

光氧化条件下碳代谢中间产物与光合电子传递 对 PSII 光化学活性的调节作用

林植芳, 彭长连, 林桂珠

(中国科学院华南植物园, 广东数字植物园重点实验室, 广东广州 510650)

摘要: 在 MV 和强光的光氧化条件下研究外加光合碳代谢中间产物、光呼吸 C_2 酸和光合电子传递抑制剂等对菠菜叶绿体 PSII 光化学活性的调节作用。结果表明, 光氧化条件下外加“RuBP 再生系统”和乙醇酸钠可提高 qP 和 Φ_{PSII} , 而 R5P、DHAP 和 HCO_3^- 可提高 qN , 显示其对光氧化下叶绿体 PSII 活性有一定程度的保护作用。其他外加化合物 3-PGA、3-GAP、HPMS、DCMU、DBMIB、Ant A、短杆菌肽 D 等则对以叶绿素荧光参数表示的光化学活性和氧电极测定的全链电子传递速率表现抑制效应。据此认为在叶绿体水平上阻断或改变光合电子流的流向, 更改光合碳还原和光呼吸代谢物浓度, 皆可直接或间接影响光氧化下 PSII 的光化学活性, 其作用因不同化合物而异。

关键词: 菠菜叶绿体; 光氧化; PSII 活性; 碳代谢中间产物; 电子传递

中图分类号: Q945.78

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2005)01-0001-07

The Modulation of PSII Photochemical Activity by Carbon Metabolic Intermediates and Photosynthetic Electron Transport under Photooxidation Conditions

LIN Zhi-fang, PENG Chang-lian, LIN Gui-zhu

(South China Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences, Guangdong Key
Laboratory of Digital Botanical Garden, Guangzhou 510650, China)

Abstract: PSII photochemical activity and electron transport rate of whole chain (PSII+PSI) in spinach chloroplasts were measured under photooxidation (MV plus strong light) with or without addition of various exogenous photosynthetic carbon metabolic intermediates, Na-glycolate and inhibitors of photosynthetic electron transport. The results indicated that under photooxidation condition, the addition of “RuBP regeneration system” and sodium glycolate increased qP and Φ_{PSII} , while R5P, DHAP and HCO_3^- increased qN , compared to nonphoto-oxidative control. Other chemicals, 3-PGA, 3-GAP, HPMS, DCMU, DBMIB, Ant A and gramicidin D all showed an inhibitory effect on PSII photochemical activity (expressed by chlorophyll fluorescence parameters) and electron transport rate of PSII+PSI (determined by oxygen electrode). It is proposed that carbon metabolic intermediate could act as a physiological regulator to modulate PSII photochemical activity. Alteration or blocking the flux /

收稿日期: 2004-03-22 接受日期: 2004-05-11

基金项目: 国家自然科学基金(39920019, 30270125)资助

缩写 Abbreviation: MV, 甲基紫精 Methyl viologen; RuBP, 1,5-二磷酸核酮糖 Ribulose -1,5-biphosphate; Rubisco, RuBP 羧化 / 加氧酶 RuBP carboxylase/oxygenase; 3-PGA, 3-磷酸甘油酸 3-phosphoglyceric acid; 3-GAP, 甘油醛-3-磷酸 Glyceraldehyde-3-phosphate; R5P, 核酮糖-5-磷酸 Ribulose-5-phosphate; DHAP, 磷酸二羟丙酮 Phosphodihydroxyacetone; HPMS, α -羟基吡啶甲烷磺酸 α -Hydroxypyridinemethane sulphonate; DCMU, 二甲苯二甲脲 3,4-dichlorophenyl-1,1-dimethylurea; DBMIB, 2,5-二溴百里香醌 2,5-dibromothymoquinone; Ant A, 抗霉素 A Antimycin A; Fv/Fm, PSII 原初光化学效率 Initial photochemical efficiency of PS II; Φ_{PSII} , PS II 非环式电子传递的量子效率 PS II non-cyclic electron transport quantum efficiency; qP , 叶绿素荧光光化学猝灭 Photochemical quenching of chlorophyll fluorescence; qN , 非光化学猝灭 Nonphotochemical quenching.

direction of photosynthetic electron transport, and changing the concentration of metabolites in Calvin cycle and photorespiratory C_2 acid cycle would cause a direct or indirect effect on PSII activity under photooxidation condition. The effect varied with different chemicals.

