

盐藻的低温光抑制

夏 丽 陈贻竹

(中国科学院华南植物研究所 广州 510650)

提要 将盐藻(*Dunaliella salina* 1009)置于低温(10℃)下并同时给予强光照,以比较它在低温诱导下的光抑制以及从光抑制中恢复的能力;实验还检测了蛋白质抑制剂氨基霉素(CAP)与低温光抑制的关系。结果表明,单独使用低温和CAP均加深盐藻对光抑制的敏感性,但CAP和低温的共同作用并不影响这种敏感性;与对照(25℃)相比,低温下的盐藻有更高的 Q_A (PSⅡ反应中心的原初受体)还原态和 q^N (非光化学荧光猝灭)值。这些结果说明,(1)盐藻对光抑制的敏感性与 Q_A 还原态密切相关;(2)低温提高盐藻对光抑制的敏感是由于低温抑制了光合放氧使PSⅡ反应中心多余的激发能增加以及PSⅡ修复循环受到阻碍的结果。作者认为,低温下的光抑制虽然使PSⅡ中心 D_1 蛋白失活并积累,但它们并没有解离,仍能以非辐射能的形式耗散激发能。

关键词 低温,光抑制, Q_A 还原态,非光化学荧光猝灭(q^N)

当PSⅡ的光捕获复合体吸收的光能超过光合作用所能利用的限量时,多余的那部分激光能就会在反应中心累积并可能伤害反应中心。这种光抑制现象甚至在正常条件下都可能发生。然而,当环境存在胁迫因子时,如低温、干旱、强光等,这些因子将压抑光合作用,使多余激发能增加,光抑制变得更加明显。

近年来,对光抑制的研究不断取得进展。但是,关于常温光抑制和低温光抑制是否具有相同的作用部位仍存在争议。Terrashima, I. S. 等1994年用黄瓜做材料,认为PSⅠ而不是PSⅡ对低温光抑制敏感;Trur 1991年,Offander 和 Berfil 1993年曾指出,小麦在低温光抑制下,PSⅡ反应中心仍保持完整。盐藻是一种单细胞海藻,在室内很容易培养,是研究光抑制的好材料。因此,有不少关于这方面的报道,但涉及低温的则不多见。本文应用叶绿素荧光技术探讨盐藻在低温和强光下的光抑制特征。

1 材料与方法

1.1 材料

盐藻(*Dunaliella salina* 1009)来源于天津塘沽轻工部制盐研究所。按Arnon 1949法测定,培养基为ASP₂,介质盐度2 mol/L。盐藻在室内(20~25℃)培养,光照强度在100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 。1个月后盐藻的叶绿素含量为9.27~10.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。使用时将藻液浓缩6倍。

1.2 光合作用测定

使用带有恒温水浴的氧电极测定系统(Hasantech England)按叶济宇1994年方法测定光合放氧速率。反应杯中盐藻的叶绿素浓度为55.3~57.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。用10℃水浴作低温处理,对照为25℃。

1.3 叶绿素荧光测定

用脉冲调制荧光仪(Pulse Modulation Fluorometer, PAM, Walz Effeltrien, Germany)测定盐藻的叶绿素荧光。浓缩的藻液(见上)置于连有恒温水浴和磁力搅拌芯的反应室内,反应室体积为400 μl 。PAM荧光仪的探头在反应室顶部,通过光导纤维和主机连结。

1.3.1 PSⅡ反应中心的光化效率 F_v/F_m 黑暗适应10 min的盐藻在弱调制测量光($>0.05 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$)的诱导下产生原初荧光, F_0 (暗),然后用强饱和脉冲光($>4300 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$)诱导产生最大荧光 F_m (暗)。最大可变荧光 F_v 从 $F_m - F_0$ 求出。

1.3.2 非光化学荧光猝灭 q^N 和光化学荧光猝灭 q^P 通过PAM荧光仪,分别用不同光强的光照射盐藻。当盐藻处于光合稳态时,由饱和脉冲闪光($4300 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$)激发产生各个光强下的最大荧光 F'_m (光)。然后根据Schreiber 1986年的公式。计算出各个光强下的 q^P 和 q^N 。 Q_A 的还原态可以表达为 $1 - q^P$ 或 $(F - F_0)/(F'_m - F_0)$ 。式中 F'_m (光)是光诱导期间的最大荧光, F 是光诱导期间实际荧光发射; F_0 (光)是光诱导期间PSⅡ中心保持开放的最小荧光。

