途径和非光化学途径之间的分配比例,去环氧化叶黄素比例的增加导致更多的能量以非光化学途径耗散,并表现为荧光产量的下降,称为非光化学淬灭(Non-Photochemical Quenching, NPQ)^[1-3]。在浮游植物中,以硅藻为例,大量实验证据表明,细胞内的硅藻黄素(diatoxanthin, DT, 硅甲藻黄素(diadinoxanthin, DD)的去环氧化形式)含量与NPQ水平呈良好的线性关系^[4-7]。因此,通过活体叶绿素荧光方法检测NPQ可用于检测植物体的光保护活性。

浮游植物会随水体垂直混合流动而在水柱中上下浮动,因而其所处的光照环境是复杂而多变的,光保护机制对其生存具有十分重要的意义。事实上,根据光保护能力的强弱,各种浮游植物可能也像陆地植物一样有“喜光”和“喜阴”的类群之分^[8-10],自然水体中浮游植物的光保护能力可能随浮游植物种类以及水环境状况的变化而不同,对浮游植物光保护状态的研究将有助于分析其生长和生活策略^[11],在某些情况下,光保护能力可能是影响浮游植物数量变动和群落演替过程的关键因素^[12]。

在生态学研究,目前较常用的指示浮游植物光保护能力的活体叶绿素荧光参数为 NPQ_m (最大NPQ),即在饱和光强下诱导足够长时间后NPQ所能达到的最大值,它与植物细胞内光保护色素库的大小有关。然而在实际应用中,对 NPQ_m 的测量存在

用时偏长、结果不唯一等问题。本文中提出:在荧光诱导初期测得的 NPQ 随时间(t)的变化率(以下称 NPQ/ t)是一个常数,它可用作反映浮游植物产生光保护的能力的指标,称之为浮游植物光保护系数。与 NPQ_m相比, NPQ/ t 具有测量简便快速、结果唯一的优点。本文以数种常见的实验室培养藻类为对象,对梯度光照条件下室内培养的浮游植物进行 NPQ/ t 、NPQ_m以及光保护色素含量的测量,以期证明 NPQ/ t 作为浮游植物光保护能力指标的合理性和有效性,从而建立一种可应用于浮游植物光保护生理生态学研究的新方法。

1 材料与方法

1.1 藻种培养

培养藻种为扁藻(*Tetraselmis chui*, 绿藻)、牟氏角毛藻(*Chaetoceros mulleri*, 硅藻)、叉鞭金藻(*Dicrateria inornata*, 金藻)。使用恒温光照培养箱对这些藻种进行培养,培养条件为:光照强度, 50 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (24 h); 培养介质, f/2 培养基; 温度, 20 $^{\circ}\text{C}$ 。在培养过程中每隔日测定培养溶液的叶绿素浓度, 并通过稀释法使其维持在对数生长期。培养光照由培养箱内部光源提供, 培养液中的光照强度由光合有效辐射计(GLZ-B 型)测量。

1.2 梯度光照适应培养

取一定量处于对数生长期的上述 3 个藻种的培养液, 每个藻种的培养液等分为 3 份分别置于 3 个培养瓶中, 将此 3 个培养瓶分别置于不同的光照条件下进行适应性培养(光强梯度为 10、50、150 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$)。光照梯度通过调整培养瓶与光源之间的距离来调节, 培养瓶所在位置的光强由光合有效辐射计的测量结果来确定, 光源为 28 W 的全光谱灯 4 盏。培养温度 20 $^{\circ}\text{C}$; 适应培养时间 72 h。

