

# 不同温度对五味子叶片光系统 II 活性的影响

王 振 兴, 艾 军, 杨 义 明, 范 书 田, 秦 红 艳, 刘 迎 雪

(中国农业科学院 特产研究所, 吉林 长春 130112)

**摘 要:**以五味子品种“嫣红”为试材,采用植物效率仪 Pocket-PEA 研究了热胁迫处理对光系统活性的影响。结果表明:随着温度的升高,原初最大光化学效率( $F_v/F_m$ )和叶片捕获的激子将电子传递到电子传递链中  $QA^-$  下游电子受体的概率( $\phi_0$ )在 35~40℃ 的范围内并没有明显变化,当温度升高到 44℃ 和 48℃ 时,则显著下降, $\phi_0$  的下降说明电子传递链受体侧受到了严重的抑制。随着温度升高,相对可变荧光在 K 点和 J 点的值( $V_k$  和  $V_i$ )逐渐上升,但在 44℃ 和 48℃ 较对照呈显著上升。随着热胁迫时间的延长, $V_k$  和  $V_i$  逐渐升高,胁迫 5 min 后在 K 点和 J 点呈现双峰曲线,随胁迫时间延长  $V_k$  虽逐渐升高,但 K 点的峰逐渐消失,J 点的峰则逐渐凸显。说明高温引起电子传递链供体侧和受体侧受到伤害,但供体侧对高温更加敏感。

**关键词:**五味子;高温胁迫;光系统 II

**中图分类号:**R 282.710.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)14-0160-04

五味子 [*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill] 属木兰科五味子属多年生落叶木质藤本植物,主要分布于我国东北、朝鲜半岛、日本及俄罗斯远东地区,果实入药,中医学上认为五味子具有益气、滋肾、敛肺、止泻、安神等功效,可明显延长睡眠时间,对神经衰弱有特殊疗效,因此北五味子作为传统中药是我国东北的道地药材之一<sup>[1]</sup>。五味子果实除药用外还可用于酿酒和生产果汁及保健品,开发前景极为广阔。五味子的原生境多为半阴生环境,空气湿润,温度变化缓和,而在人工栽培条件下由于阳光直射,常使叶片温度过高,造成叶片伤害,影响植株的生长和正常开花结果。研究五味子叶片对不同温度处理的响应,对于揭示五味子叶片对温度条件的适应特性,促进栽培措施的改进等具有重要的意义。

近年来,快速叶绿素荧光诱导动力学曲线(O-J-I-P)已成为研究光合作用特别是原初光化学反应的最有力工具之一<sup>[2-5]</sup>,它以丰富而复杂的信息来反映光系统II(PSII)的原初光化学反应和光合机构状态的变化。源于O-J-I-P 动力学曲线的参数对环境胁迫尤其是高温胁迫非常敏感<sup>[6-8]</sup>,植物在高温环境中常常表现为光合作用下降,与光合作用相关酶的活性降低,光合电子传递受阻,严重时还会对放氧复合体、光系统II供体侧和受体侧

造成伤害,尤其是对放氧复合体的伤害更为严重,在快速叶绿素荧光诱导动力学曲线中常常表现为 K 点的出现<sup>[9]</sup>。前人研究认为,源于 O-J-I-P 的参数对环境胁迫的敏感性不同可能反映了 PSII 存在异质性<sup>[10-11]</sup>,如  $PI_{ABS}$  等参数较  $F_v/F_m$  有更显著的变化。该试验采用快速叶绿素荧光诱导动力学曲线方法研究不同高温处理对五味子叶片 PSII 的影响,以探明 PSII 反应中心以及电子传递链不同位点对高温的响应,进一步分析高温胁迫引起光合速率及产量下降的原因,为五味子栽培技术的改进提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试五味子品种为“嫣红”,选择长势中生,株高和树龄等相同的植株 3 株,每株选取大小、生长状况一致的向阳功能叶片为试验材料供备用。

