

DOI:10.11913/PSJ.2095-0837.2020.10134

娄永峰, 高志民. 叶黄素循环和 D1 蛋白周转在毛竹叶片光保护中的作用[J]. 植物科学学报, 2020, 38(1): 134-142

Lou YF, Gao ZM. Role of xanthophyll cycle and D1 protein turnover in photoprotection of *Phyllostachys edulis* (Carr.) Lehaie leaves[J]. Plant Science Journal, 2020, 38(1): 134-142

叶黄素循环和 D1 蛋白周转在毛竹叶片光保护中的作用

娄永峰¹, 高志民^{2*}

(1. 江西省林业科学院, 江西省植物生物技术重点实验室, 南昌 330032; 2. 国际竹藤中心, 国家林业和草原局/北京竹藤科学与技术重点开放实验室, 北京 100102)

摘要: 利用叶绿素荧光技术, 对强光胁迫下以及叶黄素循环抑制剂-二硫苏糖醇(DTT)和 D1 蛋白合成抑制剂-硫酸链霉素(SM)处理后毛竹(*Phyllostachys edulis* (Carr.) Lehaie)的光抑制特征进行研究。结果显示: 在夏季中午强光或人为强光胁迫下, 毛竹叶片最大光化学效率 F_v/F_m 均显著降低; 在下午光强减弱或黑暗、弱光条件下, F_v/F_m 可有效恢复。DTT 和 SM 均可抑制毛竹叶片非光化学淬灭(NPQ), 且 DTT 效果明显优于 SM。另外, 在强光下, DTT 和 SM 处理均能使毛竹叶片 F_v/F_m 、实际光化学效率 $Y(II)$ 和光化学淬灭 q_p 等荧光参数下降幅度增大。研究结果表明毛竹叶片具有完善的光破坏防御机制, NPQ 与叶黄素循环和 D1 蛋白周转紧密关联, 在叶片光保护机制中具有重要作用。

关键词: 毛竹; 叶黄素循环; D1 蛋白周转; 强光; 叶绿素荧光

中图分类号: Q945

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2020)01-0134-09

Role of xanthophyll cycle and D1 protein turnover in photoprotection of *Phyllostachys edulis* (Carr.) Lehaie leaves

Lou Yong-Feng¹, Gao Zhi-Min^{2*}

(1. Jiangxi Provincial Key Laboratory of Plant Biotechnology, Jiangxi Academy of Forestry, Nanchang 330032, China; 2. International Center for Bamboo and Rattan, State Forestry and Grassland Administration / Beijing Key Laboratory on the Science and Technology of Bamboo and Rattan, Beijing 100102, China)

Abstract: To investigate the roles of the xanthophyll cycle and D1 protein turnover in photoprotection of bamboo, we applied chlorophyll fluorescence techniques to measure the characteristics of photoinhibition in moso bamboo (*Phyllostachys edulis* (Carr.) Lehaie) leaves under strong light and xanthophyll cycle inhibitor-dithiothreitol (DTT) and D1 protein synthesis inhibitor-streptomycin sulfate (SM) treatment, respectively. Results showed that the maximum photochemical efficiency (F_v/F_m) decreased significantly in leaves of *Ph. edulis* exposed to strong artificial light or strong natural noon light in summer. However, the F_v/F_m value could be restored under darkness or in the afternoon under decreased intensity of sunlight. Non-photochemical quenching (NPQ) in *Ph. edulis* leaves was inhibited by the DTT and SM treatments, with the inhibition effect of DTT significantly better than that of SM. In addition, the DTT and SM treatments increased the declining degree of chlorophyll

收稿日期: 2019-06-16, 退修日期: 2019-07-16。

基金项目: “十二五”国家科技计划项目(2015BAD04B0101); 国家自然科学基金项目(31370588)。

This work was supported by grants from the Sub-Project of National Science and Technology Support Plan of the Twelfth Five-Year in China (2015BAD04B0101) and National Natural Science Foundation of China (31370588)。

作者简介: 娄永峰(1983-), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向为林木遗传育种与森林培育(E-mail: 330403612@qq.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: gaozhimin@icbr.ac.cn)。

fluorescence parameters in *Ph. edulis* leaves under strong light, including F_v/F_m , actual photochemical efficiency $Y(II)$, and photochemical quenching q_p . These results suggest that *Ph. edulis* leaves possess a complete photoprotection defense mechanism. NPQ is closely associated with the xanthophyll cycle and D1 protein turnover, which plays an important role in *Ph. edulis* photoprotection.

Key words: *Phyllostachys edulis*; Xanthophyll cycle; D1 protein turnover; Photoprotection; Chlorophyll fluorescence

光对植物具有双重作用,一方面植物需要光能来维持生命,另一方面,过多的光能会诱导活性氧的产生,对植物造成伤害^[1]。当植物光合器官吸收的光能超过其所能利用的最大量时,若过剩光能不能及时耗散则会对光合系统造成光抑制或光破坏。为了减少或避免过剩光能对植物光合机构造成伤害,植物进化出了诸多光保护机制,如通过避光运动减少对光的吸收、利用热耗散等耗散过剩光能、增加活性氧清除系统的活性等^[2-5]。研究表明,依赖于叶黄素循环热耗散和 D1 蛋白周转是保护光合机构免受光抑制伤害的主要途径^[3, 6-8]。当光能过剩、跨膜质子梯度增高时,紫黄质在紫黄质脱环氧化酶的催化下,经过花药黄质转化为玉米黄质,以热能形式耗散过剩光能;反之,在暗中时,玉米黄质在玉米黄质环氧化酶催化下,经过花药黄质转变成紫黄质^[9]。衡量热耗散能力的光系统 II (PS II) 叶绿素荧光参数-非光化学淬灭 (NPQ) 与叶黄素循环中的玉米黄质和花药黄质含量之和成正相关^[5, 10-12]。

