

小麦幼苗从低光到强光适应过程中光合和抗氧化酶变化

李宏伟 李 滨 郑 琪 李振声*

中国科学院遗传与发育生物学研究所植物细胞与染色体工程国家重点实验室, 北京 100101

摘 要: 为了研究小麦对强光的响应过程, 以小偃 54 幼苗为试材, 检测了强光处理 0、1、3、8、24 和 48 h 的光合速率、叶绿素含量、最大光化学效率、抗氧化酶活性及色素结合蛋白基因的表达变化。结果表明, 当小麦从低光转入强光后, 净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(T_r)变化呈单峰曲线, 均在强光 8 h 达到最大值, 而在强光 48 h 下降至强光处理前的水平; 叶绿素 b 含量降低, 叶绿素 a/b 升高; PSII 最大光化学效率降低, 热耗散增强; 抗氧化酶如 SOD、CAT、APX 和 GR 活力诱导增强, 均在强光处理 48 h 达最大值。强光处理 8 h 后 LHCII 亚基基因表达受到明显抑制, 强光处理 48 h 降至最低, 早期光诱导蛋白基因在强光处理 3 h 诱导表达, 而在强光处理 8 h 后表达量降低, 叶黄素循环的关键酶 VDE 和 ZEP 基因的表达也在强光处理 48 h 降至最低。

关键词: 小麦; 强光; 光氧化; 基因表达

Variation in Photosynthetic Traits and Antioxidant Enzyme Activities of Wheat Seedlings Transferred from Low to High Light Growth Condition

LI Hong-Wei, LI Bin, ZHENG Qi, and LI Zhen-Sheng*

State Key Laboratory of Plant Cell and Chromosome Engineering, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Abstract: When plants absorb excessive light energy, a large number of reactive oxygen species is generally produced resulting in the degradation of DNA, proteins, and pigments in plants. For wheat (*Triticum aestivum* L.) grown in North China, the photooxidation induced by high light (HL) during grain-filling period usually causes great losses in grain yield. It is important to understand the mechanism of wheat plant in response to HL for HL-tolerant breeding in wheat. Xiaoyan 54, a wheat cultivar with high resistance to HL, is an ideal material to disclose photosynthesis characteristics of wheat when exposed to HL. In this study, the third-leaf seedlings of Xiaoyan 54 were grown under the condition low light to HL in a growth chamber. The seedlings were sampled at 0, 1, 3, 8, 24, and 48 h of HL treatment. Simultaneously, the net photosynthetic rate (P_n), chlorophyll content (Chl), and fluorescence parameters were measured with the second leaf. The activities of antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), and glutathione reductase (GR), were also determined. In addition, expression pattern of the pigment binding protein related genes were evaluated. The results showed that P_n increased in the photosynthetic induction stage that was from 0 h to 8 h of HL treatment, but decreased continuously during the photoinhibition stage that was from 8 h to 48 h of HL treatment. The maximum P_n value of $18 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ was observed at the 8 h timepoint of HL treatment. The parameters G_s , C_i , and T_r changed similarly to P_n and reached the peaks at the 8 h timepoint of treatment. The contents of total chlorophyll and chlorophyll a only changed slightly during the 48 h of HL treatment. In contrast, chlorophyll b reduced significantly from 24 h to 48 h of treatment, and the ratio of chlorophyll a/b increased from 8 h to 48 h of HL treatment. At one hour of HL treatment, the maximum quantum efficiency of PSII (F_v/F_m), the maximum fluorescence (F_m), and variable fluorescence (F_v) were down-regulated significantly, when the heat dissipation was enhanced. The activities of SOD, CAT, APX, and GR were induced to higher levels with the highest value at 24 h timepoint of HL treatment. From 8 h to 48 h of HL treatment, the *Talhc b* genes, encoding LHCII subunits, were down-regulated at the RNA levels. At the early stage of HL treatment (0–3 h), *TaELIP1* and *TaELIP3* were

本研究由国家自然科学基金项目(30330390), 国家重点基础研究计划(973 计划)项目(2002CB111304, 2009CB118506), 中国科学院知识创新工程(KSCX1-YW-03, KSCX2-YW-N-046)和引进国际先进农业科学技术计划(948 计划)项目(2006G2)资助。

*通讯作者(Corresponding author): 李振声, E-mail: zsl@genetics.ac.cn, Tel: 010-64889381

第一作者联系方式: E-mail: hwli@genetics.ac.cn

Received (收稿日期): 2009-09-25; Accepted (接受日期): 2010-01-09.

induced, but repressed from 8 h to 48 h. As key enzymes in xanthophyll cycle, the transcripts of *TaVDE* and *TaZEP* responded differently to HL treatment. The expression of *TaVDE* decreased remarkably at 8 h of HL treatment and maintained a rather low level till 48 h. However, the expression of *TaZEP* showed an increase trend from 3 h to 24 h, and decreased at 48 h. In conclusion, when wheat seedlings exposed to continuous HL for 48 h, photooxidative stress occurred resulting in reductions of P_n , F_v/F_m , Chl b, and the expressions of pigment binding protein genes, but activation of the antioxidant enzymes.

