论文

光波动频率影响黄瓜幼苗光合作用的机制

乔美玉^{1,2†}, 张雅君^{1,2†}, 刘立安¹, 石雷¹, 马庆虎¹, 姜闯道^{1*}

1. 中国科学院植物研究所, 中国科学院北方资源植物重点实验室, 北京 100093;

2. 中国科学院大学, 北京 100049

† 同等贡献

* 联系人, E-mail: jcdao@ibcas.ac.cn

收稿日期: 2018-11-09; 接受日期: 2019-01-14; 网络版发表日期: 2019-03-14

国家自然科学基金(批准号: 31571576)资助

摘要 自然条件下环境光强往往是波动的, 但波动光变化频率影响植物光合作用的机制尚不清楚. 为了探讨植物光合作用对波动光频率的响应及机制, 本文以黄瓜为材料, 对植物生长、叶绿素含量、气体交换、叶绿素荧光以及抗氧化酶进行了研究. 结果显示, 相对于弱光(T4), 强光下(T1, T2和T3)黄瓜株高、生物量、叶面积和比叶重均明显较高, 但波动频率增加(T2, T3)能够导致这些参数值降低. 强光与弱光处理相比其叶绿素总量较低, 且随着波动光频率的提高叶绿素含量轻微下降. 强光下的光合速率和气孔导度均高于弱光, 不过随着强光波动频率增加, 两者呈下降趋势. 荧光诱导动力学的结果显示, 尽管各处理间光系统 II (PS II) 最大光化学效率没有明显差异, 但波动频率较大时黄瓜的 PS II 的电子传递活性略有降低; 而且增加强光波动频率还导致光系统 II 天线转化效率 (F_v'/F_m') 明显降低和非光化学猝灭(NPQ)大幅增加. 此外, 强光下黄瓜的酶促抗氧化系统的主要酶活性高于弱光, 但波动光频率提高能够降低其活性. 因此, 提高波动光的频率不仅导致黄瓜光合能力下降, 还导致其主要抗氧化酶的活性降低, 所以增强的热耗散可能是其应对波动光下过剩激发能的重要机制. 此外, 本文还对黄瓜适应波动强光和稳态强光的差异进行了讨论.

关键词 强光, 波动光, 光合作用, 叶绿素荧光, 光破坏防御

自然界条件下植物所处的光环境非常复杂, 其中强光和弱光都是植物经常遭遇的环境光强. 植物对光环境的适应涉及复杂的调控机制. 弱光下生长的植物叶片薄、叶面积更大、捕光色素含量更高, 有利于吸收光能^[1~3]. 相反, 强光下生长的植物叶片厚且小、栅栏组织增厚或细胞层数增加^[3,4]; 同时, 强光下植物叶片叶绿素含量降低, 从而减少光能吸收^[5]; 而且, 强光下叶片电子传递载体的量增加、Rubisco酶的活性提

高^[4]. 因此, 植物在弱光下生长时最大表观量子效率较高, 而强光下生长的植物叶片光合能力较高^[5]. 值得注意的是, 强光还很容易导致光合器官光抑制. 为缓解光抑制, 植物在进化中形成了复杂的光破坏防御机制, 能够将过剩光能以热的形式耗散掉, 同时通过酶促和非酶促抗氧化系统清除活性氧, 从而保护光合机构免受强光伤害^[5~9].

尽管前人已经针对植物适应光环境的机制进行了

引用格式: 乔美玉, 张雅君, 刘立安, 等. 光波动频率影响黄瓜幼苗光合作用的机制. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 280–288

Qiao M Y, Zhang Y J, Liu L A, et al. Effects of changing frequency of fluctuating light on photosynthesis in cucumber seedlings (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2019, 49: 280–288, doi: 10.1360/N052018-00253

大量研究, 但是这些研究多以稳态或恒定光强为主, 不能很好地反映光环境的复杂性以及复杂光环境对植物的影响. 实际上, 由于叶片的相互遮阴和云的运动等都会导致叶片暴露在波动光下. 目前, 越来越多的研究表明自然生境中波动光是植物光环境的重要形式之一^[10-17]. 研究表明, 波动光下植物不仅叶面积和比叶重都降低^[17], 而且光合速率也下降^[14]. 还有研究证明, *pgr5*突变体由于环式电子传递下降导致热耗散降低, 其光合机构对波动光的敏感性增强, 且不能正常生长; 而恒定光强下 *pgr5* 与野生型的表型无差异^[18,19]. 此外, 限制植物的状态转换也能够明显增强植物对波动光的敏感性, 并导致长势变缓^[20]. 因此, 光环境的波动性是影响植物生长和光合作用的重要因素.