依赖叶黄素循环的热耗散并不是唯一的机制,因为利用叶黄素循环抑制剂二硫苏糖醇 (1,4-dithiothreitol, DTT) 完全抑制叶黄素循环后,也未能完全阻断热耗散,因此推测可能在 PS II 反应中心存在另外一种耗散机制,这种机制可能与 D1 蛋白周转有关^[13]。D1 蛋白是构成 PS II 反应中心的最基本框架,由叶绿体 *psbA* 基因编码,其不仅为 PS II 反应中心电子传递辅助因子提供结合位点,维持 PS II 反应中心结构的稳定,而且还参与原初电荷分离和电子传递,在 PS II 反应中心中起着非常重要的作用^[13, 14]。与类囊体膜上的其他蛋白相比, D1 蛋白具有更快的周转速率,在正常条件下,植物体内 D1 蛋白的合成和降解处于动态平衡之中。研究表明, D1

蛋白合成抑制剂链霉素 (Streptomycin, SM) 能够抑制叶绿体蛋白的合成,从而抑制 D1 蛋白的合成与周转^[15]。SM 处理青花菜 (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) 叶片的结果显示, D1 蛋白周转在植物叶片光破坏防御中发挥着重要作用,且其作用大于叶黄素循环^[6]。因此, D1 蛋白快速周转在维持植物正常的 PS II 生理功能中发挥着重要的作用^[13, 16, 17]。

竹类植物是禾本科竹亚科一类常绿(少数竹种在旱季落叶)浅根性植物,具有生长速度快,固碳能力强等特点,其广泛分布于热带、亚热带地区,是一类重要的森林资源。然而,在热带和亚热带地区,夏季经常处于高温强光状态,在高温强光环境下,竹子同其它植物一样容易发生光抑制。已有报道从叶黄素循环分子机制方面开展对竹子光保护的研究,证明毛竹 VDE (violaxanthin de-epoxidase, VDE) 能够催化紫黄质依次形成花药黄质和玉米黄质^[18], 过量表达毛竹 *ZEP* (zeaxanthin epoxidase) 基因在增加了转基因拟南芥对强光敏感性的同时,也提高了转基因植株的耐旱性^[19]。DTT 是 VDE 的专一性抑制剂,影响其生物活性, DTT 处理金镶玉竹 (*Phyllostachys aureosulcata* f. *spectabilis*) 叶片影响其 PS II 量子产量的比例,使光保护能力降低,光损伤加重^[20]。本研究以重要竹种——毛竹 (*Phyllostachys edulis* (Carr.) Lehaie) 为对象,利用 DTT 和 SM 处理毛竹叶片,分析强光胁迫下叶片叶绿素荧光参数的变化,揭示处理对其 PS II 功能的影响,探讨叶黄素循环和 D1 蛋白周转在竹类植物光保护中的作用,以期竹类植物抗逆品种的选育和推广栽培提供理论依据。

1 实验材料

以从广西桂林购买的毛竹种子为材料,在实验

室内进行盆栽培养。培养条件：温度为 18℃ ~ 25℃，光周期为 16 h 光照/8 h 黑暗，光照强度为 250~350 μmol · m⁻² · s⁻¹。待毛竹实生苗长至 6 个月左右时，取顶端第 3 片完全展开的功能叶进行各项指标的测定。

2 实验方法

2.1 毛竹叶片 F_v/F_m 日变化的测定

选择夏季(8-9 月)晴朗天气，以室外适应 1 个月左右的毛竹实生苗为材料，用竹条使其部分叶片垂直接受太阳光直射，从早上 6 : 00 开始至傍晚 18 : 00 点结束，每隔 1 h 取部分受太阳光直射的叶片进行叶绿素荧光参数测定，测定重复 12 ~ 15 次。

2.2 强光处理毛竹叶片

选择长势基本一致的毛竹实生苗(约 6 个月大小)，将其分别放置在不同的光强(300、600、1200、1800 μmol · m⁻² · s⁻¹)下处理时间 4 h，期间每 1 h 取部分样本进行叶绿素荧光参数测量。测定结束后放置弱光条件下恢复，分别测定恢复 2 h 和 12 h 后的叶绿素荧光参数。测定重复 10 次。

2.3 DTT 和 SM 处理

抑制剂处理：选择与毛竹实生苗顶端大小类似的第 3 片功能叶为材料。首先将毛竹叶片从叶柄基部剪下，立刻分别浸入 10 mmol/L DTT 和 3 mmol/L SM 中，并在弱光(约 15 μmol · m⁻² · s⁻¹)下放置 5 ~ 6 h，使抑制剂随蒸腾作用进入叶片中。同时以去离子水为对照(CK)。

强光处理：抑制剂处理后，选择叶片中部将

其打成叶圆片(直径 1.2 cm)，然后把叶圆片正面朝上，漂浮在 25℃ 恒温水浴上，以保证叶片及时吸收水分，维持形态。采用 1200 μmol · m⁻² · s⁻¹ 的强光进行 4 h 光照处理，同时设置弱光(约 15 μmol · m⁻² · s⁻¹)处理为对照。每 1 h 取部分样本进行叶绿素荧光参数测定。强光处理后，将叶圆片放置在弱光处进行恢复，分别测定恢复 1、2、4、8 h 后的叶绿素荧光参数。每个时间点选择 10 ~ 12 个叶片，取圆片进行测定。