收稿日期:1998-01-22;修回日期:1998-10-22

1.3.3 低温和光抑制处理及其恢复 用10℃的循环水处理反应室中的盐藻并通过光导纤维同时给予强光照($1\ 890\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$);以同样的光照和25℃水浴作为对照。加氯霉素(CAP)的光照实验分为4组:25℃和CAP;25℃;10℃加CAP;10℃。预备实验表明,在盐藻中($400\sim 600\ \mu\text{l}$)加 $5\ \mu\text{l}$ CAP不影响盐藻的光合放氧(数据未显示)。光抑制处理后盐藻的恢复是在低光($40\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$)和25℃的环境下进行。

2 实验结果

2.1 低温和光合放氧

在黑暗中用低温处理盐藻不影响其PSⅡ反应中心的光化效率, F_v/F_m 其值仍维持处理前的水平($F_v/F_m=0.654\pm 0.031$),但却明显降低光合放氧(图1)。光饱和点从常温下的 $400\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 降低到 $100\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,说明低温不阻碍PSⅡ反应中心的电荷分离,而明显抑制RuBP羧化酶的活性。

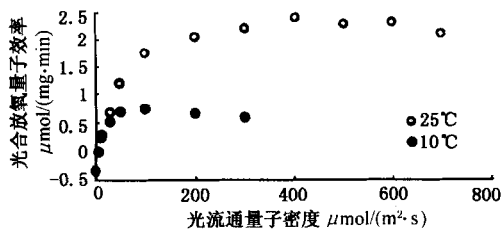


图1 25℃和10℃下的盐藻光反应曲线

Fig. 1 Light response curves of O_2 -evolution at 25℃ and at 10℃ in *Dunaliella salina* 1009

2.2 低温下的光抑制

用 $1\ 890\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 的光照和低温处理盐藻60 min,然后在常温和低光照下恢复。测定处理前后的 F_v/F_m 。结果表明,低温不仅明显加深抑制,还减缓恢复的速率(图2)。如果在处理前加入蛋白质抑制剂CAP,检测发现CAP不会进一步加深这种抑制,它的加强效应只出现在常温下(图3)。以上结果说明,强光和低温共同作用加速PSⅡ中心D1蛋白失活,同时还阻止它的修复周转。

2.3 低温对 Q_A 还原状态的影响

将盐藻分别置于10℃和25℃下平衡10 min,用不同的光化光(Actinic light)照射,然后测定各光强下的稳态 q^p 。把代表PSⅡ原初受体 Q_A 还原程度的参数 $1-q^p$ 对光强作图(图4)。从图4(a)可以看出, Q_A 还原

程度越高(即 $1-q^p$ 值越大),PSⅡ受伤害的可能性越大。在常温下盐藻的PSⅡ反应中心关闭60%的光强为 $150\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,低温下,测降至 $60\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 。常温下1 h的强光处理并不改变盐藻原有的 $1-q^p$ 和光强之间的关系(图5a)。而在低温下光抑制处理后的 Q_A 还原态比处理前的低(图5b),只有当 $1-q^p$ 达0.8时, F_v/F_m 受抑制的程度才会明显上升,低温不改变这种趋势(图6)。

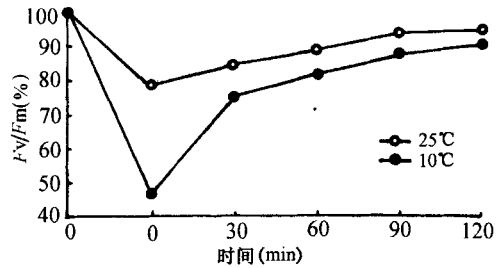


图2 光抑制处理及恢复过程中温度对 F_v/F_m 的影响

盐藻在25℃和10℃下,经高光($1\ 890\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$)照射1 h及在低光($40\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$),25℃下的恢复时的 F_v/F_m 值。所有数据以未暴露于高光前的值为100%

Fig. 2 The effect of temperature on F_v/F_m during the treatment of photoinhibition and recovery in *Dunaliella salina* 1009

2.4 低温对 q^N 的影响

图4b和图7表明,常温下 q^N 达到0.8的光强为 $450\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,低温下达到这一值只需很低的光强。另外, q^N 和 Q_A 还原态有很好的线性相关。这些结果表明, Q_A 被还原的程度越高,越限制光合电子传递能力,使之本来欲通过电子传递途径的那部分激发能,通过非光化途径来耗散的可能性增加了。