1.3 活体叶绿素荧光参数的测定

将适应于各光照条件下的藻培养液置于黑暗环

境中进行暗适应后(30 min), 使用 Water-PAM 荧光仪(Walz 公司, 德国)对样品进行 NPQ 短时(80 s, 闪光间隔 10 s)和长时(10 min, 闪光间隔 1 min)荧光诱导曲线测定(诱导光强 2000 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$)。根据 NPQ 短时荧光诱导曲线测量数据, 在荧光诱导的初始阶段(前 40 s) NPQ 随时间的变化率(直线回归的斜率)即 NPQ/ t ; 根据 NPQ 长时诱导荧光曲线测量数据, 在荧光诱导一段时间后(6 min) NPQ 趋向稳定的值为 NPQ_m。每一藻种每一光强下的培养液进行 3 次平行测量, 取其平均值作为 NPQ/ t 和 NPQ_m 的最终测量结果。

1.4 光保护色素含量的测定

将适应于各光照条件下的藻培养液各取 10 mL, 每种藻培养液取 3 平行样, 用 GF/F 滤膜过滤, 滤膜保存于 -70 $^{\circ}\text{C}$ 至上机分析; 利用高效液相色谱技术分析各样品藻细胞中光保护色素相对浓度(Relative Photoprotective Pigment Concentration, RPPC), 即光保护色素与叶绿素 a 的质量比。扁藻的光保护色素为紫黄素循环相关色素, 即紫黄素(Violaxanthin, V)、花药黄素(Antheraxanthin, A)与玉米黄素(Zeaxanthin, Z), 牟氏角毛藻和叉鞭金藻的光保护色素则为 DD 和 DT; 其 RPPC 分别由 $(V+A+Z)/\text{Chl a}$ 和 $(DD+DT)/\text{Chl a}$ 计算。

2 结果与分析

2.1 NPQ 和 t 之间的线性相关性

测量结果显示, 荧光诱导初期(40 s)的 NPQ 值随时间 t 逐渐增加(图 1, 图 2), 对二者进行线性回归分析, 结果显示线性回归拟合的可决系数(R^2)范围为 0.574—0.982, 平均为 0.786(表 1), 表明在荧光诱导初期 NPQ 与 t 之间的关系确实可用线性方程描述, 回归斜率——即 NPQ/ t ——为一常数。本实验中测得的 NPQ/ t 值随实验条件不同其变化范围在 0.00012—0.016 s^{-1} 之间(表 1)。

表 1 荧光诱导早期 NPQ(Non-Photochemical Quenching)与时间(t)的线性回归结果
Table 1 Linear regression results for NPQ and t at the beginning of fluorescence induction

光强 Light intensity /($\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	扁藻 <i>Tetraselmis Chui</i>		牟氏角毛藻 <i>Chaetoceros mulleri</i>		叉鞭金藻 <i>Dicrateria inornata</i>	
	回归斜率 Slope	R^2	回归斜率 Slope	R^2	回归斜率 Slope	R^2
150	0.016	0.982	0.0049	0.672	0.0010	0.711
50	0.0071	0.662	0.0026	0.870	0.00020	0.574
10	0.0063	0.820	0.0024	0.982	0.00012	0.801

2.2 NPQ/*t* 和 NPQ_m、光保护色素浓度之间的相关性

各藻种不同光照条件下 NPQ_m 测量值因实验条件不同其变化范围在 0.011—1.4 之间, 其与 NPQ/*t* 测量值之间的相互关系见表 2。可见: 1) 相关分析表明, 对于不同的藻种, 二者之间均存在显著的相关

关系 ($P < 0.1$); 2) NPQ/*t* 和 NPQ_m 之比, 牟氏角毛藻 (0.0057) 与叉鞭金藻 (0.0063) 相接近, 而扁藻 (0.0107) 则明显高于前二者, 表明扁藻的光保护机制相对另外两种藻类而言对外界光环境的变化具有较快的响应速度。

表 2 各藻种 NPQ/*t* 与 NPQ_m 之比及二者之间的线性相关系数

Table 2 The ratio and linear correlation coefficient between NPQ/*t* and NPQ_m of each algae species

	扁藻 <i>T. Chui</i>	牟氏角毛藻 <i>C. mulleri</i>	叉鞭金藻 <i>D. inornata</i>
$\frac{\text{NPQ}/t}{\text{NPQ}_m}$	0.0107	0.0057	0.0063
$r (n=3)$	0.9713 **	0.9422 *	0.9929 **