Key words: Spinach chloroplast; Photooxidation; PSII activity; Carbon metabolic intermediate; Electron transport

植物细胞的氧化逆境是由高光强及其他限制光合作用的胁迫而导致植物伤害的重要因子^[1]。叶绿体是细胞中产生活性氧的主要场所, 又是受活性氧损伤的原初靶子。PSII 是光合机构中对外界环境因子变化最敏感的部位^[2]。轻度胁迫引起 PSII 活性的下调和可逆失活, 严重的胁迫则使 PSII 功能和结构受到伤害^[3]。不论是 PSII 的短期失活或较长期的伤害皆可降低其光化学效率和叶片的光合速率, 缩短高效的光合期, 不利于植物的光合生产。面对自然条件下多变的环境, 植物体内相应产生了一系列应变和调节机制, 如保护物质的积累合成^[4]; 脱毒作用和损伤的修复^[2,5]; 形态、分子结构的改变或构象的修饰^[6]; 代谢的调节^[7,8]等。近 20 年来不少研究利用逆境条件从不同角度探讨 PSII 失活和损伤的表现及其机理, 但从全面调控方面进行研究的报道较少。Foyer 等提出了相对于呼吸控制的“光合控制”的概念, 但主要着重于光合电子传递的调节^[9], 而系统地涉及电子传递-碳代谢中间产物-PSII 活性之间关系, 尤其是在光氧化条件下的研究更有限。我们曾初步证明在叶片水平光氧化引起 PSII 失活, 蛋白构象变化, 色素氧化降解, 质膜损伤, 电子传递降低^[10,11]。本文利用光合碳代谢中间产物, 光合电子传递抑制剂等探讨其对光氧化与非光氧化条件下叶绿体 PSII 活性的影响, 为进一步阐明光氧化修饰的叶绿体基质的代谢调控与类囊体膜光反应之间的关系及“光合控制”机理提供依据。

1 材料和方法

叶绿体分离提取 新鲜菠菜 (*Spinacia oleracea*) 购自本地市场, 取顶端 3-5 片成熟叶为材料, 参照叶济宇和赵海英的方法^[12]制备叶绿体。研磨液含 Tris-HCl (pH 7.6) 50 mmol/L, 蔗糖 0.35 mol/L, NaCl 10 mmol/L。叶绿体悬浮液含 HEPES (pH 7.6) 50 mol/L, 蔗糖 0.35 mol/L, NaCl 10 mmol/L, EDTA 2 mmol/L, MgCl₂ 1 mmol/L。

光氧化及外源化合物处理 叶绿体 (210 $\mu\text{g Chl ml}^{-1}$) 置于培养皿中, 加入甲基紫精 (methyl viologen, MV) 50 $\mu\text{mol/L}$ 和不同化合物(光合电子传递抑制剂, 光合磷酸化解偶联剂, 光合碳代谢中间产物等)至所需最终浓度(化合物种类及具体浓度见各图表), 1 300-1 500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 光下处理 20-25 min 后, 立即进行下述测定。

全链(PSI+PSII)电子传递速率($\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{MV}$) 反应系统为 Tris-HCl 50 mmol/L (pH 7.8), NaCl 10 mmol/L, NaN₃ 2 mol/L, NH₄Cl 5 mmol/L, MV 0.1 mmol/L 及含叶绿素 42 μg 的叶绿体。25 $^{\circ}\text{C}$, 700 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 光下用氧电极 (Yellow Springs Inst. Co)测定吸氧速率。

Chl 荧光 用调制叶绿素荧光仪(PAM 101-103, Germany)测定, 弱测量光 0.06 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、光化光 100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 饱和脉冲 5 000 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 。荧光参数 F_v/F_m , F_v'/F_m' , qP , qN , Φ_{PSII} 的计算同前文^[13]。

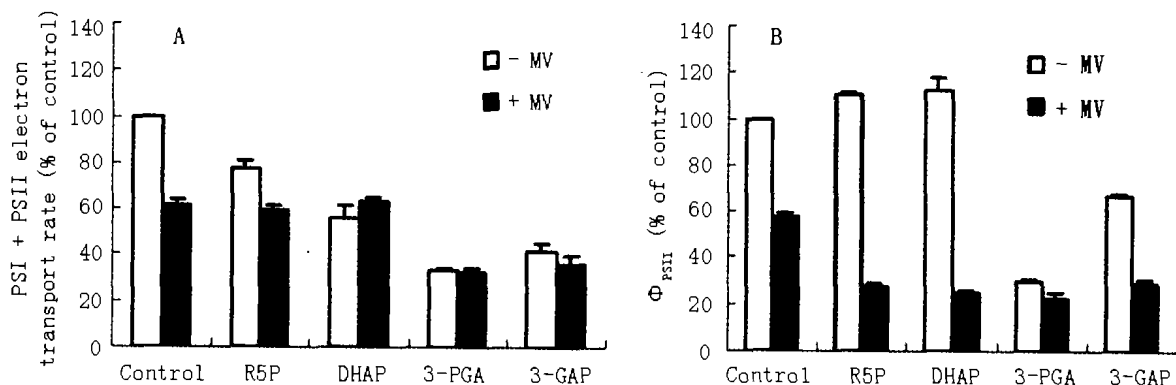


图 1 光合碳代谢中间产物对光氧化菠菜叶绿体 PS I + PS II 电子传递速率和 PS II 电子传递量子效率的影响

Fig. 1 Effects of photosynthetic carbon metabolic intermediates on the electron transport rate (PS I + PS II) and

PS II quantum efficiency of electron transport (Φ_{PSII}) in spinach chloroplasts under photooxidation.