自然条件下, 波动光的主要特征包括光强和波动频率. 尽管前人的研究中强调了波动光的光强或者光强与频率的共同作用, 但波动频率对光合作用的可能影响尚未澄清. 光合作用在光下启动慢^[13]而在弱光或暗处衰减很快^[21], 所以提高波动频率会导致光合作用在波动光下反复启动, 也意味着波动频率提高能够间断光合作用的连续性. 研究表明, 光强相同时延长光照时间和保持光合作用的连续性能够很大程度上提高光合速率和光破坏防御能力^[22]. 从这个角度看, 提高波动光频率间断光照和光合作用的连续性可能降低光合速率和光破坏防御能力. 此外, 考虑到光合作用启动过程中光合速率较稳态条件下低, 因此也会产生更多的过刺激能, 甚至活性氧. 因此, 波动光条件下波动频率是否及如何影响植物光合作用还需要进一步研究.

为了阐述这一问题, 本研究在保持光量子总量一定的前提下对黄瓜幼苗进行不同频率的波动光处理, 从而探讨波动光频率影响植物光合作用的规律及机制以及与稳态光的差异. 本研究不仅对进一步揭示复杂光环境下植物光合作用的运转具有重要意义, 而且对理解和解决生产中的光环境问题也有一定借鉴价值.

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验在中国科学院植物研究所温室进行. 黄瓜(津研35)种子置于湿润的培养皿中25℃萌发48 h, 待种子萌发后种在塑料盆中(直径17 cm, 高20 cm). 基质为草

炭土和黄土(体积比4:1). 盆栽苗先在室外光照下培养一周, 后在人工光源下培养3周(照光时间8 h). 室外午间光照强度约1 600 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 左右, 温度约为20~28℃; 实验中对各处理进行相同的水肥管理, 确保水肥充分供应. 测定时选择长势相同的植株和刚刚成熟的叶片, 每个实验至少重复5次.

1.2 光照处理设计

盆栽苗(4~5叶期)分为4个处理. T1为持续5 h强光, 其余时间(5 h)为弱光; T2为强光和弱光每30 min更替1次, 强光处理时间累计为5 h(强光波动频率为10次/5 h), 弱光处理时间总计仍为3 h; T3是强光和弱光每3 min更替1次, 强光处理时间累计为5 h(强光波动频率为100次/5 h), 弱光处理时间总计为5 h; T4为完全弱光(10 h). 光照由均匀的LED光源提供. 其中, 室内培养时强光的光强为1600 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 弱光的光强为200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 温度约为20~28℃.

1.3 形态测定

测量株高时将植株置于水平面, 用尺子测量正常伸展情况下的高度. 将盆栽苗整株从盆中取出, 洗净泥土, 将干净的苗放于105℃烘箱中杀青30 min, 85℃烘至恒重, 进行称量, 即干重. 使用LI-3000A型叶面积仪(LI-COR, Lincoln, 美国)测量叶面积. 比叶重测定时分别用直径6 mm的打孔器打取叶圆片约30片于105℃烘箱中杀青30 min, 85℃烘至恒重, 进行称量, 即为干质量. 计算比叶重, 比叶重(g/cm^2)=叶片干重/叶面积.

1.4 叶绿素含量测定

用直径7 mm的打孔器打取新鲜的黄瓜叶圆片, 称取0.2 g(每个处理5个重复). 然后, 将叶圆片置于25 mL容量瓶中, 加入20 mL左右的80%丙酮(分析纯). 遮光浸泡48 h, 其间每隔2 h左右取出振荡片刻, 使色素均匀分布于丙酮溶液中. 测量时定容至25 mL. 用紫外分光光度计(UV-8000S, 中国)测定663和646 nm处的吸光度. 根据Lichtenthaler的公式, 80%丙酮提取液中叶绿素a(C_a)、叶绿素b(C_b)含量和总量(Chl_{ct})的计算公式如下:

$$C_a = 12.21D_{663} - 2.81D_{646}$$

$$C_b = 20.13D_{646} - 5.03D_{663}$$

$$Chl_{ct} = C_a + C_b.$$

1.5 气体交换参数测定

选择晴朗天气, 使用CIRAS-2(PP system, 美国)在2000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 光强下测定光合速率(P_n)和气孔导度(G_s)等气体交换参数. 测定时叶室温度为环境温度, 湿度为大气湿度的70%~80%, 大气二氧化碳浓度在360~400 $\mu\text{mol/mol}$.