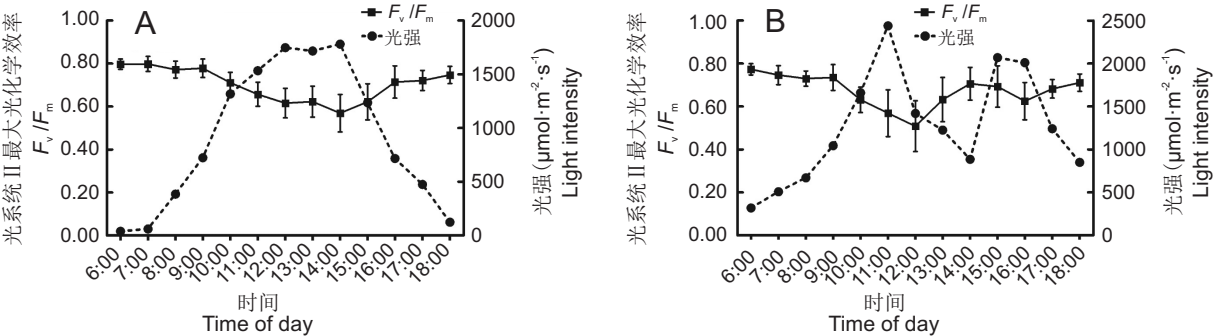
2.4 叶绿素荧光参数测定

利用调制式叶绿素荧光仪 Daul-PAM-100 进行叶绿素荧光参数的测定。首先对叶片样品进行 20 min 暗处理，先测量获得最小荧光(F_o)和最大荧光(F_m)，然后根据仪器操作软件设置进行荧光诱导动力学曲线测定，获得对应活化光下的最大荧光(F_m')。根据测量得到 F_o 、 F_m 和 F_m' 等数据计算 PS II 最大光化学效率 $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$ 、实际光化学效率 $Y(II) = (F_m' - F_o)/F_m'$ 和非光化学淬灭 $NPQ = (F_m - F_m')/F_m'$ 等荧光参数。同时使用 Daul-PAM-100 进行快速光响应曲线测量，并获取相应数据。采用 Excel 2010 软件进行数据统计分析，GraphPad Prism 5 作图。

3 结果与分析

3.1 毛竹叶片 F_v/F_m 的日变化

植物遭受光抑制程度可以用 PS II 的最大光化学效率 F_v/F_m 来衡量，发生光抑制时其 F_v/F_m 会明显降低。本研究结果显示(图 1: A)，在夏季晴天，随着太阳光照强度的增强，毛竹叶片的 F_v/F_m



A: 正常情况-晴天; B: 特殊情况-雷阵雨天。
A: Under normal condition-sunny days; B: Under abnormal condition-thunderstorm.

图 1 夏季毛竹叶片 F_v/F_m 的日变化

Fig. 1 Diurnal variations of F_v/F_m in leaves of *Phyllostachys edulis* in summer

急剧下降，至光照最强的 10：00 时至 14：00 时，降到最低，最大降幅为 24.71%；14：00 后太阳光照强度减弱，叶片 F_v/F_m 逐渐升高，获得恢复。此外，太阳光照强度的突然变化也会影响毛竹 F_v/F_m 的改变，例如午间出现短暂的雷雨，期间太阳光照强度急剧下降，结果毛竹叶片 F_v/F_m 出现快速短暂的上升恢复(图 1：B)。以上结果说明，在自然条件下，一般午间(10：00–14：00)太阳光照强烈时，毛竹叶片会发生严重的光抑制， F_v/F_m 下降。同时伴随着太阳光照强度的减弱， F_v/F_m 能够逐渐恢复，这表明短期的强光不会对毛竹叶片光合机构造成破坏，植物本身具有防御强光照破坏的能力。

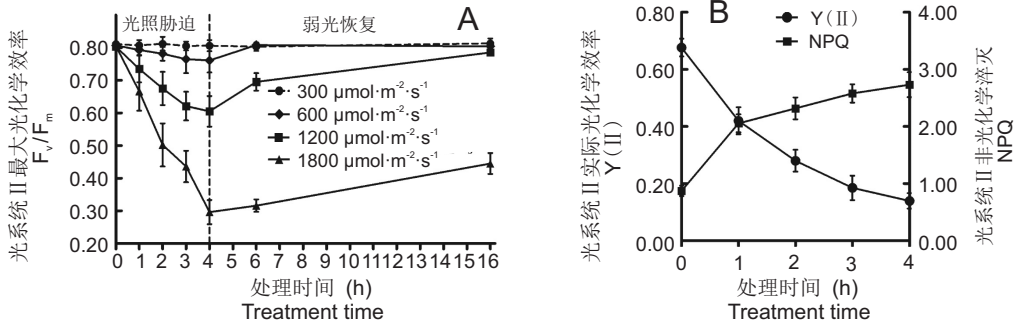
3.2 强光下毛竹的光抑制特征

不同光照强度处理影响叶片 F_v/F_m 的研究结果显示，在 $600\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的光强下，毛竹叶片 F_v/F_m 略有降低，4 h 后 F_v/F_m 达到最低值 0.76，但并未发现显著变化，表明此时毛竹未发生明显光抑制；当光强增加至 $1200\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时，经过 4 h 后 F_v/F_m 明显低于未处理(0 h)，下降了 24.7%，说明该强光条件可以对毛竹叶片造成明显的光抑制，经过 12 h 的恢复可以达到正常水平，表示毛竹叶片自身具有光保护机制；在 $1800\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的光强下， F_v/F_m 随光照时间增加急剧下降，4 h 后 F_v/F_m 下降到最低，约为 0.30，发生了严重的光抑制；经 12 h 的弱光恢复， F_v/F_m 未能得到有效恢复(图 2：A)。说明 $1800\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的强光引起的光抑制对毛竹光合机构造成了严重的伤害，导致 F_v/F_m 不能恢复到接近正常的水平。

本研究选择 $1200\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 强光为胁迫条件，进一步分析发现，随着强光胁迫时间的延长，用于光化学反应的能量占 PS II 所吸收光能的比例，即 $Y(\text{II})$ 逐渐下降，说明光抑制程度加重。毛竹叶片的非光化学淬灭(NPQ)明显增加，NPQ 由处理前(0 h)的 0.87 上升到处理 4 h 时的 2.73 (图 2：B)。表明强光条件下，NPQ 能有效耗散过剩能量，以热能的形式散失，最终起到光保护的效果。