NPQ: 非光化学淬灭 non-photochemical quenching; NPQ_m 为 NPQ 最大值 Maximum of NPQ; * $P < 0.1$; ** $P < 0.05$

RPPC 是反映植物体光保护能力的直观指标。本实验测得各藻种不同光照条件下的 RPPC 值在 0.0022—0.012 之间, 最低值测于叉鞭金藻 10 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 光照条件下的样品, 最高值测于牟氏角毛藻

150 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 光照条件下的样品。RPPC 与 NPQ/*t* 测量值之间的相互关系见表 3, 可见对于不同的藻种, 二者之间均存在显著的相关关系 ($P < 0.05$)。

表 3 各藻种 NPQ/*t* 与 RPPC 之比及二者之间的线性相关系数

Table 3 The ratio and linear correlation coefficient between NPQ/*t* and RPPC of each algae species

	扁藻 <i>T. Chui</i>	牟氏角毛藻 <i>C. mulleri</i>	叉鞭金藻 <i>D. inornata</i>
$\frac{\text{NPQ}/t}{\text{RPPC}}$	0.0813	0.0556	0.0352
$r (n=3)$	0.9522 **	0.9807 **	0.9834 **

** : $P < 0.05$; RPPC: 光保护色素相对限度 Relative Photoprotective Pigment Concentration

基于 NPQ/*t* 和 NPQ_m、光保护色素含量等传统指标之间的显著相关性, 可认为其所反映的光保护能力大小与传统指标相一致, 表明应用 NPQ/*t* 代替 NPQ_m 作为浮游植物光保护能力的活体叶绿素荧光参数指标是可行的。

2.3 NPQ/*t* 与环境光强、藻种之间的关系

用 NPQ/*t*(10)、NPQ/*t*(50)、NPQ/*t*(150) 分别代表培养于 10、50、150 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 光强的藻类样品的 NPQ/*t* 测量值 (图 1 中各回归直线的斜率)。由图 1 可见, 各藻种不同光照强度下 NPQ/*t* 值的变化规律相同, 都是 NPQ/*t*(150) 明显高于 NPQ/*t*(50) 和 NPQ/*t*(10), 而 NPQ/*t*(50) 和 NPQ/*t*(10) 无显著差异 (ANOVA, $P < 0.05$)。表明在高光强下 (150 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 培养的浮游植物光保护能力明显较强; 而在一定范围的低光强下 (本实验中为 10—50 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$), 浮游植物的光保护能力没有明显的变化。

各光照强度下不同藻种之间 NPQ/*t* 值的高低顺序相同, 都是扁藻 > 牟氏角毛藻 > 叉鞭金藻 (图 2)。相对而言, 叉鞭金藻的光保护能力最低。以 NPQ/*t* 为指标, 扁藻的光保护能力较叉鞭金藻高一个数量级以上 (150 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 培养条件下), 扁藻“喜光”而叉鞭金藻“喜阴”。同时, 各藻种之间光保护能力的差距在不同的光照培养条件之下都呈现相似的比例, 表明不同物种之间光保护能力的差别可能与环境光照条件的变化无关。

以上实验结果反映以下两点: 1) 高光强下培养的微藻其 NPQ/*t* 值确实高于低光强下培养的微藻, 且各藻种均是如此。即在预期表现出较高光保护能力的样品中确实测到了较高的 NPQ/*t* 值。2) 不同藻类物种之间存在 NPQ/*t* 值之间的明显差异, 且这种差异程度不随光照条件的变化而变化。这表明 NPQ/*t* 确实可以有效的反映浮游植物光保护能力的