Keywords: Wheat; High light; Photooxidation; Gene expression

强光会引起植物叶片发生光抑制或光氧化而使其光合效率降低, 在没有其他胁迫因素时, 光抑制至少可使光合生产力降低 10%^[1]。在小麦籽粒灌浆期, 强光引起的光氧化会促使叶片早衰而造成小麦减产。即使在苗期, 强光低温也会引起叶片“光漂白”而影响作物正常生长。因此, 强光胁迫是限制作物产量的重要因素之一^[2]。在长期进化过程中, 植物形成了多种适应强光的机制。首先, 通过提高光合能力而避免能量相对过剩, 如当植物从弱光转入强光下时, 短时间内, 光合速率增加^[3]、Rubisco酶活提高^[4]、电子传递加快、光合磷酸化ATP合成增加^[5]; 其次, 通过调整光系统II (PS II)捕光色素蛋白复合体(light harvest complex, LHC II)以减少光能吸收, 如强光下PSII反应中心捕光色素蛋白复合体减少^[6-7], 再通过依赖于叶黄素循环的热耗散过程耗散过剩光能^[8]。此外, 通过包括抗氧化酶如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)和谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)等在内的抗氧化系统清除活性氧而起到光保护作用^[9]。植物对强光响应的分子机制研究已取得了许多重要进展, 如相继发现与热耗散有关的VDE^[10]、*PsbS*^[11]及ELIP (early light induced protein)基因^[12]具有光保护作用。此外, 利用基因芯片发现了很多基因受强光诱导或抑制表达^[5]。

关于植物对强光的响应机制已用模式植物拟南芥^[10-12]和水稻^[5]开展了很多研究, 但对重要的粮食作物小麦尚缺乏深入研究。然而不同的植物对强光的响应机制可能不尽相同, 并非所有从模式植物得出的结果都适用于小麦, 不同基因型小麦对强光响应机制也不尽相同, 而且对小麦响应强光机制的研究结果可能直接应用于小麦品种选育过程。因此, 以小麦品种为试材探讨强光响应的生理机制有重要意义。小偃 54 是从含有长穗偃麦草染色体片段的小偃 6 号变异株系中选育而来的。它不仅继承了小偃 6 号抗条锈病、优质的特性, 还继承了其抗光氧化特性。研究其响应强光胁迫的过程对于揭示其抗光氧化特性和选育抗光氧化小麦品系具有重要实践意义。尽管已发现小偃 54 具有明显的抗强光特点^[13-15], 但这些研究是在离体强光或大田条件下完成的。由于离体条件不能完全反映连体叶片对强光的响应过程, 而大田自然条件下不可控的温度、湿度、光强、干旱等因素的影响, 使小麦响应强光的过程更为复杂。因此, 有必要简化试验因素, 在温度相对稳定的室内, 采用人工强光处理小麦幼苗, 有助于揭示小麦响应强光的机制。本文就小麦幼苗从低光转入强光的光合与抗氧化系统酶活变化进行了研究, 为进一步研究小麦响应强光的分子生理机制提供基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料与处理

小偃 54 种子经表面消毒后萌发, 选择芽长一致的种子在培养间(光强 $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 温度 26~28 °C, 湿度 40%~60%)用小麦营养液培养^[16], 每 3 d 更换一次营养液。选择生长一致的三叶期幼苗, 经 $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 连续低光下预处理 2 d 后, 转入 $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 强光处理, 其他培养条件不变。分别于处理后 0、1、3、8、24 和 48 h 取第二叶测定各指标, 每个时间点设 4~6 个重复。

1.2 叶绿素含量、光合速率和叶绿素荧光参数的测定

参照 Arnon^[17]的方法测定叶绿素含量。用 LI-6400 光合测定系统(LI-COR, 美国)测定净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、胞间二氧化碳浓度(C_i)和蒸腾速率(T_r)。测定时 CO_2 浓度为 $(410 \pm 16) \mu\text{mol mol}^{-1}$, 设定光强为 $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 。小麦叶片暗适应 30 min 后用 Handy-PEA (Hansatech, 英国)植物效率仪测定叶绿素荧光参数 F_o 、 F_m 、 F_v 、 F_v/F_m 、 TR_o/CS 、 ET_o/CS 、 DI_o/CS 、 $P.L.$ 、 RC/CS_o 和 RC/CS_m ^[18-19]。

1.3 抗氧化系统酶活性测定

参照Grace和Logan^[20]的方法制备粗酶液,对APX、CAT和GR的活性测定方法略作改进,以单位鲜重样品每分钟测定光吸收变化作为酶活力单位。参照王爱国等^[21]的方法测定SOD酶活力,560 nm波长下测定NBT还原产物的量,以抑制NBT还原量50%所需的酶量为一个活力单位。

1.4 基因表达分析

利用 Trizol(Invitrogen, 美国)试剂提取总 RNA。以去 DNA 的 RNA 为模板 按照说明书方法 用 M-MLV 逆转录酶(Promega, 美国)合成 cDNA 第一链。以小麦 *TaTublin* 基因作为内参,根据已公布的小麦 EST 设计引物(表 1)进行 RT-PCR 半定量分析,检测基因表达变化。