1.6 叶绿素荧光猝灭测定

使用FMS-2便携脉冲调制式荧光仪(Hansatech, 英国)测定叶绿素荧光猝灭. 叶片经过1 h暗适应后, 首先测定初始荧光 F_o , 然后打开饱和脉冲光(8000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), 测定最大荧光 F_m . 光下测定时, 首先叶片给予30 s的作用光照射, 记录稳态荧光 F_s ; 然后打开饱和脉冲光(8000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), 测定光适应下最大荧光 F_m' ; 之后关闭作用光, 同时打开远红光(时间为3 s), 测定光适应下的最小荧光 F_o' . 实验中, 光化光的强度逐渐增加, 依次为0, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800, 2000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

光系统II天线转化效率(F_v'/F_m')和非光化学猝灭(non-photochemical quenching, NPQ)计算如下: $F_v'/F_m' = (F_m' - F_o')/F_m'$, $\text{NPQ} = (F_m - F_m')/F_m' = F_m/F_m' - 1$.

1.7 叶绿素荧光诱导动力学测定

使用Handy-PEA非调制式荧光仪(Hansatech, 英国)测定叶绿素荧光参数. 测定及计算参照李鹏民等的文献^[23]. 测定前植株暗适应15 min, 在弱调制光下诱导产生初始荧光(F_o), 此时光系统II反应中心全部处于开放状态. 在 F_o 之后使用强饱和脉冲光(3000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 红光)激发, 使原初电子受体 Q_A 全部处于还原状态, 测得最大荧光值(F_m). 每个处理测定10个重复. 其中, 各特征点荧光参数为 F_o (20 μs 时荧光, O相)、 F_J (2 ms时荧光, J相)、 F_I (30 ms时荧光, I相)和 F_m (最大荧光, P相), 其他参数计算如下:

$$\text{PS II 最大光化学效率: } \phi_{P_0} = F_v/F_m = 1 - (F_o/F_m), \quad (1)$$

$$\text{单位截面反应中心的数量(在 } t=0 \text{ 时): } RC/CS_0 = \phi_{P_0} \cdot (V_J/M_0) \cdot (\text{ABS}/CS_0), \quad (2)$$

$$\text{单位截面吸收的光能(在 } t=0 \text{ 时): } \text{ABS}/CS_0 \approx F_o, \quad (3)$$

$$\text{单位截面电子传递效率(在 } t=0 \text{ 时): } ET_0/CS_0 = \phi_{E_0} \cdot (\text{ABS}/CS_0). \quad (4)$$

1.8 抗氧化酶活性测定

称取新鲜的黄瓜叶片0.1 g, 迅速放入液氮, 最终放入 -80°C 的冰箱保存. 使用苏州科铭公司生产的相应试剂盒和紫外分光光度计(UV-8000S, 中国)测定超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)和谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)的活性.

SOD活性定义: 在黄嘌呤氧化酶偶联反应体系中抑制百分率为50%时, 反应体系中的SOD酶活力定义为一个酶活力单位(U/mL).

SOD活性计算公式: 抑制百分率 = $(A_{\text{对照管}} - A_{\text{测定管}}) / A_{\text{对照管}} \times 100\%$ SOD.

$\text{SOD}(\text{U/g 鲜重}) = [\text{抑制百分率} / (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反应}}] / (W \times V_{\text{样}} / V_{\text{样总}}) \times \text{样本稀释倍数} = 11.4 \times \text{抑制百分率} / (1 - \text{抑制百分率}) / W \times \text{样本稀释倍数}$.

其中, $V_{\text{反应}}$: 反应体系总体积; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系的样本体积; $V_{\text{样总}}$: 加入的提取液体积; W : 样本质量.

APX活性定义: 每克组织每分钟氧化1 μmol 抗坏血酸为一个酶活单位.

APX活性计算公式: $\text{APX}(\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{鲜重}) = \Delta A / (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \times 10^6 / (W \times V_{\text{样}} / V_{\text{样总}}) / T = 1.79 \times \Delta A / W$.

