

番茄叶黄素合成突变与光能分配和抗氧化酶活性的关系

王彦杰¹, 夏晓剑¹, 周艳虹¹, 喻景权^{1,2*}

(¹ 浙江大学园艺系, 杭州 310029; ² 农业部园艺植物生长发育与生物技术重点开放实验室, 杭州 310029)

摘要: 以叶黄素 (Lutein) 缺失的番茄突变体 (*Xa*) 为材料, 研究其光合和叶绿素荧光特性、吸收光能分配、细胞器水平抗氧化酶活性及抗氧化物质含量。结果表明: *Xa* 突变体的非光化学猝灭系数 (*qN*)、叶片吸收光能分配依赖于 ΔpH 和叶黄素的非结构性热耗散 (J_{NPQ}) 显著低于其野生型 Ailsa Craig, 但净光合速率 (*Pn*)、羧化效率 (*CE*)、光化学猝灭系数 (*qP*) 与 Ailsa Craig 相似。此外, *Xa* 突变体叶片细胞器水平的抗氧化酶活性和抗氧化物质含量大多数显著高于 Ailsa Craig。这些结果表明, 叶黄素缺失体主要通过降低光能吸收和提高抗氧化能力来避免过剩光能导致光氧化胁迫的产生。

关键词: 番茄; 突变体; 非光化学猝灭; 细胞器; 光保护; 叶黄素

中图分类号: S 641.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2007) 05-1301-04

Relationship Between Lutein Deficit and Light Allocation as well as Antioxidants in Tomato

WANG Yan-jie¹, XIA Xiao-jian¹, ZHOU Yan-hong¹, and YU Jing-quan^{1,2*}

(¹ Department of Horticulture, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; ² Key Laboratory of Horticultural Plants Growth, Development and Biotechnology, Agricultural Ministry of China, Hangzhou 310029, China)

Abstract: A lutein deficit mutant (*Xa*) of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) was used to study the relationship between xanthophylls cycle and light allocation as well as antioxidant levels. *Xa* mutant showed significantly lower non-photochemical quenching (*qN*), ΔpH and xanthophyll-regulated thermal energy dissipation (J_{NPQ}) than those of Ailsa Craig, but similar net photosynthesis rate (*Pn*), carboxylation efficiency (*CE*) and photochemical quenching (*qP*) to those of Ailsa Craig. Moreover, *Xa* mutant exhibited increased activities of most antioxidant enzymes in cellular organelles and higher antioxidants contents in the leaves as compared to Ailsa Craig. All these results suggested that *Xa* mutant protected plant cells from photooxidation damage mainly by decreasing light adsorption and increasing antioxidant capacity.

Key words: *Lycopersicon esculentum* Mill.; Mutant; Non-photochemical quenching; Organelles; Photo-protection; Lutein

植物吸收的光能中除一部分用于光合作用外, 更多的则是通过叶黄素循环的热耗散、光呼吸和抗氧化系统等光氧化保护途径进行耗散。当植物吸收的光能不能有效地被耗散时则会生成活性氧自由基, 从而引起细胞和组织的伤害, 因此, 这些光保护途径同植物的抗逆性密切相关 (Brügemann et al., 1999; Shen et al., 1999; Venema et al., 2000; Zhou et al., 2006)。近年来, 各种光保护途径的作用虽已得到阐明, 但各保护途径之间的相互关系还不清楚。

作者以番茄叶黄素 (Lutein) 缺失的 *Xa* 突变体为材料, 对其光合作用、吸收光能分配、细胞器

收稿日期: 2007-04-17; 修回日期: 2007-06-25

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30671428, 30500344); 国家杰出青年科学基金项目 (30235029)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: jgyu@zju.edu.cn)

水平抗氧化酶活性及抗氧化物质含量进行研究,探讨叶黄素缺失对植物叶片抗氧化能力的影响,以明确两者之间的相互作用,为阐明植物不同基因型间的抗性形成机制和为抗逆育种提供理论依据。

1 材料与方法

试验于 2006 年 4~6 月在浙江大学温室内进行。番茄野生型品种 Ailsa Craig (*Lycopersicon esculentum* Mill., 叶黄素含量 $139 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{FM}$) 及其叶黄素缺失突变体 *Xa* (叶黄素含量 $71 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}\text{FM}$) 均来自美国加州大学番茄遗传中心。