表 1 用于检测部分色素结合基因表达变化的引物

Table 1 Primers of selected genes used for expression analysis

基因 Gene	正向引物 Forward primer (5'-3')	反向引物 Reverse primer (5'-3')
<i>TaLhcb1</i>	GGAGAACACACAATACACC	CCCATTATGTGTGCAGTTC
<i>TaLhcb4</i>	AAAGGCCGAGGAGGACAA	CCACCGACCACTTAAGAGG
<i>TaLhcb5</i>	CCCTTCTCCCTCAACTTTG	TGTGCACGTACGGCAGAT
<i>TaLhcb6</i>	TCAGCGACCTACCGTCA	CCCCAAAGAAGTCACGGACA
<i>TaELIP1</i>	GCCTGTTGCAGCATCTG	GTTTACACGTTGATGAAGGG
<i>TaELIP3</i>	CCAAGTGTCATCACCATC	CGTGGCTACAACAGTTAGTAC
<i>TaZEP</i>	ATCCAGATCCAGAGCAACGCGCT	AAGAGATCACCTTCAAATTTCCGGC
<i>TaTublin</i>	ACCGCCAGCTCTTCCACCCT	TCACTGGGGCATAGGAGGAA

1.5 数据分析

用 SPSS 11.5 for Windows 软件进行方差分析和显著性测验。

2 结果与分析

2.1 强光处理下光合参数的变化

当小麦幼苗从低光转入强光后,净光合速率(P_n)的变化可以分为两个阶段。一是强光处理 0~8 h 后的光合诱导期,二是强光处理 8~48 h 后的光抑制期。在光合诱导期随着强光处理时间的延长,光合速率逐渐增加,强光处理 1 h 后光合速率就开始显著增加,在 8 h 时达到最大值($18 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$);强光处理 8 h 后 P_n 开始下降,到 48 h 时接近强光处理前的水平(图 1-A)。在此过程中, G_s 和 T_r 与 P_n 的变化趋势相似,呈单峰曲线,均在强光 8 h 达到最大值(图 1-B和D)。尽管 C_i 在强光 3 h 和 8 h 也有显著增加,但总的看来 C_i 变化幅度小于光合速率变化(图 1-C)。在光合抑制阶段随 G_s 降低, C_i 也逐渐降低,但强光处理 48 h 后尽管 G_s 已降到强光处理前的水平,而 C_i 仍略高于强光处理前的水平。因此,强光处理 48 h 后光合速率的下降,不仅由于气孔导度的降低引起,还可能与光合碳同化的酶(如 Rubisco 等)活性降低有关。

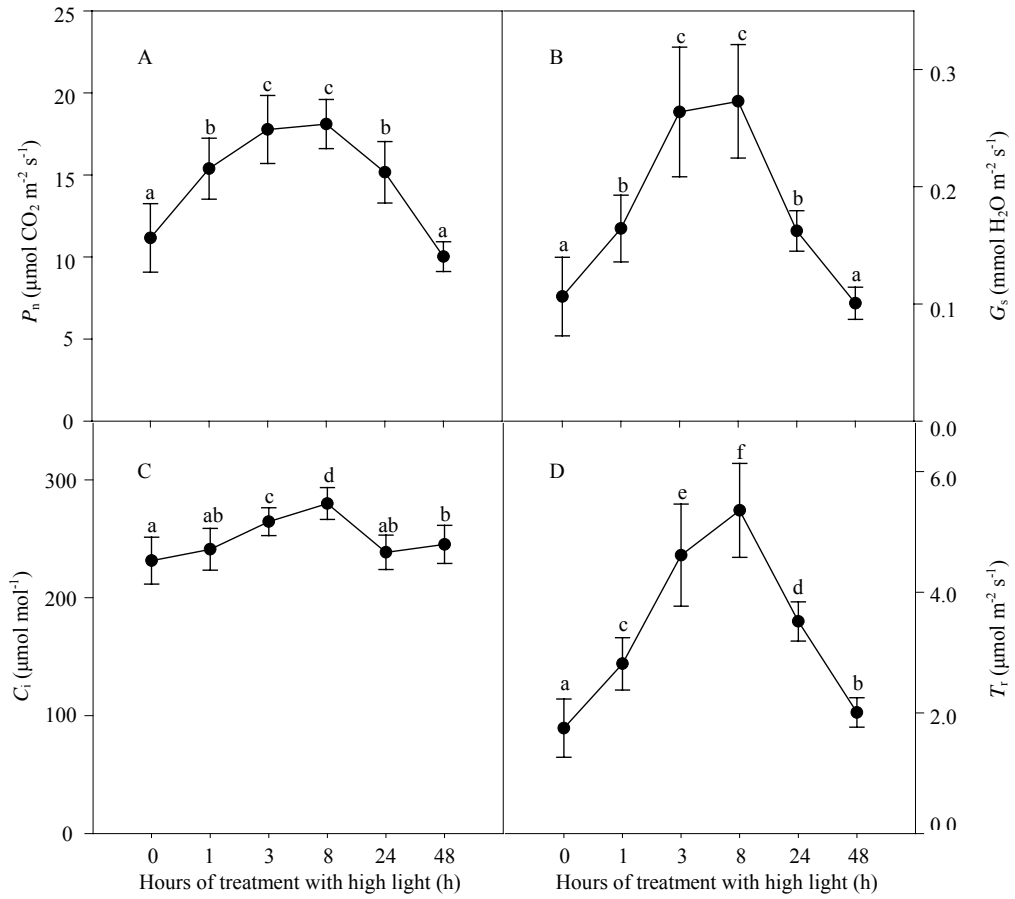


图 1 小麦幼苗从低光转入强光不同时间光合参数变化

Fig. 1 Changes of photosynthetic rate related parameters in second-leaf of wheat seedlings when transferred from low to high light condition

标以相同字母的测定值在 0.05 概率水平上差异不显著。

Measurements marked with the same letter are not significantly different at 0.05 probability level.