大小,是一个定量指示浮游植物光保护能力的良好 指标。

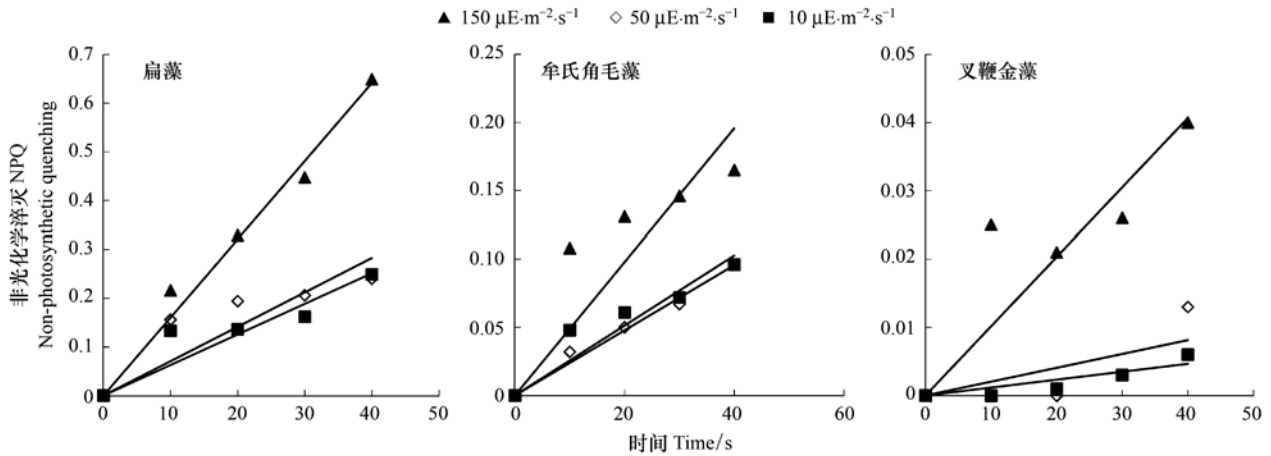


图1 各藻种在不同光照强度下的 NPQ (Non-Photochemical Quenching) 诱导曲线

Fig.1 NPQ induce traces under different light conditions for each phytoplankton species

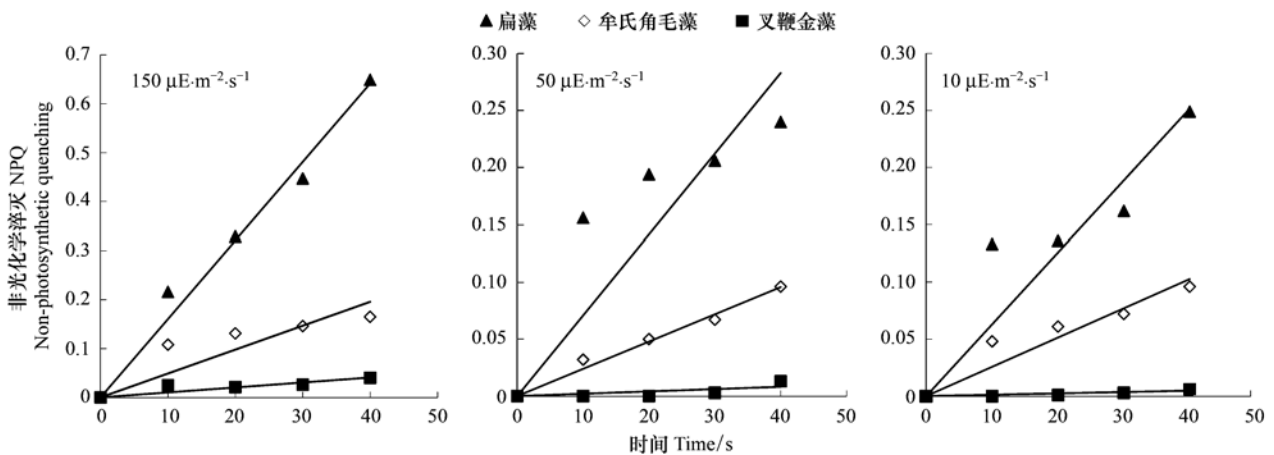


图2 各光照强度下不同藻种的 NPQ (Non-Photochemical Quenching) 诱导曲线

Fig.2 NPQ induce traces of different phytoplankton species under each light conditions