种子播种在泥炭和珍珠岩 (体积比为 7:3) 的基质中,第 1 片真叶充分展开时移入装有同样基质的 8 L 盆中,每盆两株,置于温室中,每天用日本园试配方的营养液浇灌。

每处理 3 次重复,每次重复 18 株苗。

第 8 片真叶充分展开后,选取相同发育阶段完全展开的叶片用于光合作用、叶绿素荧光猝灭参数及细胞器水平抗氧化酶活性的测定。

采用 Licor-6400R 便携式光合仪测定光合、荧光参数。叶片吸收光能分配的计算参照 Zhou 等 (2006) 的方法。细胞器的分离采用 Percoll 的不连续梯度离心法 (Mittova et al., 2000)。

超氧化物歧化酶 (SOD) 活性测定采用氮蓝四唑 (NBT) 光化还原法,谷胱甘肽还原酶 (GR) 测定采用还原型辅酶 II (NADPH) 偶联法,抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 测定采用抗坏血酸氧化法,抗坏血酸 (AsA) 含量测定采用二联吡啶法,谷胱甘肽 (GSH) 含量的测定采用 DTNB 法 (Zhou et al., 2004; Song et al., 2006)。

所有测定重复 3 次,结果以平均值 \pm 标准差表示。数据用 Tukey's 测验作差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 叶黄素突变对光合作用和叶绿素荧光特性的影响

PS II 天线色素吸收的光能主要用于光化学猝灭 (qP) 和非光化学猝灭 (qN)。 qN 的大小反映了叶片所吸收光能热耗散的能力 (李晓萍 等, 1996)。

由表 1 可知,叶黄素缺失未引起番茄 *Xa* 突变体净光合速率 (P_n)、羧化效率 (CE) 和 qP 的显著变化,但 qN 显著低于其野生型 Ailsa Craig,说明叶黄素缺失导致热耗散能力降低。

表 1 番茄 Ailsa Craig 及其 *Xa* 突变体叶片光合和叶绿素荧光特性
Table 1 Photosynthesis and chlorophyll fluorescence characteristics in Ailsa Craig and *Xa* mutant leaves

番茄 Tomato	净光合速率 $P_n (\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$	羧化效率 $CE (\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1})$	光化学猝灭 系数 qP	非光化学猝灭 系数 qN
Ailsa Craig	19.6 a	0.11 a	0.68 a	0.76 a
<i>Xa</i> 突变体 <i>Xa</i> mutant	21.1 a	0.10 a	0.65 a	0.58 b

2.2 叶黄素突变对光能吸收与分配的影响

PS II 天线吸收的光能主要用于 3 个途径,即线性电子传递 (J_{PSII})、依赖于 ΔpH 和叶黄素的非结构性热耗散 (J_{NPQ}) 及荧光和结构性热耗散 ($J_{f,D}$) (Hendrickson et al., 2004; Zhou et al., 2006)。

由图 1 可知,番茄 *Xa* 突变体总的吸收光能 ($J_{PSII} + J_{NPQ} + J_{f,D}$) 比 Ailsa Craig 低 14%,说明在叶黄素减少和 J_{NPQ} 下降的条件下植物可能通过减少能量的吸收来降低过剩能量的产生。*Xa* 突变体的 J_{PSII} 比 Ailsa Craig 略有降低, J_{NPQ} 比 Ailsa Craig 低 34%, $J_{f,D}$ 则没有差异,说明叶黄素缺失后,植株依赖于 ΔpH 和叶黄素的非结构性热耗散下降。

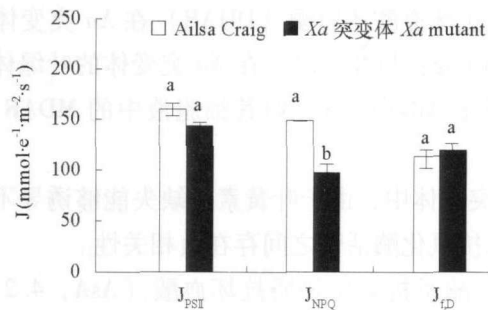


图1 番茄 Ailsa Craig 和 Xa 突变体吸收光能分配比较

J_{PSII} : 通过光合电子传递耗散的光能; J_{NPQ} : 依赖于光的热能耗散; $J_{I,D}$: 不依赖于光的热能耗散和荧光能量耗散。

Fig. 1 Comparison of light allocation in Ailsa Craig and Xa mutant leaves

J_{PSII} : Energy dissipation via linear photosynthetic electron transfer; J_{NPQ} : Light-dependent thermal dissipation processes;

$J_{I,D}$: Light-independent thermal dissipation and fluorescence energy dissipation.