其中, ϵ : 抗坏血酸在290 nm处摩尔吸光系数; d : 比色皿光径; $V_{\text{反应}}$: 反应体系总体积; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系的样本体积; $V_{\text{样总}}$: 加入的提取液体积; W : 样本质量; T : 催化反应时间. $\Delta A = A_1 - A_2$.

GR活力单位定义: 一定温度中, 每g样本每分钟催化1 nmol NADPH氧化为1个酶活单位.

$\text{GR}(\text{nmol min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{鲜重}) = [(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) / \epsilon / d \times V_{\text{反应}} \times 10^9] / (W \times V_{\text{样}} / V_{\text{样总}}) / T = 536 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) / W$

其中, ϵ : NADPH摩尔消光系数, $6.22 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$; $V_{\text{反应}}$: 反应体系总体积, 1000 μL = 0.001 L; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中上清液体积, 100 μL = 0.1 mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL; W : 样本质量, g; T : 反应时间, 3 min.

1.9 统计分析

数据采用SPSS (Version 17.0)进行统计分析(One-way ANOVA), 检验其差异显著性($P=0.05$); 使用SigmaPlot 12.5作图.

2 结果

2.1 光波动频率对形态和生长的影响

如图1所示, 相对于弱光处理(T4), 强光处理下(T1, T2和T3)黄瓜株高、生物量、叶面积和比叶重均明显较高. 不过, 与T1相比, T2和T3处理条件下黄瓜株高、生物量、叶面积、比叶重都呈下降趋势, 且生物量下降幅度最大. 这表明虽然波动光(T2和T3)也是一种强光, 但随着强光波动频率提高其植株生长明显趋弱.

图 1 光波动频率对黄瓜株高(A)、生物量(B)、叶面积(C)和比叶重(D)的影响. T1为5 h持续强光($1600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)和5 h持续弱光($200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)处理; T2处理为30 min持续强光, 强光波动频率为10次/5 h(强光处理时间累计为5 h); T3处理为3 min强光, 强光波动频率为100次/5 h(强光处理时间累计为5 h); T4为完全弱光

Figure 1 Effects of changing frequency of fluctuating light on plant height (A), biomass (B), leaf area (C) and specific leaf weight (D) in cucumber seedlings. During the 10 h photoperiod, light was switched between 1600 (high) and $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (weak) by timers or kept continuous. T1: 5 hours' continuous high light, and then 5 hours' continuous weak light; T2: the fluctuating light alternated between high and weak light every 30 min (10 times/5 h); T3: the fluctuating light alternated between high and weak light every 3 min (100 times/5 h); T4: 10 hours' continuous weak light

图 2 波动光频率对黄瓜叶片叶绿体色素含量(A)和叶绿素a/b比值(B)的影响

Figure 2 Effects of changing frequency of fluctuating light on total chlorophyll content (A) and the ratio of chlorophyll a to chlorophyll b (B) in cucumber seedlings

2.3 光波动频率对气体交换的影响

图3的数据表明, 强光下(T1, T2和T3)生长的黄瓜幼苗其光合速率和气孔导度均比弱光下(T4)高, 且差异显著; 随着强光波动频率增加, 光合速率和气孔导度略有下降。因此, 增加光强有助于改善光合能力, 但提高波动光的频率对光合功能有限制作用。

2.4 光波动频率对叶绿素荧光的影响

荧光诱导动力学曲线结果显示, 各处理间的OJIP曲线的主要差异在J-I相(图4)。为进一步分析荧光诱导动力学的差异, 我们分别比较了最大光化学效率(F_v'/F_m')、单位截面反应中心的数量(RC/CS_0)、单位截面的光能吸收(ABS/CS_0)和单位截面电子传递效率(ET_0/CS_0)。从图5可看出, 光系统II最大光化学效率各处理间没有明显差异, 但是与弱光下的黄瓜(T4)相比, 强光下各处理的 RC/CS_0 , ABS/CS_0 和 ET_0/CS_0 略有下降; 其中, 强光波动频率最高时(T3) RC/CS_0 , ABS/CS_0 和 ET_0/CS_0 最低。