3 讨论

3.1 荧光诱导初期 NPQ/t 常数性质的理论推导

Olaizola 和 Yamamoto^[5] 根据对硅藻 DD-DT 转换动力学的研究,提出在一定诱导光强下浮游植物细胞内 DT 含量随时间的变化可用以下公式表示:

$$DT_t = DT_\infty + (DT_0 - DT_\infty)e^{-kt} \quad (1)$$

式中, k 为 DT 转化的速率常数, DT_t 为时刻 t 的 DT 含量, DT_0 为诱导光照之前的初始 DT 含量, DT_∞ 为经过足够长的诱导时间后达到的最大含量。因已有大量证据表明 DT 含量与 NPQ 成正比^[5-6], Serôdio^[13] 等将公式(1)改写为:

$$NPQ_t = NPQ_m + (NPQ_0 - NPQ_m)e^{-k_{NPQ}t} \quad (2)$$

式中, k_{NPQ} 为 NPQ 增长的速率常数, NPQ_t 为时刻 t 的

NPQ 值, NPQ_0 为诱导光照之前的初始 NPQ 值, NPQ_m 为最大 NPQ 值。对公式(2)两侧求导,可得:

$$\frac{dNPQ_t}{dt} = NPQ_m \times \frac{k_{NPQ}}{e^{k_{NPQ}t}} \quad (3)$$

可以推出,当 $t \rightarrow 0$ 时:

$$\frac{dNPQ_t}{dt} = NPQ_m \times k_{NPQ} \quad (4)$$

而当 $t \rightarrow \infty$ 时:

$$\frac{dNPQ_t}{dt} = 0 \quad (5)$$

公式(4)和(5)表明当 t 较小时,亦即荧光诱导的初始阶段, NPQ 随时间的变化率为一常数 $NPQ_m \times k_{NPQ}$, 而当 t 足够大时, NPQ 不再随时间变化,即已达到 NPQ_m 。

以上推导从原理上证明了在荧光诱导的初始阶段, NPQ 随时间的变化率 (即 NPQ/t) 为一常数。NPQ/ t 在数值上等于细胞完全暗适应状态下的当前最大 NPQ 值 (NPQ_m) 与 NPQ 增长速率常数 (k_{NPQ}) 的乘积, 具有明确的生物学意义。

3.2 以 NPQ/ t 作为光保护能力指标的优越性

近 20 年来, 浮游植物光保护机制在生理学研究方面取得了长足进展, 其生态学研究却相对滞后, 特别是缺乏对自然水体中浮游植物光保护能力动态变化过程的系统研究。这可能是由于目前人们使用的指示浮游植物光保护能力的指标并不能满足生态学研究的需要。色素分析所提供的光保护色素相对浓度可用于指示浮游植物的光保护能力^[11], 但其存在有破坏性、不能反映瞬时状态以及高耗费等缺点; NPQ_m 在理论上等于当前藻细胞内的光保护色素以最大比例转化为其荧光淬灭形态——如 *DD* 转化为 *DT*——时的 NPQ 值, 它反映着细胞内光保护色素库的大小, 因而可作为光保护能力的指标^[6, 13-14]。