2.2 强光处理下叶绿素含量的变化

不同时间强光处理的总叶绿素含量和叶绿素 a 含量变化不显著(图 2-A 和 B)，而在强光处理 24 h 后叶绿素 b 显著减少(图 2-C)，叶绿素 a/b 比值则在强光 8 h 后显著升高(图 2-D)。叶绿素 a/b 比值的升高主要是由于叶绿素 b 的减少引起。叶绿素 b 特异地与光系统 II 天线蛋白(light harvesting complex protein, LHCP II)结合。强光下叶绿素 b 减少表明，LHCP II 减少，叶片光能捕获能量减少。

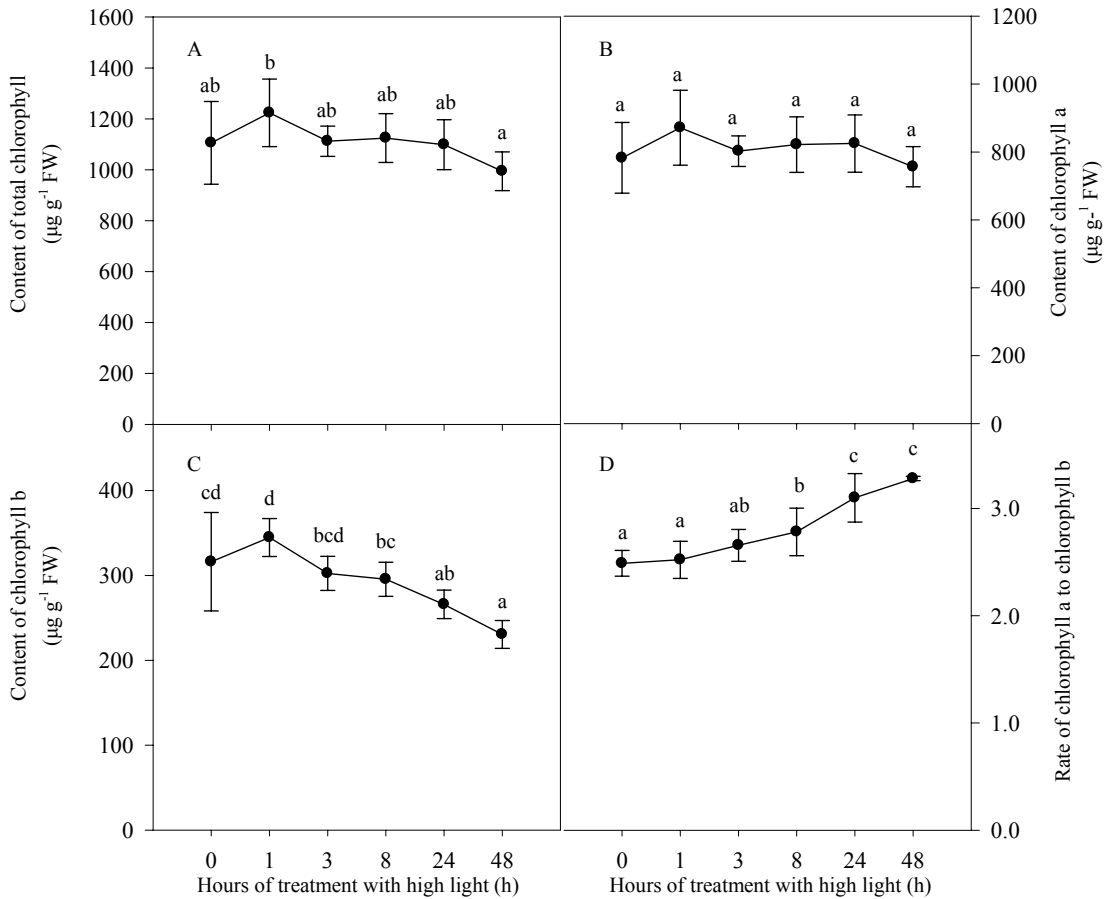


图2 小麦幼苗从低光转入强光不同时间的叶绿素含量变化

Fig. 2 Changes of chlorophyll content in second-leaf of wheat seedlings when transferred from low to high light growth condition

标以相同字母的测定值在 0.05 概率水平上差异不显著。

Measurements marked with the same letter are not significantly different at 0.05 probability level.

2.3 强光处理下 PS II 最大光化学效率和最大荧光的变化

当小麦从低光转入强光处理 1 h 后，叶绿素荧光参数就发生了显著变化(表 2)。强光处理 1 h 后，其最大荧光(F_m)、可变荧光(F_v)、最大光化学效率(F_v/F_m)显著降低，尽管强光处理 48 h 后略有回升，但仍显著低于强光处理前的水平。 PI 是反映叶绿素吸收、捕获、传递及耗散能量的综合性能指数，仅在强光处理 24 h 后显著降低。不同于 F_v/F_m ， PI 是由单位面积吸收、捕获和电子传递的光能共同决定的，所以 PI 对强光的响应也不同于 F_v/F_m 。 DI_o/CS 为单位面积耗散的能量，在强光 1 h 后 DI_o/CS 显著增加，表明强光下热耗散过程加强。 RC/CS_m 为最大荧光时单位面积上开放反应中心的数量，强光处理 1~24 h 后 RC/CS_m 显著减少，而在强光处理 48 h 后有所回升，与强光处理前差异不显著。其他荧光参数如最小荧光(F_o)、单位面积吸收的能量(ABS_o/CS)、捕获的能量(TR_o/CS)、电子传递的能量(ET_o/CS)及最小荧光时的单位面积反应中心的数量(RC/CS_o)变化未达显著水平(数据未列出)。可见强光是通过降低 F_m 而降低 PS II 最大光化学效率(F_v/F_m)；尽管 RC/CS_m 和 PI 有所降低，但光能的吸收、捕获和电子传递未受影响，小麦 54 主要通过增强热耗散过程适应强光。