如图6所示, 弱光下生长的黄瓜幼苗(T4)其天线转化效率(F_v'/F_m')最高, 强光下(T1, T2和T3)较低。随着波动频率的增加, F_v'/F_m' 依次降低, 其中T1较高, T2较低, T3最低。但是, 强光下黄瓜幼苗(T1, T2和T3)的非光化学猝灭都比弱光下(T4)高; 而且, 随着强光波动频率的提高, NPQ依次降低增加, T3处理下NPQ最高。因此, 不仅光强能够改变激发能分配, 提高强光波动频率也能够导致激发能分配发生改变。

2.5 光波动频率对抗氧化酶活性的影响

抗氧化酶也是植物应对强光和氧化胁迫的重要策略。图7的数据表明, 强光下生长的黄瓜幼苗(T1, T2和

T3)其超氧化物歧化酶、抗坏血酸过氧化物酶和谷胱甘肽还原酶活性均比弱光下(T4)高; 提高强光波动频率后, 三者的活性都呈下降趋势。因此, 增加光强对酶促抗氧化系统的酶活性有促进作用, 但光强波动可以明显降低主要抗氧化酶的活性。

3 讨论

3.1 光波动频率对光合能力和生长的影响

本研究中, 提高强光波动频率黄瓜幼苗叶片厚度下降。众所周知, 叶片厚度变化能够改变单位面积的光合机构的量, 并影响光合机构的空间排列^[3-5]。荧光诱导动力学的数据也证明, 生长在波动光下的黄瓜叶片其单位截面反应中心的量和电子传递效率下降(图5)。这与波动光下黄瓜光合速率降低的趋势一致(图3)。所以, 波动光环境下叶片厚度的减小可能导致单位面积光合机构的量减少, 进而导致光合能力下降。

与稳态光环境不同, 波动光的重要特征之一就是光强会随时间而发生明显改变。当波动光的光强($200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)较低时不能充分满足碳同化的需求, 会很大程度上限制光合作用。然而, 当波动光的光强($1600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)较强时, 由于光合作用启动所需的时间较长^[13], 故光合作用不能迅速启动。这种情况在T3处理中尤为明显。所以, 波动光直接缩短了黄瓜光合作用的有效照光时间。我们观察到随着波动频率增加叶面积降低(图1)。因此, 本研究中波动光通过降低黄瓜光合能力和叶面积以及缩短有效照光时间, 进而导致黄瓜生物量下降。

3.2 光波动频率对光破坏防御的影响

光合作用过程中, 强光很容易伤害光合机构^[24-26]。

图3 光波动频率对黄瓜光合速率(P_n)(A)和气孔导度(G_s)(B)的影响

Figure 3 Effects of changing frequency of fluctuating light on the net photosynthetic rate (A) and stomatal conductance (B) in cucumber leaves

图 4 光波动频率对黄瓜叶片快速荧光诱导动力学曲线的影响。Vt: 相对荧光产量, 时间坐标为对数坐标

Figure 4 Effects of changing frequency of fluctuating light on the rise kinetics of chlorophyll a fluorescence transients in cucumber leaves. Vt: relative variable fluorescence plotted on logarithmic time scale

为保护植物叶片免受强光伤害, 植物在进化中发展形成了一系列光破坏防御机制^[5-12]。我们注意到提高波动光频率导致黄瓜叶绿素含量下降, 而且叶绿素a/b比值增加(图2)。波动光下黄瓜减少叶绿素含量和提高叶绿素a/b比值都是在降低叶片和光系统II反应中心的光能捕获。这与提高波动光频率条件下单位截面的光

能捕获(ABS/CS_0)下降趋势是一致的(图5)。因此, 提高波动光频率会降低黄瓜叶片的光能捕获。

热耗散是一种可以快速启动地光破坏防御机制, 在植物应对强光过程中起着非常重要的作用^[5,27]。本研究数据表明, 波动频率的提高能够导致光合速率降低(图3), 所以波动光下生长的黄瓜幼苗光能过剩仍然不可避免; 而且这种情况在光合作用启动过程中可能会加剧。数据表明, 波动光下伴随黄瓜快速下调天线转化效率其热耗散迅速启动, 而且波动光的频率越高热耗散能力也越高(图6)。所以, 提高波动光的频率能够诱导热耗散能力增强。