2.3 叶黄素突变对细胞器水平抗氧化能力的影响

为了确定植株 Xa 突变引起的热耗散能力下降是否能影响植物的抗氧化系统, 我们分离了番茄叶片的细胞器, 从细胞器水平上比较了两者的抗氧化酶活性差异。

结果发现 (图 2), Xa 突变体中的叶绿体及细胞液中超氧化物歧化酶 (SOD) 活性都显著高于 Ailsa Craig, 但其线粒体中的 SOD 活性却与 Ailsa Craig 无明显差异; 而谷胱甘肽还原酶 (GR)、抗坏

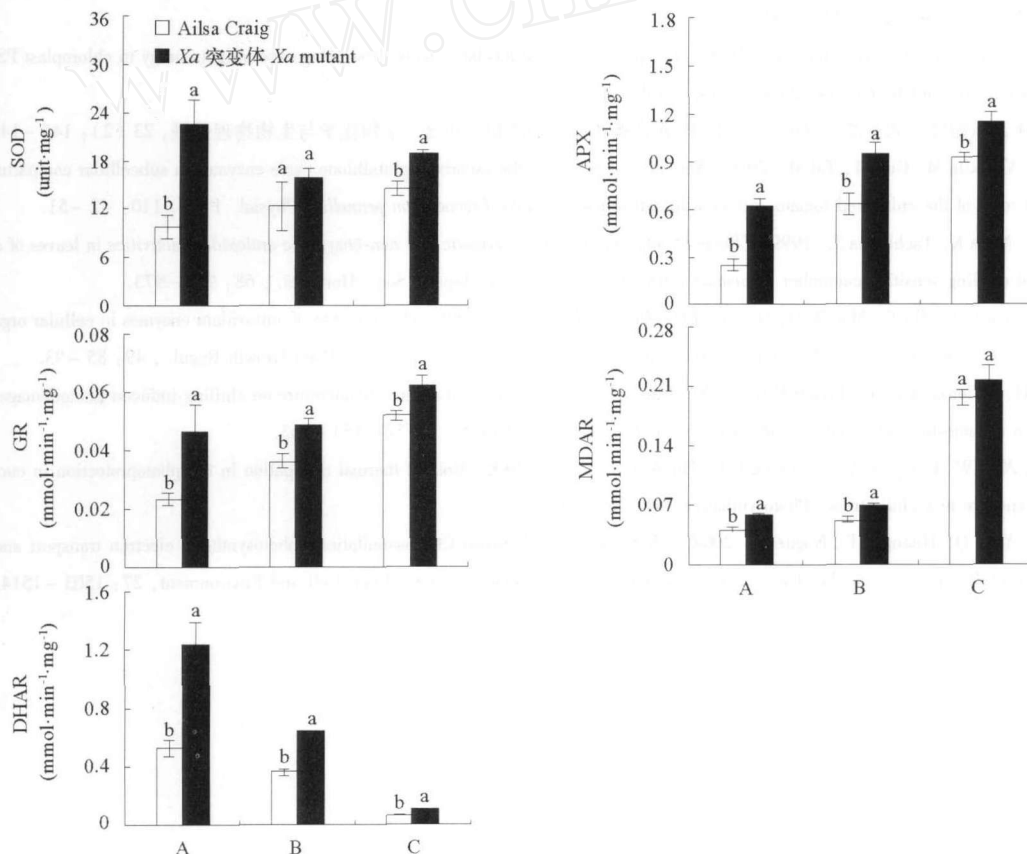


图2 Ailsa Craig 和 Xa 突变体叶片中叶绿体(A)、线粒体(B)及细胞液(C)中

SOD、GR、APX、MDAR 及 DHAR 的活性

Fig. 2 The activities of antioxidant enzymes (SOD, GR, APX, MDAR and DHAR) in chloroplasts (A), mitochondria (B) and cytosol (C) in Ailsa Craig and Xa mutant leaves