R5P, DHAP, 3-PGA: 5 mmol/L; 3-GAP: 20 mmol/L; MV: 50 $\mu\text{mol/L}$; Light: 1 300 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 20 min; Chloroplasts: 210 $\mu\text{g Chl ml}^{-1}$.

2 实验结果

2.1 光合碳代谢中间产物对光氧化下全链电子传递和 PSII 光化学活性的影响

图 1 和图 2 显示外加光合碳代谢中间产物 5-磷酸核酮糖(R5P), 磷酸二羟丙酮(DHAP), 3-磷酸甘油酸(3-PGA)和 3-磷酸甘油醛(3-GAP)在非光氧化(-MV) 和光氧化(MV 处理) 条件下全链电子传递(PSI+PSII)速率与 PSII 光化学活性(Fv/Fm, qP, qN, Φ_{PSII})的变化。以不加 MV 及代谢物的叶绿体的电子传递速率($75.4 \pm 2.9 \mu\text{mol O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ Chl h}^{-1}$)为 100%, 单加 4 种碳代谢中间产物后, 与对照相比, 电子传递速率降至 34%–77% (图 1A)。而经 MV 预先作光氧化处理的叶绿体, 其电子传递速率降低更为显著(除加 DHAP 者之外)。这表明提高 PGA, 磷酸三糖(3-GAP)和磷酸戊糖(R5P)的浓度不利于光合电子传递速率的正常运行。

Φ_{PSII} 是从 Chl 荧光测定而计算的 PSII 电子传递的量子效率。图 1B 中 100% 的 Φ_{PSII} 值为 0.11 ± 0 , 单加 R5P 和 DHAP 的叶绿体 Φ_{PSII} 比对照增加 10%–12%, 而加 3-PGA 的 Φ_{PSII} 却低于对照。光氧化条件下加入碳代谢中间产物, Φ_{PSII} 只为对照的 22%–29%, 下降的幅度明显高于图 1A 用电极直接测定的全链电子传递速率下降的幅度, 表明全链光合电子传递能力降低与较低的 PSII 电子传递效率有关。

与全链电子传递速率的被抑制类似, 碳代谢中间产物在非光氧化条件下明显抑制了 PSII 的原初光化学效率 Fv/Fm。但在光氧化条件下, Fv/Fm 比非光氧化条件略有增大(R5P, DHAP, 3-PGA)或相近(3-GAP) (图 2A)。

光化学猝灭 qP 的变化趋势(图 2B)近似于 Φ_{PSII} 。R5P, DHAP, 3-GAP 在非光氧化条件下提高 qP, 光氧化条件下加 4 种代谢中间产物的 qP 比不加的低得多。可见, 这几个碳代谢中间产物在正常条件下有利于保持较多的 PSII 开放中心数目, 促进光能的传递与转换, 但在光氧化条件下却失去其有效性。

与 qP 的变化不同, R5P, DHAP 和 3-GAP 强烈刺激非光化学猝灭 qN 的形成, 尤以光氧化条件下更高, 达到单照光叶绿体的 1.8–2.5 倍(图 2C)。qN 的提高是光合机构在强光和其他逆境下安全耗散过剩激发能的保护机制^[14]。因此, 光氧化条件下外源 R5P, DHAP 和 3-GAP 诱导叶绿体 qN 大幅度提高

并伴随 qP, Φ_{PSII} , 全链电子传递速率的下降, 可能是光合作用下调的保护性效应。至于 3-PGA 显示的负效应及其所测各参数的相对值最低, 其原因不明。有报道指出光下叶绿体基质中的 3-PGA 浓度在单磷酸化的碳代谢物中最高, 可高达 12 mmol/L, 并对失活型的 Rubisco 有相当高的亲和力^[15], 因而, 是否因叶绿体内的 PGA 原来已处于较高浓度, 继续提高浓度反而会产生负的调节效应? 有待继续探讨。