此外, 除热耗散外活性氧清除系统也是重要的抗氧化机制^[8,9]。一般情况下, 当光合电子传递速率明显快于碳同化时, O_2 作为电子受体接受电子, 从而生产超氧阴离子以及此后其他种类的活性氧^[5,28]。活性氧在SOD, APX和GR等抗氧化酶催化下被清除^[5,8,28]。但是, 活性氧清除系统中的SOD, APX和GR的活性均随着波动频率的提高而下降(图7), 暗示抗氧化酶促系统可能不是黄瓜幼苗应对波动强光时氧化胁迫的重要策略。考虑到光合作用由强光转入弱光后暗反应衰退很快^[21], 当植物再次暴露在强光下而光合作用又不能迅速启动^[13], 很可能此时黄瓜主要以热耗散的方式清除

图 5 光波动频率对黄瓜叶片光系统II最大光化学效率(F_v/F_m)(A)、单位截面反应中心的量(RC/CS_0)(B)、单位截面的光能吸收(ABS/CS_0)(C)和单位截面电子传递效率(ET_0/CS_0)(D)的影响

Figure 5 Effects of changing frequency of fluctuating light on the maximum quantum yield of photosystem II (A), the amount of active PS II reaction centers per unit area at $t=0$ (B), the absorption flux at $t=0$ (C) and electron transport flux per unit area at $t=0$ (D) in cucumber leaves

图6 光波动频率对黄瓜叶片天线转化效率(F_v/F_m) (A)和非光化学猝灭(B)的影响

Figure 6 Effects of changing frequency of fluctuating light on antenna conversion efficiency of PS II (F_v/F_m) (A) and non-photochemical quenching (B) in cucumber seedlings

图7 光波动频率对黄瓜叶片超氧化物歧化酶(A)、抗坏血酸过氧化物酶(B)和谷胱甘肽还原酶(C)的影响

Figure 7 Effects of changing frequency of fluctuating light on superoxide dismutase (A), ascorbate peroxidase (B) and glutathione reductase (C) in cucumber seedlings

过刺激发能。

3.3 黄瓜适应稳态和波动光环境的异同

与稳态弱光(T4)处理相比, 无论是稳态强光(T1), 还是波动强光(T2和T3), 黄瓜叶片叶绿素含量均相对较低(图2A), 而叶片厚度、光合速率、热耗散能力和生物量均明显提高(图1D, 3A, 6A和1B)。这些变化与其他植物响应强光的规律一致。所以, 本研究中随着波动光频率提高黄瓜光合作用仍然表现出明显的强光适应特征。但是, 与稳态强光(T1)相比, 虽然各处理下光量子总量相同, 伴随波动频率提高叶片厚度、光合速率和生物量的增加幅度均下降。所以, 增加强光波动频率能够在一定程度上减弱叶片光合能力和生长对强光的适应。

我们也注意到, 黄瓜通过增强热耗散和酶促抗氧化系统的活性适应稳态强光环境。不过, 黄瓜对波动强光的适应更复杂。与稳态强光相比, 波动频率较高

时能够更大程度上降低叶绿素含量, 增强热耗散。这很可能与其在波动光下光合作用启动过程中需要耗散更多的过刺激发能有关。更重要的是, 波动光下黄瓜抗氧化系统的主要酶活性降低。我们前期研究证明抗氧化酶活性不仅随着光强的增加而增强, 而且强光照光时间的延长也能够导致其活性增强^[22]。所以, 推测提高波动频率很可能因为间断了强光连续性而诱导活性氧清除酶活性下降。或者活性氧清除酶的活性主要是不间断的强光照光诱导的。

我国很多地区在生长季多云天气较多, 因此植物不得经历波动的光环境。本研究表明, 光波动频率较高时会导致植物光合能力和生长受限。因此, 对于温室和植物工厂来说维持稳态光较波动光更有利于植物的生长。此外, 较高频率的波动光还会限制酶促抗氧化系统主要酶的活性, 并可能导致其暴露在持续强光下时活性氧代谢失衡, 进而诱发活性氧伤害。所以, 选择适应波动强光的植物品种, 而不仅仅是适应强光的

品种, 可能对这些地区的田间栽培管理更有利.

4 结论

因此, 提高波动光的变化频率不仅导致黄瓜光合

能力下降, 还导致其主要抗氧化酶的活性降低, 所以增强的热耗散可能是其应对波动光下过刺激能的重要机制. 与稳态强光相比, 黄瓜光合作用对波动光环境的响应存在明显差异.