表 2 不同时间强光处理的叶绿素荧光参数变化

参数 Parameter	强光处理 Treatment with high light					
	0 h	1 h	3 h	8 h	24 h	48 h
F_m	2916±63.4	2469.5±281.1**	2470.0±86.0**	2289.8±183.9**	2086.3±317.6**	2330.7±84.2**
F_v	2461.8±58.7	2003.3±243.4**	1996.5±102.2**	1814.3±171.7**	1629.3±278.5**	1884.7±66.1**
F_v/F_m	0.844±0.004	0.811±0.009**	0.808±0.014**	0.792±0.012**	0.780±0.016**	0.809±0.006**
$P.I.$	1.89±0.11	1.52±0.50	1.65±0.26	1.64±0.78	1.09±0.10*	1.81±0.38
DI_0/CS	70.8±2.5	88.2±7.2**	91.1±10.1**	99.0±4.8**	100.5±4.1**	85.4±6.9**
RC/CS_m	1367.4±68.2	1103.9±194.2*	1148.1±65.4*	1041.5±209.5**	935.2±154.3**	1156.1±76.0

F_m : 最大荧光; F_v : 可变荧光; F_v/F_m : 最大光化学效率; $P.I.$: 综合性能指数; DI_0/CS : 单位反应中心耗散的能量; RC/CS_m : 最大荧光时的反应中心的数目; *和**分别表示 0.05 和 0.01 显著水平。

F_m : maximum fluorescence; F_v : variable fluorescence; F_v/F_m : maximum quantum efficiency of photosystem II; $P.I.$: performance index; DI_0/CS : dissipated excitation energy at time zero per cross-section; RC/CS_m : active reaction centers at maximum fluorescence per cross-section; * and ** denote the significance at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

2.4 强光处理下抗氧化系统酶活性的变化

当小麦幼苗从低光转入强光后，SOD、CAT、APX 和 GR 的活力持续升高。尽管 SOD 活力在强光处理 1 h 后略有下降，但未达显著水平，而当强光处理 24 h 和 48 h 后，SOD 活显著增强(图 3-A)；CAT 受强光持续诱导，强光处理 3 h 后显著增加，处理 48 h 后达到最高，约为处理前的 1.8 倍(图 3-B)；APX 对强光更敏感，在强光处理 1 h 后活性显著增加，之后持续增加，在处理 48 h 达到最大值，约为处理前的 2.1 倍(图 3-C)；GR 活性在强光处理 8 h 后显著升高，在处理 48 h 后诱导幅度最大(图 3-D)。可见在小麦幼苗从低光转入强光后，APX 最早响应，其次为 CAT 和 GR，SOD 响应最慢。强光处理 48 h 就可以显著诱导抗氧化酶活力，表明这时小麦幼苗处于较为严重的光氧化胁迫中。