3.3 抑制叶黄素循环和 D1 蛋白周转对强光下毛竹叶片叶绿素荧光参数的影响

毛竹叶片 NPQ 诱导-弛豫动力学曲线分析结果显示，在 $1075\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的活化光下，毛竹叶片(CK)NPQ 在 3 min 内快速被诱导，并到达峰值 2.0 左右；相比之下，经 DTT 处理后的叶片，表现出较低的 NPQ，最高值约为 0.8，且 NPQ 主要在开始的 1 min 之内快速上升，随后趋向平稳状态；而 SM 处理的毛竹叶片，其 NPQ 的变化介于 CK 和 DTT 之间，在平稳期 NPQ 约为 1.5(图 3：A)。进一步分析毛竹叶片在不同光照强度下的 NPQ，结果表明，随着光强增加，CK 和 SM 的 NPQ 也逐渐增加，当光强在 $1500\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时，其 NPQ 分别到达 2.76 和 2.01，但两者差异不显著；但是 DTT 处理后，毛竹叶片 NPQ 在不同的光强下差异较小，最大 NPQ 仅 1.29，较 CK 显著下降($P < 0.05$)，为 CK 的 46.7%(图 3：B)。研究结果表明，DTT 可以显著减少毛竹叶片的 NPQ，即显著影响依赖叶黄素循环的热耗散能力，而 SM 对毛竹叶片的 NPQ 有影响，但效果没有 DTT 显著。



A: 不同光强对 F_v/F_m 的影响；B: 强光 ($1200\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 对 $Y(\text{II})$ 和 NPQ 的影响。
A: Effects of different light intensities on F_v/F_m ; B: Effects of strong light ($1200\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) on $Y(\text{II})$ and NPQ.

图 2 强光对毛竹叶片 F_v/F_m 、 $Y(\text{II})$ 和 NPQ 的影响

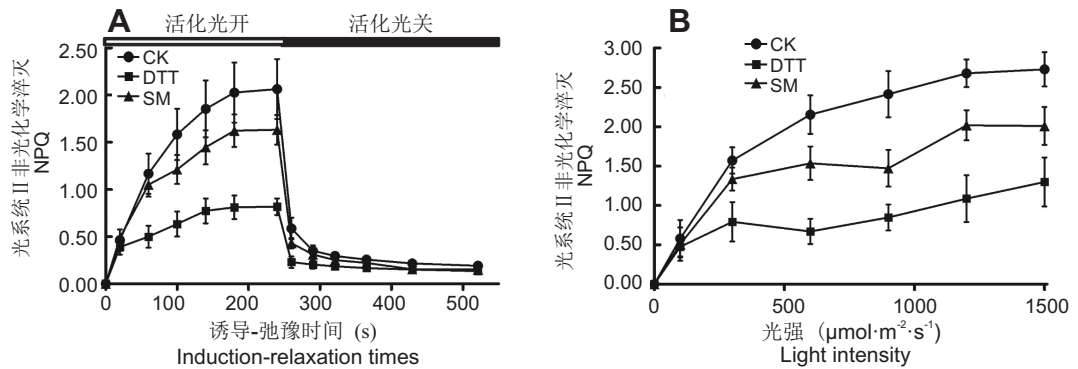
Fig. 2 Effects of strong light on F_v/F_m , $Y(\text{II})$, and NPQ in leaves of *Phyllostachys edulis*

在 $1200\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 强光胁迫条件下，随强光处理时间延长，对照组 (CK) 叶片的 F_v/F_m 持续降低，与处理前 (0 h) 相比，处理 4 h 后降低了 31.2% (图 4)，表明强光下毛竹叶片发生了明显的光抑制。而经 DTT 处理的毛竹叶片，在强光胁迫下，其 F_v/F_m 急剧下降，4 h 后降低了 66.6%，明显低于 CK。由此可见，通过 DTT 处理抑制了毛竹叶片中紫黄质脱环氧化酶的活性，进而影响叶黄素循环及依赖于叶黄素循环的热耗散，从而加重毛竹叶片的光抑制程度。在弱光恢复过程中，两者的 F_v/F_m 都逐渐上升得到恢复，但是恢复程度不同，经过 8 h 的弱光恢复，CK 的 F_v/F_m 恢复到强光处理前的 79.5%，而 DTT 处理的毛竹叶片其 F_v/F_m 只恢复到 59.5%，明显低于 CK。说明毛竹叶片本身具有完善的光保护机制，且叶黄素循环在毛竹叶

片的光保护机制中具有重要的作用。此外，SM 抑制 D1 蛋白合成，阻碍 D1 蛋白周转后， F_v/F_m 急剧下降，处理 4 h 后降低了 72.5%，这与 DTT 处理的类似，显著低于 CK。同样，在弱光条件下恢复，经 SM 处理后的叶片 F_v/F_m 恢复了 44.1%，显著低于 DTT 处理和 CK。

同时，在弱光条件下，CK 和分别经 DTT 和 SM 处理的毛竹叶片 F_v/F_m 均未发生明显变化，三者间也没有明显差异，一直维持在 $0.778\sim0.806$ ，说明是强光造成光抑制，引起毛竹叶片的 F_v/F_m 下降。

本研究发现，强光处理 1 h，CK 和经 DTT 或 SM 处理的毛竹叶片的 $Y(\text{II})$ 都出现快速降低，分别降低了 40.2%、56.6% 和 55.7%，1 h 后，随着处理时间的延长，均出现持续缓慢降低，总体来



A: NPQ 诱导-弛豫动力学曲线; B: NPQ 对光强的响应曲线。
A: NPQ induction-relaxation kinetics curve; B: Response curves of NPQ to light intensity.