3 讨论

如同陆生高等植物一样,低温也提高盐藻对光抑制的敏感降低抑制后的恢复能力。由于低温降低光合作用暗反应的能力,使光能被利用的效率下降,从而导致增加多余的激发能并在反应中心积累。同时低温又降低D1蛋白周转,限制了修复系统的修复能力,在清除积累于反应中心的多余激发能的机制中,一个重要的途径是叶黄素循环的紫黄质向玉米黄质的转化,后者能有效地以热的形式耗散这部分多余的激发能。低温降低紫黄质脱环酶的活性,阻止玉米黄质的形成。

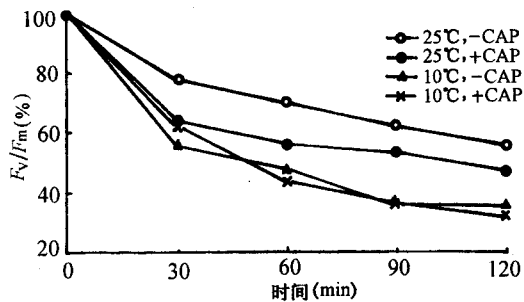


图3 光抑制处理过程中温度和 CAP 对 F_v/F_m 的影响
在 $1890 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 高光照射下 F_v/F_m 随光抑制时间延长的变化

Fig. 3 The effect of temperature and CAP on F_v/F_m during photoinhibition treatment in *Dunalina salina* 1009

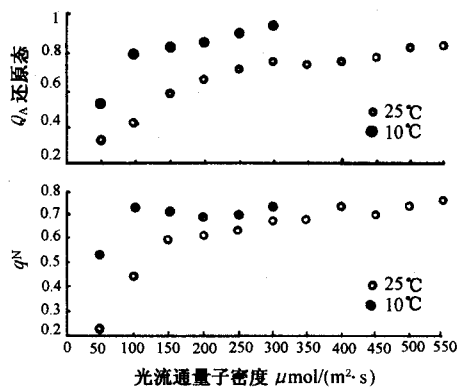


图4 (a) 25 °C 和 10 °C 下光合作用达到稳态时 PS II 原初电子受体 Q_A 还原态的光反应曲线
(b) 25 °C 和 10 °C 下光合作用达到稳态时非光化学荧光猝灭 (q^N) 的光反应曲线

Fig. 4 (a) Light response curves of the reduction state of the primary electron acceptor Q_A at steady-state photosynthesis at 25 °C and 10 °C in *Dunalina salina* 1009
(b) Light response curves of non-photochemical quenching (q^N) of fluorescence at 25 °C and 10 °C in *Dunalina salina* 1009

在低光强下,生长的盐藻突然暴露在强光下,以检测盐藻对强光的适应性。从图5 a 能够看出,常温下盐藻光合作用达稳态时 Q_A 在饱和光强下的还原程度与暴露给强光1 h 后的 Q_A 还原态是相同的,说明盐藻具有较强的抗强光的能力。图5b 表明,低温使光抑制处理

1 h 后 Q_A 还原程度下降,表明到达剩余的但仍具光化活性的反应中心的激发能已经减少,使 Q_A 再氧化能力提高。所以,当低温处理后,它又能很快地恢复到较高水平的光化学状态(图2)。

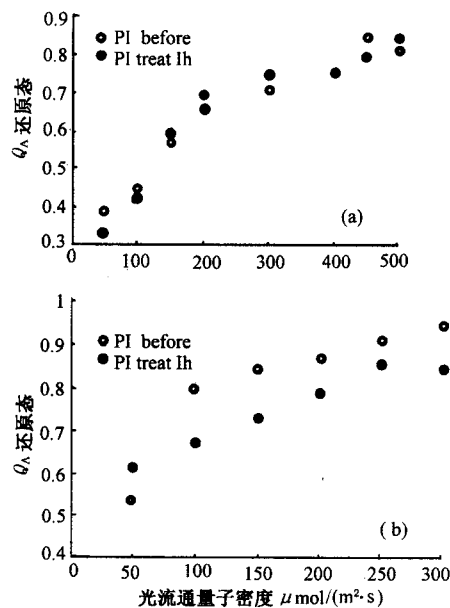


图5 Q_A 还原态在 $1890 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强下光抑制处理前和处理1 h 后的光反应曲线