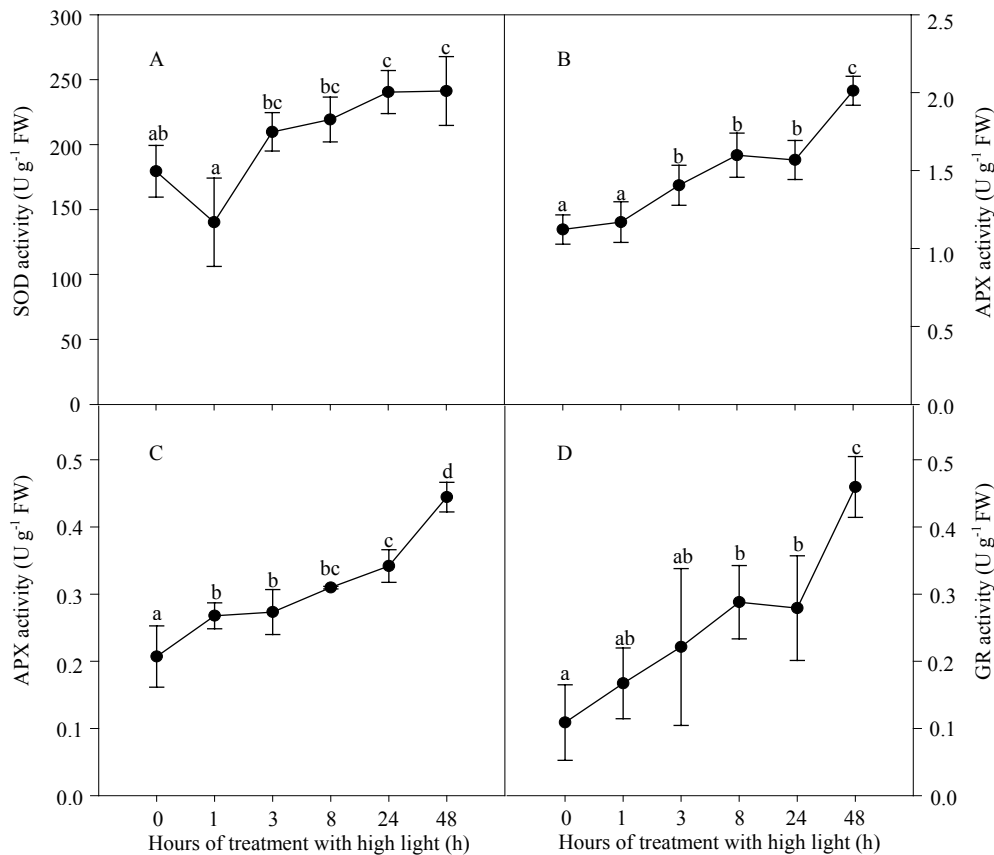


图 3 小麦幼苗从低光转入强光不同时间抗氧化酶活性的变化

Fig. 3 Changes of the activities of antioxidant enzymes in second-leaf of wheat seedlings transferred from low to high light growth condition

A: 超氧化物酶; B: 过氧化氢酶; C: 抗坏血酸过氧化物酶; D: 谷胱甘肽还原酶。标以相同字母的测定值在 0.05 概率水平上差异不显著。

A: superoxide dismutase (SOD); B: catalase (CAT); C: ascorbate peroxidase (APX); D: glutathione reductase (GR). Measurements marked with the same letter are not significantly different at 0.05 probability level.

2.5 强光处理下色素结合蛋白基因表达分析

小麦幼苗转入强光后,色素结合蛋白基因的表达发生了明显变化(图4)。TaLhcb 基因表达量逐渐降低,至强光处理 48 h 降至最低。不同 TaLhcb 基因表达量降低快慢与程度不同,其中 TaLhcb1 最敏感,在强光处理 8 h 时表达受到明显抑制,而表达丰度最高的 TaLhcb5 表达量下降较慢,但也在强光处理 48 h 后降至最低。强光处理 3 h 内, TaELIP1 和 TaELIP3 表达量逐渐增强,但处理 3 h 后表达量下降。TaVDE 的表达量在处理 3 h 内变化不大,而在处理 8 h 明显下降,保持在一个较低水平; TaZEP 在强光处理 3 h 内表达量增加,在处理 48 h 时表达量降低。TaVDE 和 TaZEP 基因表达变化说明,叶黄素循环为主的热耗散对小麦响应短时间强光胁迫具有更重要的作用。

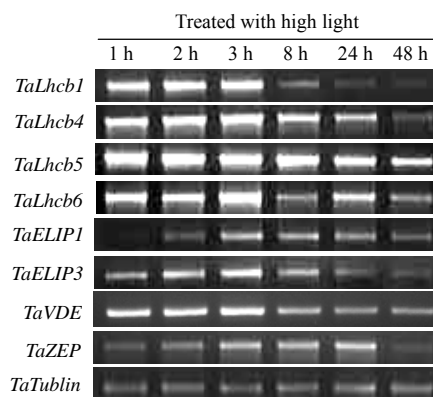


图4 RT-PCR 检测小麦幼苗从低光转入强光不同时间色素结合蛋白(亚基)基因表达变化

Fig. 4 Expression patterns of pigment binding protein related genes in second-leaf of wheat seedlings transferred from low to high light growth condition

Talhcb: 小麦 PSII 捕光色素蛋白复合体亚基基因; TaELIP: 小麦早期光诱导蛋白基因; TaVDE: 小麦紫黄质脱环氧化酶基因; TaZEP: 小麦玉米黄素环氧化酶基因。

Talhcb: encoding the light-harvesting chlorophyll a/b proteins of photosystem II; TaELIP: encoding the early light induced protein; TaVDE: encoding the violaxanthin de-epoxidase; TaZEP: encoding the zeaxanthin epoxidase.

3 讨论

在强光下当植物叶片吸收的光能超过光合作用所能利用的范围之后,过剩光能的过度激发会促使大量活性氧产生。这些活性氧会破坏细胞组分如脂、碳水化合物、蛋白和核酸而导致膜脂过氧化^[25],最终引起细胞程序化死亡^[26]。植物对强光的响应可分为短期快速响应和长期缓慢响应两种^[6]。短期响应在几分钟内就可以发生,主要包括状态转换、热耗散^[9]等。长期响应在数小时或数天内完成,主要涉及光合机构组分、功能和结构的变化。在本研究中,当小麦幼苗转入强光后,按照净光合速率变化,小麦对强光的响应过程可分为光合诱导期(强光处理 0~8 h)和光抑制阶段(强光处理 8~48 h)。前者光合速率逐渐增加,在强光处理 8 h 时达到最大值;而后者光合速率持续下降(图 1),这不仅由于气孔因素造成,还可能与 Rubisco 等光合碳同化酶活性和最大光化学效率(F_v/F_m)降低有关。