图 3 DTT 和 SM 对毛竹叶片 NPQ 的影响

Fig. 3 Effects of DTT and SM on NPQ in leaves of *Phyllostachys edulis*

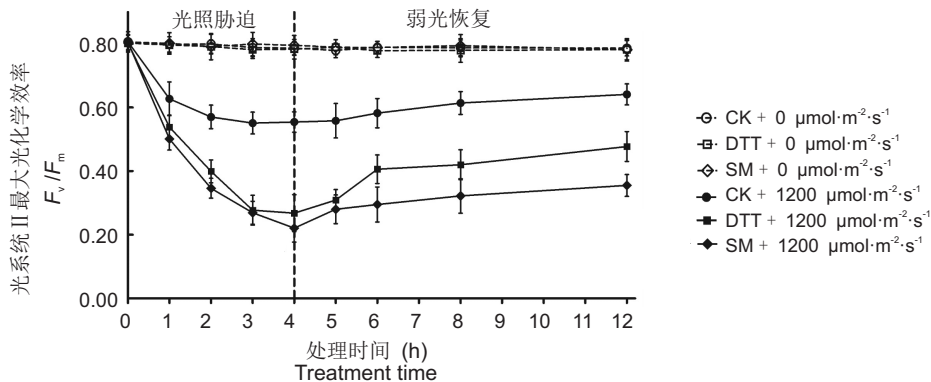


图 4 DTT 和 SM 对强光处理以及黑暗恢复条件下毛竹叶片 F_v/F_m 的影响

Fig. 4 Effects of DTT and SM on F_v/F_m in leaves of *Phyllostachys edulis* treated with strong light and recovery under dark conditions for different times

看, DTT 和 SM 处理后毛竹叶片的 $Y(II)$ 降低幅度整体大于 CK(图 5: A)。

光化学淬灭 q_p , 反映的是 PS II 反应中心的开放程度, 同 $Y(II)$ 的变化趋势一样。强光处理下, CK 和经 DTT 或 SM 处理的毛竹叶片 q_p 较强光处理前(0 h)均发生明显下降, 在前 1 h 之内, 三者都先发生明显下降, 但随后 CK 的 q_p 下降趋向平稳, 而 DTT 和 SM 处理的 q_p 则继续下降, 4 h 后, 分别下降了 60.4% 和 44.1%, 下降幅度明显大于 CK(30.5%)(图 5: B)。

F_v'/F_m' 光适应下 PS II 的最大光化学效率, 表示在存在热耗散的情况下 PS II 反应中心完全开放时的光化学效率。在强光处理下, CK 和经 DTT 或 SM 处理的毛竹叶片 F_v'/F_m' 在前 1 h 内均出现快速下降, 随着强光处理时间的增加, 其下降趋势均趋向平稳, 总的来看, DTT 和 SM 处理后毛竹叶片的 F_v'/F_m' 降低幅度高于 CK(图 5: C)。

本研究根据叶绿素荧光参数可将 PS II 的光量子产量分成 3 部分, 实际光量子产量 $Y(II)$ 、调节性能量耗散量子产量 $Y(NPQ)$ 和非调节性能量耗散量子产量 $Y(NO)$ 。对毛竹叶片经过 DTT 或 SM 处理后进行 $530\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 活化光光强下的荧光诱导测量, 结果显示(图 6), 在不同的处理条件下, $Y(II)$ 、 $Y(NPQ)$ 和 $Y(NO)$ 三者在照光的前 60 s 都发生了明显改变, $Y(II)$ 和 $Y(NPQ)$ 增加, $Y(NO)$ 减少; 照光 60 ~ 120 s 期间, 三者之间所占的比例趋向平稳; 120 s 后三者各自所占比例基本达到平稳。在平稳状态下, 与 CK 相比, DTT 和 SM 处理后的毛竹叶片的 $Y(NPQ)$ 明显减少, 约从 55% 减少至 30%; 而 $Y(II)$ 与 CK 基本保持一致, 约为 15%, 因为 $Y(II) + Y(NPQ) + Y(NO) = 1$, 所以 DTT 和 SM 处理后毛竹叶片的 $Y(NO)$ 比例相应增加, 从约 30% 增加至 55%(图 6)。研究结果表明, DTT 和 SM 处理影响了 PS II 光量子产量的

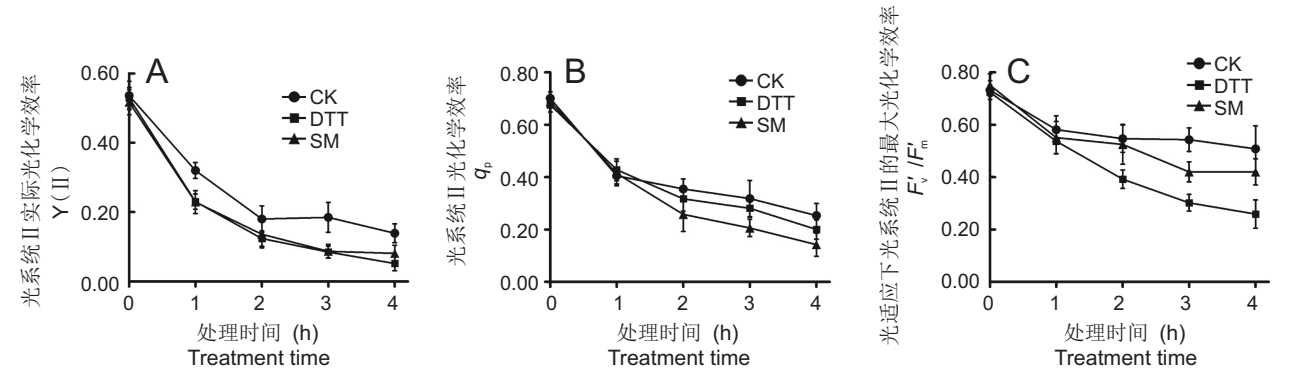


图 5 DTT 和 SM 对强光处理下毛竹叶片 $Y(II)$ 、 q_p 和 F_v'/F_m' 的影响

Fig. 5 Effects of DTT and SM on $Y(II)$, q_p , and F_v'/F_m' in leaves of *Phyllostachys edulis* treated with strong light