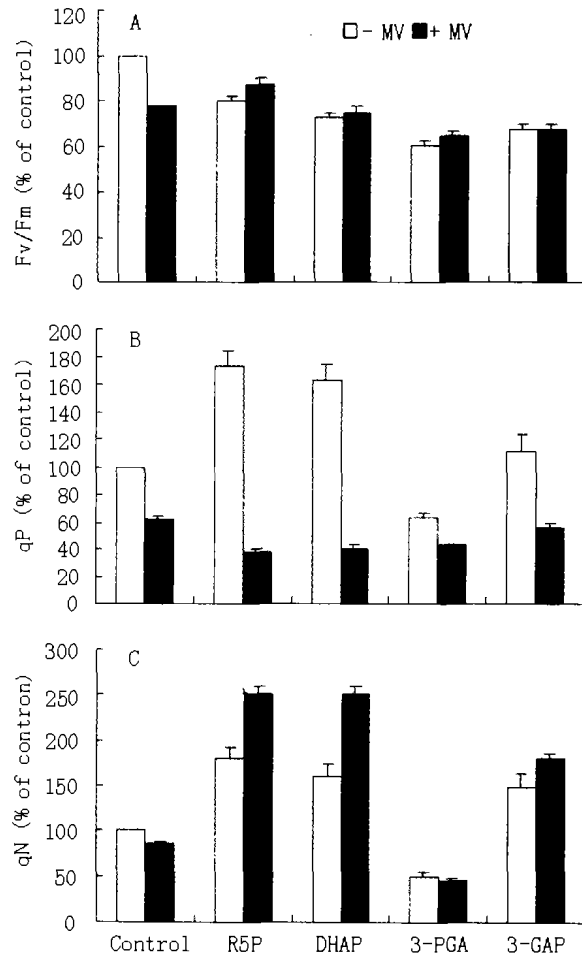


图 2 光合碳代谢中间产物对光氧化下菠菜叶绿体 Fv/Fm, qP 和 qN 的影响

Fig. 2 Effects of photosynthetic carbon metabolic intermediates on Fv/Fm, qP and qN in spinach chloroplasts under photooxidation.

实验条件与 Fig. 1 相同。Experimental conditions are the same as in Fig. 1. 100% of Fv/Fm, qP and qN are 0.45 ± 0.01 , 0.26 ± 0.02 and 0.19 ± 0.01 , respectively.

2.2 光合碳同化底物对光氧化下叶绿体 PSII 活性和全链电子传递的影响

RuBP 和 HCO_3^- 是光合固定 CO_2 反应的底物与碳源。从表 1 看出, 向叶绿体悬浮液中加入“RuBP 再生系统”的组分(R5P+ 磷酸肌酸 + 磷酸肌酸激酶)后, 在有或无光氧化条件下皆抑制 $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{MV}$ (PSI+PSII) 的电子传递, 降低 Fv/Fm 和 qN 值, 但明显提

高 qP 和 Φ_{PSII} 的水平, 尤以光氧化下 qP 提高得更显著。 qP 和 Φ_{PSII} 水平增高及 qN 值的降低表明 PSII 处于活跃的功能状态, 大部分光能可通过 PSII 反应中心而转换和传递, 即 RuBP 再生系统可增强 PSII 的活性。然而, 全链电子传递速率的变化与 PSII 活性的变化不同, 外源 RuBP 再生系统对全电子传递速率产生负效应。这种不一致性看来不能归因于 PSII 活性的改变, 而可能是受 PSI 的电子传递受体如 $NADP^+$ 水平和 CO_2 供应不足的限制, 需要进一步确证。

非光氧化条件下提高 HCO_3^- 浓度既相对增高 qP 和 Φ_{PSII} , 又提高 qN , 而全链电子传递速率和 Fv/Fm 只有对照的 70% 左右。光氧化下 HCO_3^- 的存在却抑制了全链电子传递速率, Fv/Fm , qP 和 Φ_{PSII} , 并导致 qN 急剧增大 2.2 倍(与未加 HCO_3^- 相比)和 70.7%(与未加 MV 相比)。

表 1 RuBP 再生系统和 HCO_3^- 对光氧化下菠菜叶绿体电子传递速率(PSI+PSII)和 PSII 光化学参数的影响

Table 1 Effects of RuBP regeneration system and HCO_3^- on electron transport rate (PSI+PSII) and photochemical parameters of PSII in spinach chloroplasts under photooxidation

参数 Parameters*	RuBP 再生系统 RuBP regeneration system		HCO_3^- (5 mmol/L)	
	- MV	+ MV	- MV	+ MV
$H_2O \rightarrow MV$	73.8±3.2	53.1±2.9	70.3±0.5	37.3±0
Fv/Fm	90.0±4.0	74.0±2.0	72.5±2.5	62.5±2.5
Φ_{PSII}	127.3±0.9	127.3±1.0	112.5±1.3	27.1±3.3
qP	127.6±0.3	151.7±3.4	162.5±4.1	50.0±4.5
qN	48.6±1.3	43.2±2.7	180.0±10.0	320.0±20.0

MV: 50 $\mu\text{mol/L}$; Light: 1 500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 25 min; RuBP regeneration system: RSP 5 mmol/L, creatine phosphate 10 mmol/L, creatine phosphate kinase 5 units; chloroplasts: 210 $\mu\text{g Chl ml}^{-1}$.

表中的数据皆为相对值 (%) Data in Table 1 were relative % to non-addition control. The 100% of electron transport rate, Fv/Fm , Φ_{PSII} , qP and qN are 84.4±3.6 $\mu\text{mol O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ Chl h}^{-1}$, 0.50±0.01, 0.13±0.01, 0.29±0.01, and 0.37, respectively.