LHCII 的主要功能是吸收光能,并将其迅速传递到反应中心。通过分析强光处理不同时间叶绿素含量和 Lhcb 基因表达变化,可以反映小麦 LHCII 对强光的适应性变化。当小麦幼苗转到强光后,叶绿素 b 含量在强光处理 24 h 和 48 h 后显著降低,而叶绿素 a/b 比值在强光处理 8 h 后显著升高(图 2)。Chl a/b 反映了 LHCII 的不同积累水平,也间接反映光能的捕获及其在 PSI 和 PSII 之间的分配情况。叶绿素 b 是一种与 LHCII 特异结合的叶绿素分子,它的减少和叶绿素 a/b 比值的升高表明 LHCII 复合体减少^[5]。与叶绿素变化相似,在光抑制阶段 TaLhcb 基因表达量明显降低,证明 LHCII 复合体亚基含量降低。这利于减少光能吸收,避免因吸收过多光能引起的光破坏^[22-24,27-28]。

强光胁迫下,抗氧化酶类如 SOD、CAT、APX 和 GR 等可以通过直接或间接清除活性氧而起光保护作用。这些抗氧化酶活力受强光诱导,但不同的抗氧化酶对强光响应的快慢和程度不同(图 3)。例如,与强光处理 0 h 相比,APX 活力在强光处理 1 h 时显著提高,CAT 和 GR 的活性在强光处理 3 h 时显著增强,

而 SOD 在强光处理 24 h 时活性显著增加。对短时间(1 h)的强光响应,可能同为清除过氧化氢的 APX 比 CAT 更重要。在强光处理 48 h 时,上述所有抗氧化酶活性均达到最大值,表明连续强光处理 48 h 已经使小麦幼苗处于较为严重的光氧化胁迫下。

ELIP 是高等植物核基因编码的类囊体膜蛋白,可以结合叶绿素,属于捕光色素蛋白复合体家族。ELIP 的转录和翻译随光强的日变化而变化,早晨和下午表达量低,而中午 ELIP 蛋白含量最高^[29]。在本研究中,短时间内(3 h)强光诱导 *TaELIP1* 和 *TaELIP3* 的表达,但 3 h 后表达下降,到强光 48 h 时表达量最低,暗示 *TaELIP* 可能参与小麦快速响应强光过程,但其具体作用机制有待继续研究。

叶黄素循环被认为是小麦光保护的重要途径之一^[30]。在叶黄素循环中,VDE 是催化紫黄质(violaxanthin)经环氧玉米黄质(antheraxanthin)转化为玉米黄质(zeaxanthin),而 ZEP 则催化这一反应的逆反应。玉米黄质可以直接清除激发态的叶绿素分子(¹Chl)^[8]或通过结合于 PsbS 蛋白或其他色素结合蛋白(如 CP26)引起蛋白构象变化,形成耗散中心而耗散过剩光能^[31]。在强光处理 3 h 内 *TaVDE* 转录保持较高水平,而 *TaZEP* 表达水平相对较低,说明在短时间强光下,叶黄素循环中形成较多的玉米黄质,有利于过剩光能的热耗散。然而,在长时间强光(光氧化阶段)下 *TaVDE* 表达量降低,叶黄素循环所起的光保护作用可能被减弱。

小麦籽粒灌浆期的旗叶抗强光能力对产量更重要,但为了便于研究,本试验以小偃 54 幼苗为试验材料,采用连续强光处理活体幼苗,研究其响应强光的生理及基因表达变化。鉴于小麦响应强光过程的复杂性,进一步研究将从基因表达角度比较抗光氧化的小偃 54 和不抗光氧化的其他小麦品种的强光响应过程,以揭示小偃 54 抗强光的分子遗传机制。

4 结论

小麦幼苗转入强光后,短时间内(小于 8 h)处于光合诱导期,光合速率、气孔导度和蒸腾速率逐渐增加;而在较长时间(大于 8 h)强光处理后,光合速率、气孔导度和蒸腾速率逐渐减少,处理时间越长降幅越大;叶绿素 a/b 比值升高和色素结合蛋白复合体亚基基因表达量降低,说明小麦通过减少 LHCII 复合体减少光能吸收,避免因吸收过多光能而引起的光破坏;强光处理 48 h F_v/F_m 显著下降,而抗氧化酶如 SOD、CAT、APX 和 GR 等活性显著增加,说明此时小麦幼苗处于光氧化胁迫之下。ELIP 和叶黄素循环对于短时间强光响应起重要作用。

References

- [1] Ögren E, Rosenqvist E. On the significance of photoinhibition of photosynthesis in the field and its generality among species. *Photosyn Res*, 1992, 33: 63–71
- [2] Ji B-H(季本华), Jiao D-M(焦德茂). Varietal differences in photochemical efficiency of PSII and features of CO₂ exchange in rice leaves under photoinhibitory conditions. *Chin J Rice Sci* (中国水稻科学), 1998, 12(2): 109–114 (in Chinese with English abstract)
- [3] Sims D A, Pearcy R W. Respons of leaf anatomy and photosynthetic capacity in *Alocasia macrorrhiza* (Araceae) to a transfer from low to high light. *Am J Bot*, 1992, 79: 449–455
- [4] Chow W S, Anderson J M. Photosynthetic responses of *Pisum sativum* to an increase in irradiance during growth: I. Photosynthetic activities. *Aust J Plant Physiol*, 1987, 14: 1–8
- [5] Murchie E H, Hubbart S, Peng S, Horton P. Acclimation of photosynthesis to high irradiance in rice: gene expression and interactions with leaf development. *J Exp Bot*, 2005, 56: 449–460
- [6] Anderson J M, Chow W S, Park Y I. The grand design of photosynthesis: acclimation of the photosynthetic apparatus to environmental cues. *Photosynth Res*, 1995, 46: 129–139
- [7] Murchie E H, Horton P. Contrasting patterns of photosynthetic acclimation to the light environment are dependent on the differential expression of the responses to altered irradiance and spectral quality. *Plant Cell Environ*, 1998, 21: 139–148
- [8] Demmig-Adams B, Adams III W W. The role of the xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends Plant Sci*, 1996, 1: 21–26
- [9] Niyogi K K. Photoprotection revisited: Genetic and molecular approaches. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1999, 50: 333–359
- [10] Havaux M, Niyogi K K. The violaxanthin cycle protects plants from photooxidative damage by more than one mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA*,