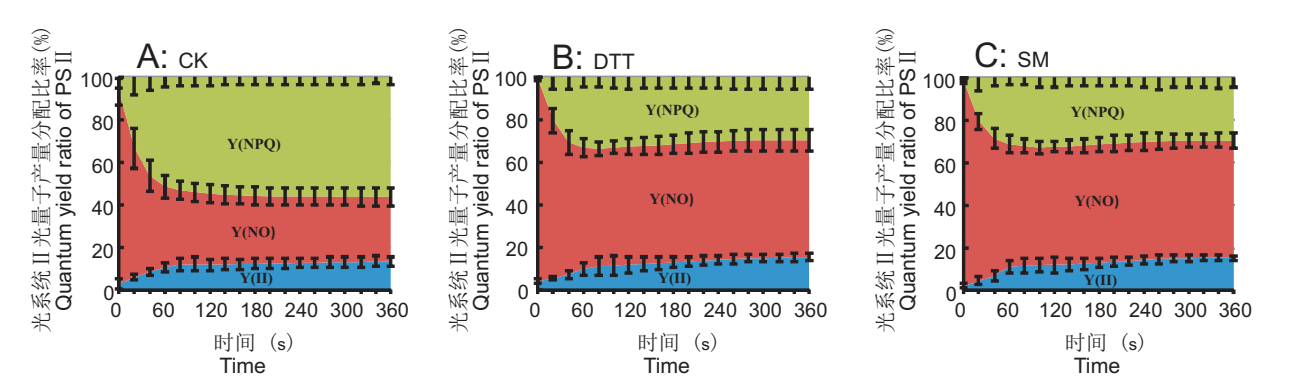


图 6 DTT 和 SM 对毛竹叶片光能分配参数的影响

Fig. 6 Effects of DTT and SM on parameters of absorbed light allocation in leaves of *Phyllostachys edulis*

比例。

4 讨论

强光往往使植物光合机构吸收的光能过剩,若过剩光能没有耗散掉,则会引起光抑制,从而对其造成伤害。目前,叶绿素荧光参数 PS II 最大光化学效率 F_v/F_m 是一个简单快速衡量光抑制程度的指标^[6]。自然条件下,植物的光抑制广泛存在,一般夏季午间强光下青花菜^[6]、银杏(*Ginkgo biloba* L.)^[21]、水稻(*Oryza sativa* L.)^[22]、温州蜜柑(*Citrus unshiu* Marc.)^[23]和睡莲(*Nymphaea* L.)^[24]等植物都有光抑制发生,其特征是随着太阳光照的增加,其 F_v/F_m 降低,中午光照最强时 F_v/F_m 最小;当光照变弱时其 F_v/F_m 则能快速恢复。本研究发现,毛竹叶片在强光下容易发生光抑制,而在太阳光照强度减弱或强光处理后弱光恢复条件下,毛竹叶片 F_v/F_m 都能获得恢复,与上述植物特征相似。

依赖于叶黄素循环的热耗散是植物耗散过剩光能、避免光抑制发生的重要途径之一,热耗散可以用叶绿素荧光参数非光化学淬灭 NPQ 来衡量^[5, 25-27]。NPQ 与叶黄素循环中的组分玉米黄质和花药黄质的含量之和呈正相关,且玉米黄质能直接淬灭激发态叶绿素,以热的形式耗散激发能^[5, 26]。叶黄素循环中的关键酶 VDE 的缺失或其活性受到抑制都会影响 NPQ,如拟南芥(*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh) VDE 功能缺失突变体 *npq1*,不能有效的将紫黄质转变成玉米黄质,与正常野生型相比,表现出较低的 NPQ 值^[28]。另外,转黄瓜(*Cucumis sativus* L.) *CsVDE* 反义基因的转基因拟南芥,在强光下其 NPQ 被抑制,表现与拟南芥突变体 *npq1* 相似,同时 F_v/F_m 也明显降低^[29]。目前,VDE 的抑制剂 DTT 已广泛应用于叶黄素循环研究^[30, 31]。本研究利用 DTT 处理毛竹叶片,导致强光下其 $Y(II)$ 、 q_p 和 F'_v/F'_m 等的下降幅度增大,这与青花菜^[6]、金镶玉竹^[20]、大豆(*Glycine max* L.)^[30] 中的研究结论一致,说明 DTT 处理可加剧强光对毛竹叶片 PS II 反应中心的光破坏,表明叶黄素循环在毛竹叶片光保护机制中具有重要作用。 $Y(NPQ)$ 是植物光保护能力的有效

指标,其值的增加反应 PS II 接受的光能过剩,同时还说明 PS II 仍可以通过调节性机制来保护自身免遭光伤害^[27, 32]。 $Y(NO)$ 表示的是由于光钝化所引起的非调节性的量子产量, $Y(NO)$ 较大表示光化学能量转换和自我保护调节机制均较弱,说明植物无法耗散过多的光能,植物已经受到伤害或者即将造成光损伤^[27, 33]。本研究证明 DTT 处理增大了光能向 $Y(NO)$ 途径分配并抑制了 $Y(NPQ)$ 机制的正常运转,从而降低了毛竹叶片的光保护能力。