参考文献

- 1 Percy R W, Muraoka H, Valladares F. Crown architecture in sun and shade environments: assessing function and trade-offs with a three-dimensional simulation model. *New Phytol*, 2005, 166: 791–800
- 2 Gommers C M M, Visser E J W, Onge K R S, et al. Shade tolerance: when growing tall is not an option. *Trends Plant Sci*, 2013, 18: 65–71
- 3 Li T, Li Y L, Li Z Q, et al. Effects of leaf development on anthocyanin induced by high light and excited energy distribution in *Ocimum basilicum* L (in Chinese). *Plant Physiol J*, 2014, 50: 675–682 [李涛, 李运丽, 李志强, 等. 叶片发育影响紫罗勒花青素的强光诱导和激发能分配. *植物生理学报*, 2014, 50: 675–682]
- 4 Miller M A E, O’Cualain R, Selley J, et al. Dynamic acclimation to high light in *Arabidopsis thaliana* involves widespread reengineering of the leaf proteome. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 1239
- 5 Erickson E, Wakao S, Niyogi K K. Light stress and photoprotection in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant J*, 2015, 82: 449–465
- 6 Albrecht-Borth V, Kauss D, Fan D, et al. A novel proteinase, SNOWY COTYLEDON4, is required for photosynthetic acclimation to higher light intensities in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2013, 163: 732–745
- 7 Dietz K J. Efficient high light acclimation involves rapid processes at multiple mechanistic levels. *J Exp Bot*, 2015, 66: 2401–2414
- 8 Logan B. Antioxidants and xanthophyll cycle-dependent energy dissipation in *Cucurbita pepo* L. and *Vinca major* L. acclimated to four growth PPFDs in the field. *J Exp Bot*, 1998, 49: 1869–1879
- 9 Karpinska B, Zhang K, Rasool B, et al. The redox state of the apoplast influences the acclimation of photosynthesis and leaf metabolism to changing irradiance. *Plant Cell Environ*, 2018, 41: 1083–1097
- 10 Zhang Q, Chen Y J, Song L Y, et al. Utilization of lightflecks by seedlings of five dominant tree species of different subtropical forest successional stages under low-light growth conditions. *Tree Physiol*, 2012, 32: 545–553
- 11 Zhu H, Zeng L D, Yi X P, et al. The half-life of the cytochrome b_f complex in leaves of pea plants after transfer from moderately-high growth light to low light. *Funct Plant Biol*, 2017, 44: 351
- 12 Shimakawa G, Miyake C. Changing frequency of fluctuating light reveals the molecular mechanism for P700 oxidation in plant leaves. *Plant Direct*, 2018, 2: e00073
- 13 Slattery R A, Walker B J, Weber A P M, et al. The impacts of fluctuating light on crop performance. *Plant Physiol*, 2018, 176: 990–1003
- 14 Kaiser E, Morales A, Harbinson J. Fluctuating light takes crop photosynthesis on a rollercoaster ride. *Plant Physiol*, 2018, 176: 977–989
- 15 Soleh M A, Tanaka Y, Nomoto Y, et al. Factors underlying genotypic differences in the induction of photosynthesis in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Plant Cell Environ*, 2016, 39: 685–693
- 16 Liu J, Last R L. A chloroplast thylakoid lumen protein is required for proper photosynthetic acclimation of plants under fluctuating light environments. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: E8110–E8117
- 17 Violet-Chabrand S, Matthews J S A, Simkin A J, et al. Importance of fluctuations in light on plant photosynthetic acclimation. *Plant Physiol*, 2017, 173: 2163–2179
- 18 Suorsa M, Järvi S, Grieco M, et al. PROTON GRADIENT REGULATION5 is essential for proper acclimation of *Arabidopsis* photosystem I to naturally and artificially fluctuating light conditions. *Plant Cell*, 2012, 24: 2934–2948
- 19 Yamamoto H, Shikanai T. PGR5-Dependent cyclic electron flow protects photosystem I under fluctuating light at donor and acceptor sides. *Plant Physiol*, 2019, 179: 588–600
- 20 Grieco M, Tikkanen M, Paakkarinen V, et al. Steady-state phosphorylation of light-harvesting complex II proteins preserves photosystem I under fluctuating white light. *Plant Physiol*, 2012, 160: 1896–1910
- 21 McCormick A J, Kruger N J. Lack of fructose 2,6-bisphosphate compromises photosynthesis and growth in *Arabidopsis* in fluctuating environments. *Plant J*, 2015, 81: 670–683