1999, 96: 8762–8767

- [11] Li X P, Björkman O, Shih C, Grossman A R, Rosenquist M, Jansson S, Niyogi K K. A pigment-binding protein essential for regulation of photosynthetic light harvesting. *Nature*, 403: 391–395
- [12] Hutin C, Nussaume L, Moise N, Moya I, Kloppstech K, Havaux M. Early light-induced proteins protect Arabidopsis from photooxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100: 4921–4926
- [13] Wang S W, Xu C C, Bai K Z, Zhang Q D, Li L B, Kuang T Y, Li J Y, Li Z S. Comparative study on photoinhibition between two wheat genotypes. *Acta Bot Sin*, 2000, 42: 1300–1303
- [14] Yang X H, Chen X Y, Ge Q Y, Li B, Tong Y P, Zhang A M, Li Z S, Kuang T Y, Lu C M. Tolerance of photosynthesis to photoinhibition, high temperature and drought stress in flag leaves of wheat: A comparison between a hybridization line and its parents grown under field conditions. *Plant Sci*, 2006, 171: 389–397
- [15] Yang X H, Chen X Y, Ge Q Y, Li B, Tong Y P, Li Z S, Kuang T Y, Lu C M. Characterization of photosynthesis of flag leaves in a wheat hybrid and its parents grown under field conditions. *J Plant Physiol*, 2007, 164: 318–326
- [16] An D G, Su J Y, Liu Q Y, Zhu Y G, Tong Y P, Li J M, Jing R L, Li B, Li Z S. Mapping QTLs for nitrogen uptake in relation to the early growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Soil*, 2006, 284: 73–84
- [17] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol*, 1949, 24: 1–5
- [18] Appenroth K J, Stöckel J, Srivastava A, Strasser R J. Multiple effects of chromate on the photosynthetic apparatus of *Spirodela polyrrhiza* as probed by OJIP chlorophyll a fluorescence measurements. *Environ Poll*, 2001, 115: 49–64
- [19] Force L, Critchley C, Rensen J J S. New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. *Photosynth Res*, 2003, 78: 17–33
- [20] Grace S C, Logan B A. Acclimation of foliar antioxidant systems to growth irradiance in three broad-leaved evergreen species. *Plant Physiol*, 1996, 112: 1631–1640
- [21] Wang A-G(王爱国), Luo G-H(罗广华), Shao C-B(邵从本), Man S-J(曼淑君), Guo J-Y(郭俊彦). A study on the superoxide dismutase of soybean seeds. *Acta Photophysiol Sin(植物生理学报)*, 1983, 9(1): 77–84 (in Chinese with English abstract)
- [22] Walters R G, Horton P. Acclimation of *Arabidopsis thaliana* to the light environment: Changes in composition of the photosynthetic apparatus. *Planta*, 1994, 195: 248–256
- [23] Bailey S, Walters R G, Jansson S, Horton P. Acclimation of *Arabidopsis thaliana* to the light environment: the existence of separate low light and high light responses. *Planta*, 2001, 213: 794–801
- [24] Lichtenthaler H K, Kuhn G, Prenzel U, Buschmann C, Meier D. Chlorophyll-protein levels and degree of thylakoid stacking in radish chloroplasts from high-light, low-light and bentazon-treated plants. *Physiol Plant*, 1982, 56: 183–188
- [25] Kendall E J, McKersie B D. Free radical and freezing injury to cell membranes of winter wheat. *Physiol Plant*, 1989, 76: 86–94
- [26] Bowler C, Van Montagu M, Inze D. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1992, 43: 83–116
- [27] Leong T Y, Anderson J M. Adaptation of the thylakoid membranes of pea chloroplasts to light intensities: I. Study on the distribution of chlorophyll-protein complexes. *Photosyn Res*, 1984, 5: 105–115
- [28] Mäenpää P, Andersson B. Photosystem II Heterogeneity and Long-term Acclimation of Light-harvesting. Germany: Zeitschrift fuer Naturforschung, Section C, 1989. pp 403–406
- [29] Pötter E, Kloppstech K. Effects of light stress on the expression of early light inducible proteins in barley. *Eur J Biochem*, 1993, 214: 779–786
- [30] Guo L-W(郭连旺), Xu D-Q(许大全), Shen Y-G(沈允钢). Photoinhibition of photosynthesis without net loss of D1 protein in wheat leaves under field conditions. *Acta Bot Sin(植物学报)*, 1996, 38(3): 196–202 (in Chinese with English abstract)
- [31] Dominici P, Caffarri S, Armenante F, Ceoldo S, Crimi M, Bassi R. Biochemical properties of the PsbS subunit of photosystem II either purified from chloroplast or recombinant. *J Biol Chem*, 2002, 277: 22750–22758