D1 蛋白快速周转也是一种光保护机制^[13]。本研究利用 D1 蛋白合成抑制剂 SM 抑制 D1 蛋白合成,阻碍 D1 蛋白周转后,毛竹叶片 NPQ 有略微的降低,但下降幅度明显小于 DTT 处理,说明 NPQ 主要和叶黄素循环有关。此外,在强光处理下,毛竹叶片 F_v/F_m 急剧下降,处理 4 h 后降低了 72.5%,略大于 DTT 处理(降低了 66.6%)。弱光恢复中,SM 处理的毛竹叶片 F_v/F_m 只恢复了 44.1%。说明 SM 处理可加剧强光对毛竹叶片 PS II 反应中心的光破坏,且 SM 处理的破坏程度大于 DTT 处理,表明 D1 蛋白周转在毛竹叶片光保护机制中也具有重要的作用,且作用大于叶黄素循环,这与青花菜^[6]、桑(*Morus alba* L.)^[8] 等的研究结果一致。此外,SM 处理也能使毛竹叶片的 $Y(II)$ 、 q_p 和 F'_v/F'_m 的下降幅度增大,改变毛竹叶片 PS II 的光量子产量的分配,促使 $Y(NO)$ 增加、 $Y(NPQ)$ 减少,且与 DTT 处理比较, $Y(NO)$ 增加或 $Y(NPQ)$ 减少的幅度更大,这进一步说明 D1 蛋白周转在毛竹叶片光保护机制中作用大于叶黄素循环。但在 SM 和 DTT 处理中 $Y(II)$ 、 q_p 和 F'_v/F'_m 等的下降幅度存在差异,其原因还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Müller P, Li XP, Niyogi KK. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy[J]. *Plant Physiol*, 2001, 125(4): 1558-1566.
- [2] 郭连旺,沈允钢. 高等植物光合机构避免强光破坏的保护机制[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(1): 1-8.
Guo LW, Shen YG. Protective mechanisms against photodamage in photosynthetic apparatus of higher plants [J]. *Plant Physiology Communications*, 1996, 32(1): 1-8.

- [3] 周丽英, 付忠, 卜璐璐, 杨春雷, 高婷, 杨正安. 植物光破坏防御机制研究进展[J]. 亚热带植物科学, 2016, 45(3): 290–294.
- Zhou LY, Fu Z, Bu LL, Yang CL, Gao T, Yang ZA. Research progress of photoprotection mechanism in plants[J]. *Subtropical Plant Science*, 2016, 45(3): 290–294.
- [4] Takahashi S, Badger MR. Photoprotection in plants: a new light on photosystem II damage[J]. *Trends Plant Sci*, 2011, 16(1): 53–60.
- [5] Goss R, Lepetit B. Biodiversity of NPQ[J]. *J Plant Physiol*, 2015, 172: 13–32.
- [6] 颀敏华, 张继澍, 郁继华, 颀建明. D1 蛋白周转和叶黄素循环在青花菜叶片强光破坏防御中的作用[J]. 中国农业科学, 2009, 42(5): 1582–1589.
- Xie MH, Zhang JS, Yu JH, Xie JM. The role of D1 protein turnover and xanthophylls cycle in protecting photosynthetic apparatus of broccoli leaves against photodamage[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(5): 1582–1589.
- [7] 徐建旭, 周慧芬, 邱翠花, 郭延平, 计玮玮, 焦云. 高温强光下温州蜜柑光合机构运转与叶黄素循环和 D1 蛋白周转的关系[J]. 园艺学报, 2011, 38(2): 205–214.
- Xu JX, Zhou HF, Qiu CH, Guo YP, Ji WW, Jiao Y. Studies on the relationship among photosynthetic apparatus operation, xanthophylls cycle and D1 protein turnover in satsuma mandarin leaves under high temperature and strong light[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2011, 38(2): 205–214.
- [8] 张会慧, 张秀丽, 李鑫, 许楠, 孙广玉. 盐胁迫下桑树叶 D1 蛋白周转和叶黄素循环对 PS II 的影响[J]. 林业科学, 2013, 49(1): 99–106.
- Zhang HH, Zhang XL, Li X, Xu N, Sun GY. Role of D1 protein turnover and xanthophylls cycle in protecting of photosystem II functions in leaves of *Morus alba* under NaCl stress[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2013, 49(1): 99–106.
- [9] Arnoux P, Morosinotto T, Saga G, Bassi R, Pignol D. A structural basis for the pH-dependent xanthophyll cycle in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Cell*, 2009, 21(7): 2036–2044.
- [10] 王彦杰. 番茄叶片叶黄素部分缺失下不同光保护途径对干旱胁迫的响应[D]. 杭州: 浙江大学, 2007.
- [11] 王宁. 低温胁迫下番茄玉米黄质环氧化酶基因的表达和功能研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2008.
- [12] Goss R, Jakob T. Regulation and function of xanthophyll cycle-dependent photoprotection in algae[J]. *Photosynth Res*, 2010, 106(1/2): 103–122.
- [13] 姜闯道, 高辉远, 邹琦. D1 蛋白周转及其对能量耗散的调节[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(3): 207–212.
- Jiang CD, Gao HY, Zhou Q. D1 protein turnover and the regulation of excited energy dissipation[J]. *Plant Physiology Communications*, 2002, 38(3): 207–212.
- [14] Aro EM, McCaffery S, Anderson JM. Recovery from photoinhibition in peas (*Pisum sativum* L.) acclimated to varying growth irradiances: role of D1 protein turnover[J]. *Plant Physiol*, 1994, 104(3): 1033–1041.
- [15] Jiang CD, Gao HY, Zou Q. Effects of streptomycin treatment on chlorophyll fluorescence parameters and xanthophyll de-epoxidation level in maize leaves[J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2003, 29(3): 221–226.
- [16] 杨卫丽, 黄福灯, 曹珍珍, 雷炳婷, 胡东维, 程方民. 高温胁迫对水稻光合 PS II 系统伤害及其与叶绿体 D1 蛋白间关系[J]. 作物学报, 2013, 39(6): 1060–1068.
- Yang WL, Huang FD, Cao ZZ, Lei BT, Hu DW, Cheng FM. Effects of high temperature stress on PS II function and its relation to D1 protein in chloroplast thylakoid in rice flag leaves[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2013, 39(6): 1060–1068.
- [17] Gao YB, Zheng WW, Zhang C, Zhang LL, Xu K. High temperature and high light intensity induced photoinhibition of bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) by disruption of D1 turnover in photosystem II[J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 248: 132–137.
- [18] Gao ZM, Liu Q, Zheng B, Chen Y. Molecular cloning and functional analysis of violaxanthin deepoxidase gene (*PeVDE*) from *Phyllostachys edulis*[J]. *Plant Cell Rep*, 2013, 32(9): 1381–1391.
- [19] Lou YF, Sun HY, Li LC, Zhao HS, Gao ZM. Characterization and primary functional analysis of a bamboo *ZEP* gene from *Phyllostachys edulis*[J]. *DNA Cell Biol*, 2017, 36(9): 747–758.
- [20] 孙化雨, 姜永峰, 赵韩生, 高志民. 二硫苏糖醇对金镶玉竹叶绿素荧光参数的影响[J]. 竹子研究汇刊, 2015, 34(3): 13–18, 62.
- Sun HY, Lou YF, Zhao HS, Gao ZM. The influence of dithiothreitol treatments on leaf chlorophyll fluorescence parameters of *Phyllostachys aureosulcata* f. *spectabilis*[J]. *Journal of Bamboo Research*, 2015, 34(3): 13–18, 62.
- [21] 李新国, 孟庆伟, 赵世杰. 强光胁迫下银杏叶片的光抑制及其防御机制[J]. 林业科学, 2004, 40(3): 56–59.
- Li XG, Meng QW, Zhao SJ. Photoinhibition and photoprotection mechanisms in *Ginkgo biloba* leaves under strong light stress[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2004, 40(3): 56–59.