### 1.2 试验方法

试验于 2011 年在中国农业科学院特产研究所五味子资源圃中进行。

**1.2.1 五味子叶片热胁迫温度梯度试验** 根据五味子叶片特性,在王梅等<sup>[12]</sup>方法基础上稍作改进。用打孔器在功能叶片上取直径 10 mm 的叶圆片,6 片一组,置于铺有湿润滤纸的小塑料袋中,分别在 25、35、40、44、48℃ 的恒温水浴中热胁迫 10 min。热胁迫后在室内 26℃ 下,立即暗适应,饱和激发光下测定叶绿素荧光参数。

**1.2.2 五味子叶片热胁迫时间梯度试验** 将五味子叶圆片分别置入 48℃ 的恒温水浴中热胁迫 0、5、10、20、40 min,热胁迫后在室内 26℃ 下,立即暗适应,饱和激发光下测定叶绿素荧光参数。

**1.2.3 JIP-test 分析** 根据 Strasser 等<sup>[3-4]</sup>的 JIP-test,对

**第一作者简介:**王振兴(1982-),男,硕士,研究实习员,研究方向为植物生理学研究。E-mail:zhenxinghd@yahoo.com.cn.

**责任作者:**艾军(1968-),男,研究员,硕士生导师,研究方向为果树生理生化研究。E-mail:aijun1005@163.com.

**基金项目:**吉林省科技厅科技成果转化补助资助项目(20125074);吉林省科技厅科技成果转化计划资助项目(20130305050);吉林省科技厅科技成果转化计划资助项目(20130305049)。

**收稿日期:**2014-04-08

获得的 OJIP 荧光诱导动力学曲线进行分析。主要得到以下参数:最大光化学效率  $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$ ;  $K$ 、 $J$ 、 $I$  点的相对可变荧光:  $V_K = (F_K - F_o)/(F_m - F_o)$ 、 $V_J = (F_J - F_o)/(F_m - F_o)$ 、 $V_I = (F_I - F_o)/(F_m - F_o)$ 、 $\Delta V_i = \Delta[F_i - F_o - (F_m - F_o)]$  以及叶片捕获的激子将电子传递到电子传递链中  $QA^-$  下游电子受体的概率:  $\phi_0 = (1/V_J)$ ; 单位面积有活性的反应中心的数目  $RC/CS = \phi_0 \cdot (V_J/M_o) \cdot (ABS/CS)$ ; 单位反应中心吸收:  $ABS/RC = M_o(1 - V_J)/(1/\phi_0)$ ; 捕获:  $TR_o/RC = M_o \cdot (1/V_J)$ 、用于电子传递:  $ET_o/RC = M_o \cdot (1/V_J) \cdot \phi_0$  和热耗散  $DI_o/RC = (ABC/RC) - (TR_o/RC)$  的能量; 以吸收光能为基础的光化学性能指数:  $PI_{ABS} = (RC/ABS)[\phi_0/(1 - \phi_0)]$ 。

### 1.3 数据分析

测定的数据采用 Microsoft Excel 2003 和 SAS 6.0 进行数据处理和统计分析, 结果取平均值  $\pm$  标准偏差

(SD), 差异显著水平取 0.01。

## 2 结果与分析

### 2.1 热胁迫对五味子叶片最大光化学效率( $F_v/F_m$ )的影响

从图 1A 可以看出,  $F_v/F_m$  随温度升高而降低, 在 25~40℃ 时, 变化不显著, 但当温度升高到 44℃ 和 48℃ 时,  $F_v/F_m$  有显著降低, 从图 1B 可以看出,  $F_v/F_m$  随着热胁迫时间的延长而降低, 在 48℃ 处理 0、5、10、20、40 min 的条件下,  $F_v/F_m$  较对照显著降低。

### 2.2 热胁迫对快速叶绿素荧光诱导动力学曲线的影响

用  $(F_m - F_o)$  标准化后得到相对可变荧光  $V_i$ , 再用各个处理减去对照得到  $\Delta V_i$  (图 2A、B)。从图 2A 可以看出, 随着温度的升高, 在 44℃ 时出现了  $K$  点和  $J$  点, 当温度升高到 48℃ 时  $K$  点和  $J$  点都相对升高, 但  $J$  点更加明显。从图 2B 可以看出, 随着胁迫时间的延长,  $\Delta V_i$  从双峰逐渐变成单峰曲线。