2.3 光合电子传递抑制剂和光合磷酸化解偶联剂对光氧化下叶绿体的 Fv/Fm 和 Fv'/Fm' 的影响

非环式光合电子传递抑制剂 DCMU 结合于 PSII 的 Q_B 位点, 抑制电子流通过 PSII 反应中心的次生电子受体 Q_B , 导致反应中心关闭。另一抑制剂 DBMIB 则抑制 PQ 和 $Cytb_6$ 之间的电子传递, 但不影响 PSII 反应中心的活性^[13]。表 2 比较了光氧化与非光氧化条件下 DCMU 和 DBMIB 对 PSII 光化学效率的影响。可以看出, 在两者的浓度皆为 50 $\mu\text{mol/L}$ 时非光氧化条件使 Fv/Fm 皆有所提高,

而在光氧化条件下则反之。未加抑制剂的对照在光氧化条件下的 Fv/Fm 降低了约 46%, 其下降幅度比加抑制剂的大。

Ant A 是一种有效的环式电子流抑制剂和高能态猝灭剂, 也是氧化还原反应的抑制剂^[13]。用 Ant A 阻断环式电子流之后, 光氧化下的 Fv/Fm 降低 16%。Ant A 对 Fv/Fm 的影响与 DCMU 和 DBMIB 的作用趋势相似。光合磷酸化解偶联剂短杆菌肽 D (Gramicidin D) 在非光氧化条件下提高 Fv/Fm , 光氧化条件下则降低 Fv/Fm , 其效应与光合电子传递抑制剂一致(表 2)。

Fv'/Fm' 反映在给定的光强下 PSII 开放中心的光化学效率, Fv'/Fm' 的变化是 PSII 通过可逆的非光化学猝灭和光抑制失活 PSII 两者共同调节的结果^[16]。在正常光照条件下, DCMU 提高 Fv'/Fm' , DBMIB 对 Fv'/Fm' 没有影响, Ant A、短杆菌肽 D 降低 Fv'/Fm' 。光氧化下经不同处理的叶绿体的 Fv'/Fm' 除加短杆菌肽 D 者之外皆明显降低(表 2), 其降幅高于暗下测定的 Fv/Fm 。这些结果表明阻断 PSII 的非环式电子传递或围绕 PSI 的环式电子流, 或使光合磷酸化反应解偶联而抑制 ATP 的形成, 在正常条件下可提高处于氧化态的 PSII 开放中心的光化学效率 Fv/Fm , 而对处于光照下 PSII 开放中心的真正光化学效率 Fv'/Fm' 的影响则因不同试剂而有一定的差别。

表 2 光合电子传递抑制剂和光合磷酸化解偶联剂对光氧化下菠菜叶绿体 Fv/Fm 和 Fv'/Fm' 的影响

Table 2 Effects of inhibitors of photosynthetic electron transport and photophosphorylation uncouplers on Fv/Fm and Fv'/Fm' in spinach chloroplasts under photooxidation

处理 Treatment	Fv/Fm (% of control)		Fv'/Fm' (% of control)	
	- MV	+ MV	- MV	+ MV
Control	100.0	57.8±4.0	100.0	96.7±2.9
DCMU (50 $\mu\text{mol/L}$)	102.3±2.5	85.6±2.3	120.3±6.7	70.2±3.9
DBMIB (50 $\mu\text{mol/L}$)	108.4±2.3	93.5±2.3	100.0±5.7	69.6±4.1
Ant A (18 $\mu\text{mol/L}$)	110.0±2.8	84.2±3.8	97.1±4.3	79.6±4.4
Gramicidin D (10 $\mu\text{g ml}^{-1}$)	107.7±2.5	50.9±3.5	88.6±2.5	91.0±2.4

100% Fv/Fm and Fv'/Fm' are 0.645±0.066 and 0.457±0.049, respectively. MV: 50 $\mu\text{mol/L}$, Light: 1 300 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 20 min.

2.4 光呼吸 C_2 酸代谢对光氧化下叶绿体光合电子传递和 PSII 光化学活性的影响

光呼吸在调节 Calvin 碳还原环与防御光抑制中具有重要的作用^[18,19], 但直接利用外源光呼吸 C_2

酸代谢物调控光合电子传递和 PSII 活性的研究甚少。图 3 比较非光氧化与光氧化下光呼吸 C_2 酸乙醇酸钠(Na-glycolate)和抑制剂 HPMS(α -羟基吡啶甲烷磺酸, α -Hydroxy-pyridinemethane sulphonate)诱导全链光合电子传递速率及 Chl 荧光参数的变化。非光氧化条件下加入外源的光呼吸底物乙醇酸钠或光呼吸抑制 HPMS 皆对叶绿体全链电子传递速