- [22] Wang Q, Zhang QD, Zhu XG, Lu CM, Kuang TY, Li CQ. PS II photochemistry and xanthophylls cycle in two superhigh-yield rice hybrids, Liangyoupeijiu and Hua-an 3 during photoinhibition and subsequent restoration[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2002, 44(11): 1297–1302.
- [23] 宋丽丽, 郭延平, 徐凯, 张良诚. 温州蜜柑叶片光合作用光抑制的保护机理[J]. *应用生态学报*, 2003, 14(1): 47–50.
- Song LL, Guo YP, Xu K, Zhang LC. Protective mechanism in photoinhibition of photosynthesis in *Citrus unshiu* leaves[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(1): 47–50.
- [24] 张雅君, 吴含玉, 张会金, 姜闯道. 夏季小花睡莲挺水叶光抑制加剧的机制[J]. *植物生理学报*, 2018, 54(1): 54–62.
- Zhang YJ, Wu HY, Zhang HJ, Jiang CD. Mechanism of photoinhibition in emerged leaf of *Nymphaea micrantha* Guill. & Perr. in summer[J]. *Plant Physiology Journal*, 2018, 54(1): 54–62.
- [25] Lin RC, Xu CC, Li LB, Kuang TY. Xanthophyll cycle and its molecular mechanism in photoprotection[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2002, 44(4): 379–383.
- [26] Endo T, Uebayashi N, Ishida S, Ikeuchi M, Sato F. Light energy allocation at PS II under field light conditions: How much energy is lost in NPQ-associated dissipation? [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2014, 81: 115–120.
- [27] Hendrickson L, Furbank RT, Chow WS. A simple alternative approach to assessing the fate of absorbed light energy using chlorophyll fluorescence [J]. *Photosynth Res*, 2004, 82(1): 73–81.
- [28] Niyogi KK, Grossman AR, Björkman O. *Arabidopsis* mutants define a central role for the xanthophyll cycle in the regulation of photosynthetic energy conversion[J]. *Plant Cell*, 1998, 10(7): 1121–1134.
- [29] Li X, Zhao W, Sun X, Huang H, Kong L, *et al.* Molecular cloning and characterization of violaxanthin de-epoxidase (CsVDE) in cucumber [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e64383.
- [30] 姜闯道, 高辉远, 邹琦, 蒋高明. 二硫苏糖醇处理导致大豆叶片两光系统间激发能分配失衡[J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2003, 29(6): 561–568.
- Jiang CD, Gao HY, Zou Q, Jiang GM. Imbalance in excited energy distribution between two photosystems induced by feeding dithiothreitol to soybean leaves [J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2003, 29(6): 561–568.
- [31] Mou S, Zhang X, Dong M, Fan X, Xu J, Cao S, *et al.* Photoprotection in the green tidal alga *Ulva prolifera*: role of LHCSR and PSBS proteins in response to high light stress[J]. *Plant Biol*, 2013, 15(6): 1033–1039.
- [32] 郑有飞, 赵泽, 吴荣军, 张金恩, 胡程达. 臭氧胁迫对冬小麦光响应能力及 PS II 光能吸收与利用的影响[J]. *生态学报*, 2010, 30(24): 6771–6780.
- Zheng YF, Zhao Z, Wu RJ, Zhang JN, Hu CD. Ozone stress on light response capacity and on the utilization of PS II absorbed light energy of winter wheat [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(24): 6771–6780.
- [33] 何勇, 符庆功, 朱祝军. 低温弱光对辣椒叶片光合作用、叶绿素荧光猝灭及光能分配的影响[J]. *核农学报*, 2013, 27(4): 479–486.
- He Y, Fu QG, Zhu ZJ. Effects of chilling under low irradiance on photosynthesis, chlorophyll fluorescence quenching and light allocation in pepper leaves [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2013, 27(4): 479–486.

(责任编辑: 周媛)