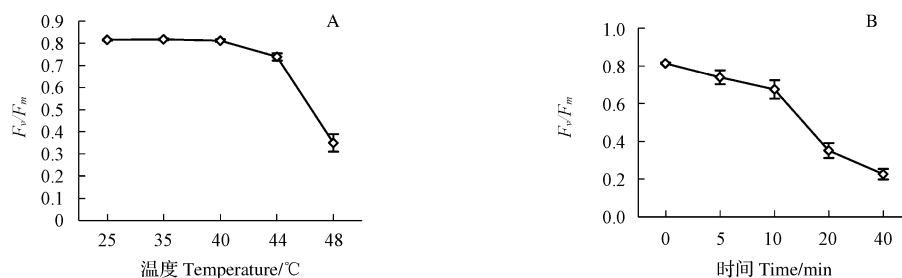


图 1 热胁迫温度和时间对五味子叶片  $F_v/F_m$  的影响

Fig. 1 Effect of heat stress temperature and time on  $F_v/F_m$  of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.

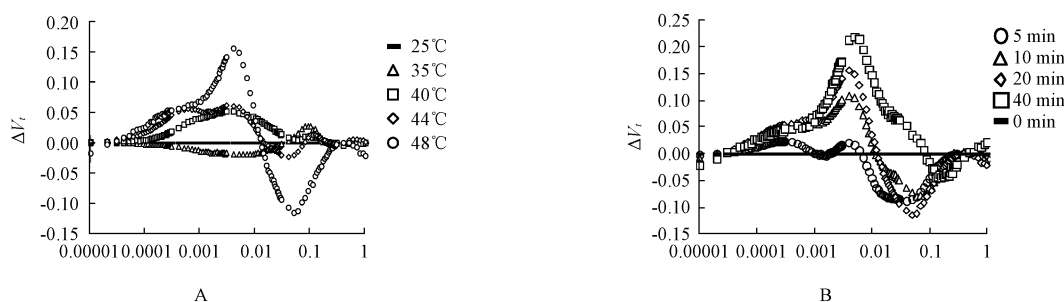


图 2 不同温度 and 不同处理时间下处理与对照相对荧光诱导动力学曲线差值

Fig. 2 The subtraction of relative variable fluorescence kinetics of leaves under 25℃ and 0 min from each of the kinetics of leaves under other temperature and time

随着温度的升高和胁迫时间的延长, 相对可变荧光在 300  $\mu s$  ( $V_K$ ) 和 2 ms ( $V_J$ ) 的值呈现逐渐升高, 叶片捕获的激子将电子传递到电子传递链中  $QA^-$  下游电子受体的概率 ( $\phi_0$ ) 随着温度升高和高温处理时间延长而逐渐降低 (图 3 A、B)。

### 2.3 高温胁迫对光合性能指数及 PSII 能量分配的影响

由表 1、2 可知, 受高温胁迫处理的叶片以吸收光能为基础的光合性能指数 ( $PI_{ABS}$ )、单位面积热耗散掉 ( $DI_o/CS$ )、反映反应中心关闭程度的  $dv/dt_o$  都随温度的升高及处理时间的延长而增加, 但单位面积用于电子传

递 ( $ET_o/CS$ ) 的能量和有活性的反应中心的数量 ( $RC/CS$ ) 则随温度的升高及处理时间的延长而下降。这说明胁迫导致叶片单位面积部分反应中心关闭、失活或裂解, 但在 48℃ 时,  $ET_o/CS$  显著降低和  $DI_o/CS$  的显著升高, 说明电子受体侧在更高温度下才可能受到严重的伤害, 电子传递受到抑制, 致使单位面积上激发能耗散增加<sup>[13]</sup>。同时使剩余的有活性的反应中心的负担加重, 迫使剩余的有活性的反应中心效率提高, 以更好地耗散电子传递链中的能量。