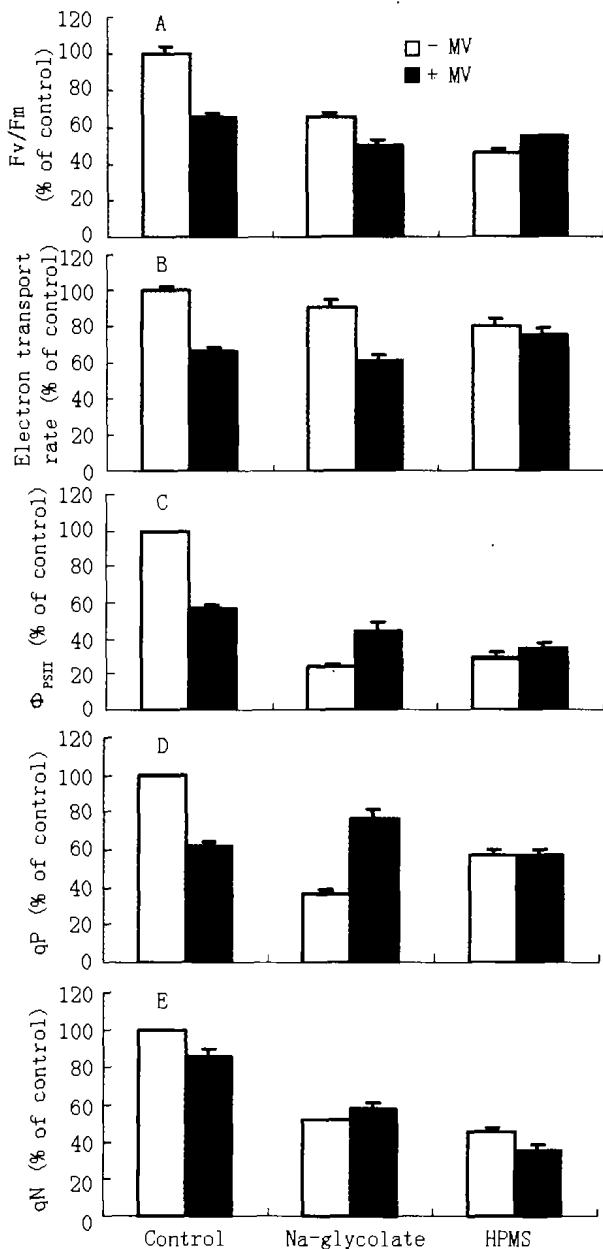


图 3 乙醇酸钠和 HPMS 对光氧化下菠菜叶绿体的电子传递速率(PSI+PSII)和 PSII 光化学参数的影响

Fig. 3 Effects of Na-glycolate and hydroxypyridinemethane sulphonate (HPMS) on electron transport rate (PSI+PSII) and photochemical parameters of PSII in spinach chloroplasts under photooxidation

MV: 50 $\mu\text{mol/L}$; Light: 1 300 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 20 min; Na-glycolate: 3 mmol/L; HPMS: 2 mmol/L. 100% of electron transport rate, Fv/Fm, Φ_{PSII} , qP and qN are $87.1 \pm 2.3 \mu\text{mol O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ Chl h}^{-1}$; 0.48 ± 0.01 , 0.10 ± 0.02 , 0.27 ± 0.02 , and 0.29 ± 0.01 , respectively.

率, Fv/Fm, qP, Φ_{PSII} 和 qN 显示抑制效应。光氧化下对照和加入这两种化合物的上述生理参数同样受到抑制,只是在有乙醇酸钠下, qP、 Φ_{PSII} 和 qN 的相对水平高于非光氧化条件,与 HPMS 抑制 C_2 酸环运转的反应不同。可见, HPMS 抑制光呼吸而减少光合电子向光呼吸途径的分配将影响强光和光氧化条件下 PSII 的功能,导致 PSII 的失活。增加光呼吸底物则在光氧化下对 PSII 光化学活性产生一定的保护作用。

3 讨论

MV 作为 PSI 电子传递到 O_2 的有效人工次生电子受体,是细胞内产生氧化逆境的促进剂,常被广泛用于研究 O_2^- 介导的植物氧化伤害^[1,10],并作为鉴定不同植物抗氧化力的筛选指标之一。我们以前直接用活性氧 H_2O_2 , $\text{OH}\cdot$ 和 $^1\text{O}_2$ 处理黄瓜叶绿体,证明其可抑制 PSII 电子传递 ($\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{DCPIP}$) 活性 34%–52%^[11]。本文证明在 MV 介导的光氧化条件下,叶绿体的全链电子传递 ($\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{MV}$) 活性和 PSII 的光化学反应活性皆可受到光合碳代谢底物和中间产物、光呼吸代谢和光合电子传递抑制剂等的调控。除了 RuBP 再生系统可提高 qP 和 Φ_{PSII} , R5P、DHAP 和 HCO_3^- 提高 qN, 乙醇酸钠提高 qP、qN 和 Φ_{PSII} , 以及 DHAP 略为提高全链电子传递速率之外,其他外加化合物皆显示对所测定的叶绿素荧光参数和电子传递活性的负效应。这种抑制或刺激作用是光合碳代谢,光呼吸代谢,PSII 光化学活性和电子传递之间相互作用的综合结果。推测出现抑制作用的原因有两个方面,一是外加化合物改变碳代谢途径不同组分之间的比例,或影响光合电子传递的正常运行,从而导致光化学反应和碳代谢之间的不协调,另一方面是由于外加较高浓度的 MV 引起大量的 O_2^- 产生和积累而造成对光系统和光合碳还原环(PCR 环)酶类的氧化损伤之故。