(a) 25 °C, (b) 10 °C

Fig. 5 Light response curves of the reduction state of the first electron acceptor Q_A before and after the 1 h photoinhibition at 25 °C (a) and 10 °C (b) in *Dunalina salina* 1009

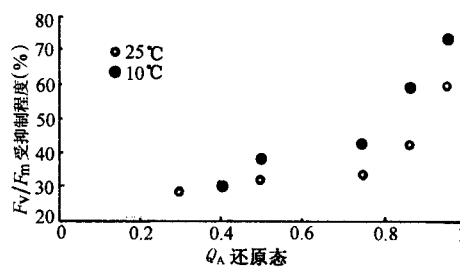


图6 25 °C 和 10 °C 下当光合作用达到稳态时 Q_A 还原态与 F_v/F_m 受抑制的关系

Fig. 6 The relationship between the reduction state of the primary electron acceptor $Q_A(1-q^P)$ at steady-state photosynthesis and the extent of inhibition of the photochemical efficiency of PS II (expressed as F_v/F_m) in *Dunalina salina* 1009

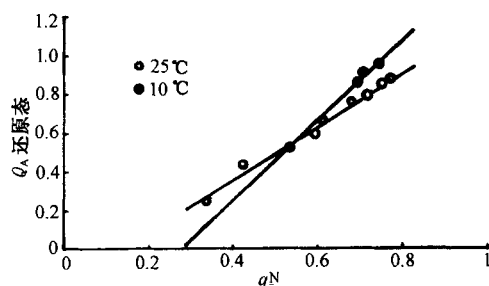


图7 25 °C和10 °C下 Q_A 还原态随 q^N 的变化

Fig. 7 The relationship between the reduction state of the primary electron acceptor Q_A and q^N at steady-state photosynthesis in *Dunaliella salina* 1009

低温光抑制明显加深 F_v/F_m 的猝灭,这种猝灭很可能主要是由于非光化学猝灭(q^N)所致,它保护反应中心免受多余激发能伤害。盐藻有较高的 $1-q^P$ 值,当 $1-q^P$ 为0.8时 F_v/F_m 受抑制程度才明显上升。Oquist 1997年发现9种植物当 Q_A 还原态 ≥ 0.5 , F_v/F_m 开始受抑制,高等植物叶片和单细胞藻类两者难以比较,但盐藻具有0.8的值是否为单细胞藻类所特有,这将是一个很有趣的问题,它反映了形态结构和内部机制上的特性。

主要参考文献

- 1 叶济宇、李德耀。植物生理学实验手册,上海科学技术出版社,1985。

PHOTOINHIBITION AT LOW TEMPERATURE IN *Dunaliella salina* 1009

XIA Li CHEN Yi-zhu

(South China Botany Institute, Chinese Academy of Sciences Guangzhou 510650)

Received: Dec, 22, 1997

Key Words: Low temperature, Photoinhibition, Reduction state of Q_A , Non-photochemical quenching of fluorescence (q^N)

Abstract

Photoinhibition of photosynthesis and its recovery were studied in *Dunaliella salina* 1009 by exposing them to two temperatures, 10 °C and 25 °C, under excess photo flux densities of 1 890 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ for growth. Additionally, photoinhibition was examined in the presence of chloromphenicol (CAP).

The results indicated that the level of photoinhibition was highly correlated to the reduction state of Q_A in both 10 °C and 25 °C. The light response of the reduction state of Q_A showed that Q_A was more sensitive to irradiance at 10 °C and 25 °C. Thus, the increased excited pressure was accumulated on PS II at 10 °C. Susceptibility to photoinhibition was much higher at 10 °C than at 25 °C. Furthermore, CAP enhanced photoinhibition strongly at 25 °C. Whereas CAP had little additional effect ($<5\%$) at 10 °C. The repairing cycle was largely inhibited at 10 °C. Therefore, we draw a conclusion that the increased susceptibility to photoinhibition at low temperature in *Dunaliella salina* 1009 must be explained both by an increased excitation pressure on PS II at low temperatures and by an inhibited repair cycle of photosystem II. We suggest where repair is inhibited by low temperature, some protection is alternatively conferred by the photoinhibition reaction centres. Since they are not degraded, such centres could still dissipate excitation energy non-radioactively, thereby conferring protection of remaining photochemically active centres under steady-state condition.