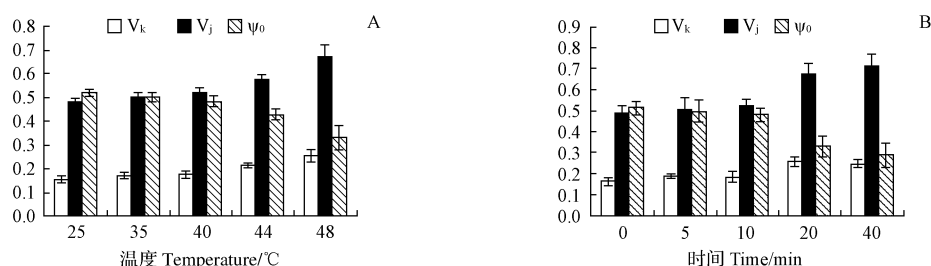


图3 不同温度和不同处理时间下 K 和 J 相对可变荧光值以及叶片捕获的激子将电子传递到电子传递链中  $QA^-$  下游电子受体的概率( $\psi_0$ )

Fig. 3 The relative variable fluorescence intensity at the K-step or J-step and the probability of that a trapped exciton moves an electron further than  $QA^-$  under different temperature and time

表1 不同胁迫时间对五味子叶片叶绿素荧光参数  $PI_{ABS}$ 、 $dv/dt_0$ 、 $ET_0/CS$ 、 $DI_0/CS$  和  $RC/CS$  的影响

Table 1 Effect of different stress time on fluorescence parameters of  $PI_{ABS}$ 、 $dv/dt_0$ 、 $ET_0/CS$ 、 $DI_0/CS$  and  $RC/CS$  of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.

温度 Temperature / °C	$PI_{ABS}$	$dv/dt_0$	$ET_0/CS$	$DI_0/CS$	$RC/CS$
25	2.98±0.38A	0.53±0.05C	189±9A	94±5C	329±18A
35	2.65±0.30BA	0.59±0.04C	188±11A	97±8C	319±17A
40	2.39±0.42B	0.60±0.06C	185±4A	103±9C	332±11A
44	1.02±0.16C	0.74±0.03B	155±8B	148±10B	284±14B
48	0.06±0.04D	0.87±0.09A	49±14C	296±16A	115±18C

表2 不同温度对五味子叶片叶绿素荧光参数  $PI_{ABS}$ 、 $dv/dt_0$ 、 $ET_0/CS$ 、 $DI_0/CS$  和  $RC/CS$  的影响

Table 2 Effect of different temperature on fluorescence parameters of  $PI_{ABS}$ 、 $dv/dt_0$ 、 $ET_0/CS$ 、 $DI_0/CS$  and  $RC/CS$  of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.

时间 Time/min	$PI_{ABS}$	$dv/dt_0$	$ET_0/CS$	$DI_0/CS$	$RC/CS$
0	2.78±0.52A	0.51±0.07B	190±12A	97±6D	326±19A
5	1.42±0.48B	0.64±0.03B	171±34BA	136±18C	272±18B
10	1.07±0.38B	0.68±0.12B	146±34B	157±27C	213±36C
20	0.07±0.04C	1.00±0.14A	49±14C	295±16B	115±18D
40	0.02±0.01C	1.05±0.18A	21±6C	260±20A	62±4E

### 3 讨论与结论

很多研究表明,电子传递链供体侧的放氧复合体对热处理特别敏感,在对大麦、苹果、碱蓬、小麦以及藻类的高温处理中<sup>[14-19]</sup>,都观察到 PSII 电子供体尤其是放氧复合体受到高温的抑制和损害,出现明显的 K 点,但 Tóth 等<sup>[20]</sup>研究表明,对大麦叶片短暂的热处理后,在室温中较长时间的恢复,K 点消失,也有研究表明,这可能跟不同的植物有关,如 Zhao 等<sup>[10]</sup>在研究蓝藻高温胁迫时,并没有发现 K 点的出现,认为这可能由于蓝藻较高等植物在同样胁迫下反应中心受到更严重的伤害而降

解。同时,高温处理的时间不同也会影响 K 相的出现,如有的研究处理时间多达 180 min,这必然会对放氧复合体造成伤害。在该研究中,对五味子叶片高温处理后,如果立即进行暗适应,电子供体侧受到抑制,可以观察到明显的 K 点,说明高温造成了放氧复合体的伤害。如果在室温下在常温水浴锅中恢复 1 h,则 K 点消失,但  $V_k$  仍会小幅升高(数据未显示)。