叶绿体的光反应和暗反应是光合作用中紧密衔接而相互作用的分过程。已知光合作用的终产物蔗糖和淀粉的积累可反馈抑制光合速率,提高 qN; 用低 O_2 和高 CO_2 浓度诱导菜豆叶片产生光合反馈抑制时,也出现明显的 qP、电子传递速率和 RuBP 利用率下降及 qN 上升的现象^[20]。PGA 和磷酸糖类 DHAP、R5P 和 RuBP 是光合碳还原环(PCR)的重要组成部分,它们皆可结合于 Rubisco 未被氨甲酰化的位点而妨碍其活化,也可结合于其氨甲酰化的位点而抑制其催化^[21]。PGA 和部分 RuBP 还可与叶绿体

基质的 Mg^{2+} 螯合而降低 Rubisco 催化的有效性。而 Rubisco 的活化与 ATP 浓度有强相关性, 光下 ATP 水解形成附加的膜内酸化作用可提高光化学猝灭^[22]。因此, 本文所用的 RuBP 再生系统对光合电子传递和 PSII 活性的效应可能包括系统中的产物 RuBP 及未参与反应的 R5P 和 ATP (由磷酸肌酸和磷酸肌酸激酶反应形成) 的复杂综合作用的结果。并由此改变 RuBP 与其他磷酸化糖类的比例, 及 Rubisco 活性, 进而影响光系统活性。值得注意的是加入再生 RuBP 系统对光氧化逆境下有效地维持 PSII 反应中心活性显示了良好的效果。

DHAP, R5P 和 3-GAP 对非光氧化条件下的 qP 和 qN 同时显示一定的正效应, 这显然有异于通常的 qP 和 qN 之间变化的相反趋势。由于环式电子流可通过竞争电子而控制非环式(线性)电子流, 在抵御光抑制方面具有重要作用^[24], 故我们推测 qP 及 qN 的提高可能与这些化合物间接反馈抑制非环式电子传递而激发了保护机制环式电子流和热耗散途径的增强有关。此现象的存在是否具普遍性及其原因尚待进一步研究。光氧化条件下, 此 3 种代谢中间产物的存在使叶绿体的热耗散保护功能仍能正常运行, qN 水平继续增大。可见, 提高此 3 种化合物的浓度有助于减轻叶绿体的光氧化损伤。由于 MV 是有效的电子受体和线性电子传递的竞争抑制剂, 其还原作用不伴随环式电子流的出现^[23], 因此, 图 2 中有 3 种化合物存在的光氧化作用下 qP 相对值降低和 qN 升高, 表明其对 PSII 活性具有一定的调控作用。

光呼吸是光合作用线性电子流分配的主要途径之一, 在保护 C_3 植物免受光抑制和光氧化中起重要作用^[19, 25]。Gonzalez-moro 等^[18]近期报道用乙醇酸和另一光呼吸抑制剂 phosphinothricin 配合饲喂 C_4 植物玉米叶片后, qP 和 F_v/F_m' 降低伴随非光化学猝灭 NPQ 提高。我们对菠菜叶绿体的研究结果与其有所不同, 非光氧化条件下加乙醇酸钠和 HPMS 单独处理虽抑制全链电子传递速率和 PSII 电子传递的量子效率, 但未提高 qN。光氧化条件下, PSII 光化学活性在乙醇酸钠和 HPMS 之间的变化趋势则有一定的差别。HPMS 抑制光呼吸的进行而几乎不影响 PSII 光化学活性, 而增加光呼吸代谢物乙醇酸钠浓度虽抑制全链电子传递速率, 但其 PSII 反应中心和天线耗散激发能的能力仍可维持于较高的水平, 反映光氧化条件下刺激光呼吸代谢对 PSII 功能有一定的保护效应。由此进一步确证光

呼吸 C_2 酸作为光呼吸, Calvin 环和 PSII 光化学活性之间的生理调节的作用。

上述结果表明在叶绿体水平上通过改变或阻断光合电子流的流向或更改光合碳还原环和光呼吸代谢物浓度等方式皆可影响 PSII 的活性和光合电子传递特性。前者是直接的作用而后者是间接作用。这种调控作用在光氧化条件下的特点因不同化合物而异, 深入研究其调节特性和可能的机理将是系统了解在正常和逆境条件下, 光合机构调节机理的一个重要课题。