- 22 Kang W J. Adaptive mechanism of photosynthesis to irradiation time under strong light in maize seedling (in Chinese). Dissertation. Taian: Shandong Agricultural University, 2017 [康伟健. 强光照光时间影响玉米光合作用适应的机制. 泰安: 山东农业大学, 2017]
- 23 Li P M, Gao H Y, Strasser R J. Application of the fast chlorophyll fluorescence induction dynamics analysis in photosynthesis study (in Chinese). J Plant Physiol Mol Biol, 2005, 31: 559–566 [李鹏民, 高辉远, Strasser R J. 快速叶绿素荧光诱导动力学分析在光合作用研究中的应用. 植物生理与分子生物学学报, 2005, 31: 559–566]
- 24 Samuelsson G, Lonneborg A, Gustafsson P, et al. The susceptibility of photosynthesis to photoinhibition and the capacity of recovery in high and low light grown cyanobacteria, *Anacystis nidulans*. Plant Physiol, 1987, 83: 438–441
- 25 Quiles M J, López N I. Photoinhibition of photosystems I and II induced by exposure to high light intensity during oat plant growth. Plant Sci, 2004, 166: 815–823
- 26 Tibiletti T, Auroy P, Peltier G, et al. *Chlamydomonas reinhardtii* psbs protein is functional and accumulates rapidly and transiently under high light.. Plant Physiol, 2016, 171: 2717–2730
- 27 Kromdijk J, Głowacka K, Leonelli L, et al. Improving photosynthesis and crop productivity by accelerating recovery from photoprotection. Science, 2016, 354: 857–861
- 28 Jiang C D, Li P M, Gao H Y, et al. Enhanced photoprotection at the early stages of leaf expansion in field-grown soybean plants. Plant Sci, 2006, 168: 911–919

Effects of changing frequency of fluctuating light on photosynthesis in cucumber seedlings

QIAO MeiYu^{1,2}, ZHANG YaJun^{1,2}, LIU LiAn¹, SHI Lei¹, Ma QingHu¹ & JIANG ChuangDao¹

¹ Key Laboratory of Plant Resources, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China;

² University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Plants are often exposed to fluctuating light under natural conditions, but the effects of changing frequency of fluctuating light on photosynthesis and related mechanism are not clear. In order to study the photosynthetic mechanism under fluctuating light, the changes of morphology, chlorophyll content, gas exchange, chlorophyll a fluorescence and enzymatic antioxidant system were compared in cucumber seedlings grown under different light regimes. Results showed that the plant height, biomass, leaf area and specific leaf weight were significantly higher under high light treatment (T1, T2 and T3) than those of low light treatment (T4), and these values decreased with the frequency of fluctuating light increasing (T2 and T3). Compared with low light treatment, the total chlorophyll content decreased under high light, and enhancing the frequency of fluctuating light resulted in the decrease in the chlorophyll content slightly. Photosynthetic rate and stomatal conductance in leaves grown under high light were higher than those under low light, and the levels of both parameters decreased slightly with the changing frequency of fluctuating light increasing. The results of chlorophyll a fluorescence induction kinetics showed that although there was no significant difference in the maximum quantum yield of photosystem II (PSII), the electron transport activity of PSII in cucumber leaves decreased with the increase of the changing frequency of fluctuating light. Increasing the changing frequency of fluctuating light led to an obvious decrease in antenna conversion efficiency of PSII (F_v'/F_m') and rapid increase in non-photochemical quenching (NPQ). In addition, the activities of the major antioxidant enzymes in cucumber leaves grown under high light was higher than that under low light, yet the increase of the frequency of fluctuating light reduced their activities. Therefore, enhancing the changing frequency of fluctuating light leads to a decrease in photosynthetic rate and the activities of major antioxidant enzymes in cucumber seedlings, the enhanced thermal dissipation may play a very important role in coping with excessive excited energy under fluctuating light. In addition, the difference in acclimative mechanism between fluctuating and steady-state high light in cucumber seedlings were also discussed.

high light, fluctuating light, photosynthesis, chlorophyll a fluorescence, photoprotection

doi: [10.1360/N052018-00253](https://doi.org/10.1360/N052018-00253)