很多研究表明,用  $F_v/F_m$  来评价光系统活性对胁迫的反应往往是片面的,甚至是错误的<sup>[6,16,21]</sup>。Wen 等<sup>[16]</sup>认为  $F_v/F_m$  并不能对 PSII 的异质性提供直接的信息,也不能准确地揭示 PSII 活性的变化<sup>[3-4]</sup>,作为潜在的最大光化学效率,它仅仅反映了光能的捕获效率,而源于 JIP-test 的荧光参数对胁迫反应更敏感<sup>[16]</sup>,该研究结果表明,在同一温度不同胁迫时间下, $F_v/F_m$  呈现显著变化,但同一胁迫时间不同胁迫温度下,仅有 44℃ 和 48℃ 时, $F_v/F_m$  呈显著降低。Li 等<sup>[11]</sup>通过比较大豆叶片不同的荧光参数对热胁迫的反应,认为 PSII 存在异质性,电子供体侧较受体侧更容易受到高温的影响,同样的结果也在豌豆的高温胁迫中出现<sup>[22]</sup>。也有研究认为在热胁迫下 PS II 反应中心可以分成 2 个亚群,它们是由不同的 D1 蛋白组成的,PS II 反应中心对热胁迫反应的敏感性不同可能也是由不同的 D1 蛋白而引起的<sup>[10]</sup>。该研究的结果表明,随着温度的升高及胁迫时间的延长,放氧复合体最先受到伤害,呈现出明显的双峰曲线,但随着胁迫的进一步加剧,逐渐由双峰曲线转变为单峰曲线,电子受体侧受到严重的抑制这主要归因于  $QA^-$  的积累和 PQ 库氧化还原反应受限<sup>[23]</sup>。

在 25~48℃,随着温度的升高,电子传递链的供体侧和受体侧对热胁迫的敏感度不同,表明 PSII 供体侧较受体侧对高温更敏感。当热胁迫温度升高到 44℃ 以上和胁迫时间超过 10 min,该试验条件下光合器官受到的伤害将不可逆转,表明在五味子栽培过程中,要根据当地的栽培条件和栽培环境,采取相应的栽培措施,使五味子叶片温度