血酸过氧化物酶 (APX) 及脱氢抗坏血酸还原酶 (DHAR) 在 *Xa* 突变体的叶绿体、线粒体和细胞液中它们的活性都明显高于 Ailsa Craig; 与此同时, 在 *Xa* 突变体的叶绿体及线粒体中单脱氢抗坏血酸还原酶 (MDAR) 活性均显著高于 Ailsa Craig, 但其细胞液中的 MDAR 活性与 Ailsa Craig 无明显差异。

上述研究结果表明: 在 *Xa* 突变体中, 由于叶黄素的缺失能够诱导不同细胞器中抗氧化酶活性普遍增加, 暗示了叶黄素的水平与抗氧化酶活性之间存在负相关性。

另外, *Xa* 突变体叶片中的非酶系抗氧化物质抗坏血酸 (AsA, $4.2 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$) 和谷胱甘肽 (GSH, $238 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$) 含量分别比 Ailsa Craig (AsA, $3.6 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$; GSH, $165 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$) 提高了 16% 和 44%, 表明叶黄素的缺失也能够诱导植物抗氧化物质和营养成分含量的增加, 两者间呈现负相关性。

本研究结果表明, 不同光保护途径间存在一种交叉协调机制以提高植物的抗性。*Xa* 突变体主要通过减少光能吸收、保持净光合速率不变和提高氧化能力从而弥补热耗散能力的下降, 避免过剩光能对植物造成的潜在伤害。而 AsA 和 GSH 等抗氧化物质的提高对于改善番茄品质具有十分重要的意义。

References

- Brügemann W, Beyel V, Brodka M, Poth H, Weil M, Stockhaus J. 1999. Antioxidants and antioxidative enzymes in wild-type and transgenic *Lycopersicon* genotypes of different chilling tolerance. *Plant Sci.*, 140: 145–154.
- Hendrickson J, Foster B, Furbank R T, Chow W S. 2004. Process contributing to photoprotection of grapevine leaves illuminated at low temperature. *Physiol. Plant*, 121: 272–281.
- Li Xiao-ping, Chen Yi-zhu, Guo Jun-yan. 1996. The progress on the mechanisms of dissipating excess light energy in chloroplast PS II. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 23 (2): 145–149. (in Chinese)
- 李晓萍, 陈怡竹, 郭俊彦. 1996. 叶绿体 PS II 光能耗散机制的研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 23 (2): 145–149.
- Mittova V, Volokita M, Guy M, Tal M. 2000. Activities of SOD and the ascorbate-glutathione cycle enzymes in subcellular compartments in leaves and roots of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii*. *Physiol. Plant*, 110: 42–51.
- Shen W Y, Nada K, Tachibana S. 1999. Effects of cold treatment on enzymatic and non-enzymatic antioxidant activities in leaves of chilling-tolerant and chilling-sensitive cucumber (*Cucumis sativus* L.) cultivars. *J. Japan. Soc. Hor. Sci.*, 68: 967–973.
- Song X S, Tiao C L, Shi K, Mao W H, Ogwenio J O, Zhou Y H, Yu J Q. 2006. The response of antioxidant enzymes in cellular organelles in cucumber (*Cucumis sativus* L.) leaves to methyl viologen-induced photo-oxidative stress. *Plant Growth Regul.*, 49: 85–93.
- Venema J H, Villerous L, van Hasselt P R. 2000. Effects of acclimation to suboptimal temperature on chilling-induced photodamage: comparison between a domestic and a high-altitude wild *Lycopersicon* species. *Plant Sci.*, 152: 153–163.
- Zhou Y H, Mao W H, Zhang Y Y, Huang L F, Hu W H, Yu J Q. 2006. Role of thermal dissipation in the photoprotection in cucumber plants after exposure to a chill stress. *Photosynthetica*, 44: 262–267.
- Zhou Y H, Yu J Q, Huang L F, Nogués S. 2004. The relationship between CO₂ assimilation, photosynthetic electron transport and water-water cycle in chill-exposed cucumber leaves under low light and subsequent recovery. *Plant Cell and Environment*, 27: 1503–1514.