然而, 在实际应用中, 对 NPQ_m 的准确测量却存在诸多困难, 主要在于: 1) 测量结果受实验条件 (如诱导光强, 诱导时长) 的影响, 在没有统一的标准测量程序的情况下, 不同研究报道中测得的 NPQ_m 的可比性不强 (如 Kashino^[11] 等使用的诱导时长为 15 min, 而 Serôdio^[13] 等使用的诱导时长则为 30 min); 2) 饱和状态不易确定, 一定光强下诱导的 NPQ 在趋向饱和后仍会随时间不断缓慢增长^[13, 15], 这主要是由于在强光诱导条件下有新合成的光保护色素不断加入而使原有光保护色素库增大所导致的, 这一现象导致对应于原有光保护色素库大小的 NPQ_m 难以通过实验准确测定; 3) 耗时长, 方便快捷而不影响浮游植物的生理状态本是活体叶绿素荧光测量方法的优点, 而 NPQ_m 的诱导要求 15—30 min 的测量时间, 不仅不适宜大批量样品的测量, 而且可能导致浮游植物生理状态因耗时过长而改变。由于以上缺陷, NPQ_m 虽然在浮游植物光保护的生态学研究中得到了一些应用, 但其仍不是一个理想化的参数, 难以满足生态学研究中大批量样品测量和可标准化的要求。

以 NPQ/ t 为光保护能力指标的优点在于: 1) NPQ/ t 是光保护的最大能力 (NPQ_m) 和响应速度 (k_{NPQ}) 的综合体, 它能反映更多关于浮游植物光保

护能力的信息。2) 由于 NPQ/ t 对每个样本有一个唯一的确定值, 不受测量条件影响, 也无需附加人为限制条件, 因而更适合作为一个标准化参数, 各个测量结果之间也更有可比性。3) 测量过程更简单、速度更快, 对 NPQ/ t 的测量只需以一定的时间间隔记录诱导过程初始阶段的 NPQ 值即可, 在 Water-PAM 上可程序化自动进行, 每个样品的测量时间在 1 min 左右, 大大低于 NPQ_m 测量所需的时间, 可以更充分地体现活体叶绿素荧光方法方便、快捷、真实反映样本当前状态的优点。因此, 从生物学意义和应用意义上来比较, NPQ/ t 都是一个比 NPQ_m 更优秀的度量浮游植物光保护能力的活体叶绿素荧光指标, 在浮游植物光保护的生态学研究中具有很高的应用价值。

3.3 以 NPQ/ t 作为光保护能力指标的合理性和有效性

本研究的实验结果表明 NPQ/ t 与 NPQ_m 、光保护色素浓度等传统指标之间存在线性相关性, 即 NPQ/ t 所指示的光保护能力的大小与传统指标的指示结果是一致的, 从而证明了应用 NPQ/ t 作为浮游植物光保护能力的合理性。另一方面, 不同光照水平下、不同藻种之间确实存在 NPQ/ t 之间的差异且与预期结果相符, 表明应用 NPQ/ t 作为光保护能力指标确实是有效的。

从原理上解释, 光保护能力较强的植物体, 可能是由于其细胞内光保护色素浓度较高或者催化光保护色素向热耗散形态转化的酶活性较高, 因而在进行荧光诱导时 NPQ 将表现为随时间较快速率的生长, 即 NPQ/ t 越大; 反之, 若测得的 NPQ/ t 越大, 则可认为植物体的光保护能力越强。实际上, 具有不同光保护能力的浮游植物其 NPQ 随时间的变化率不同的现象在一些文献给出的图表中已有所反映^[6, 13-14], 但这一现象及其潜在的应用价值并未引起论文作者的重视。

3.4 NPQ/ t 的适用性

叶黄素循环主要有紫黄素循环和硅甲藻黄素循环两种, 前者一般存在与绿藻、褐藻和高等植物中, 后者则一般存在于除绿藻、褐藻、红藻和隐藻之外的真核藻类中, 红藻、隐藻和蓝藻中不存在叶黄素循环, 其光保护通过藻胆蛋白调节^[1, 16-18]。本研究提出的荧光诱导初期 NPQ/ t 为常数的假设虽然基于在浮

游植物中占主导的硅甲藻黄素循环,但实验结果表明,这一假设同样适用于以紫黄素循环为光保护机制的扁藻。并且从扁藻明显高于其他两种实验藻类的 NPQ/ t 值似乎可以推断紫黄素循环的光保护效果要高于硅甲藻黄素循环。以 NPQ/ t 为光保护能力指标的新方法同样可以适用于高等植物的光保护机制研究。