参考文献

- [1] Lannelli M A, Breasegem F V, Montagu M V, et al. Tolerance to low temperature and paraquat-mediated oxidative stress in two maize genotype [J]. *J Exp Bot*, 1999, 50:523-532.
- [2] Asada K. Production and action of active oxygen species in photosynthetic tissues [A]. In: Foyer C H, Mullineaux P M. Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defense Systems in Plants [M]. Tokyo: CRC Press, 1994. 77-104.
- [3] Krause G H. Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms [J]. *Physiol Plant*, 1988, 74: 566-574.
- [4] Demming-Adams B, Adams III W W, Logan B A, et al. Xanthophyll cycle- dependent energy dissipation and flexible photosystem II efficiency in plant acclimated to light stress [J]. *Aust J Plant Physiol*, 1995, 22:249-260.
- [5] Melis A. Photosystem II damage and repair cycle in chloroplasts — what modulates the rate of photodamage *in vivo* [J]. *Trends Plant Sci*, 1999, 4:130-135.
- [6] Tonkyn J C, Deng X W, Gruissem W. Regulation of plastid gene expression during photooxidative stress [J]. *Plant Physiol*, 1992, 99:1406-1415.
- [7] Slovacsek R E, Crowther D, Hind G. Relative activities of linear and cyclic electron flows during chloroplast CO_2 -fixation [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1980, 592:495-505.
- [8] Foyer C H, Lelandais M, Kanert K J. Photooxidative stress in plants [J]. *Physiol Plant*, 1994, 92:696-717.
- [9] Foyer C H, Furbank R T, Harbinson J, et al. The mechanisms contributing to photosynthetic control of electron transport by carbon assimilation in leaves [J]. *Photosynth Res*, 1990, 25:83-100.
- [10] Lin Z F(林植芳), Peng C L(彭长连), Lin G Z(林桂珠). Membrane injury and PSII inactivation in some subtropical woody plants induced by photooxidation [J]. *Acta Bot Sin(植物学报)*, 1999, 41: 871-876. (in Chinese)
- [11] Su X(苏行), Lin Z F(林植芳), Sun G C(孙谷畴). Effects of lipoxygenase on the activities of photosynthetic electron transport in cucumber leaves [J]. *Acta Bot Sin(植物学报)*, 1996, 38:287-294. (in Chinese)
- [12] Ye J Y(叶济宇), Zhao H Y(赵海英). Rapid preparation of intact chloroplasts and the determination of their intactness [J]. *Plant*

- Physiol Comm(植物生理学通讯), 1982, 1:59-61. (in Chinese)
- [13] Peng C L(彭长连), Lin Z F(林植芳), Lin G Z(林桂珠). Diurnal changes of photooxidation response in leaves of C_3 and C_4 plants [J]. *J Trop Subtrop Bot(热带亚热带植物学报)*, 1998, 6:233-238. (in Chinese)
- [14] Demmig-Adams B, Adams III WW. Photoprotection and other responses of plants to high light stress [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1992, 43:599-626.
- [15] Lilley R McC, Portis Jr A R. Activation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase / oxygenase (Rubisco) by Rubisco activase [J]. *Plant Physiol*, 1990, 94:245-250.
- [16] Campbell D, Hurry V, Clarke A K, et al. Chlorophyll fluorescence analysis of cyanobacterial photosynthesis and acclimation [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1998, 62:667-683.
- [17] Oxborough K, Horton P. Characterization of the effects of antimycin A upon high energy state quenching of chlorophyll fluorescence (qE) in spinach and pea chloroplasts [J]. *Photosynth Res*, 1987, 12:119-128.
- [18] Gonzalez-moro M B, Loureiro-Beldarrin I, Estavillo J M, et al. Effect of photorespiratory C_2 acid on CO_2 assimilation, PSII photochemistry and the xanthophylls cycle in maize [J]. *Phytosynth Res*, 2003, 78:161-173.
- [19] Lin Z F, Peng C L, Sun Z J, et al. Effect of light intensity on partitioning of photosynthetic electron transport to photorespiration in four subtropical forest plants [J]. *Sci China (Ser C)*, 2000, 43:374-354.
- [20] Pammeter N W. End product feedback effects on photosynthetic electron transport [J]. *Photosynth Res*, 1993, 35:5-14.
- [21] Price G D, Evans J R, Von Caemmerer S, et al. Specific reduction of chloroplast glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase activity by antisense RNA reduces CO_2 assimilation via a reduction in ribulose biphosphate regeneration in transgenic tobacco plant [J]. *Planta*, 1995, 195:369-378.
- [22] Schreiber U, Rienits K G. ATP-induced photochemical quenching of variable chlorophyll fluorescence [J]. *FEBS Lett*, 1987, 211:99-104.
- [23] Heber U, Walker D. Concerning a dual functions of coupled cyclic electron transport in leaves [J]. *Plant Physiol*, 1992, 100:1621-1626.
- [24] Ivanov B, Robayashi Y, Bukhov N G, et al. Photosystem 1-dependent cyclic electron flow in intact spinach chloroplasts: Occurrence, dependence on redox conditions and electron acceptors and inhibition by antimycin A [J]. *Photosynth Res*, 1998, 57:61-70.
- [25] Kozaki A, Takeba G. Photorespiration protects C_3 plants from photo-oxidation [J]. *Nature*, 1996, 384:557-560.