控制在热胁迫温度范围以下,避免长时间的热胁迫。

### 参考文献

- [1] 艾军. 五味子花芽分化及生理机制研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2007.
- [2] Strasser B J, Strasser R J. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions; the JIP test. -In: Mathis P (ed) Photosynthesis; from light to biosphere[R]. Kluwer, Dordrecht, 1995:97-98.
- [3] Strasser B J. Donor side capacity of Photosystem II probed by chlorophyll a fluorescence transients[J]. Photosynthesis Research, 1997, 52:147-155.
- [4] Strasser R J, Srivastava A, Tsimilli-Michael M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: Yunus M, Pathre U, Mohanty P (eds) Probing photosynthesis: mechanism, regulation and adaptation[R]. Taylor and Francis, Bristol, 2000:445-483.
- [5] Oukarroum A, Schansker G, Strasser R J. Drought stress effects on photosystem I content and photosystem II thermotolerance analyzed using Chl a fluorescence kinetics in barley varieties differing in their drought tolerance[J]. Physiologia Plantarum, 2009, 137:188-199.
- [6] Tóth Z Z, Schansker G, Gara G. Photosynthetic electron transport activity in heat-treated barley leaves; The role of internal alternative electron donors to photosystem II[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2007, 1767:295-305.
- [7] Jiang C D, Gao H Y, Zou Q. Leaf orientation, photorespiration and xanthophyll cycle protect young soybean leaves against high irradiance in field[J]. Environmental and Experimental Botany, 2006, 55:87-96.
- [8] van Heerden P D R, Swanepoel J W, Krüger G H J. Modulation of photosynthesis by drought in two desert scrub species exhibiting  $C_3$ -mode  $CO_2$  assimilation[J]. Environmental and Experimental Botany, 2007, 61(2):124-136.
- [9] Georgieva K, Tsonev T, Velikova V, et al. Photosynthetic activity during high temperature of pea plants[J]. Journal of Plant Physiology, 2000, 157:169-176.
- [10] Zhao B, Wang J, Gong H, et al. Effects of heat stress on PSII photochemistry in a cyanobacterium *Spirulina platensis* [J]. Plant Science, 2008, 175:556-564.
- [11] Li P M, Cheng L L, Gao H Y. Heterogeneous behavior of PSII in soybean (*Glycine max*) leaves with identical PSII photochemistry efficiency under different high temperature treatments[J]. Journal of Plant Physiology, 2009, 166:1607-1615.
- [12] 王梅, 高志奎, 黄瑞虹, 等. 茄子光系统II的热胁迫特性[J]. 应用生态学报, 2007, 18(1):63-68.
- [13] 姜闯道. 植物光合作用中的激发能分配及光破坏防御机制[M]. 泰安:山东农业大学出版社, 2003:54.
- [14] Oukarroum A, Madidi S E, Schansker G, et al. Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering[J]. Environmental and Experimental Botany, 2007, 60(3):438-446.
- [15] Chen L S, Li P, Cheng L. Comparison of thermotolerance of sun-exposed peel and shaded peel of 'Fuji' apple[J]. Environmental and Experimental Botany, 2009, 66(1):110-116.
- [16] Wen X, Qiu N, Lu Q, et al. Enhanced thermotolerance of photosystem II in salt-adapted plants of the halophyte *Artemisia anethifolia* [J]. Planta, 2005, 220(3):486-497.
- [17] Mathur S, Jajoo A, Mehta P. Analysis of elevated temperature-induced inhibition of photosystem II using chlorophyll a fluorescence induction kinetics in wheat leaves (*Triticum aestivum*) [J]. Plant Biology, 2010, 13:1-6.
- [18] Lu C, Zhang J. Heat-induced multiple effects on PSII in wheat plants [J]. Plant Physiology, 2000, 156:259-265.
- [19] Strasser B J. Donor side capacity of photosystem II probed by chlorophyll a fluorescence transients[J]. Photosynthesis Research, 1997, 52(2):147-155.
- [20] Tóth S Z, Schansker G, Kissimon J, et al. Biophysical studies of photosystem II-related recovery processes after a heat pulse in barley seedlings (*Hordeum vulgare* L.) [J]. Journal of Plant Physiology, 2005, 162(2):181-194.
- [21] Lu C, Zhang J. Effects of water stress on photosystem II photochemistry and its thermostability in wheat plants[J]. Journal of Experimental Botany, 1999, 50:1199-1206.
- [22] Srivastava A, Guissé B, Greppin H. Regulation of antenna structure and electron transport in Photosystem II of *Pisum sativum* under elevated temperature probed by the fast polyphasic chlorophyll a fluorescence transient: OKJIP-Biochimica et Biophysica Acta, 1997, 1320:95-106.
- [23] Govindje E. Sixty-three years since Kautsky; Chlorophyll a Fluorescence [J]. Australian Journal of Plant Physiology, 2002, 29:131-160.

## Effect of Different Temperature Treatments on Photosystem II in Leaves of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.

WANG Zhen-xing, AI Jun, YANG Yi-ming, FAN Shu-tian, QIN Hong-yan, LIU Ying-xue

(Institute of Special Wild Economic Animal and Plant Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun, Jilin 130112)

**Abstract:** The effect of heat stress on photosynthetic activities of photosystem in leaves of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 'Yanhong' was studied by a portable fluorometer (PEA-Plant Efficiency Analyser). The results showed that  $F_v/F_m$  and  $\phi_b$  had not significantly changed at 35~40°C, but at 44°C and 48°C there was a significant decrease. It indicated that the acceptor side was inhibited severely. With the increasing of temperature, the relative variable fluorescence  $V_k$  and  $V_j$  increased gradually and became significantly higher at 44°C and 48°C. When time of heat stress increased from 5 min to 40 min,  $V_k$  and  $V_j$  increased gradually, bimodal curve was observed at K point and J point after heat stress was kept in 5 min. Although  $V_k$  increased gradually as heat stress time prolonged, K point disappeared gradually and J peak became more prominent. Above all, both the donor side and the acceptor side of PS II were damaged, especially the donor side, were more sensitive to heat stress.

**Key words:** *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.; heat stress; photosystem II