References:

- [1] Demmig-Adams B. Carotenoids and photoprotection in plants: a role for the xanthophyll zeaxanthin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1990, 1020(1): 1-24.
- [2] Krause G H, Weis E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1991, 42(1): 313-349.
- [3] Schreiber U, Bilger W, Neubauer C. Chlorophyll fluorescence as a non-intrusive indicator for rapid assessment of *in vivo* photosynthesis // Shulze E D, Caldwell M M, eds. *Ecophysiology of Photosynthesis*. Berlin: Springer-Verlag, 1994: 49-70.
- [4] Arsalane W, Rousseau B, Duval J C. Influence of the pool size of the xanthophyll cycle on the effects of light stress in a diatom: competition between photoprotection and photoinhibition. *Photochemistry and Photobiology*, 1994, 60(3): 237-243.
- [5] Olaizola M, Yamamoto H Y. Short-term response of the diadinoxanthin cycle and fluorescence yield to high irradiance in *Chaetoceros Muellieri* (*Bacillariophyceae*). *Journal of Phycology*, 1994, 30(4): 606-612.
- [6] Lavaud J, Rousseau B, van Gorkom H J, Etienne A L. Influence of the diadinoxanthin pool size on photoprotection in the marine planktonic diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Plant Physiology*, 2002, 129(3): 1398-1406.
- [7] Ruban A, Lavaud J, Rousseau B, Guglielmi G, Horton P, Etienne A L. The super-excess energy dissipation in diatom algae: comparative analysis with higher plants. *Photosynthesis Research*, 2004, 82(2): 165-175.
- [8] Casper-Lindley C, Björkman O. Fluorescence quenching in four unicellular algae with different light-harvesting and xanthophyll-cycle pigments. *Photosynthesis Research*, 1998, 56 (3): 277-289.
- [9] Dimier C, Corato F, Tramontano F, Brunet C. Photoprotection and xanthophyll cycle activity in three marine diatoms. *Journal of Phycology*, 2007, 43(5): 937-947.
- [10] Dimier C, Giovanni S, Ferdinando T, Brunet C. Comparative ecophysiology of the xanthophyll cycle in six marine phytoplanktonic species. *Protist*, 2009, 160(3): 397-411.
- [11] Kashino Y, Kudoh S, Hayashi Y, Suzuki Y, Odate T, Hirawake T, Satoh K, Fukuchi M. Strategies of phytoplankton to perform effective photosynthesis in the North Water. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 2002, 49 (22/23): 5049-5061.
- [12] Meyer A A, Tackx M, Daro N. Xanthophyll cycling in *Phaeocystis globosa* and *Thalassiosira sp.*: a possible mechanism for species succession. *Journal of Sea Research*, 2000, 43(3/4): 373-384.
- [13] Serôdio J, Cruz S, Vieira S, Brotas V. Non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence and operation of the xanthophyll cycle in estuarine microphytobenthos. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2005, 326 (2): 157-169.
- [14] Johnson M P, Davison P A, Ruban A V, Horton P. The xanthophyll cycle pool size controls the kinetics of non-photochemical quenching in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Letters*, 2008, 582(2): 262-266.
- [15] Olaizola M, La Roche J, Kolber Z, Falkowski P G. Non-photochemical fluorescence quenching and the diadinoxanthin cycle in a marine diatom. *Photosynthesis Research*, 1994, 41 (2): 357-370.
- [16] Demmig B, Winter K, Krüger A, Czygan F C. 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(2): 218-224.
- [17] Pfündel E, Bilger W. Regulation and possible function of the violaxanthin cycle. *Photosynthesis Research*, 1994, 42 (2): 89-109.
- [18] Müller P, Li X P, Niyogi K K. Non-photochemical quenching: a response to excess light energy. *Plant Physiology*, 2001, 125(4): 1558-1566.